



**LATVIJAS LAUKSAIMNIECĪBAS UNIVERSITĀTE
LATVIA UNIVERSITY OF AGRICULTURE**

**PĀRTIKAS TEHNOLOĢIJAS FAKULTĀTE
FACULTY OF FOOD TECHNOLOGY**

MĀRA DŪMA

**AR SELĒNU BAGĀTINĀTU GRAUDU KVALITATĪVAIS
NOVĒRTĒJUMS**

**THE QUALITATIVE EVALUATION OF GRAIN
FORTIFIED WITH SELENIUM**

**Promocijas darba KOPSAVILKUMS
Inženierzinātņu doktora zinātniskā grāda iegūšanai
Pārtikas zinātnes nozarē**

**SUMMARY
of Doctoral thesis to obtain the Doctor's degree of Engineering Sciences
in branch of Food Science**

Jelgava, 2010

Promocijas darba vadītāja/
Scientific supervisor:
Promocijas darba konsultants/
Scientific adviser

Daina Kārklīņa
profesore, Dr.sc.ing.
Viesturs Kreicbergs
professors, Dr.chem.

Oficiālie recenzenti / Official reviewers:

Dr.habil.sc.ing., profesors **Imants Atis Skrupskis** – Latvijas Lauksaimniecības universitāte, Pārtikas tehnoloģijas fakultāte, Uztura katedra, Latvija /Department of Nutrition, Faculty of Food technology, Latvia University of Agriculture, Latvia.

Dr.habil.med., profesore **Renāte Ligere** – Latvijas Universitāte, Medicīnas fakultāte, Internās medicīnas katedra, Latvija / Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, University of Latvia, Latvia.

Dr.habil.sc.ing., profesore **Gražina Juodeikiene** –Kaunas Tehnoloģijas universitāte, Ķīmijas tehnoloģijas fakultāte, Pārtikas tehnoloģijas katedra, Lietuva/ Department of Food Technology, Faculty of Chemical Technology, Kaunas University of Technology, Lithuania.

Promocijas darba izstrāde veikta ar ESF un LZP grantu atbalstu.

Doctoral thesis has been worked out by financial support of ESF and LCS.



Promocijas darba aizstāvēšana notiks LLU Pārtikas zinātnes promocijas padomes atklātajā sēdē 2010. gada .20.augustā. plkst. 10.⁰⁰ 145. auditorijā Pārtikas tehnoloģijas fakultātē, Lielajā ielā 2, Jelgavā

The defence of the thesis in open session of the Promotion Board of Food Science will be held on August 20, 2010, at 10 a.m. in auditorium 145, at the Faculty of Food Technology of LUA, Liela iela 2, Jelgava.

Ar promocijas darbu un kopsavilkumu var iepazīties LLU Fundamentālajā bibliotēkā, Lielajā ielā 2, Jelgavā, LV-3001 un <http://llufb.llu.lv/llu-theses.htm>.

Atsauksmes sūtīt Promocijas padomes sekretārei, LLU Pārtikas tehnoloģijas fakultātes docentei Dr.phys. L.Markevičaī Lielā ielā 2, Jelgava, LV-3001 un/vai Lilija.Markevica@llu.lv.

The doctoral thesis is available at the Fundamental Library of Latvia University of Agriculture, 2 Liela street, Jelgava and <http://llufb.llu.lv/llu-theses.htm>.

References are welcome to send to L.Markeviča, Dr.phys., the Secretary of the Promotion Council of Latvia University of Agriculture, Faculty of Food Technology, 2 Liela street, Jelgava, LV-3001, Latvia, and/or Lilija.Markevica@llu.lv.

SATURS

Pētījuma aktualitāte	4
Zinātniskā darba aprobācija	7
Materiāli un metodes	9
Pētījuma rezultāti un diskusija	13
1. Selēna saturs graudos un to pārstrādes produktos	13
2. Graudu bagātināšana ar selēnu, tos diedzējot	16
3. Selēna un citu bioloģiski aktīvo vielu mijiedarbība graudos	21
3.1. B grupas, C un E vitamīnu saturs ar selēnu bagātinātos graudos	21
3.2. Proteīna un aminoskābju saturs ar selēnu bagātinātos graudos	31
4. Ar Se bagātinātu kviešu graudu ietekme uz cāļu organismu	32
5. Ar selēnu bagātinātu graudu pielietojums maizes cepšanā	36
Secinājumi	37

CONTENT

Topicality of research	39
Approbation of scientific work	42
Materials and methods	42
Results and discussion	46
1. The content of selenium in cereals and cereal products	46
2. Grain fortification with selenium during germination	47
3. Interactions between selenium and other biological active compounds in grain	49
3.1. The content of B group, C and E vitamins in grain fortified with selenium	49
3.2. The content of proteins and amino acids in grain fortified with selenium	53
4. The influence of wheat grain fortified with selenium on chicken`s organism	54
5. The application of fortified grain to bread production	56
Conclusions	57

PĒTĪJUMA AKTUALITĀTE

Sabalansēts, veselīgs un daudzveidīgs uzturs nodrošina cilvēka organismu ar nepieciešamām minerālvielām un mikroelementiem, kuru trūkums organismā vājina tā aizsargspējas, pakļaujot to slimību riskam.

Cilvēka organisma normālai funkcionēšanai ir nepieciešams arī selēns (Se). Tas ietilpst enzīmu un hormonu sastāvā, mijiedarbojas ar vitamīniem, piedalās oksidēšanās-reducēšanās procesos, šūnu elpošanā, tauku, olbaltumvielu un ogļhidrātu maiņā. Selēns ietilpst enzīma glutationperoksidāzes sastāvā, kas aizsargā šūnas no oksidēšanās produktu iedarbības. Tas mazina vides riska un stresa faktoru – ķīmisko, mutagēno un kancerogēno, radioaktivitātes, UV starojuma, pesticīdu, nitrātu, dioksīnu, smago metālu utt. – iedarbību, kas veicina brīvo radikāļu veidošanos organismā. Selēna saturam cilvēka organisma funkciju nodrošināšanai jābūt vidēji 0.2–0.5 mg uz ķermeņa masas kilogramu. Cilvēkam ir selēna deficīts, ja tā daudzums vienā litrā asins plazmas ir mazāks par 50–60 mikrogramiem. Eiropā selēna norma vienā litrā asins plazmas ir 80–120 mikrogrami, bet Krievijas zinātnieki, pamatojoties uz vides piesārņojuma līmeni, rosina šo normu paaugstināt līdz 90–130 mikrogramiem. Latvijā šis rādītājs ir vidēji 40–50 µg Se vienā litrā asins plazmas.

Se daudzums, ko dažādās pasaules valstīs cilvēki dienā uzņem ar pārtiku, ir ļoti atšķirīgs. Tas var variēt no 7 līdz 11 mikrogramiem dienā (piemēram, Ķīnas apgabalos, kas ir nabadzīgi ar Se un kur ir izplatīta Kešana slimība) līdz vairākiem tūkstošiem mikrogramu dienā (centrālās Ķīnas rajonos, kur augsnes ir bagātas ar selēnu). Latvijas Republikas Labklājības ministrijas 2001. gada 23. augusta rīkojums Nr. 233 „Ieteicamās enerģijas un uzturvielu devas Latvijas iedzīvotājiem” nosaka, ka ieteicamā Se dienas deva pieaugušiem cilvēkiem ir 60–75 mikrogrami dienā. Nepietiekama selēna uzņemšana organismā izraisa hiposelenozi, kas visbiežāk attīstās cilvēkiem, kuri dzīvo rajonos, kur augsnē, ūdenī un pārtikas produktos ir zems selēna saturs. Ar šī mikroelementa deficītu saistītas vairāk nekā 70 dažādas patoloģijas un slimības, taču pārāk liela Se koncentrācija ir toksiska cilvēka organismam.

Selēna saturs pārtikas produktos ir atkarīgs no tā satura augu un dzīvnieku valsts izejvielās, bet to savukārt ietekmē selēna saturs augsnē. Selēna saturs augsnē pasaulē konstatēts plašās robežās no 0.1 līdz 4 mg kg⁻¹ (Anglija, Skotija) līdz 5 līdz 1200 mg kg⁻¹ (Kolumbija, Venecuēla, Ķīnas centrālie rajoni). Jau 1960. gadā konstatēts, ka Latvija pieder pie valstīm ar zemu selēna līmeni augsnē – dažādos valsts novados tas ir 1,5–12 reizi mazāks, nekā būtu nepieciešams.

Selēns organismā neveidojas, tāpēc jautājums par cilvēkam nepieciešamo selēna daudzumu uzturā un tā uzņemšanu ar pārtikas produktiem joprojām ir aktuāls gan Latvijā, gan citās valstīs. Lai nodrošinātu cilvēku uzturā optimālu Se daudzumu, jāizmanto produkti, kas ir bagāti ar Se (piemēram, Brazīlijas

rieksti) vai Se saturoši uztura bagātinātāji, kuros tas ir 10–350 mg kg⁻¹ preparāta, kā arī pārtikas produkti, kas bagātināti ar Se.

Pārtikas produktu bagātināšana ar iztrūkstošiem vitamīniem un minerālvielām ir pasaulē plaši lietota prakse. Ir pazīstams ar Fe bagātināts piens, jodētā sāls, ar karotīnu un E vitamīnu bagātināts margarīns, kā arī ar Se bagātināti brokoļi, ķiploki, sāls, zaļā tēja, minerālūdens un selenizētie raugi.

Graudi un to pārstrādes produkti ir viens no svarīgākajiem Se avotiem uzturā. Dažādi graudaugu produkti saskaņā ar veselīga uztura pamatprincipiem veido līdz 50% no kopējā ikdienas uztura daudzuma.

Se satura paaugstināšanai graudaugos daudzās valstīs augsni mēslo ar Se saturošiem minerālmēsliem vai augu lapas apsmidzina ar Se saturošu šķīdumu. Somijā veiktos pētījumos Se koncentrācija graudos tika palielināta vidēji no 10 μg kg⁻¹ līdz 250 μg kg⁻¹ vasaras kviešos, līdz 50 μg kg⁻¹ ziemas kviešos un līdz 40 μg kg⁻¹ rudzos, mēslojot augsni ar Se saturošu minerālmēslojumu. Taču šajos gadījumos iespējamās problēmas, kas saistītas ar augu neuzņemto selēnu un tā nokļūšanu apkārtējā vidē, radot vides piesārņojumu. Tāpēc drošāk un efektīvāk ir Se saturu paaugstināt, graudus bagātinot ar Se to diedzēšanas procesā, kurā iespējams arī uzlabot graudu bioloģiski aktīvo vielu saturu. Zinātniskajā literatūrā ir maz datu par graudaugu, īpaši kailgraudu, bagātināšanu ar Se to diedzēšanas procesā, kā arī par šādu graudu uzturvērtības izmaiņām un to praktisko lietojumu. Latvijā trūkst datu par Se saturu Latvijā audzētos graudaugos un pārstrādes produktos, par graudu bagātināšanas iespējām ar selēnu to diedzēšanas laikā, kā arī par selēna ietekmi uz citu bioloģiski aktīvu vielu mainību graudu diedzēšanas laikā.

Pamatojoties uz atzinumiem, kas izteikti zinātniskajā literatūrā, un eksperimentālo datu analīzi, ir formulēta **promocijas darba hipotēze**: bagātinot graudus ar Se to diedzēšanas procesā, tajos iespējams paaugstināt selēna saturu un būtiski izmainīt citu bioloģiski aktīvo vielu saturu.

Hipotēze tiek pierādīta ar aizstāvamām tēzēm:

1. Diedzēšanas laikā selēna uzņemšana graudos ir atkarīga no Se formas un koncentrācijas šķīdumā.
2. Se saturs vidē ietekmē bioloģiski aktīvo vielu veidošanos kviešu, kailgraudu miežu un kailgraudu auzu graudos, tos diedzējot.
3. Ar selēnu bagātinātu kviešu graudu piedeva ir droša cāļu organismam.
4. Ar Se bagātinātu kailgraudu auzu graudu piedeva kviešu maizei paaugstina Se saturu maizē un neizmaina tās kvalitāti.

Pētījuma mērķis: iegūt ar selēnu bagātinātus graudus un izvērtēt to kvalitāti.

Pētnieciskie uzdevumi:

1. Analizēt selēna saturu Latvijā audzētos graudos un graudu pārstrādes produktos.
2. Noteikt Se formu un koncentrācijas ietekmi uz graudu dīgtsparu un dīgtspēju.
3. Pētīt savstarpējās sakarības starp Se uzņemšanu, Se saturu diedzētos graudos un graudu dīgtspēju.
4. Izpētīt Se satura ietekmi uz citu bioloģiski aktīvo vielu – tiamīna, riboflavīna, pantotēnskābes, askorbīnskābes un tokoferolu, kā arī neaizstājamo aminoskābju satura izmaiņām diedzētos graudos.
5. Izstrādāt matemātiskos modeļus Se satura, graudu dīgtspējas un tiamīna, riboflavīna, pantotēnskābes, askorbīnskābes un tokoferolu satura savstarpējo sakarību noteikšanai un prognozēšanai.
6. Pārbaudīt ar Se bagātinātu kviešu graudu piedevas ietekmi uz cāļu organismu.
7. Izpētīt kviešu maizes bagātināšanas iespējas ar selēnu, pievienojot ar Se bagātinātas kailgraudu auzas.

Pētījuma novitātes un zinātniskais nozīmīgums:

1. Izvērtēts, kā iegūt graudus, kas ir bagātināti ar Se, un noteikts, kādai jābūt optimālai nātrija selenāta koncentrācijai šķīdumā, lai iegūtu kviešus, kailgraudu auzas un miežus, kas bagātināti ar Se.
2. Pētīta Se uzņemšana graudos, graudu dīgtspēja un Se saturs graudos atkarībā no Se koncentrācijas šķīdumā.
3. Izvērtētas Se un citu bioloģiski aktīvo vielu veidošanās sakarības graudos un iegūti 2. pakāpes nelineārās sakarības vienādojumi Se satura, graudu dīgtspējas un tiamīna, riboflavīna, pantotēnskābes, askorbīnskābes un tokoferolu satura savstarpējo sakarību noteikšanai un prognozēšanai.
4. Pārbaudīts, kā kviešu graudu piedevas, kas ir bagātinātas ar Se, ietekmē glutaciona, glutationperoksidāzes, malondialdehīda, retinola un tokoferolu satura izmaiņas cāļu organismā.
5. Lai kviešu maizē paaugstinātu Se saturu, lietotas kailgraudu auzas, kas ir bagātinātas ar Se.

Zinātniskā darba tēma un tās izstrāde ir saistīta ar LZP Sadarbības projektu 06.0039. „Lauksaimniecības izejvielu pārstrādes un uztura ilgtspējīgas sistēmas izveide sabiedrības veselības veicināšanai”.

Darba tautsaimnieciskā nozīme. Graudu bagātināšana ar selēnu diedzēšanas procesā Latvijas iedzīvotājiem dos iespēju lietot uzturā pārtikas produktus ar paaugstinātu selēna saturu un pasargās viņus no selēna deficīta. Ražotāji varēs ražot jaunus uzturproduktus ar augstāku uzturvērtību.

ZINĀTNISKĀ DARBA APROBĀCIJA

Par darba rezultātiem ziņots 14 starptautiskās zinātniskās konferencēs, kongresos, semināros un simpozijos Latvijā, Slovēnijā, Igaunijā, Lietuvā, Bulgārijā, Grieķijā, Somijā, Francijā, Ungārijā, Horvātijā, Ķīnā, Ēģiptē.

1. Dūma, M., Kārkliņa, D., Alsīņa, I. (2008) Effect of different forms of microelement selenium on cereals germination. 17th International Symposium of CIEC „Plant nutrition management under stress conditions, 23-28 November, Cairo, Egypt (stenda referāts/poster presentation).
2. Dūma, M., Kārkliņa, D. (2008) Selenium in grains and cereal products. 14th World Congress of Food Science and Technology, 19-24 October, Shanghai, China (stenda referāts/poster presentation)
3. Dūma, M., Kārkliņa, D. (2008) Nutritional value of germinated wheat grains fortified with microelement selenium. 4th Central European Congress on Food, 14- 19 May, Cavtat, Croatia (stenda referāts/poster presentation).
4. Dūma, M., Kārkliņa, D. (2008) Selenium and changes of amino acids content in germinated barley grains. 3rd Baltic Conference on Food Science and Technology Foodbalt-2008, 17-18 April, Jelgava, Latvia (stenda referāts/poster presentation).
5. Dūma, M., Kārkliņa, D. (2007) Selenium additives and vitamin content in grains. Materials of International Scientific Conference “Development of foods with higher quality and biological value and investigation on their impact on human health”, 19 October, Lithuania, Kaunas (referāts/oral presentation).
6. Dūma, M., Kārkliņa, D. (2007) “Selenium additives and changes of B vitamins contents in wheat grains during germination”. 10th European Nutrition Conference, 10-13 July, Paris, France (referāts/oral presentation).
7. Dūma, M., Kārkliņa, D. (2007) “Content of C and E vitamins in grains enriched with microelement selenium”, 2nd International Symposium on Trace Elements and Health, 18-20 Jyne, Helsinki, Finland (stenda referāts/poster presentation).
8. Dūma, M., Kārkliņa, D. (2007) „Effect of selenium on Thiamin, Riboflavin and Pantothenic acid content in different grains”, 13th International Scientific Conference „Research for Rural Development 2007”, 16-18 May, Jelgava, Latvia, (refereāts/oral presentation).
9. Dūma, M., Kārkliņa, D. (2007) Influence of selenium aditives on amino acids content in wheat grains. 9-12 March, Thessaloniki, Greece (stenda referāts/poster presentation).

10. Dūma, M., Šterna, V. (2006) Selenium – situation in Latvia. Selenium in Nordic-Baltic Foodchain, 16-18 November, Tartu, Estonia (referāts/oral presentation).
11. Dūma, M., Kārkliņa, D. (2006) “Fortified wheat grains with microelement selenium”, International scientific conference “Research for rural development 2006”, 15-17 May, Jelgava, Latvia (referāts/oral presentation).
12. Dūma, M., Kārkliņa, D., Kārkla, I. (2006) “Distribution of selenium during milling of wheat grains. 3rd Central European Congress on Food, 22-24 May, Sophia, Bulgaria (stenda referāts/poster presentation).
13. Dūma, M., Kārkliņa, D., Kreicbergs, V. (2004) Changes of Selenium content in fermented cereals. 2nd Central European Congress on Food, 26-28 April, Budapest, Hungary (stenda referāts/poster presentation).
14. Dūma, M., Kreicbergs, V., Kārkliņa, D. (2002) The influence of Selenium additives on the sprouting activity of grain. 1st Central European Congress on Food, 22.-25 September, Ljubljana, Slovenia (stenda referāts/poster presentation).

Pētījumu rezultāti apkopoti un publicēti piecos vispārārtzītos recenzējamās zinātniskajos izdevumos angļu valodā:

1. Dūma, M., Kārkliņa, D. (2008) Selenium and changes of amino acids content in germinated barley grains. **In:** Proceedings of 3rd Baltic Conference on Food Science and Technology FOODBALT–2008, 17 – 18 April, Jelgava, Latvia, p.25-29.
2. Dūma, M., Kārkliņa, D. (2007) Influence of selenium aditives on amino acids content in wheat grains. **In:** Proceedings of 5th Internacional Congress on Food Technology “Consumer Protection through Food Process Improvement & Innovation in the Real World”, Volume II, ed. By E.S.Lazos, 9 - 12 March, Thessaloniki, Greece, p. 391-396.
3. Dūma, M., Kārkliņa, D. (2007) Effect of selenium on Thiamin, Riboflavin and Pantothenic acid content in different grains. **In:** International Scientific Conference Proceedings „Research for Rural Development 2007”, 16 - 18 May, Jelgava, Latvia, p. 70.-74.
4. Dūma, M., Kārkliņa, D. (2006) Fortified wheat grains with microelement selenium. **In:** International Scientific Conference Proceedings „Research for Rural Development 2006”, 17 - 20 May, Jelgava, Latvia, p.210.-213.
5. Dūma, M., Kārkliņa, D., Kreicbergs, V. (2003) Dynamic of selenium in wheat kernels and its influence on the sprouting activity of grain. **In:** Maisto chemia ir technologija, Kaunas, ISSN 1392-0227, p.19.-22.

