

**DEBRECENI EGYETEM**  
**HANKÓCZY JENŐ NÖVÉNYTERMESZTÉSI, KERTÉSZETI ÉS ÉLELMISZERTUDOMÁNYOK**  
**DOKTORI ISKOLA**

*Doktori Iskola vezető:*  
**Prof. Dr. Pepó Péter**  
egyetemi tanár, az MTA doktora

*Témavezető(k):*  
**Dr. Prokisch József**  
egyetemi tanár, PhD

**NANOMÉRETŰ ELEMISZELÉN-RÉSZECSKÉK ELŐÁLLÍTÁSA**  
**ÉS VIZSGÁLATA A TALAJ-NÖVÉNY-ÁLLAT RENDSZERBEN**

*Készítette:*  
**Sztrik Attila**  
doktorjelölt

**Debrecen**  
**2016**

**NANOMÉRETŰ ELEMISZELÉN-RÉSZECSKÉK ELŐÁLLÍTÁSA ÉS  
VIZSGÁLATA A TALAJ-NÖVÉNY-ÁLLAT RENDSZERBEN**

Értekezés a doktori (Ph.D.) fokozat megszerzése érdekében  
az élelmiszertudomány tudományágban

Írta: **Sztrik Attila** okleveles környezetkutató ökológus

Készült a Debreceni Egyetem Hankóczy Jenő Növénytermesztési, Kertészeti és  
Élelmiszertudományok Doktori Iskola keretében

Témavezető: Dr. Prokisch József PhD

**A doktori szigorlati bizottság:**

Elnök: Dr. Kovács Béla PhD

Tagok: Dr. Kincses Sándorné PhD

Dr. Véha Antal CSc.

A doktori szigorlat időpontja: 2016.01.20.

**Az értekezés bírálói:**

Név	Tud. fokozat	Aláírás
Dr. Simon László	D.Sc.	_____
Dr. Heltai György	D.Sc.	_____

**A bíráló bizottság:**

	Név	Tud. fokozat	Aláírás
Elnök:	_____	_____	_____
Tagok:	_____	_____	_____
	_____	_____	_____
Titkár:	_____	_____	_____

Az értekezés védésének időpontja: 20..... .. .

# TARTALOMJEGYZÉK

1.	BEVEZETÉS .....	8
2.	IRODALMI ÁTTEKINTÉS .....	10
2.1.	A szelén története .....	10
2.2.	A szelén kémiai tulajdonságai.....	11
2.3.	A szelén a környezetünkben.....	13
2.3.1.	A szelén előfordulása az élettelen környezetben .....	13
2.3.2.	A szelén előfordulása az élővilágban.....	15
2.3.3.	A szelén körforgása a környezetben .....	15
2.4.	A szelén szerepe az élettani folyamatokban.....	17
2.4.1.	A szelén metabolizmusa növényekben .....	17
2.4.2.	A szelén metabolizmusa gerincesekben.....	20
2.4.3.	Szelenoproteinek és szelén tartalmú fehérjék, szelénraktározás .....	22
2.4.4.	A szelén emberre gyakorolt pozitív hatásai .....	24
2.5.	Szelénhiány, szelénpótlás, szelénmérgezés .....	25
2.5.1.	Ajánlott szelénbevitel, szelénhiány.....	25
2.5.2.	Szelénpótlás .....	26
2.5.3.	Szelénmérgezés .....	27
2.6.	A szelén előállítása, ipari felhasználása .....	28
2.6.1.	Szelénbányászat, szervetlen szelénformák .....	28
2.6.2.	Szelenizált élesztő, SelPlex.....	28
2.6.3.	Nanoméretű elemi szeléngömbök .....	29
2.6.4.	Ipari felhasználás .....	31
3.	ANYAG ÉS MÓDSZER .....	32
3.1.	NanoSel nanoméretű elemi szelént tartalmazó tisztított monodiszperz szelén szelék előállítása .....	32
3.1.1.	Baktériumtörzs .....	32
3.1.2.	Tápközeg.....	32
3.1.3.	Fermentáció .....	33
3.1.4.	Tisztítás .....	34
3.2.	LactoMicroSel szelénrel dúsított joghurtpor előállítása .....	35
3.2.1.	Baktériumtörzs .....	35
3.2.2.	Tápközeg.....	35
3.2.3.	Szárítás és homogenizálás.....	36
3.2.4.	Termékfejlesztés, ipari gyártás .....	36

3.3.	NanoSel szol és LactoMicroSel szelénnel dúsított joghurtpor vizsgálata.....	43
3.3.1.	Teljes szeléntartalom meghatározása.....	43
3.3.2.	Nanoszelén viselkedése vizes közegben.....	44
3.3.3.	Felülúszó szelénspeciációs vizsgálat.....	44
3.3.4.	Elektronmikroszkópos vizsgálat.....	45
3.3.5.	Lézerdiffrakciós szemcseméret-eloszlás vizsgálat.....	45
3.4.	Nanoszelén vizsgálata a talajban.....	46
3.4.1.	Kísérleti beállítás.....	46
3.4.2.	Teljes szeléntartalom meghatározása.....	46
3.4.3.	Vízoldható szeléntartalom meghatározása.....	46
3.4.4.	Savoldható szeléntartalom meghatározása.....	46
3.5.	Nanoszelén vizsgálata növényekben.....	47
3.5.1.	Kísérleti beállítás.....	47
3.5.2.	Protoplaszt izolálás dohánylevelekben.....	47
3.5.3.	Tilakoid izolálás dohánylevelekben.....	48
3.5.4.	Teljes szeléntartalom meghatározása protoplasztból és tilakoidekből.....	49
3.5.5.	Lipidperoxidáció mérése TBARS teszttel.....	49
3.6.	Nanoszelén vizsgálata állatokban – Brojler csirke kísérlet.....	50
3.6.1.	Kísérleti beállítás.....	50
3.6.2.	Kísérleti mérések.....	51
3.7.	Nanoszelén vizsgálata állatokban - Tojóttyúk kísérlet.....	51
3.7.1.	Kísérleti beállítás.....	51
3.7.2.	Kísérleti mérések.....	53
4.	EREDMÉNYEK.....	54
4.1.	NanoSel tisztított monodiszperz szelén szol előállítás és vizsgálata.....	54
4.1.1.	Elektronmikroszkópos vizsgálat eredménye.....	54
4.1.2.	Lézerdiffrakciós szemcseméret-eloszlás vizsgálat eredménye.....	56
4.1.3.	Nanoméretű elemi szeléngömbök vizsgálata vizes közegben.....	58
4.2.	LactoMicroSel szeléntartalmú joghurtpor előállítás és vizsgálata.....	63
4.2.1.	LactoMicroSel homogenitás vizsgálata.....	63
4.2.2.	No.42. szelénvel dúsított instant tejpor homogenitás vizsgálata.....	63
4.3.	Nanoszelén vizsgálata talajban.....	66
4.3.1.	Teljes szeléntartalom.....	66
4.3.2.	Vízoldható szeléntartalom.....	67
4.3.3.	Savoldható szeléntartalom.....	67

4.4.	Nanoszelén vizsgálata növényekben.....	70
4.4.1.	Biomassa-produkció dohánynövény gyökerében és hajtásában .....	70
4.4.2.	Izolált protoplaszt és tilakoid membrán teljes szeléntartalma .....	71
4.4.3.	Tilakoid membránok lipidperoxidációja .....	73
4.5.	Nanoszelén vizsgálata állatokban – Brojler csirke kísérlet eredmények .....	74
4.5.1.	Testtömeg.....	74
4.5.2.	Tömeggyarapodás .....	75
4.5.3.	Átlagos napi takarmányfogyasztás.....	76
4.5.4.	Átlagos takarmányértékesítés .....	78
4.5.5.	Vágási paraméterek.....	80
4.5.6.	Szelénkoncentrációk .....	81
4.6.	Nanoszelén vizsgálata állatokban - Tojóttyúk kísérlet eredményei.....	84
4.6.1.	Tojástermelés .....	84
4.6.2.	Tojásindex, tojástömeg .....	85
4.6.3.	Szik tömege.....	86
4.6.4.	Szik színe .....	87
4.6.5.	Héj száraz tömege és vastagsága .....	88
4.6.6.	Tojások szeléntartalma.....	89
5.	KÖVETKEZTETÉSEK, JAVASLATOK.....	91
6.	ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK .....	96
7.	GYAKORLATNAK ÁTADHATÓ EREDMÉNYEK .....	97
8.	ÖSSZEFOGLALÁS .....	98
9.	SUMMARY .....	101
10.	SZAKIRODALMI JEGYZÉK.....	104
11.	PUBLIKÁCIÓK AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉBEN .....	119
12.	ÁBRA ÉS TÁBLÁZATJEGYZÉK .....	124
13.	MELLÉKLET .....	127
14.	KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS .....	130

## RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

AFS	Atomic fluorescence spectrometry, Atomfluoreszcens spektrometria
APSe	Adenozin- foszfoszelenát
CLA	Conjugated linoleic acid, Konjugált linolsav
DMSe	Dimetil-szelenid
ER	Endoplazmatikus retikulum
EDX	Energy-dispersive X-ray spectroscopy Energia-diszperziós röntgen spektroszkópia
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations Élelmezésügyi és Mezőgazdasági Világszervezet
FEG	Field emission gun, Téremissziós ágyú
GPx, GSH-Px	Glutation-peroxidáz
GS-Se-SG	Szelenodiglutation
HDL	High-density lipoprotein, Magas denzitású lipoprotein
HPLC-AFS	High performance liquid chromatography/ atomic fluorescence spectrometry Nagy teljesítményű folyadékkromatográfia / atomfluoreszcens spektrometria
LactoMicroSel	Nanométerű vörös elemiszelén-részecskéket tartalmazó szárított joghurtpor
LDL	Low-density lipoprotein, Alacsony denzitású lipoprotein
LDPSA	Laser diffraction particle size analyser, Lézerdiffrakciós szemcseméret-eloszlás mérő
LMS	LactoMicroSel, szelénnel dúsított joghurtpor
L-SeMet	L-szelenometionin
MDA	Malon-dialdehid
MetSeCys	Metil-szelenocisztein

## RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE (FOLYTATÁS)

MRS	de Man, Rogosa és Sharpe által kifejlesztett tápleves Az általunk használt VWR Chemicals által gyártott tápleves összetétele 1 literben: 10g kazein, 10g húskivonat, 5g élesztőkivonat, 20g glükóz, 2g dikálium-hidrogén-foszfát, 5g nátrium-acetát, 2g diammonium-citrát, 0,2g magnézium- szulfát, 0,05g mangán-szulfát, 1,08g polioxietilén-szorbitán- monooleát (Tween 80)
NanoSel	Tisztított nanoméretű vörös elemiszelén-részecskéket tartalmazó szol
RDA	Recommended daily allowance, Ajánlott napi bevitel
RH+LMS	Rákliszt / Halliszt keverék LactoMicroSel-el dúsítva
ROS	Reactive oxygen species, Reaktív oxigénformák
rpm	Revolutions per minute, fordulat/perc
Se	Szelén
SeCys	Szelenocisztein
SelPlex	Szelenometionin tartalmú takarmánykiegészítő (Alltech, USA)
SEM	Scanning Electron Microscopy, Pásztázó elektronmikroszkópia
SeMet	Szelenometionin
TBARS	Thiobarbituric acid reactive substances Tiobarbitursav reaktív vegyületek
XRF	X-ray fluorescence spectroscopy, Röntgen fluoreszcencia spektroszkópia

## 1. BEVEZETÉS

A szelén (Se) antioxidáns hatású mikroelem, nélkülözhetetlen az emberek, állatok, archeák és más mikroorganizmusok megfelelő és egészséges működéséhez. Kőzetekben, talajokban, vizekben egyaránt előfordul, de geográfiai eloszlása erősen változó, akár egy országon belül is, a természetes szubsztrátoktól, klímától, flórától függően (Hartill, 2004). Köztudott, hogy a világ számos területén a talaj szelénben hiányos, többek között Magyarországon is (Bogyé et al, 1998), ahol ha a megfelelő szelénpótlás nem biztosított, komoly egészségügyi kockázat áll fent (Reilly, 1998).

A szelén esszenciális voltának bebizonyítása után (Schwartz és Foltz, 1957), a fellendült érdeklődésnek és kutatásnak köszönhetően sorra derültek ki pozitív hatásai, úgymint az immunrendszer működésében, az AIDS kialakulásának gátlásában (Rayman, 2000), a spermiumok mozgékonyságának növelésében, illetve a daganatos betegségek megelőzésében betöltött szerepe (Ip és Ganther 1992).

Hiánytünetei között szerepel a pajzsmirigy alulműködés, fáradtság, elhízás, terméketlenség, de olyan súlyos kórok is, mint a krónikus szívizom gyengeséget eredményező Keshan-kór, vagy az ízületi deformációhoz és törpeséghez vezető Kashin-Beck betegség.

A szelén az egyik legellentmondásosabb mikroelem, melynek szükséges és toxikus koncentrációi nagyon közel esnek egymáshoz, olyannyira, hogy „esszenciális mérég” elnevezéssel is illetik. (Reilly, 2006). Ezért nem meglepő, hogy a szelénben gazdag talajú területeken (pl. Kína, Brazília egyes részei) a túladagolás tüneteivel is találkozhatunk, úgymint a fokhagymaszagú lehelet, hajhullás, körömdeformáció. A szelén, a körülményektől függően, különböző vegyületekben, ionformákban jelenik meg, melyeknek felvehetősége és toxicitása nagymértékben eltérő, éppen ezért mikor szelénről beszélünk kiemelten fontos a módosulat konkretizálása. A természetben gyakran előforduló szelenit ( $\text{SeO}_3^{2-}$ ) és szelenát ( $\text{SeO}_4^{2-}$ ) sók, szerves szelénformák, illetve a szelenidek ( $\text{Se}^{2-}$ ) mellett az üledékes kőzetekben, redukált, anaerob körülmények között (pl: Keshan tartomány, Kína) jelenlevő elemi szelén alacsonyabb toxicitással rendelkezik, mint a többi szelénforma (Wang et al, 2007).

A felsorolt okok miatt a szelén a figyelem középpontjába került, az egyik leginkább vizsgált elem, melynek kutatása rendkívüli ütemben nőtt az elmúlt években, a tudomány számos területén új lehetőségeket teremtve, és roppant érdekes genetikai, biokémiai, molekuláris és egészségügyi tulajdonságaira fényt derítve (De Filippis, 2010).

A szelénpótlás jelentősége is felértékelődött, a szelénhiányos országokban igény mutatkozott nem csak a szelénrel dúsított műtrágyázás (pl.: Finnország) de a szeléntartalmú táplálékkiegészítők felé is, és 1985-ben megjelentek az élesztő által előállított szelenometionint tartalmazó gyógyszerek és étrend-kiegészítők is. Ezt a folyamatot követve a következő logikus lépés a szelén közvetlenül élelmiszerbe történő juttatása, pl.: szelénrel dúsított joghurt, tojás, vagy hagyma esetén.

Kutatómunkám alapvető célkitűzése a Dr. Prokisch József és Dr. Mohsen Zonmara által szabadalmaztatott (*Prokisch és Zonmara, 2008*) technológiára alapuló, a tejsavbaktériumok, számukra toxikus koncentrációjú szelénre mutatott védekezési mechanizmusa során létrejövő nanoméretű elemi szelén gömböket tartalmazó, szelénpótlásra alkalmas adalék gyártásának kidolgozása, majd a talaj-növény-állat rendszerben való vizsgálata volt.

Célkitűzéseim a fentiek alapján a következők voltak:

- Tejsavbaktériumok által előállított nanoméretű vörös elemiszelén-részecskék kinyerésének és tisztításának kidolgozása, laboratóriumi felhasználásra szánt monodiszperz szelén szol gyártásának kifejlesztése (NanoSel)
- Az előállítási módszer módosítása szelénrel dúsított joghurtpor gyártására, majd ennek élelmiszeripari optimalizálása (LactoMicroSel)
- Az előállított nanoszelén vizsgálata a talaj-növény-állat rendszerben, igazolva, hogy mind a növények, mind az állatok képesek felvenni és hasznosítani a szelén ezen formáját
- A kapott eredmények alapján felállítani egy elméleti modellt, mely magyarázza a nanoszelén vizes közegben való viselkedését

## 2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

### 2.1. A szelén története

1943-tól kezdve (*Moxon és Rhian, 1943*) a mai napig (*Arnér, 2012*) készülnek szakirodalmi elemzések a szelénről.

1817-ben a svéd vegyész, Jöns Jacob Berzelius és Gahn azt a feladatot kapta, hogy vizsgálja ki egy gripsholmi kénsavgyár dolgozóinak megbetegedésének okát. Berzelius első feltevése az volt, hogy a tüneteket valamilyen szennyeződés okozza, mivel a gyár éppen akkor tért át a helyi vas-szulfid felhasználásra. Arzénre és tellúrra való gyanakvása a savkádakban található vörösesbarna lerakódás felfedezésével dőlt meg, ami nem volt más, mint a szelén, melyet a hold görög istennőjéről, Szelénéről nevezett el.

Felfedezésétől számítva 140 éven keresztül a szelén toxikus elemként élt a köztudatban, melyet számos eset támasztott alá, akár a Marco Polo által 1295-ben leírt, szelént hiperakkumuláló növényeket fogyasztó lovak patadeformitását okozó mérgezés (*Birringer et al, 2002*), vagy az amerikai katonai sebész Madison által 1856-ben jelentett, szintén lovakon jelentkező szelénmérgezés (*Whanger, 2002*). Bár a szelén pozitív hatásait már 1954-ben észlelték baktériumokon (*Pinsent, 1954*), a toxicitására vonatkozó nézet csak 1957-ben dőlt meg, mikor patkányokon végzett kísérletek során bebizonyosodott a szelén esszenciális volta (*Schwarz és Foltz, 1957*). Ezután sorra jelentek meg a szelén vitális szerepét vizsgáló kutatások, a kérődzőknél tapasztalható izomelváltozások elleni védőszerepét (*Hogue et al., 1962; Muth 1963*), általános antikarcinogén hatását (*Shamberger és Rudolph, 1966*), vagy az anaerob baktériumok által termelt glicin-reduktáz (*Turner és Stadtman, 1973*) illetve az emlősökben található glutation-peroxidáz (*Rodtruck et al., 1973*) enzimek működéséhez való szükségességét bizonyítva. 1976-ban, amikor azonosították a glicin-reduktáz enzim fontos alkotóelemét, a szelenociszteint (*Cone et al, 1976*), a szelén a Keshan-kórnak köszönhetően már a figyelem középpontjában állt. Ez a kínai Keshan tartományban megjelenő, szívizom gyengeséghez és halálhoz vezető betegség a szükségesnél jóval alacsonyabb szelénbevitelnek volt köszönhető, mely a talaj szelénhiányos voltából következett. Kezelésként nátrium-szelenites étrendkiegészítést alkalmazva sikerült megállítani a betegséget (*Chen et al, 1980*), ami később kiderült, hogy a betegséget okozó Cocksackie-vírus szaporodását szelektíven gátló hatás miatt sikerült (*Levander és Beck, 1997*).

## 2.2. A szelén kémiai tulajdonságai

A szelén a periódusos rendszer 16-os (régebben VIa) csoportjába, a kalkogénekhez (görög szó, jelentése rezesítő, ércesítő) tartozó elem. A csoport közös elnevezése az oxigéncsoport, tagjai a szelén (Se) mellett az oxigén (O), a kén (S), a tellúr (Te), a radioaktív polónium (Po) és a mesterségesen előállított livermorium (Lv). A szelén rendszáma 34, relatív atomtömege 78,96 g (*Tin Win, 2003*). A természetben előforduló hat stabil izotópja gyakorisági sorrendben (*Janghorbani et al., 1981*):  $^{80}\text{Se}$  (49,61%),  $^{78}\text{Se}$  (23,77%),  $^{76}\text{Se}$  (9,37%),  $^{82}\text{Se}$  (8,73%),  $^{77}\text{Se}$  (7,63%),  $^{74}\text{Se}$  (0,89%). Az elmúlt években számos új eredmény jelent meg a szelén stabil izotópjait felhasználva mind a talaj- (*Mitchell et al., 2011; Zhu et al., 2014*), mind a növény (*Banning et al., 2014; Schilling et al., 2011*), mind az állat kutatás területén (*González-Iglesias et al., 2015; Hu et al., 2012*).

A szelén felvehetősége és toxicitása nagy mértékben függ kémiai alakjától, oxidációs állapotától: a vízdékony és alacsony koncentrációban is toxikus szelenát ( $\text{SeO}_4^{2-}$ ) illetve szelenit ( $\text{SeO}_3^{2-}$ ) és a szintén toxikus szelenid ( $\text{Se}^{2-}$ ) mellett a számunkra legérdekesebb speciesz a vízben nem oldódó, természetes körülmények között ritka elemi szelén ( $\text{Se}^0$ ), amivé a szelenid is könnyen oxidálódhat (*Skinner, 1999*).

Ha szelénről beszélünk, fontos megvizsgálni a kénnel való kapcsolatát. Ugyanabba a főcsoportba tartoznak, hasonlóak az atomi tulajdonságaik, éppen ezért nem meglepő, hogy minden kéntartalmú molekulának létezik szeléntartalmú analóg vegyülete (*Combs és Combs, 1986*). A szelén és kén fontosabb fizikai, kémiai, biológiai tulajdonságának összehasonlítását az 1. táblázatban láthatjuk.

Két fontos különbség van azonban a két elem között: a szervezet anyagcsere folyamatai során a kén vegyületek oxidálódnak, míg a szelén vegyületek redukálódnak, illetve a szelén tartalmú savak ( $\text{H}_2\text{Se}$  és  $\text{H}_2\text{SeO}_3$ ) erősebb savak, mint kén analógiáik.

1. táblázat: A kén és a szelén legfontosabb tulajdonságainak összehasonlítása

Tulajdonság	Kén (S)	Szelén (Se)
Név eredete	A latin <i>sulphur</i> szóból (kénkö)	A görög <i>Selēnē</i> névből (Hold)
Felfedezése, vagy esszencialitásának felfedezője	von Sachs, Knop (1865)	J. Berzelius (1817)
Teljes kibányászott mennyiség 2014-ben (tonna)	70,400,000	2,275
Gyakoriság a földkéregben	0,06–0,1 (%)	0,05 (mg kg <sup>-1</sup> )
Gyakoriság a talajban	0,01–0,1 (%)	0,33 (mg kg <sup>-1</sup> )
Földkéregbeni gyakorisága sorrend szerint	14.	69.
Legfontosabb ásványok	Gipsz (CaSO <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O), Pirit (FeS <sub>2</sub> ), Kalkopirit (CuFeS <sub>2</sub> ), Galenit (PbS)	Klockmannit (CuSe), Clausthalit (PbSe), Tiemannit (HgSe)
Legfontosabb források	Vas szulfid és szulfát	Ólomfinomítás, réz, nikkel
Legfontosabb felhasználás	Gyufa, lőpor, gyógyszerek	Fotoelektromos cella, TV, kamera
Oxidációs állapot	-2, 0, +2,+4, +6	-2, 0, +2,+4, +6
Ionsugár (Å°), ahol 1 Å = 100 pm	0,37	0,50
Elektronnegativitás (Pauling skála szerint)	2,58	2,55
Rendszám	16,00	34,00
Atomtömeg	32,06	78,96
Atomsugár (picométer)	88,00	122,00
Sűrűség 20 °C-on (g cm <sup>-3</sup> )	2,07	4,79
Forráspont (°C)	444,60	684,90
Olvadáspont (°C)	112,80	217,00
Kristályszerkezet (szobahőmérsékleten stabil módosulat)	Ortorombikus	Hexagonális
Növények által felvehető forma	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	SeO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , SeO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>
Esszencialitása növényekben és állatokban	Mindkettő számára esszenciális	Állatoknak esszenciális, növényeknek előnyös
Kritikus vagy elegendő szint levelekben (száraztömeg)	0,1–0,5 (%)	0,1–2,0 (mg kg <sup>-1</sup> )
Toxikus szint levelekben (száraztömeg)	0,5–0,7 (%)	5,0–30 (mg kg <sup>-1</sup> )
Felvétel növényekben	Aktív (SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> )	Passzív (SeO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> ) illetve aktív (SeO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> ) és SeMe
Legfontosabb antagonistái	As, Fe, Pb, Mo, és Se	Hg, Mn, Zn, Cu, és Cd
Mobilitása növényekben	Mérsékelten mobilis	Mérsékelten mobilis
Mozgása talajban	Vízmozgás (SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> )	Vízmozgás, nagyon mobilis (SeO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> )

### 2.3. A szelén a környezetünkben

A szelén széles körben előforduló elem, sokszor nagyon minimális mennyiségben, de gyakorlatilag a Földön mindenben megtalálható (*McNeal és Balistrieri, 1990*). A környezetben való körforgását számos fizikai, kémiai és biológiai folyamat befolyásolja, úgymint a fosszilis üzemanyagok égetése, vulkanikus tevékenység, kőzetek és talajok morzsolódása, talajból való kimosódás, talajvíz mozgása, növényi és állati anyagcsere folyamatok, adszorpció és deszorpció, kémiai és biológiai oxidáció és redukció, kőzetképződés, melyek mind a bennük résztvevő szelén formájától függenek (*Nrigau és Pacyna, 1988*).

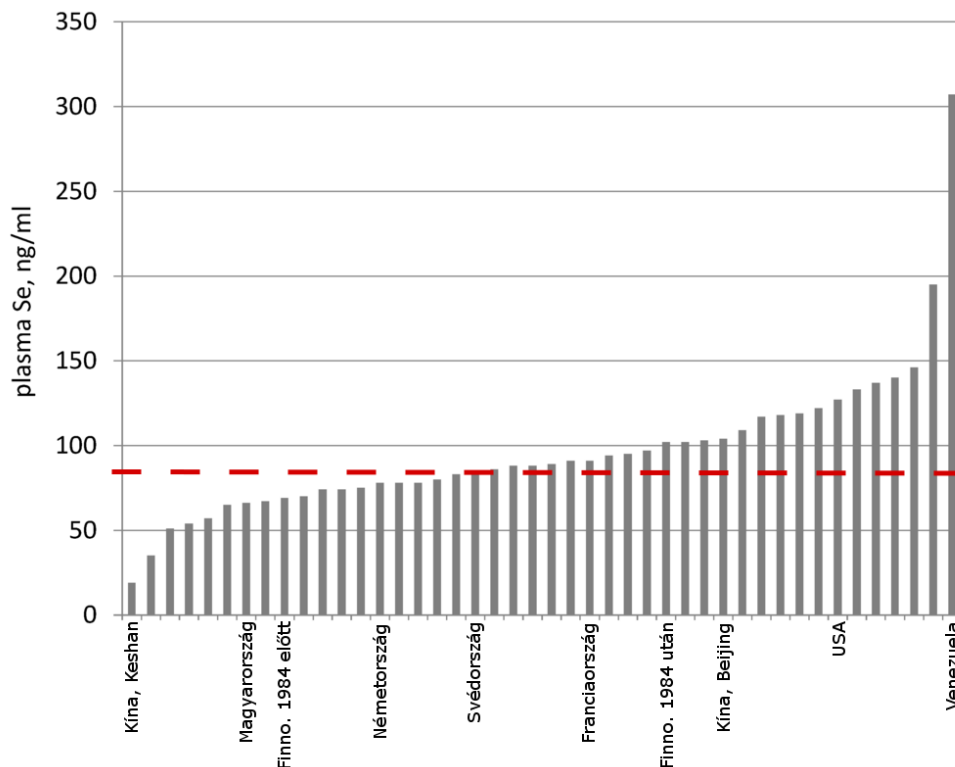
#### 2.3.1. A szelén előfordulása az élettelen környezetben

A környezetben előforduló négyféle oxidációs állapotú szelén erősen eltérő toxicitással és biológiai hozzáférhetőséggel rendelkezik. A szelén fő forrása a talaj, főként az agyagos talajok (*Wu, 2004*). Lúgos pH és jó oxigénellátás mellett a vízdékony, növények által könnyen felvehető, talaj szemcsékhez lazán kötődő szelenát (+6 oxidációs szám) a fő előfordulási forma (*Zayed et al., 1998*). Semleges pH és jó szellőzés esetén a talajba juttatott vízdékony szelenit (+4) só erősebben adszorbeálódik, ezért a növények számára kevésbé felvehető. Idővel a szelenit jól levegőzött talajon, megfelelő körülmények között szelenáttá oxidálódik (*Kádár, 1999; Kádár és Németh, 2003a; Kádár és Németh, 2003b; Széles et al, 2007*).

Vizekben is ez a két forma dominál (*Gómez-Ariza et al., 1998*). Savas pH-jú, levegőtlen talajban a szelenid (-2) az uralkodó forma, mely hidrogén-szelenidként gáz állapotban színtelen, kellemetlen szagú és toxikus, míg vizes közegben savként viselkedik ( $pK_s=3,89$ ). Anaerob, redukáló körülmények között, főképp üledékes kőzetekben található meg az elemi szelén (0) (*Craig, 1986*). Vízben csak nagyon kis mértékben oldódik, alacsony a mobilitása, a növények számára szinte felvehetetlen (*Hurd-Karrer, 1935, White et al., 2004*), azonban az üledék oxidációja során átalakul szelenitté, majd szelenáttá. Erősen kötődik a vashoz, vastartalmú talajokban oldhatatlan komplexeket képez a vashidroxiddal, ezért még nehezebben hasznosítható (*Reilly, 1996*). Az elemi szelén a természetben három fő formában fordulhat elő: kristályos szerkezetű szürke elemi szelén, vörös elemi szelén, és szürke amorf szerkezetű szelén (*Kessi et al., 1999*). Talajokban a két amorf változat található meg, melyek könnyen átalakulnak egymásba. Az amorf szerkezetű vagy monoklin kristályrácsú, nemfémes vörös elemi szelén 30 °C felett könnyen átalakul amorf

szerkezetű szürke szeléné, majd pH-tól és redox viszonyoktól függően vagy továbbalakul a biológiai rendszerekben inert, stabil, hexagonális kristályrácsos szürke elemi szeléné, vagy visszaoxidálódik (Gattow et al., 1964; Geering et al., 1968).

Mivel a szelén talajokban való eloszlása erősen változik a klimatikus viszonyoktól, természetes szubsztrátoktól, növényközösségtől függően, nem meglepő, hogy geográfiai megoszlása nem csak, hogy a Földön nem egyenletes, de egy adott országon belül is hatalmas különbségek alakulhatnak ki, pl.: Kínában (Hartill, 2004). Kolumbiában és Venezuelában kimagaslóan gazdag a talaj szelénben (Haug et al., 2007), szintúgy, mint az USA középső részein, Nebraskában, Wyomingban és Dakotában (Tin Win, 2003) illetve Kaliforniában (Bañuelos et al., 1997), vagy Írország és Wales egyes részein (Fleming, 1962). Ezeken a területeken akár a toxikus szintet is elérheti a szelénkoncentráció. Ezzel szemben több, mint 40 ország taljai szelénben hiányosak, Európában Finnország, Németország, Svédország, Kárpát-medence, Afrikában Zaire, Ázsiában Kína, de Új-Zéland déli része is ide sorolható (Duffield et al., 1999; Haug et al., 2007; Whanger, 2004.) A 1. ábrán látható, hogy Magyarország is a szelénhiányos országok közé tartozik. Azonban egy 1992-es felmérés során (Gondi et al., 1992) kiderült, hogy talajaink szelénkoncentrációja tág határokon belül változik, rendelkezünk szelénhiányos (0,1 mg/kg alatt), szelénrel megfelelően ellátott (1-1,5 mg/kg), és szelénben gazdag (4-5 mg/kg) területekkel is, például a Bükkben.



