

EWA KACZMARCZYK, JERZY ŁUKASIAK, KAROL SZCZUROWSKI,  
MAREK PRUSAKOWSKI

## OTRZYMYWANIE SUPLEMENTÓW DIETY ŻELAZA(II) I SELENU(IV) POPURZEZ ICH BIOTRANSFORMACJĘ W *ARTHROSPIRA* SP.

### Streszczenie

**Wprowadzenie.** Celem badań prowadzonych w latach 2018 – 2021 było opracowanie nowego sposobu hodowli mikroalg *Arthrospira* sp. w warunkach zamkniętych tak, by otrzymywane w rezultacie mikroalgi były pozbawione zanieczyszczeń mikrobiologicznych, zanieczyszczeń metalami ciężkimi i WWA, a równocześnie zawierały dodatkowe mineralne składniki odżywcze (żelazo i selen). Zakres projektu obejmował badania przemysłowe, prace rozwojowe oraz zgłoszenia patentowe uzyskanych wyników. Na badania przemysłowe składały się: hodowla eksperymentalna spiruliny w warunkach laboratoryjnych, ekstrakcja fikocyjaniny w warunkach laboratoryjnych oraz badania nad parametrem antyoksydacyjnym ORAC.

**Wyniki i wnioski.** Surowiec uzyskany w wyniku badania spełnia wszystkie wymagane prawem normy jakościowe w zakresie zawartości metali ciężkich i WWA oraz czystości mikrobiologicznej. Wykazano, że mikroalgi wyhodowane metodą suplementacji zastosowaną w badaniu zawierają średnio 57,7 µg selenu w porcji dziennej 3 g. W przypadku żelaza zawartość w surowcu wynosiła do 11,7 mg w 3 g. Ponadto odnotowano jego bardzo znaczny współczynnik ORAC. Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że spirulina–Fe(II) oraz spirulina–Se(IV) wykazują znaczny potencjał antyoksydacyjny, co może czynić je przydatnymi surowcami do produkcji suplementów diety i żywności funkcjonalnej. Suplementy diety i żywność funkcjonalna uzyskane metodami użytymi w badaniu mogą mieć znaczenie w suplementowaniu ważnymi mikroelementami Fe(II) i Se(IV), a jednocześnie mogą być zastosowane do uzupełnienia diety cennymi składnikami *Arthrospira* sp.

**Słowa kluczowe:** spirulina, fotobioreaktor, selen, żelazo, suplementacja

### Wprowadzenie

Żelazu jako znanemu mikroelementowi krwiotwórczemu poświęcono bardzo bogatą literaturę. W badaniach i aplikacjach należy zawsze pamiętać o tym, że rola fizjologiczna żelaza dotyczy pierwiastka na drugim stopniu utlenienia, która to forma jest

mało stabilna termodynamicznie, co stwarza problemy technologiczne w zachowaniu stabilnej formy żelaza na II stopniu utlenienia, a zatem trwałości preparatu [2, 3, 5, 16].

Wykorzystując zdolności wiążące (chelatujące) spiruliny, w badaniach postanowiono uzyskać nową trwałą formę organicznego żelaza(II). Wzbogacenie spiruliny w procesie biotransformacji może pozwalać na uzyskanie suplementu spiruliny wzbogaconej istotnym mikroelementem, jakim jest żelazo(II), w porcjach dziennego pobrania.

Pierwiastkiem znacznie lepiej opisanym w literaturze dotyczącej fizjologii jest współcześnie selen, który spełnia funkcję istotnego stymulatora układu immunologicznego. W pierwszej dekadzie XXI wieku badania podstawowe w dziedzinie fizjologii selenu były prowadzone także w Gdańskim Uniwersytecie Medycznym. Miały one charakter poszukiwania korelacji pomiędzy poziomem selenu w surowicy krwi a chorobą Wilsona oraz niedomaganiem gruczołu tarczycowego [4, 7, 18, 22].

Badania nad suplementacją selenem mają także dość długą historię i były doświadczalnie trudne, ponieważ granica pomiędzy jego bezpiecznym stosowaniem a działaniem toksycznym jest dość wąska. Oczywiście bezpiecznym nieorganicznym związkiem selenu jest selenin(IV).

