

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ДВНЗ «ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО»**

ВІНЯРСЬКА ГАЛИНА БОГДАНІВНА

УДК 577.121:582.263+[546.23+577.118]

**НАКОПИЧЕННЯ СЕЛЕНУ ТА ЙОГО ВПЛИВ НА МЕТАБОЛІЗМ
У *CHLORELLA VULGARIS* ВЕІ. В КУЛЬТУРІ
ЗА ДІЇ СЕЛЕНІТУ НАТРІЮ ТА ЙОНІВ МЕТАЛІВ**

03.00.04 – біохімія

АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Тернопіль – 2016

Дисертацією є рукопис

Робота виконана в Тернопільському національному педагогічному університеті імені Володимира Гнатюка Міністерства освіти і науки України

Науковий керівник – доктор біологічних наук, професор
Грубінко Василь Васильович,
Тернопільський національний педагогічний університет імені В. Гнатюка МОН України,
завідувач кафедри загальної біології та методики навчання природничих дисциплін

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук, доцент
Калінін Ігор Васильович,
Національний педагогічний університет імені М.П. Драгоманова МОН України,
завідувач кафедри хімії

кандидат біологічних наук, доцент
Ястремська Світлана Олександрівна,
Державний вищий навчальний заклад
«Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України»,
директор навчально-наукового інституту медсестринства

Захист дисертації відбудеться «11» травня 2016 р. о 14⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради К 58.601.04 в ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського» за адресою: 46000, м. Тернопіль, Майдан Волі, 1.

Із дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського» за адресою: 46000, м. Тернопіль, вул. Січових Стрільців, 8.

Автореферат розісланий «08» квітня 2016 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради К 58.601.04
кандидат біологічних наук, доцент

Т. Я. Ярошенко

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. У водоростей зміна фізико-хімічних умов середовища існування може активувати процеси фотосинтезу (Саут Р., Уиттик А., 1990), що сприяє як розмноженню (наростанню біомаси), так і накопиченню в їх клітинах біологічно активних речовин (Дьяков Ю.Т., 2000; Золотарьова О.К. та ін., 2008).

Водорості мають здатність активно акумулювати неорганічні сполуки як неметалів, так і металів, що зумовлено високою адсорбційною здатністю їх клітинних оболонок щодо хімічних сполук, значною асиміляційною поверхнею, здатністю клітин поглинати речовини проти градієнту концентрації, завдяки чому мікроелементи накопичуються в кількостях, що в рази перевищують їх вміст у середовищі існування (Боднар О.І., Грубінко В.В., 2010; Золотарьова О.К. та ін., 2008; Richmond A., Hu Q., 2013).

Одним з ефективних регуляторів метаболічних процесів у прісноводних мікрководоростей є поглинуті ними з води розчинені неорганічні сполуки селену (селеніти та селенати), що включаються до складу вільних амінокислот, протеїнів, ензимів, полісахаридів, ліпідів і пігментів (Bodnar O. et al., 2015). Сполуки селену здатні також регулювати біосинтез поліненасичених жирних кислот та пігментів (Zhou Z. et al., 1997), впливаючи таким чином на фотосинтез та енергетичний обмін. Крім того, Se (IV) є компонентом антиоксидантної системи, оскільки -SeH за рахунок нижчого потенціалу йонізації і меншої енергії зв'язку має вищу електронно-донорну активність, ніж група -SH, тому утворення -SeH більш активне й ефективне, ніж -SH (Zhi-Yong Li et al., 2003; Antioxidant enzyme, 2012).

Поглинання селену водоростями та його біологічний вплив суттєво варіюють залежно від морфо-функціональних особливостей окремих видів, концентрацій і ступеня окиснення селену у сполуках, фізико-хімічних чинників водного середовища. Відомо, що ступінь інгібування росту і розвитку водоростей є вищим за дії селенатів, ніж селенітів, тому водорості у процесах своєї життєдіяльності краще поглинають із середовища сполуки Se(IV) порівняно з Se(VI) (Araie H., Shiraiwa Y., 2009; Umysova D. et al., 2009). Разом з тим, механізми регуляторного впливу на метаболізм водоростей сполук селену окремо та разом з іншими мікроелементами досліджені недостатньо.

Останнім часом препарати клітини водоростей та екстракти з них широко використовуються для отримання біологічно активних добавок (БАД) і фармацевтичних препаратів (Золотарьова О.К. та ін., 2008). Значний інтерес становлять комплекси селену й есенціальних металів, що надходять у харчові ланцюги людини і тварин через рослини і відіграють значну роль у метаболізмі, який порушується при їх дефіциті (Forceville X. et al., 1998; Selenium, 2003). Використовувані нині селенметалові препарати є фізичними сумішами або продуктами хімічного синтезу неорганічних сполук селену та солей есенційних металів, завдяки чому вони часто мають низьку ефективність та можуть виявляти побічні ефекти. Щодо селенвмісних препаратів водоростевого походження, то переважно використовують висушені і подрібнені клітини водоростей, які характеризуються змінним вмістом селену та йонів металів, а оскільки не є очищеними, то можуть містити метаболіти з алергенними властивостями (Selenium, 2003).

З огляду на зазначене, потребують поглибленого вивчення механізми формування адаптивної відповіді клітин водоростей за рахунок окремих метаболітів, закономірності регулювання біосинтетичних процесів в їх клітинах, особливо ліпідів, та участі в цих процесах йонів есенційних металів і сполук селену. Це дасть можливість шляхом регуляції життєздатності клітин в умовах біотехнологічного культивування отримувати корисні біологічно активні продукти.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота виконана на кафедрі загальної біології та методики навчання природничих дисциплін Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка в межах науково-дослідних тем Міністерства освіти і науки України «Розроблення умов культивування і способів регуляції фізичними та хімічними факторами біосинтезу водяними рослинами цінних ліпідів» (держреєстрація № 0112U000271) та «Розроблення умов та технології регульованого біосинтезу селенметалвмісних біологічно активних речовин одноклітинними водоростями» (держреєстрація № 0114U003079).

Мета і завдання дослідження. Метою дисертаційної роботи є вивчення особливостей накопичення та впливу сполук селену та йонів есенційних металів (Co^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} , Zn^{2+}) на біосинтез і накопичення селенметалвмісних біологічно активних комплексів з ліпідами *Chlorella vulgaris* Weij., їх виділення та перевірка біологічної активності.

Для досягнення визначеної мети в дисертації були поставлені такі **завдання**:

- з'ясувати концентраційно-часову залежність та кінетику поглинання селену клітинами хлорели;
- визначити вміст селену та досліджуваних металів за впливу селеніту натрію окремо та спільно з Co^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} у білках, вуглеводах і ліпідах *Ch. vulgaris* в аквакультури;
- встановити накопичення селену та досліджуваних металів за впливу селеніту натрію окремо та спільно з Co^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} у ліпідах різних класів *Ch. vulgaris*;
- дослідити вплив селеніту натрію окремо та спільно з Co^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} на вміст пігментів у клітинах хлорели;
- встановити вплив селеніту натрію окремо та спільно з Co^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} на енергетичний обмін та оксидативні процеси у клітинах *Ch. vulgaris*;
- отримати в умовах аквакультури селенметалліпідну субстанцію з хлорели та перевірити її потенційну біологічну активність.

Об'єкт дослідження – обмін речовин у клітинах *Chlorella vulgaris* за дії селеніту натрію окремо та спільно з Co^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} .

Предмет дослідження – утворення у клітинах *Chlorella vulgaris* та біологічна активність комплексів ліпідів з селеном та Co^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} .

Методи дослідження: загальноприйняті методи культивування мікрободоростей; біохімічні (визначення накопичення селену та металів у клітини водоростей, вмісту метаболітів та активності ензимів); хроматографічні (газорідинна та тонкошарова хроматографія), спектрофотометричні (світлова та атомно-абсорбційна спектрофотометрія), методи статистичної обробки отриманих даних.

Наукова новизна одержаних результатів. Встановлено здатність та оптимальні умови адаптації до дії селеніту натрію та йонів металів штаму *Chlorella vulgaris* Weij. ССАР-211/11в з високою метаболічною активністю та стійкістю. Встановлено, що включення селену у вуглеводну та білкову фракції було нелінійним, а ліпідну – характеризувалося прямою часовою залежністю та оберненою зростанням концентрації селеніту в середовищі. Співвідношення вмісту селену у вуглеводах, білках і ліпідах становить 1,0:1,8:2,2. Накопичення селену та йонів металів за їх спільної дії є синергетичним. Уперше показано, що за фіксованих фізико-хімічних умов культивування селеніт натрій окремо в концентрації 10,0 мг Se(IV) /дм³ та спільно з йонами есенційних металів (Co^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} , Zn^{2+}) активують енергетичний та азотистий метаболізм, знижують утворення пероксидних сполук і сприяють їх руйнуванню, активують біосинтез ліпідів, у клітинах водоростей підвищується вміст селенметалвмісних ліпідів.

Одержані результати щодо накопичення селену та взаємовпливу на цей процес йонів есенційних металів, зміни вмісту ліпідів й утворення селенметалвмісних ліпідних комплексів, а також зміни в пігментному комплексі, енергетичний, азотистий обмін і оксидативні процеси за дії селеніту і йонів металів доповнюють відомості про біохімічні механізми адаптації водоростей до дії чинників середовища існування та є підставою для регульованого біосинтезу селенметалліпідних біологічно активних сполук.

Практичне значення одержаних результатів. Уперше встановлено, що біотехнологічно ефективними для отримання селенметалліпідних субстанцій є культивування хлорели з селенітом натрію в концентрації 10,0 мг Se(IV)/дм³ та йонів металів: Co²⁺ – 0,05 мг/дм³, Cu²⁺ – 0,002 мг/дм³, Fe³⁺ – 0,008 мг/дм³, Mn²⁺ – 0,25 мг/дм³, Zn²⁺ – 5,0 мг/дм³.

Виділено селенліпідний та селенцикліпідний комплекси, за введення яких у дозі з 0,4 мкг селену, 2,5 мкг цинку і 0,5 мг ліпідів на 1 мл 1% водно-крохмальної суспензії в організмі здорових щурів, у печінці і сироватці крові тварин пригнічувалися прооксидантні процеси, активізувалися антиоксидантний статус, сукцинатдегідрогеназна та цитохромоксидазна активності, глутаматдегідрогеназний шлях утворення глутамату, а з нього інших амінокислот, які можуть бути спрямовані на утворення сполук – компонентів антиоксидантної системи, що є підставою для вивчення лікувально-профілактичних властивостей отриманих субстанцій.

Особистий внесок здобувача полягає в самостійному опрацюванні наукової літератури з досліджуваної проблеми, оволодінні необхідними методами досліджень, виконанні всього обсягу експериментальних робіт, здійсненні статистичної обробки отриманих результатів. Здобувач особисто або у співавторстві підготувала до друку наукові праці, у яких викладені основні положення дисертації, самостійно сформулювала основні положення та висновки, задекларовані в роботі.

Апробація результатів дисертації. Основні результати, представлені в дисертації, обговорювалися на IX і XI Міжнародних конференціях студентів та аспірантів «Молодь і поступ біології» (Львів, 2013 і 2015); VI Міжнародній науково-практичній конференції «Сучасні проблеми теоретичної та практичної іхтіології» (Тернопіль, 2013); III Международной научной конференции «Водоросли: проблемы таксономии, экологии и использование в мониторинге» (Борок, Россия, 2014); XI Українському біохімічному з'їзді (Київ, 2014); Міжнародній науковій конференції «Флора, географія та екологія водоростей: теоретичні питання» (Київ, 2014); V International Conference «Actual problems in modern phycology» (Chisinau, Moldova, 2014); International scientific conference «Physiology and biotechnology of oxygenic photoautotrophic microorganisms: looking into the future» (Moscow, Russia, 2014); Міжнародній науковій конференції «Біологічна фіксація азоту» (Тернопіль, 2014); VIII Съезде общества физиологов растений России «Растения в условиях глобальных и локальных природно-климатических и антропогенных воздействий» (Петрозаводск, Россия, 2015); Науково-практичній конференції «Біологічні дослідження – 2015» (Житомир, 2015); Міжнародній науково-технічній конференції «Стан і перспективи харчової науки та промисловості» (Тернопіль, 2015); VII З'їзді гідроекологічного товариства України «Гідроекосистеми: фундаментальні та прикладні проблеми сьогодення» (Київ, 2015).