MATERIĀLI UN METODEDES

Pētījumu laiks un vieta

Eksperimentālais darbs veikts laika posmā no 2005. līdz 2009.gadam ar iestrādēm no 2002.gada:

- LLU Ķīmijas katedras Neorganiskās un analītiskās ķīmijas laboratorijās;
- LLU Pārtikas tehnoloģijas katedras Iepakojuma materiālu īpašību izpētes laboratorijā,
- LLU Pārtikas tehnoloģijas katedras Maizes ražošanas tehnoloģiskajā laboratorijā,
- LLU Agronomisko analīžu zinātniski pētnieciskā laboratorijā;
- LU Bioloģijas institūta Dzīvnieku bioķīmijas un fizioloģijas laboratorijā;
- PVD Nacionālā Diagnostikas centra Pārtikas un vides izmeklējumu laboratorijā;
- SIA „Vides audits” laboratorijā.

Pētījumā izmantotie materiāli

Selēna saturs noteikšanai un ar selēnu bagātinātu graudu ieguvei izmantoti SIA „Zelta vārpa ” 2005.gada ražas kviešu šķirnes „Kontrast” graudi, Valsts Stendes Graudaugu selekcijas institūtā selekcionētie kailgraudu mieži un kailgraudu auzas (2006., 2008.gads), nātrija selenīts ($\text{Na}_2\text{SeO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) un nātrija selenāts (Na_2SeO_4), Fluka, tīrības pakāpe >98%, kā arī Latvijas lielveikalu RIMI un Maxima tīklos pieejamie graudu pārstrādes produkti (2007.gada oktobris): Rudzu formas maize; Arāju maize; Piena baltmaize; Kliju bagete; manna; miežu putraini; kviešu putraini; miežu pārslas; rudzu pārslas; pilngraudu auzu pārslas; kviešu pārslas.

Ar selēnu bagātināti kviešu graudi tika lietoti kā piedeva komerciālai kombinētajai pamatbarībai C01 un tās ietekme uz cāļu organismu pārbaudīta A/S Balticovo Lohmann Brown dējējvistu cāļiem, kontrolei izmantojot komerciālo kombinēto pamatbarību C01 bez piedevām.

Eksperimentālo kviešu maizes ar Se saturošu auzu piedevu paraugu gatavošanai izmantoti: A/S „Dobeles Dzirnavnies” 550.tipa kviešu milti, presēts maizes raugs, A/S „Rīgas raugs” UTN 40003040518-101-2002, cukurs, ražotājs A/S Jelgavas Cukurfabrika, atbilstoši LR Ministru Kabineta 2003.gada 8.jūlija noteikumiem Nr.377 „Kvalitātes, klasifikācijas un marķējuma prasības dažādu veidu cukuriem”, sāls, ražotājs VPO „Artemsol”, Ukraina LST 1930:2003 (GOST 13830-97), atbilstoši LR Ministru kabineta 2005.gada 5.jūlija noteikumiem Nr.488 „Obligātās nekaitīguma, kvalitātes, higiēnas un marķējuma prasības pārtikā lietojamam sālim un prasības sāls izplatīšanai un izmantošanai pārtikas ražošanā”, margarīns Delma ar tauku saturu 48%, ražots

Polijā; ūdens, atbilstoši LR Ministru Kabineta 2003.gada 29.aprīļa noteikumiem Nr.235 „Dzeramā ūdens obligātās nekaitīguma un kvalitātes prasības, monitoringa un kontroles kārtība”.

Ar selēnu bagātinātu graudu ieguve

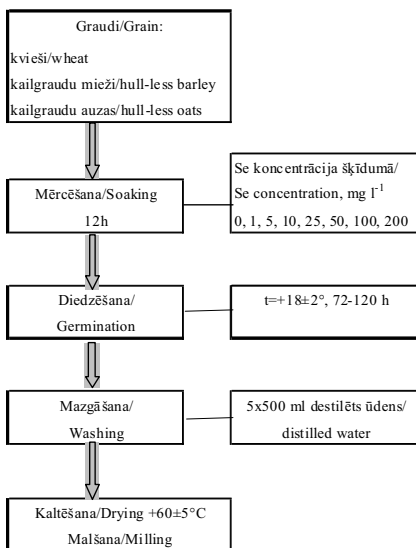
Graudu diedzēšana un sagatavošana analīzēm

Kvieši, kailgraudu mieži un kailgraudu auzas tika mērcēti un diedzēti $+18\pm 2^{\circ}\text{C}$ temperatūrā, dabiskos dienas/nakts apstākļos nātrija selenīta Na_2SeO_3 un nātrija selenāta Na_2SeO_4 saturošos šķīdumos 72-120 stundas. Selēna koncentrācija šķīdumos – 1, 5, 10, 25, 50, 100 un 200 mg l^{-1} . 100 g graudu tika aplieti ar 300 ml atbilstošā šķīduma, izturēti 12 h, tad šķīdums tika noliets un graudi diedzēti. Diedzēšanas laikā 2 reizes dienā graudi tika mitrināti ar atbilstošas koncentrācijas Se saturošu šķīdumu.

Graudu diedzēšana destilētā ūdenī bez selēna piedevām tika izmantota kā kontrole.

Lai novērstu graudu virsmas piesārņojumu ar selēnu, pēc diedzēšanas tie tika mazgāti ar destilētu ūdeni (5x500 ml), kaltēti žāvējamā skapī 48 h $+60\pm 5^{\circ}\text{C}$ (līdz mitruma saturam 9%), tad samalti.

Eksperiments tika veikts 3 atkārtojumos ar katru diedzēto graudu veidu. Ar selēnu bagātinātu graudu ieguves shēma parādīta 1.attēlā.



1. att. Ar selēnu bagātinātu graudu ieguves shēma
Fig. 1. The scheme of obtaining grain fortified with selenium

Anaīžu metodes:

Graudu dīgtspara un dīgtspējas noteikšana.

Graudu dīgtspars un dīgtspēja raksturo graudu dzīvības norises un to izsaka ar izdīgušo graudu skaitu (%) pēc 3 un 5 diennaktīm. Dīgšana notiek telpas temperatūrā $+18\pm 2^{\circ}\text{C}$.

Se saturs noteikts ar atomabsorbcijas spektroskopijas metodi AOAC 986.15. Proteīna saturs noteikts ar Kjeldāla metodi (AACC 42-20).

Aminoskābju saturs noteikts, izmantojot automātisko aminoskābju analizatoru AAA 339 (Microtechna Praha). Testēšanas metode AOAC 985.28.

Vitamīnu satura noteikšana .

Tiamīna (B_1 vitamīns) satura noteikšana tika veikta saskaņā ar AOAC 986.27.

Riboflavīna (B_2 vitamīns) satura noteikšana tika veikta saskaņā ar AOAC 970.65.

Pantotēnskābes satura noteikšana tika veikta saskaņā ar AOAC 961.14.

Askorbīnskābes (C vitamīna) saturs noteikts ar AOAC 935.33.

Tokoferolu (E vitamīna) satura noteikšanas pamatā ir vitamīna atdalīšana ar plānslāņa hromatogrāfiju, oksidēšana ar FeCl_3 , α' dipiridilu un kolorimetriska noteikšana 492 nm gaismas viļņu garumā.

Ar selēnu bagātinātas kviešu graudu piedevas pārbaude uz cāļu organismu

Eksperimenta apraksts

Cāļus audzēja LU Bioloģijas institūta vivārijā būros ar brīvu pieeju barībai un ūdenim. Pirmajā dienā veica cāļu numerāciju, svēršanu un sadalīšanu 2 grupās, katrā pa 40 cāļiem. 1.grupas (Kontroles grupa) cāļi saņēma komerciālu kombinēto pamatbarību C01 ar selēna saturu 0.25 mg kg^{-1} . 2.grupas (Eksperimentālā grupa) cāļi, sākot ar otro eksperimenta dienu, saņēma kombinēto pamatbarību, kurai tika pievienoti malti, ar selēnu bagātināti kviešu graudi. Kopējais Se saturs eksperimentālās grupas cāļu barībā 0.40 mg kg^{-1} .

Cāļi un patērētā barība tika svērti ik pēc 7 dienām, no katras grupas 5 cāļi tika dekapitēti ar giljotīnas nazi atbilstoši Eiropas Konvencijas rekomendācijai par eksperimentālo dzīvnieku eitanāziju (Close et al., 1998), paņemti un nosvērti aknu paraugi, kuros tika noteikts Se, malondialdehīda, glutationa, glutationperoksidāzes, retinola un tokoferolu saturs.. Paraugus analizēja uzreiz vai uzglabāja -20°C temperatūrā līdz anaīžu veikšanai. Visi rādītāji noteikti diennakti veciem cāļiem pirms eksperimenta uzsākšanas. Kopējais eksperimenta ilgums 30 dienas.

Anaīžu metodes:

Se saturs cāļu aknās noteikts fluorimetriski saskaņā ar AOAC 996.16.

Malondialdehīda (MDA) saturs. Metodes pamatā ir malondialdehīda un tiobarbiturskābes reakcija augstā temperatūrā (100°C), nosakot absorbciju 535 nm gaismas viļņu garumā.

Glutathiona (GSH) noteikšana. Metodes pamatā ir reakcija ar 5,5-ditio-para-nitrobenzoscābi un spektrofotometriska noteikšana.

Glutathionperoksidāzes (GSHPx) noteikšana. GSHPx aktivitāte noteikta ar modificētu Pinto-Bartleja metodi, kas pamatojas uz glutathiona satura samazināšanos paraugā salīdzinot ar kontroli.

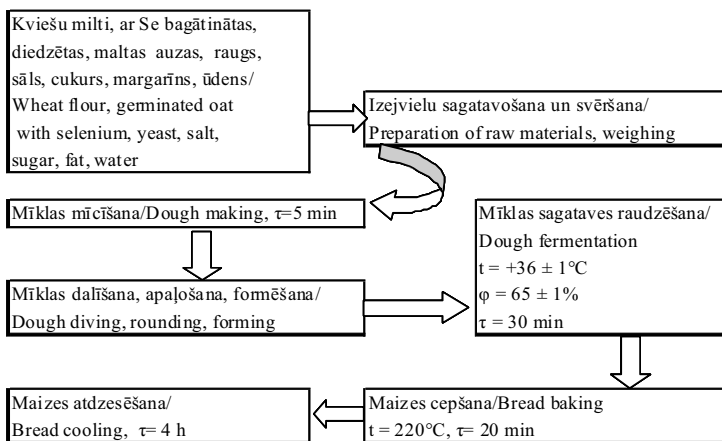
Retinola (A vitamīns) saturu nosaka spektrofotometriski ar ekspresmetodi, mērot gaismas viļņu absorbciju 328 nm.

Ar selēnu bagātinātas, maltas kailgraudu auzu piedevas kviešu maizes ražošanā

Kviešu maize ar maltu kailgraudu auzu piedevām gatavota pēc LLU Pārtikas tehnoloģijas katedrā izstrādātās maizes ražošanas tehnoloģijas (D.Kļava, 2004). Ar selēnu bagātinātas kailgraudu auzas iegūtas, dīdējot graudus šķīdumā ar Se koncentrāciju 1 mg l^{-1} (Se piedeva I) un 5 mg l^{-1} (Se piedeva II).

Se saturs kviešu miltos 0.013 mg kg^{-1} , dīdētās kailgraudu auzās bez Se piedevām 0.026 mg kg^{-1} . Se saturs ar selēnu bagātinās kailgraudu auzās - 0.448 mg kg^{-1} (Se piedeva I) un 1.082 mg kg^{-1} (Se piedeva II).

Kviešu maizes ar samaltu kailgraudu auzu piedevām gatavošanas tehnoloģija un režīmi apkopoti 2. attēlā.



2. att. Kviešu maizes ar Se bagātinātu, maltu kailgraudu auzu piedevu gatavošanas tehnoloģija

Fig. 2. Technology of preparation of wheat bread with hull-less oat grain additives fortified with selenium

Izejvielu un mīklas sagataves masu nosaka, sverot uz elektroniskajiem svāriem KERN EW 1500-2, kuru svēršanas diapazons 1500 g ar precizitāti $\pm 0.01 \text{ g}$.

Analīžu metodes:

Mitrums noteikts saskaņā ar LVS 6496 metodi.

Maizes cietību raksturo ar spēku (N), ko nosaka ar Struktūras analizatoru TA.XT plus, 2 cm biezu maizes šķēli saspiežot ar 25 mm uzgali (Probe P/25, DIA Cylinder Aluminium), testa ātrums 1.00 mm s⁻¹, iespiešanās dziļums 4.00 mm, pieliktais spēks 0.04903 N.

Ūdens aktivitāti nosaka 1 g maizes parauga istabas temperatūrā ievietojot analizatorā Meter AquaLab LITE. Mērījuma ilgums 5 min, precizitāte ± 0.015 a_w.

pH noteikts saskaņā ar AACC 02-52 metodi, ar pH-metru, mērīšanas diapazons no pH 0. līdz pH 14 ar precizitāti ± 0.01.

Ar titrimetrijas metodi noteiktais skābums (°) - nosaka ar standartmetodi AACC 02-31, titrējot ar 0.1 molāru NaOH šķīdumu indikatora fenolftaleīna klātbūtnē.

Se noteikts fluorimetriski saskaņā ar metodi AOAC 996.16.

Datu matemātiskā apstrāde veikta, lietojot Microsoft Excel for Windows 7.0 un SPSS 11.5 programmpaketes, izmantojot t-testu, dispersijas, korelācijas un regresijas analīzes.

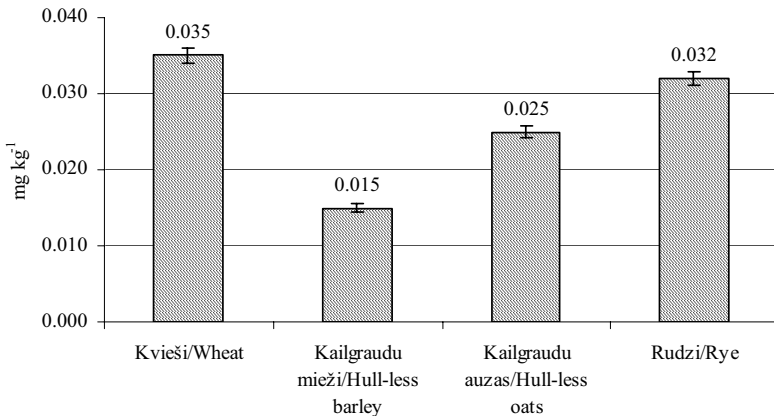
Matemātiskie modeļi izveidoti, lietojot matemātikas programmpaketes MATHCAD daudzfaktoru analīzes iespējas.

PĒTĪJUMU REZULTĀTI UN DISKUSIJA

1. Se saturs graudos un to pārstrādes produktos

Izmantotie informācijas avoti liecina, ka Se saturs kviešu graudos ir plašā intervālā no 0.010 līdz 0.550 mg kg⁻¹ (FAO, WHO, 2001). Vismazākā Se koncentrācija ir konstatēta kviešos, kas audzēti Ķīnā, kur Se saturs augsnē ir nabadzīgs, – tikai 0.0033–0.007 mg kg⁻¹ (FAO, WHO, 2001), bet vislielākā – vairāk nekā 2 mg kg⁻¹ – kviešos, kas audzēti ASV Ziemeļdakotas un Dienviddakotas apgabalos (Combs, 2001).

Pētījuma rezultāti parādīja (3. att.), ka selēna saturs Latvijā audzētos kviešu, kailgraudu miežu, kailgraudu auzu un rudzu graudos ir no 0.015 mg kg⁻¹ līdz 0.035 mg kg⁻¹, turklāt tas būtiski atšķiras atkarībā no graudu veida (p < 0.05). Kailgraudos (auzās un miežos) tas ir zemāks nekā kviešos un rudzos.

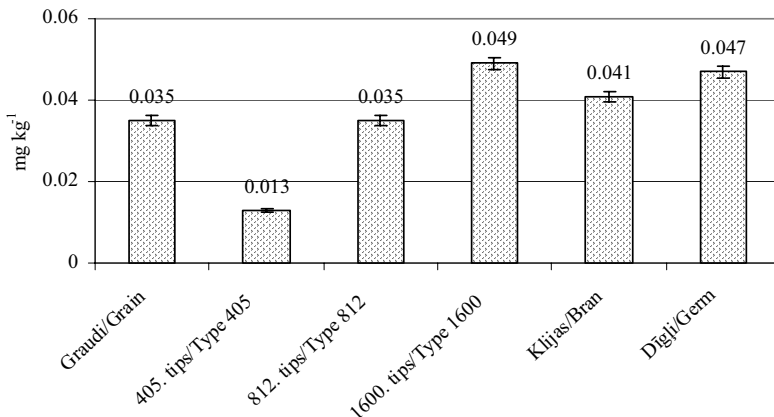


3. att. Selēna saturs Latvijā audzētos graudos
Fig.3. The content of selenium in cereals grown in Latvia

Salīdzinot datus, kas norādīti informācijas avotos, varam secināt, ka Somijā audzētos graudos Se saturs ir vidēji 5 reizes, Anglijā audzētos – 15 reizes, bet Vācijā audzētos graudos tas ir 25 reizes lielāks nekā Latvijā iegūtajos graudos (Eurola, 1990; McNaughton, 2002; Combs, 2001).

Rūpnieciski maļot kviešu graudus atkārtotā saliktā malumā, iegūst vairākus produktus: dažādu šķirņu un tipu miltus, klijas, dīglīšus.

Analizējot Se saturu, tika konstatēts, ka 1600. tipa miltos, klijās un dīglīšos Se saturs ir lielāks, bet 405. tipa miltos tā saturs ir gandrīz trīs reizes mazāks nekā vidēji kviešu graudos. (4.att.). Tas izskaidrojams ar to, ka minerālvielas kviešiem galvenokārt atrodas graudu ārējos slāņos un dīglītī, bet 1600. tipa miltiem ir liels minerālvielu un šķiedrvielu saturs.



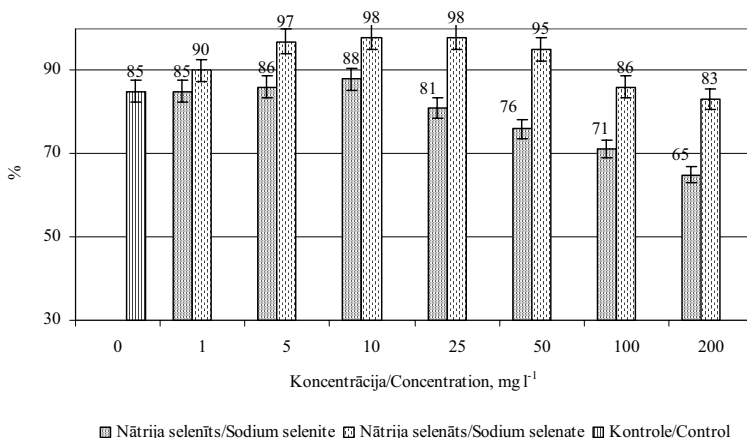
4. att. Selēna saturs dažādos kviešu graudu malšanas produktos
Fig. 4 The content of selenium in milling fractions of wheat grain

Salīdzinājumam: Somijā tiek iegūti kviešu milti, kuros Se saturs ir vidēji 0.170 mg kg⁻¹ (Eurola et al., 1990), Īrijā – 0.060–0.099 mg kg⁻¹ (Murphy et al., 2001), bet vairākos Krievijas rajonos – Kaļiņingradas, Novgorodas, Pleskavas u. c. – Se saturs kviešu miltos ir līdzīgs kā Latvijā – 0.034–0.064 mg kg⁻¹ (Golubkina et al., 1999).