W badaniu suplementacji spiruliny zastosowano nowy związek organiczny selenu, seleninotriglicerol o nazwie handlowej selol. Twórcą tej substancji jest Piotr Suchocki z Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego. Selol to bezpieczna postać selenu organicznego, którego toksyczna dawka doustna LD<sub>50</sub> wynosi 100 mg/kg masy ciała. Selol posiada bogatą literaturę zarówno w zakresie badania struktury, jak i bardzo szeroko pojętych badań działania fizjologicznego i innych zastosowań aplikacyjnych [8, 9, 11].

Celem badania suplementacji mikroalg *Arthrospira* sp było uzyskanie materiału zawierającego mikroelementy takie jak selen(IV) i żelazo(II) w taki sposób, aby przyjmując porcję dzienną spiruliny (ca 3 g), można było uzyskać porcję dziennego pobrania selenu(IV) 55 µg i żelaza(II) – 1 ÷ 2 mg.

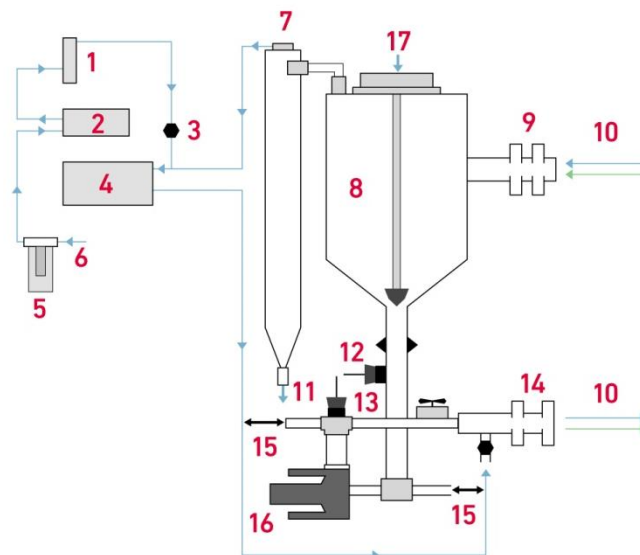
## **Materialy i metody**

Materiałem wyjściowym do badania była spirulina hodowli własnej w fotobioreaktorze zbudowanym w kontenerze w Trąbkach Wielkich (woj. pomorskie) wyposażonym w wodę, prąd i wi-fi.

Badania realizowane były w eksperymentalnym fotobioreaktorze o pojemności 350 litrów, wyposażonym w pełną automatykę kontrolująco-sterującą. Schemat podłączenia i funkcjonowania fotobioreaktora eksperymentalnego przedstawiono na rycinie 1.

Do wykonania fotobioreaktora (PBR) wykorzystano szklane orurowanie Gem Tube MK2-750 Twin Glass ze zbiornikiem firmy Astri Contenitori Industriali (Wło-

chy) o pojemności 138 litrów oraz pompy marki ALITA. Całość była sterowana przy pomocy programu komputerowego poprzez moduł podłączony do Internetu, co zapewniało stałe, w pełni kontrolowane warunki hodowli.



1. Przepływomierz powietrza / Air Flow Meter
2. Mała pompa powietrza / Small Air Pump
3. Filtr / Filter
4. Duża pompa powietrza / Large Air Pump
5. Filtr wlotu powietrza / Air Inlet Filter
6. Powietrze atmosferyczne / Ambient Air
7. Syfon / Water-trap
8. Zbiornik cyrkulacyjny / Circulation Tank
9. Połączenie kotłownicze wylotowego modułu rurowego / Outlet Tubular Module Flange Connection
10. Przepływ dwufazowy / 2 Phase Flow
11. Gaz wentylacyjny / Ventilation Gas
12. Temperatura / Temperature
13. pH / pH
14. Połączenie kotłownicze wlotowego modułu rurowego / Inlet Tubular Module Flange Connection
15. Wlot/wylot, np. zbiór kultury, zasilanie wodą/pożywką / In/outlet, e.g. Culture Harvest, Water/Medium Feed
16. Pompa cieczy / Liquid Pump
17. Zasilanie pożywką / Medium Feed

Rycina 1. Schemat podłączenia i funkcjonowania fotobioreaktora eksperymentalnego

Figure 1. The diagram of the connection and operation of the experimental photobioreactor

Cykl hodowlany trwał każdorazowo około 14 dni, a zbiory materiału przeznaczanego do badań lub na surowiec do produkcji suplementu diety następowały, gdy roztwór hodowlany osiągnął pH 10,6 ÷ 10,8. Zgodnie z wytycznymi obowiązującymi przy hodowli spiruliny temperatura hodowli nigdy nie spadła poniżej 8 °C ani nie przekroczyła 45 °C. Po dokonaniu zbioru surowiec suszono przez cztery godziny w temperaturze 64 °C. Tak przygotowany surowiec gotowy był do dalszej obróbki w celu przygo-

towania suplementu diety. Algi hodowane były w warunkach sterylnych, w zamkniętym fotobioreaktorze, otwieranym jedynie podczas uruchamiania hodowli i w czasie zbiorów. Pomiędzy cyklami hodowlanymi z wykorzystaniem określonych dawek odżywki fotobioreaktor był płukany w celu wyeliminowania możliwości nadmiernej absorpcji.