Публікації. Результати дисертації викладено у 22 роботах, з них 5 – у наукових фахових журналах України, 2 – у міжнародних виданнях, 2 – у наукових виданнях, 13 – у матеріалах конференцій, симпозіумів та з'їздів.

Структура та обсяг роботи. Дисертація викладена на 143 сторінках друкованого тексту і складається із таких розділів: вступ, огляд літератури, матеріали та методи

досліджень, результати досліджень, висновки та список використаних джерел, що становить 275 посилань (з них 168 джерел іноземними мовами). Робота ілюстрована 16 таблицями та 22 рисунками.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

В огляді літератури проаналізовано наявні у фаховій вітчизняній та зарубіжній літературі результати досліджень щодо накопичення і впливу сполук селену на метаболізм водоростей. Значна частина огляду присвячена регуляції ліпідного обміну у водоростях сполуками селену і йонами металів. Акцентується увага на теоретичних і практичних аспектах одержання та використання селенвмісних субстанцій з водоростей як біодобавок та лікувальних засобів.

Матеріали та методи дослідження. Об'єктом дослідження була альгологічно чиста культура *Chlorella vulgaris* Beij. ССАР-211/11в, яку культивували на середовищі Фітцджеральда в модифікації Цендера і Горхема №11 (22-25°C, 2500 лк впродовж 16 год/добу) (Романенко В.Д., 2004).

В експериментальних умовах у культуральне середовище додавали водний розчин селеніту натрію в розрахунку на кількість йонів Se(IV) – 0,5 мг/дм³; 5,0; 10,0 та 20,0 мг/дм³, а також водні розчини солей FeCl₃·6H₂O, MnSO₄·5H₂O, ZnSO₄·7H₂O, CuSO₄·5H₂O, Co(NO₃)₂·6H₂O у розрахунку на кількість йонів: Co²⁺ – 0,05 мг/дм³, Cu²⁺ – 0,002 мг/дм³, Fe³⁺ – 0,008 мг/дм³, Mn²⁺ – 0,25 мг/дм³, Zn²⁺ – 5,0 мг/дм³ (Давыдова С.Л., 2002). Біомасу живих клітин відбирали на 1-у, 3-ю та 7-у доби експерименту при дослідженні особливостей поглинання селену та його внутрішньоклітинного накопичення, а також для вивчення метаболічних показників клітин. Контролем слугувала культура водоростей, яку вирощували в поживному середовищі без додавання селеніту натрію та солей металів (в експериментальних кількостях).

Вміст селену визначали спектрофотометрично з о'-фенілєндиаміном (Дедков Ю.М., 2002). Вміст Co²⁺, Cu²⁺, Fe³⁺, Mn²⁺ та Zn²⁺ визначали атомно-абсорбційним методом на спектрофотометрі Selmi C-115M (Хавезов И. та ін., 1983).

Вуглеводи екстрагували розчином 75%-го етанолу (Филиппович Ю.Б. та ін., 1975). Білки осаджували 5% розчином трихлороцтової кислоти на водяній бані, екстрагували розчином 75%-го етанолу і промивали сумішшю етанол:діетиловий ефір (3:1) і підсушували діетиловим ефіром (Вовк С.Й. та ін., 1988). Ліпіди екстрагували сумішшю хлороформ-метанол (2:1) згідно (Hokin L.E. et al., 1992) та розділяли на класи методом одномірної тонкошарової хроматографії на силікагелі в системі гексан:діетиловий ефір:льодяна оцтова кислота (70:30:1), а жирнокислотний склад – на газорідному хроматографі «ЦВЕТ-500» (Кейтс М., 1975; Копытов Ю.П., 1983; Стефанік М.Б. та ін., 1985).

Пігменти екстрагували 90% розчином ацетону і їх кількість вимірювали спектрофотометрично (Романенко В.Д., 2004; Lorenzen С.Ј., 1967).

Визначали активність сукцинатдегідрогенази (СДГ, КФ 1.3.99.1) згідно з (Прохорова М.И., 1982), цитохромоксидази (ЦО, КФ 1.9.3.1) згідно з (Straus W., 1954), глутаматдегідрогенази НАДН/НАДФН (ГДГ, КФ 1.4.1.3) згідно з (Софьин А.В., 1984), каталази (КТ, КФ 1.11.1.6) згідно з (Корольок М.А., 1988), глутатіонпероксидази (ГПО, КФ 1.11.1.9) згідно з (Моин В.М., 1986), супероксиддисмутази (СОД, КФ 1.15.1.1) згідно з (Beauchamp С. et al., 1971), відновленого глутатіону (ВГ) згідно з (Ellman G.L., 1959).

Вміст молекул середньої маси (МСМ) визначали згідно з (Турияница И.М., 1991) та ТБК-активних продуктів згідно з (Прохорова М.И. та ін., 1982).

Досліджували біологічну активність виділених з хлорели селенліпідного та селенцикліпідного комплексів, склад і структура яких встановлені методами тонкошарової хроматографії та мас-спектрометрії (рідинний хромато-мас-спектрометр Agilent 1200

SL/DAD/FD/MSD 6130; «Agilent Technologies», USA), що містили 2,8 мг селену/г ліпідів, 4,2 мг цинку/г ліпідів, розчиняли в 1% водному розчині крохмалю, 1 мл якого у підсумку містив 0,4 мкг селену, 2,5 мкг цинку і 0,5 мг ліпідів, вводили внутрішньошлунково впродовж 14-и діб білим безпородним щурам-самцям з масою тіла 160-180 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. На 14-у добу від початку експерименту проводили забій тварин шляхом етаназії під тіопенталом натрію. У печінці та сироватці крові тварин визначали показники антиоксидантної системи та енергетичного обміну, як це описано вище.

Одержані експериментальні дані опрацьовані методами варіаційної статистики з використанням t-критерію Стьюдента (Лакин Г.Ф., 1990).

Результати досліджень та їх обговорення

Вміст селену в біомасі та макромолекулах клітин *Ch. vulgaris* за дії селеніту натрію в різних концентраціях. Результати дослідження показали (рис. 1), що на 1-у добу експерименту вміст селену в біомасі збільшився щодо контролю на 21,0% при внесенні селеніту натрію в культуральне середовище в концентрації 0,5 мг Se(IV)/дм³, на 3,8% за дії 5,0 мг Se(IV)/дм³, на 12,5% за дії 10,0 мг Se(IV)/дм³ і на 107,0% за дії 20 мг Se(IV)/дм³. На 3-ю добу вміст мікроелементу становив щодо контролю 130% за дії концентрації 0,5 мг Se(IV)/дм³, 146,0% – за дії 5,0 мг Se(IV)/дм³, 133,0% – за дії 10,0 мг Se(IV)/дм³ та 254,0% – за дії 20,0 мг Se(IV)/дм³. На 7-у добу експерименту за дії 0,5 мг Se(IV)/дм³ вміст селену в клітинах хлорели збільшився на 34,0%, за дії 5,0 мг Se(IV)/дм³ – на 83,0%, за дії 10,0 мг Se(IV)/дм³ – на 59,0%, а за дії 20 мг Se(IV)/дм³ – на 234,0%.

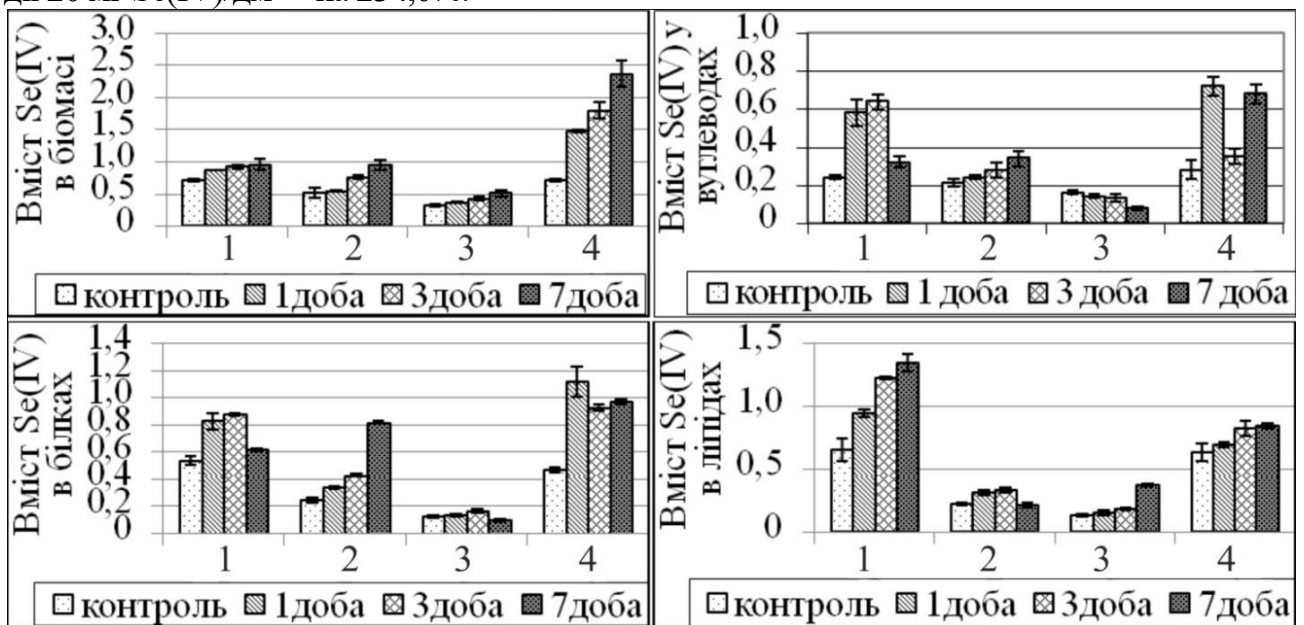


Рис. 1. Вміст селену в біомасі та макромолекулах клітин *Ch. vulgaris* за дії селеніту натрію, мкг/мг сухої маси виділених речовин, $M \pm m$, $n=5$: 1 – 0,5 мг Se(IV)/дм³; 2 – 5,0 мг Se(IV)/дм³; 3 – 10,0 мг Se(IV)/дм³; 4 – 20,0 мг Se(IV)/дм³

Включення селену до складу вуглеводів і білків характеризувалося почерговим збільшенням та зменшенням його вмісту в цих сполуках. На завершення експерименту кількість селену в дослідних варіантах переважала контроль за дії 0,5 мг Se(IV)/дм³, 5,0 та 20,0 мг Se(IV)/дм³ відповідно на 33,3%, 61,9% та 142,9% у вуглеводах, на 14,8%, 228,0% та 106,4% у білках, тоді як за дії 10,0 мг Se(IV)/дм³ – зменшилася у вуглеводах та білках на 52,2% і 19,0% відповідно порівняно з контролем.