1. ábra: Vérp plazmában mért szelén a Föld különböző országaiban (Combs, 2005)

### **2.3.2. A szelén előfordulása az élővilágban**

A szelén szervetlen formái mellett fontosak még a szerves kötésben megjelenő formák is, melyek leginkább szeleno-aminosavak, vagy azok származékai, amelyek olyan aminosavak, melyekben a szelén szelenidként van jelen a kén helyett. Az egyik fontos szerves szelénformát, a növényi eredetű szelenometionint (SeMet) sem az emberek, sem az állatok nem képesek előállítani, így ezt csak növényi vagy mikrobiális forrásból tudjuk bevinni a szervezetbe, ahol a fehérjékbe exogén módon épül be (*Suzuki és Ogra, 2002*). Másik fontos szerves szelénforma az állati fehérjékből származó szelenocisztein (SeCys), melynek szelenoproteinekbe való beépülése endogén módon történik.

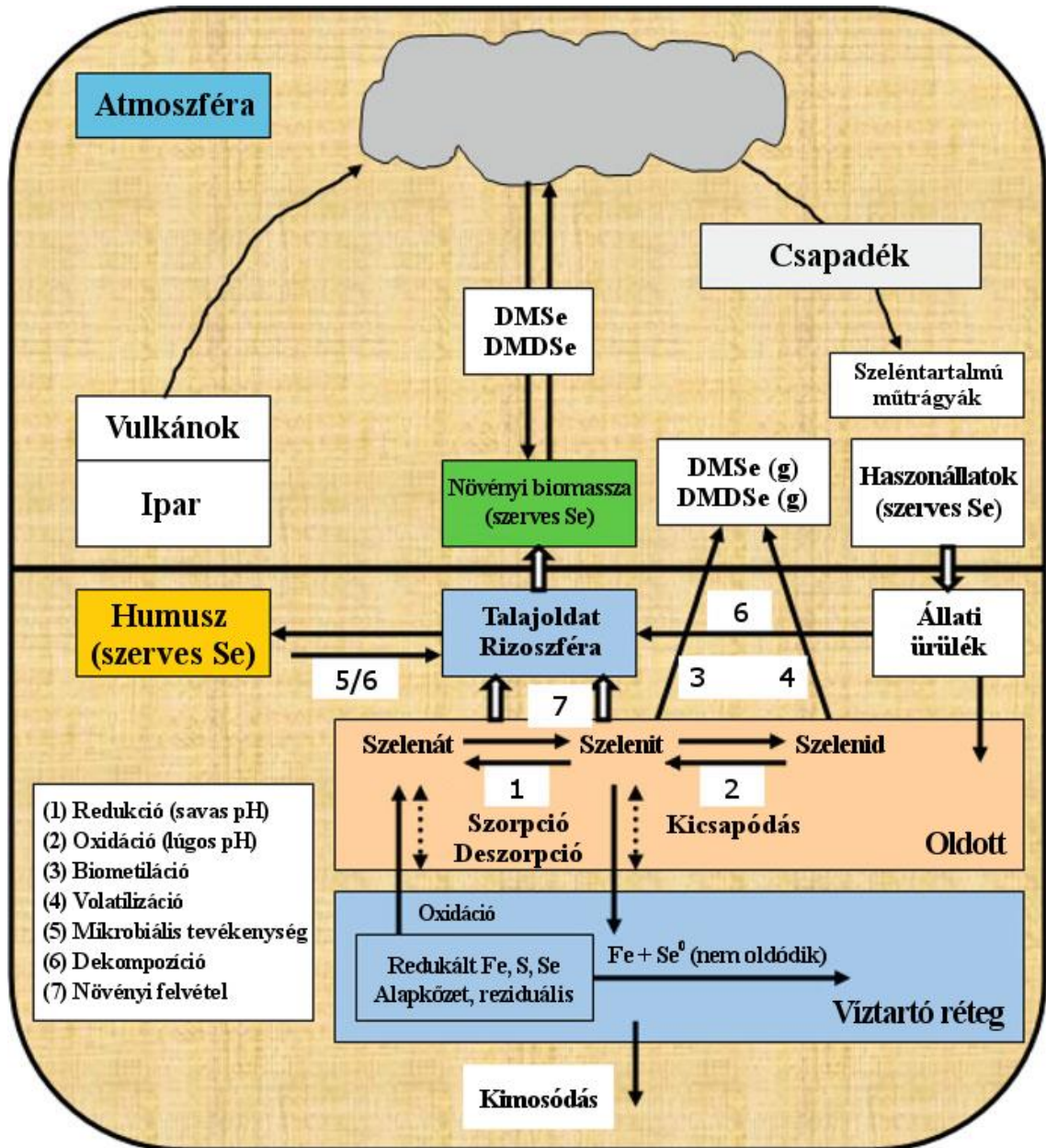
Fontos még megemlítenünk a szelénnel kezelt talajokon termesztett növényekben megjelenő szeleno-metil-szelenociszteint (MeSeCys), illetve glutamil származékát, a  $\gamma$ -glutamil-szeleno-metil-szelenociszteint ( $\gamma$ -MeSeCys)(*Kápolna, 2006*).

A szelén tartalmú fehérjéket három fő csoportra oszthatjuk. Az első csoport, a nem specifikus szelén tartalmú fehérjék esetén a táplálékkal bejuttatott szelenometionin nagy része a szelén metabolikus útba kapcsolódik be, bár a metionin/szelenometionin aránytól függően egy része közvetlenül beépül a metionin helyére, mely esetben a metionin anyagcserébe kapcsolódik be. A második csoport, a specifikus szelén kötésű fehérjék esetében a szelén csak hozzákapcsolódik a molekulához. A harmadik csoport, a szelenoproteinek esetében a felvett szelén a szelénanyagcsere útba kapcsolódik be, és a szelenociszteint genetikailag kódolt formában tartalmazó fehérjét eredményez.

### **2.3.3. A szelén körforgása a környezetben**

A szelén biogeokémiai körforgása a talajjal kezdődik és a talajjal is ér véget. A talajban lévő szelén koncentrációja és formája határozza meg a felvehetőséget és a szelénpótlás szükségességét. Lúgos pH és jó oxigénellátás mellett a szelén szelenát formában van jelen, mely a talajhoz lazán kötődik, így könnyen hozzáférhető a növények számára, ezért ezeken a területeken, ha a csapadék és kimosódás gyenge, magas szelénkoncentrációjú növényeket találhatunk. Alacsonyabb pH-jú talajokban a szelenit forma dominál, mely jobban kötődik a talajszemcsékhez, nehezebben felvehető, így a növények szelénkoncentrációja is alacsonyabb lesz. Mindkét forma vízoldékony, a növények a talajvízből veszik fel őket. A szelén illékony szelenid formája mikrobiális tevékenység során az atmoszférába távozik, de csapadék formájában vissza is kerül a körforgásba.

Ezen folyamatoknak köszönhetően a szelénnek csak egy kis része vesz részt a növény-állat ciklusban (Gissel-Nielsen és Gupta, 2004). A szelén feltételezett körforgását a 2. ábrán láthatjuk (Hassan et al, 2015).

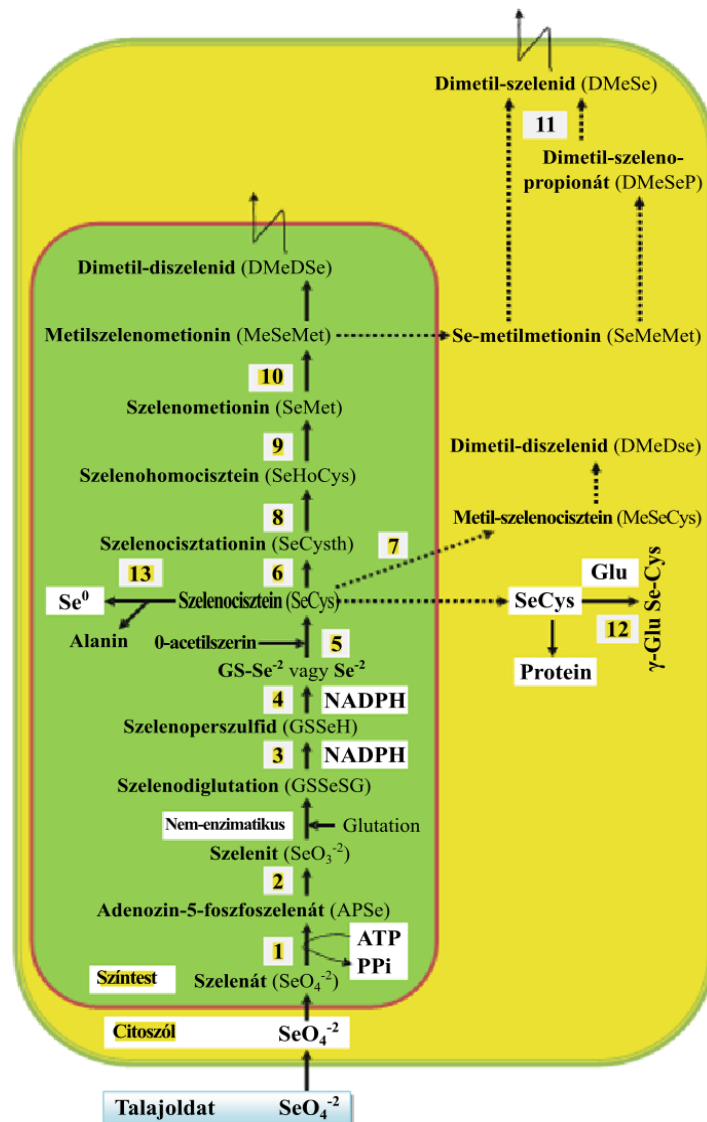


2. ábra: A szelén feltételezett biogeokémiai körforgása (Gissel-Nielsen és Gupta, 2004; Hasanuzzaman et al., 2010; Bailey et al., 2012; Hassan et al, 2015 nyomán)

## 2.4. A szelén szerepe az élettani folyamatokban

### 2.4.1. A szelén metabolizmusa növényekben

Számos kutatás zajlott az elmúlt években a növények szelén felvételét és metabolizmusát vizsgálva (Kádár, 1999; Kovács et al., 2005; Sors et al., 2005b; Simon et al., 2006; Fodor és Kápolna, 2007; Kápolna et al., 2007; Dernoivcs és Lobinski 2008a,b;; Pilon-Smits és Quinn, 2010; Nakamaru és Altansuvd, 2014; Pilon-Smits et al., 2014; Malagoli et al., 2015; Pilon-Smits 2015). Bár a szelén esszencialitása növények számára még nem bizonyított, több módon is metabolizálódik a felvételt követően. (3. ábra).



3. ábra: A növényi szelén metabolizmus általános ábrázolása. A számok az ismert enzimeket jelzik: (1) ATP szulfuriláz, (2) adenosin-5-foszfoszulfát reduktáz, (3) glutation vagy szulfid reduktáz, (4) glutation reduktáz vagy O-acetilszerin tiol liáz, (5) szelenocisztein metiltranszféráz, (6) szelenocisztein liáz, (7) cisztation- $\gamma$ -szintáz, (8) cisztationine- $\beta$ -liáz, (9) metionin szintáz, (10) metionin-metiltranszféráz, (11) DMSP liáz, (12)  $\gamma$ -glutamilcisztein szintetáz. (Parker et al., 2003; Sors et al., 2005b; Pilon-Smits és Quinn, 2010; Lindblom et al., 2012; Yu és Gu, 2013; Pilon-Smits et al., 2014; Winkel et al., 2015; Pilon-Smits, 2015; El-Ramady et al., 2015 nyomán)

A talajban a szelén főként szelenátként és szelenitként van jelen, mindkét formát képesek felvenni a növények. A szelenátot, melyhez könnyebben hozzáférnek, a szulfát-proton ko-transzporterek veszik fel és továbbítják a növényen belül, hiszen a növényekben található összes szulfát transzporter képes a szelenát szállítására (*Maruyama-Nakashita et al., 2004*). A szelenát asszimiláció főként a levél kloroplasztokban történik (*Pilon-Smits és Quinn, 2010*). A szelenát szelenitté történő redukciója tűnik a limitáló lépésnek a szelén asszimilációs folyamatban, hiszen míg a szelenáttal kezelt növények főleg szelenátot raktároznak, addig a szelenittel kezelt növények szerves szelént (*de Souza et al., 2000*). A szelenát szelenitté történő redukciója két enzimen keresztül történik (3. ábra). Először az ATP-szulfuriláz enzim (APS) adenzin-foszfoszelenátot (APSe) alkotva hozzáköti a szelenátot az ATP-hez, majd ezt az APS redukáz enzim (APR) szelenitté redukálja. Mind az APS -nek, mind az APR -nek megtalálhatók az izoenzimjei a kloroplasztban és citoszolban, de a szelenát redukció legnagyobb része a kloroplasztban zajlik (*Pilon-Smits és Quinn, 2010*).

A szelenit szeleniddé való további redukciója kizárólag a kloroplasztban zajlik, ha a szulfít redukáz enzim közvetíti, a szulfít redukcióhoz hasonlóan. Feltételezhető azonban, hogy a szelenitredukcióban a redukált glutation (GSH) által végzett nem enzimátikus redukció is fontos szerepet játszik (*Terry et al., 2000*). A következő, citoszolban, kloroplasztban és mitokondriumban lejátszódó lépés során a szelenidet az OAS tiol-liáz (másnéven cisztein-szintetáz) O-acetilszerinhez köti (OAS), szelenociszteint alkotva. A szerin-acetil-transzferáz enzim által előállított, jelzőmolekulaként működő OAS a szulfát transzporterek és szulfát asszimilációs enzimek aktivitását befolyásolja (*Pilon-Smits et Quinn, 2010*).

A szelenocisztein (SeCys) továbbalakulhat szelenomethioninná (SeMet) és dimetilszeleniddé (DMSe) három enzim közreműködésével (3. ábra). Először a cisztation- $\gamma$ -szintáz (C $\gamma$ S) a szelenociszteint O-foszfohomoszerinhez köti, Se-cisztationint alkotva. A második enzim, a cisztation- $\beta$ -liáz, átalakítja a Se-cisztationint Se-homociszteinné. Ez az első két folyamat a kloroplasztban játszódik. Azonban a harmadik lépés, melynek során a Met szintetáz a Se-homociszteint szelenomethioninná (SeMet) alakítja, már a citoplasztban játszódik. A SeMet többféleképpen is továbbalakulhat, például metil-SeMet-té metilezheti a metitoim-metiltranszferáz.

Az így keletkezett Met-SeMet továbbalakulhat illékony dimetilszeleniddé, melyet a köztitermék dimetilszelenopropionáttól (DMSeP) hasít le a DMSeP-liáz (*Pilon-Smits és Quinn, 2010*).

Fontos itt megjegyezni, hogy mivel a gyökerek a többi szövetrel összehasonlítva sokkal gyorsabban párologtatják el a dimetilszelenidet, a kloroplasztban előállított dimetil prekursorok a levelekből a gyökerekbe kell, hogy szállítódjanak (*Zayed és Terry, 1994*). Amíg a szelén felvételének és szelenociszteinné való alakításának ezen kezdeti lépései megegyeznek a szelén akkumuláló és nem akkumuláló növényekben, addig a metabolikus folyamat következő lépései már nem. A nem akkumuláló növényektől eltérően a szelénakkumuláló növények a szelenociszteint főként nem-fehérje szelenoaminosavakká metabolizálják (*Brown és Shrift, 1982*), úgymint a szelenometil-szelenocisztein (SemethylSeCys), szelenocisztation, és a dipeptid,  $\gamma$ -glutamil-szelenometil-szelenocisztein (*Terry et al., 2000*)(*Reilly, 2006*).

A szelén metabolikus folyamatait magasabb rendű növényekben többen is vizsgálták, pl.: Sors és társai (2005), vagy Pilon-Smits és Quinn (2010). A metabolikus folyamatok megértéséhez, a szelénpótlás kidolgozásához nagyon fontos a növényi szövetekben található szelén speciációja, hiszen az nem csak a növénytől függ, de a növény által felvett szelénformától is. Például a szareptai vagy más néven indiai mustár (*Brassica juncea*) esetén, amíg szelenát bevitel esetén a fő szöveti szelénforma a szelenát, addig szelenites talajon főként SeMet és SeOMet képződik (*Kápolna et al., 2007*). Szelénnel dúsított fokhagyma (*Allium sativum*), vöröshagyma (*Allium cepa*), nyári hagyma (*Allium ampeloprasum*) és brokkoli (*Brassica oleracea*) esetén az összes szelén közel fele SeMeSeCys formában található meg. Gabonafélékben, mint például a közönséges búza (*Triticum aestivum*), árpa (*Hordeum vulgare*) vagy rozs (*Secale cereale*), a szelén 60-80%-a szelenometionin (*Stadlober et al., 2001*). Kiemelkedően magas szelénkoncentráció esetén a speciáció eltérő lehet (*Zhu et al., 2009*).

Mindezek alapján kijelenthetjük, hogy a növényi szelén metabolizmus kiemelkedően fontos az emberek és állatok szelénellátásában. A szelén és kén hasonlósága miatt a növények a kén transzportereket és folyamatokat használva veszik fel és alakítják át a szelént, és bár a magasabb rendű növények számára nem esszenciális a szelén, a felvételt követően szerves vegyületekké alakítják a kénasszimilációs enzimek.

#### 2.4.2. A szelén metabolizmusa gerincesekben

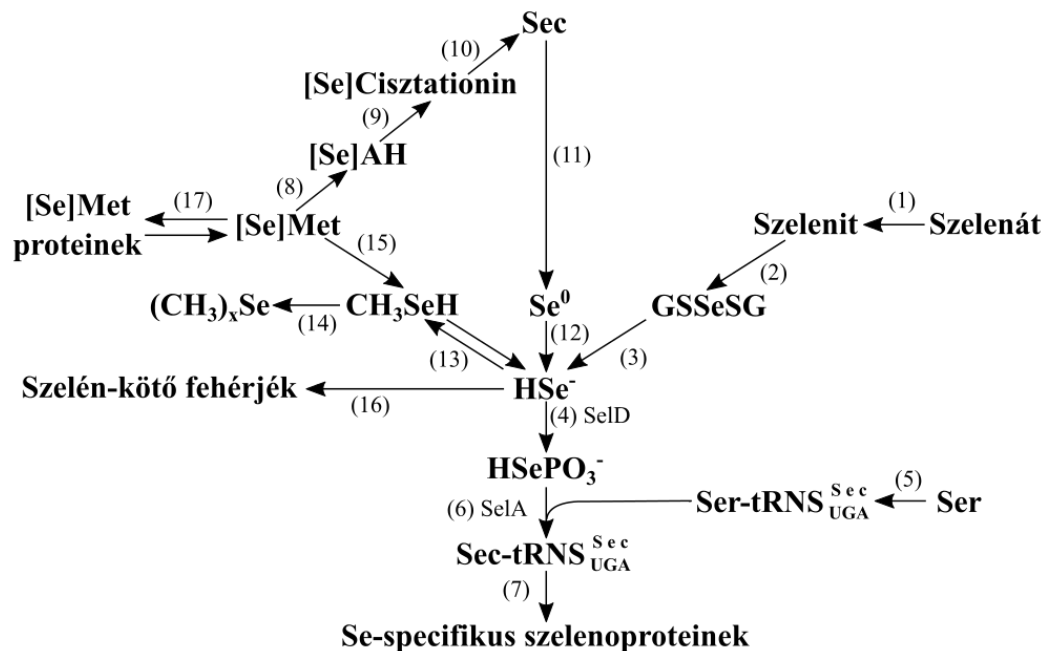
Az állatok táplálkozásuk során a szelént szerves formában, főként szelenometioninként veszik magukhoz, szelénpótlás esetén a takarmánykiegészítéshez alkalmazott formával, főleg szerves szelénsókkal kiegészítve. Nem meglepő azonban, hogy a szerves és szerves szelén egymástól eltérő módon szívódik fel. Míg a szerves formák közül a szelenit egyszerű diffúzióval abszorbeálódik a bélben, addig a szelenát a nátrium ionokkal aktív ko-transzporttal szívódik fel a csípőbélben. Míg a szulfát kompetitíven gátolja a szelenát felszívódását, addig a szelenitre nincs hatással (Wolffram *et al.*, 1986). A szerves formák közül a szelenometionin a vékonybélben szívódik fel a  $\text{Na}^+$ -dependens semleges aminosav transzportrendszer segítségével, mely a metioninnal közös, így kompetitív gátlást figyelhetünk meg a metionin-szelenometion között. A szelenocisztein hasonlóan szállítódik, a bázisos aminosavak hordozómechanizmusát használva, a ciszteinnel, lizinnel és argininnel kompetitíven (Wolffram *et al.*, 1989a,b).

A szelenit, szelenát, szelenometionin és szelenocisztein oldott formái kísérleti körülmények között hatékonyan szívódnak fel a bélben (Levander, 1986), azonban az emésztési folyamat szeszélyei és a takarmány összetevői miatt a ténylegesen felvett szelén mennyisége lecsökken. A szerves formák felvételénél olyan akadályozó tényezőket kell figyelembe venni, mint például a takarmányban vagy ivóvízben lévő vas, kén, fitátok és antioxidánsok.

A takarmányban hozzáférhető szelenometionin felvétele nagyban függ a forrás emészthetőségétől, mely mind az állat fajától, mind a szeléntartalmú összetevő tulajdonságaitól, mind a táplálkozás minőségétől függ. Általánosságban elmondható, hogy az emelt szeléntartalmú élesztőben, búzában, takarmánylucernában található SeMet a legkönnyebben hozzáférhető, más növények esetén már korlátozottabb, míg a húsookban és hallisztben található szelén, mely nem biztos, hogy SeMet formában van jelen, már nehezen felvehető az állatok számára (Combs és Combs, 1986).

A felvételt követően a szelén felhasználódik a szelenoproteinek szintéziséhez, elraktározódik, vagy kiürül. Bár a szerves és szerves szelénformák metabolikus sorsa eltérő, szelenoprotein szintéziséhez való felhasználásukhoz először hidrogén-szelenidde ( $\text{H}_2\text{Se}$ ) kell alakulniuk (Daniels, 1996)(4. ábra). A szelenát először szelenitidé redukálódik, majd szelenodiglutation képződést követően tovább alakul szelenididé (Foster és Sumar, 1997). A szelenometionin adenilációt és demetilézést követően szelenociszteinné alakul, szelenohomociszteinen és szelenocisztation keresztül, a

metioninhoz hasonlóan (Schrauzer, 2000). A szelenometionin aktiválásában piridoxin-függő enzimek is részt vesznek, így a szervezet B<sub>6</sub> vitamin ellátottsága és a szelenometionin metabolizmus közötti kapcsolat nyilvánvaló. A szelenocisztein a májban szerinné és szeleniddé bomlik (Schrauzer, 2000), majd a létrejött szelenid vagy felhasználódik a szelenoproteinek szintéziséhez, vagy metilálódást követően kiválasztódik. A kiválasztás során a szelén egy kis része dimetilszelenidként a tüdőn keresztül kilégzéssel, nagyobbik része trimetilszelenonium-ion formájában a vizelettel ürül a szervezetből (Brody, 1994). Az átalakulás folyamatát a 4. ábrán láthatjuk.



4. ábra: Szelenmetabolizmus gerincesekben (Sunde, 2003):

- 1: APSe redukció, 2: nenzimatis redukció GSH-val, 3: glutathion-reduktáz, 4: szelenofoszfát-szintáz, 5: szeril-tRNS szintáz, 6: szelenocisztein-szintáz, 7: szelenocisztein transzlációs inzerció, 8: transzmetilációt követő Se-adenozil-homocisztein képződés, 9: cisztationin  $\beta$ -szintetáz, 10: cisztationin  $\gamma$ -liáz, 11: szelenocisztein liáz, 12: nenzimatis redukció GSH-val, 13: S-metiltranszferáz, 14: tioéter S-metiltranszferáz, 15: transzaminálást követő metil-szelenol képződés, 16: szelenid feltételezett kötése a fehérjékhez, 17: tRNS<sup>Met</sup> szelenometionin acilációja majd AUG kodon által irányított beépülése

### 2.4.3. Szelenoproteinek és szelén tartalmú fehérjék, szelénraktározás

A szelenoproteinek és szeléntartalmú fehérjék olyan fehérjék és enzimek, melyek a szelén kéntartalmú aminosavakba történő beépülésével keletkezett szelenometionint vagy szelenociszteint tartalmaznak. Fontos különbség azonban, hogy míg a szeléntartalmú fehérjék külső forrásból származó szelenociszteint vagy szelenometionint tartalmaznak, addig a szelenoproteinekbe csak szervezetben belül képződött szelenociszteint tud közvetlenül beépülni (Levander és Burk, 1996). Az emlősökben feltételezett 100 szelenoproteinből 30-at ismerünk, melyből 15 jól meghatározott biológiai funkcióval bíró fehérjét már sikeresen izoláltak és klónoztak (Brown et al., 2001; Kyriakopoulos és Behne, 2002). A 2. táblázatban láthatjuk a fontosabb szelenoproteinek tulajdonságait.

2. táblázat: Fontosabb szelenoproteinek és tulajdonságaik (Kasaikina et al., 2012)

Szelenoprotein	Lokalizáció	Funkció
15 kDa szelenoprotein (Sep15)	ER	–TRx-hez hasonló gomboly –ER stresszszabályozza –Interakció az UDP-glükóz:glikoprotein glükózttranszferázzal –Potenciálisan részt vesz a glikoprotein hajlításban
Jodotironin-dejodináz 1 (DI1, Dio1)	Plazma membrán	–T4 külső gyűrűjéből eltávolítja a jódot, T3 plazmát létrehozva –dejodináció katalizátora, T3 inaktiválás
Jodotironin-dejodináz 2 (DI2, Dio2)	ER	–T4 átalakítása T3-á lokálisan a szövetekben
Jodotironin-dejodináz 3 (DI3, Dio3)	Plazma membrán	–T4 dejodinációja T3-á a perifériás szövetekben
Glutathion peroxidáz 1 (GPx1)	Citoszol	– H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> GSH-dependens detoxifikációja (máj, vese, vörösvérsejt)
Glutathion peroxidáz 2 (GPx2)	Citoszol	– H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> GSH-dependens detoxifikációja (tüdő és bélrendszer epitéliumában)
Glutathion peroxidáz 3 (GPx3)	Plazma	– H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> GSH-dependens detoxifikációja (főként a vese állítja elő, és a plazmába ürül)
Glutathion peroxidáz 4 (GPx4, PHGPx)	Citoszol Mitokondrium Sejtmag (herékben)	–citoszolikus, mitokondriális, magi izoforma –lipidvédelem H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> oxidáció ellen
Glutathion peroxidáz 6 (GPx6)	Citoszol	– H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> GSH-dependens detoxifikációja (szagló hám)
Szelenoprotein H (SelH)	Sejtmag	–TRx-hez hasonló gomboly –védi a sejteket a H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ellen, segíti a mitokondriális biogenezist és CytC termelést
Szelenoprotein I (SelI)	Membrán	–ismeretlen funkció
Szelenoprotein K (SelK)	ER membrán	–Ca <sup>2+</sup> szabályzás, mely hatással van az immunsejtekre –ERAD komponens
Szelenoprotein M (SelM)	ER	–Trx-hez hasonló gomboly –neuronok oxidatív stressz elleni védelme

2. táblázat (folytatás)

Szelenoprotein N (SelN, SEPN1, SelN1)	ER membrán	–expresszió: vázizmok, szív, tüdő, placenta –intracelluláris kalcium-felszabadítási csatorna redox állapotának irányítása (ryanodine receptor (RyR)), Ca <sup>2+</sup> homeosztázis befolyásolása –SelN gén mutációi veleszületett miopátiát eredményeznek
Szelenoprotein O (SelO)	Mitokondrium	–ismeretlen funkció
Szelenoprotein P (SelP)	Plazma	–Se transzport a periférikus szövetekbe –antioxidáns funkció
Szelenoprotein R (SelR, MsrB1, Selx1)	Citoszol	–fehérjékben található metionin-szulfoxid maradványok redukálása metioninná
Szelenoprotein S (SelS, SEPS1, Tanis, VIMP, és SELENOS)	ER membrán	–gyulladásai citokinek és glikózhány esetén megnövekedett termelés –ERAD komponens
SPS2	Citoszol	–selenofoszfát-szintézis
Szelenoprotein T (SelT)	ER és Golgi	–Trx-hez hasonló gomboly –redox szabályozás –sejtadhéziós szerep
Tioredoxin reduktáz 1 (TR1, Txnrd1)	Citoszol	–citoszolikus tioredoxin oxidált formájának redukciója –legalább 6 különböző izoforma melyek az N-terminális szekvenciában különböznek
Tioredoxin / glutation reduktáz (TGR, TR2, Txnrd3)	Citoszol	–van egy glutaredoxin doménje –tioredoxin és glutaredoxin rendszerek különböző reakcióinak katalizálása –expresszió: spermaticidok
Tioredoxin reduktáz 3 (Txnrd2, TR3)	Mitokondrium	–mitokondriális tioredoxin és glutaredoxin oxidált formáinak redukciója
Szelenoprotein V (SelV)	Citoszol	–TRx-hez hasonló gomboly –ismeretlen funkció –expresszió: spermaticidok
Szelenoprotein W (SelW)	Citoszol	–TRx-hez hasonló gomboly –ismeretlen funkció –expresszió: vázizmok és egyéb szövetek

A szelén minden emberi szövetben megtalálható szeleno-triszulfid formában, a májban és izmokban az össz-szeléntartalom 30%-a, a vesében 15%-a, a vérplazmában pedig 10%-a található (Reilly, 2006). A vérplazma albumin frakciójában és eritrocitákban megtalálható szelénen kívül (Ganther, 1986) az agyi fehérjék szelenometionin mennyisége is jelentős (Gronbaek és Thorlacius-Ussing, 1992). Szervezetünk szelénraktára két részből tevődik össze: a fehérjékbe épült SeMet raktár, és a szelenoproteinekben levő SeCys raktár. A bevitt szelén formájától függ, hogy melyik raktárba kerül, hisz míg a bevitt SeMet a metionint helyettesítve a könnyebben hozzáférhető, szelénhiány esetén először ürülő, szeléntartalmú fehérje raktárba is kerülhet, addig a SeCys vagy szerves szelénformák csak a sokkal erősebben szabályozott szelenoprotein raktárban köthetnek ki (Levander és Burk, 1996). Szervezetünk a szelént csak korlátozott mértékben képes tárolni, ezért kiemelkedően fontos a folyamatos és megfelelő bevitel.

#### 2.4.4. A szelén emberre gyakorolt pozitív hatásai

Az irodalmi áttekintés során már említettem, hogy a szelént egészen 1957-ig mérgező és karcinogén anyagnak ismerték, mely nézet a későbbi kísérletek során nem csak, hogy megdőlt, de egyenesen az ellentettjére fordult, hisz kiderült, hogy eme esszenciális mikroelem tumorelles tulajdonsága mellett számos pozitív és nélkülözhetetlen hatással is rendelkezik. Ezek közül az első, és talán a legfontosabb az antioxidáns védekezésben betöltött kulcsfontosságú szerepe, hisz a szelenoproteineknél már bemutatott, hidrogén-peroxidot és más szerves hidroperoxidokat elimináló glutathion-peroxidáz enzimek aktív centruma. Továbbá a megfelelő szelénbevitel nélkülözhetetlen az immunrendszer megfelelő működéséhez, hisz a szelén nem csak, hogy segíti a fehérvérsejtek adhézióját, migrációját (*Huang et al., 2012*), a B-sejtek patogénfüggő antitest-termelését és a T helper sejtek differenciációját, de gátolja a HIV-1 vírus AIDS-é alakulását, vírusellenes hatását pedig már a korábban említett Coxsackie víruson (*Cermelli et al., 2002*) és Hepatitis C víruson (*Mukherjee et al., 2014*) is bizonyították. A szeléntartalmú dejodináz enzimek aktiválják a pajzsmirigyhormonokat, a szelénkezelés hatására fokozottan expresszált CatSper gén pedig javítja a spermiumok mobilitását, életképességét (*Mohammadi et al., 2009*). Így elmondhatjuk, hogy a szelén anyagcserénkben és fertilitásunkban is fontos szerepet játszik. Antikarcinogén tulajdonságát számos tanulmány vizsgálja, akár a szelenometionin mell-, prosztatata- és a bőrrák ellenes hatásáról (*Redman et al., 1997*), akár a GPX-1 enzim UV-sugárzás okozta DNS lánctörések gátlásáról van szó. Szintén a GPx-1 enzimhez köthető, a hiánya miatt kialakuló, az ér és szív struktúrális abnormalitásához vezető érbelhártya diszfunkció. A megfelelő szelénbevitellel emelhető a vér HDL-szintje, csökkenthető egyes kardiovaszkuláris megbetegedések rizikója (*Cominetti et al., 2012*), és elkerülhető a szelénhiány esetén fellépő, egyes szívbetegségekből való lassabb felépülés. Végül meg kell említeni a szelén obezitás elleni hatását is, hisz a vér koleszterin-, triglicerid-, LDL- és glükózsintjének csökkentésével segít az elhízás elkerülésében, bár ezt még csak patkányokon bizonyították (*Kim et al., 2012*).