Otrzymany materiał został poddany badaniom tożsamościowym w Katedrze i Zakładzie Mikrobiologii Farmaceutycznej Wydziału Farmaceutycznego GUMed. Z badań wynika, że hodowana w fotobioreaktorze spirulina należy do gatunku cyjanobakterii jadalnych. Hodowla składa się z dwóch genotypów, z których jeden jest bliski genetycznie *Arthrospira platensis*, a drugi *Arthrospira maxima*. Dwa genotypy stanowiące hodowlę pozwalają na używanie nazwy *Arthrospirasp.* Mikroorganizm ten jest komercyjnie hodowany i sprzedawany pod nazwą handlową Spirulina. [13, 14].

### Substraty

1. Substrat selenu – przygotowanie próbki aplikacyjnej. Odmierzano pipetą do zlewki 3,75cm<sup>3</sup> selolu i mieszano go z 6,25 g gumy arabskiej. Następnie starannie miksowano mieszankę, dodając 62,5cm<sup>3</sup> destylowanej wody, aż do uzyskania emulsji.

Skład próbki:

- selol – 3,75 cm<sup>3</sup>;
- guma arabska – 6,25 g;
- woda destylowana – 62,5 cm<sup>3</sup>.

Próbkę aplikowano strzykawką. Nadmiarowe ilości próbki przechowywano w lodówce, w naczyniu z ciemnego szkła. (Selol *in substantiam* jest cieczą oleistą, przeprowadzenie tej substancji w postać emulsji ułatwia proces mieszania i dostępność z odżywki, stanowiącej wypełnienie fotobioreaktora).

Tabela 1. Dawki siarczanu żelaza i naparu z zielonej herbaty stosowane w badaniu

Table 1. Doses of iron sulfate and green tea infusion used in the study

Siarczan żelaza II / Iron sulfate II [g]	Roztwór zielonej herbaty / Green tea solution [cm <sup>3</sup> ]
1,2	150
2,4	150
3,6	150
6,0	150
10	150
15	150
20	150
30	150

2. Substrat żelaza(II) – przygotowanie próbki aplikacyjnej. Siarczan żelaza w stopniu czystości chemicznej łączono zgodnie z własnymi doświadczeniami oraz instrukcją przedstawioną w dokumencie wypracowanym przez zespół szwajcarskich naukowców pod auspicjami Antenna Technologies [1] z naparem z zielonej herbaty (*Camellia sinensis*) w dawkach przedstawionych w tabeli 1 i jako całość aplikowano do fotobioreaktora. Takie połączenie powoduje lepszą rozpuszczalność żelaza.

#### *Parametry pracy fotobioreaktora*

Proces biotransformacji obserwowano przez 14 dni, utrzymując temperaturę cieczy fotobioreaktora w przedziale  $8 \div 45$  °C oraz pH  $10,6 \div 10,8$ .

#### *Monitoring suplementacji*

Procesy suplementowania *Arthrospira* sp. selenem(IV) i żelazem(II) były monitorowane analitycznie przez akredytowane laboratorium Eurofins, nr akredytacji S-106, metodami technik: spektrometrii mas z jonizacją w plazmie indukcyjnie sprzężonej LS-PP-CH-85 ICP-MS (selen) oraz spektrometrii emisji atomowej z indukcyjnie wzbudzoną plazmą LS-PP-CH-2/20 ICP-OES (żelazo). Na każdym etapie suplementacji badano 3 próbki w dwóch powtórzeniach. Niepewność wyniku badania wyrażona jako niepewność rozszerzoną przy poziomie ufności około 95 % i współczynniku rozszerzenia  $k = 2$  dla selenu wynosi  $\pm 25$  %, a dla pomiaru żelaza  $\pm 20$  %.

