

Et al. Bor

ZAVOD ZA ZAŠTITU ZDRAVLJA "TIMOK" ZAJEČAR
CENTAR ZA POLJOPRIVREDNA I TEHNOLOŠKA ISTRAŽIVANJA ZAJEČAR
TEHNIČKI FAKULTET BOR
DRUŠTVO MLADIH ISTRAŽIVAČA BOR

ZBORNİK RADOVA

EKOLOŠKA ISTINA

X NAUČNO-STRUČNI SKUP O PRIRODNIM VREDNOSTIMA
I ZAŠTITI ŽIVOTNE SREDINE

XV STRUČNI SASTANAK PREVENTIVNE MEDICINE
TIMOČKE KRAJINE

DONJI MILANOVAC 05.06-08.06.2002.

**BIOLOŠKI ZNAČAJ SELENA - VAZAN FAKTOR VISOKO
KVALITETNE HRANE****THE BIOLOGICAL IMPORTANCE OF SELENIUM - AN ESSENTIAL
FACTOR OF HIGH-QUALITY FOOD**Radoslav V. Žikić¹, B.I. Ognjanović¹, A.S. Stajn¹, S.Z. Pavlović², Z.S. Saičić², V.M. Petrović²¹Institut za biologiju, Prirodno-matematički fakultet, Kragujevac²Institut za biološka istraživanja "Siniša Stanković", Beograd

IZVOD

Postojeći međunarodni propisi, standardi i direktive koji se odnose na kvalitet hrane su dobrim delom ugrađeni u jugoslovensko zakonodavstvo i propise. Njihovo dosledno postovanje je neophodno ne samo zbog zadovoljenja kvaliteta hrane koja se distribuira na domaćem tržištu već je i preduslov naše uspešne izvozne orijentacije i konkurentnosti na inostranom tržištu prehrambenih proizvoda. Istraživanja oksidacione stabilnosti hrane koja se sprovode u mnogim istraživačkim laboratorijama u svetu nameću potrebu uvođenja novih kriterijuma i standarda koji bi obuhvatili i određivanje antioksidacionih komponentata u hrani. Rezultati dobijeni u našim istraživanjima pokazuju da naknadnim dodavanjem pojedinih komponentata antioksidacionog sistema (selen) može značajno da se poveća ukupni nivo ostalih antioksidanata u tkivima eksperimentalnih životinja.

ABSTRACT

Existing international regulations, standards and instructions which refer to the food quality are included in Yugoslav legislation and regulations. Consistent application of the rules is crucial, not only for satisfying the quality of the food which is distributed in domestic market, but it is also a prerequisite of the successful export orientation and the competitiveness in foreign market. Investigations of the oxidant stability of food, which are carried out in many laboratories in the world, give accent on the introduction of new criteria and standards which should include the determination of antioxidant components in food. Obtained results indicate that the subsequent addition of some components of antioxidant system (selenium) can significantly increase the total level of other antioxidants in tissues of experimental animals.

UVOD

Jedan od važnih zadataka sve brojnije humane populacije na Zemlji je proizvodnja zdrave-visokokvalitetne hrane. Na žalost, povećanje ukupnog obima proizvodnje hrane na Zemlji zaostaje za povećanjem broja stanovnika. Zbog toga je problem proizvodnje dovoljnih količina hrane, barem u siromasnijem ali brojnijem delu čovečanstva, sve više izražen. Osnovni cilj programa Naucne asocijacije, pa i svetske zdravstvene organizacije je uspostavljanje i obezbeđivanje stalnog funkcionisanja sistema proizvodnje i kontrole kvaliteta hrane. Međutim, problem resavanja prehrane svetskog stanovništva ne može da se reši samo većim obimom proizvodnje hrane, već proizvedena hrana ujedno mora da bude visoko kvalitetna, po svojoj ceni dostupna svim potrošačima kao i da bude profitabilna za sve učesnike u procesu njene proizvodnje, prerade i distribucije. Brojni i složeni problemi koji se pojavljuju u svim fazama proizvodnje hrane moraju da se resavaju u okviru precizno utvrđenih standarda, propisa i direktiva. Na taj način može da se proizvede hrana koja zadovoljava hemijske, fizičke i mikrobiološke kriterijume i koja obezbeđuje pravilan odnos biološki važnih organskih materija (proteini, masti, ugljeni hidrati, vitamini), aditiva, minerala i mikrokonstituenata (Žikić i sar., 1999).