## 2.5. Szelénhiány, szelénpótlás, szelénmérgezés

### 2.5.1. Ajánlott szelénbevitel, szelénhiány

A szelént nem véletlenül illetik „esszenciális mérreg” jelzővel, hiszen napi ajánlott mennyisége (RDA) és legmagasabb tolerálható mennyisége (UL) igen közel esik egymáshoz, így mikor táplálék-kiegészítővel viszünk be szelént, különösen oda kell figyelniük a bevitt szelén formájára és mennyiségére. A 3. táblázatban láthatjuk a szelén napi ajánlott és legmagasabb tolerálható mennyiségét, szelénre vonatkoztatva (Ungvári, 2015).

3. táblázat: Szelén RDA és UL életkoronként (Ungvári, 2015)

Kor	Férfi (µg)		Nő (µg)		Terhesség (µg)		Szoptatás (µg)	
	RDA	UL	RDA	UL	RDA	UL	RDA	UL
6 hónapos korig	15	45	15	45				
7-12 hónap	20	60	20	60				
1-3 év	20	90	20	90				
4-8 év	30	150	30	150				
9-13 év	40	280	40	280				
14-18 év	55	400	55	400	60	400	70	400
19-50 év	55	400	55	400	60	400	70	400
51 év felett	55	400	55	400				

Az elégtelen szelénbevitel, mely legalább 0,5-1 milliárd embert érint világszerte (Combs, 2001), a glutation-peroxidáz enzimek működési zavarához és szabadgyök felhalmozódáshoz, oxidatív stresszhez vezet, mely számos betegség rizikófaktora lehet, mint például a Kína szelénhiányos tartományáról elnevezett kardiomiopátiás Keshan-kór. Továbbá a szelén szervezetben betöltött funkciói alapján könnyű felismerni, hogy a szelénhiány számos súlyos tünehez vezethet, mint például a csont és ízületi megbetegedéssel járó Kashin-Beck kór, endemikus kretinizmus, vagy a férfiak terméketlensége. Mint már korábban említettük Magyarország is a szelénhiányos országok közé tartozik, a vérplazmában mért szelén 50 µg/l koncentrációja jóval az optimális 90 µg/l érték alá esik (Cser et al., 1996).

### 2.5.2. Szelénpótlás

Az emberi szervezet számára kiemelkedően fontos a megfelelő mennyiségű és minőségű, folyamatos szelénbevitel. Mikor a minőségről beszélünk, természetesen leginkább a bevitt szelén formáját értjük alatta. Ha megvizsgáljuk a táplálékláncban megtalálható természetes szelénformákat láthatjuk, hogy növények esetén, míg a zöldségek és gabonafélék szeléntartalma a talajból felvehető szelén mennyiségétől függ, és ebből adódóan általában alacsony ( $<0.01$  mg Se / kg), addig a szezám-mag és a brazílió (*Palmer et al., 1982*) nagy mennyiséget tartalmaz (0,43 és 19,1 mg/kg). Ennél is jobb szelénforrás az állati hús és belsőség, hiszen például marhahús esetén a húsban 0,2 mg/kg, a szívben 0,55 mg/kg, a májban 0,93 mg/kg és a vesében 4,5 mg/kg szelén található (*Juniper et al., 2008*). Rákok és halak esetén a szelén koncentrációja 0,1 – 5,0 mg/kg az USA-ban (*Fairweather-Tait et al., 2010*), a tökehal, cápa és tonhal vezetéseivel (1,5 , 2,0 és 5,6 mg/kg). Fontos megjegyezni, hogy a halak húsában a hal fajtától és az összszelén-koncentrációtól függően a szelenometioninon kívül (29-70%) szelenit és szelenát is található (12-45%) (*Rayman et al., 2008; Fairweather-Tait et al., 2010*).

Ezen természetes szelénforrásokon túl a szelénhiányos területeken szükséges a mesterséges szelénpótlás, étrend kiegészítők és funkcionális élelmiszerek formájában. A legegyszerűbb formája a szelenittel/szelenáttal történő pótlás vagy konyhasóhoz keverve (Kína egyes tartományai), vagy tablettá, kapszula formában. Bár ez egy költségkímélő szelénpótlási forma, azonban a szerves szelénformák rossz biológiai hasznosulása és könnyű túladagolhatósága miatt távol áll az ideális megoldástól.

A szerves tablettákhoz képest sokkal jobb megoldás, és emiatt a leginkább elterjedt, a szelénrel dúsított élesztő, melynek előállítása során a szerves szelenitet az élesztő (*Saccharomyces cerevisiae*) aerob fermentációs folyamatának felhasználásával szelenometioninné alakítatják (*Polatajko et al., 2004*), majd a kiszárított terméket a humán szelénpótláson túl takarmányozási célokra is felhasználják. Ilyen termék például az amerikai AllTech cég „SelPlex” nevű takarmánykiegészítője, melyet sokszor használtunk összehasonlítási célokra kísérleteink során. A takarmány szeléndúsítására olcsósága miatt főként szerves szelénsókat használnak, azonban a szelenizált élesztő sokkal alkalmasabb erre a feladatra is. Az emelt szeléntartalmú takarmány segítségével előállított funkcionális élelmiszerek, mint a szelénben gazdag tojás (*Fisinin et al., 2008*), tej és a csirke-, sertés-, marhahúsok szintén ideális formái a szelénpótlásnak.

A növényeket is felhasználhatjuk szelénpótlásra, bár a legtöbb növény, mint pl. a paradicsom, burgonya, uborka, répa, káposzta a nem-akkumuláló csoportba tartoznak, és még emelt szeléntartalmú talajon sem haladják meg a 10 mg/kg szelénkoncentrációt. Ezért erre a feladatra a szelént nagy mennyiségben raktározni képes akkumuláló növényeket használhatjuk, melyek funkcionális élelmiszerekként való felhasználásukon túl akár szelénnel szennyezett területek tisztítására, azaz fitoremediációra is alkalmasak (Bañuelos et al., 2005; Simon et al., 2006; Simon et al., 2007). Normál szelén ellátottság esetén a növényekben a szelenocisztein és a szelenometionin a predomináns forma (Whanger 2002), és míg emelt szeléntartalmú talajon nevelve a búza (Olson et al., 1970), kukorica, rizs (Beilstein et al., 1991), szójabab (Yasumoto et al., 1984) és káposzta (Rayman et al., 2008) továbbra is szelenometionint tartalmaz, addig a zöldségfélékben (Cai et al., 1995; Shah et al., 2004), brokkoliban (Cai et al., 1995; Abdulah et al., 2009) és fokhagymában (Ip et al., 2000) metil-szelenocisztein keletkezik. Fokhagyma esetén, ha a felvett szelén koncentrációja nem ér el egy bizonyos szintet, a  $\gamma$ -glutamil-szeleno-metil-szelenocisztein a jellemző forma, csak magasabb koncentráció esetén változik metil-szelenociszteinre. Összességében elmondható, hogy a szelénben gazdag, növényi eredetű funkcionális élelmiszerek, ha úgy tetszik funkcionális zöldségek, szintén ideális formái a szelénpótlásnak.

### 2.5.3. Szelénmérgezés

A szelénhiány esetén már megemlítettem, hogy a napi ajánlott mennyiség (RDA) és a legmagasabb tolerálható mennyiség (UL) igen közel esik egymáshoz (3. táblázat), így szelénformától függően -felelőtlen szelénpótlás esetén- könnyen szelénmérgezés léphet fel. Az akut szelénmérgezés tünetei mellett, melyek arcpír, hajhullás, feledékenység, izomgyengeség, tremor, szív- és érrendszeri károsodások, tüdőelégtelenség, veseelégtelenség, ritka esetben halál, hosszan tartó krónikus mérgezés esetén fokhagymaszagú lehetetet, a haj és köröm deformálódását, bőrkiütéseket, hányingert, hányást, szédülést figyelhetünk meg, melyek pl. brazílió rendszeres, nagy mennyiségű fogyasztása esetén fordulhatnak elő.

## **2.6. A szelén előállítása, ipari felhasználása**

### **2.6.1. Szelénbányászat, szervesetlen szelénformák**

A szelén környezeti körforgásába kerülésének fő forrása a bányászat. A szelént nem specifikusan bányásszák, hanem más fémek, pl. ólom, de főként réz finomításának, vagy a kénsav gyártásának mellékterméke (*Johnson et al., 2010*). Éppen ezért a szelén készlete szorosan kötődik a réz- és kisebb mértékben a nikkelszelénhez. A világ szeléntermelésének nagy részét Japán, USA és Kanada adják, de Finnország, Ausztrália, Peru, Zambia, Belgium, Oroszország, Kína és más országok is hozzájárulnak. Éppen ezért nehéz összesíteni a világ szeléntermelését, hiszen a körülbelül 80 rézfinomító csak egy része jelenti pontosan a termelt szelén mennyiségét. A bányászat mellett meg kell említeni a másodlagos szeléntermelést, melynek során a régi elektromos hulladékból és fénymásolókból kinyert szelén az össztermelés körülbelül 15%-át teszi ki. A finomítás és újrahasznosítás során kinyert szelén számos formában hozzáférhető az ipar számára, a nátrium-szeleniten és szelenáton túl, vas- és nikkelszelenid, kadmium-szulfoszelenid, szeléndioxid és szelén-dietildithiokarbamát is forgalomba kerül (*Reilly, 2006*). A szelén átlagos ára 2015-ben 60 \$/kg körül mozgott, ami 75%-os visszaesés a 2011-es 177,7 \$/kg –os csúcsához képest. A világ szeléntermelésének legnagyobb részét Kína elektrolitikus mangányártása használja fel, mely 2015-ben a korábbi évekhez hasonlóan a maximális kapacitás 40%-án működött, és melynek során a szelén adalékként való alkalmazásával javítják az előállított mangán minőségét.

### **2.6.2. Szelenizált élesztő, SelPlex**

A szelénpótlásra az egyik legalkalmasabb forma a főként szelenometionin tartalmú szelénrel dúsított élesztő. Előállítása során a kiindulási szelénforma lehet az olcsóbb szervesetlen Na-szelenit, nátrium-hidrogén-szelenit és szelenát, vagy valamilyen költségesebb szerves szelénforma, mint a L-szelenometionin. A dúsítást követően az élesztő szeléntartalma elérheti a 3000 mg/kg értéket is, melynek legnagyobb hányada szelenometionin formájában, kis mennyiségben metil-szelenocisztein formájában van jelen az élesztő fehérjében (*Kotrebai et al., 2000*).

A dúsításhoz használt kiindulási szelénformán kívül az élesztőtörzsnek, és a főként cukorrépa- vagy cukornádmelász-alapú tápközeg összetételének is fontos szerepe van, hiszen ezektől függ a késztermék biológiai hasznosulásának határfoka. Az aerob fermentációs folyamat végén pasztörözéssel elpusztítják az élesztő sejteket, majd a létrejött szerves szelénben dús masszát porlasztva megszárazítják.

Az így létrejött terméket humán fogyasztáson kívül egyre gyakrabban használják takarmányozási célokra is.

Ilyen szelénrel dúsított élesztő alapú takarmánykiegészítő az amerikai AllTech cég által gyártott, CNCM I-3060 élesztőtörzset használó SelPlex is, mely 3 éves kutatást követően, 2000-ben került forgalomba az USA-ban (Edens, 2001). Napjainkra az AllTech a világ legnagyobb szelenizált élesztőt gyártó cégévé nőtte ki magát, termékeik mindenhol megtalálhatóak. SelPlex termékük két különböző koncentrációban elérhető, a 600 mg/kg szelént tartalmazó Sel-Plex 600 Selenium 25 kilós kiszerelésben 101 \$, míg az 1000 mg/kg szelént tartalmazó Sel-Plex 1000 Selenium szintén 25 kilós kiszerelésben 169 \$.

### 2.6.3. Nanoméretű elemi szeléngömbök

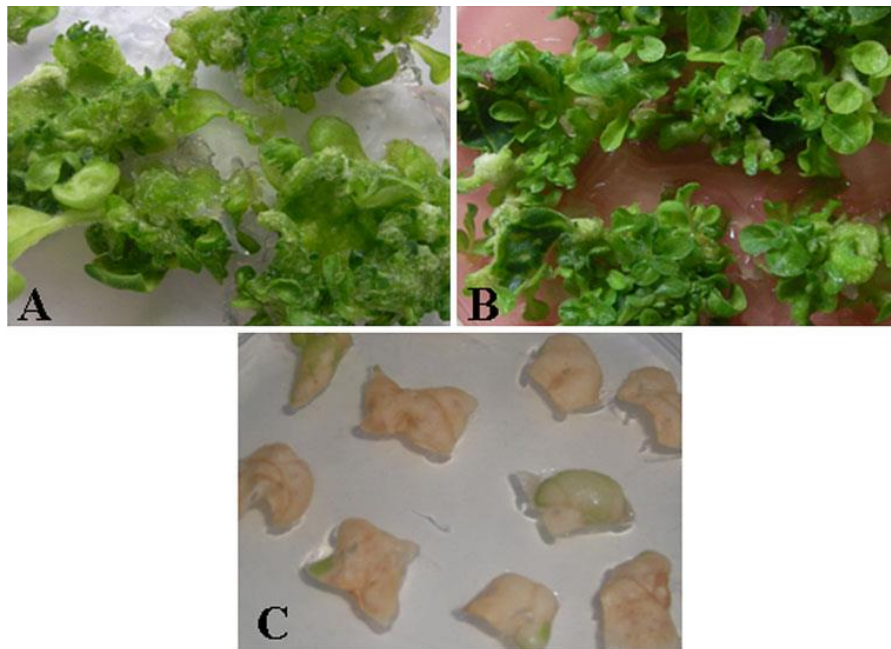
Már régóta ismert, hogy bizonyos talajlakó baktériumok védekezési mechanizmusuk részeként nanoméretű vörös elemi szelént állítanak elő, és raktároznak a sejtfalon belül (Garbisu et al., 1995; Tomei et al., 1995). Az előállított nanorészecskék mérete és a szelénatomok elrendeződése nagyban függ a fajtól, mint az a *Sulfospirillum barnesii*, *Bacillus selenitireducens* és *Selenihalanaerobacter shriftii* fajok közötti összehasonlító vizsgálatból is kiderült (Oremland et al., 2004). A talajlakó baktériumokhoz hasonlóan az élelmiszeriparban használatos törzsek is képesek a redukációs folyamatra, mint például a joghurtgyártáshoz használt *Lactobacillus acidophilus*, mely  $200\pm 20$  nm-es vörös elemi nanoszelén gömböket állít elő és raktároz a sejten belül (Prokisch és Zonmara, 2008). Ezeket a nanoszelén gömböket savas feltárással ki tudjuk nyerni, majd vizes szoljukat szelénpótlásra használni. Ennek a technológiának a kidolgozása, a forgalomba vonható termék kifejlesztése, majd viselkedésének vizsgálata volt többek között a feladatomban.

Kémiai redukcióval is lehetséges az elemi szelén előállítás, mint azt számos kutatás is bemutatta (Gates et al., 2002; Gao et al., 2002; Nandhakumar et al., 2001; Abdelouas et al., 2000; Mees et al., 1995). Aszkorbinsav és poliszacharidok segítségével 10 nm-es részecskék (Zhang et al., 2004), marhaszérum-albumin (BSA) segítségével pedig 5-100 nm-es vörös elemiszelén-részecskék állíthatók elő (Huang et al., 2003). Paprikából készült extraktum segítségével pedig 80 nm átmérőjű tömör, vagy 160 nm átmérőjű, 10 nm falvastagságú üreges elemi szeléngömböket lehet előállítani (Li et al., 2007).

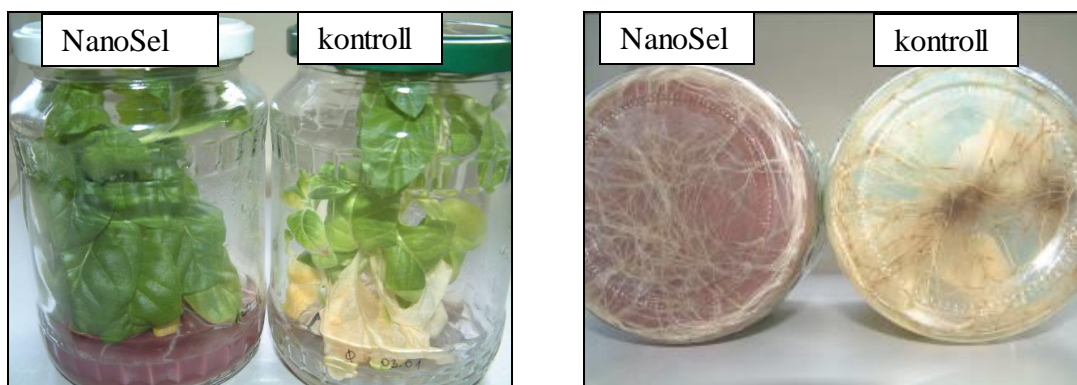
A nanoszelén előnyeit elsőként állatkísérletekben igazolták, patkányokkal végzett kísérletükben Zhang és társai bemutatták a nanoszelén szelenithez viszonyított

alacsonyabb toxicitását, azonos felvehetőség és antioxidáns-kapacitás mellett (Zhang *et al.*, 2001). Szelenometioninnal összehasonlítva is sokkal kisebb toxicitás és nagyobb antioxidáns-kapacitás jellemzi (Wang *et al.*, 2007) ezt a formát.

Domokos-Szabolcsy (2011) doktori disszertációjában leírta, hogy *in vitro* rendszerben az általunk előállított nanoméretű elemiszelén-részecskéket tartalmazó szorból készített táptalajon fejlődő dohány kalluszokban, illetve regenerálódó növények gyökér és hajtás részében a teljes szelénkoncentráció megnőtt a kontrollhoz viszonyítva. Ezzel együtt a szorb tartalmazó táptalajon (100 mg/kg) pozitív biológiai hatások voltak megfigyelhetők úgymint a hiperhidricitás gátlása kallusztenyészetekben; gyorsabb, erőteljesebb gyökérképződés; illetve a tenyészetek később kezdtek öregedni (5-6. ábra) (Domokos-Szabolcsy *et al.*, 2012).



5. ábra: Dohány kalluszképzés különböző szelénkezelt táptalajokon  
(A: kontrol, B: 100 mg/kg NanoSe, C: 100 mg/kg szelenát)  
(Domokos-Szabolcsy *et al.*, 2012)



6. ábra: Kontroll és 100 mg/kg NanoSel-t tartalmazó táptalajon nevelt, azonos korú dohánynövény leveles hajtása és gyökérrendszere  
(Domokos-Szabolcsy et al., 2012)

#### 2.6.4. Ipari felhasználás

2015-ben a világ szelénfelhasználása a következőképpen alakult: kohászat 40%, üvegyártás 25%, mezőgazdaság 10%, vegyszerek és pigmentek 10%, elektronikai cikkek 10%, egyéb felhasználás 5%.

Legnagyobb része a kohászatban használódik fel, vashoz, rézhez, mangánhoz, acélötvözetekhez adva adalékanyagként javítja azok öntvényezési, mechanikai, formálhatósági tulajdonságait, már nagyon kis mennyiségekben is (0,02 tömegszázalék). Ivóvíz vezetékhez bizmuttal alkotott ötvözetét használják az USA-ban, hisz egy 1996-os törvény óta azok nem tartalmazhatnak ólmot. Üvegyártáshoz való felhasználása során a vas okozta zöld elszíneződés megszüntetésében és a vörös szín előállításában (Holmes, 1947) van szerepe. Mezőgazdaságban a már korábban említett szelénpótlásra használják, különböző formában. A kadmium-szulfoselenid elegyek remekül használhatóak a vörös, narancs és gesztenyebarna színek széles skáláját lefedő színezőanyagokként műanyagokhoz, porcelánokhoz és festékekhez, hiszen ellenállnak az UV és kémiai hatásoknak. A szelén elektronikai cikkekben való felhasználása kezd a háttérbe szorulni, mert bár napelemekben, TV kamerákban, fénymérőkben továbbra is alkalmazzák (Schuyler, 2015), a korábban legnagyobb részt felhasználó, fénymásolókból található szelén alapú fotoreceptorokat leváltották a szerves fotoreceptor elegyek (OPC). Egyéb felhasználási területei közé tartoznak például a naptejek vagy korpásodás elleni samponok.

### 3. ANYAG ÉS MÓDSZER

Munkám 5 részre osztható:

1. Tisztított nanoméretű elemi szeléngömböket tartalmazó monodiszperz szelén szol előállításának kidolgozása és analitikai vizsgálata
2. Liofilizált nanoméretű elemi szeléngömböket tartalmazó joghurtpor előállításának kidolgozása és homogenitásvizsgálata
3. Nanoszelén vizsgálata vizes közegben
4. Nanoszelén vizsgálata a talajban
5. Nanoszelén vizsgálata növényekben
6. Nanoszelén vizsgálata állatokban

A könnyebb áttekinthetőség érdekében a felhasznált anyagok és módszerek áttekintésénél is ezt a csoportosítást követem, a megszokott kísérleti beállításmintaelőkészítés-mérési módszerek felosztástól eltérően.

#### 3.1. NanoSel nanoméretű elemi szelént tartalmazó tisztított monodiszperz szelén szol előállítása

Munkám ezen részében a nanoméretű elemi szelént tartalmazó tisztított monodiszperz szelén szol (NanoSel) gyártási módszerének kidolgozása volt a feladatom. Bár maga az előállítási módszer kidolgozása is eredménynek minősül, az Anyag és Módszer rész önálló értelmezhetősége és a könnyebb áttekinthetőség érdekében itt mutatom be.

##### 3.1.1. Baktériumtörzs

A fellelhető irodalom alapján tudtuk, hogy az eltérő baktériumtörzsek eltérő méretű elemi szeléngömböket hoznak létre, éppen ezért előkísérlek során megvizsgáltam a következő törzseket és keverékeiket: *Lactobacillus casei*, *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium BB-12*, *Lactobacillus acidophilus* (LA-5) és *Lactobacillus helveticus* (LH-B02). A létrejött szeléngömbök mérete, az átalakítási hatások, és kiváltképp az élelmiszeripari felhasználhatóság és hozzáférhetőség alapján a választás a *Lactobacillus casei* törzsre esett.

##### 3.1.2. Tápközeg

Mivel a NanoSel szol laboratóriumi felhasználásra készül, nincs szükség nagy mennyiségre, viszont annál fontosabb a jó reprodukálhatóság és a jó vizsgálhatóság.

A gazdaságossági szempontokat mellőzve tápközegnek MRS médiumot választottam (*de Man, Rogosa, Sharpe, 1960*), a jóval olcsóbb tejjel és tejsavóval szemben.

A VWR Chemicals által kifejezetten *Lactobacillus* számára gyártott MRS tápleves összetétele 1 literben: 10g kazein, 10g húskivonat, 5g élesztőkivonat, 20g glükóz, 2g dikálium-hidrogén-foszfát, 5g nátrium-acetát, 2g diammónium-citrát, 0,2g magnézium-szulfát, 0,05g mangán-szulfát, 1,08g polioxietilén-szorbitán-monooleát (Tween 80). A tápleves készítéséhez 55g MRS port feloldunk 1 liter desztillált vízben, majd a sterilizáláshoz 120°C-on 30 percig forralunk. Mikor a leves lehűlt 25 °C-ra, hozzáadjuk az átalakítani kívánt szelénforrást, 10 000 mg/literes nátrium-hidrogén-szelenit törzsoldatot használva, az ideálisnak ítélt 200 mg/kg-os szelénkoncentráció beállításához 20 ml-t. Ezután a friss baktériumkultúrából 10 ml-t beoltunk a szelénrel dúsított táplevesbe. A pH nem kíván különösebb szabályozást, de a folyamatos monitorozás során kiderült, a kezdeti 6,4 értékről a fermentáció végére 3,5-re csökken.

### 3.1.3. Fermentáció

A beoltott szeléntartalmú táplevest inkubátorszekrényben 48 órán keresztül 37 °C-on fermentáljuk (*L. casei* optimuma), 70 rpm-es rázatás mellett, melyre az ülepedés elkerülése végett van szükség. A fermentációs folyamat végére a szol a képződött elemi szeléngömbök hatására piros színűvé válik (7. ábra).



7. ábra: Nanoméretű elemi szeléngömböket tartalmazó NanoSel szol

### 3.1.4. Tisztítás

A tisztítás megkezdéséhez első lépésben ki kell nyernünk a baktériumokat a táplevesből, melyet 15 percig tartó 6000 rpm-en történő centrifugálással, felülúszó eltávolítással majd a visszamaradt pelletek desztillált vízben történő felvételével oldunk meg. A tisztított nanoszelén szol előállításakor, mivel a baktériumok a sejtfalon belül raktározzák el a képződött elemi szeléngömböket, el kell távolítani a nagyon ellenálló sejtfalat.

Ehhez 37 (m/m)%-os sósavat használunk, másfélszeres mennyiségben, azaz 100 ml nanoszelénhez 150 ml sósavat adunk. A savas hidrolízis 5 napig tart, melynek során a sejtfal elroncsolódik, a sejten belüli nanoszelén gömbök sértetlenül kiszabadulnak. Ezután az szolról a sósavat eltávolítjuk, semleges pH eléréséig ismételt centrifugálással és desztillált vizes mosással. A következő lépés a szűrés, melyhez először a sejtörmeléket és nanoszelént tartalmazó desztillált vizes szolt 15 percre ultrahangos fürdőbe tesszük, hogy az összetapadt gömbök szétessenek, majd vákuumszűrő segítségével átszűrjük 1 réteg 3,3  $\mu\text{m}$  pórusméretű teflon szűrőanyagon és 2 réteg 65  $\text{g}/\text{m}^2$  sűrűségű szűrőpapíron. Az elkészült NanoSel szol a nanorészecskéket tartalmazó szuszpenziókra jellemző optikai tulajdonságokat mutat, azaz visszavert fényben piros, fény felé fordítva kékes színű, lézerral átvilágítva pedig a fénycsík jól látható (8. ábra).



8. ábra: NanoSel szol visszavert fényben, fény felé fordítva, lézerral átvilágítva

### **3.2. LactoMicroSel szelénnel dúsított joghurtpor előállítása**

A NanoSel szelnál bemutatott gyártási folyamat módosításával célunk olyan takarmánykiegészítőként ill. étrendkiegészítőként is alkalmazható szeléntartalmú joghurtpor (LactoMicroSel) előállítása volt, melyben az elemi szeléngömböket nem szeparáljuk a baktériumoktól. Bár maga az előállítási módszer kidolgozása is eredménynek minősül, az Anyag és Módszer rész önálló értelmezhetősége és a könnyebb áttekinthetőség érdekében itt mutatom be.

#### **3.2.1. Baktériumtörzs**

Alapvető fontosságú a megfelelő, élelmiszergyártáshoz engedélyezett törzs kiválasztása. A törzskeverékek vizsgálatához a szintenyészetek mellett a Hansen cég (Dánia) több forgalomban levő probiotikus baktériumokat tartalmazó törzskeverékét vizsgáltuk és hasonlítottuk össze. A kellően nagy átalakítási határfok mellett kíváncsi voltam, hogy a baktériumok egy tömbben álljanak össze, a termék jó szűrhetősége miatt. Ehhez az ABT7 törzs bizonyult a legjobbnak.

Az ipari gyártáshoz végül ehhez a törzshöz legjobban hasonlító, engedélyezett, kifejezetten joghurtgyártáshoz kialakított Yo-Mix 401 keveréket használtuk, mely *Streptococcus thermophilus* és *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* tartalmaz.

#### **3.2.2. Tápközeg**

A tápoldat megtervezésénél figyelembe kellett venni a gazdaságossági kérdéseket. Nyilvánvaló volt, hogy a NanoSel előállításánál alkalmazott MRS tápoldat sem az ára, sem pedig engedélyeztetési problémák miatt nem lehet alapja az ipari gyártásnak. Elsőként tejalapú gyártás kidolgozását vizsgáltam, azonban kiderült, hogy a tej zsírtartalma jelentősen nehezíti a további feldolgozást, hiszen a szeléntartalmú baktériumok egy része a zsíros frakcióhoz tapad és összegyűlik a közeg felszínén, míg a másik rész lesüllyed a közeg aljára. A két frakció eltérő szelénkoncentrációja és viselkedése jelentősen nehezítené a homogén és jól kezelhető anyag előállítását, ezért a tejmintát alkalmazás előtt egy folyamatosan működő tejszeparátorral zsírmentesíteni kell. A tejcentrifuga leválasztja a tejszínt és a szavasmarha sejteket a tejből, így jól kezelhető közeget kapunk a tenyésztéshez.

Miután láttuk, hogy a tej alapú gyártás jól működik, és alkalmas az étrendkiegészítők és élelmiszerekhez gyártandó adalék gazdaságos előállítására, felmerült, hogy további költségcsökkentés miatt célszerű lenne tejsavót használni, hiszen ennek ára

a tej 100 Ft/L-es árához képest mindössze 1-3 Ft/L. A tejsavó szűrése és zsírmentesítése után kiderült, hogy kitűnően alkalmazható közeg, ezért a gazdaságossági szempontok figyelembe vételével az ipari gyártáshoz végül 75% édes savó és 25% főlözött tej keverékét választottuk.

### 3.2.3. Szárítás és homogenizálás

A szűrt joghurt szárításához összehasonlítottuk a liofilizálást és a légfűvósos szárítást. Liofilizálással szép, könnyen darálható, jól használható anyagot kaptunk (9. ábra, balra), kiderült viszont, hogy a levegőből a termék a vizet könnyebben visszaveszi, így bizonyos alkalmazásokhoz előnytelen, s ráadásul igen drága eljárás. A légfűvósos, 50 °C-on végzett szárítással kapott anyag ugyanakkor igen nagy szívósságú és keménységű, nagy kihívást jelentett a megfelelő darálási technika kidolgozása. Végül egy drága, de megfelelő teljesítményű darálóval sikeresen elértük a kívánt szemcseméretet, így sikerült megfelelő mennyiségű és minőségű LactoMicroSel adalékot gyártani (9. ábra, jobbra).