Pomiary aktywności przeciwutleniającej metodą ORAC zlecone zostały Katedrze Technologii Gastronomicznej i Żywności Funkcjonalnej na Wydziale Nauk o Żywności i Żywieniu Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu. Pomiary fluorescencji przeprowadzono za pomocą fluorymetru Hitachi F-2700 (Japonia) przy długości fal wzbudzenia 493 nm i emisji 515 nm oraz szerokości obu szczelin 25 nm. Analizę wykonano w trzech powtórzeniach, obliczając końcowo średnią arytmetyczną oraz odchylenie standardowe (SD) otrzymanych wyników. Zbadano 6 próbek materiału hodowlanego: surowca spiruliny a także materiałów suplementowanych selenem oraz żelazem.

### **Wyniki i dyskusja**

We wstępnym procesie badań materiału hodowlanego została określona czystość mikrobiologiczna oraz zawartość metali ciężkich i wielopierścieniowych węglowodórów aromatycznych WWA.

#### *Mikrobiologia*

Badania mikrobiologiczne wysuszonej plechy zostały wykonane w laboratorium Eurofins. Badania prowadzono metodą hodowlaną bądź metodą płytkową zgodnie z normami PN-EN ISO. Przedmiotem badań były obecność: *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp. w 25 g, *Listeria monocytogenes* a także zawartość drobnou-

strojów mezofilnych oraz pleśni i drożdży. Przeprowadzone badania potwierdzają, że materiał hodowlany nie był zanieczyszczony mikrobiologicznie [20], a ich przykładowe wyniki zawiera tabela 2.

Tabela 2. Wyniki przykładowych badań mikrobiologicznych  
Table 2. Results of sample microbiological tests

Rodzaj zanieczyszczenia / Type of contamination	Metoda badania / Test method	Wynik badania / Test result
Liczba β-glukuronidazo-dodatnich <i>Escherichia coli</i> / Number of β-glucuronidase-positive <i>Escherichia coli</i>	PN-ISO16649-2:2004 Metoda płytkowa (posiew wgłębiony) / Plate method (deep inoculation)	<10 jtk/g
Obecność gronkowców koagulazo-dodatnich / Presence of coagulase-positive staphylococci ( <i>Staphylococcus aureus</i> i innych gatunków / and other species)	PN-EN ISO 6888-3:2004+AC:2005	Nieobecny / absent /g
Obecność / The presence of <i>Salmonella</i> spp.	PN-EN ISO 6579-1:2017-04 Metoda hodowlana z potwierdzeniem biochemicznym i serologicznym / Breeding method with biochemical and serological confirmation	Nieobecna / absent /25 g
Liczba / Number of <i>Listeria monocytogenes</i>	PN-EN ISO 11290-2:2017-07 Metoda płytkowa (posiew powierzchniowy) / surface inoculation	<10 jtk/g
Ogólna liczba drobnoustrojów w temp. / Total number of microorganisms at temp. 30°C	PN-EN ISO 4833-1:2013-12 Metoda płytkowa (posiew wgłębiony) / Plate method (deep inoculation)	<10 jtk/g
Liczba drożdży i pleśni/ Yeast and mold count	3M <sup>TM</sup> Petrfilm <sup>TM</sup> Rapid Yeast and Mold Count Plates; Metoda płytkowa (petrifilm) / Plate method (petrifilm)	<10 jtk/g

### Metale ciężkie

Najwyższe dopuszczalne poziomy dla rtęci, kadmu i ołowiu w suplementach diety z alg morskich wynoszą odpowiednio: 0,1 mg/kg, 1,0 mg/kg i 3,0 mg/kg [19]. Wyniki badań surowca hodowlanego przeprowadzonych w laboratorium Eurofins przedstawiono w tabeli 3. Materiał hodowlany spełnia wszelkie wymagania jakościowe pod względem zawartości metali ciężkich.

Tabela 3. Wyniki badań zawartości metali ciężkich w surowcu hodowlanym  
Table 3. Test results for the content of heavy metals in breeding raw materials

Metale ciężkie / Heavy metals [µg/kg]	Próbka 1 / Sample 1	Próbka 2 / Sample 2	Próbka 3 / Sample 3
Rtęć / Hg	<0,01	<0,01	<0,01
Kadm / Cd	<0,1	<0,1	<0,1
Ołów / Pb	<0,3	<0,3	<0,3

#### Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne

Najwyższe dopuszczalne poziomy WWA wynoszą 10,0 µg/kg w odniesieniu do benzo(a)pirenu oraz 50,0 µg/kg w odniesieniu do sumy benzo(a)pirenu, benzo(a)antracenu, benzo(b)fluorantenu i chryzenu [21]. Wyniki badań pod kątem zawartości WWA przeprowadzone w laboratorium Eurofins na surowcu hodowlanym *Arthrospira* sp. stosowanym w badaniu wykazują, że ich dopuszczalne poziomy nie są przekraczane. Przedstawiono je w tabeli 4.

