NOI PREMIXURI FURAJERE ÎN BAZA BIOMASEI DE SPIRULINĂ CU SELEN

Valeriu RUDIC, Svetlana DJUR, Liliana CEPOI, Tatiana CHIRIAC, Ludmila RUDI, Svetlana CODREANU, Viorica GHELBET
Institutul de Microbiologie şi Biotehnologie al Academiei de Ştiinţe a Moldovei, Str. Academiei 1, MD 2028, Chişinău, R. Moldova
e-mail: acadrudic@yahoo.com

Abstract There have been proposed the recipesfor preparing two feed premixes with organic selenium according to the sourceofinorganicseleniumused: "Spirulina with organic selenium 1 and 2" and "protein feed premix with organic selenium 1 and2". The proposedpremixescomprise amulticomponent synergisticcombination in case of the first technological recipe and Spirulina extract containing freea mino acids, oligopeptides and selenium-containing proteinsin case of the second recipe exhibiting significant anti-oxidantactivity andimmunomodulatory effect.

Cuvinte chie: Spirulina platensis, biomasa selenorganică, premix selencomponent

Introducere

Utilizarea largă în ultimii ani a microelementelor este determinată de creşterea unor factori de risc ai deficienţei în microelemente în rezultatul acţiunii asupra animalelor a diferitor factori interni şi externi, precum şi a acţiunilor energetice asupra organismului animal. La factorii care iniţiază dezvoltarea lor se referă şi acţiunea asupra animalelor agricole a ecopatogenilor mediului înconjurător, stresurile psihoemoţionale, nutriţia industrială contemporană, utilizarea necontrolată şi nefundamentată a preparatelor medicamentoase veterinare, ş. a.

Datorită influenţelor tot mai mari stresogene, dar şi din cauza unei hrane insuficient de echilibrate şi valoroase nutritiv, la introducerea pe piaţa veterinară şi utilizarea furajelor se discută asupra utilizării suplimenteleor nutritive, dietetice şi premixurilor/preamestecuri – amestecurilor de aditivi furajeri sau amestecuri ale unuia ori mai multor aditivi furajeri cu materii prime furajere sau apă, utilizate ca suport, ce nu sunt destinate hrănirii directe a animalelor. Vom menţiona că "aditivii furajeri" pot constitui substanţele, microorganismele sau preparatele, altele decât materiile furajere şi premixurile, ce sunt adăugate intenţionat în hrana pentru animale sau în apa de băut care au un efect pozitiv asupra caracteristicilor furajului; să aibă un efect pozitiv asupra caracteristicilor produselor de origine animală; să răspundă nevoilor nutriţionale ale animalelor; să aibă un efect pozitiv asupra consecinţelor ecologice ale producţiei animale; să aibă un efect pozitiv asupra producţiei, randamentului sau bunăstării animalelor, influenţând în special flora gastrointestinală ori digestibilitatea produselor furajere.

Utilizarea biomasei cianobacteriene şi microalgale în calitate de adaos la hrana animalelor este deja cunoscută, rezultatele acestor investigaţii experimentale demonstrând perspectiva valorificării acesteia în calitate de premix furajer [11,14]. Cantitatea de biomasă microalgală sau cianobacteriană care de obicei se utilizează în calitate de adaos este destul de mică. Efectul obţinut, însă este destul de pronunţat şi apreciat ca semnificativ, iar principalele avantaje în favoarea eficacităţii biologice înalte a biomasei de spirulină şi a complexelor obţinute din ea sunt: prezenţa în complexul multicomponent de substanţe esenţiale a legăturilor sinergice pronunţate, prezenţa în complexul dat a substanţelor rar întâlnite în natura – compuşii care-i sunt caracteristici, posibilitatea păstrării spirulinei în stare naturală, precum şi digestibilitatea ridicată a biomasei de *Spirulina* de către organismul animal [1-4, 7, 9].

În aceeaşi ordine de idei, în calitate de componente ale premixurilor pot fi şi compuşii, sau fracţiile complexe extrase din biomasa cianobacteriană şi microalgală. Pornind de la faptul că aceşti compuşi sau fracţii complexe bioactive sunt implicate în transformarea selenului neorganic în organic, acestea oferă oportunitatea obţinerii unor premixuri selenorganice cu o eficacitate şi biodisponibilitate înaltă.

Scopul studiului constă în propunerea de premixurilor selencomponente în baza biomasei de spirulină.

Materiale şi metode

Materialul de cercetare: Tulpina cianobacteriei *Spirulina platensis CNMN – CB-11*, cultivată pe mediul nutritiv mineral SP în prezenţa unor compuşi chimici ai seleniului şi în condiţiile care asigură acumularea maximală a acestui element biogen în biomasă [13].