Накопичення селену ліпідами активно відбувалося впродовж усього періоду експозиції. Вміст селену на початку експерименту збільшився на 44,6%, 41,0%, 15,4% і 9,5% за дії 0,5 мг Se(IV)/дм³, 5,0, 10,0 та 20,0 мг Se(IV)/дм³ щодо контролю. На 3-ю добу кількість селену стала

на 87,7%, 50,0%, 35,7% та 30,2% більшою, ніж контроль, за впливу 0,5 мг Se(IV)/дм³, 5,0, 10,0 та 20,0 мг Se(IV)/дм³ відповідно. На завершення дослідження вміст селену порівняно з контролем був найбільшим за дії 10,0 мг Se(IV)/дм³ (на 177,6%), тоді як за дії 0,5 та 20,0 мг Se(IV)/дм³ збільшився на 106,2% і 33,3% відповідно, а за дії 5,0 мг Se(IV)/дм³ зменшився на 5,0%.

Отримані результати засвідчили, що накопичення селену органічними сполуками *Ch. vulgaris* має часову та концентраційну залежність. Включення селену у вуглеводну та білкову фракції було нелінійним, а у ліпідну – характеризувалось прямою часовою залежністю та оберненою до зростання концентрації селеніту в середовищі. Однак найбільш ефективно накопичення селену ліпідами спостерігали за його концентрації 10,0 мг Se(IV)/дм³. Тому було досліджено його розподіл в окремих класах ліпідів.

Вміст селену в окремих класах ліпідів *Ch. vulgaris* за дії селеніту натрію. Внесення в середовище культивування хлорели селеніту натрію (10,0 мг Se(IV)/дм³) на 3-ю добу експерименту показало збільшення вмісту селену у НЕЖК і ТАГ на 11,8% і 34,0% порівняно з контролем (табл. 1).

Таблиця 1

Вміст селену в ліпідах різних класів *Ch. vulgaris* за дії селеніту натрію в концентрації 10,0 мг Se(IV)/дм³, мкг/мг сухої маси ліпідів, $M \pm m$, n=5

Тривалість дії, дб	Класи ліпідів				
	диацил-гліцероли (ДАГ)	триацил-гліцероли (ТАГ)	фосфо-ліпіди (ФЛ)	лізофосфо-ліпіди (ЛФЛ)	неестерифіковані жирні кислоти (НЕЖК)
контроль	6,44±1,08	20,11±0,59	4,11±0,89	15,47±1,38	4,07±0,22
3	4,62±0,30	26,96±1,81*	3,73±0,54	10,63±1,01	4,55±0,14
7	13,64±1,67*	43,41±3,15*	9,26±0,99	10,87±1,12	4,45±0,33

Примітка: тут і далі в таблицях * – $p < 0,05$ за t-критерієм Стьюдента (щодо контролю)

Вміст селену у ДАГ, ФЛ і ЛФЛ зменшився на 28,3%, 4,0% і 31,3% відповідно щодо контролю. На 7-у добу експерименту вміст Se(IV) збільшився у НЕЖК на 9,3%, у ДАГ – на 111,8%, у ТАГ – на 115,9%, у ФЛ – на 125,3%, і тільки у ЛФЛ спостерігали зменшення кількості селену на 29,7% щодо контролю.

Встановлено, що найактивніше накопичення селену ліпідами різних класів відбувалося на 7-му добу експерименту, при цьому найбільше селену акумулювали ТАГ.

Вміст селену в біомасі та макромолекулах клітин *Ch. vulgaris* за спільної дії селеніту натрію та йонів металів. Поглинання селену одноклітинними водоростями та його біологічний ефект суттєво залежить від присутності йонів біогенних і небіогенних металів (Луців А.І., 2015). За присутності в середовищі Co^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} та Zn^{2+} вміст селену в біомасі хлорели збільшився щодо контролю за дії селеніту окремо та спільно з Cu^{2+} , Zn^{2+} і Fe^{3+} на 15,8%, 25,0%, 51,6% і 4,2% відповідно (рис. 2). Зменшення вмісту селену на 8,6% і 3,8% відбулося при спільному внесенні селеніту з Co^{2+} та Mn^{2+} . Вміст селену у вуглеводах зменшився за дії селеніту окремо та спільно з Co^{2+} і Mn^{2+} на 27,9%, 44,8% та 28,2% відповідно, а за спільної дії селеніту та Cu^{2+} , Zn^{2+} і Fe^{3+} збільшився на 41,3%, 11,2% і 93,9% відповідно щодо контролю. Білки порівняно з вуглеводами акумулювали селен у всіх варіантах дослідження: за дії селеніту окремо вміст селену збільшився на 72,4%, а за спільної дії селеніту з Co^{2+} – на 39,3%; Mn^{2+} – на 52,5%; Cu^{2+} – на 34,4%; Zn^{2+} – на 104,6% і Fe^{3+} – на 43,9%. Вміст селену в ліпідах хлорели при внесенні селеніту натрію окремо збільшився на 53,8%, а за спільної дії з Co^{2+} , Mn^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} і Fe^{3+} – відповідно на 69,5%, 174,1%, 249,9%, 28,3% і 126,5% порівняно з контролем.

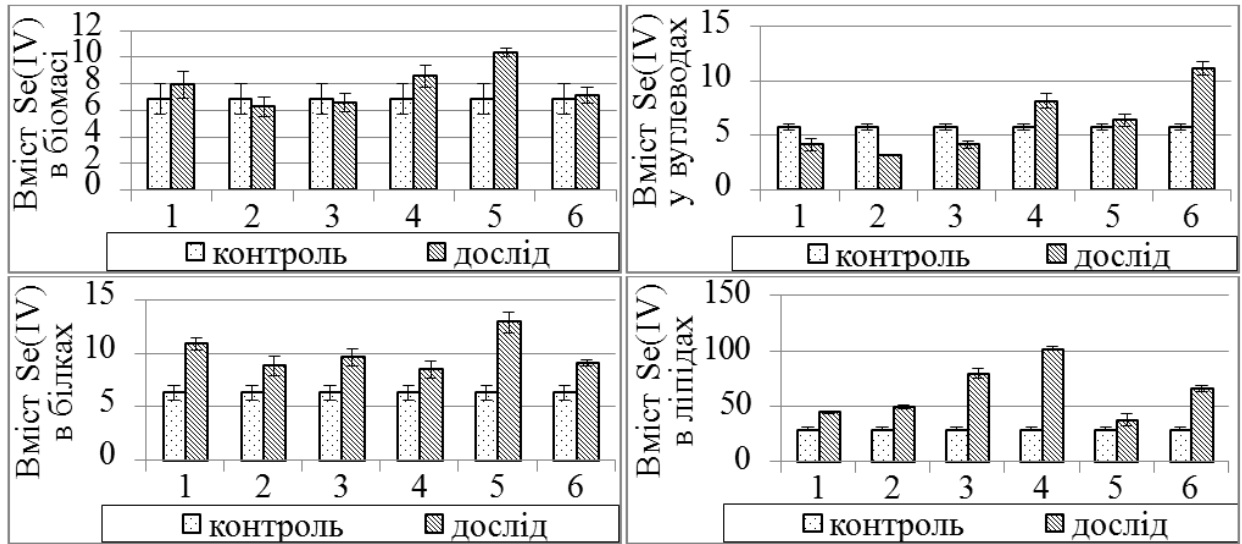


Рис. 2. Вміст селену в біомасі та макромолекулах клітин *Ch. vulgaris* за дії селеніту натрію (10,0 мг Se(IV)/дм³) окремо та спільно з йонами металів, 7 діб, мкг/мг сухої маси виділених речовин, $M \pm m$, $n=5$: 1 – Se(IV), 2 – Se(IV)+Co²⁺, 3 – Se(IV)+Mn²⁺, 4 – Se(IV)+Cu²⁺, 5 – Se(IV)+Zn²⁺, 6 – Se(IV)+Fe³⁺

Отримані результати зумовлені головним чином високою адсорбційною ємністю клітинних оболонок водоростей щодо додаткового впливу металів, значною асиміляційною поверхнею та, можливо, менш розвинутими механізмами регуляції обміну мікроелементів, а також йони металів у використаних концентраціях можуть спричиняти функціональні зміни клітинних оболонок, що є причиною надмірного проникнення їх усередину клітин хлорели (Костюк К.В., 2013).

Вміст селену в окремих класах ліпідів *Ch. vulgaris* за спільної дії селеніту натрію та йонів металів. Встановлено, що вміст селену збільшувався як за дії селеніту окремо, так і спільно з йонами всіх досліджуваних металів у всіх фракціях ліпідів (табл. 2).

Таблиця 2

Вміст селену в ліпідах різних класів *Ch. vulgaris* за дії селеніту натрію (10,0 мг/дм³) окремо та спільно з йонами металів, 7 діб, мкг/мг сухої маси ліпідів, $M \pm m$, $n=5$

Контроль	Se(IV)	Se(IV)+ Co ²⁺	Se(IV)+ Mn ²⁺	Se(IV)+ Cu ²⁺	Se(IV)+ Zn ²⁺	Se(IV)+ Fe ³⁺
ФЛ						
0,04±0,01	0,10±0,01*	0,17±0,01*	0,16±0,01*	0,21±0,02*	0,18±0,01*	0,11±0,01*
ДАГ						
0,15±0,01	0,17±0,01	0,61±0,04*	0,70±0,01*	0,64±0,03*	0,28±0,05	0,51±0,08*
НЕЖК						
0,09±0,01	0,24±0,03*	0,92±0,06*	1,24±0,04*	1,84±0,05*	2,08±0,07*	1,15±0,04*
ЛФЛ						
0,18±0,01	0,30±0,02*	0,19±0,03	0,45±0,06*	0,33±0,04*	0,44±0,06*	0,63±0,02*
ТАГ						
0,21±0,01	0,29±0,01*	0,29±0,05	0,56±0,02*	0,45±0,02*	0,41±0,04*	0,67±0,03*

За дії металів включення селену найактивніше відбувалося до складу НЕЖК. У порівнянні з контролем кількість Se(IV) у цій фракції за дії з Co²⁺ збільшилася у 10,3 рази, Mn²⁺ – у 14 разів; Cu²⁺ – у 20,6 рази; Zn²⁺ – у 23,3 рази і Fe³⁺ – у 12,8 рази. Щодо ФЛ і ДАГ, то вміст селену в них збільшувався приблизно однаково: за дії Co²⁺ 4,0-4,1 рази, Mn²⁺ – 3,6-4,6 рази, Cu²⁺ – 4,3-5,0 разів, Zn²⁺ – 2,6-4,5 рази, Fe³⁺ – 2,5-3,4 рази порівняно з контролем. Вміст

селену у ЛФЛ за дії селеніту окремо збільшився на 72,0%, а за спільної дії з Co^{2+} , Mn^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} і Fe^{3+} збільшувався на 10,5%, 157,3%, 85,5%, 150,8% і 258,6% відповідно. Щодо ТАГ, то у їх складі за дії селеніту окремо і спільно з Co^{2+} вміст Se(IV) збільшувався на 41,6%, а за дії з Mn^{2+} – на 169,0%, Cu^{2+} – на 118,0%, Zn^{2+} – на 97,4% і Fe^{3+} – на 224,2% порівняно з контролем.

Отже, за спільної дії селеніту та йонів металів вміст селену в ліпідах різних класів значно збільшується, ніж при дії селеніту окремо, що може бути пов'язано з біологічною роллю досліджуваних металів, а також фізико-хімічними особливостями ліпідів.

Накопичення металів біомасою та макромолекулами клітин *Ch. vulgaris* за їх спільної дії з селенітом натрію. Активну біоаккумуляцію неорганічних солей та утворення їх комплексів з макромолекулами клітин водоростей *in vivo* можна використати для одержання біологічно активних добавок, які містять необхідні для організму мікроелементи, наприклад, селен та йони біогенних металів.

Проведені дослідження показали (рис. 3), що при культивуванні хлорели в середовищі з селенітом натрію та Co^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} та Zn^{2+} вміст останніх у біомасі водоростей значно збільшився: вміст Co^{2+} щодо контрольних показників – на 18,9%, Mn^{2+} – на 168,3%, Zn^{2+} – на 4,7% та Fe^{3+} – на 6,1%. Однак при спільному внесенні в культуральне середовище селеніту натрію і Cu^{2+} спостерігали зменшення вмісту Cu^{2+} на 5,4% щодо контролю.