Tabela 4. Wyniki badań zawartości WWA w surowcu hodowlanym  
Table 4. Results of tests for the content of PAHs in breeding raw materials

WWA [µg/kg]	Próbka 1 / Sample 1	Próbka 2 / Sample 2	Próbka 3 / Sample 3
Benzo(a)antracen / Benzo(a)anthracene	0,8	3,0	1,3
Benzo(a)piren / Benzo(a)pyrene	<0,5	0,8	0,5
Benzo(b)fluoranten / Benzo(b)fluoranthene	<0,5	1,1	0,6
Chryzen / Chrysene	2,3	3,9	1,8
Suma WWA / Total PAHs	3,1	8,8	4,2

Wyniki badań suplementacji spiruliny selenem i żelazem zamieszczono w tabelach 5 i 6.

Rzeczywistą wartość suplementów diety pod kątem ich przydatności przeciwutleniających można ocenić testem ORAC. Wyniki analizy parametru antyoksydacyjnego przedstawia tabela 7. Obliczenia wyników wykonano z użyciem równania regresji dla krzywej troloksu. Wyniki wyrażono w ekwiwalentach troloksu w mg/100 g próbki.

Przebieg badań nad suplementacją spiruliny selenem dowiódł, że *Arthrospira* znakomicie przyswaja ten mikroelement, warunkiem powodzenia jest jednak znalezienie odpowiedniej postaci odżywki. Do takich należy selol. Sporządzony podczas badań roztwór selolu, gumy arabskiej i wody destylowanej zapewnia stosunkowo szybką i nieskomplikowaną metodę przygotowywania surowca do wyrobu suplementu diety.

Suplementacja alg związkami nieorganicznymi, na przykład seleniną sodową, może prowadzić do wymarcia hodowli, ponieważ bardzo łatwo go przedawkować.

Tabela 5. Wyniki badań suplementacji selenem  
Table 5. Results of selenium supplementation tests

Ilość płynu do aplikacji/ Application liquid amount [cm <sup>3</sup> ]	Absorpcja selenu w porcji dziennej 3 g / Selenium absorption in a daily dose of 3 g [μg]			Średnia wartość absorpcji / Average absorption value	Wariancja / Variance	Odchylenie standardowe / Standard deviation
	Próbka nr 1 / Sample no. 1	Próbka nr 2 / Sample no. 2	Próbka nr 3 / Sample no. 3			
10	11,1	8,7	8,4	9,4000	1,4600	1,2083
20	14,1	14,1	18,0	15,4000	3,3800	1,8385
30	19,2	22,8	25,5	22,5000	6,6600	2,5807
50	39,6	49,2	43,8	44,2000	15,4400	3,9294
60	62,1	40,5	52,5	51,7000	78,0800	8,8363
75	57,6	60,3	55,2	57,7000	4,3400	2,0833

Tabela 6. Wyniki badań suplementacji siarczanem żelaza  
Table 6. Results of iron sulfate supplementation tests

Pożywka siarczanu żelaza / Iron sulfate medium [g]	Absorpcja żelaza w porcji dziennej 3 g / Iron absorption in a daily dose of 3 g [mg]			Średnia wartość absorpcji / Average absorption value	Wariancja / Variance	Odchylenie standardowe / Standard deviation
	Próbka 1 / Sample 1	Próbka 2 / Sample 2	Próbka 3 / Sample 3			
1,2	1,05	1,11	1,64	1,2667	0,0703	0,2651
2,4	1,29	1,34	1,41	1,3467	0,0024	0,0492
3,6	1,58	1,74	1,75	1,6900	0,0061	0,0779
6,0	1,60	1,51	1,62	1,5767	0,0023	0,0478
10,0	1,87	1,70	1,86	1,8100	0,0061	0,0779
15,0	1,70	1,65	1,70	1,6833	0,0006	0,0236
20,0	2,22	1,76	1,91	1,9633	0,0367	0,1915
30,0	10,26	3,21	11,07	8,1800	12,4598	3,5298