Conţinutul de selena fost determinat conform GOST R 51309-99 „Drinking water. Determination of elements content by atomic spectrometry methods".

În biomasa de spirulină au fost determinat **conţinutul de protein**, **ficobiliproteine**, **glucide** şi lipide cu aplicarea metodelor spectrofotometrice [11-13].

Activitatea antioxidantăa premixurilor selenorganicea fost evaluată prin aplicarea testului cu utilizarea radicalului non biologic ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid [10].

Rezultate şi discuţii

Selenul este unul din microelementele indispensabile pentru organism, principalul rol al căruia este cel antioxidant [6, 8]. Este parte componentă a glutation peroxidazei, familie de enzime ce catalizează degradarea hidroperoxizilor organici rezultaţi din procesele metabolice normale şi asigură protecţia proteinelor, lipidelor şi acizilor nucleici faţă de acţiunea moleculelor oxidante. Protejând membranele celulare, selenul împiedică deformarea lor şi perturbarea structurii ADN, restabileşte celulele şi contribuie la creşterea celulelor noi, sănătoase şi

intacte. Toate acestea contribuie la prevenirea sensibilităţii organismului faţă de afecţiunile cutanate, endocrine, hepatice, cardiovasculare, pulmonare, creşterea şi dezvoltarea tumorilor, şi alte modificări degenerative legate de acestea [5, 6, 8]. Asigură reglarea nivelului hormonilor tiroidieni şi masculini. Modulează toxicitatea metalelor grele prin interacţiunea cu acestea, contribuind la detoxifierea organismului. Ajută la formarea anticorpilor.

Au fost proiectate şi executate investigaţii în cadrul cărora a fost studiată posibilitatea utilizării cianobacteriei *Spirulina platensis* în calitate de matrice pentru obţinerea compuşilor organici biogeni ai selenului. Aceste cercetări au soldat cu selectarea din şirul compuşilor neorganici ai selenului testaţi a *selenidului de germaniu* şi *selenitului de fier* – compuşi al selenului, utilizarea cărora la cultivarea spirulinei asigură obţinerea unei biomase cu un conţinut sporit de selen biotransformat. Astfel, biomasa obţinută în condiţiile optime stabilite pentru acumularea selenului, prezintă un nivel înalt de selen acumulat: 378 mg% selen dintre care 271 mg% selen biotransformat (circa 71,7%) în cazul selenidului de germaniu; 694mg% selen dintre care 519 mg% selen biotransformat (circa 74,8%) în cazul selenitului de fier. Dintre toate fracţiile biomasei obţinute, proteinele au demonstrat cea mai înaltă capacitate de a lega seleniul – 27,2% (selenidul de germaniu) şi 28,5% (selenitul de fier hexahidrat), constituind forma majoră a seleniului organic. Totodată, şi în extractul care conţine aminoacizi liberi, oligopeptide ş.a. compuşi similari a fost determinat un conţinut înalt al seleniului – 23,8 % (selenidul de germaniu) şi 26,8% (selenitul de fier hexahidrat) din seleniul organic acumulat în biomasa de spirulină. Un conţinut considerat apreciabil de seleniu a fost determinat şi în fracţia lipidelor – 10,5% (selenitul de fier hexahidrat) şi 12,8% (selenidul de germaniu), dar şi în fracţia polizaharidelor – 8,0% (selenidul de germaniu) şi 9,0% (selenitul de fier hexahidrat).

Astfel, în cazul cercetărilor efectuate, se obţine biomasa de spirulină bogată în selen bioorganic. Aceasta reprezintă o complexitate de compuşi biogeni ce conţin selenul ca parte componentă efectivă cu funcţii biologice bine determinate. Totodată, fracţiile de compuşi biologic activi ai spirulinei care participă la procesul de biotransformare a selenului, pot fi considerate drept componente eficiente ale premixurilor selencomponente.

În tabelul 1. este redată compoziţia biomasei de spirulină după principalii compuşi biologi activi, implicaţi în procesul de biotransformare a selenului în biomasă. Astfel, conform datelor analizei calităţii biomasei de spirulina selenorganice, atât biomasa selencomponentă obţinută la cultivarea spirulinei în prezenţa selenitului de fier, cât şi biomasa selencomponentă obţinută la cultivarea spirulinei în prezenţa selenidului de germaniu se caracterizează printr-un conţinut echilibrat de compuşi biologic activi. Conţinutul proteinelor, substanţe cu efect nutriţional valoros variază în limitele a circa 50-52%%, cel al ficobiliproteinelor între

8,6-9,8%, dintre care circa 3,9-4,8% revine C-ficocianinei, antioxidant sinergist selenului. Conţinutul polizaharidelor şi al lipidelor constituie circa 11,4-12,9% şi, respectiv circa 6,5-8,85% din conţinutul total al biomasei selenorganice. Astfel, biomasa de spirulină selenorganică nu prezintă abateri majore de la compoziţia biomasei de spirulina obţinută în condiţii fără adăugare de compuşi ai selenului, şi poate fi utilizată în calitate de premix furajer selenorganc.