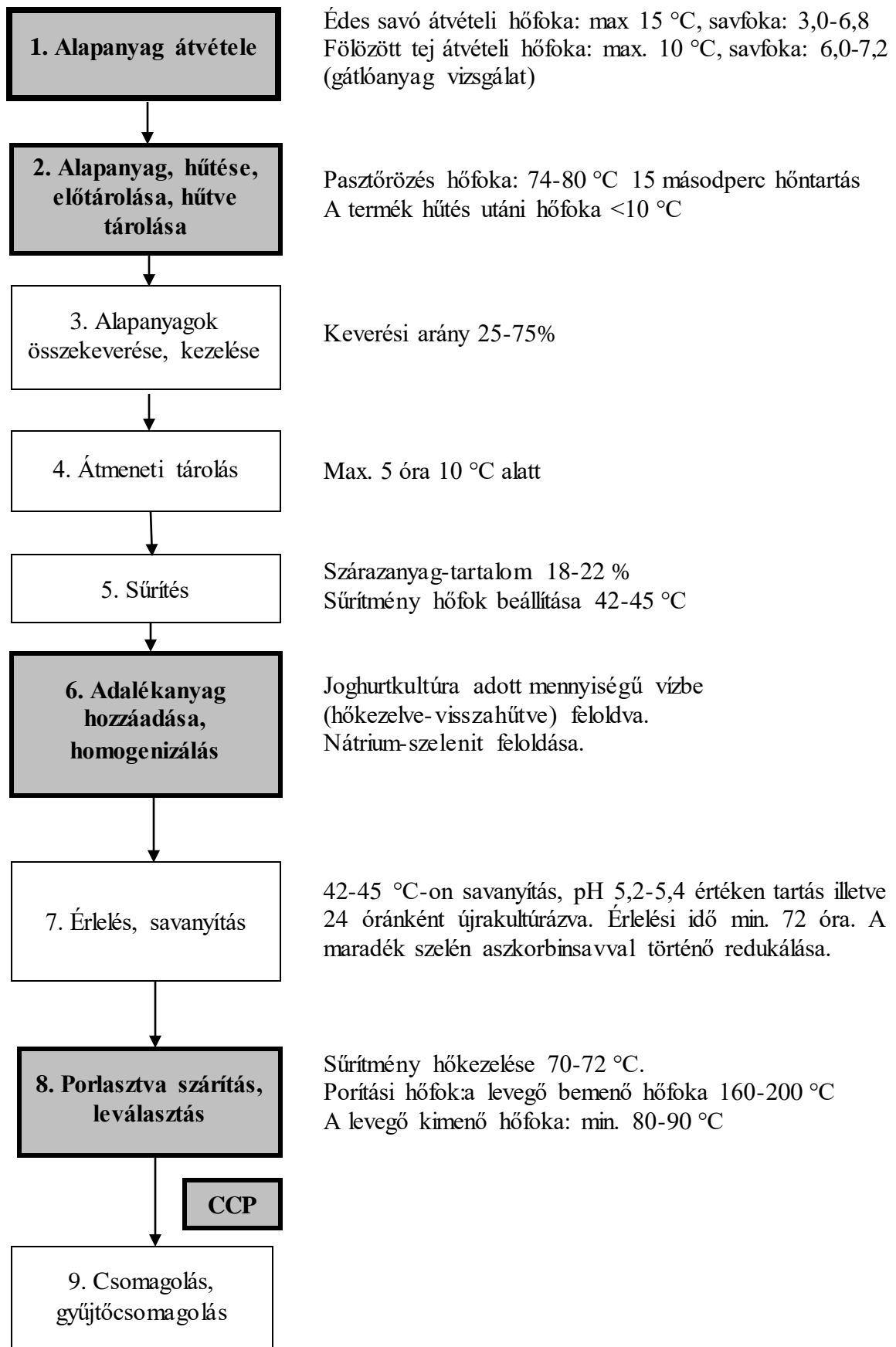


9. ábra:

Liofilizált és darált LactoMicroSel (balra)  
Légfűvással szárított és darált LactoMicroSel (jobbra)

### 3.2.4. Termékfejlesztés, ipari gyártás

A LactoMicroSel szelénnel dúsított joghurtport az Instantpack Kft. Berretyóújfaluban található gyárában gyártottuk le. Az engedélyezéshez elkészítettük a termelés folyamatábráját (10. ábra). A termék gyártmánylapja az 1. mellékletben látható.



10. ábra: LactoMicroSel szelénnel dúsított joghurtpor gyártásának folyamatábrája

Az ipari gyártás folyamatát a 4. táblázat mutatja be.

4. táblázat: Gyártási folyamat főbb jellemzői és időrendje

	<b>Feladat megnevezése</b>	<b>Jellemző adatok</b>	<b>Dátum</b>
1	Gyártóberendezés műszaki ellenőrzése, tisztítása.	Mosószeres tisztítás, Percetsavval (PAA) történő fertőtlenítés.	2011/10/18
2	Alapanyag átvétele	Édes savó átvételi hőfoka: 12°C, savfoka: 4,0. Fölözött tej átvételi hőfoka: 6,5°C, savfoka: 6,8 (gátlóanyag vizsgálat).	2011/10/18
3	Alapanyag, hűtése, előtárolása	Pasztörözés hőfoka: 74°C (15 s hőntartás). A termék hűtés utáni hőfoka <10°C.	2011/10/18
4	Alapanyagok összekeverése	Keverési arány: 75 V/V% édes savó 25 V/V% fölözött tej	2011/10/18
5	Átmeneti tárolás	Időtartama:1 h	2011/10/18
6	Sűrítés	Száranyagtartalom: 20% Sűrítmény hőfoka: 42-44 °C A sűrítmény térfogata: 4700 liter	2011/10/18
7	Mintavétel	Kontroll szeléntartalom meghatározáshoz.	2011/10/19
8	Adalékanyag hozzáadása, homogenizálás	Joghurtkultúra adott mennyiségű vízbe (hőkezelve-visszahűtve) feloldva. Nátrium-szelenit feloldása.	2011/10/19
9	Érlelés, savanyítás	A beoltott sűrítményt 42-44 °C-on, kevertetés nélkül (a mintavételt megelőzően 60 perc kevertetés). PH 5,2-5,4 értéken tartás. 48 óránként újrakultúrázva. A maradék szelén aszkorbinsavval történő redukálása.	2011/10/19 - 2011/10/29
10	Mintavétel és feldolgozás	pH nyomon követés és optimalizálás céljából. Nátrium-szelenit átalakulási hatásfokának meghatározásához.	2011/10/19 - 2011/10/29
11	Porlasztva szárítás, leválasztás	Sűrítmény hőkezelése 70-72°C. Porítási hőfok: a levegő bemenő hőfoka 160-200°C A levegő kimenő hőfoka: min. 80-90°C	2011/10/29
12	Csomagolás	Nátronpapírsák, natúr színű, polietilén bélészsákkal, mérlegen töltve, gumigyűrűvel és varrással lezárva.	2011/10/29

**1-7. és 11-12.:** Általános joghurtpor gyártási folyamatsor.

## **8.: Adalékanyag hozzáadása, homogenizálás**

*Kultúrázás:*

Adalékanyagok hozzáadásánál a kiinduló csíraszám beállítása tapasztalati eredményeink alapján egyszerű feladatnak minősült. 2 liter hőkezelt és visszahűtött csapvízben vettük fel a szárított kultúrát (Yo-Mix 401), majd az így előállított inokulumot rövid állási időt (~ 30 perc) követően a sűrítményhez adtuk.

*Nátrium-szelenit hozzáadása:*

A sűrítmény teljes tömegére számított nátrium-szelenit mennyiséget a bakteriális szeléntranszformáció optimális határfokának elérése érdekében három lépésben adtuk a hozzá, nátrium-hidrogén-szelenit formájában. Mindhárom esetben laborkörülmények között mértük ki a megfelelő mennyiséget, majd ezt a mennyiséget egy kizárólag erre a célra használt 5 literes műanyag kannában csapvízben feloldottuk. A kimérés és hígítás céljára használt munkafelületeket és eszközöket hypo-val tisztítottuk meg a nátrium-szelenit szennyeződéstől, majd vízzel 3-szor átöblítettük. Ellenőrzés céljából telített aszkorbinsav oldattal átitatott fehér színű papírtörölkendővel töröltük át a felületet, hogy a nátrium-szelenit és aszkorbinsav reakciójára utaló vöröses elszíneződés alapján észlelhető mennyiségű szelén maradt-e a megtisztított munkafelületeken.

*Nátrium-szelenit hozzámérése:*

1. 2011.10.19 – 4120 g (1880 g Se)
2. 2011.10.24 – 2060 g (940 Se)
3. 2011.10.26 – 4120 g (1880 g Se)

## **9.: Érlelés, savanyítás**

A gyártástechnológia alapját képező bakteriális szeléntranszformáció alapfeltétele a megfelelő élőcsíraszám, melyet közepesen magas hőmérsékleten 42-44 °C-on, 48 óránkénti részleges újrakultúrázással tartottunk fent. A fermentációt 10000 liter térfogatú, rozsdamentes acél érlelő tartályban, kevertetés nélkül vittük véghez.

A fermentáció utolsó lépése az aszkorbinsav hozzáadása, a maradék nátrium-szelenit tartalom redukálása céljából.

*L- aszkorbinsav hozzámérése:*

2011.10.29 – 2500 g

### **10.: Mintavétel és feldolgozás**

A mintavételek célja a fermentáció előrehaladtának és ezzel összefüggően a nátrium-szelenit átalakulási hatásfokának megállapítása volt. A bakteriális produkció növekedésének mértékét a pH változásának monitorozásával követtük.

A mintavételezés időpontját a különböző beavatkozások (pH optimalizálás, nátrium-szelenit hozzáadás, újrakultúrázás) és azok hatóidejének figyelembevételével választottuk meg.

Minden mintavétel előtt 60 perccel át kevertettük a szuszpenziót. A mintavételt hosszított nyelű, 500 ml térfogatú mintavevő kanállal végeztük, 2x2 merítéssel megközelítőleg 2x1 liter mintát vettünk alkalmanként. A mintákból ~200 ml kivételével pH meghatározást végeztem laborkörülmények között, a minták fennmaradó részéből pedig meghatároztam azok szelénkoncentrációját. A mintákat feldolgozásig 7 °C-on maximum 24 h-ig tároltuk. A szeléntranszformáció mértékét a nátrium-szelenit és a fermentáció révén képződött elemi szelén nanogömbök elválasztásával állapítottam meg, melyet centrifugálással (8900 g mellett 10 perc) értem el. A kapott frakciók közül a felülúszóban az elemi szelén részaránya elenyésző, így a vízben oldott nátrium-szelenit adja a felülúszó gyakorlatilag összes szeléntartalmát. A felülúszó, illetve a centrifugálás előtti állapotú, teljes szuszpenzió mintákat az Anyag és Módszer „Teljes szeléntartalom meghatározása” részben bemutatott összszelén-meghatározásos módszerrel mértem. A fermentációs közeg összes szeléntartalmából az oldott nátrium-szelenit mennyiségét kivonva indirekt módon határozható meg a bakteriális úton átalakult szelén részaránya (5. táblázat).

5. táblázat: Mintavételek időpontja és a nátrium-szelenit-átalakulás hatásfoka %-ban

Minta	Dátum	Tevékenység	Összes Se	Felülúsó Se	Átalakulás hatásfoka
1	10.20.	nátrium-szelenit I. +24 h- pH 4,9	1071 mg/kg	695,9 mg/kg	35,05 %
2	10.23.	nátrium-szelenit I. +72 h- pH 5,0	1070 mg/kg	428,5 mg/kg	59,98 %
3	10.24.	nátrium-szelenit II. +0 h- pH 5,2	1737 mg/kg	1232 mg/kg	29,06 %
4	10.25.	nátrium-szelenit II. +24 h- pH 5,2	1646 mg/kg	862,1 mg/kg	47,64 %
5	10.26.	nátrium-szelenit II. +48 h- pH 5.4	1590 mg/kg	578,0 mg/kg	63,65 %
6	10.27.	nátrium-szelenit III. +24 h- pH 5.4	2762 mg/kg	1497 mg/kg	45,77 %
7	10.28.	nátrium-szelenit III. +48 h- pH 5.4	2854 mg/kg	760,5 mg/kg	73,35 %
10	10.29.	nátrium-szelenit III. +72 h- pH 5.4	2849 mg/kg	296,2 mg/kg	89,60 %
11	10.29.	nátrium-szelenit III. +72 h + aszkorbinsav	2950 mg/kg	180,5 mg/kg	93,88 %

Mikor az átalakulás befejeződött, porlasztva szárítást követően a terméket polietilén bélésű nátronpapírszakokba töltve elkészült a kész, 3000 mg/kg szelént tartalmazó LactoMicroSel por (11. ábra).



11. ábra: Elkészült LactoMicroSel szelénrel dúsított joghurtpor  
(Berettyóújfalú, 2011)

Az elkészült LactoMicroSel porból szeléntartalmú étrendkiegészítő („LactoMicroSel étrendkiegészítő”) és szelénrel dúsított instant tejpor („No.42”) is készült (12. ábra).



12. ábra: LactoMicroSel-ből készült szeléntartalmú instant tejpor (balra) és étrendkiegészítő tablettá (jobbra)

Elvégeztünk mind a LactoMicroSel joghurtpor, mind a No.42 szelénrel dúsított instant tejpor homogenitásvizsgálatát. A LactoMicroSel homogenitásvizsgálatához 10 zsákból 10-10 mintát vettünk, a No.42. vizsgálatához pedig 7 zacskóból 4-4 mintát vizsgáltunk, az Anyag és Módszer „Teljes szeléntartalom meghatározása” részben bemutatott összszelén-meghatározásos módszerrel.

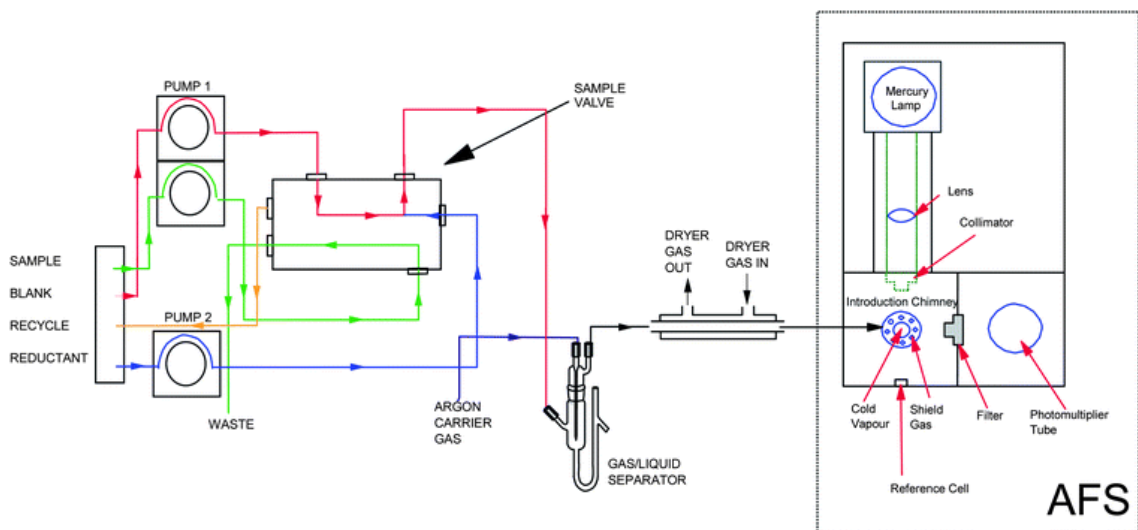
### 3.3. NanoSel szol és LactoMicroSel szelénrel dúsított joghurtpor vizsgálata

#### 3.3.1. Teljes szeléntartalom meghatározása

Mind a tisztított nanoszelén szol, mind a szeléntartalmú joghurtpor teljes szeléntartalmának meghatározásához Kovács *et al.* (2000) módszerét alkalmaztam, nedves roncsolásos mintaelőkészítéssel: a tisztított szolból 1 ml mintához, a joghurtpor esetén 0,2 g szárított mintához 5 ml cc.  $\text{HNO}_3$ -t (65 m/m %) adtam, majd 60 percen át tartó, 60 °C –on történő előroncsolást követően 3 ml cc.  $\text{H}_2\text{O}_2$ -t (30 m/m %) hozzáadva 4 órán át 120°C –on tovább roncsoltam. A mintákat ezután 15 ml-re hígítottam 3M-os sósavval, majd szűrőpapíron átszűrtem.

A teljes szeléntartalom mérését Millenium Excalibur (PSA, Egyesült Királyság) atomfluoreszcens spektrométerrel végeztem, a műszer gyártója által kiadott és validált módszer alapján (PS Analytical, 1999, APP016). A hidridképző reakcióhoz 3M sósavat és 0,1M nátrium-hidroxidban oldott 1,4 (m/V)% nátrium-borohidridet használtam, 1,5 ml/perc áramlási sebességgel. A képződött  $\text{H}_2\text{Se}$  gázt 15 liter/perc áramú argongázzal öblítettem a PermaPure nevű, kettős membránú szeparátor egységbe. Az átdiffundált gázt elégetve és egy vájtkatód lámpából érkező monokromatikus fénnel megvilágítva a lángban lévő Se gerjesztődik, és a beeső fény síkjára merőlegesen fluoreszcens fényt bocsájt ki (13. ábra). A mérés során 30 s mintaszívást 30 s háttérrel történő mosás követett. Minden mérést 3-szor ismételttem, kalibráláshoz Charlau szelenit standardet használtam, Prokisch *et al* (2006) módszere alapján előállított QC mintával ellenőriztem a kalibráció helyességét.

A további talaj, növény- és állatkísérletek során is ugyanezt a mintaelőkészítési és mérési módszert alkalmaztam, az esetleges eltéréseket az adott résznél jelzem.



13. ábra: Millenium Excalibur atomfluoreszcens spektrométer működése

### 3.3.2. Nanoszelén viselkedése vizes közegben

Kutatómunkám során vizsgáltam az előállított, tisztított elemi szeléngömbök viselkedését vizes közegben, pontosabban a felülúszóban oldott szelén koncentrációjának változását. Ehhez 2 liter nanoszelén szolt gyártottam, majd megvártam, míg a szol leülepedik, ez körülbelül 2 hét alatt következett be. Ezután óvatosan leszívtam a felülúszót, majd desztillált vízzel újra feltöltöttem, így kaptam meg a kísérlethez használt, 2 liter 200 mg/l-es, csak elemi szelént tartalmazó, tiszta felülúszójú nanoszelén kiindulási szolomat. Ezt követően 1 hónapon keresztül minden nap mintát vettem a felülúszóból. Ehhez először ultrahangos fürdőben 10 percen keresztül homogenizáltam a szolt, majd egy fecskendővel 1,5 ml mintát vettem belőle. 200 nm-es membránszűrőt alkalmazva kiszűrtem az szolból az elemi szeléngömböket, hiszen csak az oldott formában lévő, élő szervezetek számára hozzáférhető szelén koncentrációjára voltam kíváncsi. Az első 12 órában a legintenzívebb az oldódási folyamat, így ebben az időszakban óránként vettem mintát. A minták méréséhez az összszelén-meghatározáshoz hasonlóan AFS készüléket használtam, azonban nem alkalmaztam roncsolást, hogy ténylegesen csak a szelenit/szelenát/szelenid koncentrációt mérjem. Minden mérést 3-szor ismételtam, 10 mintánként QC mintával ellenőriztem a kalibráció helyességét.

### 3.3.3. Felülúszó szelénspeciációs vizsgálata

A nanoszelén szol felülúszójával szelénspeciációs méréseket is végeztem, a készülék gyártója által kiadott, validált módszer alapján (*PS Analytical, 1999, APP092*). A mérés során a teljes szeléntartalom meghatározásnál bemutatott Millenium Excalibur AFS készülékhez egy Agilent 1200 típusú HPLC rendszert (Hewlett Packard, Palo Alto, CA) csatlakoztattam. Az álló fázis egy Hamilton PRP-X100 anioncserélő oszlop, a mobil fázis pedig 5 milimólos citromsavas eluens volt, 2 % (m/m) metanolban, pH 5.9-re állítva, 0,9 ml / perc áramlási sebességgel. A HPLC és az AFS közé beiktatott, PSA S570Z100 típusú, kifejezetten speciációs vizsgálatokhoz ajánlott UV mintafűtőben az oszlopról lejövő minta 50 % (v/v)- HCl és 5% % (m/v) KBr eleggyel keveredett és 140°C-ra melegedett. A hidridképző reakcióhoz szükséges redukáló reagens 0,1M nátrium-hidroxidban oldott 1,4 (m/V)% nátrium-borohidrid volt. A méréshez az izokratikus pumpa áramlási sebességét 0,9 ml/percre, az AFS készülék érzékenységét pedig 100-szorosra állítottam. Kalibráláshoz Charlau standardekert használtam, a mérést háromszor ismételtam.

### **3.3.4. Elektronmikroszkópos vizsgálat**

Az elektronmikroszkópai vizsgálatához való mintaelőkészítés során kivettem 2 ml-t a tisztított nanoszelén szorból, majd 8000 rpm-en 2 percen keresztül történő centrifugálást követően etil-alkohollal mostam.

Ezt a lépést megismételtem háromszor, majd az utolsó mosást követően a mintákat 1 ml etil-alkoholban szuszpendáltam. Ebből 5  $\mu$ -t cseppentettem ki a tárgylemezre.

A mintákat Dr. Daróczy Lajos (DE Szilárdtest Fizika Tanszék) segítségével, arannyal való befuttatás után, Hitachi S-4300 CFE típusú pásztázó elektronmikroszkóppal vizsgáltuk, 15 kV besugárással. Az elektronmikroszkóphoz csatolt Bruker SPECTRA EDX (Bruker, USA) típusú röntgen-fluoreszcens készülék segítségével elemanalízist is végeztünk. Továbbá az eredmények ellenőrzése érdekében 10 mintát elküldtünk az oregoni FEI cégnek, ahol egy FEI Quanta FEG pásztázó elektronmikroszkóppal készítettek képeket, magasvákuumos üzemmódban.

### **3.3.5. Lézerdiffrakciós szemcseméret-eloszlás vizsgálat**

A 200 mg/l-es, tisztított nanoszelén szorb lézerdiffrakciós szemcseméret-eloszlásának vizsgálatához nem volt szükség mintaelőkészítésre, 20 ml ultrahangos fürdőben homogenizált nanoszelén szorb adtam 100 ml desztillált vízhez a mintatérben.

A méréseket egy Malvern Mastersizer 2000 (Malvern, Egyesült Királyság) készülékkel végeztem. A műszer a mintatérben áthaladó anyagokat egy vörös és egy kék lézerrel megvilágítva egy detektorsoron méri a fényszórási mintázatát, melyből a Mie modell alapján kiszámítja a térfogatszázalékra vonatkoztatott méreteloszlást. A méréshez szükség van a mért anyag refrakciós indexére és abszorbanciájára, melyet a műszerhez mellékelt anyaglista alapján a következőkre állítottam: szelén refrakciós indexe: 2,6, abszorbanciája: 0, oldószer refrakciós indexe: 1,33. A minta megfelelő méréséhez állandó kevertetésre van szükség, a beállított áramlási sebesség 1400 rpm volt. Minden mérés 12 s vörös lézeres és 12 s kék lézeres mérésből állt, másodpercenként 1000 adatponttal.

Ez a mérési módszer gyorsasága miatt ideális az elemi szeléngömbök összetapadásának vizsgálatára, így a szorb a műszerben hagyva 24 órán keresztül, 10 percenként mértem az átlagos szemcseméretet, majd értékeltem az ultrahangos kezelés óta eltelt idő függvényében.

### **3.4. Nanoszelén vizsgálata a talajban**

Talajkísérleteink célja a nanoszelén átalakulásának vizsgálata volt, a képződött hidrogén-szelenid illetve a víz- és savoldható szelénformák koncentrációját mérve, eltérő szervesanyag-tartalmú talajokat összehasonlítva.

#### **3.4.1. Kísérleti beállítás**

A vizsgálatot látóképi mészlepedékes csernozjom ( $Hu\%=3,02$ ;  $K_A=42$ ;  $pH(CaCl_2)=7,18$ ) és pallagi humuszos homoktalajjal ( $Hu\%=0,67$ ;  $K_A=26$ ;  $pH(CaCl_2)=4,41$ ) végeztük. 2 kg-os tenyészedényben, növény nélkül, a légszáraz talajok szelénkoncentrációját 200 mg/l-es nanoszelén szol hozzáadásával talajra nézve 0 (kontroll), 1,00 és 10,0 mg/kg koncentrációra állítottuk be, majd ionmentesített vízzel a víztartalmat a talaj szántóföldi vízkapacitásának 60 százalékára nedvesítettük. 8 héten keresztül két naponta ionmentesített vízzel pótoltuk az elpárolgott vizet. A talajok szobahőmérsékleten voltak tárolva, és nem voltak lefedve. A kísérlet végén mindkét talajból 10-10 mintát vettem.

#### **3.4.2. Teljes szeléntartalom meghatározása**

A talajminták összszeléntartalmának meghatározását a korábban bemutatott, NanoSel és LactoMicroSel szeléntartalmának mérésére alkalmazott módszerrel megegyezően végeztem, 0,2 g szárított minta nedves roncsolását követő atomfluoreszcens spektrometriával.

#### **3.4.3. Vízoldható szeléntartalom meghatározása**

A talajminták vízoldható szeléntartalmának meghatározásához 1g szárított mintához 10 ml desztillált vizet adtam, majd parafilmmel lefedve 2 hétig állni hagytam, folyamatos 20 rpm-es rázatás mellett. Ezután 15 ml-re hígítottam 3M-os sósavval, szűrőpapíron átszűrtem, majd AFS-el mértem.

#### **3.4.4. Savoldható szeléntartalom meghatározása**

A talajminták savoldható szeléntartalmának meghatározásához 1g szárított mintához 5 ml cc. HCl-t (37 % (m/m)) adtam, majd parafilmmel lefedve 2 hétig állni hagytam, folyamatos 20 rpm-es rázatás mellett. Ezután 15 ml-re hígítottam 3M-os sósavval, szűrőpapíron átszűrtem, majd AFS-el mértem.

### 3.5. Nanoszelén vizsgálata növényekben

A szakirodalmi áttekintés során már bemutatott, NanoSel szollal kezelt dohánynövényekkel végzett kísérletek eredményei arra mutattak rá, hogy bár a dohány modell egyes szerveiben mérhető volt a szelénfelhalmozódás, ez nem bizonyította, hogy a NanoSelt tartalmazó táptalajokon nevelt növények sejteibe a szelén ténylegesen be is jutott. Ezért a kísérleteket ebbe az irányba vittük tovább és arra kerestük a választ, hogy a nanoszelén valamilyen formában képes-e bejutni a növényi sejtekbe, táptalajon nevelt dohánynövényeket vizsgálva.

#### 3.5.1. Kísérleti beállítás

A kísérlethez szilárd, hormonmentes, MS táptalajon (*Murashige és Skoog, 1962*) nevelt dohánynövényeket (*Nicotinia tabacum* L. cv. Ottawa) használtunk. A 4,4 g/l MS komplex, 2%(m/m) szacharóz és 6 g/l növényi agartartalmú táptalajon nevelt donornövényekből 1 – 1,5 cm hosszúságú egy nóduszos hajtásdarabokat készítettünk. Ezekből a hajtásszegmensekből direkt organogenezissel neveltünk fel növényeket szilárd, hormonmentes, 1,5%(m/m) szacharóztartalmú táptalajon, aszeptikus körülmények között. Korábbi eredményekre alapozva NanoSel-ből 100 mg/kg koncentrációt használtunk a táptalaj készítés során. Emellett az összehasonlító vizsgálatban nátrium-szelenátot, mint a növények számára könnyen hozzáférhető szelénformát használtunk 1, 10, 100 mg/kg koncentrációban. Összességében a következő szelénkezeléseket alkalmaztuk: kontroll, 1 mg/kg szelenát, 10 mg/kg szelenát, 100 mg/kg szelenát, 100 mg/kg NanoSel. A növények nevelését 10 független ismétlésben végeztük.

Az *in vitro* tenyészetek nevelése 4 héten keresztül, 10/14 fotoperiódusú,  $41 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  foton flux megvilágítás, és állandó 23°C-os hőmérséklet mellett történt.

#### 3.5.2. Protoplaszt izolálás dohánylevelekben

A NanoSel növényi sejtekbe történő bejutását és akkumulációját sejtfaluktól megfosztott protoplaszt tenyészetekben vizsgáltuk. Ehhez először a kifejlett hajtásos növényekből protoplasztot izoláltunk Nagy és Maliga (1976) módszere alapján. A 6. táblázat a protoplaszt izoláláshoz szükséges oldatokat foglalja össze ("E1", "E2", "W5").

6. táblázat: Protoplaszt izoláláshoz használt oldatok összetétele, desztillált vízben

Enzim 1 (E1) (3 ml)	Enzim 2 (E2) (3 ml)	W5 (20 ml)
0,0043 g CaCl <sub>2</sub>	0,036 g celluláz	0,18g NaCl
0,0117 g MES	0,0072 g macerozim	0,016 g KCl
1,029 g szacharóz	pH 5,8	0,368 g CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O
30 µl NAA (1 mg/ml)	steril szűrés	0,02 g glükóz
1,2 µl zeatin		0,02 g glicin
		pH 5,8 – autoklávozás

Az izolálás megkezdése előtt a mintákat 24 órán keresztül sötétben tartottuk, 10 °C-on. A levelekből vett 1g felaprított mintát 10 ml 13 %(m/m)-os mannitol oldatba helyeztük, lefedtük alufóliával, majd 1 órán keresztül 40 rpm-en rázattuk. Ezután a mannitolt eltávolítottuk, a mintákat pedig 6 ml enzimkeverékbe (“E1”+”E2”) helyezve 18 órán keresztül inkubáltuk, 50 rpm-es rázatás mellett, sötétben, 25°C-on. Következő lépésként a 3 réteg gézlapon átszűrt protoplaszt szuszpenziót 3 ml 25 %(m/m)-os szacharóz oldatba szuszpendáltuk, a visszamaradt zöldmasszát pedig 2 ml 0,5M szacharózzal átmostuk. A szűrlet tetejére 1ml “W5” oldatot raktunk, majd 700 rpm-en 12 percen keresztül centrifugáltuk. A felső réteget ismét szuszpendáltuk 3 ml 25%(m/m)-os szacharóz oldatban, a tetejére 2 ml 0,5M szacharóz oldatot pipettáztunk, majd 700 rpm-en 12 percen keresztül centrifugáltuk. A felső protoplaszt réteget levettük, majd 5ml “W5” oldatba helyezve 6 percen keresztül 500 rpm-en centrifugáltuk. A felülúszó eltávolítása után a visszamaradt protoplasztot 500 µl “W5” oldatba szuszpendáltuk.

### 3.5.3. Tilakoid izolálás dohánylevelekben

A szelén növényi sejteken belül történő felhalmozódását kloroplasztisz tilakoid frakcióban is vizsgáltuk. Ehhez a hajtásos növényekből tilakoidmembránokat izoláltunk Jajoo et al. (2012) módszere alapján. A 7. táblázat a tilakoid izoláláshoz szükséges oldatokat foglalja össze (“A”, “B”).

7. táblázat: Tilakoid izoláláshoz használt oldatok összetétele, desztillált vízben

A oldat (1000 ml)	B oldat (500 ml)
8,96 g Tricin	4,48 g Tricin
72,84 g Sorbitol	0,5 g MgCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O
1 g MgCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0,186 g KCl
0,373 g KCl	pH 7,5
pH 7,5	

A leveleket az “A” oldatban homogenizáltuk, hűtött dörzsmozárban, majd szűrést követően 1 percen keresztül 1000 rpm-en centrifugáltuk. A felülúszót tovább centrifugáltuk, 7 percig, 4000 rpm-en, majd a csapadékot “B” oldatba szuszpendáltuk. Végül újabb 7 percig tartó 4000 rpm-es centrifugálást követően a csapadékot szuszpendáltuk az “A” oldatba.