Tabela 7. Badania ORAC-FL

Table 7. ORAC-FL studies

Nazwa próbki / Sample name	Aktywność przeciwutleniająca / Antioxidant activity [mg troloks/100 g próbki / sample]	
	Średnia / Mean	Odchylenie standardowe / standard deviation
Spirulina próbka 1 / sample 1	5164,47	81,00
Spirulina próbka 2/ sample 2	5428,81	52,98
Spirulina próbka 3/ sample 3	5185,32	71,76
Spirulina próbka 4/ sample 4	5163,92	103,85
Spirulina próbka 5/ sample 5	5181,20	63,50
Spirulina próbka 6/ sample 6	4843,56	108,64

Spirulina sama z siebie nie zawiera znaczących ilości selenu. Zaledwie ok 1 mg/kg. Jeśli więc ma powstać suplement diety dostarczający łatwo przyswajalny selen organiczny, należy dostarczyć pierwiastek do materiału hodowlanego. Okazało się to dość nieskomplikowane, a krzywa wysycenia – przewidywalna. Jedyne, o czym należy pamiętać, to aby kontrolować wprowadzany do fotobioreaktora substrat już na etapie jego przygotowania. Selen to mikroelement niezbędny dla prawidłowego funkcjonowania organizmu człowieka, występujący przede wszystkim w glebie i dostarczany z żywnością, jednak dziesiątki lat sztucznego nawożenia, kryzys klimatyczny i rabunkowa gospodarka doprowadziły do jego znacznych deficytów w populacji. Człowiek nie jest w stanie zapewnić sobie odpowiedniej ilości selenu, bazując wyłącznie na codziennej diecie [21]. Jako że selen bierze udział w produkcji aminokwasów – selenocysteiny i selenometiny – wpływa on na odporność człowieka, a przewlekły niedobór tego pierwiastka może doprowadzić do zaburzeń wydzielania hormonów tarczycy, dereguluje pracę układu krążenia, promuje rozwój cukrzycy, nowotworów, astmy oskrzelowej oraz chorób o podłożu autoimmunologicznym [10].

Opracowana metoda suplementacji selenem jest zatem optymalnym i efektywnym sposobem na nowatorski suplement diety, pozwalający utrzymać właściwy poziom selenu w organizmie. Zwłaszcza że sprzyja temu spirulina, która sama w sobie jest bogata w mikroelementy (żelazo, magnez, potas, cynk) i witaminy (z grupy B, A, C i E) oraz chlorofil, luteinę, zeaksantyny, C-fikocyjaniny, a także łatwo przyswajalne białko [5].

Szczególnie żelazo zawarte w spirulinie okazuje się łatwo absorbowalne przez ludzki organizm [12, 15], wiadomo zaś, że bez żelaza organizm ludzki nie mógłby wytwarzać hemoglobiny, mięśni, szpiku kostnego, ferrytyny, hemosyderyny, osocza i białek krwi. Niedobór żelaza powoduje niedokrwistość, złe samopoczucie, uczucie zmęczenia, ból i zawroty głowy czy ból stawów, duszność, tachykardię, uczucie kołatania serca, a nawet zaburzenia świadomości [6, 17].

Tu wypada wspomnieć, że dzięki spirulinie przyswajanie żelaza jest ponad dwukrotnie większe niż wchłanianie go z mięsa czy nawet powszechnie stosowanych suplementów diety. Dzieje się tak prawdopodobnie dlatego, że pierwiastek ten wchodzi w kompleks z fikocyjaniną [5].

Do badań nad suplementacją żelazem przystąpiono dopiero po wstępnym określeniu zawartości żelaza w pierwotnym materiale hodowlanym, ponieważ spirulina sama w sobie zawiera pewne ilości żelaza, mogące różnić się zasadniczo ze względu na pochodzenie materiału hodowlanego. Należy bowiem pamiętać, aby pozostawić odpowiednią ilość czystego materiału hodowlanego celem zapewnienia powtarzalności wyników.

Na etapie badawczym siarczan żelaza jako odżywka dla spiruliny okazał się związkiem dość trudnym. Kolejne podwajanie dawki przy niskich wartościach długo nie przynosiło efektów. W zakresie stężeń od 1,2 do 20,0 g siarczanu żelaza przyrost absorpcji postępował powoli, za co odpowiadać może błonowy mechanizm adsorpcyjny. Dopiero drastyczne podniesienie stężenia z 20,0 do 30,0 g siarczanu żelaza przyniosło znaczący wzrost wysycenia materiału hodowlanego żelazem. Niewykluczone, że odpowiedzialny jest za to mechanizm komórkowy wspomagany transportem jonowym. To jednak wymaga dalszych badań.