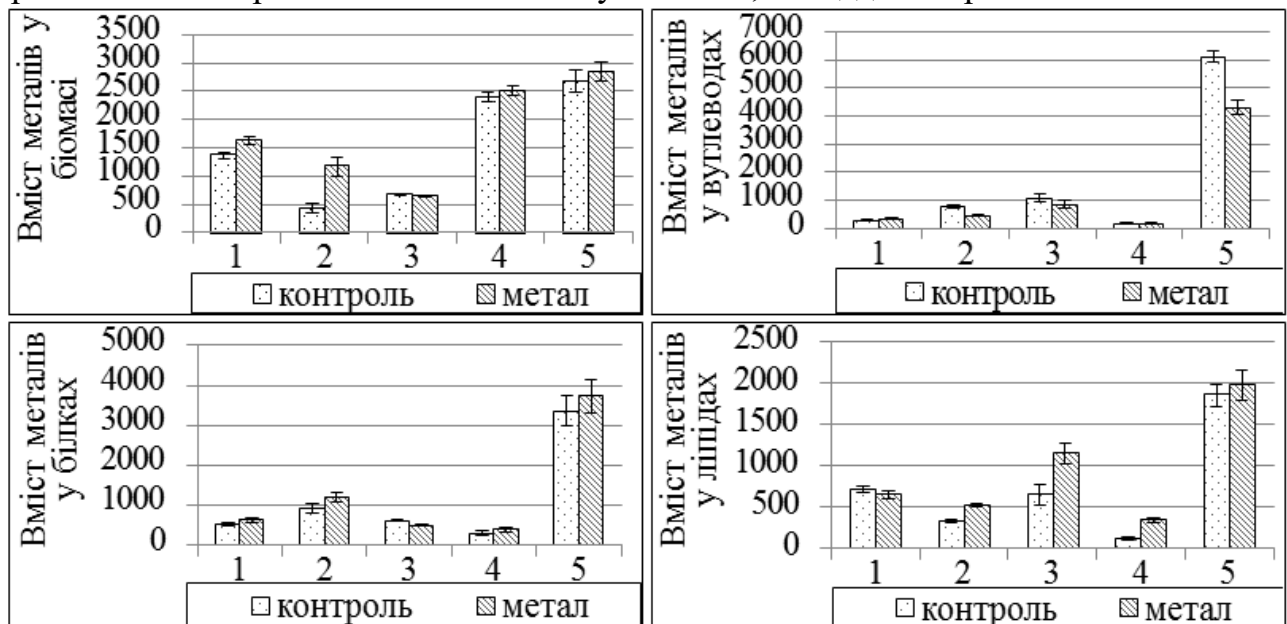


Рис. 3. Вміст металів у біомасі та макромолекулах *Ch. vulgaris* за їх спільної дії з селенітом натрію ($10,0 \text{ мг Se(IV)/дм}^3$), 7 діб, мкг/г сухої маси виділених речовин, $M \pm m$, $n=5$:
1 – Se(IV)+Co^{2+} , 2 – Se(IV)+Mn^{2+} , 3 – Se(IV)+Cu^{2+} , 4 – Se(IV)+Zn^{2+} , 5 – Se(IV)+Fe^{3+}

У вуглеводах за спільної дії селеніту з металами збільшився вміст Co^{2+} (на 14,4%) і Zn^{2+} (на 5,7%), але порівняно з контролем зменшився вміст Mn^{2+} – на 38,0%, Cu^{2+} – на 19,7% та Fe^{3+} – на 29,2%. Вміст металів у білках за їх спільної дії з селенітом натрію збільшилася кількість Co^{2+} на 20,7%, Mn^{2+} – на 30,5%, Zn^{2+} – на 36,3%, Fe^{3+} – 10,9% і зменшилася – Cu^{2+} на 20,2%. У ліпідах збільшився вміст Mn^{2+} на 61,5%, Cu^{2+} – на 77,1%, Zn^{2+} – на 189,6%, Fe^{3+} – на 6,5% та зменшився вміст Co^{2+} на 8,5% щодо контролю.

Отримані результати можуть бути пов'язані з різними структурними, функціональними та фізіологічними значеннями білків, вуглеводів та ліпідів, що акумулюють метали в найбільшій кількості.

Накопичення металів ліпідами різних класів клітин *Ch. vulgaris* за їх спільної дії з селенітом натрію. Встановлено, що за спільної дії селеніту з досліджуваними металами вміст

останніх у ліпідах різних класів збільшується щодо контролю у всіх варіантах досліджу (табл. 3).

Таблиця 3

Вміст металів у ліпідах різних класів клітин *Ch. vulgaris* за їх спільної дії з селенітом натрію (10,0 мг Se(IV)/дм³), 7 діб, мг/г сухої маси ліпідів, $M \pm m$, $n=5$

Умови досліджу	Se(IV)+Co ²⁺	Se(IV)+Mn ²⁺	Se(IV)+Cu ²⁺	Se(IV)+Zn ²⁺	Se(IV)+Fe ³⁺
ФЛ					
контроль	0,59±0,05	1,09±0,11	0,77±0,09	4,27±0,87	3,77±0,96
метали	0,78±0,05*	3,47±0,12*	1,20±0,11*	22,73±2,95*	5,48±0,94
ДАГ					
контроль	0,64±0,05	1,33±0,18	0,77±0,08	7,53±0,99	3,67±0,92
метали	0,93±0,05*	3,59±0,20*	1,38±0,17*	21,10±3,10*	5,91±0,34*
НЕЖК					
контроль	0,37±0,05	1,48±0,14	0,85±0,09	8,48±0,42	3,86±0,33
метали	0,55±0,01*	3,93±0,27*	0,94±0,13	14,44±2,06	6,61±0,97
ЛФЛ					
контроль	0,43±0,04	2,42±0,17	0,82±0,08	12,98±1,13	5,32±0,39
метали	1,08±0,20*	4,12±0,38*	1,17±0,16	20,45±3,32	8,34±0,47*
ТАГ					
контроль	0,34±0,04	2,12±0,19	0,83±0,07	11,15±1,16	4,88±0,48
метали	0,81±0,09*	3,76±0,07*	1,26±0,09*	15,45±1,38*	10,25±2,08

Визначено, що кількість Co²⁺, Mn²⁺, Cu²⁺, Zn²⁺ і Fe³⁺ у ФЛ збільшилася на 32,5%, 219,8%, 56,9%, 44,6% і 45,3% відповідно. У ДАГ вміст Co²⁺ збільшився на 45,9%, Mn²⁺ – на 169,0%, Cu²⁺ – на 79,0%, Zn²⁺ – на 40,0% та Fe³⁺ – на 60,9% порівняно з контролем. У НЕЖК кількість Co²⁺ збільшилась на 51,3%, Mn²⁺ – на 166,3%, Zn²⁺ – на 36,0%, Fe³⁺ – на 71,0% і Cu²⁺ – лише на 11,0%. У ЛФЛ вміст Co²⁺, Mn²⁺, Cu²⁺, Zn²⁺ і Fe³⁺ збільшився на 152,6%, 70,4%, 43,1%, 25,1% і 56,7% відповідно. Вміст Co²⁺ у ТАГ збільшився на 138,9%, Mn²⁺ – на 77,6%, Cu²⁺ – на 52,1%, Zn²⁺ – на 59,3% і Fe³⁺ – на 110,1% щодо контролю.

Хроматографічний аналіз селенвмісних ліпідів з одноклітинних зелених водоростей *Chlorella vulgaris*, *Dunaiella primolecta* та *Porphyidium cruentum* (Минюк Г.С., 2000; Grubinko V.V. et al., 2014), які зростали за високих концентрацій Se(IV), показав, що селен присутній в усіх фракціях ліпідів. Включений у ліпіди селен (див. табл. 1 і 2) та метали (див. табл. 3) зв'язуються ними, оскільки в результаті процедури виділення в їх складі залишається значна кількість цих мікроелементів. Можливо, що цей зв'язок є не тільки результатом адсорбції селену і металів, а й їх включенням до складу молекул ліпідів, насамперед фосфоліпідів, та за місцем подвійного зв'язку в насичених жирних кислотах (Selenium, 2003). Біологічна роль такого включення може бути пов'язана з фізіологічною роллю селену в ліпідах як антиоксиданту.

Вплив селеніту натрію окремо та за спільної дії з йонами металів на жирнокислотний склад *Ch. vulgaris*. Важливою адаптивною властивістю метаболізму загалом (Крепс Е.М., 1981), а у водних рослин зокрема (Harwood J.L. et al., 2009) за дії металів і неметалів є здатність до зміни жирнокислотного складу ліпідів. Досліджено, що внесення в середовище культивування хлорели селеніту натрію окремо і спільно з Cu²⁺ (табл. 4) зумовило збільшення вмісту 18:0 (на 15,3% і 53,8% відповідно) та 18:1 (на 82% і 7,5% відповідно), однак зменшення кількості 16:0 (на 29,7% і 11,8% відповідно) та виявили незначну кількість 12:0, 14:0 та 18:2 порівняно з контролем.

Співвідношення вмісту 12:0/14:0/16:0/18:0/18:1/18:2 жирних кислот у *Ch. vulgaris* за дії селеніту натрію (10,0 мг Se(IV)/дм³) окремо та спільно з йонами металів, 7 діб, %

Умови досліджу	Відносний вміст жирних кислот, %						Насичені/ненасичені
	12:0	14:0	16:0	18:0	18:1	18:2	
контроль	0,96	0,8	60,21	15	22,18	0,85	3,34
Se(IV)	сл.	сл.	42,3	17,3	40,4	сл.	1,48
Se(IV)+Zn ²⁺	сл.	сл.	45,47	13,43	41,1	сл.	1,43
Se(IV)+Mn ²⁺	1,66	1,42	59,83	14,22	20,97	1,9	3,37
Se(IV)+Fe ³⁺	сл.	1,42	55,17	22,31	21,1	сл.	3,74
Se(IV)+Cu ²⁺	сл.	сл.	53,09	23,07	23,84	сл.	3,19
Se(IV)+Co ²⁺	сл.	1	60,82	23,96	14,23	сл.	6,03

Примітка: сл. – слідові кількості

За спільної дії селеніту та Zn²⁺, то відмічено збільшення вмісту 18:1 на 85,3% та зменшення кількості 16:0 (на 24,5%) і 18:0 (на 10,5%), а також виявили 12:0, 14:0 та 18:2. За спільного впливу селеніту натрію та Mn²⁺ виявлено зменшення вмісту 16:0, 18:0 і 18:1 на 0,6%, 5,2% і 5,5% відповідно та у незначній кількості 12:0, 14:0 і 18:2 (1,7%, 1,4% і 1,9% відповідно) щодо значень у контролі. Збільшення вмісту 18:0 (на 48,7%) порівняно з контролем відмічено за спільної дії селеніту та Fe³⁺, тоді як частка 16:0 зменшилася на 8,4%. Встановлено збільшення вмісту 18:0 на 59,7%, зменшення кількості 18:1 на 35,8%, а також сліди 12:0, 14:0 і 18:2 за спільної дії селеніту та Co²⁺.

Співвідношення вмісту різних жирних кислот свідчить про переважання насичених жирних кислот над ненасиченими за спільної дії селеніту та Co²⁺, Mn²⁺, Cu²⁺ і Fe³⁺, а за дії селеніту окремо та спільної дії з Zn²⁺ навпаки – ненасичених над насиченим.

Значне збільшення вмісту жирних кислот свідчить про посилення катаболічних процесів в організмі та мобілізації жирнокислотних резервів як джерела енергії або для використання в адаптивних перебудовах метаболізму та структурних компонентів клітин (Костюк К.В., 2011; Луців А.І., 2015; Grubinko V.V. et al., 2012).