#### 3.5.4. Teljes szeléntartalom meghatározása protoplasztból és tilakoidból

Az elválasztott minták teljes szeléntartalmának meghatározásához a korábban bemutatott összszelén-meghatározásos módszert alkalmaztam, nedves roncsolásos mintaelőkészítéssel, atomfluoreszcens spektrométerrel történő méréssel.

#### 3.5.5. Lipidperoxidáció mérése TBARS teszttel

A lipidperoxidáció meghatározását mind a teljes levéllel, mind az izolált tilakoidmembrán mintákkal elvégeztük, Zhang és Huang (2013) módszere alapján, malondialdehid méréssel. 100 mg mintát 1 ml 0,1 %(m/v) triklór-ecetsav oldatban homogenizálunk, hűtött dörzsmozárral. Ezután 10 percen keresztül 10000 rpm-en centrifugáltuk, majd 1 ml felülúszóhoz 4 ml 20 %(m/v)-os triklór-ecetsav + 0,5 %(m/v) tiobarbitursav elegyet adtunk. 30 perc 96 °C-on történő inkubálást követően a mintákat jeges fürdőben lehűtöttük, majd a felülúszó abszorbanciáját 532 nm-en mértük. A koncentrációkat malondialdehid sztenderdekre (Sigma-Aldrich) felállított kalibrációs görbe segítségével számoltuk.

### 3.6. Nanoszelén vizsgálata állatokban – Brojler csirke kísérlet

Az általunk előállított LactoMicroSel szelénrel dúsított joghurtpor takarmánykiegészítőként való alkalmazását két állatkísérletben vizsgáltuk. Célunk annak megállapítása volt, hogy a szeléntartalmú joghurtporból származó szelént képesek-e az állatok felvenni és hasznosítani, és az hogyan hat a tojástermelési és minőségi mutatókra.

A brojler csirkékkel végzett kísérletben a különböző szelénforrások hatását vizsgáltuk brojler csirkékkel, kontroll csoportot, szelenometionin tartalmú SelPlex takarmánykiegészítőt, tiszta LactoMicroSel-t és rákliszttel/halliszttel dúsított keverékét összehasonlítva.

#### 3.6.1. Kísérleti beállítás

A vizsgálatot 120 db Cobb 500 brojler hibrid vegyes ivarú (1:1) baromfiállománnyal végeztük, 42 napon keresztül. Alomnak puha faforgácsot használtunk. Az állatok etetése, itatása csoportos volt, így egyedi tápanyag fogyasztás mérésére nem volt lehetőség. 6 csoportot állítottunk be 10-10 állattal, külön rekeszekben, két ismétlésben. Az ismétlések elrendezésénél latin négyzet technikát alkalmaztunk. Alap takarmánynak a Vitafort Rt. által brojlercsirkék számára gyártott intenzív takarmánykeveréket használtuk, mely 0,2 mg/kg hozzáadott szelént tartalmaz, ezt a kezeléseket számításánál természetesen figyelembe vettük.

#### Kísérleti csoportok:

- 1. kezelés (kontroll, n=20):** antibiotikumot nem tartalmazó kereskedelmi brojler nevelő táp etetése (szeléntartalom ~0,2 mg/kg).
- 2. kezelés (SelPlex, n=20):** a kontroll takarmánykeverék kiegészítése kereskedelmi forgalomban lévő 1000 mg/kg szelenometionin tartalmú SelPlex® (Alltech Inc.) adalékanyaggal úgy, hogy a takarmány teljes Se-tartalma 0,425 mg/kg legyen.
- 3. kezelés (LactomicroSel 1x, n=20)(LMS 1):** a kontroll takarmánykeverék kiegészítése kísérleti LactomicroSel szelénforrással úgy, hogy a takarmány teljes Se-tartalma 0,425 mg/kg legyen.
- 4. kezelés (LactomicroSel 10x, n=20)(LMS 10):** a kontroll takarmánykeverék kiegészítése kísérleti LactomicroSel szelénforrással úgy, hogy a takarmány teljes Se-tartalma 4,25 mg/kg legyen.

- 5. kezelés (rákliszt/halliszt/LactomicroSel 1x, n=20)(RH+LMS 1):** a kontroll takarmánykeverék kiegészítése rákliszt-halliszt 1:1 arányú keverékével, 40 g/kg mennyiségben, ill. a kísérleti LactomicroSel szelénforrással úgy, hogy a takarmány teljes Se-tartalma 0,425 mg/kg legyen.
- 6. kezelés (rákliszt/halliszt/LactomicroSel 10x, n=20)(RH+LMS 10):** a kontroll takarmánykeverék kiegészítése rákliszt-halliszt 1:1 arányú keverékével, 40 g/kg mennyiségben, ill. kísérleti LactomicroSel szelénforrással úgy, hogy a takarmány teljes Se-tartalma 4,25 mg/kg legyen.

### **3.6.2. Kísérleti mérések**

A kísérlet folyamán az állatok testtömegét egyedileg mértük, napos korban majd hetente. Takarmányfogyasztást a kísérleti beállítás miatt nem tudtunk egyedileg mérni, ezt így hetente, csoportonként mértük. A kísérlet 42. napján csoportonként 10 állatot levágtunk, 1:1 ivararányban. A vágás során mértük az értékes húsrészek (comb, mell), valamint az ehető belsőségek közül a máj tömegét. Ezeket az eredményeket az adott madár élőtömegére vonatkoztatom. Mintát vettünk továbbá a májból, mellizomból és tollból, hogy megvizsgáljuk azok összszelén-tartalmát. A szeléntartalom meghatározásához a már korábban bemutatott módszert alkalmaztuk, nedves roncsolásos mintaelőkészítéssel és atomfluoreszcens spektrometriával.

Az egyes vizsgált paraméterekből minden esetben kiszámítottam az átlag, valamint a standard deviáció (SD±) értékeket. Az egyes kísérleti csoportok közötti különbségeket egytényezős varianciaanalízissel értékeltem. A számításokhoz MS Excel 2007 programot használtam.

### **3.7. Nanoszelén vizsgálata állatokban - Tojótyúk kísérlet**

Tojótyúkokkal végzett kísérletünkben megvizsgáltuk, hogy az egyes szelén források önmagukban, ill. rákliszt/halliszt keverékével együtt hogyan befolyásolják a tyúkok tojástermelési mutatóit, valamint a tojás egyes mennyiségi és minőségi paramétereit.

#### **3.7.1. Kísérleti beállítás**

Az 56 napig tartó vizsgálatot 60 db Bovans Goldline tojótyúkkal végeztük, melyek 18 hetesen kerültek a kísérletbe, ezért a 90 %-os tojástermelés beállásáig kontroll takarmánykeverékkel etettük őket, csak ezután kezdtük a különböző takarmánykiegészítéseket alkalmazni.

A brojler kísérlethez hasonlóan alomként itt is puha fáforgácsot használtunk, az állatok etetése és itatása csoportos volt, a tojótyúk takarmányozásra jellemző korlátozott (napi 2 kg/csoport) etetési technológiát alkalmaztuk, ami mellett az állatok minden nap 50 dkg szemes búzát kaptak, valamint 0,5 kg/hét mézszgrízt is adtunk Ca kiegészítésként, 3 részletben elosztva a hét folyamán. Alap takarmánynak a Vitafort Rt. által gyártott Aranytojó takarmánykeveréket (dercés, zsákos) használtuk, mely 0,2 mg/kg hozzáadott szelént tartalmaz, melyet a kezelések számításánál figyelembe vettünk.

Kísérleti csoportok:

- 1. kezelés (kontroll, n=15):** kereskedelmi tojótáp etetése (szeléntartalom 0,2 mg/kg).
- 2. kezelés (SelPlex, n=15):** a kontroll takarmánykeverék kiegészítése kereskedelmi forgalomban lévő 1000 mg/kg szelenometionin tartalmú SelPlex® (Alltech Inc.) adalékanyaggal úgy, hogy a takarmány teljes Se-tartalma 0,425 mg/kg legyen.
- 3. kezelés (LactomicroSel 1x, n=15)(LMS 1):** a kontroll takarmánykeverék kiegészítése kísérleti LactomicroSel szelénforrással úgy, hogy a takarmány teljes Se-tartalma 0,425 mg/kg legyen.
- 4. kezelés (LactomicroSel 10x, n=15)(LMS 10):** a kontroll takarmánykeverék kiegészítése kísérleti LactomicroSel szelénforrással úgy, hogy a takarmány teljes Se-tartalma 4,25 mg/kg legyen.
- 5. kezelés (rákliszt/halliszt/LactomicroSel 1x, n=15)(RH+LMS 1):** a kontroll takarmánykeverék kiegészítése rákliszt-halliszt 1:1 arányú keverékével, 40 g/kg mennyiségben, ill. a kísérleti LactomicroSel szelénforrással úgy, hogy a takarmány teljes Se-tartalma 0,425 mg/kg legyen.
- 6. kezelés (rákliszt/halliszt/LactomicroSel 10x, n=15)(RH+LMS 10):** a kontroll takarmánykeverék kiegészítése rákliszt-halliszt 1:1 arányú keverékével, 40 g/kg mennyiségben, ill. kísérleti LactomicroSel szelénforrással úgy, hogy a takarmány teljes Se-tartalma 4,25 mg/kg legyen.
- 7. kezelés (rákliszt/halliszt, n=15)(RH-Kontroll)** a kontroll takarmánykeverék kiegészítése rákliszt-halliszt 1:1 arányú keverékével, 40 g/kg mennyiségben.

A kísérletet két menetben végeztük el úgy, hogy köztük kéthetes kiürülési időszakban minden csoport kontroll takarmánykeveréket fogyasztott. Az első kísérleti periódusban az 1, 2, 3, 4 kezelések zajlottak, míg a másodikban a 1, 5, 6, 7 kezeléseket végeztük el.

Az egyes kísérleti időszakok három hétig tartottak. Ez alatt folyamatosan rögzítettük a tojástermelési adatokat, ill. a 3. héten begyűjtöttük a tojásokat a mennyiségi és minőségi paraméterek vizsgálata céljából.

### **3.7.2. Kísérleti mérések**

A kísérlet folyamán a tojástermelési paramétereken túl számos tojásmennyiségi és a tojásmínőségi paramétert is mértünk.

A kísérlet mindkét részében egy-egy hétig gyűjtöttük a tojásokat, és csoportonként 50-50 véletlenszerűen kiválasztott tojás hosszát és szélességét megmérve kiszámítottuk a tojásindexet. A tojásindex, vagy más néven forma index egy arányszám, számítása: tojáshossz/tojásszélesség. Emelett mértük a tojások tömegét is.

A kísérlet során 20-20 tojásban mértük a héj vastagságát, majd a héjat 24 órán át 52 °C-on szárítva meghatároztuk a száraz tömegét.

Mindkét kísérleti periódusban 10-10 tojásban vizsgáltuk a szik színét. A színvizsgálat során Konica Minolta CR 410 kronométert használtunk. A műszer három paramétert mér egyidejűleg. Az L\* érték a minta világosságát, az a\* érték a vörös árnyalatot, a b\* érték a minta sárga árnyalatának intenzitását jellemzi.

A szik tömegét mindkét kísérleti periódusban 20-20 tojásban mértük.

A tojások szeléntartalmának meghatározásához a tojásokat megfőztük, majd a fehérjét és a sárgáját külön, a korábban bemutatott módszer alapján nedves roncsolásos mintaelőkészítéssel és atomfluoreszcenciás módszerrel megmértük.

Az egyes vizsgált paraméterekből minden esetben kiszámítottam az átlag, valamint a standard deviáció (SD±) értékeket. Az egyes kísérleti csoportok közötti különbségeket egytényezős varianciaanalízissel értékeltem. A számításokhoz MS Excel 2007 programot használtam.

## 4. EREDMÉNYEK

### 4.1. NanoSel tisztított monodiszperz szelén szol előállítása és vizsgálata

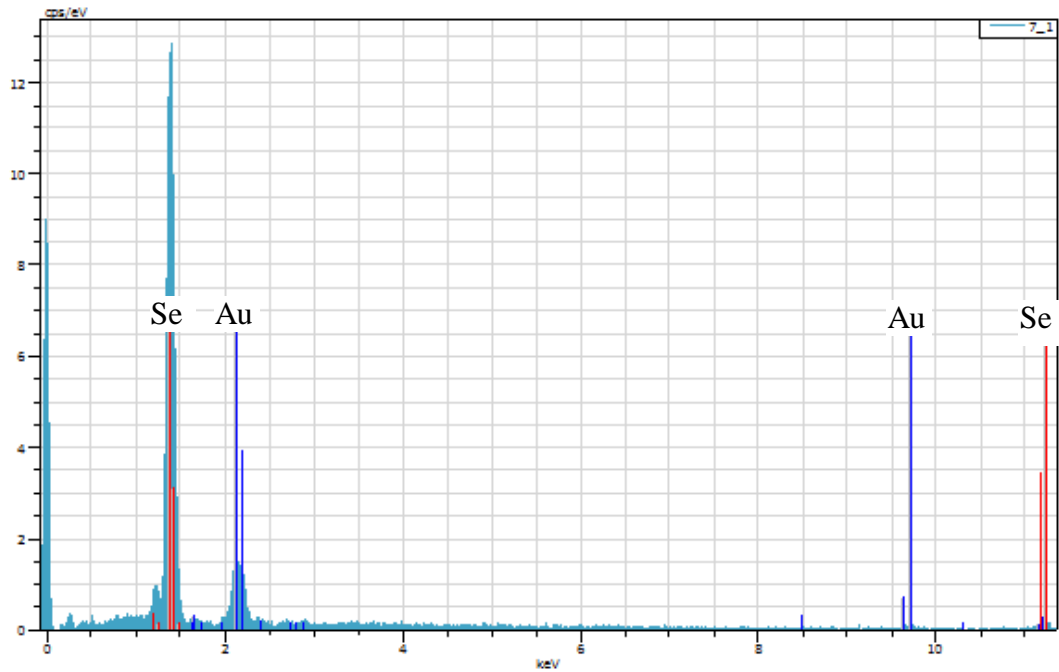
Az itt bemutatott NanoSel monodiszperz szelén szol előállítását és a gyártási folyamat kidolgozását az Anyag és Módszer részben ismertettem.

#### 4.1.1. Elektronmikroszkópos vizsgálat eredménye

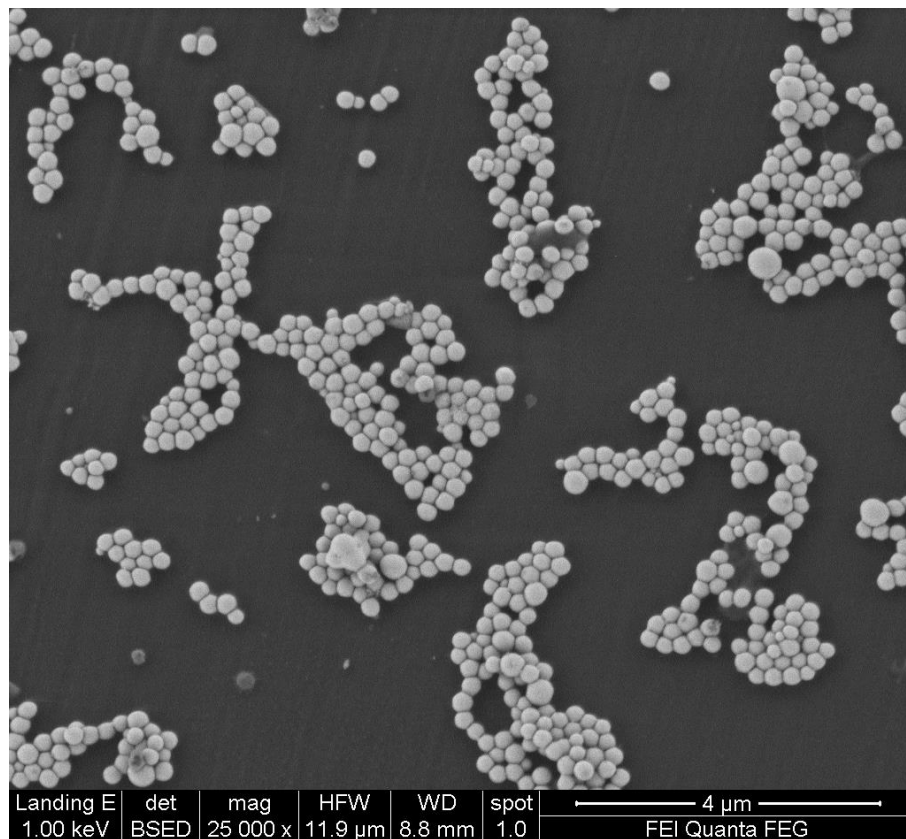
Az előállított NanoSel szol elektronmikroszkópos vizsgálata során készült képeken jól látszik, hogy a *Lactobacillus casei* által előállított elemi szeléngömbök 250 nm átmérőjűek (14. ábra), méretükben megfelelően homogének, azonban összetapadásra hajlamosak (16. ábra). Ez a későbbi kísérletek szempontjából különösen fontos, hisz így a megfelelően megválasztott (pl. 200 nm) pórusméretű szűrővel egyszerűen kivitelezhető a szelénspeciáció, pl. a felülúszó vizsgálata során elemi szeléngömbök és oldott szelénformák szétválasztása. A képeken is látszik, hogy a sósavas feltárás és szűrés során sikerült a sejtekből a gömböket kinyerni, a sejttörmelék pedig eltávolítani, a röntgenfluoreszcens elemanalízis pedig bizonyítja, hogy a képeken látható anyag valóban szelén (15. ábra).



14. ábra: Tisztított nanoszelén gömb elektronmikroszkópos képe (Hitachi SEM)



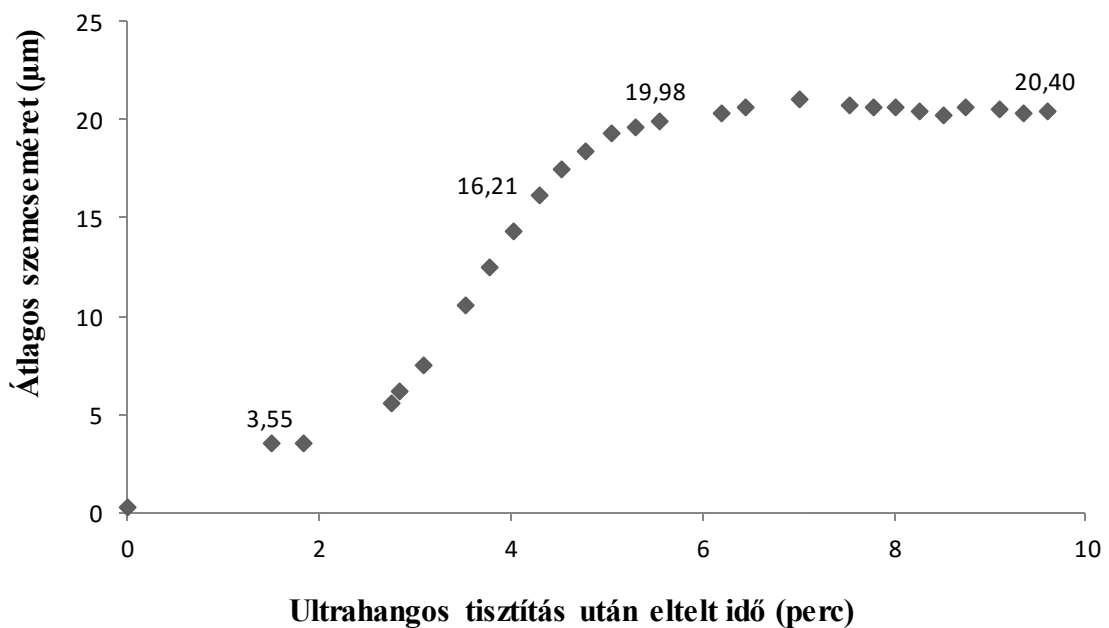
15. ábra: Bruker SPECTRA EDX készülékkel készített XRF spektrum  
(Az arany a méréshez szükséges katódporlasztással történő bevonás miatt jelenik meg)



16. ábra: Tisztított nanoszelen gömbök aggregációja (Quanta FEG)

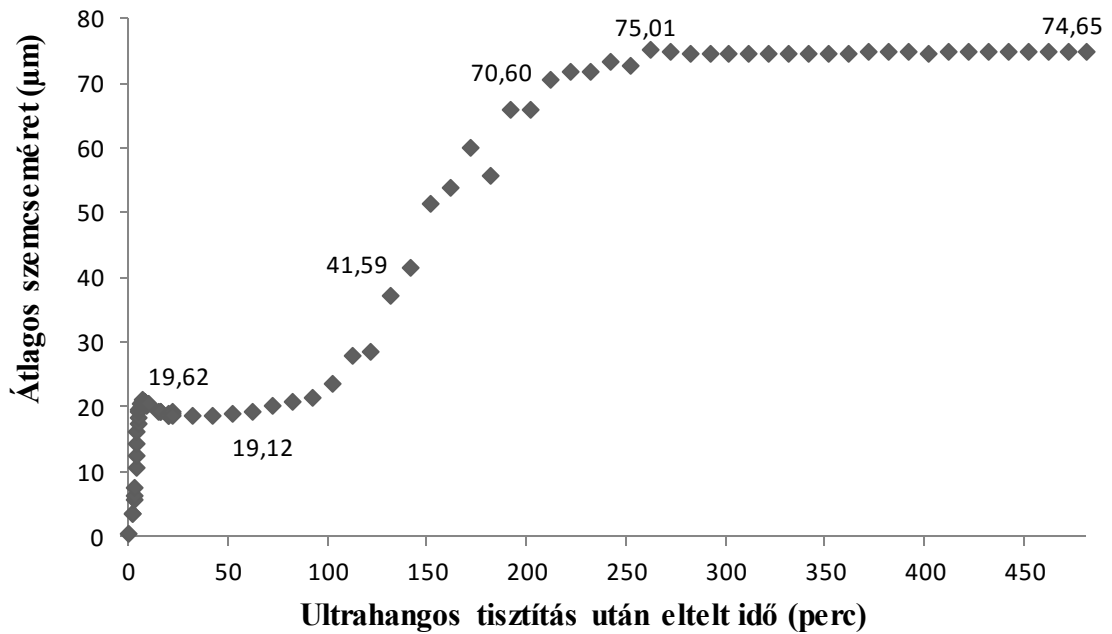
#### 4.1.2. Lézerdiffrakciós szemcseméret-eloszlás vizsgálat eredménye

Az elektronmikroszkópos vizsgálat során meghatároztuk az elemi szeléngömbök méretét, azonban már a képeken is megfigyelhető volt egyes szemcsék összetapadása. Ezért megvizsgáltam a szolt egy lézerdiffrakciós szemcseméreteloszlás-mérővel, mely a gyors mérések miatt remekül alkalmazható a szol átlagos szemcseméretében bekövetkező változások követésére. A 17. ábrán láthatjuk, hogy a gömböket szétválasztó ultrahangos fürdő után alig 2 perccel az átlagos szemcseméret ( $d_{0.5}$ ) már  $3,5 \mu\text{m}$ . Az első 10 percen belül a szemcseméret rendkívül gyorsan változik, ezért ezt külön ábrán ábrázoltam. A kiindulási pontnak az elektronmikroszkópos eredmények alapján  $0,25 \mu\text{m}$ -t választottam, az első mérési pont pedig azért  $1,5$  percnél van, mert ennyi ideig tartott a szol az ultrahangos fürdőből kivenni, belőle  $20 \text{ ml}$ -t a mintatérbe pipettázni, majd megvárni az első  $2 * 12$  másodperces mérés eredményét.



17. ábra: NanoSel szol átlagos szemcseméretének változása az ultrahangos tisztítás után eltelt idő függvényében, az első 10 percen belül

A 18. ábrán láthatjuk, hogy hosszabb ideig vizsgálva az átlagos szemcseméret a kezdeti kiugrás után lassabban, de tovább emelkedik, egészen addig, amíg 260 perc alatt be nem áll 75 µm-es maximumára, mely után már nem változik. A vizsgálatot 24 órán keresztül végeztem, azonban a jobb láthatóság érdekében csak az első 6 órát ábrázoltam.



18. ábra: NanoSel szol átlagos szemcseméretének változása az ultrahangos tisztítás után eltelt idő függvényében, az első 6 órában

#### 4.1.3. Nanoméretű elemi szelégömbök vizsgálata vizes közegben

Mind az elektronmikroszkópos, mind a lézerdiffrakciós szemcseméreteloszlás-mérő vizsgálatok alapján láthatjuk, hogy a gyártás során 250 nm-es elemi szelégömbök jönnek létre, melyek össze is tapadhatnak. Az ilyen méretű anyagok nem képesek átjutni a sejtfalon. Azt feltételeztük, hogy az elemi szelégömbök vizes közegben folyamatos átalakuláson mennek keresztül, oldott szelenid és szelenit keletkezik belőlük, mely vízoldható szelénformák biológiai rendszerekben már hasznosíthatók.

Feltételezésünk szerint az elemi szelén átalakulása vizes oldatba az alábbi, az alsó nyíl irányában erősen eltolt egyensúlyi folyamattal jellemezhető:

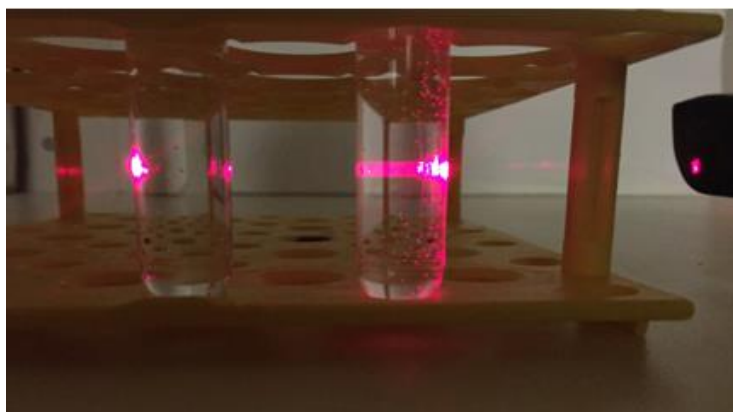


Kísérletem célja a feltételezett átalakulás vizsgálata, a reakcióból származó vízoldható termékek kimutatása és annak becslése volt, hogy az egyensúly szobahőmérsékleten milyen sebességgel áll be, továbbá az eredmények kiértékelésével modellt kívántam felállítani a nanoméretű elemi szelén biológiai rendszerekben tapasztalt viselkedésének magyarázatára.

A kísérlet folyamán a NanoSel szol felülúszójából vett mintákat 0,2 µm pórusú szűrőn átszűrve szétválasztottam a szolban lévő elemi szelégömböket és az oldott formákat (19. és 20. ábra).

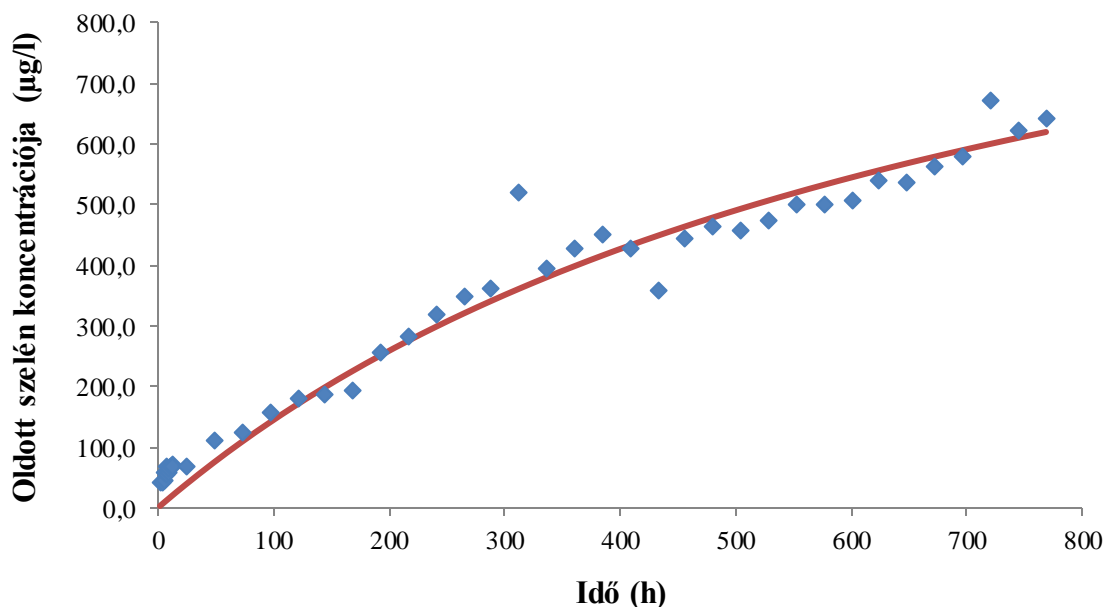


19. ábra: A 200 nm pórusméretű cellulóz-acetát membránszűrőn (balra) a NanoSel szolt átszűrve a 250 nm méretű elemi szelégömbök fennakadnak (jobbra)

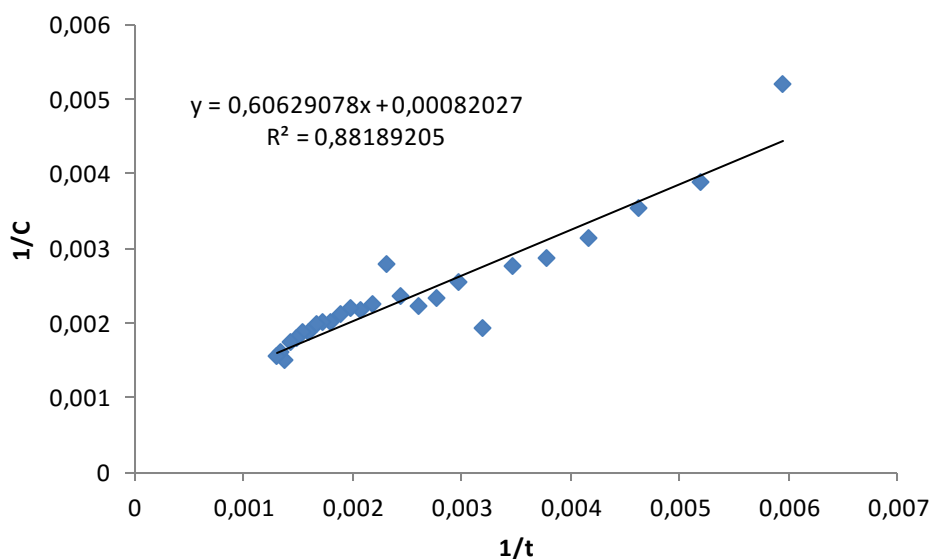


20. ábra: A bal oldali kémcsőben lévő, 200 nm pórusméretű szűrőn átszűrt felülúszóban már nincsenek elemi szelengömbök, ezért a jobb oldali kémcsőben lévő szűretlen felülúszóval ellentétben nem is látszik a lézernyaláb.

A szűrt felülúszó teljes szelénkoncentrációját az idő függvényében ábrázolva (21. ábra) láthatjuk, hogy bár a növekedés először lineárisnak tűnik, a meredekség nem állandó, lassul a kioldódás mértéke. Ezért egy telítési görbét illesztettem a függvényre, melyhez első lépésben linearizáltam a koncentráció ( $C$ ) és idő ( $t$ ) függvényét, majd ezeket ábrázolva (22. ábra) megállapítottam az elméleti maximum koncentráció ( $C_{max}$ ) és az egyensúlyi állandó értékét ( $k$ ).  $C_{max}$  értéknek 1219  $\mu\text{g/l}$ -t,  $k$  értéknek pedig 739.13-at kaptam.



21. ábra: NanoSel szol felülúszójának oldott szelénkoncentrációja a felülúszó cseréje óta eltelt idő függvényében, és a rá illesztett telítési görbe.