Ispitivanja su pokazala da je unos esencijalnih elemenata, naročito selena (Se) nizak kod stanovnika više Evropskih zemalja uključujući i Srbiju. Uzrok tome je najčešće konzumiranje hrane koja, zbog visokog sadržaja masti i prerađenih ugljenih hidrata ima izrazito nizak sadržaj hranljivih materija. Sa druge strane, ispitivanja su pokazala da je unos toksičnih elemenata, naročito olova (Pb), kadmijuma (Cd) i zive (Hg), ali i nekih organskih kontaminanata kao rezidua organohlorinih pesticida, srodnika polihlorovanih bifenila (PCB), kancerogenih poliakrilnih aromatičnih ugljovodonika (PAH) povećana u nekim Evropskim zemljama. Ovakvo visok unos toksičnih jedinjenja u kombinaciji sa niskim unosom esencijalnih elemenata kao što su Se, Zn, antioksidacionih vitamina, prirodnih antioksidanata i potencijalnih antikancerogena kao bioflavonoida, nepovoljno utiče na zdravlje ljudi i glavni je faktor rizika i pojave bolesti (Ognjanović i sar., 2001).

Nedovoljno je podataka o sadržaju mnogih hranljivih materija, ne-nutritivnih prirodnih antioksidanata i toksičnih komponenti u hrani i njihovom unosu sa ishranom u Istočno Evropskim zemljama. Zato je potrebno da se u tim oblastima preduzmu ispitivanja kvaliteta hrane, međuzavisnosti u lancu hrana - ishrana - čovek.

Za optimalno funkcionisanje organizma neophodan je uravnotežen unos svih mineralnih elemenata, jer je prilagodjavanje organizma kod višestrukog deficita esencijalnih nutrienata i/ili prekomernog unosenja toksičnih komponenti ograničen.

Istrazivanja poslednjih godina pokazuju da su zemljista u Srbiji izrazito siromasna selenom. Selen kod nas ima najviše u borskoj rudi, dok su stene i zemljista ostalih područja izrazito siromasna, pa time i zitarice neophodne za ishranu ljudi, što za posledicu ima nizak nivo selena u krvi, i u celom organizmu, pa zbog toga naša populacija ljudi, po ovom kriterijumu, spada među ugroženije u svetu. Dokazano je da nedostatak selena u htani dovodi do niza oboljenja, prvenstveno kardiovaskularnog i lokomotornog sistema, uz smanjenje opšte otpornosti i fiziološke aktivnosti celog organizma.

U cilju proizvodnje zdrave i kvalitetne hrane obogaćene sa antioksidantima, cilj našeg rada bio je da odredimo sve važnije komponente antioksidacionog sistema u tkivima eksperimentalnih životinja posle njihovog naknadnog izlaganja selenu. Slična istraživanja mogu kasnije da se sprovedu i u proizvodnji i preradi namirnica i napitaka (mleko, jaja, zitarice, voće, povrće, voda i napitci).

MATERIJAL I METODE RADA

U eksperimentu su korišćeni mužjaci *Wistar albino* pacova, telesne mase 170-220 g i starosti 2 meseca. Kontrolna grupa životinja dobijala je cismensku vodu *ad libidum*. Eksperimentalna grupa životinja je dobijala rastvor natrijum selenita (Na_2SeO_3 - 100 $\mu\text{g/l}$) u toku 30 dana i prosečno unela po 7 μg Se/danu/kg telesne mase.

Analizirana su tkiva jetre i srca. Izolovana tkiva iz organizma su isprana u fiziološkom rastvoru, a zatim su usitnjena i homogenizovana u odnosu 1:10 uz dodatak saharoznog pufera, pH 7.4. Iz homogenata je određena koncentracija vitamina E u jetri (Desai, 1980). Preostali homogenat je centrifugiran 90 minuta na 37500 rpm. U supernatantu su određene aktivnosti enzima: superoksid-dismutaze (SOD) (Misra i Fridovich, 1972), katalaze (CAT) (Beutler, 1982), glutation-peroksidaze (GSH-Px) (Tamura i sar., 1982) i glutation-S-transferaze (GST) (Habig i sar., 1974). Za određivanje koncentracije vitamina C u jetri korišćena je dinitrofenilhidrazinska metoda (Roe, 1957).