Selēna saturs tika noteikts dažādos graudu pārstrādes produktos, kas tika iegādāti Latvijas lielveikalos: dažāda veida maizēs, mannā, miežu un kviešu putraimos, kā arī miežu, rudzu, kviešu un pilngraudu auzu pārslās. Visos gadījumos tika konstatēts, ka selēna saturs ir *mazāks par 0.014 mg kg⁻¹*. Turpretim Somijā ražotajā kviešu maizē Se saturs ir 0.180 mg kg⁻¹ (Eurola, 1990), Īrijā ražotajā kviešu baltmaizē 0.039–0.048 mg kg⁻¹, bet pilngraudu maizēs 0.094–0.146 mg kg⁻¹, savukārt Anglijā ražotajā kviešu baltmaizē tas ir 0.053–0.095 mg kg⁻¹, bet pilngraudu maizēs 0.043–0.044 mg kg⁻¹ (Murphy, Cashman, 2001). Tātad Latvijā ražotajās kviešu baltmaizēs un pilngraudu maizēs Se saturs ir vidēji 3–13 reizes mazāks. To var skaidrot ar vairākiem faktoriem. Pēdējos 10–20 gados ir strauji sarucis graudu imports no valstīm ar dabiski augstu selēna saturu graudos, tāpēc Latvijā maizes un citu graudu pārstrādes produktu ražošanā galvenokārt tiek lietoti graudi, kas audzēti mūsu valstī un kam ir zems selēna saturs. Latvijā zems selēna saturs graudu pārstrādes produktos ir arī tāpēc, ka maizes cepšanā plaši tiek lietoti augstākās kvalitātes milti (405. tips) un daļa Se saturošu savienojumu, kas atrodas graudos, miltos vai veidojas maizes cepšanas procesā, paaugstinātā temperatūrā ir gaistoši un, izejvielas termiski apstrādājot, zūd.

2. Graudu bagātināšana ar selēnu, tos diedzējot

Tā kā tika konstatēts, ka Latvijā audzētos graudos Se saturs ir zems, turpmāk darbā tiek pētītas graudu bagātināšanas iespējas ar Se. Visefektīvāk graudus var bagātināt ar mikroelementiem diedzēšanas procesā, jo tā laikā mainās arī graudu ķīmiskais sastāvs – olbaltumvielu, aminoskābju un vitamīnu saturs (Tian et al., 2010; Katina et al., 2007; Lintschinger et al., 1997, 2000). Tā kā informācijas avotos ir mazāk datu par Se formu ietekmi graudu, īpaši kailgraudu, diedzēšanā, tad tika pētīta dažādu koncentrāciju Se neorganisko formu (SeO_3^{2-} un SeO_4^{2-}) ietekme uz graudaugu dīgšanas procesu. Darbā pārbaudītie Se neorganiskie sāļi ir atļauti uztura bagātinātāju ražošanai Eiropas Savienības valstīs. To ražošanu reglamentē Eiropas Parlamenta un Eiropas Padomes 2002. gada 10. jūnija direktīva 2002/46/EK „Par dalībvalstu tiesību aktu tuvināšanu attiecībā uz uztura bagātinātājiem”, kas papildināta ar 2009. gada 30. novembra direktīvu Nr. 1170/2009 „Vitamīni, minerālvielas un to formas, kuras var pievienot pārtikai, ieskaitot uztura bagātinātājus”. Iegūtie rezultāti pierāda, ka graudu dīgtpēja ir atkarīga gan no Se oksidēšanās pakāpes savienojumā, gan no tā koncentrācijas šķīdumā.

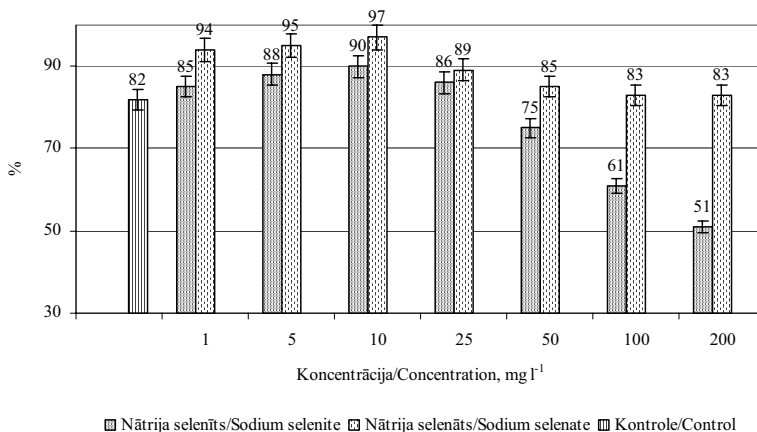


5. att. Dažādu selēna formu ietekme uz kviešu graudu dīgtpēju
Fig. 5 The influence of chemical forms of selenium on wheat germination

5. attēlā redzams, ka visas analizētās Se (VI) koncentrācijas, izņemot 200 mg l⁻¹, veicina kviešu graudu dīgtpēju, salīdzinot ar kontroles graudiem. Nātrija selenāta piedevas intervālā no 1 mg l⁻¹ līdz 50 mg l⁻¹ būtiski palielina kviešu graudu dīgtpēju ($p < 0.05$). Ja Se (VI) koncentrācija ir no 5 mg l⁻¹ līdz 25 mg l⁻¹, iespējams sasniegt dīgtpējas maksimumu.

Nātrija selenīts tikai nelielā koncentrācijā (līdz 10 mg l⁻¹) nedaudz palielina dīgtspēju. Pieaugot Se (IV) koncentrācijai šķīdumā, kviešu graudu dīgtspēja strauji samazinās.

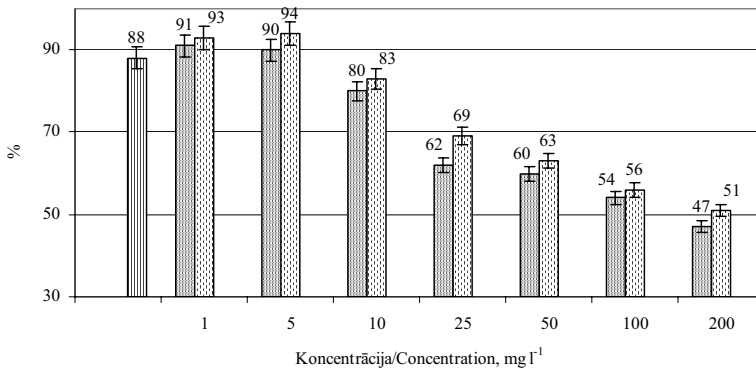
Kailgraudu miežu dīgtspējas un selēna neorganiskās formas, kā arī koncentrācijas savstarpējā saistība raksturota 6. attēlā.



6. att. Dažādu selēna formu ietekme uz kailgraudu miežu graudu dīgtspēju
Fig. 6 The influence of chemical forms of selenium on
hull-less barley grain germination

Kā parādīts 6. attēlā, kailgraudu miežiem visas analizētās Se (VI) koncentrācijas palielina graudu dīgtspēju, salīdzinot ar kontroles graudiem. Minētās izmaiņas ir būtiskas ($p < 0.05$), ja Se koncentrācija šķīdumā ir līdz 50 mg l⁻¹. Šiem graudiem arī tika konstatētas lielākās atšķirības vienādas koncentrācijas Se (VI) un Se (IV) ietekmē uz dīgtspēju.

No visiem pētītajiem graudaugiem kailgraudu auzu kontroles paraugam tika noteikta visaugstākā dīgtspēja – 88% (7. att.), līdz ar to eksperimentāli tika novērots vismazākais dīgtspējas pieaugums – tikai 6% (Se (VI) koncentrācija šķīdumā 5 mg l⁻¹), salīdzinot ar kontroli. Arī vislielākais dīgtspējas samazinājums tika iegūts pētījumos ar kailgraudu auzām – 46,6% (Se (IV) koncentrācija šķīdumā 200 mg l⁻¹). Kailgraudu auzu dīgtspēju iespējams palielināt, ja Se (gan IV, gan VI) koncentrācija šķīdumā ir līdz 5 mg l⁻¹, kad tika konstatēta šo graudu maksimālā dīgtspēja. Pārējiem analizētiem graudiem maksimālā dīgtspēja tika noteikta, ja selēna koncentrācija šķīdumā ir līdz 10 mg l⁻¹ (kailgraudu mieži) vai līdz 25 mg l⁻¹ (kvieši). To var skaidrot ar kailgraudu auzu kontroles parauga lielāko dīgtspēju, kā arī atšķirīgo selēna daudzumu, kas tika uzņemts dīgšanas laikā.



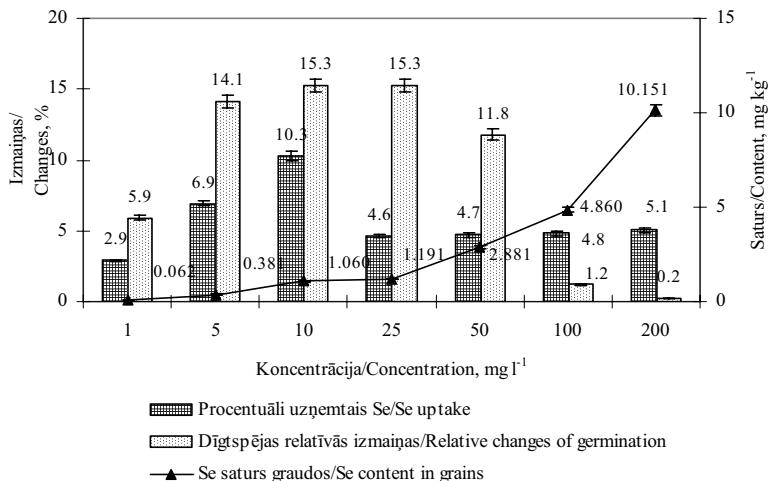
□ Nātrija selenīts/Sodium selenite ▨ Nātrija selenāts/Sodium selenate ▩ Kontrole/Control

7. att. Dažādu selēna formu ietekme uz kailgraudu auzu graudu dīgtspēju
Fig. 7 The influence of chemical forms of selenium on
hull-less oat grain germination

Divfaktoru dispersijas analīze parādīja, ka graudu dīgtspēja ir būtiski atkarīga no Se koncentrācijas šķīdumā un graudu veida ($p < 0.05$). Pētījums pierādīja, ka visu pētīto graudu dīgtspēja ir labāka, ja par Se piedevu tiek izmantots nātrija selenāts (Na_2SeO_4), nevis nātrija selenīts (Na_2SeO_3). Iegūtie rezultāti ir līdzīgi ar citu pētnieku datiem par to, ka selenāta forma tiek vieglāk uzņemta un transportēta no saknēm uz asniem nekā selenīts vai Se organiskie savienojumi (Terry et al., 2000). Tā kā ar selenātu tika iegūta augstāka dīgtspēja, tad turpmāk tiks analizētas sakarības, kas iegūtas, graudu dīdēšanā izmantojot nātrija selenāta dažādas koncentrācijas šķīdumus.

Zināms, ka graudaugi selēnu neakumulē un to spēja uzņemt Se no augsnes un iesaistīt savienojumos ir ierobežota (Terry et al., 2000; Dhillon and Dhillon, 2003; White et al., 2004). Tas apstiprinājās pētījumos ar kviešiem, kailgraudu miežiem un kailgraudu auzām. Tika konstatētas noteiktas sakarības starp graudu dīgtspēju, Se saturu graudos un no šķīduma procentuāli uzņemtā selēna daudzumu (8., 9., 10. att.).

Kā parādīts 8. attēlā, kviešu graudi procentuāli visvairāk Se uzņem, ja tā koncentrācija šķīdumā nepārsniedz 10 mg l^{-1} .



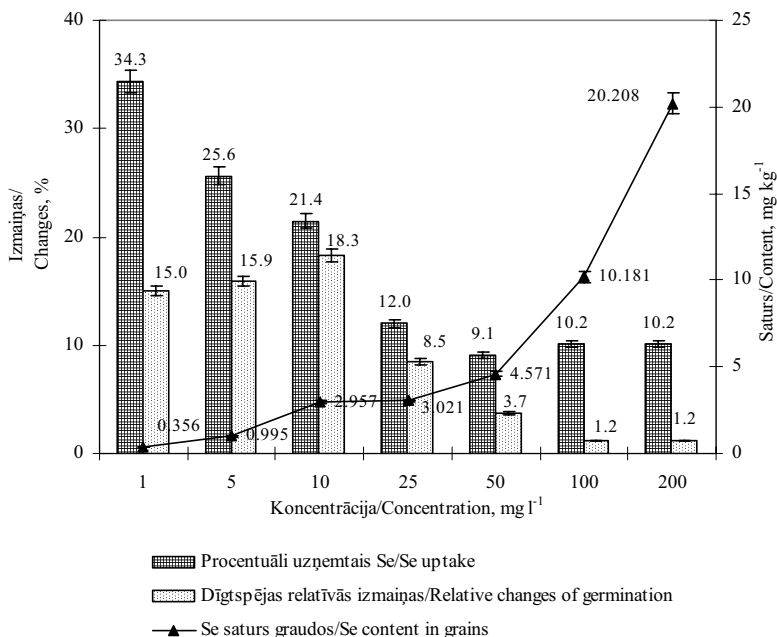
8.att. Se koncentrācijas šķīdumā ietekme uz tā uzņemšanu un dīgtspējas izmaiņām kviešu graudos

Fig. 8 The influence of Se concentration in solution on the Se uptake and wheat grain germination

Ja Se koncentrāciju šķīdumā palielina līdz 25 mg l⁻¹, tad procentuāli uzņemtā selēna daudzums samazinās vidēji divas reizes, bet Se saturs graudos praktiski nemainās (1.1 mg kg⁻¹ - 1.2 mg kg⁻¹). Savukārt, ja Se koncentrāciju šķīdumā palielina līdz 50 mg l⁻¹, tad procentuāli uzņemtā selēna daudzums vairs nemainās, Se saturs graudos pieaug divas reizes, bet dīgtspēja sāk samazināties. Ņemot vērā procentuāli uzņemtā selēna daudzumu un tā saturu graudos, varam secināt, ka tas sāk kavēt bioloģiskos procesus, ja Se saturs kviešu graudos pārsniedz 1 mg kg⁻¹, jo tad samazinās gan graudu dīgtspēja, gan tā uzņemšana. Kviešu graudu dīgtspēju (y) un Se saturu graudos (x) saista matemātiska sakarība (1.) un determinācijas koeficients R² = 0.6871:

$$y = -1.901x^2 + 8.356x + 89.713 \quad (1.)$$

Kailgraudu miežu maksimālais relatīvais dīgtspējas pieaugums (18.3%) tika novērots (9. att.), ja Se koncentrācija šķīdumā nepārsniedz 10 mg l⁻¹, bet visefektīvāk Se tiek uzņemts jau koncentrācijā 1 mg l⁻¹.



9.att. Se koncentrācijas šķīdumā ietekme uz tā uzņemšanu un dīgspējas izmaiņām kailgraudu miežos

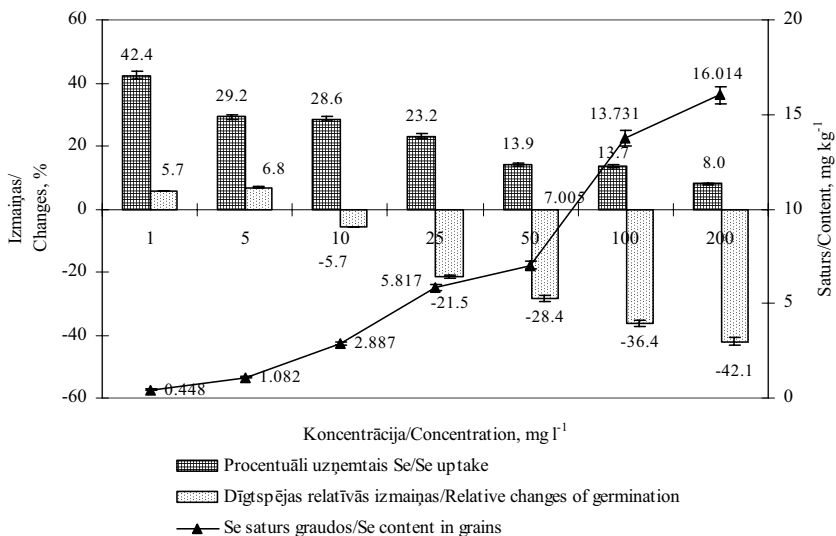
Fig. 9 The influence of Se concentration in solution on the Se uptake and hull-less barley germination

Līdz ar to optimālais Se saturs kailgraudu miežos dīgšanas procesu veicināšanai ir līdz 3 mg kg⁻¹.

Determinācijas koeficients $R^2 = 0.5003$ un matemātiskā sakarība (2.) raksturo, kā Se saturs graudos (x) ietekmē kailgraudu miežu dīgspēju (y):

$$y = -1.965x^2 + 8.335x + 86.788 \quad (2.)$$

Atšķirībā no kviešiem un kailgraudu miežiem kailgraudu auzu dīgspēja būtiski samazinās ($p < 0.05$), ja Se koncentrācija šķīdumā ir lielāka par 10 mg l⁻¹ (10. att). Tas notiek tāpēc, ka kailgraudu auzas maksimāli efektīvi Se uzņem jau tad, kad Se koncentrācija šķīdumā ir 1 mg l⁻¹ (42.4% no šķīdumā esošā Se), sasniedzot Se saturu graudos 0.448 mg kg⁻¹.



10.att. Se koncentrācijas šķīdumā ietekme uz tā uzņemšanu un dīgšpējas izmaiņām kailgraudu auzās
Fig. 10 The influence of Se concentration in solution on the Se uptake and hull-less oats germination

Matemātiski sakarību starp kailgraudu auzu graudu dīgšpēju (y) un Se saturu graudos (x) raksturo 3. vienādojums un determinācijas koeficients $R^2 = 0.9494$:

$$y = -0.446x^2 - 1.114x + 91.761 \quad (3.)$$

Palielinot Se koncentrāciju šķīdumā 5 reizes, Se saturs graudos palielinās tikai 2.5 reizes un sasniedz 1.082 mg kg⁻¹. Turpmāk palielinot Se koncentrāciju šķīdumā, samazinās gan procentuāli uzņemtā Se daudzums, gan arī graudu dīgšpēja. Ja Se saturs kailgraudu auzās ir lielāks par 1 mg kg⁻¹, tiek kavēts graudu dīgšanas process.

3. Selēna un citu bioloģiski aktīvo vielu mijiedarbība graudos

3.1. B grupas, C un E vitamīnu saturs ar selēnu bagātinātos graudos

Graudi ir B grupas vitamīnu avots. Pētījumos izmantotajos kviešu, kailgraudu miežu un kailgraudu auzu graudos mikroelementa selēna klātbūtnē tika noteikts

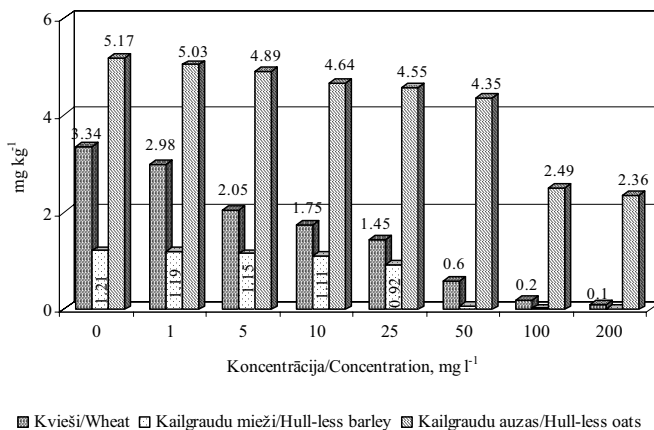
tiamīna (B₁), riboflavīna (B₂), pantotēnskābes (B₅), askorbīnskābes (C vitamīna) un tokoferolu (E vitamīna) saturs. Lai izvērtētu Se piedevu ietekmi uz vitamīnu saturu dīdētās graudos, tika analizēts arī šo vitamīnu saturs kontroles graudos (1. tabula).

