

# Вивчення ступеню метаболізації селену насінням сільськогосподарських культур

Арсеньєва Л.Ю., доктор технічних наук; Антонюк М.М., Бондар Н.П., Хіврич Б.І., кандидати технічних наук  
Національний університет харчових технологій

Здатність рослин до акумуляції селену з різних субстратів свідчить про необхідність цього мікроелемента для рослинних організмів. Вважають, що в рослинах селен може знаходитися у вигляді елементного селену, селенатів, селенітів, аналогів сірковмісних амінокислот і селенопептидів. Більша частина селеновмісних органічних сполук у всіх рослинних організмах представлена селенометіоніном [2].

Серед можливих функцій селену в рослинах є його участь у процесах фотосинтезу, синтезу токоферолів, токотриенолів, убіхінонів. Селенорганічні сполуки впливають на процеси гліколізу та гідролізу білків у рослинних клітинах. Існують окремі експериментальні дані про антистресову дію мікроелемента та участь у регуляції росту рослин [1, 2]. Більшість дослідників вважає, що метаболізм селену у вищих рослин відбувається подібно до обміну сірки.

Рослини за здатністю концентрувати селен умовно поділяють на три групи: індиферентні до селену (осока, дикорослі злаки), з помірним його накопиченням (хлібні злаки, соняшник, айстри), концентратори селену (рослини сімейства хрестоцвітих, бобових) [1].

Ступінь забезпечення селеном тварин і людини за рахунок рослинних інгредієнтів раціону значною мірою визначається вмістом селену в ґрунті й інтенсивністю акумуляції його тканинами рослин.

Доступність селену для рослин залежить від декількох факторів, з яких найбільш важливими є значення рН середовища, температурні умови, водозабезпечення і механічний склад ґрунту.

У кислих ґрунтах нерозчинні форми елементарного селену - селеніди та селеніти - утворюють стійкі комплекси з окислами заліза, які важкодоступні для рослин і не переходять у підземні води. В Україні зоною кислих селенодефіцитних ґрунтів є райони, які постраждали внаслідок аварії на ЧАЕС, а також ґрунти природних угідь Вінницької, Київської, Луганської, Одеської, Полтавської, Тернопільської, Харківської, Хмельницької, Чернігівської областей і Криму [5]. Тому профілактика нестачі селену в Україні є надзвичайно важливою для мешканців цих регіонів.

Для збагачення продуктів рослинництва у світовій практиці використовують внесення селеновмісних сполук (селенатів, селенітів) у ґрунти, некореневе підживлення та оброблення насіння.

Спосіб підвищення концентрації селену в продуктах харчування за рахунок використання добрив з розчинними сполуками селену особливо широко застосовується у Фінляндії, де доступність селену з ґрунту для рослин дуже мала через низький вміст селену, низький рН і високий вміст заліза. У цій країні з 1984 року вико-

ристовуються мінеральні добрива, які містять селенат натрію. Однак при застосуванні селенових добрив мають місце такі проблеми, як можливе неконтрольоване зверхнакопичення селену в зерні, що може призвести до його токсичних концентрацій, екологічних проблем, великих витрат [7].

Здатність до накопичення великих кількостей селену в насінні при його внесенні в умовах вегетації була відзначена в дослідженнях зі злаковими та бобовими культурами [4].

Одним з можливих шляхів отримання селенозбагачених рослинних продуктів є пророщування зерна у селеновмісних водних розчинах [6]. Пророщування зерна і без участі мікроелементів покращує харчову цінність насіння, підвищує вміст вітамінів та якість білків.

Відомі на сьогодні засоби корекції селенодефіциту містять селен переважно у біологічно неоптимальній формі. Джерелом біодоступного селену можуть бути продукти рослинного походження, збагачені селеном.

Збагачення насіння зернобобових культур селеном проводили способом повітряно-водяного замочування дослідних зразків у водному розчині гідроселеніту натрію зі збереженням основних параметрів традиційного технологічного процесу. Гідроселеніт натрію вносили у кількості, необхідній для створення концентрації селену в розчині, - від 0,5 до 2,5 мкг/мл. Зерно замочували в отриманому розчині з розрахунку вмісту селену в солоді від 15 до 18 мкг/г сухого зерна.

Критерієм вибору оптимальної концентрації селену в замочувальному розчині при розробці способу одержання селеновмісного солоду був оптимальний вміст метаболізованого селену. Ступінь акумуляції мікроелемента зерном визначали як розрахунковим методом - за зниженням концентрації селену в розчині через 48 год. замочування, так і прямим методом у висушеному селенозбагаченому солоді. Перерахунок накопиченого селену проводили на суху масу солоду.

