

# ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

## ИЗМЕНЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИЙ НЕКОТОРЫХ ХИМИЧЕСКИХ ЭЛЕМЕНТОВ В КЛЕТКАХ *SPIRULINA PLATENSIS* ПРИ ДОБАВЛЕНИИ В СРЕДУ СЕЛЕНА

### EFFECT OF SELENIUM ADDED TO THE CULTIVATION MEDIUM ON THE CONCENTRATION OF SOME CHEMICAL ELEMENTS IN *SPIRULINA PLATENSIS* CELLS

А.Х. Тамбиев<sup>1</sup>, Н.Н. Кирикова<sup>1</sup>, О.А. Лябушева<sup>1</sup>, А.В. Скальный<sup>2</sup>  
A.Kh. Tambiev<sup>1</sup>, N.N. Kirikova<sup>1</sup>, O.A. Lyabusheva<sup>1</sup>, A.V. Skalny<sup>2</sup>

<sup>1</sup> МГУ им. М.В.Ломоносова, Воробьевы горы, д.1, корп.12, Москва, 119899 Россия.

<sup>2</sup> АНО “Центр Биотической медицины”, а/я 56, Москва 125047 Россия.

<sup>1</sup> MSU by M.V.Lomonosov, Vorobjevi gori, h.1, bld. 12, Moscow 119899 Russia.

<sup>2</sup> ANO “Centre for Biotic Medicine”, P.O. Box 56, Moscow 125047 Russia.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: *Spirulina*, селен, селенит натрия, микроэлементы, макроэлементы.

KEY WORDS: *Spirulina*, selenium, sodium selenite, trace elements, major elements.

**РЕЗЮМЕ:** В результате проведения ряда экспериментов по обогащению клеток цианобактерии *S. platensis* неорганическим селеном была установлена зависимость между внутриклеточным содержанием Se и концентрацией макро- и микроэлементов, входящих в группу эссенциальных Mn, Ca, Fe, Mg, K, Na и Al (микроэлемент с неустановленной ролью). Подобных данных по изменению элементного состава в клетках фотосинтезирующих микроорганизмов при введении какого-либо микроэлемента в доступной нам литературе не обнаружено.

Установлено, что при добавлении  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  в lag- и стационарную фазы концентрация ряда химических элементов была значительно выше, чем при введении в фазу активного роста культуры (логарифмическая фаза).

**SUMMARY:** A series of experiments in enrichment of *Spirulina platensis* cells with inorganic selenium was performed. As a result, the dependence between content of selenium and that of other essential major and trace elements (Mn, Ca, Fe, Mg, K, Na and Al) in the cyanobacterium cells was established. Search in the literature available to us revealed no similar data concerning alteration of element composition of photoautotrophic organism's cell.

It was found that, the addition of  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  to the lag- or stationary phase culture results in significantly higher concentration of certain chemical elements in the cells than could be achieved by means of  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  addition during logarithmic phase of the culture growth.

## Введение

Цианобактерия *Spirulina (Arthrospira) platensis* (Nordstedt) Geitler находит в настоящее время все большее применение в фотобиотехнологии и используется, в частности, в качестве биологически активной добавки (БАД). Сочетание пластичности метаболизма и биомассы, богатой белком, витаминами,  $\beta$ -каротином, микроэлементами делает эту цианобактерию несомненным лидером из числа остальных представителей фитопланктонных сообществ, используемых в фотобиотехнологии.