1. tabula/Table 1

B grupas, C un E vitamīnu saturs nedīdētās un dīdētās kontroles graudos, mg kg⁻¹
The content of B group, C and E vitamins in grain and germinated grain, mg kg⁻¹

Vitamīns/ Vitamin	Kvieši/Wheat		Kailgraudu mieži/ Hull-less barley		Kailgraudu auzas/ Hull-less oats	
	Nedīdēti/ Without germination	Dīdēti/ Germinated	Nedīdēti/ Without germination	Dīdēti/ Germinated	Nedīdēti/ Without germination	Dīdēti/ Germinated
B ₁	3.80±0.03	3.34±0.06	3.66±0.05	1.21±0.02	7.22±0.01	5.17±0.06
B ₂	1.17±0.01	1.20±0.01	1.75±0.02	1.94±0.04	1.51±0.06	1.52±0.04
B ₅	41.93±0.04	60.89±0.77	48.33±0.04	49.91±0.85	17.23±0.01	18.45±0.38
C	0.00	24.31±0.51	0.00	15.60±0.31	0.00	16.62±0.41
E	22.82±0.21	23.61±0.40	30.21±0.37	30.69±0.66	20.83±0.06	21.1±0.35

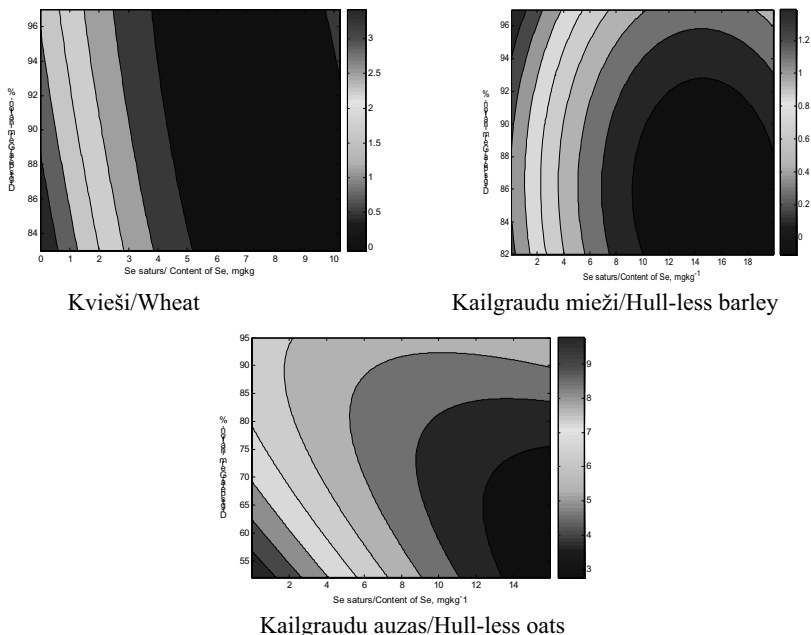
Graudu dīdēšanas laikā mainās B grupas vitamīnu saturs. To izmaiņas atkarībā no selēna koncentrācijas šķīdumā atspoguļotas 11., 13. un 15.attēlos.



11.att. Selēna koncentrācijas ietekme uz tiamīna saturu dīdētās graudos
Fig. 11 The influence of selenium concentration on the thiamine content in germinated grain

11.attēlā redzams, ka *tiamīna* saturs samazinājums diedzētos graudos vērojams visās pētītajās Se koncentrācijās. Vislielākais tiamīna saturs relatīvais samazinājums ir šķīdumā, kur selēna koncentrācija ir 200 mg l^{-1} – kviešu graudiem par 97%, kailgraudu miežiem par 99%, bet kailgraudu auzām par 54%. Dispersijas analīze parādīja, ka Se koncentrācijai šķīdumā ir būtiska ietekme uz tiamīna saturs izmaiņām diedzētos graudos ($p < 0.05$). Kviešiem, sākot ar Se koncentrāciju 100 mg l^{-1} , bet kailgraudu miežiem, sākot ar 50 mg l^{-1} , dīgšanas procesā tiek patērēts praktiski viss tiamīns. Kviešu graudiem tas sasauca ar dīgšanas relatīvo samazinājumu par 10%, bet auzām tiamīna trūkums nevarētu būt dīgšanas samazinājuma cēlonis, jo vitamīna saturs relatīvais samazinājums kailgraudu auzās kopumā ir mazāks nekā diedzētos kviešos un kailgraudu miežos.

Izskaitļotās matemātiskās sakarības (4., 5., 6.) un to grafiskie attēli (12.att.), kas uzskatāmi parāda likumsakarības starp analizētajiem lielumiem un atbilstību konkrētajiem graudaugu veidiem, ļauj prognozēt tiamīna saturs maiņu atkarībā no graudu dīgšanas un Se saturs graudos.



12.att. Graudu dīgšanas aktivitāte, Se un tiamīna saturs, mg kg^{-1}

Fig. 12 Germination activity, the content of Se and thiamine, mg kg^{-1}

Tiamīna saturu (C), graudu dīgstspēju (D) un Se saturu graudos (S) raksturo šādi 2–kārtas nelineārās sakarības vienādojumi (4. – kvieši, 5.- kailgraudu mieži, 6. – kailgraudu auzas):

$$C = -2S + 0.06S^2 - 0.4D + 0.0017D^2 + 0.012S \cdot D + 24.75 \quad (4.)$$

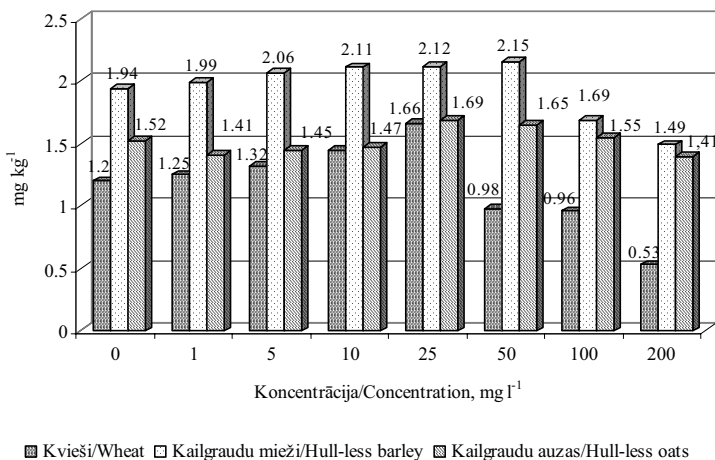
$$C = 27.7 - 0.218S + 0.006S^2 - 0.613D + 0.0035D^2 + 0.00047S \cdot D \quad (5.)$$

$$C = 27.43 - 1.279S + 0.013S^2 - 0.466D + 0.0024D^2 + 0.011S \cdot D \quad (6.)$$

ar determinācijas koeficientiem $\eta^2 = 0.984$, $\eta^2 = 0.899$, $\eta^2 = 0.993$.

Salīdzinot visus analizētos graudaugus redzams, ka kopēja tendence ir tiamīna satura samazinājums, pieaugot Se saturam graudos. To varētu skaidrot ar B₁ vitamīna lomu bioloģiskās oksidēšanās procesos un audu elpošanā, kas tiek apgrūtināta vidē ar augstu selēna saturu. Lai tiamīns diedzētos graudos saglabātos, Se saturs graudos nedrīkst pārsniegt 5 mg kg⁻¹.

Iegūtie eksperimentālie rezultāti parādīja, ka gan Se koncentrācija šķīdumā (p-vērtība = 0.0003 < 0.05), gan graudu veids (p-vērtība = 0.0015 < 0.05) būtiski ietekmē *riboflavīna* satura izmaiņas diedzētos graudos.



13.att. Selēna koncentrācijas ietekme uz riboflavīna saturu
Fig. 13 The influence of Se concentration on the content of riboflavin

Analizējot un izvērtējot selēna koncentrācijas ietekmi uz riboflavīna satura izmaiņām diedzētos graudos, redzams (13. att.), ka vitamīna satura izmaiņu tendences analizētajos graudos ir līdzīgas – diedzētos kviešu graudos un kailgraudu auzās tas pieaug, ja Se koncentrācija šķīdumā ir līdz 25 mg l⁻¹, bet kailgraudu miežos robežkoncentrācija ir 50 mg l⁻¹. Ja Se koncentrācija šķīdumā ir lielāka, riboflavīna saturs samazinās vidēji par 20-30%.

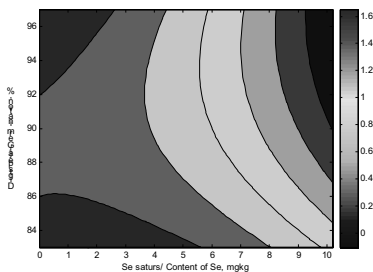
Kailgraudu auzu graudos riboflavīna saturs samazinājums Se koncentrācijā šķīdumā no 1 mg l^{-1} līdz 10 mg l^{-1} varam skaidrot ar šo graudu lielo Se uzņemšanas efektivitāti un līdz ar to strauju Se saturu palielinājumu graudos. Diedzētās kailgraudu auzās strauji palielinoties Se saturam (vidēji 17 reizes), var tikt kavēti bioloģiskie procesi, arī riboflavīna sintēze, jo augos iespējama paaugstināta lipīdu oksidēšanās, kas rada augu oksidatīvo stresu (Hartikainen et al., 2000). Diedzētos graudos sakarību starp riboflavīna saturu C, graudu dīgļspēju D un Se saturu graudos S izsaka vienādojumi: 7. (kvieši), 8. (kailgraudu mieži,) 9. (kailgraudu auzas):

$$C = 0.77S - 0.021S^2 - 0.96D + 0.0054D^2 - 0.00088S \cdot D + 43.69 \quad (7.)$$

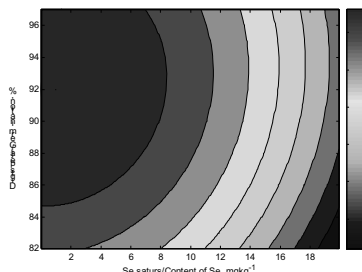
$$C = -10.549 - 0.022S - 0.00146S^2 + 0.276D - 0.0015D^2 + 0.000268S \cdot D \quad (8.)$$

$$C = 4.41 - 0.131S + 0.00044S^2 - 0.053D + 0.000228D^2 + 0.00141S \cdot D \quad (9.)$$

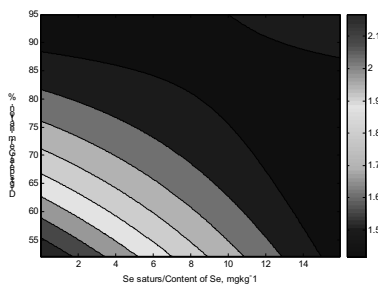
ar analizēto lielumu ciešo sakarību raksturojošiem determinācijas koeficientiem $\eta^2 = 0.894$, $\eta^2 = 0.817$, $\eta^2 = 0.864$



Kvieši/Wheat



Kailgraudu mieži/Hull-less barley



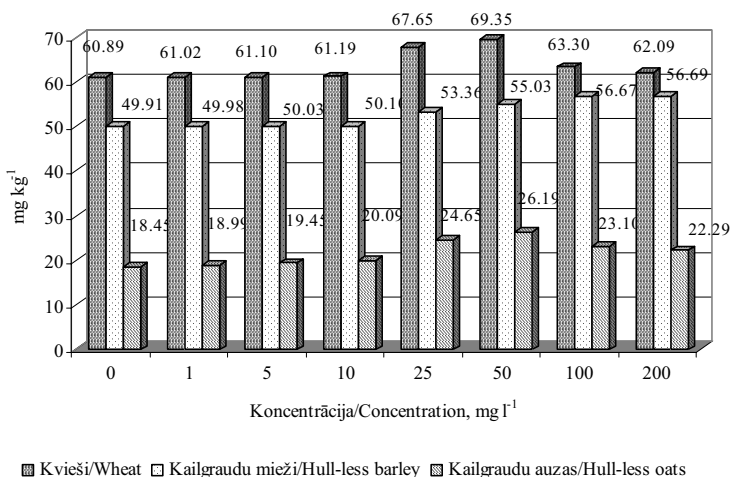
Kailgraudu auzas/Hull-less oats

14.att. Graudu dīgļspēja, Se un riboflavīna saturs, mg kg^{-1}
Fig. 14 Germination activity, the content of Se and riboflavin, mg kg^{-1}

Iegūtie matemātiskie modeļi (14. att.) dod iespēju izvērtēt optimālākos apstākļus riboflavīna saturs paaugstināšanai diedzētos graudos. Ja Se saturs

kviešu graudos ir līdz 4 mg kg⁻¹, tad jebkurā dīgtspējā, kas lielāka par 82%, riboflavīna saturs ir vidēji 1.5 mg kg⁻¹. Savukārt, ja Se saturs ir no 5.5 mg kg⁻¹ līdz 8 mg kg⁻¹, vitamīna saturs ir atkarīgs no dīgtspējas. Ja Se saturs graudos ir lielāks par 8 mg kg⁻¹, vitamīna saturs ir mazāks par 1 mg kg⁻¹ jebkurā dīgtspējā un dīgtspēja būtiski neietekmē riboflavīna saturu graudos ($p > 0.05$). Augstākais riboflavīna saturs diedzētos kailgraudu miežos iespējams, ja Se saturs ir līdz 13 mg kg⁻¹, taču tas ir cieši saistīts ar šo graudu dīgtspēju. Diedzētas kailgraudu auzas ir jutīgākas uz Se satura izmaiņām, un augstākais riboflavīna saturs sasniedzams, ja Se saturs graudos ir līdz 5 mg kg⁻¹, bet graudu dīgtspēja ir ļoti zema.

Izvērtējot selēna ietekmi uz *pantotēnskābes* saturu diedzētos graudos, redzams (15.att), ka analizētajiem graudiem tas ir lielāks visās pētītajās Se koncentrācijās, salīdzinot ar kontroles graudiem, bet būtisks pieaugums kviešos un kailgraudu auzās tika konstatēts, ja Se koncentrācija šķīdumā ir 25 un 50 mg l⁻¹ ($p < 0.05$).



15.att. Selēna koncentrācijas ietekme uz pantotēnskābes saturu
Fig. 15 The influence of selenium concentration
on the content of pantothenic acid

Pamanāms, bet grūti izskaidrojams ir fakts – visiem pētītajiem graudiem nozīmīgākais relatīvais pantotēnskābes pieaugums ir tad, ja Se koncentrācija šķīdumā mainās no 10 mg l⁻¹ līdz 25 mg l⁻¹. Kviešos un kailgraudu miežos šajā selēna koncentrācijā praktiski nemainās Se saturs graudos (8., 9. att.). Auzām šādu likumsakarību nenovēro..

Pantotēnskābes, līdzīgi kā tiamīna un riboflavīna, saturs pieaug vai samazinās atkarībā no Se satura graudos. To pamato izstrādātie matemātiskie modeļi un to

grafiskie attēli (16.att.). Diedzētos graudos sakarību starp pantotēnskābes saturu C, graudu dīgtspēju D un Se saturu graudos S izsaka vienādojumi: 10. (kvieši), 11. (kailgraudu mieži, 12. (kailgraudu auzas):

$$C = -28.2S + 0.146S^2 + 2.88D - 0.016D^2 + 0.324S \cdot D - 68.27 \quad (10.)$$

determinācijas koeficients $\eta^2 = 0.759$;

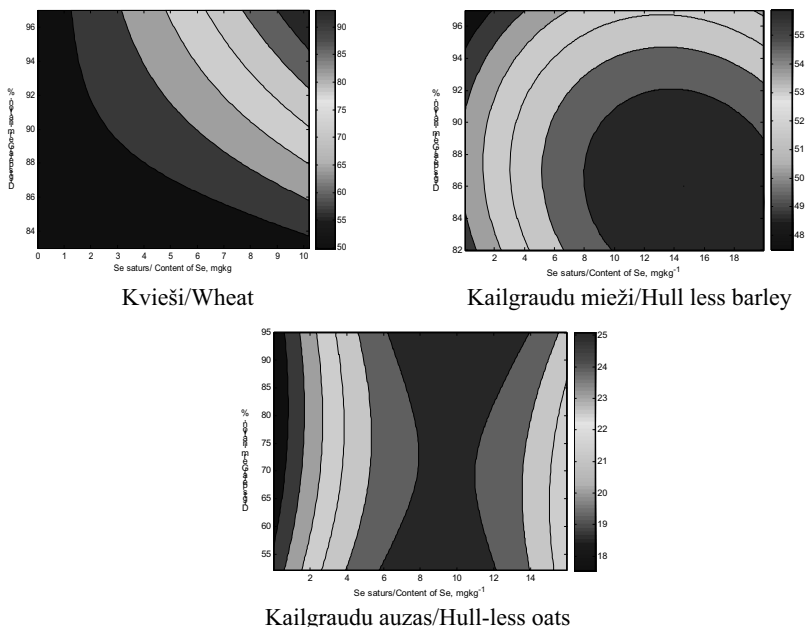
$$C = -225.47 + 1.706S - 0.032S^2 + 6.305D + 0.036D^2 - 0.009S \cdot D \quad (11.)$$

determinācijas koeficients $\eta^2 = 0.992$;

$$C = -29.77 + 1.304S - 0.086S^2 - 0.298D - 0.0018D^2 + 0.0045S \cdot D \quad (12.)$$

un determinācijas koeficients $\eta^2 = 0.903$ raksturo augstu pēfīto sakarību ciešumu.

Lai gan eksperimentāli noteiktais lielākais pantotēnskābes saturs diedzētos kviešu graudos ir 69.35 mg kg^{-1} , matemātiskais modelis ļauj prognozēt, ka to iespējams palielināt līdz 90 mg kg^{-1} , ja Se saturs graudos ir no 8 mg kg^{-1} līdz 10 mg kg^{-1} , bet dīgtspēja lielāka par 93% (16.att.).



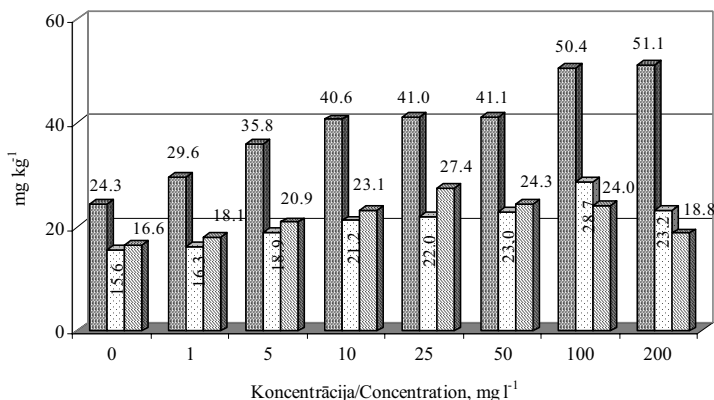
16.att. Graudu dīgtspēja, Se un pantotēnskābes saturs, mg kg^{-1}
Fig. 16 Germination activity, the content of Se
and pantothenic acid, mg kg^{-1}

Kailgraudu auzās notiekošie procesi diedzēšanas laikā ir saistīti ar Se saturu tajos, turklāt atšķirībā no kviešiem un kailgraudu miežiem optimālākās ir

vidējas analizētās Se koncentrācijas no 4 mg kg⁻¹ līdz 16 mg kg⁻¹, ja dīgtspēja ir virs 55% (16. att.). Ja Se koncentrācija graudos ir mazāka un lielāka, neatkarīgi no dīgtspējas izmaiņām nav iespējams iegūt pantotēnskābes saturu, kas būtu lielāks par 20 mg kg⁻¹.

Askorbīnskābe (C vitamīns) un tokoferoli (E vitamīns), kā arī selēns ir dabiskie antioksidanti, kas pasargā šūnās un to membrānas no brīvajiem radikāļiem. Veseli graudi ir E vitamīna avots, taču tie nesatur C vitamīnu, un tā biosintēze notiek graudu dīgšanas procesā.

Pētījumu rezultāti parādīja, ka **askorbīnskābes** veidošanos analizētajos graudos būtiski ietekmē gan visas pētītās selēna koncentrācijas šķīdumā, gan arī tas būtiski mainās atkarībā no graudu veida ($p < 0.05$).