Про ступінь конверсії селену в органічну форму при пророщуванні насіння робили висновок на основі кількісного визначення вмісту мікроелемента в різних фракціях рослинної біомаси [3]. Фракціонування селенозбагаченого солоду сої проводили за методом, запропонованим співробітниками Інституту харчування РАМН і біологічного факультету МГУ ім. М.В. Ломоносова, з виділенням таких фракцій:

позаклітинна водна, яка містить адсорбовані мінеральні компоненти і (або) органічні компоненти у складі продуктів часткового лізису клітин;

**Таблиця 1. Вміст селену в солоді зернобобових культур, мкг/г абсолютно сухої маси при високих початкових концентраціях селену**

Зернобобові культури	Початкова концентрація селену, мкг/г вихідного зерна					
	20	100	200	300	400	500
Пшениця	19	89	132	148	156	175
Соя	20	97	171	241	315	412

**Таблиця 2. Вплив різної концентрації селену на процес акумуляції його насінням сої та проростання**

Показники	Початкова концентрація селену у розчині, мкг/мл				
	0	0,5	1,0	1,5	2,50
Відсоток проростання насіння, %	95	95	96	97	72
Вміст селену в пророслому насінні, мкг/г сухого зерна	0,05	4,0	8,0	20,0	40,0

• внутрішньоклітинна ліпофільна, яка містить ліпофільні селен-органічні сполуки та їхні комплекси з ліпідами, ліпопротеїнами;

• внутрішньоклітинна білкова, мікроелементи якої зв'язані з гідрофільними макромолекулами (у першу чергу з білками).

З метою вивільнення водної фракції проводили екстракційну обробку зразка рослинної біомаси (0,5-1 г) 100-кратним об'ємом 0,15 М NaCl з подальшим центрифугуванням (60 с<sup>-1</sup>, 10 хв.). Відмивання і центрифугування проводили декілька разів для отримання прозорого безбарвного центрифугату. Об'єднані центрифугати є позаклітинною водною фракцією.

До осаду додавали 100-кратну кількість метанолу і кип'ятили протягом 30 хв. у круглодонній колбі зі зворотнім холодильником. Охолоджений зразок центрифугували (60 с<sup>-1</sup>, 10 хв.), а подальшу обробку осаду метанолом проводили за допомогою струшувача з наступним розділенням за тих же умов декілька разів. Отриманий осад є внутрішньоклітинною білковою фракцією, об'єднаний супернатант - внутрішньоклітинною ліпофільною фракцією.

Визначення селену в зразках проводили з попередньою їхньою мінералізацією сумішшю концентрованих азотної та хлорної кислот.

Кількість селену в зразках озолоної біомаси або водних розчинах визначали флуориметричним методом з використанням 2,3-діамінонафталіну [8]. Метод є специфічним для визначення селенітів. Селеніт при рН 1,7-2 реагує з 2,3-діамінонафталіном, утворюючи яскраво забарвлений комплекс піазоселенол, який екстрагується з розчину циклогексаном. Визначення селену проводили на флуориметрі Turner у кварцовій кюветі об'ємом 3 см<sup>3</sup> при довжині хвилі збуджувального світла 369 нм і довжині хвилі емісії 525 нм. Концентрацію селену розраховували за допомогою калібрувального графіка, коефіцієнт кореляції якого дорівнював 0,99.

Відомо, що насіння сільськогосподарських культур може акумулювати досить значні кількості селену. З метою встановлення впливу мікроелемента в розчині

для замочування на процес проростання зерна становило інтерес дослідити можливість використання високих концентрацій мікроелемента на ступінь його накопичення насінням.

При вивченні впливу високих концентрацій селену як об'єкти дослідження використовували зерно сої та пшениці.

Замочування зразків проводили протягом 48 год. з наступним 96 год. пророщуванням, періодично зволожуючи зерно дистильованою водою.

Встановлено, що при перевищенні початкової концентрації 100 мкг на г зерна акумулююча здатність зернової маси досліджуваних зернобобових культур змінюється (табл. 1). Менш стійким до високих концентрацій селену виявилось зерно пшениці, й, починаючи з дози мікроелемента 150 мкг/г зерна, спостерігалось пригнічення розвитку проростання зерна. Насіння сої добре розвивалось навіть при високих концентраціях селену (300-500 мкг/г зерна). Можна припустити, що це пов'язано з більшою стійкістю бобової культури за рахунок біохімічного складу, а саме - за рахунок більшого вмісту сірковмісних амінокислот.

Відзначено, що з підвищенням концентрації селену в розчині відсоток акумуляції його зерном зменшується. Наприклад, для пшениці при початковій концентрації селену 200 мкг/г вихідного зерна акумульований селен становив 66%, а при концентрації 500 - 38%, для сої за тих же концентрацій селену відсоток накопиченого мікроелемента складав 86 та 82% відповідно.

Таким чином, визначено, що за рівнем накопичення селену насіння сої є перспективним об'єктом для одержання збагаченої селеном рослинної маси способом пророщування. Подальші дослідження проводили з використанням даної культури.

Основним критерієм вибору оптимальної концентрації селену в розчині для замочування насіння був відсоток проростання зерна після насичення його селеном.