За последнее время накопилось некоторое количество работ по включению эссенциального микроэлемента селена в клетки *Spirulina* (Тамбиев и др., 1997; Тамбиев, Кирикова, 2000; Тамбиев и др., 2002). Цикл Se в биосфере осуществляется с участием живых организмов, причем значительная роль принадлежит низшим растениям и микроорганизмам (Решетник, Парфенова, 2001). При дефиците селена в рационе питания человека могут возникать следующие изменения: снижение иммунитета, повышение склонности к воспалительным заболеваниям, болезни кожи, волос, ногтей (Скальный, Кудрин, 2000). Селен является необходимым компонентом глутатион-пероксидазы — фермента, защищающего клетки от повреждений, связанных со свободными радикалами и перекисью водорода (Stone et al., 1989). Кроме того, необходимо отметить, что селен — антагонист таких тяжелых металлов, как Cd, As, Pb, органических и неорганических соединений

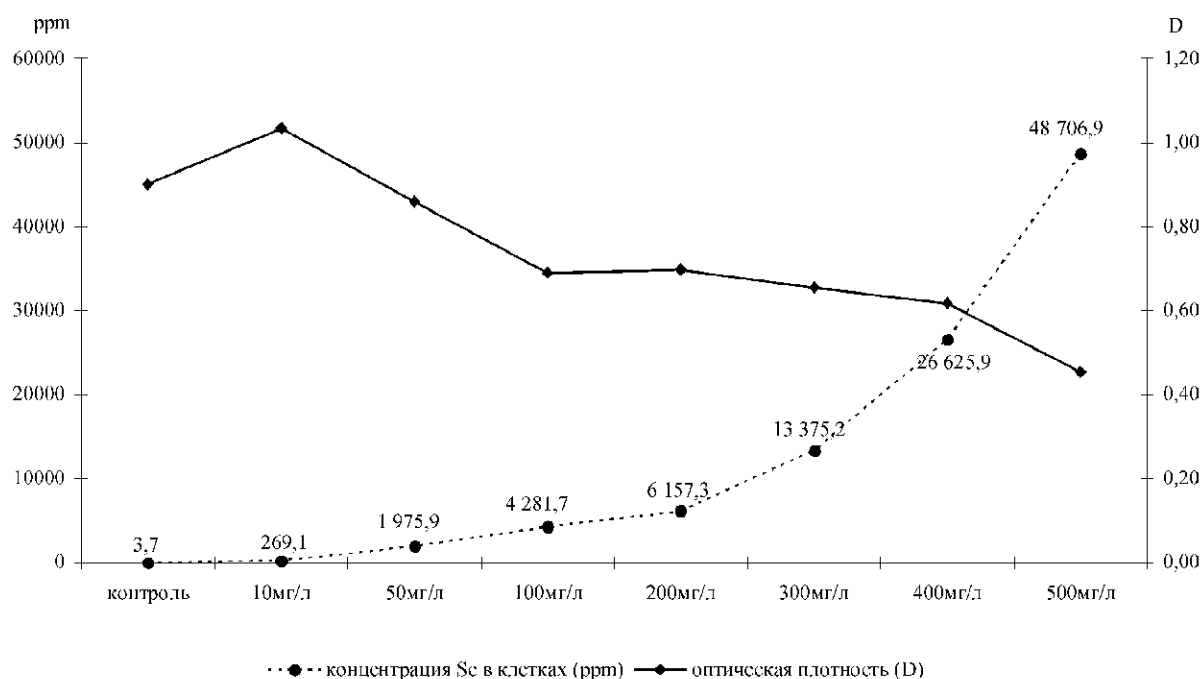


Рис. 1. Биомасса *S. platensis* и концентрация органического селена в клетках в зависимости от концентрации  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  в среде.

Hg. Адекватное потребление Se с пищей снижает их действие (Кудрин и др., 2000).

Из литературных источников известно о взаимном влиянии микроэлементов (синергизм и антагонизм) в организме млекопитающих (Скальный, Кудрин, 2000). В доступной нам литературе данных по изменению элементного состава в клетках фотосинтезирующих микроорганизмов под воздействием других микроэлементов не обнаружено.

Поэтому было интересно определить действие разных концентраций селена на изменение концентрации других химических элементов в биомассе *S. platensis*.

### Материалы и методы

Для исследования использовали культуру цианобактерии *S. platensis*, выращенную на качалке (105 об/мин), при постоянном освещении (16,4 мкмоль  $\text{Ч м}^{-2}\text{с}^{-1}$ ), на среде Зарука (температура — 30–32°C, pH — 9–10), в течение 21 суток.