Dobijene vrednosti obradjene su statistički. Znacajnost odstupanja određena je Studentovim - t testom (Hoel, 1966), pri čemu je za najniži stepen značajnosti uzeta vrednost $p < 0.05$.

REZULTATI

U tabeli 1. prikazana je aktivnost enzima antioksidacionog zaštitnog sistema (SOD, CAT, GSH-Px, GST i koncentracije vitamina C i E) u jetri, a u tabeli 2. prikazana je aktivnost enzima antioksidacionog zaštitnog sistema (SOD, CAT, GSH-Px i GST) u srcu kontrolne grupe pacova i pacova kojima je naknadno davan selen (Se) u vodi za pice. Dobijeni rezultati pokazuju da je posle egzogenog davanja selena značajno poboljšan ukupan antioksidacioni status (enzimske i neenzimske komponente AOS-a) u jetri i enzima AOS-a u srcu.

Tabela 1. Aktivnost superoksid dismutaze (SOD), katalaze (CAT), glutation peroksidaze (GSH-Px), glutation-S-transferaze (GST) i koncentracije vitamina C (Vit C) i vitamina E (Vit E) u jetri kontrolne grupe pacova (K) i pacova tretiranih selenom (Se)

Table 1. Activities superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GSH-Px), glutathione-S-transferase (GST) and concentration vitamin C (Vit C) and vitamin E (Vit E) in liver control rats (K) and rats treated selenium (Se)

	SOD (J/mg prot.)	CAT (J/mg prot.)	GSH-Px (J/mg prot.)	GST (J/mg prot.)	Vit C (mg %)	Vit E ($\mu\text{g/g}$)
K	47,91 ± 2,06	495,33 ± 17,50	558,27 ± 15,51	681,45 ± 35,44	37,60 ± 0,84	13,41 ± 0,69
Se	64,42 ± 2,47***	605,32 ± 20,3*	673,83 ± 30,7*	876,64 ± 29,5**	45,23 ± 1,58**	27,1 ± 1,50****

* $p < 0.05$, ** $p < 0.02$, *** $p < 0.01$, **** $p < 0.005$

Tabela 2. Aktivnost superoksid dismutaze (SOD), katalaze (CAT), glutation peroksidaze (GSH-Px) i glutation-S-transferaze (GST) u srcu kontrolne grupe pacova(K) i pacova tretiranih selenom (Se)

Table 2. Activities superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GSH-Px) and glutathione-S-transferase (GST) in heart control rats (K) and rats treated selenium (Se)

	SOD (J/mg prot.)	CAT (J/mg prot.)	GSH-Px (J/mg prot.)	GST (J/mg prot.)
K	4,27 ± 0,52	19,14 ± 0,89	316,14 ± 9,25	85,34 ± 3,68
Se	9,10 ± 0,93 ***	22,36 ± 0,58 *	354,25 ± 16,34 *	114,04 ± 4,83 **

*p < 0.05, **p < 0.02, ***p < 0.01, ****p < 0.005

DISKUSIJA

Rezultati nasih istrazivanja pokazuju da u jetri i srcu eksperimentalnih zivotinja koje su uzimale selen rastvoren u vodi u obliku Na-selenita (Na_2SeO_3), Se povecava ukupni antioksidacioni status (enzimske i neenzimske komponente AOS-a), tabela 1. i 2.