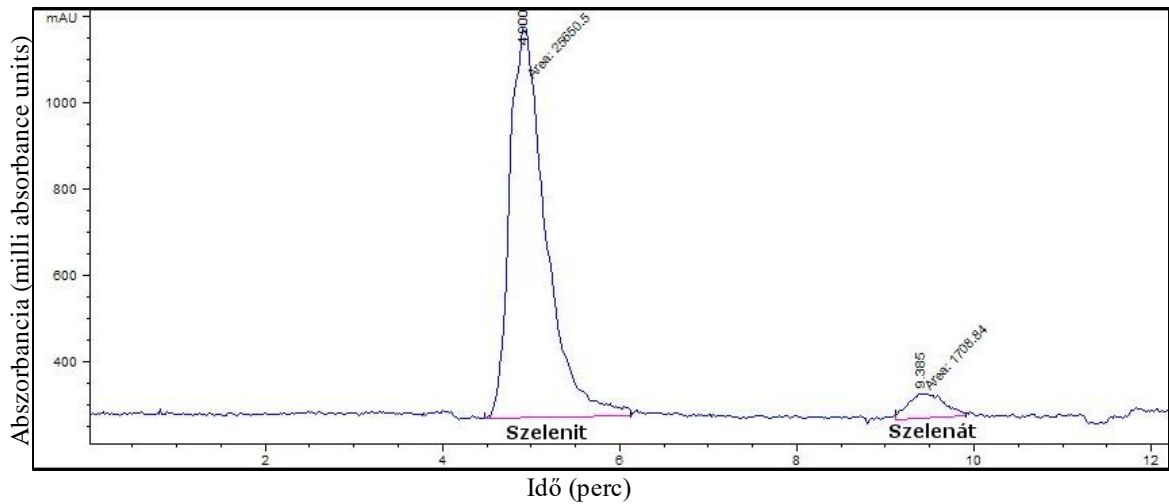
22. ábra: A linearizált értékek függvénye. A függvényt vizsgálva megállapítható, hogy  $C_{\max}=1219 \mu\text{g/l}$  és  $k=739,13$

A kapott értékeket a következő telítési görbe egyenletbe helyettesíttem be:

$$1/C = 1/C_{\max} + k/C_{\max} * t$$

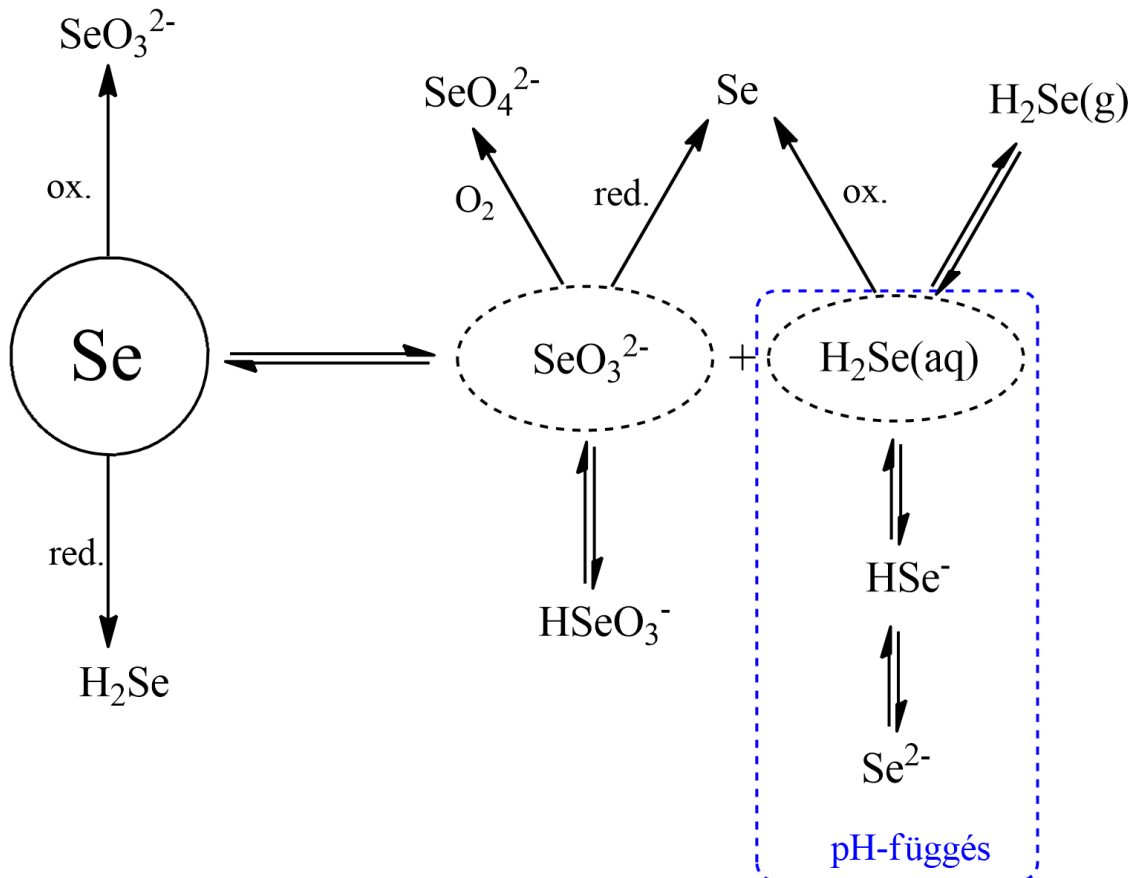
Az egyenletből kiszámolt C koncentráció értéket az idő függvényében ábrázolva és azt az első ábrába beillesztve láthatjuk (21. ábra), hogy a telítési görbe kis szórással illeszkedik, és interpolálva megállapíthatjuk, hogy az egyensúly igen hosszú idő alatt áll be, azonban a NanoSel szol 200 mg/l-es szelénkoncentrációjához képest igen alacsony 1,219 mg/l értéknél.

A felülíróval végzett speciációs vizsgálat igazolta (23. ábra), hogy az elemi szeléngömböket kiszűrve abban oldott szelenit található. Az oldott szelenid mennyisége kimutatási határ alatti volt, így arra csak az oldat jellegzetes szaga utalt. Láthatunk még egy alacsony szelenát csúcsot is, ez mutatja, hogy az oldott szelenit egy része a 30 napos kísérlet során szelenáttá oxidálódott.



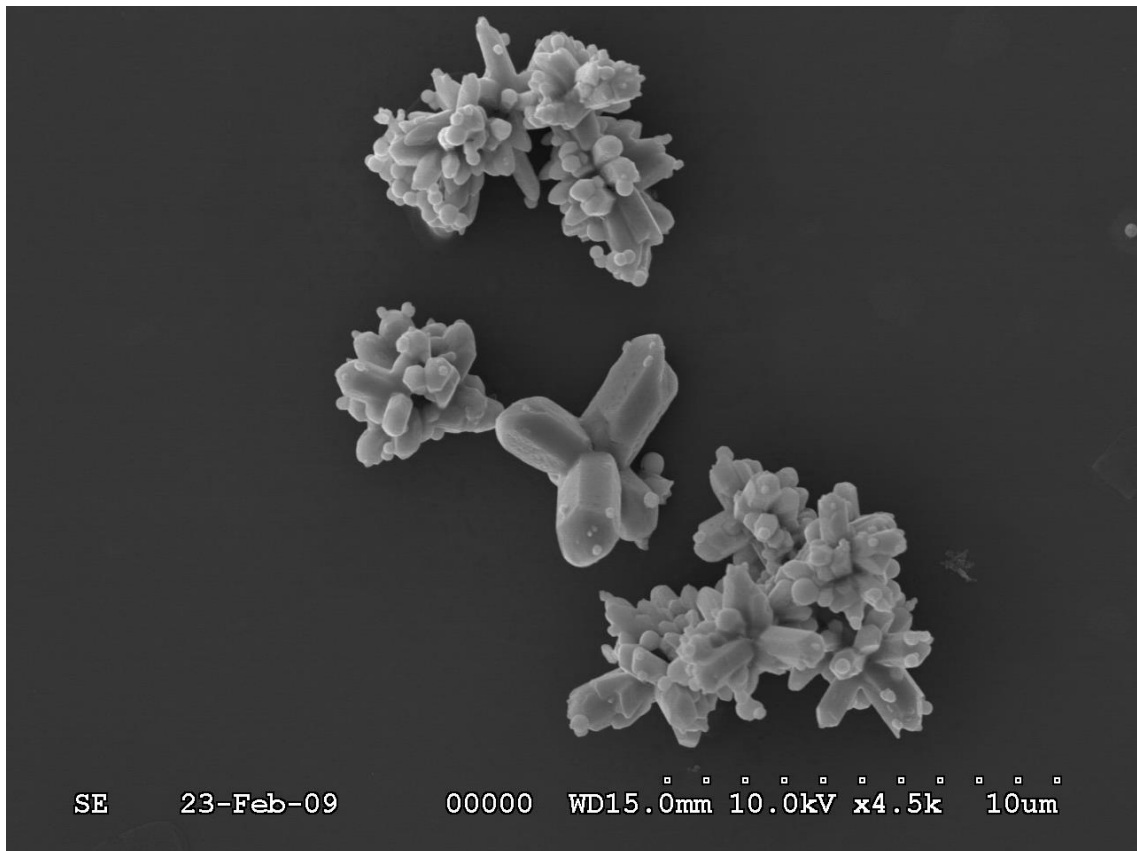
23. ábra: NanoSel szol 30 napos felülúszójának szelénspeciációs vizsgálata

A kapott eredmények alapján megpróbáltam létrehozni egy modellt, mely magyarázza a feltételezett egyensúlyi átalakulást. A 24. ábrán látható ez az elméleti modell, mely az elemi szelén desztillált vizes közegben történő diszproporcionálódását mutatja be, hidrogén-szeleniddé és szelenitté.



24. ábra: Nanoszelen átalakulásának feltételezett modellje

Ez egy olyan, az elemi szelénforma irányába erősen eltolt egyensúlyi folyamat, amely mint a vizsgálatból is kiderült, igen hosszú idő alatt áll be. A kísérlet zárt rendszerben zajlott, azonban a mintavételezések során érezni lehetett a hidrogén-szelenid jellegzetes szagát, ami deszorpcióra utal. A kísérlet végén ellenőriztem a megmaradt nanoszelén szol teljes szelénkoncentrációját, melynek 199,83 mg/kg-os értéke alapján megállapíthatjuk, hogy ez a deszorpció zárt rendszerben rendkívül lassú folyamat, és a mintavételezések során kiengedett hidrogén-szelenid gáz nem befolyásolta számottevően a kísérletet. Az ábrán látható, hogy a  $\text{H}_2\text{Se}(\text{aq})$  több lépcsőben deprotonálódik, a különböző formák között egyensúly alakul ki, pH-tól függő arányokkal. Ugyanez a pH-függő egyensúly kialakulása igaz a  $\text{SeO}_3^{2-}$  protonálódására is. Fontos megjegyezni, hogy az elemi szelén átalakulása során egyensúlyi folyamatról beszélünk, azonban a szelenitből és szelenidből létrejövő elemi szelén már feltételezhetően nem a baktériumok által előállított vörös monoklin formában van, hanem hexagonális szürke elemi szelénkristályok formájában a nanoszelén gömbökre tapad. Ez a 25. ábrán látható.



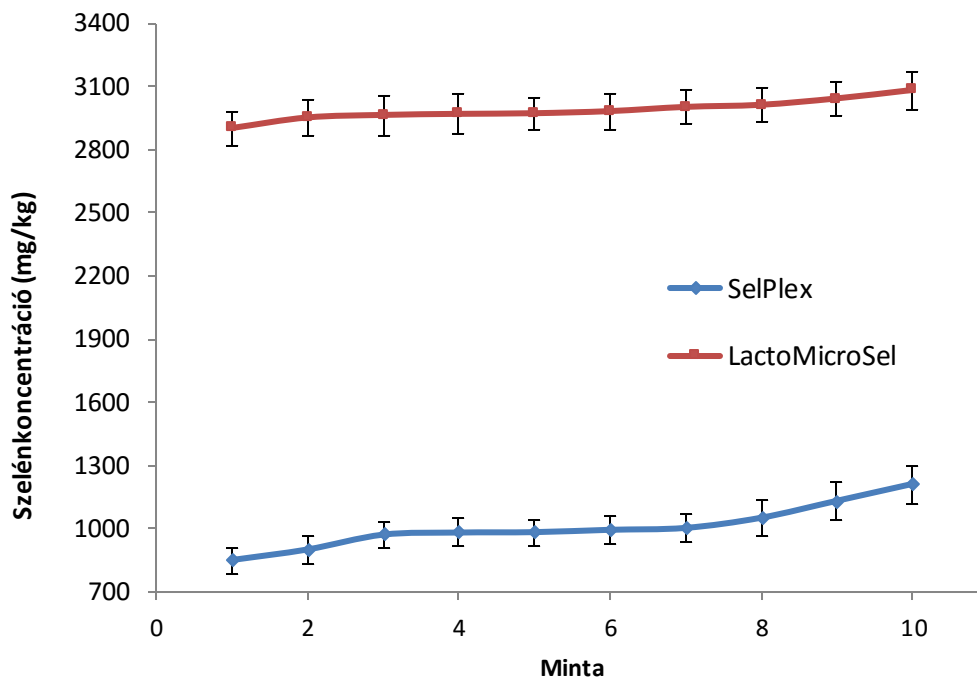
25. ábra: Elektronmikroszkópos felvétel a nanoszelén gömbökre kivált hexagonális elemi szelénkristályokról (Hitachi SEM)

## 4.2. LactoMicroSel szeléntartalmú joghurtpor előállítása és vizsgálata

Az itt bemutatott LactoMicroSel szeléntartalmú joghurtpor előállítását és a gyártási folyamat kidolgozását az Anyag és Módszer részben ismertettem.

### 4.2.1. LactoMicroSel homogenitásvizsgálata

Elvégeztük az elkészült LactoMicroSel homogenitásvizsgálatát is szelénre nézve, és összehasonlítottuk egy másik takarmányadalék (SelPlex) homogenitásával. (26. ábra)



26. ábra: LactoMicroSel homogenitásvizsgálata SelPlex-el összehasonlítva

### 4.2.2. No.42. szelénrel dúsított instant tejpör homogenitásvizsgálata

A 8. táblázatban láthatjuk a 3000 mg/kg szelénkoncentrációjú LactoMicroSel instant tejpörrel való keverésével előállított, 180 µg/kg szelénkoncentrációjú No42. instant tejpör homogenitás vizsgálatát.

8. táblázat: Szelénnel dúsított tejpör homogenitásvizsgálata

Minta	Ismétlés				Átlag
1	174	174	170	183	<b>175 ± 6</b> µg/kg
2	177	177	183	183	<b>180 ± 4</b> µg/kg
3	183	186	190	193	<b>188 ± 4</b> µg/kg
4	177	183	180	177	<b>179 ± 3</b> µg/kg
5	177	183	174	177	<b>178 ± 4</b> µg/kg
6	186	183	180	180	<b>182 ± 3</b> µg/kg
7	180	193	190	193	<b>189 ± 6</b> µg/kg
<b>Átlag</b>					<b>182 ± 6</b> µg/kg

A mért értékek homogenitásvizsgálatához egytényezős varianciaanalízist használtam, az eredményeket a 27. ábrán láthatjuk.

Egytényezős varianciaanalízis

#### ÖSSZESÍTÉS

Csoportok	Darabszám	Összeg	Átlag	Variancia
Oszlop 1	7	1254	179,1429	17,14286
Oszlop 2	7	1279	182,7143	37,57143
Oszlop 3	7	1267	181	56,33333
Oszlop 4	7	1286	183,7143	46,2381

#### VARIANCIAANALÍZIS

Tényezők	SS	df	MS	F	P-érték	F krit.
Csoportok között	84,71429	3	28,2381	0,718135	<b>0,550887</b>	3,008787
Csoporton belül	943,7143	24	39,32143			
Összesen	1028,429	27				

27. ábra: Szelénnel dúsított instant tejpör homogenitásvizsgálatának egytényezős varianciaanalízise

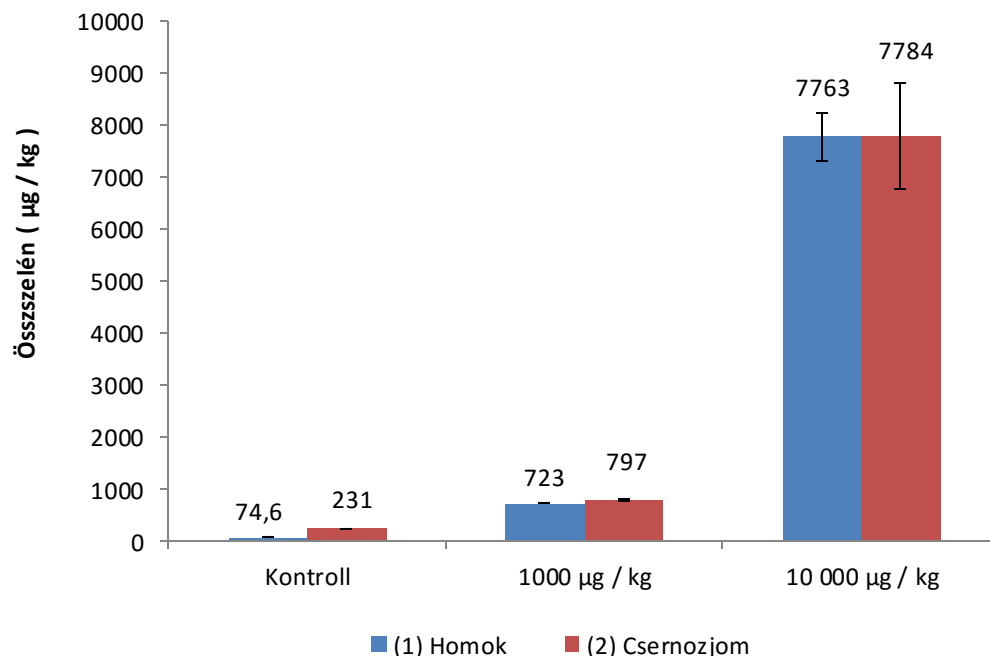
A kapott P-érték egyértelműen mutatja, hogy a minták közötti standard deviációnál nagyobb a mérés hibája, tehát a gyártott tétel homogenitása jobb, mint a mérések standard deviációja. A gyártott tétel homogenitása 1 g-os mintavételi szinten 3 % alatti a mérések alapján.

### 4.3. Nanoszelén vizsgálata talajban

A nanoszelén talajban való átalakulásának vizsgálata során a teljes szeléntartalom változásának segítségével kiszámítottuk a képződött hidrogén-szelenid mennyiségét, a víz- és savoldható szelénformák koncentrációjának meghatározásával pedig ellenőriztük a korábban bemutatott átalakulási modellünket.

#### 4.3.1. Teljes szeléntartalom

Míg az elemi szelén a talajhoz erősen kötődik, addig a keletkező gáz halmazállapotú hidrogén-szelenid könnyen eltávozik. Ezt bizonyítja a talajok összszelén-tartalmának változása is (28. ábra), ahol láthatjuk, hogy a kiindulási 1,00 és 10,0 mg/kg szelénnek csak 72-80%-a maradt a talajban, 8 hét alatt az elemi szelén 20-28%-a hidrogén-szeleniddé alakult és eltávozott. Erre utalt a talajok erős, jellegzetes szaga is. A csernozjom és homoktalaj között összszeléntartalmat tekintve nem volt jelentős különbség, kivéve a kontroll talajokat, ahol a csernozjom talajban 230  $\mu\text{g}/\text{kg}$  szelén található, míg a homoktalajban csak 75  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Ez a különbség a csernozjom talajok magasabb szervesanyag-tartalmával és így alaptól magasabb szeléntartalmával magyarázható (Kabata-Pendias, 2012).



28. ábra: Talajok összszeléntartalma 8 hét után (Tenyészedényes kísérlet, Debrecen, 2012)

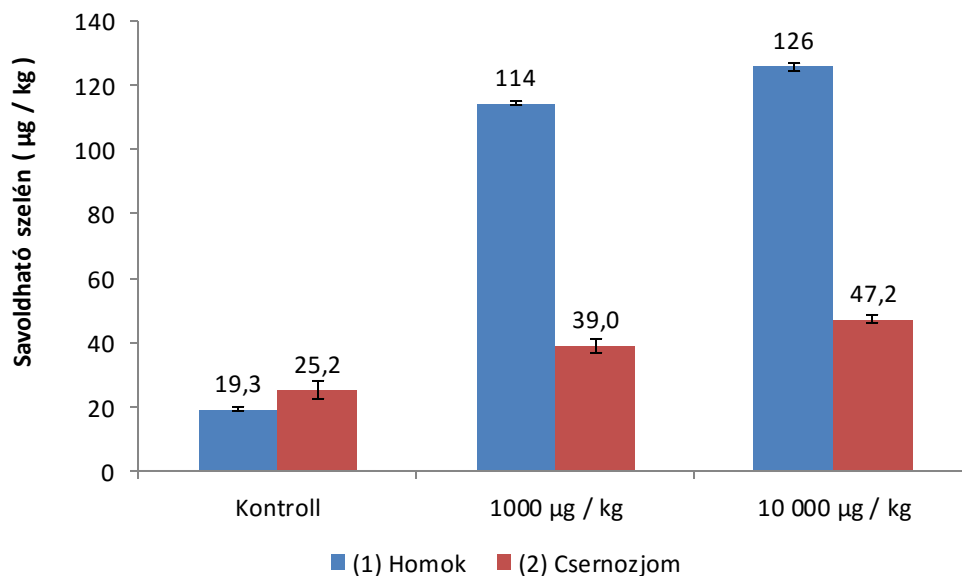
### 4.3.2. Vízoldható szeléntartalom

A talajok vízoldható szeléntartalmát is vizsgáltam, azonban az kimutatási határ ( $0,1 \mu\text{g} / \text{kg}$ ) alatt volt. Ez arra utal, hogy a talajban lévő szelenit a talajhoz erősen kötődik, és hogy ennyi idő alatt még nem oxidálódott jelentős mennyiségben szelenáttá, melyhez szántóföldi körülmények között is hosszabb időre, hónapokra, évekre van szükség. Mindkét megállapítást a szakirodalom is igazolja (Kádár, 1999; Kádár és Németh, 2003a; Kádár és Németh, 2003b; Széles, 2007).

### 4.3.3. Savoldható szeléntartalom

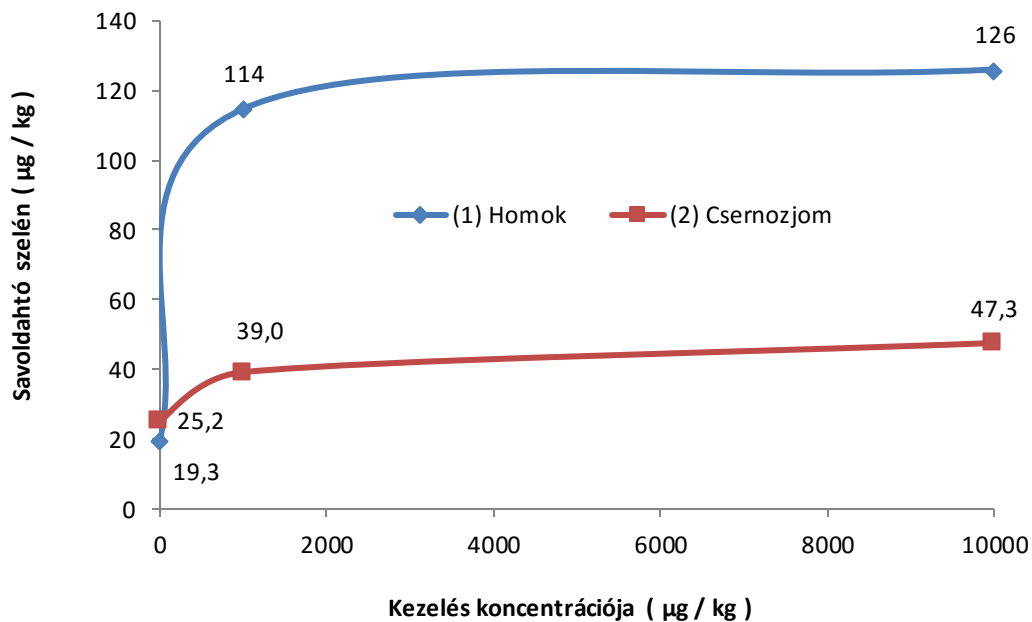
A talajok savoldható szeléntartalmát vizsgálva (29. ábra) megállapíthatjuk, hogy a savoldható szeléntartalom, mely nagyrészt szelenit, töredéke az összszelénnek,  $7800 \mu\text{g}/\text{kg}$ -ból  $120 \mu\text{g}/\text{kg}$ , azaz a hozzáadott nanoszelen nagy része megmaradt elemi szelén formában, a bemutatott átalakulási modellnek megfelelően. A képződő szelenitet a talajbaktériumok szerves szeléné alakították és tárolták, a keletkezett hidrogén-szelenid pedig gáz formában eltávozott.

A csernozjom talajokban szignifikánsan alacsonyabb volt a savoldható szeléntartalom, szakirodalom alapján ez szintén a magasabb szerves anyag tartalommal, baktériumtömeggel magyarázható, a két talaj közötti különbség a baktériumok által már felvett, fehérjékbe beépült szelén (Mao, 1999).



29. ábra: Talajok savoldható szeléntartalma (Tenyészedényes kísérlet, Debrecen, 2012)

Észrevehetjük továbbá, hogy a savoldható szeléntartalom nem arányosan növekedett az összszelénnel illetve a kezeléssel, ezt jól láthatjuk a 30. ábrán is.



30. ábra: A savoldható szeléntartalom változása a kezelés koncentrációjának függvényében  
(Tenyészedényes kísérlet, Debrecen, 2012)

Ez az eredmény beleillik a korábban bemutatott átalakulási modellbe, az egyensúlyi folyamat során keletkezett oldott szelén koncentrációja a kezdeti időszakban csak kis mértékben függ az elemi szelén koncentrációjától, az eltérő maximális érték csak igen hosszú idő alatt állna be, de ennyi idő alatt a nanoszelén kimosódik a talajból.

Eredményeink értékelésekor összevetettük azokat a szakirodalomban megtalálható adatokkal. Az eltérő szervesanyag-tartalom eltérő savoldható szelénkoncentrációt eredményez (Mao, 1999). A nagyobb baktériumtömeg azonban nagyobb szelénvesztéshez is vezethet, amennyiben az elemi szelént hidrogén-szeleniddé átalakítani képes baktériumok is találhatóak a talajban, mint például a *Bacillus selenitireducens* (Herbel et al., 2003). Az általunk vizsgált talajok esetén ez nem következett be, hiszen ha az átalakításra képes baktériumok lettek volna a talajban, a magasabb szervesanyag-tartalmú csernozjom talajnál alacsonyabb összszelén-koncentrációt figyeltünk volna meg. A szelénit szelenáttá való oxidálódása talajban egy jól ismert folyamat (Kádár és Németh, 2003a; Kádár és Németh, 2003b), 8 hétnél

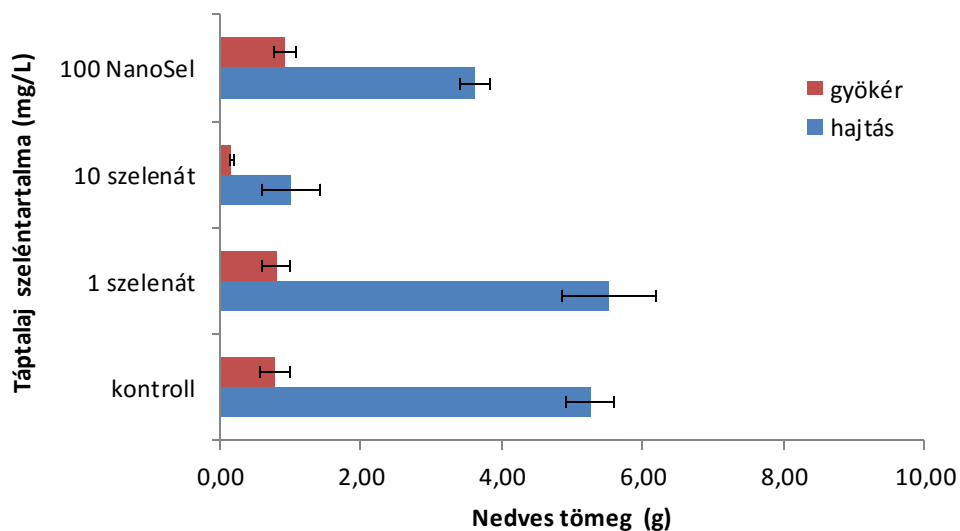
szignifikánsan több időre van szükség hozzá, és mire ez bekövetkezne, a nanoszelen feltehetőleg kimosódik a talajból. Ennek vizsgálatára mindenképpen célunk egy hosszútávú kísérlet beállítása. Tejsavbaktérium által előállított elemi szelént vizsgáló kísérletet nem találtunk, azonban egy új kutatás szerint (*Rashid és Lin, 2016*) a szelénessavból vegyi úton előállított, 65 nm átmérőjű nanoszelen-részecskék a magas szervesanyag-tartalmú talajban 100 nm átmérőjű, az alacsony szervesanyag-tartalmú talajban pedig 160 nm átmérőjű aggregátumokká álltak össze, és ezen aggregátumok mérete idővel egyre nagyobb lett. A méret növekedésével csökken a fajlagos felület, lassul az elemi szelén szelenitté való átalakulása, ami kisebb felvehető szelénkoncentrációt eredményez. Ez a kutatás is rámutatott arra, hogy a nanoszelen átalakulásának hosszú távú vizsgálatán túl szükség van az elemiszelen-gömbök átlagos méretének követésére is.

#### 4.4. Nanoszelén vizsgálata növényekben

Dohánynövényekkel végzett kísérletünkben azt vizsgáltuk, hogy a nanoszelén kezelésből származó szelén bejut-e a növények sejteibe és kloroplasztisza. Ezért a biomassza produkción és a növényeket ért oxidatív stressz vizsgálatán túl megmértük a sejtfall nélküli protoplasztok és izolált tilakoid membránok szelénkoncentrációjának változását, szelenáttal összehasonlítva.

##### 4.4.1. Biomassza-produkció dohánynövény gyökerében és hajtásában

A 31. ábrán látható, hogy az alacsony koncentrációjú (1 mg/kg) szelenát kezelésnek nem volt hatása sem a hajtás, sem a gyökér tömegére a dohánynövényekben. A magasabb, 10 mg/kg szelenát kezelés esetén azonban szignifikáns csökkenés figyelhető meg, a 100 mg/kg szelenátos kezelést pedig toxikusnak bizonyult a növények számára, olyannyira, hogy elpusztultak. A 100 mg/kg nanoszelénes kezelés hatására a hajtás nedves tömege 31 %-kal kevesebb, mint a kontroll csoport esetén, a gyökértömeg ellenben 13 %-kal nagyobb. Ezen eredmények korreálnak a szakirodalomban fellelhető, elemi szelénre vonatkoztatott adatokkal (*Brown és Shrift, 1982; Läuchli, 1993; Terry et al., 2000*).