Пігментний склад клітин *Ch. vulgaris* за дії селеніту натрію окремо та спільно з йонами металів. Стійкість водоростей до екстремальних впливів середовища забезпечується активацією захисних реакцій, насамперед фотосинтетичного апарату, що формує адаптаційний процес у клітинах водоростей шляхом регуляції біосинтезу ліпідів, які є як джерелом енергії, так і здійснюють адаптивні структурно-функціональні перебудови мембран (Schmid K.M. et al., 2002).

Досліджено, що за дії Se(IV) у всіх концентраціях вміст хлорофілів *a* і *b* загалом збільшувався порівняно з контролем. Максимальне збільшення кількості хлорофілу *a* (від 2,7 до 3,1 рази) і хлорофілу *b* (від 2,4 до 2,9 рази) відмічено за дії 20 мг Se(IV)/дм³ на 3-ю і 7-у доби експерименту. Значення співвідношення хлорофілів *a/b* як показника потенційної біосинтетичної активності водоростей збільшується за дії концентрацій 10,0 мг Se(IV)/дм³ (найбільше на 3-ю добу – на 15,3% і 7-у – на 29,0%) і 20,0 мг Se(IV)/дм³ (найбільше на 1-у добу – на 58,7% і на 3-ю – на 11,2%).

Встановлено, що кількість каротиноїдів збільшувалася за дії всіх досліджуваних концентрацій Se(IV) впродовж 7-и діб експерименту. Збільшення вмісту цих пігментів (на 148-197%) було відмічено за дії 10,0 мг Se(IV)/дм³.

Оскільки хлоропласти є високобілковими структурами і в них локалізований синтез ліпідів, можна припустити пряму дію йонів металів на структуру хлоропластів та вміст у них пігментів (Schmid K.M. et al., 2002).

За дії селеніту натрію окремо (10,0 мг Se(IV)/дм³) та спільно з Co²⁺, Mn²⁺, Cu²⁺, Zn²⁺ і Fe³⁺ на 7-у добу збільшувався вміст хлорофілу *a* на 35,8%, 33,3%, 77,3%, 107,9%, 96,9% і 80,8% відповідно; кількість хлорофілу *b* відповідно на 48,7%, 94,8%, 206,2%, 295,2%, 279,3% і 302,3%. Вміст каротиноїдів збільшився відповідно на 38,0%, 51,4%, 74,7%, 60,8%, 60,8% і 53,0% щодо контролю, а вміст феофітинів збільшився за спільної дії селеніту з Mn²⁺ на 13,7%, за дії з Cu²⁺ був близьким до значень у контролі, однак за дії селеніту окремо та спільно з Co²⁺, Zn²⁺ і Fe³⁺ – зменшився на 21,0%, 58,0%, 35,2% та 24,7% відповідно щодо контролю. Співвідношення хлорофілів *a/b* зменшується на 8,9%, 31,5%, 42,0%, 47,7%, 48,0% і 54,9% за дії селеніту окремо та спільно з Co²⁺, Mn²⁺, Cu²⁺, Zn²⁺ і Fe³⁺ відповідно. Пігментний індекс збільшується за спільної дії селеніту та Co²⁺ на 12,0% і зменшується за спільної дії Se(IV) з Mn²⁺ на 3,0%, Cu²⁺ – на 24,2%, Zn²⁺ – на 18,2% і Fe³⁺ – на 15,2%, тоді як за дії селеніту окремо відповідав контрольним значенням.

Отже, динаміка вмісту фотосинтетичних пігментів, зміни в їх співвідношенні свідчать про успішне формування адаптацій у хлорели у відповідь на вплив йонів металів при внесенні в культуральне середовище селеніту натрію. У зв'язку з цим за концентрації селеніту 10,0 мг Se(IV)/дм³ та зазначених концентрацій йонів відповідних металів впродовж 7-и діб можливе успішне культивування хлорели, збагаченої селеном та біогенними металами.

Енергетичний метаболізм у *Ch. vulgaris* за дії селеніту натрію окремо та спільно з йонами металів. Досліджуючи дію селеніту натрію окремо та спільно з металами на *Ch. vulgaris*, виходили з того, що показником успішності формування стратегій виживання в токсичному середовищі є ефективність функціонування метаболічних систем у клітинах, зокрема стійкість водоростей визначається енергетичним статусом клітини.

З'ясовано, що за дії селеніту натрію у концентрації 0,5 мг Se(IV)/дм³ в активності ЦО у різний час було відмічено найменш помітні зміни (від 10,0% до 83,0%); за дії 5,0 мг Se(IV)/дм³ активність ензиму збільшувалася на 148,0% (на 1-у добу), 724,0% (на 3-ю добу) і на 139,0% (на 7-у добу); за дії 10,0 мг Se(IV)/дм³ – збільшувалася на 105,0% (на 3-ю добу) і була в межах контролю на 1-у і 7-у доби; за дії 20,0 мг Se(IV)/дм³ в залежності від тривалості дослідження активність ЦО збільшувалася у 2-3 рази порівняно з контролем.

Зміни активності СДГ за дії селеніту у концентрації 0,5 мг Se(IV)/дм³ були незначними (до 20,0%), за дії 10,0 мг Se(IV)/дм³ мало місце збільшення активності на 65,0% (на 3-ю добу) та 33,0% (на 7-у добу), а за дії 20,0 мг Se(IV)/дм³ – на 24,0% на 7-у добу порівняно з контролем. Найбільший вплив на СДГ здійснювала концентрація 5,0 мг Se(IV)/дм³ – активність ензиму збільшувалася у 4,5, 10,4 і 7,6 рази відповідно на 1-у, 3-ю та 7-у доби.

НАДН-глутаматдегідрогеназна активність збільшувалася у всіх варіантах за дії всіх досліджуваних концентрацій селеніту натрію. Так за дії 5,0 і 20,0 мг Se(IV)/дм³ отримані показники перевищували контрольні значення в 2,3-4,8 рази, а за дії 0,5 і 10,0 мг Se(IV)/дм³ – у 2,7 рази. Поряд з цим, НАДФН-глутаматдегідрогеназна активність за дії селеніту суттєво зменшувалася порівняно з контролем, особливо за концентрацій 0,5 і 20,0 мг Se(IV)/дм³ – від 38,8% до 65,8%, однак збільшення активності ензиму встановлено лише за дії 5,0 мг Se(IV)/дм³ (на 99,5%) та 10,0 мг Se(IV)/дм³ (на 12,5%) на 3-ю і 7-у доби експозиції.

Враховуючи метаболічний зв'язок досліджених ензимів, інтенсивне дезамінування глутамату НАДН-ГДГ, очевидно, обумовлене постачанням α -кетоглутарату в цикл Кребса, що підтверджується збільшенням активності СДГ і ЦО. При цьому відповідно утворення глутамату НАДФН-ГДГ знижується (табл. 5).

Активність СДГ, ЦО, НАДН-ГДГ та НАДФН-ГДГ у *Ch. vulgaris* за дії селеніту натрію (10,0 мг Se(IV)/дм³) окремо та спільно з йонами металів, 7 діб, M±m, n=5

Умови досліджу	СДГ, нмоль сукцинату/мг білку·хв.	ЦО, мкг індофенолу синього/мг білку·хв.	НАДН-ГДГ, мкмоль×10 ⁻³ НАДН/мг білку·хв.	НАДФН-ГДГ, мкмоль×10 ⁻³ НАДФН/мг білку·хв.	НАДН-ГДГ/НАДФН-ГДГ
контроль	12,99±1,24	1,11±0,05	8,93±0,66	11,85±0,75	0,75
Se(IV)	33,70±2,07*	1,68±0,10*	4,56±1,1*	9,84±1,03	0,46
Se(IV)+Co ²⁺	9,72±0,68	1,05±0,06	18,30±1,45*	29,18±2,67*	0,63
Se(IV)+Mn ²⁺	9,64±0,69	0,86±0,03*	25,11±6,04*	40,52±1,57*	0,62
Se(IV)+Cu ²⁺	5,89±0,22*	0,56±0,02*	47,43±6,48*	63,01±1,24*	0,75
Se(IV)+Zn ²⁺	5,84±0,22	0,55±0,03*	72,70±2,26*	65,18±7,37*	1,11
Se(IV)+Fe ³⁺	2,34±0,24*	0,54±0,02*	45,06±2,08*	55,89±9,81*	0,81

Йони металів здатні зумовлювати суттєвий вплив на протікання метаболічних процесів у водоростевих клітин, тому було з'ясовано взаємозв'язок активності СДГ, ЦО та ГДГ (НАДН- та НАДФН-залежних форм) за дії селеніту натрію спільно з Co²⁺, Cu²⁺, Fe³⁺, Mn²⁺ та Zn²⁺.

За дії селеніту натрію у *Ch. vulgaris* виявлено активацію СДГ та ЦО відповідно у 2,6 та 1,5 рази, однак за спільної дії селеніту та йонів досліджуваних металів активність ензимів зменшувалася порівняно з контролем (у деяких випадках – на 82,0%). У цей же час активність НАДН-ГДГ і НАДФН-ГДГ за дії селеніту натрію зменшується (на 48,9% та 17,0%), але збільшується за спільної дії з металами (у 2-8 разів) щодо контролю.

Отже, при додаванні в середовище культивування *Ch. vulgaris* 10,0 мг Se(IV)/дм³ виявлена активація ензимів енергетичного обміну (СДГ і ЦО) та інгібування ГДГ, проте за спільної дії селеніту та йонів металів динаміка змін виявилася протилежною. Проте енергетичне забезпечення клітин водоростей регулюється адаптивно і забезпечує їх нормальне функціонування за рахунок додаткових енергетичних субстратів, якими є амінокислоти, дезаміновані у НАДН-ГДГ реакції.

Оксидантний статус клітин *Ch. vulgaris* за дії селеніту натрію окремо та спільно з йонами металів. Селен є одним з найбільш важливих компонентів антиоксидантної системи, бо бере безпосередню участь у перетворенні метіоніну в цистеїн і в синтезі глутатіону, що сприяє збільшенню антиоксидантного потенціалу клітин, а -SeH за рахунок більш низького потенціалу йонізації і меншої енергії зв'язку має вищу електронно-донорну активність, ніж група -SH, тому утворення -SeH є більш активним та ефективним, ніж -SH (Zhi-Yong Li et al., 2003; Antioxidante enzyme, 2012).

З'ясовано, що активність СОД збільшувалася на 3-ю і 7-у доби за дії селеніту в концентраціях 0,5 мг Se(IV)/дм³ на 23,6% і 57,9%, та 20,0 мг Se(IV)/дм³ – на 31,7% і 28,6% відповідно (рис. 4). За дії 5,0 мг Se(IV)/дм³ активність СОД на 1-у добу не змінилася, на 3-ю збільшилася на 120,0%, а на 7-у зменшилася на 60,2% щодо контролю. Одночасно встановлено зменшення активності СОД за дії селеніту у концентрації 10,0 мг Se(IV)/дм³ на 1-у, 3-ю і 7-у доби відповідно на 17,2%, 57,2% та 44,8% порівняно з контролем.

Каталазна активність збільшилася за дії селеніту у концентраціях 0,5 мг Se(IV)/дм³ на 7-у добу (на 40,4%) та 5,0 мг Se(IV)/дм³ на 3-ю (41,7%) і 7-у (на 16,7%) доби щодо контролю. Зменшення активності КТ встановлено за дії 0,5 мг Se(IV)/дм³ на 1-у (на 25,5%) і 3-ю (17,0%) доби, за дії 5,0 мг Se(IV)/дм³ на 1-у добу на 12,5%, за дії 10,0 мг Se(IV)/дм³ на 1-у, 3-ю і 7-у доби на 9,5%, 23,8% і 14,3% відповідно, а також за дії 20,0 мг Se(IV)/дм³ на 1-у, 3-ю і 7-у доби на 4,3%, 25,5% і 8,5% відповідно щодо контролю.