Неорганическую соль, содержащую Se,  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  вносили в культуру в разных концентрациях на различных стадиях роста. Повторность каждой концентрации была 4-кратной. По окончании культивирования определяли биомассу нефелометрическим методом и pH среды. Клетки отделяли от культуральной жидкости фильтрованием, затем высушивали при  $t = 105^\circ\text{C}$ . Концентрации Se в клетках и культуральной жидкости определяли атомно-абсорбционным методом.

### Результаты и обсуждение

Рост *S. platensis* характеризуется S-образной кривой, которая включает: lag-фазу (адаптация к новой среде: 1–3-и сутки роста), логарифмическую фазу (рост с максимальной скоростью: 3–15-е сутки), стационарную фазу (образование новых клеток замедляется и прекращается: после 16–18 суток).

Для оценки изменения элементного состава под действием разных концентраций Se было рассмотрено 23 химических элемента, определяемых в клетках *S. platensis*: Al, As, Be, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Na, Ni, P, Pb, Se, Si, Sn, Ti, V, Zn.

При введении  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  в логарифмическую стадию роста культуры в концентрациях 10, 50, 100, 200, 300, 400, 500 мг/л мы наблюдали (на 21 сутки роста) активное включение Se в клетки *S. platensis*, при этом было отмечено незначительное влияние на прирост биомассы спирулины введение начальной концентрации 10 мг/л  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ , а с увеличением концентраций прирост пропорционально снижался. Наибольшее включение Se наблюдали при введении 500 мг/л  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ , но количество биомассы при этом составило 56% от контроля (рис. 1).

При рассмотрении общего элементного состава клеток было отмечено, что увеличение содержания Se приводило к увеличению концентраций: Ca, Mg, Al, Mn, Fe и снижению концентрации K и Na (рис. 2–4). Как видно, концентрация Mn и Al в клетках коррелировала с увеличением содержания Se. Незначительное увеличение концентраций для