31. ábra: Dohánynövény hajtás- és gyökér tömegének változása a különböző szelénkezelések hatására  
(Kontroll, 1 mg/kg szelenát, 10 mg/kg szelenát, 100 mg/kg NanoSel)  
(Táptalajon nevelt dohánynövények, Debrecen, 2015)

#### 4.4.2. Izolált protoplaszt és tilakoid membrán teljes szeléntartalma

A szelenátról ismert, hogy mobilis szelénforma, a növényekben könnyen szállítódik a hajtásos részbe és ott a sejtek citoplazmájában valamint a kloroplasztiszokban halmozódik fel. Itt lép be a kén asszimilációs útvonalba a szulfát helyett. Ezek alapján kísérletünkben a vártak megfelelően azt tapasztaltuk, hogy 1 és 10 mg/kg szelenát kezelés hatására a sejtfal nélküli dohány sejtekben (protoplasztok) a teljes szeléntartalom szignifikánsan megnőtt a kontrollhoz viszonyítva (9. táblázat). A szelenát kezeléshez viszonyítva a NanoSel-el kiegészített táptalajon fejlődött növények esetében ugyan kisebb mértékű szelénfelhalmozódást mértünk a sejtekben, de a kontrollhoz viszonyítva szignifikáns növekedést realizáltunk (9. táblázat). A növényi szövetekben a sejtek közötti anyagáramlás (metabolitok, szignálmolekulák stb.) a plazmodezmoszok mikrosatornáin keresztül valósul meg, melyek átmérői 2-2,5 nm (Christensen et al., 2009). Így a 250 nm nagyságú elemi szelénrészecskék ilyen formán nem juthatnak be. Azzal azonban, hogy a sejtekben szelénfelhalmozódást mértünk arra következtethetünk, hogy a növényi sejtek közötti extracelluláris térben is képesek az elemi partikulumok átalakulni ionos formába s így bejutni a sejten belülre.

9. táblázat: Protoplaszt szelénkoncentrációjának változása a különböző kezelések hatására

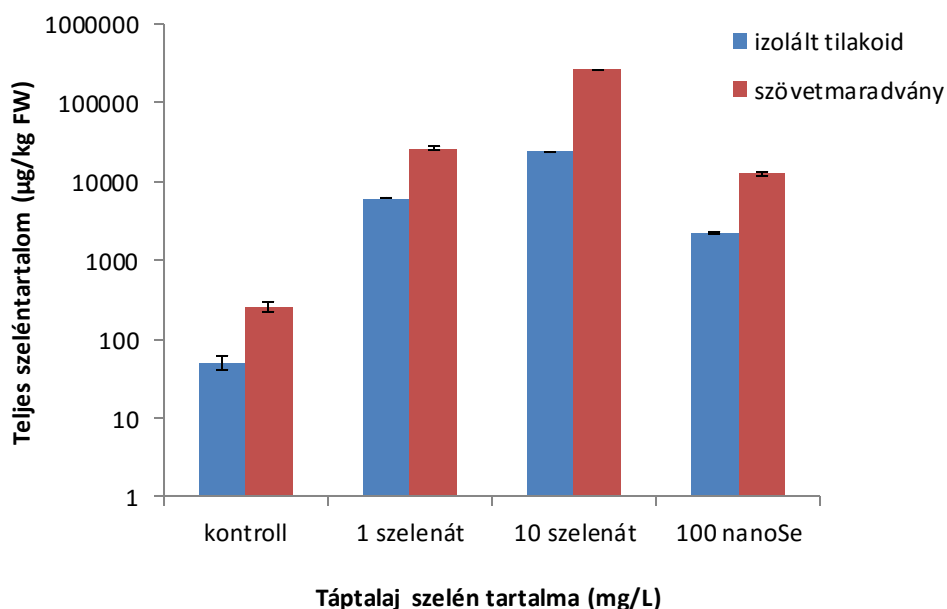
(Kontroll, 1 mg/kg szelenát, 10 mg/kg szelenát, 100 mg/kg NanoSel)  
(Táptalajon nevelt dohánynövények, Debrecen, 2015)

Kezelések (mg/kg)	ng/10 <sup>5</sup> sejt szeléntartalom
<b>kontroll</b>	0,194
<b>1 szelenát</b>	14,039
<b>10 szelenát</b>	55,114
<b>100 NanoSel</b>	1,141

Jajoo et al. (2012) módszere alapján a növényi levelekből közvetlenül izoláltunk kloroplasztisz tilakoid membránokat is, hogy nyomon kövessük, bejut-e a szelén a sejtorganelumba a NanoSel-el kiegészített táptalajon. Az izolálás során a tilakoid membránfrakció mellett visszamaradt szöveti maradékban is mértük a teljes szelén felhalmozódást. A két szelénformával végzett kezeléseket összehasonlítva a szelén-akkumuláció a kloroplasztiszok izolált tilakoidmembrán frakcióban hasonló tendenciát mutatott, mint izolált protoplasztok esetében. Eszerint a kontrollal összehasonlítva a NanoSel-t tartalmazó táptalajon nevelt növények izolált

tilakoidmembrán frakciójában szignifikánsan nagyobb teljes szeléntartalom volt kimérhető (32. ábra). Ezek az eredmények azt bizonyítják, hogy NanoSel kezelés mellett nem csak a növényi sejtekbe, hanem azon belül a kloroplasztisba is bejut a szelén valamilyen formában. Ezzel együtt a visszamaradt szövettörmelékben nagyságrenddel nagyobb mennyiségben tudtuk kimérni a felhalmozódó szelént, amit a logaritmikus ábrázolás jól mutat (32. ábra). A szövettörmelék fel nem tárt intakt sejteket, illetve feltárt sejtfal maradványokat tartalmaz, ahol sok szelén akkumulálódik, ezzel magyarázható a nagy különbség.

A két szelénforma felhalmozódását összehasonlítva azt tapasztaltuk, hogy a szelenát már alacsonyabb kezelési tartományban (1-10 mg/kg) nagyobb szelén felhalmozódást eredményez, mint a NanoSel kezelés (32. ábra). Ezen eredményeink korrelálnak a protoplasztokban tapasztalt szeléntartalom eredményekkel. A 10 mg/kg szelenát kezelés hatására ~10-szer akkora Se felhalmozódást tapasztaltunk a tilakoidmembránokban. Ez a koncentráció már károsan befolyásolja a membrán pigment-protein komplex szerveződését is. Ezzel szemben NanoSel-ből bár 100 mg/kg kezelést használtunk, a sejtekbe, sejtorganellumokba kisebb mennyiség jutott be, ami a tilakoid membrán struktúra és a fotoszintézis folyamatát érintő negatív hatásokat nem okoz.



32. ábra: Izolált tilakoid membránok és az izolálás során visszamaradt szövettörmelék teljes szeléntartalma (Kontroll, 1 mg/kg szelenát, 10 mg/kg szelenát, 100 mg/kg NanoSel) (Táptalajon nevelt dohánynövények, Debrecen, 2015)

Szelenátra vonatkozó eredményeink egyeznek a szakirodalomban fellelhető adatokkal (*Neuhierl és Böck, 1996; Terry et al., 2000; Hawkesford és Buchner, 2001*), azonban sem nanoszelenre, sem elemi szelénre vonatkozó eredményeket nem találtunk izolált protoplaszt és tilakoid membrán esetén.

#### 4.4.3. Tilakoid membránok lipidperoxidációja

A malondialdehid-tartalom mérését gyakran használják a lipidperoxidáció nyomonkövetésére oxidatív stresszek esetén (*Labanowska et al., 2012*).

Intakt levél mintákat és izolált tilakoidmembránokat vizsgálva egyaránt azt találtuk, hogy míg a nanoszelen (100 mg/kg) kezelés nem okozott szignifikáns eltérést a kontrollhoz viszonyítva (10. táblázat), addig a szelenátkezelés koncentrációtól függően láthatólag károsította a membránokat, a 10 mg/kg-es kezelés esetén szignifikánsan megnövekedett MDA-szintet figyeltünk meg. A megnövekedett MDA koncentráció oxidatív stresszhatásra utal. A szakirodalomban nagyon kevés szelén okozta megemelkedett MDA-szintre és elváltozott tilakoid membránrendszerre vonatkozó adat van, azonban zöldalgák esetén hasonló eredmények születtek (*Gojkovic et al., 2014*).

10. táblázat: Malondialdehid koncentráció változása dohánynövény intakt leveleiben és izolált tilakoidmembránjában különböző szelénkezelések hatására (Táptalajon nevelt dohánynövények, Debrecen, 2015)

<b>Kezelés (mg/kg)</b>	<b>MDA nmol/g intakt levél</b>	<b>SD</b>	<b>MDA nmol/g izolált tilakoid</b>	<b>SD</b>
<b>kontroll</b>	<b>29,2<sup>A</sup></b>	3,29	<b>236<sup>A</sup></b>	30,7
<b>1 szelenát</b>	<b>82,6<sup>B</sup></b>	4,90	<b>233<sup>A</sup></b>	25,8
<b>10 szelenát</b>	<b>146<sup>C</sup></b>	28,6	<b>391<sup>B</sup></b>	51,6
<b>100 NanoSel</b>	<b>39,1<sup>A</sup></b>	9,08	<b>228<sup>A</sup></b>	6,14

Egytényezős varianciaanalízis alapján az azonos oszlopban különböző betűvel jelölt értékek szignifikáns eltérést jelentenek ( $P < 0,05$ ).

#### **4.5. Nanoszelén vizsgálata állatokban – Brojler csirke kísérlet eredmények**

Állatkísérleteinkben megvizsgáltuk, hogy a LactoMicroSel szelénrel dúsított joghurtpor alkalmazható-e takarmánykiegészítőként, képesek-e belőle a szelént az állatok felvenni és hasznosítani, és az hogyan hat a tojástermelési és minőségi mutatókra

Brojler csirkékkel végzett kísérletünkben megvizsgáltuk, hogy a LactoMicroSel-es szelénkiegészítés hogyan hat az állatok testtömegére, takarmányértékesítésére, a relatív máj-, mell- és combtömegre, illetve hogy a belőle származó szelén bejut-e a májba, izomba, tollba.

##### **4.5.1. Testtömeg**

A testtömeg adatok elemzése során, az egyes kezeléseken belül, az ismétlések, ill. az ivarok között számottevő eltérést nem tapasztaltam, ezért a továbbiakban az egyes kezelések teljes létszámát egységesen vizsgálom. A testtömeg adatokat a 11. táblázatban szemléltetem. A takarmány SelPlex szelénforrással való kiegészítése nem befolyásolta szignifikáns mértékben a madarak testtömegét, annak értéke a kontroll csoporthoz hasonlóan alakult. A LactoMicroSel szelénkiegészítés önmagában alkalmazva nem idézett elő szignifikáns mértékű változást az állatok testtömegében, azonban a rákliszt/halliszt/LactoMicroSel kiegészítés hatására, akár 1x, akár 10x dózisban adagolva is kedvezőbben alakult a testtömeg a kontroll egyedekhez viszonyítva, a különbség azonban nem szignifikáns. Emellett fontos kiemelni, hogy a 10x dózisú LactoMicroSel kiegészítés hatására, minimális mértékben ugyan, de a hizlalás teljes ideje alatt elmaradt az állatok testtömege az 1x dózisú LactoMicroSel kiegészítésben részesült csoporthoz viszonyítva, a vágáskori élőtömeg azonban a rákliszt/halliszt/LactomicroSel 10x csoportban volt a legkedvezőbb a kísérleti csoportok közül.

A testtömeg tekintetében a rákliszt/halliszt/LactomicroSel 1x kezelés egyedei mutatták a legkedvezőbb értékeket, amely eltérés a LactomicroSel 1x-hez viszonyítva a kísérlet első négy hetében szignifikánsnak is bizonyult ( $P < 0,05$ ).

11. táblázat: A brojlercsirkék élőtömegének alakulása a nevelés teljes ideje alatt (Brojler csirke kísérlet, Gödöllő, 2012)

		<b>0.</b>	<b>7.</b>	<b>14.</b>	<b>21.</b>	<b>28.</b>	<b>36.</b>	<b>42.</b>
		<b>nap</b>	<b>nap</b>	<b>nap</b>	<b>nap</b>	<b>nap</b>	<b>nap</b>	<b>nap</b>
<b>Kontroll</b>	átlag	42	<b>113<sup>A</sup></b>	284 <sup>AB</sup>	599 <sup>AB</sup>	1064 <sup>AB</sup>	1524 <sup>A</sup>	1942 <sup>AB</sup>
	SD	2	11	59	124	202	303	347
<b>Selplex</b>	átlag	40	109 <sup>AB</sup>	299 <sup>AB</sup>	<b>578<sup>A</sup></b>	1040 <sup>AB</sup>	1557 <sup>A</sup>	<b>1890<sup>A</sup></b>
	SD	2	15	34	88	154	202	232
<b>LactoMicroSel 1x (LMS 1)</b>	átlag	40	<b>104<sup>B</sup></b>	<b>272<sup>A</sup></b>	<b>573<sup>A</sup></b>	<b>1026<sup>A</sup></b>	1526 <sup>A</sup>	1918 <sup>AB</sup>
	SD	1	14	57	110	172	236	260
<b>LactoMicroSel 10x (LMS 10)</b>	átlag	41	109 <sup>AB</sup>	292 <sup>AB</sup>	579 <sup>AB</sup>	1012 <sup>AB</sup>	1572 <sup>A</sup>	1958 <sup>AB</sup>
	SD	2	7	31	78	137	188	213
<b>Rákliszt/Halliszt 1x (RH+LMS 1)</b>	átlag	41	<b>118<sup>A</sup></b>	<b>311<sup>B</sup></b>	<b>657<sup>B</sup></b>	<b>1146<sup>B</sup></b>	1665 <sup>A</sup>	2023 <sup>AB</sup>
	SD	2	19	56	104	165	261	248
<b>Rákliszt/Halliszt 10x (RH+LMS 10)</b>	átlag	41	115 <sup>AB</sup>	307 <sup>AB</sup>	623 <sup>AB</sup>	1087 <sup>AB</sup>	1648 <sup>A</sup>	<b>2033<sup>B</sup></b>
	SD	2	17	31	77	120	167	160

Egytényezős varianciaanalízis alapján az azonos oszlopban eltérő betűvel jelölt értékek szignifikáns mértékben különböznek egymástól ( $P < 0,05$ ).

#### 4.5.2. Tömeggyarapodás

Az átlagos napi tömeggyarapodás értékeit a 12. táblázat tartalmazza. Az adatok alapján megállapítható, hogy a takarmány SelPlex-el és önállóan LactoMicroSel-el történő kiegészítése a tömeggyarapodás tekintetében sem eredményezett szignifikáns mértékű változást. Ugyanakkor a rákliszt/halliszt/LactomicroSel kiegészítés 1x és 10x dózis esetében is kedvező hatást gyakorolt, ez az eltérés azonban feltehetően az állati eredetű melléktermékek révén bevitt többlet fehérjével magyarázható.

A statisztikai elemzés során több esetben is szignifikáns eltéréseket tapasztaltam az egyes eltérő szeléntartalmú takarmányt fogyasztó csoportok között. A testtömeg alakulásához hasonlóan a tömeggyarapodás tekintetében is kimutatható volt a rákliszt/halliszt/LactomicroSel 1x kiegészítés pozitív hatása a csak LactoMicroSel kiegészítést tartalmazó takarmányt fogyasztó csoporthoz viszonyítva ( $P < 0,05$ ).

A hizlalási időszak ötödik hetében minden szelénkiegészítésben részesült kísérleti csoport átlagos napi tömeggyarapodása meghaladta a kontroll értékét, amely a LactoMicroSel 1x kivételével szignifikáns mértékűnek is bizonyult, a SelPlex és az 1x

rákliszt/halliszt/LactoMicroSel kiegészítést kapó állatok esetén  $P < 0,05$  szinten, míg a 10x LactoMicroSel kezelést kapó csoportok esetén  $P < 0,01$  szignifikancia szinten, rákliszt/halliszt kiegészítéssel és a nélkül is. A hizlalás ötödik hetében kimutatott jelentős mértékű növekedést követően minden kísérleti csoport gyarapodása visszaesett a kontrollhoz viszonyítva az utolsó héten ( $P < 0,05$ ).

12. táblázat: Napi átlagos tömeggyarapodás (g/állat)  
(Brojler csirke kísérlet, Gödöllő, 2012)

		1. hét	2. hét	3. hét	4. hét	5. hét	6. hét
<b>Kontroll</b>	átlag	<b>10,5<sup>A*</sup></b>	24,4 <sup>A</sup>	44,9 <sup>AB</sup>	66,4 <sup>AB</sup>	<b>63,3<sup>A*</sup></b>	<b>58,1<sup>A*</sup></b>
	SD	2,0	7,0	10,0	13,8	17,0	6,8
<b>Selplex</b>	átlag	9,8 <sup>AB</sup>	26,9 <sup>A</sup>	42,6 <sup>AB</sup>	65,0 <sup>AB</sup>	<b>74,9<sup>B*</sup></b>	<b>47,8<sup>B*</sup></b>
	SD	2,1	3,3	8,6	9,1	8,3	11,5
<b>LMS 1</b>	átlag	<b>9,0<sup>B*</sup></b>	26,4 <sup>A</sup>	<b>42,2<sup>B*</sup></b>	<b>64,6<sup>B</sup></b>	71,5 <sup>AB</sup>	55,9 <sup>AB</sup>
	SD	2,0	4,6	8,9	10,0	15,9	10,8
<b>LMS 10</b>	átlag	9,6 <sup>AB</sup>	25,5 <sup>A</sup>	43,2 <sup>AB</sup>	61,9 <sup>AB</sup>	<b>81,4<sup>B**</sup></b>	56,5 <sup>AB</sup>
	SD	0,7	3,1	7,3	9,6	9,1	7,5
<b>RH + LMS 1</b>	átlag	<b>10,9<sup>A*</sup></b>	27,6 <sup>A</sup>	<b>49,5<sup>A*</sup></b>	<b>71,7<sup>A</sup></b>	<b>75,2<sup>B*</sup></b>	<b>48,1<sup>B*</sup></b>
	SD	2,6	5,8	7,6	11,0	12,4	16,8
<b>RH + LMS 10</b>	átlag	10,6 <sup>AB</sup>	27,3 <sup>A</sup>	47,3 <sup>AB</sup>	66,3 <sup>AB</sup>	<b>80,1<sup>B**</sup></b>	<b>52,1<sup>B*</sup></b>
	SD	2,3	2,7	9,3	7,6	10,4	10,7

Egytényezős varianciaanalízis alapján az azonos oszlopban eltérő betűvel jelölt értékek szignifikáns mértékben különböznek egymástól  
(Egy csillag:  $P < 0,05$ , Két csillag:  $P < 0,01$ )

#### 4.5.3. Átlagos napi takarmányfogyasztás

A takarmányfogyasztás egyedi mérésére nem volt lehetőség, így statisztikai elemzésre sem volt mód, továbbá a tartástechnológia sem tette lehetővé a szóródás, ill. pazarlás teljes mértékű kizárását, illetve annak mértékének meghatározását. Ezek mértéke elsősorban a hizlalási időszak első két hetében lehet jelentős.

A 13. táblázat és 33. ábra foglalja össze az átlagos egyedi takarmányfogyasztás alakulását a kísérlet teljes idejére vonatkoztatva.

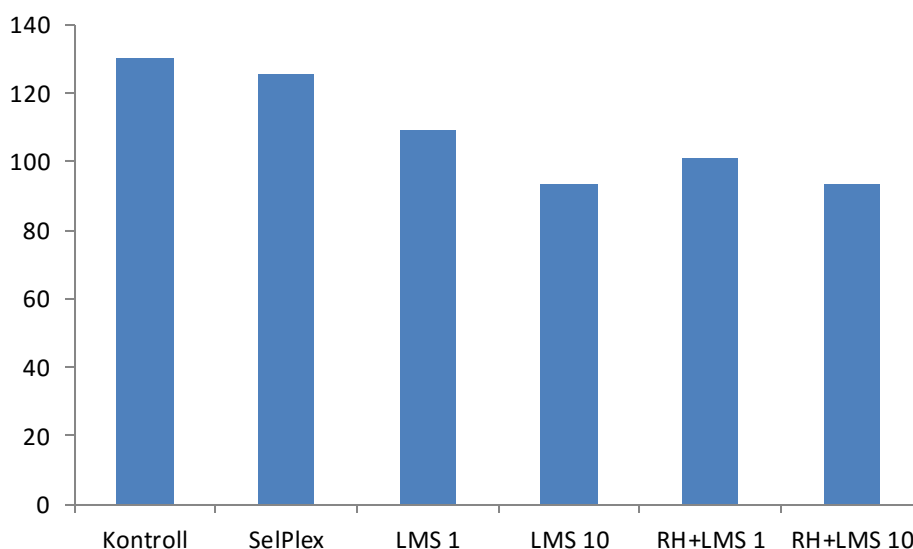
13. táblázat: Az átlagos egyedi takarmányfogyasztás alakulása a nevelés teljes ideje alatt heti bontásban (g/nap)  
(Brojler csirke kísérlet, Gödöllő, 2012)

	1. hét	2. hét	3. hét	4. hét	5. hét	6. hét
<b>KONTROLL</b>	43,5	118,0	129,6	150,0	161,4	179,4
<b>SELPLEX</b>	36,9	118,3	154,4	129,4	145,5	168,5
<b>LMS 1</b>	37,3	79,6	101,5	128,2	142,6	166,7
<b>LMS 10</b>	36,0	45,8	72,5	108,1	140,2	158,6
<b>RH + LMS 1</b>	37,3	66,6	88,7	128,9	150,2	133,5
<b>RH + LMS 10</b>	36,8	45,0	62,3	118,9	158,7	138,0

Az egyedi takarmányfogyasztás alakulását heti bontásban vizsgálva megállapítható, hogy a kontroll és az SelPlex szelénkiegészítőt tartalmazó takarmányokat kapó csoport értékei csaknem a nevelés teljes időtartama alatt meghaladták a LactoMicroSel tartalmú takarmányokat fogyasztó csoportokét. A kísérlet csaknem teljes ideje alatt a nagyobb dózisu szelén kiegészítést tartalmazó takarmányból kevesebbet fogyasztottak az állatok, rákliszt kiegészítéssel és a nélkül is (13. táblázat).

Amennyiben a hizlalás teljes idejére vonatkoztatva adjuk meg az egyes csoportok egyedeinek átlagos napi takarmányfogyasztását, látható, hogy a kontroll és a SelPlex szelénkiegészítőt tartalmazó takarmányt fogyasztó csoportok közel azonos értéket mutatnak, míg a LactoMicroSel kiegészítést tartalmazó takarmányokból minden csoportban kevesebbet fogyasztottak az állatok.

A legkevesebb takarmányt a 10-szeres LactoMicroSel kiegészítést és rákliszt/halliszt keverékét kapó csoport fogyasztotta (33. ábra).



33. ábra: Az átlagos egyedi takarmányfogyasztás alakulása a nevelés teljes idejére vonatkoztatva (g/nap)  
(Brojler csirke kísérlet, Gödöllő, 2012)

#### 4.5.4. Átlagos takarmányértékesítés

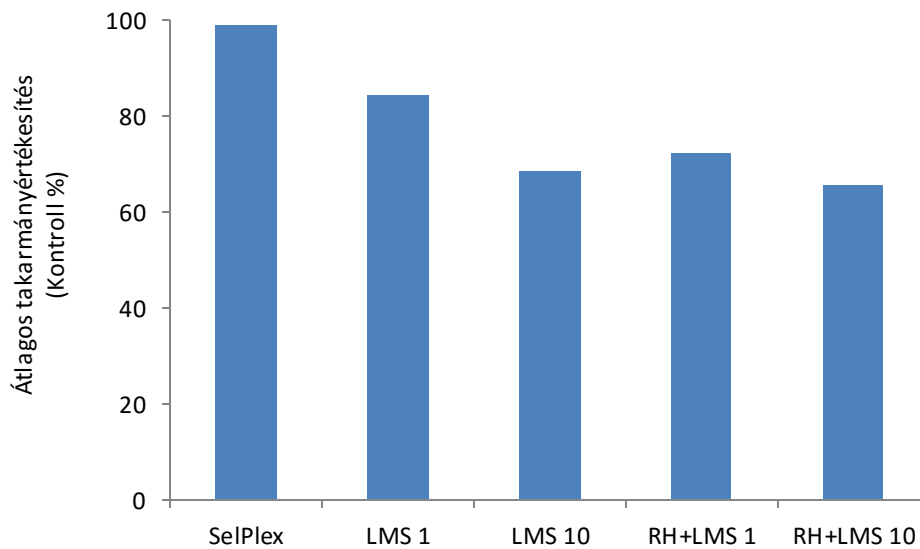
Mivel a takarmányfogyasztást nem egyedileg határoztuk meg, így a takarmányértékesítést, azaz az 1 kg tömeggyarapodáshoz felhasznált takarmány mennyiségét, sem volt módom statisztikailag értékelni.

A takarmányértékesítés adatait a 14. táblázatban foglaltam össze, amelyek alapján elmondható, hogy a kontroll csoport takarmányértékesítése a hizlalás teljes ideje alatt gyengébb volt az összes kísérleti csoporténál. Emellett a LactoMicroSel kiegészítést tartalmazó takarmányokat fogyasztó kísérleti csoportok (L1, L10, RH+LMS 1, RH+LMS 10) mindegyike rendre kedvezőbb takarmányértékesítést mutatott a SelPlex csoporthoz viszonyítva is (14. táblázat).

14. táblázat: Takarmányértékesítés alakulása a hizlalás egyes heteiben  
(Brojler csirke kísérlet, Gödöllő, 2012)

	1. hét	2. hét	3. hét	4. hét	5. hét	6. hét
<b>KONTROLL</b>	4,14	4,84	2,89	2,26	2,55	3,00
<b>SELPLEX</b>	3,75	4,52	3,73	1,99	1,94	3,52
<b>LMS 1</b>	4,11	3,12	2,40	1,98	1,99	2,98
<b>LMS 10</b>	3,67	1,77	1,68	1,75	1,72	2,87
<b>RH + LMS 1</b>	3,42	2,41	1,79	1,80	2,00	2,77
<b>RH + LMS 10</b>	3,48	1,66	1,37	1,80	1,98	2,65

Amennyiben a takarmányértékesítést a hizlalás teljes időtartamára vonatkoztatva egyetlen átlagos értékkel jellemezzük, mind a négy LactoMicroSel kiegészítés esetén kedvezőbb eredményt kapunk, mind a kontrollhoz, mind a SelPlex-hez viszonyítva is. Legkedvezőbbben az RH + LMS 10 csoport takarmányértékesítése alakult (34. ábra), amely feltehetően összefügg az ebben a csoportban észlelt kisebb takarmányfogyasztással, amelynek tápanyagait viszont, az eredmények alapján, a madarak jobb hatékonysággal építették be szervezetükbe.



34. ábra: A kísérleti csoportok takarmányértékesítése a teljes hizlalási időre vonatkoztatva a kontrollhoz viszonyítva (Brojler csirke kísérlet, Gödöllő, 2012)

#### 4.5.5. Vágási paraméterek

A kísérlet 42. napján próbavágást végeztünk, amelynek során csoportonként 10-10 egyedet vizsgáltunk. A vágást követően a máj, a jobb mell és a jobb comb tömegét mértem. Az élőtömeg hatásának kizárására a mért adatokat az adott madár élőtömegéhez viszonyítottam és a relatív máj, mell és comb tömeget számítottam ki (15. táblázat), és viszonyítottam egymáshoz a statisztikai elemzés során.

15. táblázat: A relatív máj, mell és combtömeg (g/100 g testtömeg) alakulása az egyes kezelések hatására  
(Brojler csirke kísérlet, Gödöllő, 2012)

		<b>relatív májtömeg</b>	<b>relatív melltömeg</b>	<b>relatív combtömeg</b>
<b>KONTROLL</b>	ÁTLAG	1,5	8,1	8,8
	SD	0,2	0,8	0,4
<b>SELPLEX</b>	ÁTLAG	2,0	8,5	9,6
	SD	0,3	0,9	0,6
<b>LMS 1</b>	ÁTLAG	1,8	8,4	9,6
	SD	0,2	1,1	0,6
<b>LMS 10</b>	ÁTLAG	1,5a	8,2	9,4
	SD	0,2	0,9	0,7
<b>RH+LMS 1</b>	ÁTLAG	2,0	8,6	9,2
	SD	0,2	1,0	0,6
<b>RH+LMS 10</b>	ÁTLAG	2,0	8,2	9,4
	SD	0,3	0,6	0,7

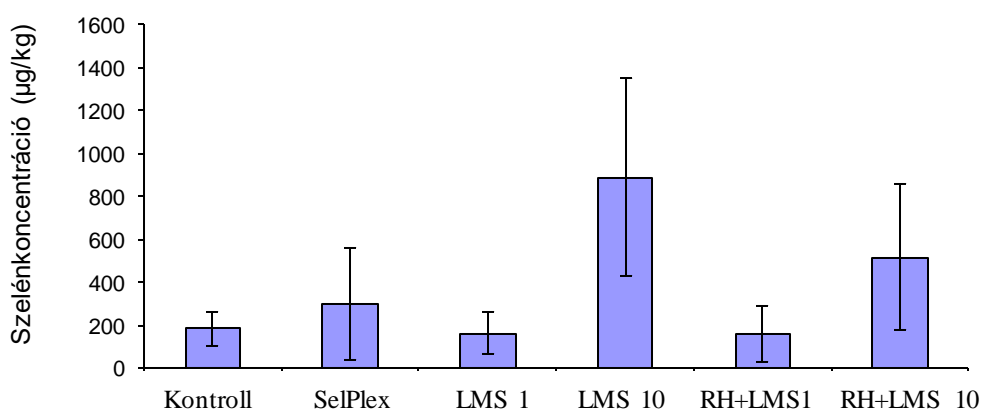
A relatív máj, mell és combtömeg esetében minden kísérleti csoport teljesítménye meghaladta a kontroll értékeit.