■ Kvieši/Wheat □ Kailgraudu mieži/Hull-less barley ▨ Kailgraudu auzas/Hull-less oats

17. att. Selēna koncentrācijas ietekme uz askorbīnskābes saturu
Fig. 17 The influence of selenium concentration on the content of ascorbic acid

17. attēla redzams, ka palielinot Se koncentrāciju šķīdumā līdz 10 mg l⁻¹, diedzētos kviešu graudos vērojams straujš C vitamīna satura palielinājums līdz pat 67%. Ja Se koncentrācija šķīdumā ir no 10 līdz 25 mg l⁻¹, Se saturs diedzētos kviešu graudos sasniedz 1 mg kg⁻¹, bet diedzētos kailgraudu miežos 3 mg kg⁻¹, un selēna procentuālā uzņemšana no šķīduma samazinās vidēji 2 reizes (8., 9. att.). C vitamīna satura relatīvā pieauguma izmaiņas diedzētos kviešu graudos šajā gadījumā ir tikai 1.6%, bet kailgraudu kviešos 5.1%. Kailgraudu auzām šajā Se koncentrācijā C vitamīna satura relatīvā pieauguma izmaiņas ir 25.9%.

Ja Se koncentrācija šķīdumā ir no 50 līdz 100 mg l⁻¹, C vitamīna saturs kviešos un kailgraudu miežos palielinās 2 reizes salīdzinājumā ar kontroles graudiem. Askorbīnskābes (C) sintēzes saistību ar graudu dīgtspēju D, kā arī Se saturu graudos S apraksta šādi matemātiskie vienādojumi: 13. (kvieši), 14. (kailgraudu mieži), 15. (kailgraudu auzas):

$$C = 48.067S - 0.747S^2 - 3.29D + 0.024D^2 - 0.455S \cdot D + 133.93 \quad (13.)$$

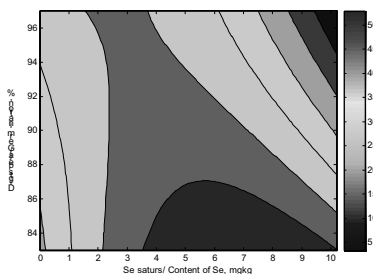
determinācijas koeficients $\eta^2 = 0.996$;

$$C = 2.673S - 0.087S^2 + 0.863D - 0.00455D^2 - 0.0063S \cdot D - 24.7 \quad (14.)$$

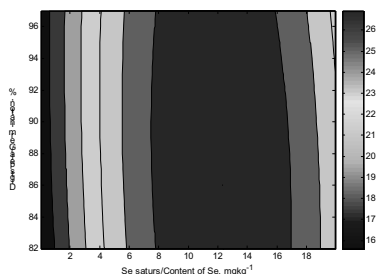
determinācijas koeficients $\eta^2 = 0.986$;

$$C = 7.24S - 0.212S^2 + 2.5D - 0.013D^2 - 0.043S \cdot D - 100.4 \quad (15.)$$

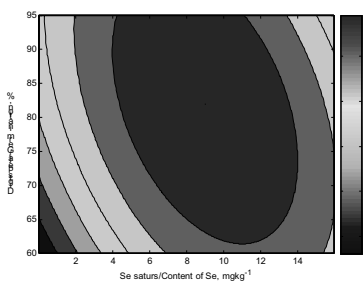
determinācijas koeficients $\eta^2 = 0.954$, kas visos gadījumos norāda uz ciešu sakarību starp analizētajiem lielumiem.



Kvieši/Wheat



Kailgraudu mieži/Hull less barley



Kailgraudu auzas/Hull-less oats

18.att. Graudu dīgtspēja, Se un askorbīnskābes saturs, mg kg⁻¹

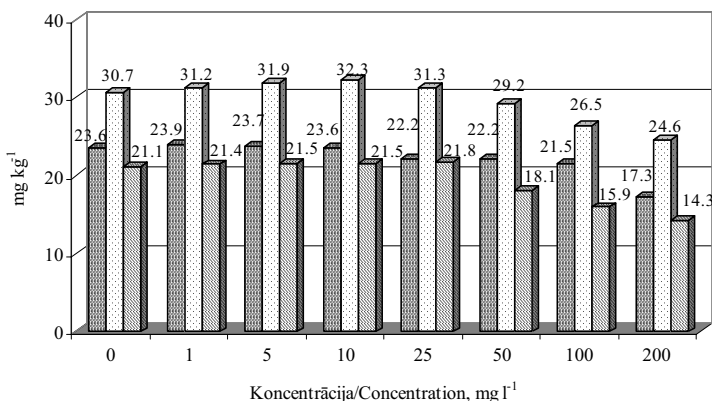
Fig. 18 Germination activity, the content of Se and ascorbic acid, mg kg⁻¹

Askorbīnskābes sintēzei optimālais Se saturs dīdētās kviešu graudos ir no 2.2 mg kg⁻¹ līdz 3.8 mg kg⁻¹, ja dīgtspēja ir lielāka par 82% (18. att.). Līdz ar to eksperimentāli konstatētais C vitamīna saturs relatīvais pieaugums ar zemāku

Se saturu graudos varētu būt vairāk saistīts ar graudu dīgtspējas izmaiņām. Ja Se saturs diedzētos kviešu graudos ir lielāks par 3.8 mg kg^{-1} , arī zemākā dīgtspējā ir iespējams panākt augstu C vitamīna saturu.

Vislielāko C vitamīna saturu – virs 25 mg kg^{-1} kailgraudu miežu graudos var iegūt, ja Se saturs ir robežās no 8 mg kg^{-1} līdz 17 mg kg^{-1} un dīgtspēja lielāka par 82%, bet kailgraudu auzu graudos ja Se saturs graudos ir no 6 mg kg^{-1} līdz 14 mg kg^{-1} un dīgtspēja lielāka par 60%..

Iegūtie rezultāti parāda, ka Se koncentrācija šķīdumā būtiski maina arī *tokoferolu (E vitamīna)* saturu diedzētos kailgraudos.



▨ Kvieši/Wheat □ Kailgraudu mieži/Hull-less barley ▤ Kailgraudu auzas/Hull-less oats

19. att. Selēna koncentrācijas ietekme uz tokoferolu saturu

Fig. 19 The influence of selenium concentration on tocopherol content in

19.attēlā redzams, ka vislielākais E vitamīna satura pieaugums diedzētos graudos konstatēts, ja Se koncentrācija šķīdumā ir 10 mg l^{-1} (kailgraudu miežu graudi) vai 25 mg l^{-1} (kailgraudu auzu graudi), salīdzinot ar kontroles graudiem, bet diedzētos kviešu graudos E vitamīna saturu palielinājums netika novērots.

Diedzētos graudos sakarību starp E vitamīna saturu C, graudu dīgtspēju D un Se saturu graudos S izsaka vienādojumi 16. (kvieši), 17. (kailgraudu mieži), 18. (kailgraudu auzas):

$$C = 1.965S - 0.044S^2 + 1.144D - 0.00624D^2 - 0.026S \cdot D - 28.53 \quad (16.)$$

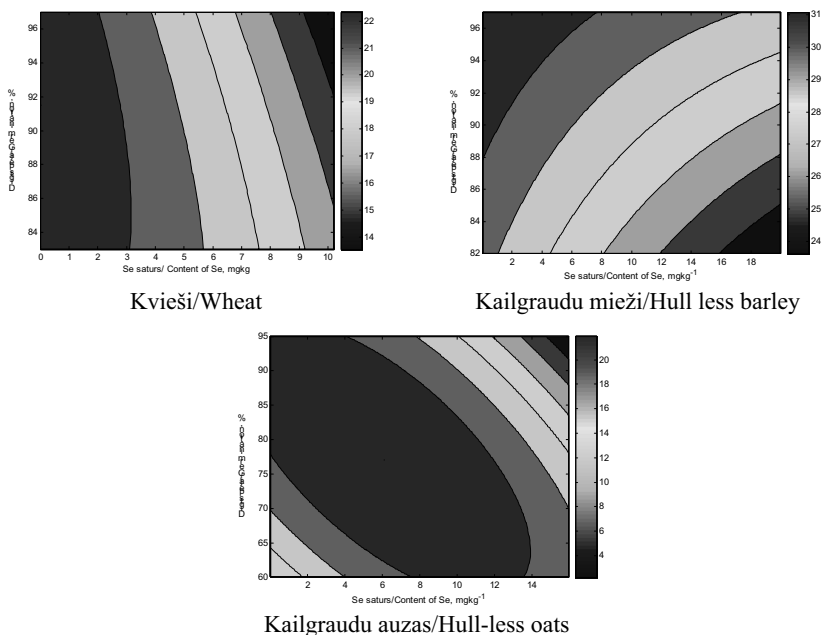
determinācijas koeficients $\eta^2 = 0.972$;

$$C = 12.15 - 1.44S + 0.00194S^2 = 0.287D - 0.00081D^2 = 0.013S \cdot D \quad (17.)$$

determinācijas koeficients $\eta^2 = 0.955$;

$$C = 5.11S - 0.097S^2 + 2.625D - 0.015D^2 - 0.051S \cdot D - 91.4 \quad (18.)$$

determinācijas koeficients $\eta^2 = 0.948$.



20. att. Graudu dīgspēja, Se un tokoferolu saturs, mg kg⁻¹
Fig. 20 Germination activity, the content of Se and tocopherols, mg kg⁻¹

20.attēlā redzams, ka E vitamīna saturs palielinājums diedzētos kviešu graudos robežās no 20 mg kg⁻¹ līdz 23 mg kg⁻¹ iespējams, ja Se saturs graudos nepārsniedz 5.5 mg kg⁻¹, un ja dīgspēja augstāka par 82%. Diedzētiem kailgraudu miežiem ir izteikta Se saturs un dīgspējas savstarpējā ietekme uz E vitamīna saturs izmaiņām. Palielinoties Se saturam graudos, arī dīgspējai ir jāpieaug, tai jābūt virs 90%, lai E vitamīna saturs būtu augstāks nekā graudos, kas diedzēti bez Se piedevām. Ja kailgraudu auzu graudu dīgspēja ir 95%, maksimālais Se saturs diedzētos graudos var sasniegt 4 mg kg⁻¹, lai E vitamīna saturs nebūtu mazāks kā kontroles paraugā (21.1 mg kg⁻¹).

3. 2. Proteīna un aminoskābju saturs ar selēnu bagātinātos graudos

Proteīna daudzums graudos ir atkarīgs no vairākiem faktoriem, tai skaitā, no graudu veida un šķirnes, augšanas apstākļiem, mēslojuma. Novērtējot proteīna saturu graudos, kas diedzēti Se saturošā šķīdumā, varam secināt, ka vērojama Se koncentrācijas ietekme. Diedzētos kviešu graudos proteīna saturs palielinās, taču šīs izmaiņas nav būtiskas ($p > 0.05$) nevienā analizētajā Se koncentrācijā,

bet kailgraudos (miežu un auzu graudos) tika konstatētas būtiskas proteīna satura izmaiņas ($p < 0.05$): diedzētās kailgraudu auzās – ja Se koncentrācija šķīdumā ir 5 mg l^{-1} , 10 mg l^{-1} , 50 mg l^{-1} vai 100 mg l^{-1} , un kailgraudu miežos, ja Se koncentrācija šķīdumā ir 100 mg l^{-1} un 200 mg l^{-1} .

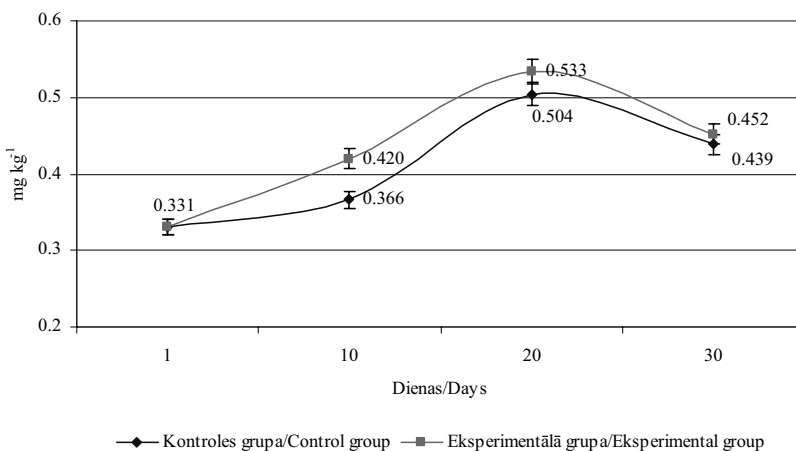
Novērtējot neaizstājamo aminoskābju saturu diedzētos graudos ar Se piedevām, varam secināt, ka Se koncentrācija šķīdumā ietekmē aminoskābju saturu, un dispersijas analīzes rezultāti ļauj konstatēt būtiskas atšķirības (p -vērtība < 0.05) valīna, metionīna, leicīna, tirozīna un fenilalanīna satura izmaiņās pētītajos graudos.

4. Ar Se bagātinātu kviešu graudu ietekme uz cāļu organismu

Lai pārbaudītu kādas vielas ietekmi uz dzīvo organismu, bioloģiskos pētījumos par eksperimentālo modeli bieži izmanto cāļus, jo cāļu organismā metaboliskie procesi notiek strauji (Klandorf et al., 1999; Fasola, 2006). Pētījumos cāļu barībai tika pievienoti malti kviešu graudi, kas bija bagātināti ar selēnu.

Selēns ir daļa no dzīvo organismu antioksidatīvās aizsardzības sistēmas, tāpēc, lai raksturotu oksidatīvos procesus cāļu organismā, eksperimenta laikā tika kontrolēti antioksidatīvās aizsargsistēmas vairāki komponenti: selēna, glutaciona, glutationperoksidāzes, malondialdehīda, kā arī A un E vitamīna saturs cāļu aknās.

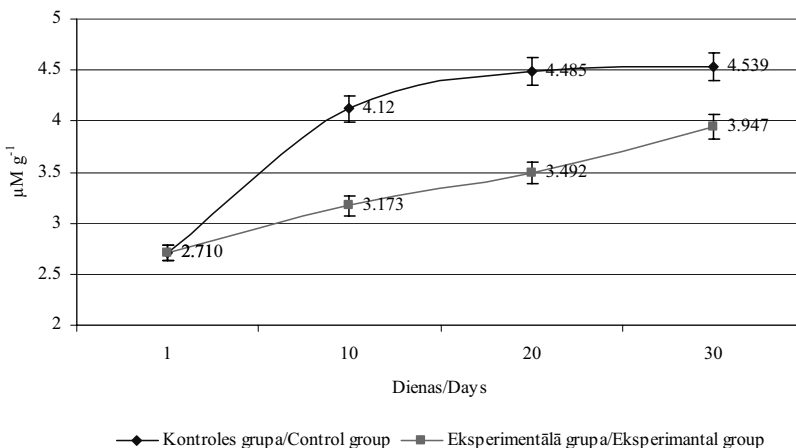
Se koncentrācija cāļu aknās eksperimenta laikā palielinās un maksimālo lielumu sasniedz 20. barošanas dienā gan kontroles, gan eksperimentālās grupas dzīvniekiem.



21. att. Selēna saturs cāļu aknās
Fig. 21 The content of selenium in chicken liver

21. attēlā redzams, ka vislielākais Se saturs tika konstatēts eksperimentālās grupas 20 dienu vecu cāļu aknās, kas skaidrojams ar uzņemto barības vielu asimilāciju un tās izmantošanu šajā laika periodā. Kontroles grupā Se saturs aknās ir par 52.7%, bet eksperimentālajā grupā par 61.5% lielāks nekā Se saturs vienu dienu vecu cāļi aknās, tātad Se satura pieaugums ir cieši saistīts ar Se saturu barībā. Šie dati sasaucas ar citiem pētījumiem, proti, Se saturs cāļu aknās ir lielāks, ja lielāka ir tā koncentrācija barībā (Pan et al., 2007; Haug et al., 2008; Wang et al., 2008).

Glutathions (GSH) ir tripeptīds, kas veidojas dzīvos organismos no L-cisteīna, L-glutamīnskābes un glicīna. Lai gan tas var sintezēties visās organisma šūnās, tomēr vissvarīgākā ir tā sintēze aknās. Putni un peles, kuru aknās ģenētisku iemeslu dēļ nevar sintezēties GSH, nomirst pirmajā dzīves mēnesī (Chen et al., 2007). Kā parādīja pētījuma rezultāti (22. att.), kontroles grupas cāļu aknās glutathiona satura visstraujākais pieaugums novērojams pēc 10 dienu barošanas, bet turpmākajā cāļu dzīves laikā tā saturs vairs būtiski nepieaug, turpretī eksperimentālās grupas cāļiem glutathiona koncentrācijas izmaiņas aknās notiek vienmērīgāk.

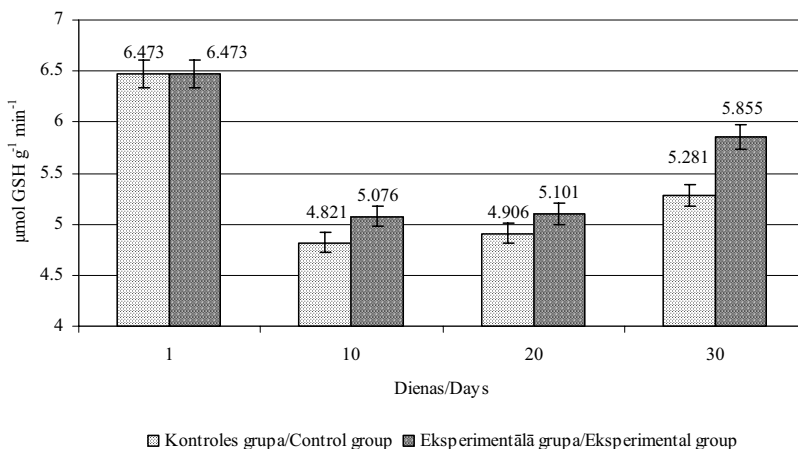


22. att. Glutathiona saturs cāļu aknās
Fig. 22 The content of glutathione in chicken liver

Glutathiona koncentrācijas pieaugums eksperimentālās grupas cāļiem ir vidēji par 25% mazāks, kas varētu būt saistīts ar enzīma glutathionperoksidāzes aktivitātes izmaiņām.

Glutathionperoksidāze (GSH-Px) ir enzīms, kura molekulā ir četri selēncisteīna atlikumi, un tā antioksidatīvā darbība galvenokārt ir saistīta ar mikroelementu

selēnu. Glutationperoksidāzes aktivitātes izmaiņas eksperimenta laikā cāļu aknās atspoguļotas 23.attēlā.



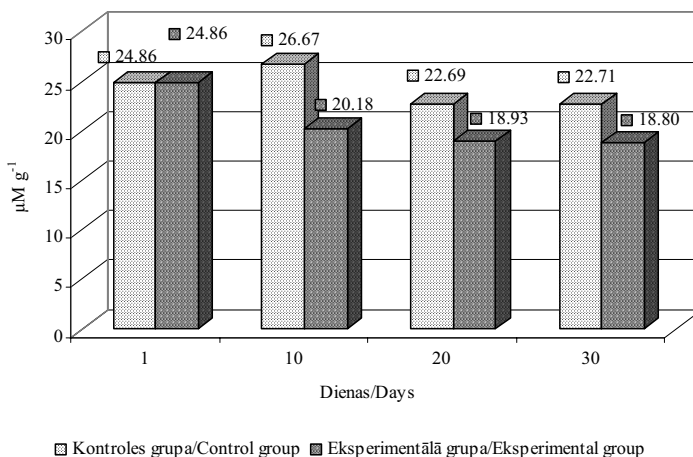
23.att. Glutationperoksidāzes aktivitāte cāļu aknās
Fig. 23 The activity of glutathione peroxidase in chicken liver

Vienu dienu vecu cāļu aknās augstais glutationperoksidāzes aktivitātes līmenis saistīts ar selēna daudzumu inkubācijas olās, kā arī ar antioksidatīvās aizsardzības sistēmas veidošanos cāļu embrijos. Vairāki zinātniskie pētījumi apstiprina, ka glutationperoksidāzes aktivitāte pieaug vidēji trīs reizes cāļu embrijos to attīstības laikā un maksimumu sasniedz pirms cāļu izšķīšanās (Surai, 1999; Gaal et al., 1995; Wilson et al., 1992). Eksperimentālās grupas cāļiem, kuri saņēma ar selēnu bagātinātu graudu piedevu, glutationperoksidāzes aktivitāte aknās, sākot ar 10. izbarošanas dienu, pieaug straujāk nekā kontroles grupas dzīvniekiem: 10. dienā par 5.3%, bet 30. dienā par 11%. Pētījuma rezultāti ļauj secināt, ka glutationperoksidāzes aktivitāte ir saistīta ar Se uzņemšanu. Šie rezultāti sasaucas ar citu zinātnieku – Haug et al., 2008; Reeves et al., 2007; Wang et al., 2008 – pētījumiem. Turklāt iegūtie rezultāti ļauj izskaidrot iepriekš minētos pētījumus, kuros secināts, ka eksperimentālās grupas cāļiem glutatona līmenis aknās ir zemāks nekā kontroles grupas cāļiem, jo glutatons kā substrāts tiek izmantots, lai nodrošinātu lielāku enzīma aktivitāti.