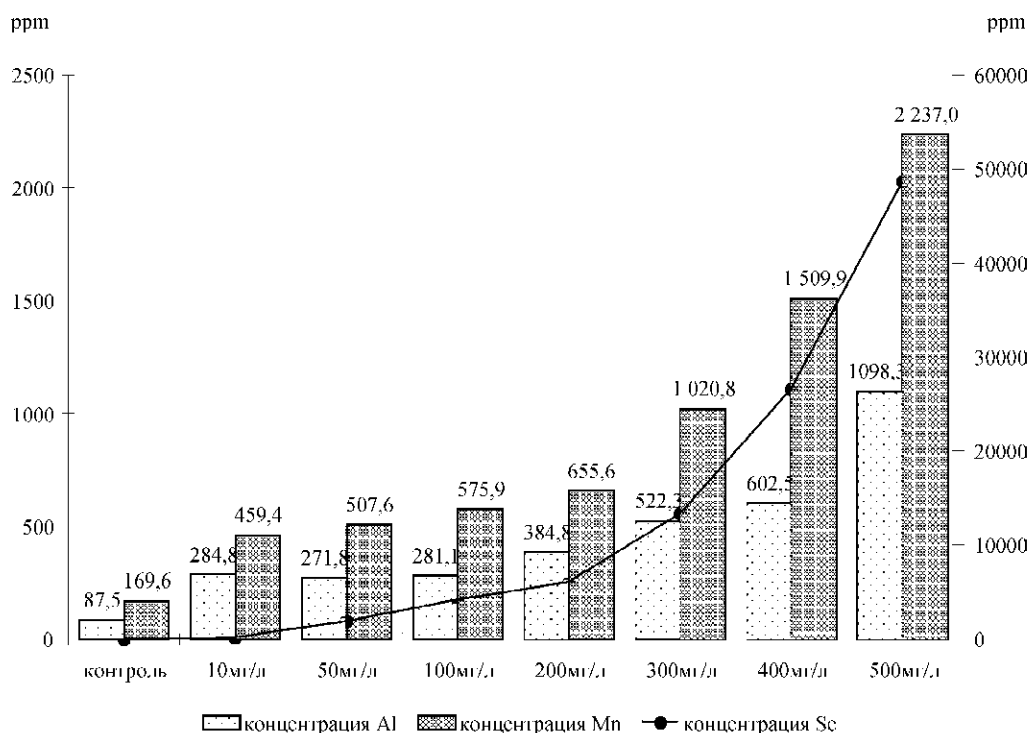


Рис. 2. Концентрация Al и Mn в клетках *S. platensis* в зависимости от концентрации  $Na_2SeO_3$  в среде.

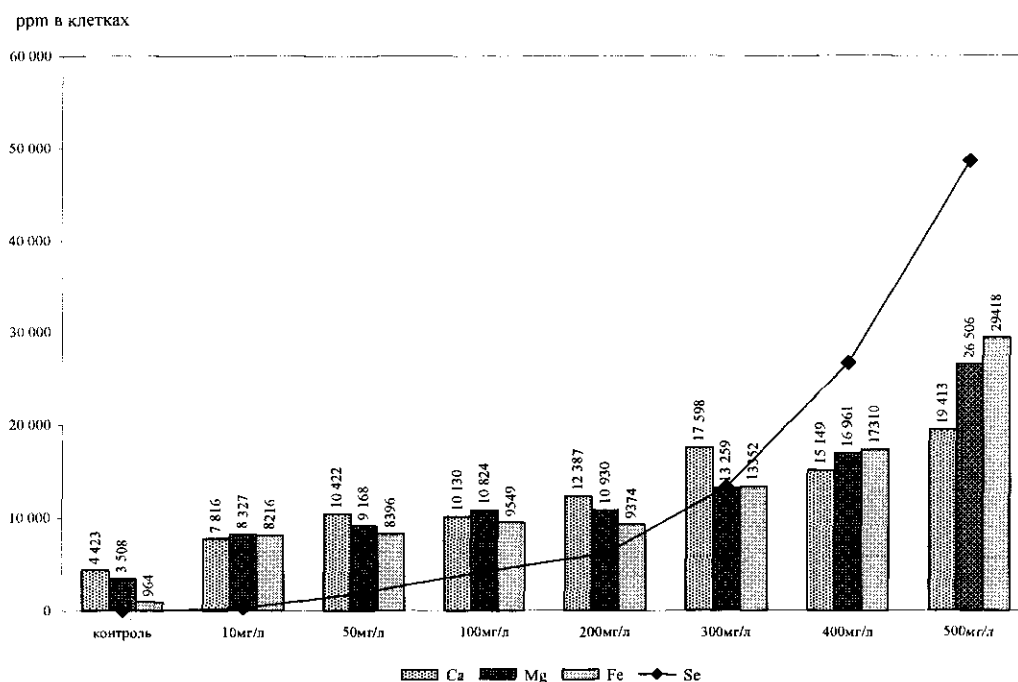


Рис.3. Концентрация Ca, Mg и Fe в клетках *S. platensis* в зависимости от концентрации  $Na_2SeO_3$  в среде.

данных микроэлементов наблюдали при введении 10, 50 и 100 мг/л, в то время как введение 300, 400 и 500 мг/л неорганического селена значительно усиливало поглощение этих микроэлементов. При максимальной концентрации Se — 48706,9 ppm (введение 500 мг/л  $Na_2SeO_3$ ) концентрация Al и Mn были

больше контроля в 12,6 и 13,3 раза (соответственно) (рис. 2).