Tabelul 1.

Compoziţia biomasei de spirulină selenorganice (100g biomasă)

Componentele biomasei, care participă la biotransformarea selenului	**Spirulina selenorganică-1***	**Spirulina selenorganică-2****	**Spirulina**
Aminoacizi liberi	3,7%	3,2%	2,0%
Oligopeptide	8,4%	7,8%	8,9%
Proteine	52,15%	50,20%	65,2%
Ficobiliproteide	9,78%	8,60%	12,45%
Polizaharide	12,9%	11,45%	13,95%
Lipide	8,85%	6,50%	5,5%
C-Ficocianina	4,8%	3,98%	8,5%
Se	0,69%	0,378%	0,00015%

*– În calitate de sursa de Se la cultivarea spirulinei a fost utilizat selenitul de fier;
** – În calitate de sursa de Se la cultivarea spirulinei a fost utilizat selenidul de germaniu

Pornind de la faptul că atât biomasa de spirulină, prin o mare parte din compuşii săi, cât şi selenul sunt componente antioxidante, a fost studiată activitatea antioxidantă a biomasei selenorganice de spirulină. Rezultatele determinării activităţii antioxidante în testul cu utilizarea radicalului non biologic ABTS sunt redate în tabelul 2.

Tabelul 2.

Activitatea antioxidantă a biomasei de spirulina selenorganice

Biomasa procesată:	**Activitatea antioxidantă, ABTS*+, % inhibiţie**
Biomasa de spirulina	62%
Biomasa de spirulina selenorganică -1	82%
Biomasa de spirulina selenorganică -2	72%

Rezultatele obţinute indică asupra faptului, că biomasa selenorganică se caracterizează prin activitate antioxidantă înaltă, determinată de componenţii biologic activi ai acesteia. Este de menţionat că selenul (dar şi cu aportul fierului şi germaniului) contribuie la creşterea activităţii antioxidante a biomasei de spirulina selenorganice elaborate. Este un indiciu foarte important deoarece biomasa selenorganică urmează a fi utilizată în calitate, dar şi ca sursă de premixuri furajere care se caracterizează nu doar prin activitate antioxidantă înaltă, ceea ce permite să presupunem un efect benefic asupra proceselor metabolice la animale.

Astfel, primele două compoziţii ale reţetelor de premixuri selenorganice sunt prezentate în tabelul 3. şi redau integritatea biomasei de spirulina ce conţine în cantităţi suficiente compuşi biologic activi selencomponenţi cu o valoare nutritivă echilibrată şi o activitate antioxidantă înaltă.

Tabelul 3.

Reţetele premixurilor furajere în baza biomasei de spirulină selenorganică

Compoziţia reţetelor	**Reţeta 1: Spirulina selenorganică-1***	**Reţeta 2: Spirulina selenorganică-2****
Aminoacizi liberi	*3,7g*	*3,2g*
Oligopeptide	*8,4g*	*7,8g*
Proteine	*52,15g*	*50,20g*
Ficobiliproteide	*9,78g*	*8,60g*
Polizaharide	*12,9g*	*11,45g*
Lipide	*8,85g*	*6,50g*
C-Ficocianina	*4,87g*	*3,98g*
Se	***0,694g***	***0,378g***
Activitatea antioxidantă	***82%***	***72%***

Rezultatele experimentale au demonstrat că din cantitatea totală – 378-694 mg% selen circa 271-519 mg% reprezintă seleniul biotransformat, ceea ce constituie circa 71,7– 74,8%. Din acest % total al seleniului biotransformat cea mai mare capacitate de a transforma seleniul în organic au demonstrat-o proteinele: proteinele 27,2% (selenidul de germaniu) şi 28,5 (selenitul de fier hexahidrat), constituind forma majoră a seleniului organic. Totodată, şi în extractul care conţine aminoacizi liberi, oligopeptide ş.a. compuşi similari a fost determinat un conţinut înalt al seleniului – 23,8 % (selenidul de germaniu) şi 26,8% (selenitul de fier hexahidrat) din seleniul organic acumulat în biomasa de spirulină. Din aceste considerente, dar şi în baza faptului că aceste componente ale spirulinei formează valoarea nutritivă deosebit de valoroasă a spirulinei, am decis ca următoarele două

compoziţii de premixuri să fie formulate în baza acestor două fracţii de compuşi biologic activi selenortganici. Compoziţia reţetelor este redată de tabelul 4.