Selen je esencijalni oligoelement, neophodan za normalno funkcionisanje organizma. Zbog ceste deficitarnosti u lancu ishrane, selen se u nedovoljnim kolicinama unosi u organizam. Literaturni podaci pokazuju da zbog nedovoljne kolicine antioksidanata (selena i vitamina E) u ishrani domacih zivotinja, mogu da se pojave razlicite bolesti usled ostecenja tkiva jetre, misica i srca, koje se razlicito manifestuju kod razlicitih vrsta. Kod ovaca, teladi, koza i svinja se javlja distrofija misica, nekroza jetre i pankreasa i kardiomiopatija (Shamberger, 1983; Lannek i Lindberg, 1976). Zbog nedostatka selena u zemljistu, a samim tim i u lancu ishrane, u istocnom delu Kine, region Keshan, otkriveno je da se kod trudnica i male dece javlja kardiomiopatija ("Keshan-ova bolest"). Pored ostecenja srca javljaju se i promene na drugim tkivima, kao sto su degeneracija skeletnih misica, ciroza jetre i infekcija pluca (Chen, 1982; Kim i Combs, 1993; Rannem, 1995). U zemljama u kojima je ovaj problem bio drastico izrazen (Kina, Novi Zeland, Finska, Madjarska, Grcka), selenom je dodatno obogacivano zemljiste dodavanjem u vestacka djubriva, kao i namirnice u zivotinjskoj i ljudskoj ishrani. Selen je dodavan kao Na-selenit ili organski vezan na bazi biotehnoloski obogacenog pivskog kvasca u kombinaciji sa vitaminima A, C i E (Show i Jeng, 1986; Favier, 1988; Niki i sar., 1995). Selen je osnovni sastojak vaznog enzima glutation-peroksidaze, koji kao i vitamini A, C i E ima znacajnu ulogu u zastiti celija od delovanja slobodnih radikala koji izazivaju oksidaciona ostecenja. Na taj nacin se odrzava prirodna ravnoteza u organizmu i usporava proces starenja. Preporucuje se dnevno unosenje selena u kolicinama od 0,05 do 0,2 mg, u obliku dodataka svakodnevnoj ishrani. U uslovima izlozenosti stresu, toksicnim i ostalim stetnim agensima (delovanje teskih metala, UV i jonizujuce zracenje, smog, pusenje, prekomerno konzumiranje alkohola), selen i vitamini A, C i E imaju antioksidaciono i protektivno dejstvo. Sam selen usporava proces starenja celija organizma, povecava imunitet i jaca opstu otpornost organizma, stiti organizam od toksicnog delovanja teskih metala (olovo, kadmijum, ziva), i smanjuje rizik od nastajanja kancerogenih i kardiovaskularnih oboljenja, kod respiratornih smetnji, ostecenja jetre i vida, i pozitivno utice na plodnost i trudnoću (Favier, 1988; Rannem, 1995).

Vitamin E i selen su mikronutrienti, koji sprecaju lipidnu peroksidaciju. Medjutim, poznato je da i vitamini A, C, E i ubihinon (koenzim Q) mogu da deluju sinergisticno kao antioksidanti (Favier, 1988; Constantinescu i sar., 1994). Nasi rezultati potvrđuju i dopunjuju ranija saznanja da je hrana obogacena antioksidantima bioloski vrednija i da omogucava vecu oksidacionu stabilnost organizma (Zikic i sar., 1999; Ognjanovic i sar., 2000).

Takodje je pokazano, u nasim ptethodnim istrazivanjima, da naknadnim dodavanjem antioksidanata, kao sto su koenzim Q_{10} , vitamin E i maslinovo ulje, moze znacajno da se poveca ukupni nivo svih antioksidanata u tkivima eksperimentalnih zivotinja (Zikic i sar., 2000; Ognjanovic i sar., 2001).

ZAKLJUČAK

Na osnovu rezultata dobijenih u ovom radu moze da se zakljuci da unosjenjem odgovarajucih doza selena u organizam eksperimentalnih zivotinja znacajno se poboljsava oksidaciona stabilnost i ukupni antioksidacioni status u tkivima jetre i srca.

Neophodno je da se primene odgovarajuće metode u poljoprivrednoj praksi i soli selena dodavati vestackim djubrivima ili prskati zemljista deficitarna selenom. To je najbolji nacin da se poljoprivredno zemljiste obogati i

tako pojednostavi unosenje ovog elementa u organizam ljudi i životinja preko hrane. Da bi se ovo primenilo, prethodno mora da se na celoj teritoriji Srbije ispita sadržaj Se u zemljištu, kako bi mogle da se odrede količine koje treba dodati, da bi hrana sadržala fiziološki optimalni nivo Se. Kvalitetna hrana mora da sadrži potrebnu količinu biološki važnih komponenti kako bi se organizmu obezbedile neophodne organske supstance, vitamini i mikroelementi.

Odredjivanje oksidacione stabilnosti podrazumeva kontrolu nivoa enzimskih (SOD, CAT, GSH-Px, GST, GR) i neenzimskih (GSH, AsA, Vit E, Se) komponenti antioksidacionog zaštitnog sistema u hrani tokom procesa proizvodnje, pripreme i distribucije do potrosaca, kao i mogućnost dodatnog obogaćivanja nekim od antioksidanata. Samo takva hrana može da obezbedi potrebnu oksidacionu stabilnost u organizmu. Bilo koji poremećaj u organizmu koji dovodi do narušavanja ravnoteže između prooksidanata i antioksidanata, dovodi do ozbiljnih fizioloških posledica.