## Wnioski

1. Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że spirulina–Fe(II) oraz spirulina–Se(IV) wykazują znaczny potencjał antyoksydacyjny, co może czynić je przydatnymi surowcami do produkcji suplementów diety i żywności funkcjonalnej.
2. Wykazano, że mikroalgi wyhodowane metodą suplementacji zastosowaną w badaniu zawierają średnio 57,7 µg selenu w porcji dziennej 3 g. W przypadku żelaza, jego zawartość w surowcu wynosiła do 11,7 mg w 3 g.
3. Surowiec uzyskany w wyniku badania spełnia wszystkie wymagane prawem normy jakościowe w zakresie zawartości metali ciężkich i WWA oraz czystości mikrobiologicznej.
4. Suplementy diety i żywność funkcjonalna uzyskane metodami użytymi w badaniu mogą mieć znaczenie w suplementowaniu ważnymi mikroelementami Fe(II) i Se(IV), a jednocześnie mogą być zastosowane do uzupełnienia diety cennymi składnikami *Arthrospira* sp., której ORAC jest istotny.

*Badania zostały sfinansowane przez firmę A-Z Medica Sp. z o.o. oraz dofinansowane ze środków Regionalnego Programu Operacyjnego Województwa Pomorskiego 2014–2020 w ramach projektu pt. „Opracowanie nowej technologii hodowli mikroalg z suplementacją mikroelementami i witaminami”. Firma A-Z Medica Sp. z o.o. uzyskała od Urzędu Patentowego RP patent dotyczący wykorzystanej w badaniu metody su-*

plementacji spiruliny selenem na wynalazek pt. „Sposób otrzymywania wzbogaconej spiruliny oraz jej kompozycja”.

### Literatura

- [1] Antenna Technologies: A teaching module for the production of spirulina, 1999.
- [2] Belay A., Yoshimichi O., Miyakawa K.: Shimamatsu H.: Current knowledge on potential health benefits of Spirulina. *J. Appl. Phycol.*, 1993, 5, 235-241.
- [3] Capelli B., Cysewski G.R.: Potential health benefits of spirulina microalgae\*. *Nutrafoods*, 2010, 9, 19-26.
- [4] Dejneka W., Sworzczak K., Obłończak L., Łukasiak J.: Klasyfikacja schorzeń tarczycy na podstawie stężenia selenu w surowicy krwi. *Rocz. Państw. Zakł. Hig.* 2007, 58, 3, 563-567.
- [5] Gumiela E., Szulińska M., Bogdański P.: Wpływ suplementacji spiruliny na wybrane parametry antropometryczne i biochemiczne. *Forum Zaburzeń Metabolicznych*, 2013, 4 (4), 199-209.
- [6] Hegde N, Rich MW, Gayomali C.: The Cardiomyopathy of Iron Deficiency. *Tex.Heart Inst. J.*, 2006, 33(3), 340-344.
- [7] Jakubasik P., Korcz J., Kłoczko B.: Selen – właściwości, nadmiar, niedobór, źródła pierwiastka w diecie. Dostęp w Internecie [11.10.2023]: <https://zywienie.abczdrowie.pl/selen-w-organizmie>.
- [8] Jastrzębski Z., Czyżewska-Szafran H., Fijatek Z., Suchocki P., Fitak B.A.: Toxicity studies of a new selenium compound, Selol, in rats. *Drugs Exp. Clin. Res.*, 1995, 21, 217-220.
- [9] Jastrzębski Z., Czyżewska-Szafran H., Remiszewska M., Fijatek Z., Fitak B.A., Suchocki P.: Pharmacokinetics of selol, a new agent containing selenium, in rats. *DrugsExp.Clin. Res.*, 1997, 23, 7-11.
- [10] Klecha B., Bukowska B.: Selen w organizmie człowieka – charakterystyka i potencjalne zastosowanie pierwiastka. *Brom.Chem.Toksykol.*, XLIX, 2016, 818-829.
- [11] Książek I., Sitarz K., Anuszewska E., Dudkiewicz-Wilczyńska J., Rolson M., Koronkiewicz M., Suchocki P.: Toxicity studies of Selol – anorganic selenium (iv) compound – in vitro research. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.*, 2014, 6(5), 264-269.
- [12] Marlina D., Nurhayati F.: The effectiveness of spirulina compared with iron supplement on anemia among pregnant women in Indonesia. *Int. J.CaringSci.*, 2020, 13, 1783-1787.
- [13] Miklaszewska M., Waleron M., Waleron K.: Biotechnologiczny potencjał cyjanobakterii z rodzaju *Arthrospira*. *Biotechnologia*, 2008, 3(82), 119-142.
- [14] Miklaszewska M., Waleron M., Waleron K.: Charakterystyka jadalnej cyjanobakterii z rodzaju *Arthrospira*. *Biotechnologia*, 2008, 3 (82), 103-118.
- [15] Moradi S, Foshati S, Poorbaferani F, Talebi S, Bagheri R, Amirian P, Parvizi F, Nordvall M, Wong A, Zobeiri M.: The effects of spirulina supplementation on serum iron and ferritin, anemia parameters, and fecal occult blood in adults with ulcerative colitis: A randomized, double-blinded, placebo-controlled trial. *Clin.Nutr. ESPEN*. 2023, 57, 755-763.
- [16] Pappas A., Tsiokanos A., Fatouros I.G., Poullos A., Kouretas D., Goutzourelas N., Giakas G., Jamurtas A.Z.: The Effects of Spirulina Supplementation on Redox Status and Performance Following a Muscle Damaging Protocol. *Int. J. Mol. Sci.*, 2021, 22, #3559.
- [17] Portugal-Nunes C, Castanho TC, Amorim L, Moreira PS, Mariz J, Marques F, Sousa N, Santos NC, Palha JA. Iron Status is Associated with Mood, Cognition, and Functional Ability in Older Adults: A Cross-Sectional Study. *Nutrients*, 2020, 23, 12(11), #3594.
- [18] Ratajczak M., Gietka-Czernel M.: Rola selenu w organizmie człowieka. *Post N Med*, 2016, XXIX(12), 929-933.