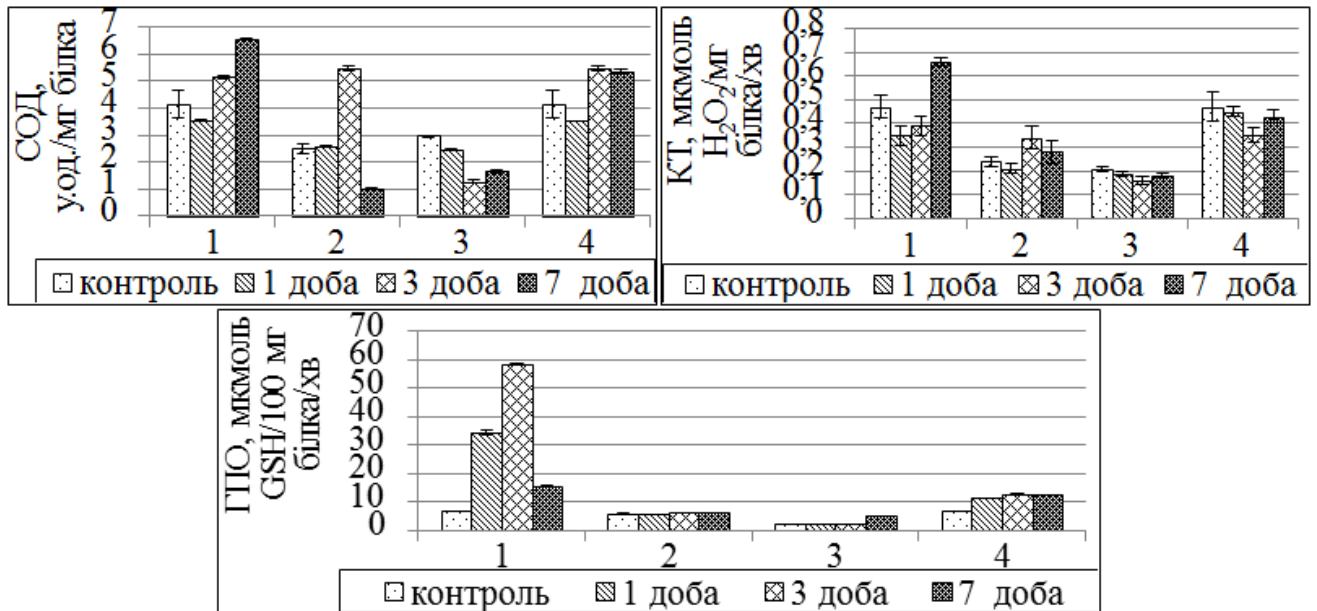


Рис. 4. Активність антиоксидантних ензимів у *Ch. vulgaris* за дії селеніту натрію, $M \pm m$, $n=5$:
1 – 0,5 мг Se(IV)/дм³; 2 – 5,0 мг Se(IV)/дм³; 3 – 10,0 мг Se(IV)/дм³; 4 – 20,0 мг Se(IV)/дм³

Активність ГПО за дії 0,5 мг Se(IV)/дм³ збільшилася в 2,5 рази порівняно з контролем. Внесення в середовище хлорели селеніту в концентрації 5,0 мг Se(IV)/дм³ змін активності ензиму практично не викликала. За дії 10,0 мг Se(IV)/дм³ активність ГПО була на рівні контрольного значення і збільшилася лише на 7-у добу (на 124,0%); за дії 20,0 мг Se(IV)/дм³ мала місце активація ГПО майже у 2 рази порівняно з контролем.

Поглинання неорганічних сполук, особливо металів, супроводжується зміною оксидативного статусу клітин, що насамперед виражається у зміщенні рівноваги між прооксидантними процесами та активністю антиоксидантної системи (Perales-Vela H.V. et al., 2006). Тому було досліджено особливості активності СОД, КТ і ГПО за дії селеніту натрію (10,0 мг Se(IV)/дм³) окремо та спільно з йонами металів (рис. 5).

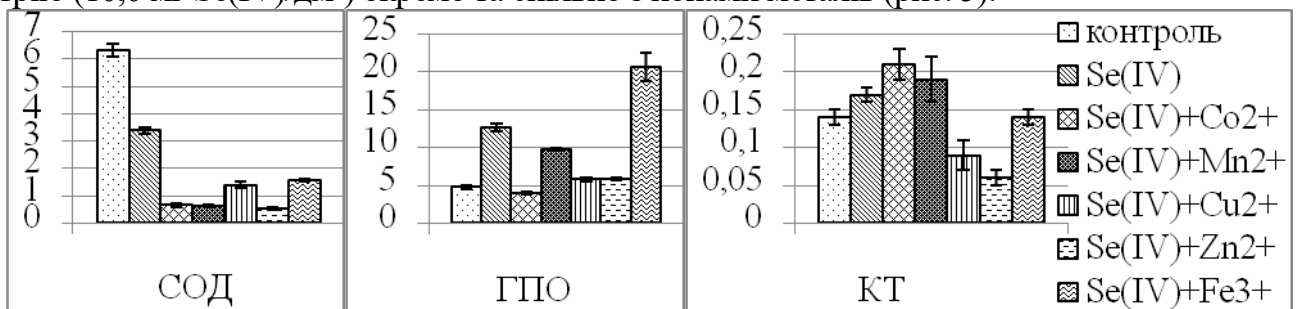


Рис. 5. Активність антиоксидантних ензимів у *Ch. vulgaris* за дії селеніту натрію (10,0 мг Se(IV)/дм³) окремо та спільно з йонами металів, 7 діб, $M \pm m$, $n=5$

Визначено, що активність СОД за дії селеніту спільно з Co^{2+} , Mn^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} і Fe^{3+} зменшилась на 89,8%, 90,2%, 78,3%, 91,9% і 75,2% відповідно порівняно з контролем. Щодо ГПО, то її активність збільшилась за дії селеніту натрію окремо та за спільної дії з Mn^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} і Fe^{3+} на 165,8%, 105,0%, 22,0%, 21,9% та 335,7% відповідно. Активність КТ збільшилась за дії селеніту окремо та спільно з Co^{2+} і Mn^{2+} на 21,4%, 50,0% і 35,7% відповідно, однак жодних змін не відбулося за спільної дії Se(IV) та Fe^{3+} , зменшення активності КТ встановлено за спільної дії Se(IV) з Cu^{2+} і Zn^{2+} відповідно на 35,7% і 57,1% порівняно з контролем.

Отже, в адаптивній перебудові антиоксидантного статусу клітин хлорели за дії селеніту як окремо, так і спільно з йонами металів підвищується роль ГПО і зменшується участь КТ та СОД.

Вплив селенцикліпідної субстанції з *Ch. vulgaris* на оксидантну систему та енергетичний обмін у печінці та крові щурів. Досліджено, що за концентрації селеніту 10,0 мг Se(IV)/дм³ у клітинах хлорели активуються процеси біосинтезу, клітини мають високий адаптивний енергетичний та антиоксидантний потенціал, а також при цьому здатні утворювати селенметалліпідні комплекси. Тому ці закономірності були використані для отримання і перевірки біологічної активності зазначених комплексів на здорових щурах в експерименті (табл. 6).

Таблиця 6

Вміст молекул середньої маси, показники окиснювальних процесів, антиоксидантної системи та енергетичного обміну у щурів після застосування ліпідного, селенліпідного та селенцикліпідного комплексів, $M \pm m$; $n=24$

Показники	Контроль	Ліпідний комплекс (0,45 мг ліпідів)	Селенліпідний комплекс (0,4 мкг селену, 0,45 мг ліпідів)	Селенцикліпідний комплекс (0,4 мкг селену, 2,5 мкг цинку, 0,45 мг ліпідів)
Сироватка крові				
МСМ ₁	0,77±0,05	0,54±0,04*	0,49±0,07*	0,52±0,03*
МСМ ₂	0,59±0,05	0,55±0,03	0,42±0,03*	0,50±0,03
ТБК-АП, мкмоль/дм ³	18,99±1,63	19,28±1,12	15,44±0,76	14,57±0,32*
КТ, мкат/дм ³	0,15±0,01	0,18±0,01	0,19±0,01*	0,22±0,01*
ВГ, ммоль/дм ³	0,27±0,01	0,44±0,03*	0,58±0,03*	0,71±0,03*
Печінка				
ТБК-АП, мкмоль/кг	84,40±5,83	92,95±5,43	88,41±7,98	91,88±8,22
КТ, мкат/кг	0,25±0,002	0,27±0,002*	0,27±0,001*	0,28±0,001*
ВГ, ммоль/кг	0,63±0,06	0,92±0,02*	0,97±0,03*	1,06±0,02*

Вміст МСМ у щурів при застосуванні селенліпідного та селенцикліпідного комплексів зменшився на 7-36%, що свідчить про відсутність ендогенної інтоксикації при їх застосуванні. У зв'язку з цим були досліджені активності компонентів антиоксидантного захисту організму. Встановлено, що вміст ТБК-АП зменшився у сироватці крові щурів при застосуванні селенліпідного (на 18,7%) та селенцикліпідного комплексів (на 23,3%) порівняно з контролем, а в печінці щурів вірогідних змін показників не виявлено. Також визначено, що після застосування досліджуваних комплексів у сироватці крові і в печінці щурів вірогідно зростає активність КТ та ВГ.

Важливим показником формування успішної адаптаційної стратегії є ефективність функціонування енергетичних систем в організмі (рис. 6).

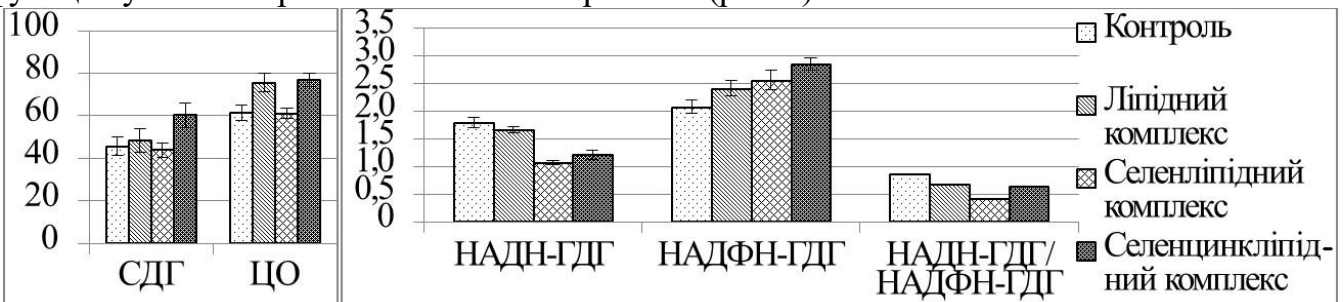


Рис. 6. Активність деяких ензимів енергетичного обміну в печінці щурів після застосування ліпідного, селенліпідного та селенцикліпідного комплексів, $M \pm m$; $n=24$

Встановлено збільшення активності СДГ і ЦО за дії ліпідного (на 6,4% і 23,3% відповідно) та селенцикліпідного (на 32,2% і 25,2% відповідно) комплексів. НАДН-ГДГ активність за дії селенліпідного (на 40,2%) та селенцикліпідного (на 32,4%) комплексів з

хлорели достовірно знижувалася. Натомість активність НАДФН-ГДГ за введення щурам ліпідного, селенліпідного та селенцинкаліпідного комплексів достовірно збільшувалася на 15,9%, 23,0% та 37,0% відповідно щодо показників у тварин контрольної групи. Зменшення співвідношення НАДФН-ГДГ/НАДФ-ГДГ у всіх випадках свідчить про активізацію синтетазної ланки азотного метаболізму.