Меньшее увеличение концентраций наблюдали для Ca и Mg (в 4,4 и 7,6 раза соответственно, по отношению к контролю), в то время как наибольшим изменениям подвергался микроэлемент Fe (уве-

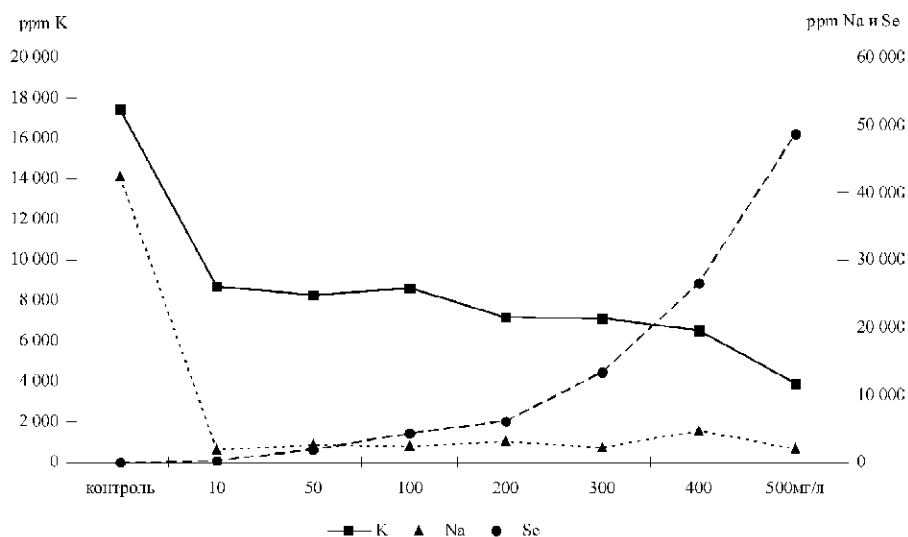


Рис.4. Концентрация K и Na в клетках *S. platensis* в зависимости от концентрации  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ .

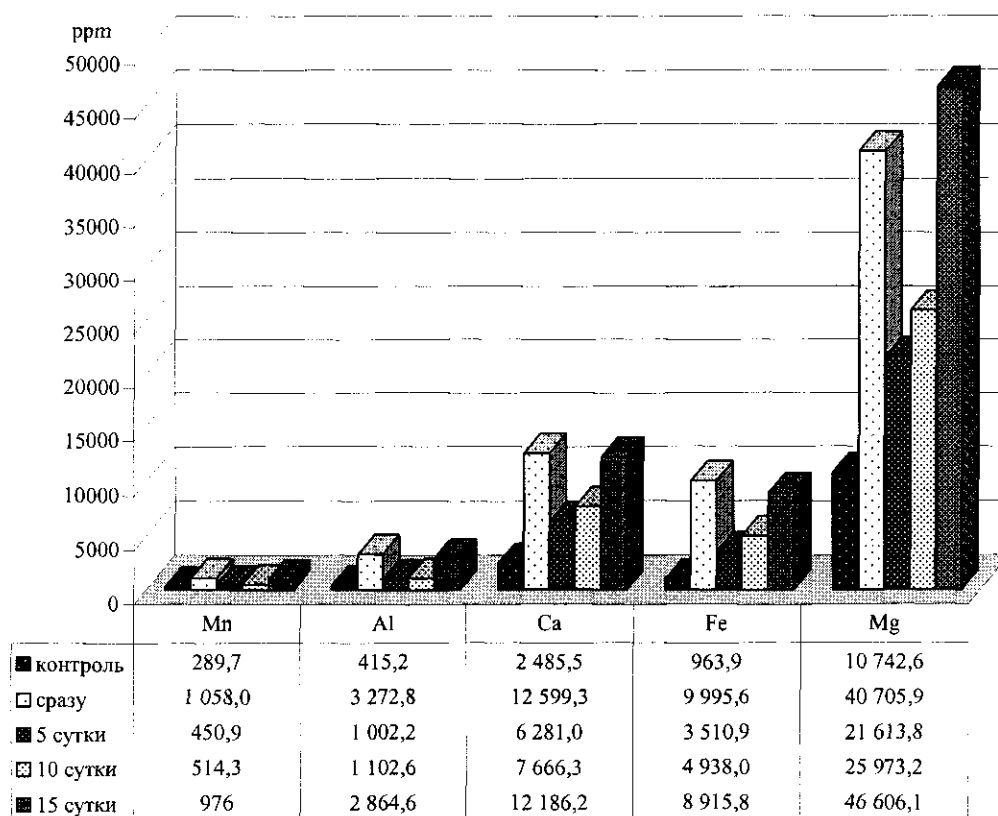


Рис.5. Концентрация Mn, Al, Ca, Fe, Mg в клетках *S. platensis* в зависимости от сроков введения  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  (100 мг/л) в среду.

личение в 30,5 раз по отношению к контролю) при добавлении 500 мг/л неорганического селена в среду (рис. 3).

Нами не была выявлена зависимость между концентрацией Se и концентрациями Cr, V и Zn — при введении 10, 50 и 100 мг/л  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ , при последую-

щем увеличении концентрации  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  (200, 300, 400 и 500 мг/л) содержание микроэлементов в клетках пропорционально увеличивалось.

Обратная зависимость была отмечена для K и Na: с увеличением концентрации Se в клетках *Spirulina* концентрация K и Na уменьшалась (рис. 4).

Наибольшее уменьшение концентрации К и Na по отношению к контролю (в 2 раза) отмечалось при добавлении уже 10 мг/л с последующим незначительным снижением. Конечная концентрация К (при максимальном добавлении  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ) снизилась в 4,4 раза по отношению к контролю.

Нами исследовалось введение  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  (100 мг/л) в разное время культивации. Неорганический селен добавляли сразу при посеве, на 5, 10 и 15-е сутки роста. При этом мы установили (на 21-е сутки роста), что большее включение для Mn, Al, Ca, Fe, Mg характерно при введении селенита натрия в lag-фазу и стационарную фазу, а во время активного роста культуры (экспоненциальная фаза) значения были ниже (рис. 5). Результаты проведенных исследований позволяют сделать вывод, что на фоне увеличения концентрации Se в клетках происходит увеличение содержания Ca, Mg, Al, Mn, Fe, Cr, V, Zn, и уменьшение К и Na, кроме того, на изменение общего элементного состава клеток *Spirulina* влияет не только концентрация Se, но и время введения  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ .

## Литература

- Кудрин А.В., Скальный А.В., Жаворонков А.А., Скальная М.Г., Громова О.А. 2000. Иммунофармакология микроэлементов. М.: изд-во КМК. 537 с.
- Решетник Л.А., Парфенова Е.О. 2001. Биогеохимическое и клиническое значение селена для здоровья человека / Микроэлементы в медицине. Т.2. Вып.2. С.2–8.
- Скальный А.В., Кудрин А.В. 2000. Радиация, микроэлементы, антиоксиданты и иммунитет (микроэлементы и антиоксиданты в восстановлении здоровья ликвидаторов аварии на ЧАЭС). М.: изд-во Лир Макет. 421 с.
- Тамбиев А.Х., Кирикова Н.Н., Мазо В.К., Скальный А.В. 1997. Способ получения селеносодержащего препарата биомассы спирулины. Патент РФ 2096037Ю класс А 61 33/04, 1997.
- Тамбиев А.Х., Кирикова Н.Н. 2000. Аккумуляция селена микроводорослями цианобактериями // Экология моря. Вып.54. С.38–41.
- Тамбиев А.Х., Кирикова Н.Н., Лябушева О.А. 2002. Включение селена и меди в клетки цианобактерий *Spirulina platensis* и *Spirulina maxima* и эффект КВЧ-излучения. // Материалы Х юбилейной международной конференции и дискуссионного клуба “Новые информационные технологии в медицине и экологии”. С. 268–471.
- Stone J., Hinks L.J., Beasley R., Holgate S.T., Clayton B.A. 1989. Reduction selenium status of patients with asthma / Clin. Sci. Vol.77. No.5. P.495–500.