Дослідні зразки насіння сої у кількості 1000 шт. замочували протягом 48 год. у розчинах з різною концентрацією селену від 0,5 до 2,5 мкг, що у перерахунку 1 г абсолютно сухої маси зерна становило 4-40

Таблиця 3. Розподіл селену в пророслому насінні сої

Показник	Відношення до загальної маси пророслого насіння	Вміст селену, мкг	
		на 1 г сухої маси	на 1 г загальної маси
Ростки	6,5	28,00	25,20
Сім'ядолі	93,5	12,25	11,51

мкг селену. Через 6 діб визначали відсоток пророслого насіння та ступінь акумуляції селену. Проведені дослідження (табл. 2) свідчать, що концентрації мікроелемента вищі за 1,5 мкг/мл пригнічують розвиток ростків у процесі солодоращення, що призводить до пліснявіння свіжопророслого солоду. При початковій концентрації селену в розчині 1,5 мкг/мл спостерігався найкращий ріст ростків, а накопичення селену було оптимальним.

З метою вивчення розподілу селену при пророщуванні насіння визначали вміст мікроелемента в різних частинах пророслого зерна. Для цього у висушеному пророслому насінні відділяли ростки від зернівки, визначали їхнє співвідношення у відсотках і проводили мокре озелення рослинного матеріалу. В підготовлених таким чином пробах визначали вміст селену флюориметричним методом. Після пророщування насіння сої співвідношення солодова маса - ростки становила 14,5:1 (табл. 3).

Отримані дані свідчать, що накопичення селену відбувається переважно в зеленій масі пророслого насіння, тобто в синтезованій рослинній тканині. Однак за смаковими властивостями ростки мають гіркий присмак, що перешкоджає використанню їх як добавки в харчові продукти. Враховуючи й те, що відсоток ростків до загальної маси проростків досить незначний, а в сім'ядолях вміст селену достатній, доцільним є використання сім'ядоль пророслої сої як збагачувача продуктів харчування доступною формою селену.

Важливим аспектом при отриманні селеновмісних рослинних добавок є визначення ступеню локалізації селену в білковій фракції солоду, оскільки відомо, що

Таблиця 4. Вміст селену в окремих фракціях селеновмісного солоду сої

Фракція	Вміст селену, мкг	
	мкг/г солоду	% до загального вмісту
Позаклітинна водна	4,10±0,51	22,8
Внутрішньоклітинна ліпофільна	1,15±0,10	6,4
Внутрішньоклітинна білкова	12,17±1,51	67,6
Сума	17,42±1,14	96,8

органічні сполуки мікроелементів є менш токсичними порівняно з неорганічними, краще засвоюються організмом і довше затримуються в ньому.

Для визначення кількості метаболізованого селену, що входить до складу рослинної біомаси, досліджували розподіл селену за фракціями селенозбагаченого солоду сої із загальним вмістом селену 18 мкг/г сухих речовин (табл. 4).

На основі фракційного аналізу насіння сої, збагаченого селеном у процесі пророщування, доведено, що в рослинному об'єкті селен на 74% міститься у складі внутрішньоклітинної фракції, у тому числі на 67-68% - у білковій фракції та на 6-7% - у ліпофільній. Це свідчить про високий ступінь конверсії селену в органічну форму.

Коефіцієнти варіації для паралельних визначень склали 9,1-12,4%. Матеріальний баланс за вмістом селену становить 96,8%, що свідчить про незначні втрати мікроелемента під час аналізу дослідного зразка, а отримані результати можна розглядати як достовірні.

Таким чином, на основі проведених досліджень можна припустити, що селен у солоді міститься в органічно зв'язаній з білками формі, тобто у складі сірковмісних амінокислот, що свідчить про трансформацію мікроелемента в процесі пророщування насіння. Розроблений селеновмісний солод сої може бути перспективним біологічно ефективним носієм селену для включення його як збагачувача до складу харчових продуктів оздоровчого та профілактичного призначення.

### Література

1. Блишохватов А.Ф. Селен в биосфере. - Пенза: изд-во Пензенской сельскохозяйственной академии, 2001. - 333 с.
2. Ермаков В.В., Ковальский В.В. Биологическое значение селена. - М.: «Наука», 1974. - 220 с.
3. Зарецкая Е.С., Гмошинский И.В., Зорин С.И. и др. Количественная оценка содержания органической формы микроэлемента селена в составе биомассы одноклеточной сине-зеленой водоросли *Spirulina platensis* //Биотехнология, 2003, №4. - С. 75-83.
4. Кабата-Пендиас А., Пендиас Х. Микроэлементы в почвах и растениях. - М.: «Мир», 1989. - 434 с.
5. Сучков Б.П., Бардов В.Г. Розповсюдження мікроелемента селену в об'єктах навколишнього середовища на території України та його вплив на здоров'я населення //Проблеми медицини, 1999, №5. - С. 5559.
6. Lintschinger J., Fuchs N., Moser J., Kuehnelt D., Goessler W. Selenium-enriched sprouts. A raw material for fortified cereal-based diets //J. Agric. Food. Chem. - 2000. - V.48. - №11. - P. 5362-5368.
7. Makela A.L., Wang W.C., Hamalainen M., Nanto V., Laiho P., Kotilainen H., Meng L.X., Makela P. Environmental effects of nationwide selenium fertilization in Finland //Biol. Trace. Elem. Res. - 1995.-V.47. - №1-3. - P. 289-298.
8. Standart methods for examination of water and wastewater, 18th edition. //American public health association. - 1992. - P. 3-90.