Malondialdehīds (MDA) ir nepiesātināto taukskābju oksidēšanās galaprodukts (Bieri et al., 1960), tāpēc tā uzkrāšanos aknās izmanto par marķieri oksidatīvo procesu izvērtēšanai.

Pētījuma rezultāti (24.att.) parādīja, ka malondialdehīda saturs kontroles grupas cāļu aknās pēc 10 barošanas dienām ir palielinājies, jo eksperimenta sākumā cāļu aknās aktivizējas oksidatīvie procesi. Taču eksperimentālās grupas cāļiem

šajā laikā vērojams malondialdehīda saturs samazinājums par 24% salīdzinājumā ar kontroles grupu.



24. att. Malondialdehīda saturs cāļu aknās
Fig.24 The content of malondialdehyde in chicken liver

Iespējams, tas ir tāpēc, ka šīs grupas cāļu aknās pēc 10 barošanas dienām selēna daudzums ir par 14.75% lielāks, bet glutathionperoksīdāzes aktivitāte par 5.3% lielāka nekā kontroles grupas cāļu aknās šajā laikā. Se kā antioksidatīvās aizsargsistēmas komponents cāļu organismā kavē oksidēšanās procesus, tāpēc malondialdehīda uzkrāšanās aknās samazinās. Pēc 20 un 30 dienām MDA koncentrācija samazinās gan kontroles, gan eksperimentālās grupas cāļu aknās, taču eksperimentālajā grupā tā līmenis aknās ir vairāk nekā par 16% zemāks salīdzinājumā ar kontroles grupas rādītāju attiecīgajā laika posmā.

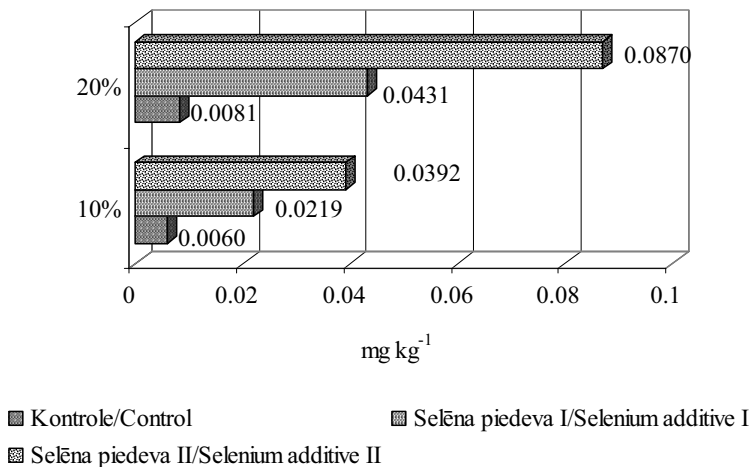
A un E vitamīnu saturs cāļu aknās

Pētījuma rezultāti parādīja, ka eksperimentālās grupas paraugos analizēto vitamīnu saturs ir lielāks – A vitamīna saturs par 8.13%, bet E vitamīna par 7.48% – nekā kontroles grupas cāļu aknu paraugos. Tātad Se saturs palielināšana cāļu barībā un līdz ar to arī lielāks Se saturs cāļu aknās veicina antioksidatīvās sistēmas komponentu, tai skaitā A un E vitamīna, saglabāšanos un samazina to oksidēšanos.

Kopumā iegūtie dati liecina, ka ar selēnu bagātināta, diedzētu kviešu graudu piedeva, pārbaudot tās ietekmi uz cāļu metabolismu, rada pozitīvas izmaiņas to antioksidatīvā sistēmā. To pierāda gan glutathionperoksīdāzes aktivitātes pieaugums, gan malondialdehīda uzkrāšanās samazinājums, gan arī lielāks A un E vitamīna daudzums cāļu aknās eksperimenta beigās.

5. Ar selēnu bagātinātu graudu pielietojums maizes cepšanā

Zinātniskajā literatūrā pieejama informācija par auzu miltu lietošanu, kas gatavoti no diedzētām auzām, lai paaugstinātu kviešu maizes uzturvērtību (Kaukovirta-Norja *et al.*, 2004). Promocijas darbā tika pētīta ar selēnu bagātinātu, maltu kailgraudu auzu graudu izmantošana kviešu maizes cepšanā. Tika izvēlētas ar selēnu bagātinātas kailgraudu auzas, kas diedzētas šķīdumos, kur Se koncentrācija ir 1 mg l^{-1} un 5 mg l^{-1} . Kviešu maizes mīklas gatavošanas procesā kviešu miltiem tika pievienoti 10% un 20% pētījumos iegūto diedzēto, samalto kailgraudu auzu ar Se saturu 0.448 mg kg^{-1} (Se piedeva I) un 1.082 mg kg^{-1} (Se piedeva II). Iegūtie rezultāti liecināja, ka analizētās, ar selēnu bagātinātās kailgraudu auzu piedevas neietekmē kviešu maizes ārējo izskatu, salīdzinot ar kviešu maizi, kas satur kailgraudu auzu miltu piedevas bez Se, bet maizes cepšanas procesā daļa no izejvielās esošā Se tiek zaudēts. Tas skaidrojams ar to, ka cepšanas procesā veidojas gaistoši selēna savienojumi (Mo *et al.*, 2006). Rezultātā kviešu maizē, kas gatavota ar Se bagātinātu, diedzētu kailgraudu auzu piedevām, saglabājas 33–43% no izejvielās esošā selēna, bet kontroles paraugos tā saturs ir nedaudz augstāks – 41–51%. Tas skaidrojams ar to, ka izejvielās ir mazs selēna saturs un graudos varētu būt vairāk selēna neorganisko formu.



25. att. Se saturs kviešu maizē
Fig. 25 The content of Se in wheat bread

Se saturu kviešu maizē (25. att.), kas gatavota ar maltām, diedzētām kailgraudu auzām, kas bagātinātas ar Se, iespējams palielināt no 0.006 mg kg^{-1} līdz 0.087 mg kg^{-1} , tas ir, vidēji no trīs līdz 10 reizēm, salīdzinot ar kontroles paraugu. Tas atkarīgs no Se satura piedevā un ar selēnu bagātināto auzu miltu

masas kviešu maizē. Rezultātā tiek iegūts galaprodukts, kurā Se saturs ir tāds pats kā ārvalstīs ražotajās maizēs (Eurola, 1990; Murphy, Cashman, 2001).

Pētījuma rezultāti parādīja, ka, palielinot kailgraudu auzu graudu piedevas no 10% līdz 20% no miltu apjoma, pieaug maizes saspiešanai pieliktais spēks, kas raksturo tās cietību, jo ir samazinājies maizes mitrums, līdz ar to nedaudz palielinājies blīvums. Se koncentrācija kailgraudu auzu graudu piedevā būtiski neizmaina maizes cietību ($p > 0.05$). Analizētie eksperimentālās maizes fizikāli ķīmiskie rādītāji atspoguļoti 2.tabulā.

2. tabula/ Table 2

**Maizes fizikāli ķīmiskie rādītāji/
Physical and chemical parameters of bread**

Rādītājs/ Parametres	10% maltu auzu piedeva/ 10% ground oat additive			20% maltu auzu piedeva/ 20% ground oat additive		
	Kontrole/ Control	Se I	Se II	Kontrole/ Control	Se I	Se II
Mitrums/ Moisture, %	43.10 ± 0.45	42.57 ± 0.51	42.22 ± 0.38	41.62 ±0.36	41.20 ± 0.42	41.14 ± 0.39
Ūdens aktivitāte/ Water activity	0.96 ± 0.02	0.96 ± 0.02	0.95 ± 0.02	0.96 ± 0.04	0.96 ± 0.02	0.96 ± 0.02
pH	5.27 ± 0.02	5.25 ± 0.01	5.22 ± 0.02	5.18 ± 0.02	5.14 ± 0.01	5.15 ± 0.01
Titrējamais skābums/ Titratable acidity	1.21 ± 0.06	1.40 ± 0.05	1.41 ± 0.05	1.90 ± 0.06	2.01 ± 0.04	2.02 ± 0.05

2. tabulas dati rāda, ka mitrums, titrējamais skābums un pH kviešu maizē ar diedzētu un selēnu bagātinātu kailgraudu auzu miltu piedevām mainās atkarībā no auzu miltu piedevas koncentrācijas, bet tos būtiski neietekmē Se koncentrācija piedevā ($p > 0.05$). Ūdens aktivitātes izmaiņas kviešu maizē ar maltu auzu piedevām netika konstatētas.

Kopumā pētījumu rezultāti parādīja, ka, lai palielinātu Se saturu maizē, kviešu maizes ražošanā 10% un 20% no miltu daudzuma var lietot kailgraudu auzu graudu piedevas, kas ir bagātinātas ar Se un kurās Se saturs graudos ir 0.448.mg kg⁻¹ un 1.082 mg kg⁻¹. Tas neizmaina kviešu maizes kvalitātes rādītājus.

Secinājumi

1. Latvijā audzētos kviešu, kailgraudu miežu un kailgraudu auzu un rudzu graudos selēna saturs ir no 0.015 līdz 0.035 mg kg⁻¹, bet graudu pārstrādes produktos tas ir mazāks par 0.014 mg kg⁻¹.

2. Graudus bagātinot ar nātrija selenātu, iespējams palielināt graudu dīgtspēju vidēji par 7% vairāk, nekā lietojot nātrija selenītu. Pētītie kviešu, kailgraudu miežu un kailgraudu auzu graudi maksimālo dīgtspēju sasniedz atšķirīgā selēna koncentrācijas šķīdumā.
3. Procentuāli uzņemtā selēna daudzums ir atkarīgs no grauda veida un Se koncentrācijas šķīdumā. Visvairāk Se uzņem kailgraudu auzas (42.4%) un kailgraudu mieži (34.3%). Optimālais Se saturs kviešos un kailgraudu auzās maksimālas graudu dīgtspējas sasniegšanai ir 1 mg kg^{-1} , bet kailgraudu miežos – 3 mg kg^{-1} , ko var sasniegt, ja selēna koncentrācija šķīdumā kviešu diedzēšanai ir no 5 līdz 10 mg l^{-1} , kailgraudu auzām un miežiem – no 1 līdz 5 mg l^{-1} .
4. Diedzēšana dažādu selēna koncentrāciju šķīdumos ietekmē tiamīna, riboflavīna, pantotēnskābes, askorbīnskābes un tokoferolu saturu kviešu, kailgraudu miežu un kailgraudu auzu graudos. Tiamīna saturs būtiski samazinās, ja Se koncentrācija šķīdumā sasniedz 50 mg l^{-1} . Paaugstinot Se koncentrāciju vidē, dīgšanas laikā tiek patērēts viss graudos esošais tiamīns. Riboflavīna un pantotēnskābes satura izmaiņas pētītajos graudos ir līdzīgas, un to saturs mainās atkarībā no Se koncentrācijas šķīdumā. Askorbīnskābes veidošanos diedzētos graudos veicina visas eksperimentāli lietotās selēna koncentrācijas. Tokoferolu satura izmaiņas graudos ir nelielas, bet būtiskas.
5. Se koncentrācija šķīdumā ietekmē aminoskābju saturu graudos un rada būtiskas atšķirības valīna, metionīna, leicīna, tirozīna un fenilalanīna saturā.
6. Tiamīna, riboflavīna, pantotēnskābes, askorbīnskābes un tokoferolu saturu graudos atkarībā no Se koncentrācijas šķīdumā un graudu dīgtspējas ir iespējams prognozēt ar izstrādātajiem 2. pakāpes nelineārās sakarības vienādojumiem.
7. Ar Se bagātinātu kviešu graudu piedeva cāļu barībā rada pozitīvas izmaiņas to antioksidatīvā sistēmā. Eksperimentālās grupas cāļu aknās malondialdehīds ir par 24% mazāks, A un E vitamīna saturs ir par 7% lielāks, bet glutaciona saturs par 25% mazāks. Tas ir saistīts ar enzīma glutationperoksidāzes aktivitātes izmaiņām.
8. Ar selēnu bagātinātas kailgraudu auzas var lietot Se satura palielināšanai kviešu maizē, neizmainot kviešu maizes kvalitātes rādītājus.
9. Darbā izvirzītā hipotēze ir korekta, jo, graudu diedzēšanas laikā lietojot Se saturošus šķīdumus, palielinās Se saturs graudos un mainās B grupas, C un E vitamīna, kā arī proteīna un neaizvietojoamo aminoskābju saturs.

TOPICALITY OF RESEARCH

A balanced, healthy and varied diet provides the human organism with the necessary minerals, including trace elements. Their absence weakens the body's selfdefense, thus exposing it to a disease risk.

The microelement selenium is needed for normal functioning of human body because it is part of some enzymes and hormones, interacts with vitamins, participate in oxidizing processes, metabolism of proteins, carbohydrates, and fats. Selenium is part of enzyme glutathione peroxidase, the main part of antioxidative defence system in living cells. Therefore selenium and its compounds have notable antioxidative properties.

Selenium reduces the influence of many undesirable factors – chemical, cancerogenic, UV, pesticides, nitrates, and heavy metals etc., which promote the formation of free radicals in living organisms. Selenium is not synthesized in living organisms, therefore the issue of selenium needed for human body and possibilities of selenium intake with food is very actual not only in Latvia but also in other countries. To perform a normal function, the content of selenium in human body has to be 0.2 -0.5 mg kg⁻¹. People suffer from selenium deficiency if its content is less than 50-60 micrograms per liter of blood plasma. The accepted normal values of Se in European countries are 80 - 120 micrograms Se per liter of blood plasma, but Russian scientists, basing on the environmental contamination level, suggest to increase this level up to 90 -130 micrograms. In Latvia, Se level is on average 40 to 50 micrograms per liter of blood plasma. The daily intake of Se in different countries around the world is very different, and it can vary from 7-11 µg per day in Keshan disease affected areas to several thousand per day in selenium rich soil areas of central China. The Ministry of Welfare of the Republic of Latvia, 2001 August 23 Order Nr.233 determined that the recommended daily intake for adults is 60-75 µg Se. Insufficient intake of selenium in the body causes hyposelenosis, which most often develops in areas with a low selenium content in the soil, water and foodstuffs. This micro-nutrient deficiency is linked with more than 70 different pathologies and diseases. However, too high Se content is toxic for human body.

The selenium content in foodstuffs depends mainly on its content in plant and animal raw materials, but this, in its turn, is affected by the content of selenium in the soil. The content of selenium in soil is found within a vast range in the world from 0.1 to 4 mg kg⁻¹ (England, Scotland) or from 5 to 1200 mg kg⁻¹ (Colombia, Venezuela, China's central districts), that further determines the Se content in the food chain. In the year 1960 it was already found that Latvia belongs to countries with a low selenium level in the soil - in various districts throughout the country it is 1.5 to 12 times less than normal values, namely 0.02-0.12 mg kg⁻¹, and peat soils 0.2-0.4 mg kg⁻¹. In addition, a large part of

Latvian soil is characterized by a high acidity and high content of iron. Thus selenium may form insoluble compounds resulting in a reduced selenium containing ion mobility and bioavailability to plants.

To provide an optimum amount of Se daily intake, there are three main ways practiced in the world: to increase the consumption of products naturally rich in Se (e.g., Brazil nuts), Se containing dietary supplements, to enrich and fortify food products and raw materials with Se. More than 280 selenium containing dietary supplements containing Se within the range from 10 to 350 $\mu\text{g g}^{-1}$ are available in Latvia.

Enrichment of food products is known worldwide and is applied in practice. There is known Fe enriched milk, iodinated salt, carotene and vitamin E enriched margarine, Se enriched salt, green tea, mineral water, as well as Se enriched broccoli, garlic and yeasts.

Cereals and their products are an important source of Se, even in European countries where Se content in soil is low. In accordance with the principles of a healthy diet pyramid cereals and their products account for 50% of the total nutrient quantity of daily consumption. There are several possibilities to enrich or fortify plants, inter alia, cereals by using Se containing fertilizers as well as the use of fertilization through the plant leaves spraying them by a Se containing solution.

Selenium concentration in food and forage crops can be increased by adding Se to soil-crop systems, a practice termed as agronomic biofortification. Worldwide studies show that in such a way it is possible to increase the content of Se in cereals (for example, in Finland Se concentration in grain was increased from an average of 10 mg kg^{-1} up to 250 mg kg^{-1} in spring wheat, to 50 mg kg^{-1} in winter wheat, to 40 mg kg^{-1} in rye). In such cases problems may arise due to selenium residue in the soil, causing environmental pollution. Therefore, a safer and more effective way is the enrichment of cereals during the germination process, which not only enrich the grain with the necessary trace elements including selenium but also improve the content of biologically active substances in them. There is little scientific information on hull-less grain enrichment with Se during germination as well as on nutritional changes of germinated grain and their practical application. In Latvia there are no data regarding Se content in crops grown in Latvia and their processed products, grain enrichment opportunities with selenium during germination, and effects of selenium on the changes of biological active compounds.

After summarizing the theoretical and experimental data found in literature, **the hypothesis of the doctoral thesis** was set as follows: by enrichment of cereals with Se during the process of germination it is possible to increase the selenium content and to change significantly the content of other biologically active substances in the grain.

Evidence of hypothesis:

1. The uptake of selenium during germination depends on Se form and concentration.
2. The content of Se in solution influences the formation of biologically active substances in wheat, hull-less barley and hull-less oat grain during germination.
3. The selenium enriched wheat grain additive is safe for chickens.
4. The selenium enriched hull-less oat grain additive increases Se content in wheat bread without the quality changes.

The aim of the research was to obtain and evaluate the quality of grain fortified with selenium.

The objectives of the research were the following:

1. To analyze the content of selenium in cereals and cereal products produced in Latvia.
2. To determine the influence of selenium forms and concentration on the grain germination.
3. To find out the connections among Se content, Se uptake and grain germination.
4. To investigate the influence of selenium on the content of biologically active compounds - thiamine, riboflavin, pantothenic acid, ascorbic acid, tocopherols as well as the content of essential amino acids in germinated grain.
5. To work out mathematical models to indicate and make predictions of the changes of selenium content, grain germination and thiamine, riboflavin, pantothenic acid, ascorbic acid and tocopherol content.
6. To test the influence of wheat grain enriched with selenium additives on the chicken organism.
7. To investigate the possibilities of increasing selenium content in wheat bread by adding hull-less oats supplemented with selenium.

The novelty of the research and scientific importance:

1. The process of obtaining Se fortified grain was evaluated and the optimum concentration of sodium selenate solution was determined to obtain Se fortified wheat, hull-less oat and barley grain.
2. The Se uptake, grain germination and Se content in grain depending on Se concentration in solution were investigated.
3. The correlation between selenium and the content of other biological active compounds in grain was determined. The mathematical models for indicating the expected changes of thiamin, riboflavin, pantothenic acid, vitamins C and E, selenium content and grain germination were developed.

4. The influence of wheat grain additives enriched with selenium on the changes of glutathione, glutathione peroxidase, malondialdehyde, retinol and tocopherol content in chickens during growing was tested.
5. Hull-less oats supplemented with selenium was applied to increase the selenium content in wheat bread.