- [19] Rozporządzenie Komisji (UE) 2023/915 z dnia 25 kwietnia 2023 r. w sprawie najwyższych dopuszczalnych poziomów niektórych zanieczyszczeń w żywności oraz uchylające rozporządzenie (WE) nr 1881/2006.
- [20] Rozporządzenie Komisji (WE) nr 1441/2007 z dnia 5 grudnia 2007 r. zmieniające rozporządzenie (WE) nr 2073/2005 w sprawie kryteriów mikrobiologicznych dotyczących środków spożywczych.
- [21] Shreenath AP, Hashmi MF, Dooley J.: Selenium Deficiency. 2023 Oct 29. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan. PMID,#29489289.
- [22] Świątkowska-Stodulska R., Dejneka W., Jabłońska-Kaszewska I., Łukasiak J., Kiszkiś H., Wiśniewski P., Łubińska M., Sworczak K.: Serum selenium concentration in patients with Wilson's disease. *Hepato-Gastroenterology*, 2007, 54 (78), 1788-1790.

### PREPARATION OF IRON(II) AND SELENIUM(IV) DIETARY SUPPLEMENTS BY THEIR BIOTRANSFORMATION IN *ARTHROSPIRA* SP.

#### S u m m a r y

**Background.** The aim of the research was to develop a new method of growing *Arthrospira* sp. under closed conditions so that the resulting microalgae would be free of microbial contamination, heavy metal contamination and PAHs, while containing additional nutrients (iron and selenium). The project included industrial research, development work and patent applications for the results obtained. The industrial research consisted of experimental cultivation of spirulina and phycocyanin extraction under laboratory conditions, and research on the antioxidant ORAC parameter.

**Results and conclusions.** The raw material obtained from the study meets all quality standards required by law in terms of heavy metal and PAH, as well as microbiological purity. It was shown that microalgae grown using the supplementation method contain on average 57.7 µg of selenium in a daily serving of 3 g. The iron content in the raw material was up to 11.7 mg in 3 g. Moreover, a significant ORAC factor was recorded. Based on the results, it can be concluded that spirulina-Fe(II) and spirulina-Se(IV) show significant antioxidant potential and are useful raw materials for the production of dietary supplements and functional food. Dietary supplements and functional food produced using the methods employed in the study may not only be important in supplementing with micronutrients Fe(II) and Se(IV), but can also be used to supplement the diet with the valuable ingredients of *Arthrospira* sp.

**Keywords:** spirulina, photobioreactor, selenium, iron, supplementation 