Tabelul 4.

Reţetele premixurilor furajere în baza fracţiilor bioactive selenorganice din spirulina

Compoziţia reţetelor	**Reţeta 1: Premix furajer proteic selenorganic-1***	**Reţeta 2: Premix furajer proteic selenorganic -2****
Extract din spirulina (Aminoacizi liberi şi oligopeptide)	*1,0g ce conţine* ***1,4mg Se***	*1,0g ce conţine* ***0,7mg Se***
Extract de proteine	*1,0g ce conţine* ***1,3mg Se***	*1,0g ce conţine* ***0,6mg Se***
Activitatea antioxidantă	***80,25%***	***67,45%***

Concluzii

1. Cele 2 reţete de premixuri furajere selenorganice elaborate şi variantele lor în funcţie de sursa de selen neorganic utilizată: premixurile"spirulina selenorganică 1 şi 2" şi " premixul furajer proteic selenorganic 1 şi 2" sunt produse de origine vegetală ce constau dintr-o combinaţie sinergică multicomponentă selenorganică în cazul primei reţete tehnologice şi din extractul de spirulina ce conţine aminoaacizii liberi, oligopeptide şi proteine selencomponente din spirulina cu activitate antioxidantă pronunţată şi imunomodulatoare efectivă.

2. Cele 2 tehnologii elaborate redau fluxul tehnologic integrat de obţinere a premixurilor furajere selenorganice în baza biomasei de spirulina îmbogăţită cu selen şi în baza fracţiilor de principii biologic active selencomponente. Tehnologiile sunt reproductibile, cost eficiente non toxice şi prietenoase mediului şi valorifică materii prime cu posibilităţi de producere în condiţii contolate.

Bibliografie

1. Cases, J., Wysocka, I. A., & Caporiccio, B. Assessment of selenium bioavailability from high-selenium *Spirulina* subfractions in selenium deficient rats. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2002, no. 50, p.3867–3873.
2. Chen T., Wong Y-S., Zheng W. Prification and characterization of selenium-containing phycocyanin from selenium-enriched *Spirulina platensis*. Phytochemistry 2006, no. 67, p. 2424-2430.

3. Chen T., Zheng W., Wong Y-S., Yang F., Bai Y. Accumulation of selenium in mixotrophic culture of *Spirulina platensis* on glucose. Bioresource Technology. 2006, no. 97, p.2260-2265.
4. Chen T., Zheng W., Yang F., Bai Y., Wong Y-S. Mixotrophic culture of high selenium-enriched *Spirulina platensis* on acetate and the enhanced production of photosynthetic pigments Enzyme and Microbial Technology. 2006, no.39, p. 103–107
5. Duffield-Lillico, A. J., et al. Baseline characteristics and the effect of selenium supplementation on cancer incidence in a randomized clinical trial A summary report of the nutritional prevention of cancer trial. Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention, 2002, no. 11, p.630–639.
6. Ip, C., et al. Chemical speciation influences comparative activity of selenium-enriched garlic and yeast in mammary cancer prevention.Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2000, vol. 48, p. 2062–2070.
7. Li, Z. Y., Guo, S. Y., & Li, L. Bioeffects of selenite on the growth of *Spirulina platensis* and its biotransformation. Bioresource Technology, 2003, vol. 89, p.171–176.
8. Miller S., et al. Selenite protects human endothelial cells from oxidative damage and induces thioredoxin reductase. Clin. Sci. 2001, no. 100, p. 543–550.
9. Mosulishvili L. M., Kirkesali E. I., & Belokobylsky A. I. Experimental substantiation of the possibility of developing selenium and iodine-containing pharmaceuticals based on blue-green algae *Spirulina platensis*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2002, vol. 30, p.87–97.
10. Re R., et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. In: Free Radical Biology & Medicine, 1999, vol.10, p. 1231-1237.
11. Rudic V. Aspecte noi ale biotehnologiei moderne. Chişinău: Ştiinţa, 1993. 140 p.
12. Rudic V., ş.a. Metode de investigaţii în ficobiotehnologie. Chişinău: Ştiinţa, 2002. 61 p.
13. Rudic V. Tulpina *Spirulina platensis (Nordst) Geitl* în calitate de sursă de substanţe biologic active. Brevet de invenţie MD 4122. 2012-02-29.
14. Rudic, V. ş.a. Ficobiotehnologie –cercetări fundamentale şi realizări practice. Chişinău: Elena VI, 2007, 362 p.