The research was supported by a Grant of the Latvian Council of Science No. 06.0039 „The development of agricultural raw material processing and a sustainable food system to promote public health”.

The economic importance of the research

Grain enrichment with selenium during germination will provide food with increased selenium content for Latvian people and protect them from a possible selenium deficiency as well as manufacturers will be offered to produce new foods with higher nutritional value.

APROBATION OF THE SCIENTIFIC WORK

The research results have been reported at 14 international scientific conferences and congresses in Latvia, Slovenia, Estonia, Lithuania, Bulgaria, Greece, Finland, France, Hungary, Croatia, China, and Egypt (see the list on pages 7 and 8).

The research results are collected and published in five recognized refereed scientific publications in the English language (see the list on page 8).

MATERIALS AND METHODS

Time and place of research

The experimental work was carried out during the period from the year 2005 to 2009 based on previous experiments started in 2002.

The investigations were carried out at the following places:

- Laboratory of Inorganic and Analytical Chemistry of the Chemistry Department, Latvia University of Agriculture (LUA);
- Laboratory of Packaging Material Investigations of the Food Technology Department, LUA;
- Technological laboratory of Bread production of the Food Technology Department, LUA;
- Research Laboratory of Agronomy Analysis, LUA;
- Laboratory of Animal Biochemistry and Physiology of the Institute of Biology, Latvia University;
- Laboratory of Food and Environmental Investigations of the National Diagnostic Center, Food and Veterinary Service;
- Laboratory of Ltd. „Environmental audit”.

Materials used in the research

Wheat grain (variety „Kontrast”) from Ltd. „Zelta vārpa” (harvested in 2005), hull-less barley and hull-less oats cultivated at State Stende Cereals Breeding Institute in Latvia (harvested in 2006, 2008), sodium selenite ($\text{Na}_2\text{SeO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) and sodium selenate (Na_2SeO_4) (Fluka, analytical grade, purity >98%), as well as bread, manna, peeled barley and wheat, barley, rye, oats and wheat flakes from commercial networks RIMI and Maxima (October, 2007) were used to determine the selenium content and to fortify grain with selenium.

In order to make experimental wheat bread samples with oat flour additives the following ingredients were used: wheat flour of type 550 from joint-stock company. „Dobeles Dzirnavniesks”; germinated hull-less oat flour fortified with selenium (experimentally obtained with selenium content 0.448 mg kg^{-1} and 1.082 mg kg^{-1}), pressed yeast from the joint-stock company „Rīgas raugs” UTN 40003040518-101-2002; sugar, producer the joint-stock company „Jelgavas Cukurfabrika” in conformity with the Cabinet of Ministers of the Republic of Latvia Regulation No 337 of 8th July 2003 „Requirements on Quality, Classification and Marking for Different Sugar Types”; salt, producer VPO „Artemsol”, Ukrain LST 1930:2003 (GOST 13830-97), in conformity with the Cabinet of Ministers of the Republic of Latvia Regulation No 488 of 5th July 2005 „On Mandatory Harmlessness, Quality, Hygiene and Marking Requirements for Salt Distribution and Use in Food Production”; margarine Delma (fat content 48%, Poland); water in conformity with the Cabinet of Ministers of the Republic of Latvia Regulation No 235 of 29th April 2003 „Mandatory Harmlessness Requirements for Drinking Water”.

In order to test the harmlessness of the germinated wheat grain enriched with selenium the experiments were carried out on one-day-old Lohmann brown chicks from Latvian poultry company Balticovo.

Germination and sample preparation

Wheat, hull-less barley and hull-less oat grain were soaked and germinated at room temperature $+18 \pm 2^\circ\text{C}$, under natural day/night conditions using sodium selenite Na_2SeO_3 and sodium selenate Na_2SeO_4 solutions. The period of germination was 72 – 120 h. The concentration of selenium was 1, 5, 10, 25, 50, 100 and 200 mg l^{-1} . The grain (100g) was soaked for 12h in the above mentioned solutions (500 ml), and let to sprout. During germination, the sprouts were rinsed two times every day with 100 ml of solutions. The germination of grain with deionized water served as a control. After germination, all sprouts were washed off carefully with deionised water (5x500 ml) to exclude contamination of the surface of sprouts with culture solution, dried for 48 h $+60 \pm 5^\circ\text{C}$ (till moisture 9%), then they were ground. The

experiments were performed in triplicates. The scheme of obtaining germinated grain fortified with selenium is shown in Figure 1 (page 11).

Methods of analysis.

The grain germination activity (%) was determined by counting the sprouted grains after 3 and 5 days of germination at room temperature $+18\pm 2^{\circ}\text{C}$.

The content of selenium was determined by a standard method AOAC 986.15

The crude protein content was determined by Kjeldal method (AACC 42-20).

The content of amino acids was determined by a standard method AOAC 985.28 and a chromatographic method of the amino acid analyzer AAA 339 (Microtechna Praha).

The content of vitamins was determined:

Thiamine (vitamin B₁) – by a standard method AOAC 986.27.

Riboflavin (vitamin B₂) – by a standard method AOAC 970.65.

Pantothenic acid – by a standard method AOAC 961.14.

Ascorbic acid (Vitamin C) – by a standard method AOAC 935.33.

Tocopherols (Vitamin E) – determination was based on a chromatographic separation, oxidizing tocopherol with FeCl_3 , α , α' dipiridil and colorometrical determination at the wavelength of 492 nm.

The test of wheat grain enriched with selenium

Animals. One-day-old Lohman brown chicks were obtained from the Latvian poultry company BALTICOVO.

Experimental design.

Chicks were housed at the vivarium of the Institute of Biology, Latvia University in cage units with free access to feed and water. At the beginning of the experiment the animals were weighed and divided into two groups of 40 animals in each. Chicks of Group 1 (control diet group) were fed a wheat-barley full-fed basal diet C01, containing all necessary elements. The selenium concentration in basal diet was 0.25 mg kg^{-1} . Chicks of Group 2 (experimental diet group) were provided with the same basal diet supplemented with wheat grain flour additives enriched with selenium. The total dose of selenium of the experimental diet was 0.40 mg kg^{-1} .

As to body weight gain, chicks and residual feed were weighed on day 1, 7, 14, 21, 28, and feed consumption was calculated. Five chickens from each group were killed by decapitation, in accordance with the recommendations for euthanasia of experimental animals of the European Convention (Close et al., 1998). The liver was taken, weighed and the content of Se, MDA, GSH, vitamins A and E or activity of GSHPx were measured immediately or after storage at -20°C until all were examined. All indices were determined also of one-day-old chicks. The total duration of experiment was 30 days.

Methods of analysis

The content of selenium was determined by a standard method AOAC 996.16.

The content of malondialdehyde (MDA). The method is based on the reaction of MDA and thiobarbituric acid determining absorbtion at the length of 535 nm of light waves (Bieri, 1960).

The determination of glutathione is based on the reaction with sulphydryl reagent 5,5'-dithio-bis(2-nitrobenzoic acid) to form a yellow derivative 5'-thio-2-nitrobenzoic acid measurable at the wavelength of 412 nm.

Glutathione peroxidase activity was estimated by a modified Pinto-Barley method. The enzyme activity was assessed by the reduction of glutathione content in comparison with the control.

The content of retinol was determined photometrically at the wavelength of 412 nm.

Experimental wheat bread samples with ground oat additives fortified with selenium

The wheat bread with ground oat additives has been prepared in accordance with technology worked out by D.Kļava (2004), Department of Food Technology, LUA. The content of selenium in wheat flour was 0.013 mg kg⁻¹, in germinated grounded hull-less oats 0.026 mg kg⁻¹, in germinated ground hull-less oats enriched with selenium (selenium additive I) concentration in solution was 1 mg l⁻¹, content in oats was 0.448 mg kg⁻¹, in germinated hull-less oats enriched with selenium (selenium additive II) concentration in solution was 5 mg l⁻¹, content in oats– 1.082 mg kg⁻¹).

The technological scheme of bread preparation is presented in Fig. 2 (page 13).

Weight of raw materials and dough was determined by weighing on the electronical balance KERN EW 1500-2, range 1500 g, and accuracy ± 0.01 g.

Methods of analysis

The moisture content in bread samples was determined by a standard method LVS 6496.

The changes of bread hardness were determined by means of a force of Texture Analyzer TA.XT plus, 2 cm bread sample, Probe P/25, 25 mm DIA Cylinder Aluminum, test speed 1.00 mm s⁻¹, distance 4.00 mm, trigger force 0.04903 N.

The water activity was determined by Analyzer Meter AquaLab LITE, weight of sample 1 g, room temperature, duration 5 min, and accuracy ± 0.015 a_w.

The pH was determined by a standard method AACC 02-52, using pH-meter, range of pH from 0 to pH 14, accuracy ± 0.01.

Titritable acidity was determined by a standard method AACC 02-31.

The content of selenium was determined fluorometrically by a standard method AOAC 996.16.

Mathematical data processing

The statistical analyses of data were carried out using Microsoft Excel for Windows 7.0 and SPSS11.5. Mean values and standard deviations and significant values were calculated, statistical comparisons were performed using t-test, dispersion, correlation, and regression analysis. Statistical significance was set at $p < 0.05$.

On the basis of the experimental data there was developed a non-linear three-dimensional mathematical model, which shows the mathematical agreement between selenium content, germination and thiamine, riboflavin, pantothenic acid, vitamins C and E content in grain. The model was developed by using possibilities of multifunctional analysis with mathematical programme MATHCAD.

RESULTS AND DISCUSSION

1. The content of selenium in cereals and cereal products

It is reported in literature that cereals and cereal products contain a wide range of selenium concentration between 0.0010 and 0.550 mg kg⁻¹ (FAO, WHO, 2001). Se concentration of cereal grain produced in some regions of China are as low as 0.003-0.007 mg kg⁻¹ (FAO, WHO, 2001), but wheat grain produced in the North and South Dakota in the US may contain more than 2 mg kg⁻¹ (Combs, 2001).

The results of the research (Figure 3) show that selenium content in wheat, hull-less barley, hull-less oat and rye grain harvested in Latvia is within the range from 0.01533 mg kg⁻¹ to 0.03533 mg kg⁻¹, in addition, the variety of cereal has a significant effect on the content of selenium ($p < 0.05$). The content of selenium is lower in hull-less grain (barley and oats).

In comparison, the content of selenium in cereals cultivated in Finland is five times, in England – 15 times, but in Germany 25 times higher than in Latvia (Eurola, 1990; McNaughton, 2002; Combs, 2001).

Different manufactured products have been obtained during the wheat grain milling – a different type of flour, bran and germ fractions.

The obtained results (Figure 4.) have shown that the content of selenium is higher in flour type 1600, germ and bran fractions, but in flour type 405 it was observed three times less than selenium content in wheat grain. Such differences could be explained by the placement of mineral substances in fruit coat, pericarp and germ of the grain. Flour type 1600 is the darkest wheat flour; it contains a lot of mineral substances and fiber.

Comparatively, the content of selenium in wheat flour manufactured in Finland is on average 0.170 mg kg⁻¹ (Eurola et al., 1990), in Ireland – from 0.060 to 0.099 mg kg⁻¹ (Murphy et al., 2001), but in some regions of Russia the content

of selenium is similar to Latvia – between 0.034 and 0.064 mg kg⁻¹ (Golubkina, 1997).

The content of selenium was determined in different bread (Rye bread, Arāju whole meal bread, Milk bread), manna, peeled barley and wheat, barley, rye, oat and wheat flakes from commercial networks – all samples contained selenium *less than 0.014 mg kg⁻¹*. In comparison, the content of selenium in bread manufactured in Finland is 0.180 mg kg⁻¹ (Eurola, 1990), in Ireland - from 0.039 to 0.048 mg kg⁻¹, but in whole meal breads 0.094 - 0.146 mg kg⁻¹, in England 0.053 - 0.095 mg kg⁻¹, but in whole meal breads 0.043 -0.044 mg kg⁻¹ (Murphy, Cashman, 2001). Consequently, the selenium content in breads and whole meal breads produced in Latvia is on average 3-13 times less. It can be explained first of all by a reduced import of Se rich, high protein wheat for bread making flour from North America and Canada during last 10-20 years. Wheat flour type 405, which characterizes with low selenium content is mostly used for bread making in Latvia as well as part of Se containing compounds are volatile at higher temperatures and during manufacturing will be lost.

2. Grain fortification with selenium during germination

Establishing the low content of selenium in grain and grain products produced in Latvia, one of the tasks of scientific work was to investigate the possibilities of grain enrichment with selenium. Germination was chosen because it additionally improves the nutritional value of grain – the content of protein, amino acids, and vitamins is changed. It is known that germination may influence the level and bioavailability of the bioactive compounds (Tian et al., 2010; Katina et al., 2007; Lintschinger et al., 1997, 2000).. As there is little information in scientific literature on the effect of selenium on hull-less grain germination, the influence of different selenium inorganic forms (SeO₃²⁻ and SeO₄²⁻) and concentration on wheat, hull-less barley and hull-less oat grain were investigated. The used Se inorganic salts are permitted for the production of food supplements in European Union countries, governed by the European Parliament and the Council Directive 2002/46/EC of 10 June 2002 “On the approximation of laws relating to food supplements”, as supplemented by the directive No.1170/2009 of 30 November 2009 “Lists of vitamins and minerals and their forms that can be added to foods, including food supplements”.

The obtained results showed that grain germination activity depends on the Se degree and its concentration in solution.

The obtained results (Figure 5) have shown that all analyzed Se (VI) concentrations, except 200 mg l⁻¹, promoted the germination of wheat grain. The changes of wheat grain germination were significant (p<0.05), if the concentration of selenium was between 1 mg l⁻¹ and 50 mg l⁻¹, but the highest germination activity was observed when selenium concentration was between 5 mg l⁻¹ and 25 mg l⁻¹. Sodium selenite increased the germination up to Se

concentration 10 mg l^{-1} , but with increasing Se (IV) concentration in a solution the wheat grain germination decreased dramatically.

All analyzed selenium concentrations promoted germination of hull-less barley grain (Figure 6.). The changes are significant ($p < 0.05$) if selenium concentration is up to 50 mg l^{-1} . Equal concentrations of Se (VI) and Se (IV) showed the major differences of grain germination activity.

The highest germination activity 88% (Fig.7) was determined in hull-less oat grain of control sample; consequently, the experimentally lower germination increase - only 6% was observed (Se (VI) concentration in solution was 5 mg l^{-1}) compared with control sample. Hull-less oat grain is also characterized by the highest decrease of germination activity 46.6% (Se (IV) concentration in solution was 200 mg l^{-1}).

The highest germination activity of hull-less oats was observed at selenium concentration between 1 mg l^{-1} and 5 mg l^{-1} unlike the wheat grain (till concentration 25 mg l^{-1}) and hull-less barley (till concentration 10 mg l^{-1}). This difference could be explained by a higher germination activity of hull-less oat control sample, the chemical composition of grain as well as with different selenium uptake during germination. The results of variance analysis have shown that the selenium concentration and variety of grain have a significant effect on the grain germination activity ($p < 0.05$). Better germination results were obtained using sodium selenate Na_2SeO_4 - Se (VI) as Se additive compared with the Se concentration, which was obtained by using sodium selenite Na_2SeO_3 - Se (IV). That confirmed conclusions reported in literature that selenate is transported more easily than selenite or organic Se (Terry et. al., 2000); then for next experiments only different concentrations of sodium selenate had been used.

It is known that cereals belong to Se non-accumulating plants due to a limited ability of selenium uptake from the soil and incorporation in compounds (Terry et al., 2000; Dhillon and Dhillon, 2003; White et al., 2004). That was confirmed by research experimental data not only with wheat grain but also with hull-less cereals. Moreover, connections between germination activity, Se content in grain and selenium uptake from solution were found out (Fig. 8, 9, 10).

The data show (Fig.8) that the highest uptake of selenium in wheat grain is possible to selenium concentration 10 mg l^{-1} . At selenium concentration more than 25 mg l^{-1} , selenium uptake increases on average two times, but the content of selenium in wheat grain remains constant (1.1 mg kg^{-1} - 1.2 mg kg^{-1}). While Se concentration decreases to 50 mg l^{-1} , the uptake of selenium does not change, and the content of selenium increases two times, but germination activity decreases. A conclusion can be drawn if the selenium content is more than 1.2 mg kg^{-1} in germinated wheat grain it starts to inhibit biological processes. The equation 1. characterizes the agreement between germination activity of wheat grain (y) and selenium content (x).

$$y = -1.901x^2 + 8.356x + 89.713 \quad (1)$$

The highest increase of hull-less barley germination activity (18.3%) has been observed at selenium concentration of 10 mg l⁻¹, but the highest selenium uptake at concentration of 1 mg l⁻¹ (Fig. 9). If selenium concentration exceeds 10 mg l⁻¹, both selenium uptake and germination activity decrease on average for 10%. We can conclude that selenium content to 3 mg kg⁻¹ promotes germination activity of hull-less barley. The equation 2. characterizes the agreement between germination activity of hull-less barley grain (y) and selenium content (x). $y = -1.965x^2 + 8.335x + 86.788$ (2)

Unlike wheat and hull-less barley, the germination activity of hull-less oats decreases significantly (p<0.05) if selenium concentration increases up to 10 mg l⁻¹ (Fig.10). Such differences could be explained by a very fast selenium uptake (42.4%) at selenium concentration of 1 mg l⁻¹ reaching 0.448 mg kg⁻¹ content in grain. The equation 3 characterizes the agreement between germination activity of hull-less oat grain (y) and selenium content (x).

$$y = -0.446x^2 - 1.114x + 91.761 \quad (3)$$

With increasing Se concentration for five times, the content of selenium increases only for 2.5 times (content of selenium 1.082 mg kg⁻¹). Further increasing selenium concentration, a decrease of Se uptake and germination activity was observed. It allows concluding that Se content above 1 mg kg⁻¹ in germinated hull-less oats starts to inhibit biological processes.

.3. Interactions between selenium and other biological active compounds in grain

3.1. The content of B group, C and E vitamins in grain fortified with selenium

Cereals are a good source of B-group vitamins. To assess the effect of Se additives on vitamin content in germinated grain, vitamin content in grain germinated without selenium were analyzed. Experimental results are presented in Table 1. The changes of B group, C and E vitamins content during germination and the influence of selenium concentration are reflected in Figures 11, 13, 15.

The results of the research (Fig.11.) show that the presence of Se significantly decreases the *content of thiamine*, and the highest relative decrease was observed at Se concentration of 200 mg l⁻¹ (wheat grain by 97%, hull-less barley by 99%, but hull-less oats by 54%). The results of variance analysis have shown that the Se concentration has a significant effect on the thiamine content in germinated grain (p<0.05). All thiamine during germination in wheat grain was consumed starting at Se concentration of 100 mg l⁻¹, but in hull-less

barley - starting at 50 mg l⁻¹. That relates to a relative decrease of wheat grain germination of 10%, but the lack of thiamine in oats could not be the cause of germination decrease, because the relative decrease of the vitamin content in hull-less oats is generally lower than in wheat and hull-less barley sprouts.

The established mathematical correlations (4, 5, 6) and graphic images (Fig. 12) allow to analyze and predict the changes of thiamine content depending on grain germination activity and Se content in grain. The following 2-order non-linear equations of the correlation (1 - wheat, 2 – hull-less barley, 3– hull-less oats) characterize the thiamine content (C), grain germination (D) and Se content of grains (S):

$$C = -2S + 0.06S^2 - 0.4D + 0.0017D^2 + 0.012S \cdot D + 24.75 \quad (4)$$

coefficient of determination $\eta^2 = 0.984$;

$$C = 27.7 - 0.218S + 0.006S^2 - 0.613D + 0.0035D^2 + 0.00047S \cdot D \quad (5)$$

coefficient of determination $\eta^2 = 0.899$;

$$C = 27.43 - 1.279S + 0.013S^2 - 0.466D + 0.0024D^2 + 0.011S \cdot D \quad (6)$$

coefficient of determination $\eta^2 = 0.993$.