Переважає амінування кетокислот та утворення глутамату, а з нього інших амінокислот, може відбуватися у зв'язку з посиленням утворенням протеїнових сполук – компонентів антиоксидантної системи – каталази, відновленого глутатіону, що виявлено в експериментальних тварин як в печінці, так і в сироватці крові.

Отже, проведені дослідження дозволили відзначити позитивний вплив селенліпідного та селенцинкаліпідного комплексів з хлорели на метаболічні процеси у здоровому організмі та відкрили перспективу їх використання як антиоксидантів та антигіпоксантів.

ВИСНОВКИ

У дисертації на основі проведених експериментальних досліджень вивчено вплив селеніту натрію окремо та спільно з Co^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} і Zn^{2+} на накопичення селену і металів у ліпідах *Chlorella vulgaris*, стан пігментної системи, функціонування ключових ензимів енергетичного й азотистого обміну та оксидантний статус клітин хлорели. Встановлено особливості включення селену окремо та за спільної дії з йонами металів в ліпіді й утворення біологічно активного селенметалліпідного комплексу.

1. Накопичення селену біомасою хлорели було лінійним упродовж семи діб культивування. Включення селену у вуглеводи та білки було нелінійним, а в ліпіді характеризувалось прямою часовою залежністю та оберненою зростанню концентрації селеніту в середовищі. Найбільше накопичення селену мало місце в ліпідах (ДАГ, ТАГ, ФЛ, НЕЖК) за дії 10,0 мг $\text{Se(IV)}/\text{дм}^3$ впродовж 7-и діб.

2. Встановлено, що вміст селену в біомасі та вуглеводах хлорели збільшується лише за спільної дії селеніту з Cu^{2+} , Fe^{3+} і Zn^{2+} ; білки акумулювали селен у всіх варіантах дослідження: за спільної дії селеніту з Co^{2+} його вміст збільшився на 39,3%; Mn^{2+} – на 52,5%; Cu^{2+} – на 34,4%; Zn^{2+} – на 104,6% і Fe^{3+} – на 43,9% порівняно з контролем. Вміст селену у ліпідах хлорели збільшився за спільної дії селеніту з Co^{2+} , Mn^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} і Fe^{3+} відповідно на 69,5%, 174,1%, 249,9%, 28,3% і 126,5% щодо контролю. Зростання інтенсивності включення селену до складу ліпідів різних класів відбувається в ряді: ЛФЛ < ТАГ < ДАГ < ФЛ < НЕЖК.

3. Визначено, що вміст Co^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} і Fe^{3+} збільшився в біомасі та білках хлорели за їх спільної дії з селенітом натрію (10,0 мг $\text{Se(IV)}/\text{дм}^3$). Щодо ліпідів, то вони акумулювали найбільшу кількість досліджуваних металів порівняно із вуглеводами та білками. Вміст Mn^{2+} за спільної дії з селенітом збільшився на 61,5%, Cu^{2+} – на 77,1%, Zn^{2+} – на 189,6% та Fe^{3+} – лише на 6,5%, а вміст Co^{2+} зменшився на 8,5% щодо контролю. Вміст металів у ліпідах різних класів значно збільшується у всіх варіантах дослідження порівняно з контролем.

4. З'ясовано, що селеніт натрію зумовив зменшення вмісту 16:0 та збільшення вмісту 18:0 і 18:1 жирних кислот. Переважає вмісту насичених жирних кислот над ненасиченими виявлено за спільної дії селеніту з Co^{2+} , Mn^{2+} , Cu^{2+} і Fe^{3+} , а за дії селеніту окремо та спільної з Zn^{2+} – ненасичених над насиченим.

5. За дії 10,0 мг $\text{Se(IV)}/\text{дм}^3$ окремо та спільно з йонами металів вміст пігментів у хлорели збільшується порівняно з контролем у 1,5-3,1 рази та зростає співвідношення хлорофілів *a/b*, що є ознакою успішної адаптації хлорели до дії селеніту та йонів металів і сприяє ефективному функціонуванню енергозабезпечення клітин. За дії селеніту натрію в різних концентраціях активується енергетичний обмін, а також відбувається зміщення реакції в напрямку дезамінування, за рахунок чого відбувається перерозподіл продуктів амінування як

енергетичних субстратів і попередників амінокислот, які забезпечують адаптацію клітин до дії досліджених чинників.

6. Визначено, що у формуванні антиоксидантного статусу клітин хлорели за дії селеніту окремо, так і спільно з йонами металів ключову роль відіграє ГПО за вторинної ролі КТ та суттєвого зниження активності СОД. Поряд із цим, вміст селену значно збільшується у тотальній ліпідній субстанції і в ліпідах різних класів за спільної дії селеніту натрію з йонами металів. Біологічний ефект включення селену до цих сполук може полягати в забезпеченні неензимного шляху захисту ліпідів за зниження ролі КТ та СОД.

7. Отримано селенліпідний та селенцинкліпідний комплекси, за введення яких у дозі з 0,4 мкг селену, 2,5 мкг цинку і 0,5 мг ліпідів на 1 мл 1% водно-крохмальної суспензії в організмі здорових щурів (печінці і сироватці крові) пригнічувалися прооксидантні процеси, активізувалися антиоксидантні процеси, СДГ та ЦО, глутаматдегідрогеназний шлях утворення глутамату, що сприяє успішному функціонуванню антиоксидантної системи та підтриманню енергетичного і метаболічного гомеостазу в організмі і є підставою для подальших досліджень біологічної активності отриманих комплексів як перспективних лікувально-профілактичних субстанцій.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Вінярська Г. Б. Вплив селен-цинк-ліпідної субстанції із *Chlorella vulgaris* Viej. на оксидативний та енергетичний статус щурів / Г. Б. Вінярська, П. Г. Лихацький, О. І. Боднар, Л. С. Фіра, В. В. Грубінко // Медична та клінічна хімія. – 2015. – Т. 17. № 4. – С. 10–17. (Аналіз літературних джерел, проведення лабораторних досліджень, написання та оформлення статті виконано у співавторстві).
2. Вінярська Г. Б. Накопичення есенціальних металів макромолекулами *Chlorella vulgaris* Beij. (Chlorophyta) у присутності селеніту натрію / Г. Б. Вінярська, О. І. Боднар, А. В. Станіславчук, В. В. Грубінко // Наукові записки Терн. нац. пед. ун-ту ім. В. Гнатюка. Серія: Біологія. Спецвип.: Гідроекологія. – 2015. – № 3–4 (64). – С. 103–108. (Аналіз літературних джерел, проведення лабораторних досліджень, написання та оформлення статті виконано у співавторстві).
3. Грубінко В. В. Функціонування глутаматдегідрогеназного шляху зв'язування амонію у прісноводних водоростей / В. В. Грубінко, О. І. Боднар, О. В. Василенко, А. І. Луців, Г. Б. Вінярська // Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту ім. В. Гнатюка. Сер. Біологія. – 2014. – № 3 (60). – С. 31–36. (Участь у проведенні досліджень та написанні статті).
4. Василенко О. В. Энергетический и азотистый обмен у *Chlorella vulgaris* Beij. (Chlorophyta) под влиянием селенита натрия / О. В. Василенко, О. И. Боднар, Г. Б. Винярская, Ю. В. Синюк, В. В. Грубинко // Альгология. – 2014. – № 24 (3). – С. 297–301. (Участь у проведенні досліджень, аналіз літературних джерел, написання та оформлення статті виконано у співавторстві).
5. Боднар О. І. Особливості накопичення сполук селену та їх біологічна роль у водоростей / О. І. Боднар, Г. Б. Вінярська, Г. В. Станіславчук, В. В. Грубінко // Наук. запис. Терноп. нац. пед. ун-ту ім. В. Гнатюка. Сер. Біол. Спец. вип.: «Фізіолого-біохімічні та екосистемні механізми формування токсикорезистентності біологічних систем». – 2013. – № 2 (55). – С. 94–108. (Аналіз літературних джерел, написання та оформлення статті виконано у співавторстві).
6. Боднар О. І. Оксидативний статус *Chlorella vulgaris* за дії селеніту натрію окремо та спільно з йонами металів / О. І. Боднар, Г. Б. Вінярська, В. В. Грубінко // Wschodnioeuropejskie Czasopismo Naukowe (East European Scientific Journal). – 2016. – Vol. 1(5). – P. 5–11. (Аналіз

літературних джерел, проведення лабораторних досліджень, написання та оформлення статті виконано у співавторстві).

7. Bodnar O. I. Peculiarities of selenium accumulation and its biological role in algae / O. I. Bodnar, G. B. Vinyarskaya, G. V. Stanislavchuk, V. V. Grubinko // Hydrobiol. J. – 2015. – Vol. 51, N 1. – P. 63–78. (Аналіз літературних джерел, написання та оформлення статті виконано у співавторстві).
8. Василенко О. В. Особливості енергетичного та азотного обміну *Chlorella vulgaris* Beijer. за сумісної дії селеніту натрію та йонів металів / О. В. Василенко, О. І. Боднар, Г. Б. Вінярська // Наукові записки Терн. нац. пед. ун-ту ім. В. Гнатюка. Серія: Біологія. Спецвип.: Гідроекол. – 2015. – № 3–4 (64). – С. 89–92. (Участь у проведенні досліджень, написання та оформлення статті виконано у співавторстві).
9. Винарская Г. Б. Антиоксидантная роль селенита натрия у *Chlorella vulgaris* Beij. (Chlorophyta) / Г. Б. Винарская, О. И. Боднар, А. В. Станиславчук, В. В. Грубинко // Альгология. – 2014. – № 24 (3). – С. 293–296. (Аналіз літературних джерел, проведення лабораторних досліджень, написання та оформлення статті виконано у співавторстві).
10. Viniarska H. B. Regulation of formation of selenium-lipid complex in *Chlorella vulgaris* Beij. (CHLOROPHYTA) in culture / H. B. Viniarska, O. I. Bodnar, A. V. Stanislavchuk, V. V. Grubinko // «Plants under global and local natural-climatic and human impacts»: The VIII Congress of the Russian Society of Plant Physiologist (21–26 September 2015). – Petrozavodsk : Karelian Research Centre of RAS, 2015.–P. 105.
11. Вінярська Г. Б. Отримання біологічно активних комплексів – метал-селен-ліпідних субстанцій / Г. Б. Вінярська, О. І. Боднар // Стан і перспективи харчової науки та промисловості : Міжнарод. науково-техн.конф. (ТНТУ ім. І. Пулюя, 8-9 жовтня 2015 р.) : тези доповідей. – Тернопіль: Вид-во ТНТУ, 2015. – С. 135–136.
12. Грубинко В. В. Накопичення селен-металвмісних біологічно активних речовин одноклітинними водоростями / В. В. Грубинко, О. І. Боднар, Г. Б. Вінярська// Біологічні дослідження – 2015: Зб. наук. праць. – Житомир: ПП «Рута», 2015. – С. 355–357.
13. Гоцуляк Л. Накопичення селену клітинами *Chlorella vulgaris* Beijer. при дії металів / Л. Гоцуляк, Г. Вінярська // Матеріали XI Міжнарод.наук.конф. студентів та аспірантів «Молодь і поступ біології». Львів, 20-23 квітня 2015 р. – Львів, 2015. – С. 509–510.
14. Винарская Г. Накопление селена в липидах *Chlorella vulgaris* Beij. (Chlorophyta) in vitro / Г. Винарская, О. Боднар, А. Станиславчук, В. Грубинко // Actual problems in modern phycology. V International Conference “Actual problems in modern phycology”, 3–5 nov., 2014, Chisinau, Moldova / Chişineu: CEP USM, 2014. – P. 153–158.
15. Боднар О. И. Азотистый обмен у *Chlorella vulgaris* при действии селенита натрия / О. И. Боднар, Г. Б. Винарская, А. В. Станиславчук, В. В. Грубинко // Материали докладов III Международной научной конференции. Россия, Борок, 24–29 августа 2014 г. – Ярославль : Филигрань, 2014. – С. 126–127.
16. Винарская Г. Б. Накопление селена в клетках *Chlorella vulgaris* / Г. Б. Винарская, О. И. Боднар, А. В. Станиславчук, В. В. Грубинко // Материали докладов III Международной научной конференции. Россия, Борок, 24–29 августа 2014 г. – Ярославль : Филигрань, 2014. – С. 131–133.
17. Viniarska H. B. Accumulation of selenium in lipids *Chlorella vulgaris* cells / H. B. Viniarska, O. I. Bodnar, A. V. Stanislavchuk, V. V. Grubinko // International scientific conference «Physiology and biotechnology of oxygenic photoautotrophic microorganisms: looking into the future». Moscow, Russia, 26–30 May 2014. – Moscow, 2014. – P. 44.
18. Вінярська Г. Б. Зв'язування селену *Chlorella vulgaris* у культурі / Г. Б. Вінярська, О. І. Боднар,