LITERATURA

1. Beutler E. (1982): Catalase, In: Beutler E. eds. "Red cell metabolism, a manual of biochemical methods". Grune and Stratton.: Inc. 105-106.
2. Chen XS. (1982): Selenium and Keshan disease. *Ann NY Acad. Sci.* 393: 224-225.
3. Constantinescu A, Maguire JJ, Packer L. (1994): Interactions Between Ubiquinones and Vitamins in membranes and Cells. *Mol. Aspects. Med.* Vol 15, Iss S, pp 57-65.
4. Desai ID. (1984): Vitamin E Analysis Methods for Animal Tissues. *Methods in Enzymology.* 105: 138-147.
5. Favier A. (1988): Selenium Metabolism, Selenium in Medicine and Biology, Avoriaz, France.
6. Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB. (1974): Glutathione S-transferase. *J. Biol. Chem.* 249: 7130-7139.
7. Hoel. (1966): Rapid specific method for determination of aldoses in body fluids. *Nature.* 183: 108-109.
8. Kim YS, Combs GF. (1993): Effects of Dietary Selenium and Vitamin E on Glutathione Concentrations and Glutathione S-Transferase Activities in Chick Liver and Plasma. *Nutr. Res.* 13: 455-463.
9. Lannek N, Lindberg P. (1976): Vitamin E and selenium deficiencies (VESD) of domestic animals. *Adv. Vet. Sci. Comp. Med.* 19: 127-164.
10. Loue A. (1987): Les Oligo-éléments en Agriculture. Ed. Agri. Nothan. Paris.
11. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJJ. (1951): Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 235-241.
12. Misra HP, Fridovich I. (1972): The role of superoxide anion in the autooxidation of epinephrine and simple assay for superoxide dismutase. *J. Biol. Chem.* 247: 3170-3175.
13. Niki E, Noguchi N, Tsuchihashi H, Gotoh N. (1995): Interaction among vitamin C, vitamin E, and beta-carotene. *Am J Clin Nutr.* 62 (6 Suppl): 1322S-1326S.
14. Ognjanovic BI, Zikic RV, Stajin AS, Maletic SD. (2000): Fiziološki aspekti proizvodnje visoko kvalitetne hrane. Eko-konferencija 2000, 27-30. septembar, Novi Sad, Zdravstveno bezbedna hrana, knjiga II, pp. 247-253.
15. Ognjanovic BI, Zikic RV, Pavlovic SZ, Stajin AS, Saicic ZS, Petrovic VM. (2001): Biološki značaj antioksidanata-vazan faktor visoko kvalitetne hrane. Zbornik radova "Ekološka istina"- ishrana i zdravlje. 359-364.
16. Rannem T. (1995): The effect of selenium supplementation on skeletal and cardiac muscle in selenium-depleted patients. *J. Parenter. Enteral. Nutr.* 19 (5): 3351-3355.
17. Roe HJ. (1983): Chemical determination of ascorbic, dehydroascorbic and diketogulonic acids. In: Glick D. eds. "Methods of Biochemical Analysis", Intersc. Publ. New York - London. pp. 115-139.
18. Shamberger RJ. (1983): Selenium deficiency diseases in animals. In "Biochemistry of Selenium". New York: Plenum Press, pp 31-58.
19. Show CK, Jeng J. (1986): The role of selenium in nutrition. In: Spallholz MD, Ganther HE eds. "Selenium in Medicine and Biology", Academic Press, Orlando.
20. Tamura M, Oschino N, Chance B. (1982): Some characteristics of hydrogen and alkylhydroperoxides' metabolizing systems in cardiac tissue. *J. Biochem.* 92: 1019-1031.
21. Zikic RV, Pajovic S, Stajin AS, Pejic S, Ognjanovic BI, Pavlovic SZ, Kasapovic J. (1999): Hrana i ishrana. 40 (1-2): 51-56.
22. Zikic RV, Stajin AS, Pavlovic SZ, Ognjanovic BI. (2000): Biotehnologija u stocarstvu. 16 (3-4): 41-48.