Comparing all analyzed cereals, it is apparent that similar tendencies can be observed: the thiamine content decreases with increasing Se content in grain, and it should not exceed 5 mg kg⁻¹, in order to maintain the thiamine in germinated grain.

The obtained results show evidence that the changes of **riboflavin content** in germinated grain significantly depend on the Se concentration (p-value = 0.0003 <0.05) and type of grain (p-value = 0.0015 <0.05).

Analyzing the content of riboflavin in germinated grain (Fig.13), similar tendencies can be observed - the vitamin content in wheat grain and hull-less oat grain increases to the concentration of 25 mg l⁻¹, but in hull-less barley to the concentration of 50 mg l⁻¹. After that, the content of vitamin decreases for 20-30%, that corresponds to a decrease of grain germination activity.

The relative decrease of riboflavin content in germinated hull-less oats at Se concentration of 1 - 10 mg l⁻¹ could be explained by a high Se uptake, and hence a rapid increase on average 17 times of Se content in grain. It can inhibit the biological processes, including riboflavin synthesis, because of the potential of increased lipid oxidation in plants, thereby causing oxidative stress in plants (Hartikainen et al., 2000).

The changes of riboflavin content in germinated grain can be explained by the different content of Se. The correlation between the riboflavin content C, grain germination D and Se content of grain S: expressed in equations 7 (wheat), 8 (hull-less barley), 9(hull-less oats):

$$C = 0.77S - 0.021S^2 - 0.96D + 0.0054D^2 - 0.00088S \cdot D + 43.69 \quad (7)$$

coefficient of determination $\eta^2 = 0.894$;

$$C = -10.549 - 0.022S - 0.00146S^2 + 0.276D - 0.0015D^2 + 0.000268S \cdot D \quad (8)$$

coefficient of determination $\eta^2 = 0.817$;

$$C = 4.41 - 0.131S + 0.00044S^2 - 0.053D + 0.000228D^2 + 0.00141S \cdot D \quad (9)$$

coefficient of determination $\eta^2 = 0.864$.

The obtained mathematical models and their graphic display (Fig.14) give possibilities to evaluate and predict the optimum conditions to increase the riboflavin content depending on Se content in grain and grain germination.

The results of research show that if the Se content of wheat grain is up to 4 mg kg⁻¹, and germination is above 82%, then riboflavin content is on average 1.5 mg kg⁻¹. In contrast, if the Se content is within the range from 5.5 mg kg⁻¹ to 8 mg kg⁻¹, then the vitamin content depends on the germination activity. If Se content in grain is higher than 8 mg kg⁻¹, and the vitamin content is less than 1 mg kg⁻¹ at any germination activity, then the germination effect on riboflavin content in wheat grain is insignificant ($p > 0.05$).

The highest riboflavin content in germinated hull-less barley is possible to obtain if the Se content is up to 13 mg kg⁻¹, and this is closely related to the grain germination.

Germinated hull-less oats are more sensitive regarding changes in the Se content, and the highest riboflavin content is achievable when Se content in hull-less oats is less than 5 mg kg⁻¹, even if the grain germination is very low.

Evaluating the effects of selenium on the content of *pantothenic acid* in germinated grain, it can be seen (Fig.15) that it is higher in all the investigated Se concentrations compared with the control, but a significant increase in wheat and hull-less oat grain was found at the Se concentration of 25 and 50 mg l⁻¹ ($p < 0.05$).

Noticeable, but difficult to be explained is the fact that the most important relative increase of pantothenic acid content in all grains was observed when Se concentration in solution varies from 10 mg l⁻¹ to 25 mg l⁻¹. That relates to the fact that the selenium content in wheat and hull-less barley practically does not change at these concentrations (Fig. 8, 9). In oats, such regularities are not observed.

The increase or decrease of pantothenic acid content, like thiamin and riboflavin, could be explained by a different Se content in germinated grain. Such a conclusion is based on developed mathematical models and their graphic images (Fig.16). Correlation between pantothenic acid content C, grain germination D and Se content in grain S is expressed by the equations: 10 (wheat), 11 (hull-less barley, 12 (hull-less oats):

$$C = -28.2S + 0.146S^2 + 2.88 D - 0.016D^2 + 0.324SD - 68.27 \quad (10)$$

coefficient of determination $\eta^2 = 0.759$;

$$C = -225.47 + 1.706 \cdot S - 0.032 \cdot S^2 + 6.305 \cdot D + 0.036 \cdot D^2 - 0.009 \cdot S \cdot D \quad (11)$$

coefficient of determination $\eta^2 = 0.992$;

$$C = 29.77 + 1.304 \cdot S - 0.086 \cdot S^2 - 0.298 \cdot D - 0.0018 \cdot D^2 + 0.0045 \cdot S \cdot D \quad (12)$$

coefficient of determination $\eta^2 = 0.903$.

Although the experimentally determined largest content of pantothenic acid in germinated wheat grain was found 69.35 mg kg^{-1} , a mathematical model can predict that it can be increased to 90 mg kg^{-1} if the Se content of the grain is from 8 mg kg^{-1} to 10 mg kg^{-1} , but germination activity is more than 93% (Fig.16).

The biological processes taking place during germination of hull-less oats are closely connected with selenium content in grain. Unlike wheat and hull-less barley, Figure 16 shows that the Se concentration in grain from 4 mg kg^{-1} to 16 mg kg^{-1} , and germination above 55% allow to achieve the content of pantothenic acid to 25 mg kg^{-1} . The smallest and the largest Se concentration in grain, regardless of germination activity, do not allow to obtain pantothenic acid content more than 20 mg kg^{-1} .

Ascorbic acid (Vitamins C), tocopherols (Vitamin E), and selenium are natural antioxidants that protect cells and their membranes from free radicals. Whole grain is a source of vitamin E, but it does not contain vitamin C, and its biosynthesis occurs only in grain germination process.

The results of research show that all studied selenium concentrations as well as grain type significantly affect the content of **ascorbic acid** ($p < 0.05$). The obtained results (Fig.17) show that increasing Se concentration to 10 mg l^{-1} , a radical increase of vitamin C content up to 67% (wheat grain) can be observe. At Se concentration from 10 to 25 mg l^{-1} , the content of Se in germinated wheat grain increases to 1 mg kg^{-1} , but in germinated hull-less barley - 3 mg kg^{-1} , and Se uptake decreases on average 2 times (Fig. 8, 9). The relative increase of vitamin C content in germinated wheat grain at this stage is only 1.6%, in germinated hull-less barley 5.1%, but in germinated hull-less oats 25.9%. Another factor facilitating Se affect on vitamin C biosynthesis in wheat and hull-less barley is Se concentration from 50 to 100 mg l^{-1} . Then the vitamin C content increased 2 times compared with the control.

Correlation between the ascorbic acid content C, grain germination D and Se content in grain S are expressed by equations: 13 (wheat), 14 (hull-less barley), 15 (hull-less oats):

$$C = 48.067S - 0.747S^2 - 3.29D + 0.024D^2 - 0.455S \cdot D + 133.93 \quad (13.)$$

coefficient of determination $\eta^2 = 0.996$;

$$C = 2.673S - 0.087S^2 + 0.863D - 0.00455D^2 - 0.0063S \cdot D - 24.7 \quad (14.)$$

coefficient of determination $\eta^2 = 0.986$;

$$C = 7.24S - 0.212S^2 + 2.5D - 0.013D^2 - 0.043S \cdot D - 100.4 \quad (15.)$$

coefficient of determination $\eta^2 = 0.954$.

The results of research (Fig.18) show that optimum Se level for vitamin C synthesis in wheat grain ranged from 2.2 mg kg⁻¹ to 3.8 mg kg⁻¹, provided the germination is above 82%. Consequently, the increase of vitamin C content at a lower Se content in grain might be more related to changes in grain germination. When the content of Se in germinated wheat grain is higher than 3.8 mg kg⁻¹, it is possible to achieve a high vitamin C content even at a lower germination. The highest content of vitamin C - more than 25 mg kg⁻¹ in germinated hull-less barley can be obtained if the Se content ranges from 8 mg kg⁻¹ to 17 mg kg⁻¹, and the germination is more than 82%. If Se content is between 6 mg kg⁻¹ and 14 mg kg⁻¹, and the germination is above 60%, the highest content of vitamin C was observed in hull-less oat grain.

The obtained results (Fig.19) show evidence that the content of *tocopherols* in germinated grain depends on the Se concentration in solution. The largest relative increase of vitamin E content in germinated hull-less grain was found at Se concentration of 10 mg l⁻¹ (barley) or 25 mg l⁻¹ (oats). The increase of vitamin E content in germinated wheat grain was not observed. The correlation between the vitamin E content C, grain germination D, and Se content of grain S are expressed by equations 16 (wheat), 17 (hull-less barley), 18(hull-less oats) (graphic image see Fig.16).

$$C = 1.965S - 0.044S^2 + 1.144D - 0.00624D^2 - 0.026S \cdot D - 28.53 \quad (16.)$$

coefficient of determination $\eta^2 = 0.972$;

$$C = 12.15 - 1.44S + 0.00194S^2 = 0.287D - 0.00081D^2 = 0.013S \cdot D \quad (17.)$$

coefficient of determination $\eta^2 = 0.955$;

$$C = 5.11S - 0.097S^2 + 2.625D - 0.015D^2 - 0.051S \cdot D - 91.4 \quad (18.)$$

coefficient of determination $\eta^2 = 0.948$.

We can see (Fig.20) that to increase the vitamin E content of germinated wheat grain to 20 mg kg⁻¹ - 23 mg kg⁻¹, the Se content of grain should not exceed 5.5 mg kg⁻¹, if the germination is higher than 82%. The changes of vitamin E content in hull-less barley depends on Se content and grain germination activity. To obtain the content of vitamin E in germinated hull-less oats not less than 21.1 mg kg⁻¹ (control sample), the Se content must be 6 mg kg⁻¹ and germination activity 95%.

3.2. The content of protein and amino acids in grain fortified with selenium

The content of protein in cereals depends on several factors, including the grain type and variety, growing conditions, fertilizer. Analyzing the content of crude protein in germinated grain a conclusion can be drawn that the influence of Se

was observed. By applying t-tests it was established that the crude protein content does not change significantly ($p > 0.05$) in all the sprouts of wheat grains at different Se concentrations, but significantly changes ($p < 0.05$) were observed in germinated hull-less grain: hull-less oats – at Se concentration of 5 mg l^{-1} , 10 mg l^{-1} , 50 mg l^{-1} or 100 mg l^{-1} and hull-less barley, at Se concentration of 100 mg l^{-1} and 200 mg l^{-1} . Also, the total content of essential amino acids differs significantly among grain types and vary depending on Se concentration of the solution. Variance analysis allows to find significant differences (p -value < 0.05) on the content of some essential amino acids – valine, methionine, leucine, tyrosine, phenylalanine in germinated grain.

4. The influence of wheat grain fortified with selenium on chicken's organism

Chicken is especially useful in biological studies due to its high intensity of metabolic processes. Chicken is very easy to identify and study, which makes it optimal for monitoring (Klandorf et al., 1999, Fasol, 2006). The selenium enriched, ground, germinated wheat grain was added to the chicken feed.

Selenium is part of antioxidative system of a living organism. To characterize the oxidative processes occurring in chickens, some components of antioxidative defence system were controlled during the experiment: the content of selenium, glutathione, malondialdehyde, activity of glutathionperoxidase, as well as the content of vitamins A and E of chicken liver.

The **content of selenium** increased in chicken liver during the experiment, and reached a maximum on the 20th day in both animal groups. The results, as shown in Fig. 21, indicate that the highest content of Se was found in 20-day-old experimental group chicken liver, which can be explained with a good intake and assimilation of nutrient at this period. The Se content in control diet group chicken liver was about 52.7%, while in experimental diet group this index was for 61.5% higher than the content of Se in one-day-old chicken liver. A conclusion can be drawn that Se concentration in the feed is closely associated with the Se concentration in the liver. The obtained results confirm the conclusions mentioned in literature that the more Se is in the diet, the higher is Se concentration in chicken liver (Pan, et al., 2007; Haug, et al., 2008; Wang, et al., 2008).

Glutathione is tripeptide formed in vivo from L-cysteine, L-glutamic acid and glycine. Although it can be synthesized in all body cells, most important is its synthesis in the liver. For example, birds and mice, the liver of which for genetic reasons cannot synthesize GSH, dies in the first month of life (Chen, et al., 2007). The obtained results (Fig.22) show evidence that the fastest increase of glutathione content in chicken liver of control diet group was observed in 10 days of feeding, but further the content did not increase significantly,

whereas the changes of glutathione content in experimental diet group chicken liver was regular. The content of glutathione of experimental diet group of chickens increased on average for 25% slower. This difference could be due to changes of enzyme glutathione peroxidase activity during the experiment.

Glutathione peroxidase (GSH-Px) is an enzyme, containing four units of selenocystein and its antioxidative activity is generally related to the amount of trace element selenium. The effect of dietary supplementation with and without selenium source on glutathione peroxidase activity is shown in Figure 23. The higher level of glutathione peroxidase in one-day-old chickens liver samples is associated with Se content in eggs as well as with formation of antioxidative defence system in the chicken embryo. It is reported in literature that GSH-Px activity increases through the time of chicken embryo development and achieves the maximum at hatching process (Surai, 2002; Gaal et al., 1995; Wilson et al., 1992). The activity of glutathione peroxidase increased rapidly in the experimental diet group fed feed additives enriched with Se compared to the control: on day 10 by 5.3%, but on day 30 by 11%. The obtained results allow to conclude that the activity of glutathione peroxidase in the liver is connected with Se uptake. These results coincide with results of studies on chicken (Haug et al., 2008; Wang, et al., 2008) and on rats (Reeves et al., 2007). Besides, the obtained results allow explaining the above results, the glutathione level of experimental chicken liver is lower than in the control group, because glutathione is used as a substrate for the enzyme activity.

Malondialdehyde (MDA) is defined as a final product of lipid peroxidation (Bieri et al., 1960) and, therefore, the accumulation of this compound in the liver is used as a marker for evaluation of oxidative processes.

The results of the study (Fig.24.) show that the content of malondialdehyde in the control diet group after 10 days has increased, which can be explained with activation of oxidative processes at the beginning of the experiment. However, the content of malondialdehyde in the experimental diet group at this time decreases by 24% compared with the control group. Since the content of Se at this time was 14.75% higher and the activity of glutathione peroxidase was 5.3% higher in the experimental group than in the control group at this time, we can conclude that selenium as a component of antioxidative defence system prevents the oxidative processes, and therefore the accumulation of malondialdehyde in the liver decreases. MDA accumulation in chicken liver of the experimental diet group was for 16.6 and 17.2% less compared with the control group also after 20 and 30 days of feeding

The results of research show that content of **Vitamins E and A** is higher in experimental diet group: the content of vitamin A was 8.13% higher, but the content of vitamin E – 7.48% higher compared with control diet group. We can conclude that increased selenium content in feed and hence the higher content

in chicken liver promotes the maintenance of antioxidative components, including vitamins A and E, and reduce the oxidation.

In all, the results of research have shown that the germinated wheat grain additive fortified with selenium gives a positive effect on the chicken antioxidative system components. This is demonstrated by increasing of activity of glutathione peroxidase, reduction of malondialdehyde accumulation and higher content of vitamin A and E in the experimental diet group of chicken compared with the control group.

5. The application of fortified grain to bread production

It is known that germinated oat flour could be use for increasing nutritional value of wheat bread (Kaukovirta-Norja et al., 2004). That is why within the framework of this research the germinated hull-less oats enriched with Se were used for wheat bread production with the aim to increase the content of Se in the bread. The germinated hull-less ground oats as 10% and 20% additives with Se content 0.448 mg kg^{-1} (Se additive I) and 1.082 mg kg^{-1} (Se additive II) were used (Se concentration in solution 1 mg l^{-1} and 5 mg l^{-1}).

The obtained results show evidence that germinated hull-less ground oat additives enriched with selenium did not influence the external appearance of wheat bread compared with the control sample. During baking, part of Se is lost because during baking process the volatile Se containing compounds are formed (Mo et al., 2006). As a result, 33% to 43% of selenium that was present in the raw materials, remains in wheat bread, produced with hull-less ground oat additives enriched with selenium. In control samples, this figure is slightly higher 41% - 51%, that could be explained by both a low selenium content in raw materials and the fact that the germinated grain could be less inorganic forms of selenium. It is possible to increase the content of selenium in wheat bread by adding fortified grain. The obtained results (Fig.25) show that the content of Se increases from 0.006 mg kg^{-1} to 0.087 mg kg^{-1} ; thereby, it increases from three times to 10 times compared with the control. It depends on the amount of ground oat additives in the wheat bread and Se content in hull-less oats. As a result, a final product is obtained where the content of Se reaches but not exceeds Se level in bread produced abroad (Euroola, 1990; Murphy, Cashman, 2001). The results of the study demonstrate that increasing ground oat additives at concentrations from 10% to 20%, increase the added force to press it due to the increase of its density, but these differences are insignificant. Also, Se concentration of oat additive does not change significantly the wheat bread hardness and elasticity ($p > 0.05$), compared with the control sample.

The analyzed physical and chemical characteristics of bread are presented in Table 2. The obtained results show that moisture content, titratable acidity and pH in wheat bread with ground oat additives enriched with Se vary depending on the amount of oat flour in bread, but the influence of Se concentration in the

additive is insignificant ($p > 0.05$). Experimental results suggest that changes in water activity of wheat bread with ground oat additives are not significant ($p > 0.05$).

The conclusion can be drawn that 10% and 20% ground oat additives fortified with selenium during germination (Se content 0.448 mg kg^{-1} and 1082 mg kg^{-1}) can be used in wheat bread preparation to increase the content of Se in bread without significant changes of quality indicators.

Conclusions

1. Selenium content in wheat, hull-less barley, hull-less oat and rye grain grown in Latvia is within the range from 0.015 to 0.035 mg kg^{-1} , but in cereal products it is less than 0.014 mg kg^{-1} .
2. It is possible to increase the grain germination enriching with sodium selenate for 7% more than using sodium selenite. The investigated wheat, hull-less barley and oats reached the maximum germination in sodium selenate solution of different concentrations.
3. The percentage of uptaken selenium amount depends on the grain type and Se concentration in solution. Hull-less oats and hull-less barley uptake Se most of all, 42.45 and 34.3%, respectively. The optimum Se content in barley and hull-less oats to reach the maximum grain germination is 1 mg kg^{-1} , but in hull-less barley – 3 mg kg^{-1} , then the selenium concentration should be from 5 to 10 mg l^{-1} , and for hull-less oats and barley – from 1 to 5 mg l^{-1} .
4. Different selenium concentration in solutions influence the content of thiamine, riboflavin, pantothenic acid, ascorbic acid and tocopherols in wheat, hull-less barley and hull-less oat grain. Thiamine content decreases at the Se concentration of 50 mg l^{-1} . Increasing Se concentration, all the amount of thiamine in grain is used up during the germination process. Changes of riboflavin and pantothenic acid content in grain are similar and their content depends on Se concentrations in solution. Formation of ascorbic acid in germinated grain was facilitated by all Se concentrations experimentally applied. Changes of the content of tocopherols in grain are little, but significant.
5. Selenium concentration influences the amount of amino acids in grain and produces significant differences in valine, methionine, leucine, tyrosine and phenylalanine content.
6. Thiamine, riboflavin, pantothenic acid, ascorbic acid and tocopherol content in grain, depending on Se concentration in solution and grain germination, are possible to predict by the developed 2-stage non-linear correlation equations.
7. Wheat grain additive fortified with Se in chicken feed causes positive changes in its anti-oxidative system. In chicken liver of experimental group, malondialdehyde is 24% less, A and E vitamin content is 7%

higher, but glutathione content is 25% less. That is associated with changes of the enzyme glutathione peroxidase activity.

8. Hull-less oats fortified with selenium can be used to increase the Se content in wheat bread without changes of quality indicators.
9. The hypothesis of the doctoral thesis is correct because using Se containing solutions Se content in grain increases and the content of vitamin group B, C and E vitamins as well as protein and essential amino acids changes.