- А. В. Станіславчук, В. В. Грубінко // Матеріали XI Українського біохімічного конгресу. Київ, 6–10 жовтня 2014 р. // Ukr. Biochem. J. – 2014. – Vol. 86, N 5, (Suppl. 2). – С. 50–51.
19. Боднар О. І. Особливості накопичення сполук селену прісноводними гідробіонтами за його різного вмісту у воді / О. І. Боднар, Г. В. Станіславчук, Г. Б. Вінярська, Л. М. Гоцуляк, В. В. Грубінко // Матеріали VI Міжнарод. іхтіологічної наук.-практ. конференції «Сучасні проблеми теоретичної та практичної іхтіології». Тернопіль, 9–12 жовтня 2013 р. – Тернопіль, Вектор, 2013. – С. 262–268.
20. Грубінко В. В. Вміст хлорофілів та каротиноїдів у *Chlorella vulgaris* за дії селену / В. В. Грубінко, Г. Б. Вінярська, О. І. Боднар // Матеріали II Міжнарод. наук. конференції «Актуальні проблеми сучасної біохімії та клітинної біології». Дніпропетровськ, 24–25 вересня, 2013 р. – Дніпропетровськ: вид-во ДНУ, 2013. – С. 96.
21. Вінярська Г. Б. Цитохромоксидазна активність *Chlorella vulgaris* за дії селену / Г. Б. Вінярська, О. І. Боднар // Матеріали IV наук.-практич. всеукр. конф. «Біологічні дослідження – 2013». Житомир, 16–18 квітня 2013 р. – Житомир, 2013. – С. 19–22.
22. Вінярська Г. Активність сукцинатдегідрогенази *Chlorella vulgaris* за дії селену / Г. Вінярська // Матеріали IX Міжнародної наукової конференції студентів та аспірантів «Молодь і поступ біології». Львів, 16–19 квітня 2013 р. – Львів, 2013. – С. 469–470.

АНОТАЦІЯ

Вінярська Г. Б. Накопичення селену та його вплив на метаболізм у *Chlorella vulgaris* Веї. в культурі за дії селеніту натрію та йонів металів – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія. – ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського» МОЗ України, Тернопіль, 2016.

У дисертації досліджено поглинання та вплив селеніту натрію у концентраціях 0,5 мг Se(IV)/дм³; 5,0; 10,0; 20,0 мг Se(IV)/дм³ окремо та спільно з Co²⁺ (0,05 мг/дм³), Cu²⁺ (0,002 мг/дм³), Fe³⁺ (0,008 мг/дм³), Mn²⁺ (0,25 мг/дм³), Zn²⁺ (5,0 мг/дм³) упродовж 1-7 діб у *Chlorella vulgaris*. Включення селену у вуглеводи та білки було нелінійним, а у ліпіди – прямопропорційним процесом. Накопичення селену та йонів металів за їх спільної дії є синергетичним. Уперше показано, що за фіксованих умов культивування селеніт натрію окремо в концентрації 10,0 мг Se(IV)/дм³ та спільно з Co²⁺, Cu²⁺, Fe³⁺, Mn²⁺, Zn²⁺ активує енергетичний та азотистий метаболізм, знижує утворення пероксидних сполук, у клітинах водоростей підвищується вміст селенметалвмісних ліпідів.

Виділені селенліпідний та селенцинкліпідний комплекси (1 мл 1% водно-крохмальної суспензії містив 0,4 мкг селену, 2,5 мкг цинку і 0,5 мг ліпідів) у печінці і сироватці крові щурів пригнічували прооксидантні процеси, активізували антиоксидантний статус, енергетичний обмін, глутаматдегідрогеназний шлях утворення глутамату, що є підставою для вивчення лікувально-профілактичних властивостей отриманих субстанцій.

Ключові слова: *Chlorella vulgaris*, селеніт натрію, есенційні метали, накопичення, метаболізм, селенметалліпідні комплекси, біологічна активність.

АННОТАЦИЯ

Винярская Г. Б. Накопление селена и его влияние на метаболизм у *Chlorella vulgaris* Веї. в культуре при действии селенита натрия и ионов металлов – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.04 – биохимия. – ГБУЗ «Тернопольский государственный медицинский университет имени И. Я. Горбачевского» МОЗ Украины, Тернополь, 2016.

В диссертации исследовано поглощение и влияние селенита натрия в концентрациях 0,5 мг Se(IV)/дм³; 5,0; 10,0; 20,0 мг Se(IV)/дм³ отдельно и совместно с Co²⁺ (0,05 мг/дм³), Cu²⁺ (0,002 мг/дм³), Fe³⁺ (0,008 мг/дм³), Mn²⁺ (0,25 мг/дм³), Zn²⁺ (5,0 мг/дм³) в течение 1-7 суток у *Chlorella vulgaris*. Включение селена в углеводы и белки было нелинейным, а в липиды – прямопропорциональным процессом. Накопление селена и ионов металлов при их совместном воздействии было синергетическим. Впервые показано, что при фиксированных условиях культивирования селенит натрия отдельно в концентрации 10,0 мг Se(IV)/дм³ совместно с Co²⁺, Cu²⁺, Fe³⁺, Mn²⁺, Zn²⁺ в указанных концентрациях активизирует энергетический и азотистый метаболизм, снижает образование пероксидных соединений, в клетках повышается содержание селенметаллсодержащих липидов.

Выделенные селенлипидный и селенцинклипидный комплексы (1 мл 1% водно-крахмальной суспензии содержал 0,4 мкг селена, 2,5 мкг цинка и 0,5 мг липидов) в печени и сыворотке крови крыс подавляли прооксидантные процессы, активизировали антиоксидантный статус, энергетический обмен, глутаматдегидрогеназный путь образования глутамата, что является основанием для изучения лечебно-профилактических свойств полученных субстанций.

Ключевые слова: *Chlorella vulgaris*, селенит натрия, эссенциальные металлы, накопление, метаболизм, селенметалллипидные комплексы, биологическая активность.

SUMMARY

Vinyarski G. B. Accumulation of selenium and its effect on the *Chlorella vulgaris* Beij. Metabolism in culture under the influence of sodium selenite ions and metal ions- Manuscript.

Thesis for a degree of candidate of biological sciences in the speciality 03.00.04 – biochemistry. – State Higher Educational Institution «Ternopil State Medical University named after I.Ya. Horbachevsky» Ministry of Public Health of Ukraine, Ternopil, 2016.

The thesis is devoted to the research of the absorption and influence of sodium selenite in concentrations of 0,5 mg Se (IV)/dm³; 5,0; 10,0; 20,0 mg Se(IV)/dm³ separately and together with Co²⁺ (0,05 mg/dm³), Cu²⁺ (0,002 mg/dm³), Fe³⁺ (0,008 mg/dm³), Mn²⁺ (0,25 mg/dm³), Zn²⁺ (5,0 mg/dm³) within 1-7 days in *Chlorella vulgaris*. We determined the condition of pigment system, functioning of the key enzymes of nitrogen and energy metabolism an oxidative status of chlorella cells depending on duration of influence and concentration.

It was determined that accumulation of selenium in carbohydrates and proteins was non-linear, and in lipids – directly proportional. Correlation of selenium content in carbohydrates, proteins and lipids was 1,0 : 1,8 : 2,2. The greatest accumulation of selenium was in lipids (TAG:DAG:PL:UFA), in samples with 10,0 mg Se (IV)/dm³ acting for 7 days. The accumulation of selenium and metal ions during their simultaneous action is synergetic. It was found that the lipids comparing to proteins and carbohydrates accumulated the highest amount of selenium and metals in a case of their combined action. Increased intensity of incorporation of selenium into the lipids of different classes in cases of combined action of selenite with metal ions occurs in the series: LPL<TAG<DAG<PL<UFA.

It was found that sodium selenite caused the reduction of fatty acid content in 16:0 and its increase in 18:0 and 18:1. The predominance of saturated fatty acids over unsaturated was detected in samples with the combined effect of selenite with Co²⁺, Mn²⁺, Cu²⁺, and Fe³⁺. In samples where selenite was used separately or in combination with Zn²⁺ – unsaturated predominated over saturated.

It was studied that the content of pigments in *Ch. vulgaris* in samples with 10.0 mg Se (IV)/dm³ and in samples with added metal ions increases in comparison sample in 1,5-3,1 times as well as increases the ratio of chlorophyll *a/b*. This is a sign of successful adaptation of chlorella to the selenite and metal ions influence and contributes to the effective energy supply of cells.

It was shown for the first time that in a case of fixed physico-chemical conditions of cultivation, sodium selenite alone at a concentration of 10,0 mg Se(IV)/dm³ and in combination with essential metal ions (Co²⁺, Cu²⁺, Fe³⁺, Mn²⁺, Zn²⁺) activates energy metabolism and nitrogen metabolism. We established the dislocation of glutamate dehydrogenase reaction toward deamination and that glutamate can be an energetic substrate or the precursor of amino acids that provide adaptation of cells to the action of investigated factors. Influence of selenium with metals also reduces the formation of peroxide compounds and contributes to their destruction. The key role plays glutathione peroxidase and catalase has a secondary role and a significant reduction of superoxide dismutase activity.

It was founded that biotechnologically effective way for receiving seleniummetallipid substances might be *Ch. vulgaris* cultivation with sodium selenite at a concentration of 10,0 mg Se(IV)/dm³ and metal ions: Co²⁺ – 0,05 mg/dm³, Cu²⁺ – 0,002 mg/dm³, Fe³⁺ – 0,008 mg/dm³, Mn²⁺ – 0,25 mg/dm³, Zn²⁺ – 5,0 mg/dm³.

We isolated seleniumlipid and seleniumzinlipid complexes from cells that were present in 1 ml of 1% aqueous starch suspension 0,4 µg of selenium, zinc – 2,5 µg and 0,5 mg of lipids. When they were introduced into the body of healthy rats, in their liver and serum we observed the suppressed prooxidative processes, activation of antioxidant system, succinate dehydrogenase and cytochrome oxidase activity and glutamate dehydrogenase way of glutamate formation. These data might be the basis for the study of therapeutic properties of investigated substances.

Keywords: Chlorella vulgaris, sodium selenite, essential metals, accumulation, metabolism, seleniummetallipid complexes, biological activity.

Підписано до друку 05.04.2016 р. Формат 60×90/16.
Гарнітура Times New Roman. Друк офсетний.
Ум. др. арк. 0,9.
Наклад 100 прим. Зам. № 124

Видрук оригінал макета:
редакційно-видавничий відділ Тернопільського
національного педагогічного університету
імені Володимира Гнатюка
м. Тернопіль, вул. М. Кривоноса 2, 46027
Реєстраційне свідоцтво № Т Р 241 від 18.11.1997 р.