#### 4.5.6. Szelénkoncentrációk

A 16. táblázatban illetve a 35-36. ábrán láthatjuk a máj és izom szelénkoncentrációjának változását. A máj szeléntartalmát illetően a kontroll, a SelPlex, RH+LMS 1 és a LMS 1 kezelések nem különböztek statisztikailag szignifikánsan, csak a tízszeres koncentrációt tartalmazó LMS 10 és a RH+LMS 10 kezelések okoztak szignifikáns növekedést. (16. táblázat, 35. ábra)

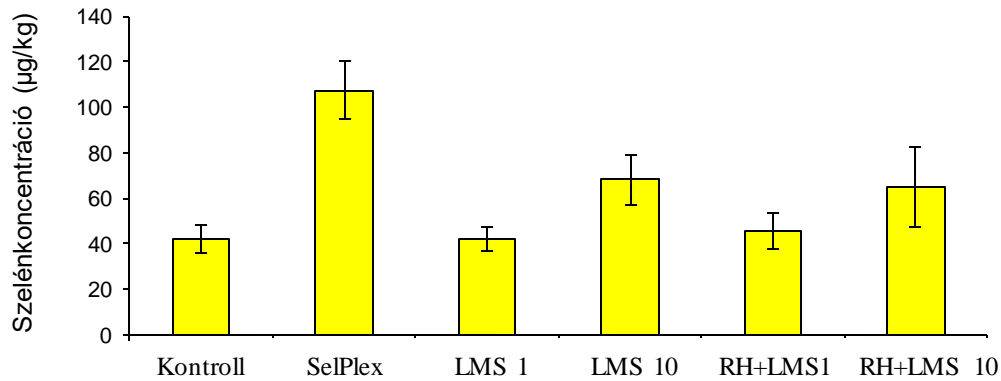
16. táblázat: Szelénkoncentráció a májban és izomban  
(Brojler csirke kísérlet, Gödöllő, 2012)

Kezelés	Máj		Izom	
	Mért szelén µg/kg	SD µg/kg	Mért szelén µg/kg	SD µg/kg
<b>Kontroll</b>	<b>185</b>	± <b>80</b>	<b>42,0</b>	± <b>5,9</b>
SelPlex	300	± 262	107,5	± 12,8
LMS 1	160	± 98	41,8	± 5,2
<b>LMS 10</b>	<b>890</b>	± <b>461</b>	<b>68,3</b>	± <b>11,0</b>
RH + LMS 1	160	± 129	45,4	± 8,2
RH + LMS 10	517	± 340	65,1	± 17,5



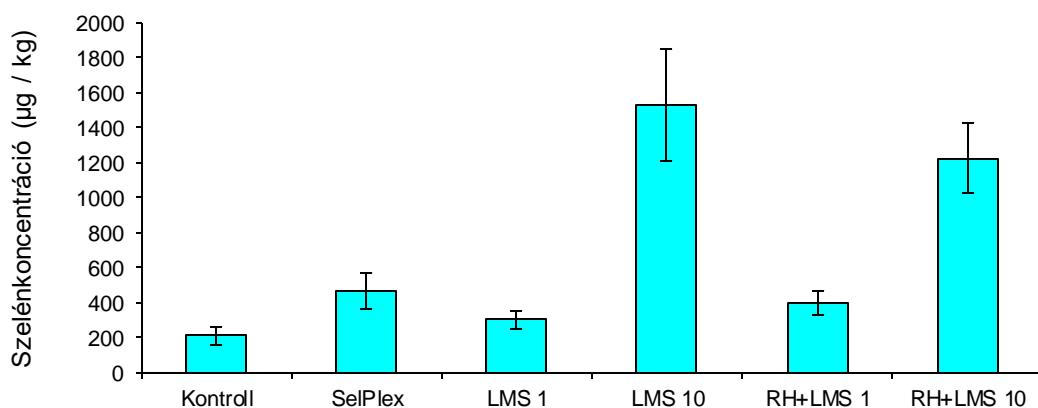
35. ábra: A máj szeléntartalma a különböző kezelésekben  
(Brojler csirke kísérlet, Gödöllő, 2012)

Az izomban a SelPlex jelentősen emelte a szelénszintet, a LactoMicroSel csak tízszeres kezelésben mutatott a kontrolltól szignifikáns eltérést (16. táblázat, 36. ábra)



36. ábra: A mellizom szeléntartalma a különböző kezeléseken (Brojler csirke kísérlet, Gödöllő, 2012)

A madarak tollából is meghatároztam a szelénkoncentrációt, mivel a szelén a korábbi ismereteink szerint jól kimutatható a tollból. A toll szelénszintje egyértelműen bizonyítja, hogy a LactoMicrosel felszívódik a takarmányból és nincs szignifikáns különbség a Selplex és a LactoMicrosel között a mérések alapján. (37. ábra)



37. ábra: Toll szeléntartalma a különböző kezelésekre hatással (Brojler csirke kísérlet, Gödöllő, 2012)

Eredményeinket összehasonlítottuk a szakirodalomban megtalálható adatokkal. A legtöbb kutatásban a szervetlen szelénformákkal, mint például a szelenátsókkal való takarmánykiegészítést hasonlították össze a szerves szelenometioninnel való kiegészítéssel. Az általános tapasztalat az, hogy a szervetlen formáknál nagyságrendekkel jobban felszívódó szelenometioninnal való kiegészítés hatására megnövekedett az állatok tömege, javult a tömeggyarapodás és a tápanyagértékesítés, illetve megemelkedett a vér glutathion-peroxidáz aktivitása már 0,3 mg/kg szelénpótlás esetén is (Yoon *et al.* 2007; Heindl *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2011; De Medeiros *et al.* 2012; De Almeida *et al.*, 2012). Nanoszelénnel kapcsolatos kutatások is fellelhetők, bár nem az általunk használt tejsavbaktériumok által előállított nanoszelént vizsgálták, hanem hidrazin-hidráttal előállított 25-35 nanométeres szelén nanoszálakat (Senthil *et al.*, 2015), vagy marhaszérum-albumin felhasználásával előállított 50-100 nanométeres gömböket (Mohapatra *et al.*, 2014). Mindkét esetben a mi eredményeinkkel analóg hatásokat figyeltek meg: a 0,3 mg/kg koncentrációjú nanoméretű elemi szelén kezelés hatására a nanoszál forma esetén javult az állatok testtömeg- és tömeggyarapodás mutatója az első 6 hétben, a gömb forma esetén pedig megnövekedett a máj, izom és vérplazma szeléntartalma, illetve megnőtt a glutathion-peroxidáz és szuperoxid-dizmutáz aktivitás, mind a kontrollhoz, mind a nátrium-szelenit kezeléshez viszonyítva. Érdekes, hogy Dlouha *et al.* (2008) kísérletében a szelénnel dúsított *Chlorella* alga a nanoszelénhez hasonló, a szelenometioninnél szignifikánsan jobb hatásokat produkált, tehát takarmánykiegészítésre az is optimális forma lehet.

#### 4.6. Nanoszelén vizsgálata állatokban - Tojótyúk kísérlet eredményei

A tojótyúk kísérletben a LactoMicroSel kiegészítés hatását vizsgáltuk a madarak tojástermelési és tojásmínőségi mutatóira. A kísérlet két menetben zajlott, mivel a kezelések nagy számához viszonyítva kevés állattal dolgoztunk. A két menet között 2 hetes kiürülési periódust tartottunk. Az első menetben a rákliszt/halliszt nélküli LactoMicroSel kiegészítést hasonlítottuk össze kontrollal és SelPlex kezeléssel, míg a második menetben a rákliszt/halliszt kiegészítés hatását vizsgáltuk, LMS nélkül illetve 1x LMS és 10x LMS kiegészítéssel, kontrollhoz és egymáshoz viszonyítva.

##### 4.6.1. Tojástermelés

A tojástermelési adatokat az 17-18. táblázatban szemléltetem. Míg a különböző kezelésekben a két kísérleti menetben jelentős eltérések nem mutatkoznak, addig azonban az mégis kiemelendő, hogy a LactoMicroSel kezelés mindkét kísérleti menetben kedvező hatást gyakorolt a tojástermelésre, magasabb termelési százalékot eredményezve. Ez a hatás a rákliszt/halliszt/LactomicroSel 10x kezelésben volt a legjelentősebb – csaknem 10%.

17. táblázat: A tojástermelés alakulása az I. menetben  
(Tojótyúk kísérlet, Gödöllő, 2012)

	Tojástermelés	
	db	%
SelPlex	13,3	88,9
Kontroll	13,9	92,4
LMS 1	13,4	95,6
LMS 10	14,2	94,9

18. táblázat: A tojástermelés alakulása a II. menetben  
(Tojótyúk kísérlet, Gödöllő, 2012)

	Tojástermelés	
	db	%
Kontroll	12,8	85,1
RH Kontroll	14,0	93,0
RH+LMS 1	13,6	90,8
RH+LMS 10	14,1	94,3

#### 4.6.2. Tojásindex, tojástömeg

Amint az a 19. táblázatban látható, bár a tojás szélesség, ill. hosszúság tekintetében adódtak szignifikáns eltérések, a tojásindex csupán a második kísérleti periódusban mutatott szignifikáns eltérést.

A tojás hosszúsága, szélessége és tömege tekintetében mindkét kísérleti periódusban azonos irányú változásokat találtunk. Az első periódusban az 1x LactoMicroSel kiegészítés esetén voltak a legkisebbek a tojások ( $P < 0,05$ ). A második kísérleti periódusban hasonló eltéréseket tapasztaltunk, azaz az 1x LactoMicroSel kezelésben tojt tojások lettek a legkisebbek az összes többi csoporthoz hasonlítva ( $P < 0,05$ ).

19. táblázat: A tojás mennyiségi paramétereinek alakulása a kísérlet mindkét menetében  
(Tojótyúk kísérlet, Gödöllő, 2012)

	TOJÁS-HOSSZÚSÁG (mm)		TOJÁS-SZÉLESSÉG (mm)		TOJÁSINDEX (hossz/szélesség)		TOJÁSTÖMEG (g)	
	átlag	SD	átlag	SD	átlag	SD	átlag	SD
	I. menet							
Kontroll	55,13 <sup>A</sup>	1,75	44,06 <sup>A</sup>	0,79	1,25 <sup>A</sup>	0,05	58,94 <sup>A</sup>	2,71
SelPlex	55,68 <sup>A</sup>	1,53	43,61 <sup>C</sup>	0,85	1,28 <sup>B</sup>	0,04	58,33 <sup>A</sup>	3,38
LMS 1	54,03 <sup>B</sup>	1,44	42,87 <sup>B</sup>	1,01	1,26 <sup>A</sup>	0,03	54,66 <sup>B</sup>	3,39
LMS 10	55,56 <sup>A</sup>	1,73	43,97 <sup>AC</sup>	1,04	1,26 <sup>AB</sup>	0,04	59,01 <sup>A</sup>	4,36
	II. menet							
Kontroll	54,50 <sup>A</sup>	2,04	43,41 <sup>A</sup>	1,09	1,26	0,05	57,12 <sup>A</sup>	4,30
RH-Kontroll	55,18 <sup>A</sup>	1,42	43,70 <sup>A</sup>	1,04	1,26	0,03	58,42 <sup>A</sup>	3,16
RH+LMS 1	53,68 <sup>B</sup>	1,52	42,90 <sup>B</sup>	1,10	1,25	0,03	55,10 <sup>B</sup>	4,01
RH+LMS 10	54,83 <sup>A</sup>	1,40	43,52 <sup>A</sup>	0,81	1,26	0,03	57,60 <sup>A</sup>	3,18

Egytényezős varianciaanalízis alapján az azonos oszlopban különböző betűvel jelölt értékek szignifikáns eltérést jelentenek ( $P < 0,05$ )

#### 4.6.3. Szik tömege

Az önálló szelén-kiegészítés esetén minden kísérleti csoportban kisebb tömegű volt a szik, amely minden esetben statisztikailag is szignifikáns (kontroll *vs.* LMS 10  $P < 0,05$ ; kontroll *vs.* SelPlex ill. LMS 1  $P < 0,01$ ) volt.

A rákliszt-halliszt kiegészítés ezt a hatást úgy tűnik kompenzálta, hiszen a kísérleti csoportokban gyakorlatilag azonos volt a szik tömege minden csoportban (20. táblázat).

20. táblázat: A szik tömegének alakulása a kísérlet során  
(Tojótyúk kísérlet, Gödöllő, 2012)

	SZIKTÖMEG (g)	
	átlag	SD
	I. menet	
Kontroll	16,88 <sup>A</sup>	0,64
SelPlex	15,96 <sup>B**</sup>	0,88
LMS 1	15,45 <sup>B**</sup>	1,16
LMS 10	16,04 <sup>B*</sup>	1,65
	II. menet	
Kontroll	14,82 <sup>A</sup>	1,04
RH-Kontroll	14,95 <sup>A</sup>	1,12
RH+LMS 1	14,84 <sup>A</sup>	0,91
RH+LMS 10	14,79 <sup>A</sup>	1,09

Egytényezős varianciaanalízis alapján a különböző betűvel jelölt értékek szignifikáns eltérést jelentenek  
(egy csillag:  $P < 0,05$ , két csillag:  $P < 0,01$ )

#### 4.6.4. Szik színe

A színvizsgálat eredményét a 21. táblázatban foglaltam össze.

21. táblázat: Szik színének alakulása a kísérlet során  
(Tojótyúk kísérlet, Gödöllő, 2012)

	L* (világosság)		a* (vörös)		b* (sárga)	
	átlag	SD	átlag	SD	átlag	SD
	I. menet					
Kontroll	35,65 <sup>A</sup>	0,45	1,11	0,22	29,00 <sup>A</sup>	0,67
SelPlex	35,47 <sup>AB</sup>	0,59	1,05	0,24	29,16 <sup>AB</sup>	0,44
LMS 1	35,11 <sup>B</sup>	0,59	1,00	0,40	28,52 <sup>B</sup>	0,62
LMS 10	35,47 <sup>AB</sup>	0,65	1,13	0,30	28,87 <sup>AB</sup>	0,86
	II. menet					
Kontroll	32,91 <sup>A</sup>	0,38	2,34 <sup>A</sup>	0,43	27,41	0,66
RH-Kontroll	33,02 <sup>A</sup>	0,44	3,07 <sup>B</sup>	0,26	27,14	0,59
RH+LMS 1	37,95 <sup>A</sup>	15,33	3,29 <sup>BC</sup>	0,75	32,40	16,41
RH+LMS 10	33,05 <sup>A</sup>	0,45	3,41 <sup>C</sup>	0,32	27,55	0,53

Egytényezős varianciaanalízis alapján az azonos oszlopban különböző betűvel jelölt értékek szignifikáns eltérést jelentenek ( $P < 0,05$ )

Az önálló szelén kezelések esetén csupán két esetben sikerült szignifikáns eltérést kimutatni. Minden kísérleti csoportban világosabb lett a szelén-kezelés hatására a szik, azonban ez az eltérés csak a LactoMicroSel-1x kezelés esetén volt szignifikáns ( $P < 0,05$ ). Emellett a szik sárga színárnyalata a SelPlex esetében intenzívebb volt a kontrollnál, míg a LactoMicroSel hatására mindkét dózisban alacsonyabb  $b^*$  értékek a jellemzőek. Ugyanakkor ezek az eltérések a kontrollhoz viszonyítva statisztikailag nem igazolhatók, míg a SelPlex és a LactomicroSel-1x kezelések között a különbség már szignifikánsnak adódott ( $P < 0,05$ ).

A második kísérleti periódusban minden kísérleti csoport szignifikánsan vörösebb színű volt a kontrollnál. Ezt feltehetően a ráklisztben megtalálható színanyag, az astaxanthin szikben történő megjelenése okozhatja. Ugyanakkor fontos megjegyezni, hogy a LactomicroSel hatására a színváltozás kifejezettebb, mint önálló rákliszt-halliszt etetés esetén, amely a 10x dózisu szelén kezelés esetén szignifikánsnak is adódott.

#### 4.6.5. Héj száraz tömege és vastagsága

A héj vastagsága és tömege várható módon azonos eltéréseket mutatott az egyes kísérleti csoportokban. Az önálló szelénkezelés esetében, habár a mért értékek nagyon kismértékű eltéréseket mutatnak, az 1x-es és 10x-es LactoMicroSel kiegészítés között ez az eltérés már szignifikánsnak adódott, azaz a 10x-es LactoMicroSel bevétel megnövelte a héj tömegét és vastagságát a többi csoporthoz képest.

A második kísérleti periódusban a kontrollhoz képest minden csoportban nagyobb héjtömeget és héjvastagságot mértem, amely feltehetően a rákliszt-halliszt többlet Ca-bevitelével magyarázható (22. táblázat).

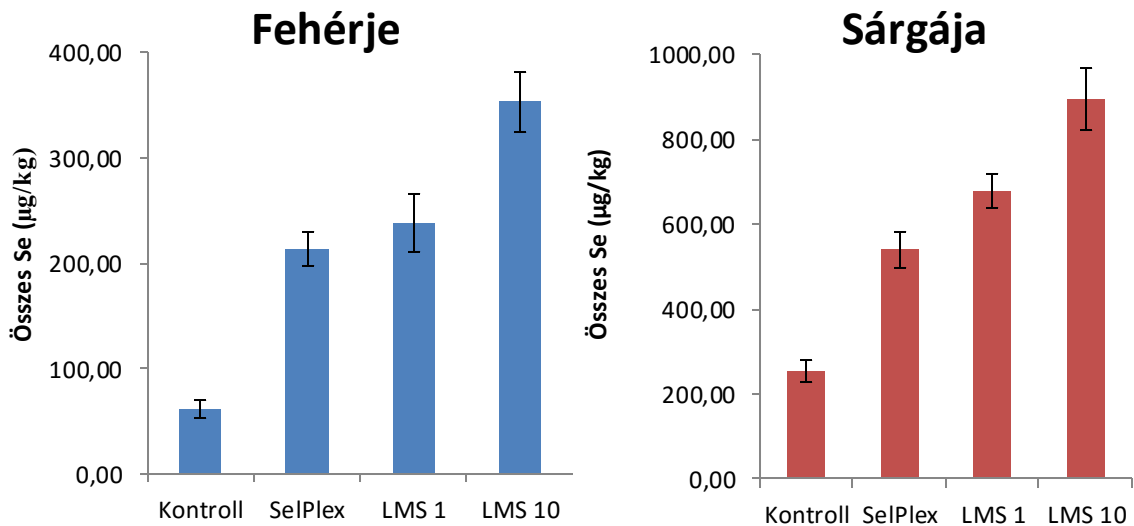
22. táblázat: A héjvastagság és –tömeg alakulása a kísérlet során  
(Tojótyúk kísérlet, Gödöllő, 2012)

	HÉJVASTAGSÁG		HÉJTÖMEG	
	átlag	SD	átlag	SD
	I. menet			
Kontroll	0,37 <sup>AB</sup>	0,02	6,01 <sup>A</sup>	0,32
SelPlex	0,37 <sup>AB</sup>	0,03	5,96 <sup>A</sup>	0,46
LMS 1	0,36 <sup>A</sup>	0,02	5,67 <sup>B</sup>	0,28
LMS 10	0,38 <sup>B</sup>	0,02	6,06 <sup>A</sup>	0,53
	II. menet			
Kontroll	0,34 <sup>A</sup>	0,03	5,76 <sup>A</sup>	0,56
RH-Kontroll	0,37 <sup>B</sup>	0,02	6,18 <sup>B</sup>	0,27
RH+LMS 1	0,37 <sup>BC</sup>	0,03	5,88 <sup>A</sup>	0,49
RH+LMS 10	0,35 <sup>C</sup>	0,03	5,95 <sup>AB</sup>	0,42

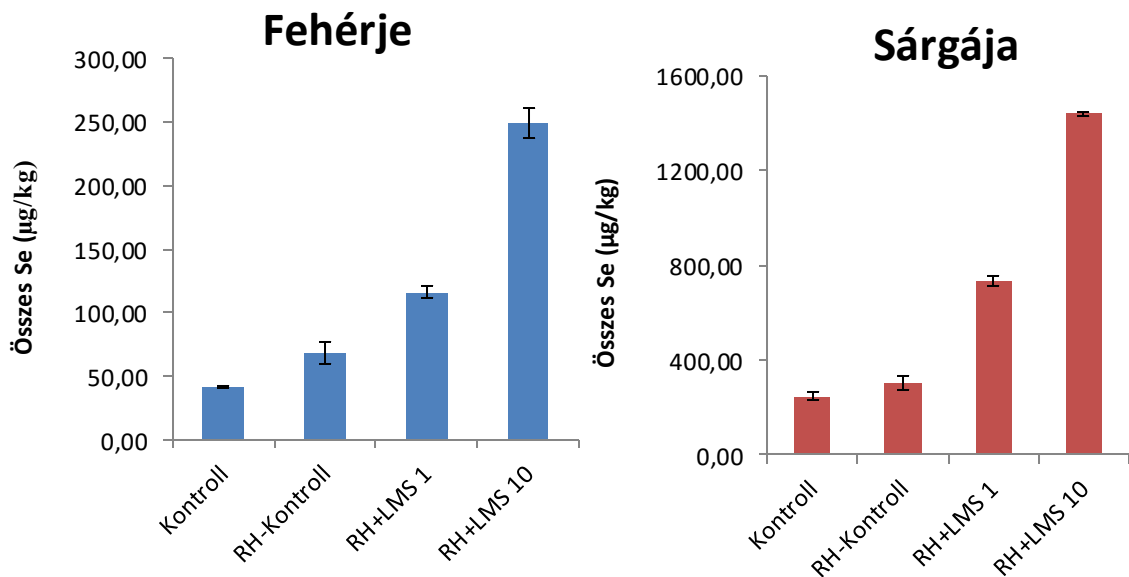
Egytényezős varianciaanalízis alapján az azonos oszlopban szereplő eltérő betűk szignifikáns eltérést jeleznek ( $P < 0,05$ )

#### 4.6.6. Tojások szeléntartalma

A 38-39. ábra alapján megállapíthatjuk, hogy a LactoMicroSel mindkét koncentrációjában jobban növelte a tojás szeléntartalmát, mint a SelPlex, mind a fehérjében, mind a sárgájában, akár magában alkalmazva, akár rákliszt-halliszttel kombinálva.



38. ábra: Tojások szeléntartalmának összehasonlítása a I. menetben (Tojótyúk kísérlet, Gödöllő, 2012)



39. ábra: Tojások szeléntartalmának összehasonlítása a II. menetben (Tojótyúk kísérlet, Gödöllő, 2012)

Eredményeinket összehasonlítottuk a szakirodalomban fellelhető adatokkal, és bár az elemi szelén kiegészítés hatását a tojás mennyiségi és minőségi paramétereire vizsgáló kutatást nem találtunk, szervetlen formákkal, illetve szelenometioninnal történő kiegészítésre számos tanulmány fellelhető. Minden kutatásban közös eredmény, hogy mind a szervetlen, mind a szerves formákból az állatok képesek a szelént felvenni, és az bejut a tojásokba, így a takarmány szeléndúsításával emelt szeléntartalmú tojás, mint funkcionális élelmiszer állítható elő (*Fisinin et al., 2009*). A szelenometionin és a szelenit hatását összehasonlítva viszont megállapíthatjuk, hogy a szerves szelénformát az állatok jobban képesek hasznosítani, annak hatására szignifikánsan megemelkedik a tojástermelés, megnő a tojások és a tojásfehérje relatív tömege, illetve a héjvastagság, és a tojások szeléntartalma is több mint kétszeresére emelkedik, a szelenit kezeléssel összehasonlítva (*Utterback et al., 2005; Reis et al., 2009; Gjorgovska et al., 2012*). Továbbá *Austin és Milton (1974)* eredményei alapján megállapíthatjuk, hogy a szerves szelénformák pozitív hatást gyakorolnak a tojások keltethetőségi mutatójára is: 6 hét elteltével a szelénkiegészítést nem kapó csoportok megtermékenyített tojásainak csak 42%-a kelt ki, míg a 0,1 mg/kg szelenomethionnal kezelt csoportnál ez az érték 90%.

Látható, hogy bár ezek a kutatások ugyan nem nanoszelénre vonatkoznak, a szelenometionin hatásában a mi eredményeinkkel egyeznek, és bizonyítják a szerves forma pozitív hatásait, mind a kontroll, mind a szervetlen szelénsókkal való kiegészítéssel összehasonlítva. Mivel eredményeink alapján a szeléntartalmú joghurtporból az állatok képesek voltak a szelént felvenni, és az a szelenometioninhoz hasonló pozitív hatásokat produkált, a tojás szeléntartalmát pedig szignifikáns mértékben növelte, kijelenthető, hogy ideális megoldás lehet a takarmány szelénpótlására, és emelt szeléntartalmú tojás előállítására.

## 5. KÖVETKEZTETÉSEK, JAVASLATOK

Vörös elemi nanoszelénnel végzett kísérletek során már korábban bebizonyosodott, hogy ugyanolyan felvehetőség mellett kevésbé toxikus, mint a szelenit, szelenát, szelenometionin, mind a növények (*Domokos-Szabolcsy et al., 2012; Domokos-Szabolcsy et al., 2014*) mind az állatok (*Zhang et al., 2001; Whang et al., 2007; Nagy et al., 2015*) esetében. A vörös elemi nanoszelént több módon lehet előállítani, aszkorbinsav, marhaalbumin-szérum, illetve baktériumok segítségével. A különböző előállítási módok, baktériumok esetén a különböző törzsek különböző mérettartománnyal és viselkedéssel rendelkező nanorészecskéket eredményeznek. Kísérleteim első lépése egy olyan gyártási folyamat kidolgozása volt, mely nanoméretű elemiszelén-részecskéket eredményez tejsavbaktériumok felhasználásával, két teljesen eltérő felhasználási területre.

A laboratóriumi felhasználásra szánt NanoSel monodiszperz szelén szol segítségével a tejsavbaktériumok által előállított vörös elemiszelén-részecskék viselkedését, felvehetőségét, toxicitását vizsgáltuk különböző rendszerekben, ezért az elsődleges szempont a tiszta, homogén, könnyen kezelhető anyag előállítása volt, mely nem tartalmaz sejtörmeléket. A szelenittel dúsított MRS tápvelesben inkubált *Lactobacillus casei* baktériumok védekezési mechanizmusuk részeként nanoméretű elemi szeléngömböket halmoznak fel a sejtfalon belül. Ezek a gömbök elektronmikroszkópos felvételek alapján 250 nm méretűek és megfelelően homogének. A sejtfal sósavval történő roncsolása majd szűréssel történő eltávolítása után kapott desztillált vizes szol már csak a tiszta elemiszelén-részecskéket tartalmazza, a kidolgozott protokollt követve 200 mg/l koncentrációban. A lézerdiffrakciós szemcseméreteloszlás-vizsgálat kimutatta, hogy ezek az elemi szeléngömbök könnyen összetapadnak 75 µm-es csomókká, ezért felhasználás előtt ultrahangos tisztítás javasolt.

A szeléntartalmú takarmányadaléknak illetve étrendkiegészítőnek szánt LactoMicroSel por előállításakor egészen más szempontokat vettünk figyelembe, melyek közül a legfontosabb az volt, hogy csak olyan összetevőket alkalmazzunk a folyamat során, melyek az élelmiszeriparban engedélyezettek, továbbá a tápközeg és baktériumtörzs megválasztásakor próbáltunk egy költséghatékony megoldást találni. Ezen szempontok alapján tápközegnek szelénnel dúsított tejsavót, baktériumtörzsnek pedig *Streptococcus thermophilus* és *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* tartalmazó, kifejezetten joghurtgyártáshoz kialakított Yo-Mix 401 keveréket választottunk. Az elkészült

joghurtban az elemi szeléngömböket nem tisztítottuk és választottuk el, azok a beszárított majd ledarált, a kidolgozott protokollt követve 3000 mg/kg szelénkoncentrációjú joghurtpor formájában kerülnek felhasználásra. Az így elkészült joghurtpor megfelelően homogén, állatkísérletekben való felhasználásán kívül szelénnel dúsított instant tejpör (no.42<sup>®</sup> tejpör), szelénpótló tableta (LactoMicroSel<sup>®</sup> tableta) és pajzsmirigy működését segítő étrendkiegészítő (PajzsKomplex<sup>®</sup> tableta) készült belőle. A gyártás kidolgozása után az előállított nanoszelén átalakulásának vizsgálata következett, hiszen a 250 nanométeres elemi szeléngömbök nem juthatnak át a sejtfalon, tehát a korábbi növény és állatkísérletekben megfigyelt hatás valamilyen átalakulási folyamat eredménye. Ezért elvégeztünk egy, a nanoszelén vizes közegben történő átalakulását vizsgáló kísérletet, melynek során a leülepedett NanoSel szol felülúszóját eltávolítottuk és tiszta desztillált vízre cseréltük, majd 1 hónapon keresztül minden nap mértük a felülúszó szelénkoncentrációjának változását. A felülúszóban oldott, speciációs vizsgálat által azonosított szelenit és szelenid koncentrációjának változására egy telítési görbe illeszthető, az elemi szelén 200 mg/l koncentrációjánál jóval kisebb, 1,219 mg/l maximum értékkel, mely igen lassan, 2,5 hónap alatt állt be. Ez az oldott szelenit és szelenid már könnyen hozzáférhető az élőlények számára, és megmagyarázza, hogy hogyan lehetett az elemi szelén kezeléseknél hatása -toxikusság nélkül-, hiszen ez az állandó, az elemi szelén koncentrációjához képest alacsony oldott szelénkoncentráció ideális mind a növények, mind az állatok számára.

A nanoméretű elemi szeléngömbök vizes közegben szelenitté és hidrogén-szeleniddé diszproporcionálódnak, az elemi szelén felé erősen eltolt egyensúlyi folyamat során, mely igen hosszú idő alatt áll be. A létrejövő hidrogén-szelenid deszorpció során távozik nyílt rendszer esetén, amire a szol jellegzetes szaga is utal. Az oldatban maradt szelenit protonálódása és a hidrogén-szelenid deprotonálódása során létrejövő formák között is egyensúly alakul ki, pH-tól függő arányokkal. Az így visszaalakult elemi szelén már nem a baktériumok által létrehozott monoklin forma, hanem hexagonális kristályok formájában a nanoszelén gömbökre tapadva jelenik meg, melyet elektronmikroszkópos felvétel is igazolt.

Az elemi szelén talajban való viselkedését vizsgáló kísérlet is ezt a feltételezett átalakulási modellt támasztotta alá. 8 hét alatt a kezeléshez használt elemi szelén 20-28%-a hidrogén-szeleniddé alakulást követően, jellemző szag kíséretében eltávozott. Az oldott szelénformákat vizsgálva megállapítottuk, hogy a modellnek megfelelően egy alacsony szelenitszint alakult ki, mely ennyi idő alatt még nem alakult tovább szelenát

formává. A csernozjom talajok homoktalajhoz viszonyított szignifikánsan kisebb (34-37%-a) szelenitkoncentrációja a magasabb szervesanyag-tartalommal és a baktériumok által felvett majd fehérjékbe épített szelénnel magyarázható. Az 1 mg/kg-os kezelés és a 10 mg/kg-os kezelés oldott szelénkoncentrációja között homoktalaj esetén csupán 10%, csernozjom talaj esetén 20% eltérés adódott, a 10-szeres kezelésbeli különbség ellenére. Ez szintén magyarázható a modellel, az átalakulás egyensúlyi folyamata a kezdeti időszakban az elemi szelén koncentrációjától kevésbé függ, csak a maximális oldott szelénkoncentrációban adódik eltérés, ami viszont csak hosszú idő alatt áll be.

Dohánynövényekkel végzett kísérletekben korábban már bebizonyosodott (*Domokos-Szabolcsy, 2012*), hogy a nanoszelén kezelés hatására nem csak, hogy megnő a növények szeléntartalma a gyökér és hajtás részben, de számos pozitív hatás is megfigyelhető, mint a gyorsabb, erőteljesebb gyökérképződés, öregedésgátlás, vagy a vitrifikáció gátlása kalluszenyészetekben. Ezek a kísérletek még nem bizonyították, hogy a szelén ténylegesen be is jutott a növények sejtjeibe, azonban az általam bemutatott eredmények alátámasztják, hogy a sejtfaluktól megfosztott protoplaszt tenyészetekben szignifikánsan megnőtt a sejten belüli szelénkoncentráció a 100 mg/kg nanoszelén-kezelés hatására. A kísérlet során 1 mg/kg és 10 mg/kg szelenáttal kezelt csoportot használtunk összehasonlításként, melyek protoplaszt szelénkoncentrációja a várakozásnak megfelelően szignifikánsan megnőtt, hiszen a szelenát a kén asszimilációs útvonalába lép be a kloroplasztisban felhalmozódva. A 100 mg/kg nanoszelénes kezelés kevesebb, mint tízed akkora protoplasztbeli szelénkoncentráció emelkedést eredményezett, mint az 1 mg/kg szelenát, ami szintén alátámasztja a feltételezett átalakulási modellt, hiszen csak az elemi szelénből átalakult oldott szelenit és szelenid jutott be a sejtekbe, ami már csak azért is logikus, mert a 250 nm átmérőjű elemi szeléngömbök nem tudnak átjutni a plazmodezmoszok 2-2,5 nm átmérőjű mikrocatornáin. Ez a kis szelénkoncentráció természetesen nem okozott toxicitási tüneteket, ellentétben a 100 mg/kg szelenátkezeléssel, amit nem éltek túl a növények. Ezt a feltevést támasztja alá az izolált tilakoidmembránok vizsgálata is, ami hasonló tendenciát mutatott, mint a protoplasztvizsgálat: a nanoszelénes kezelés hatására megemelkedett tilakoid membránbeli szelénkoncentráció bizonyítja, hogy a nanoszelén nem csak a növényi sejtekbe képes bejutni, hanem a kloroplasztisba is, szintén szelenitté való alakuláson keresztül. A toxicitást vizsgálva itt is ugyanazt tapasztaltuk: a nanoszelénes kezelés nem okozott semmilyen negatív elváltozást, ellentétben a

szenátos kezeléssel, ahol a 10 mg/kg-os kezelés károsan befolyásolta a membrán pigment-protein komplex szerveződését és a gránumos membránszerkezet sérülését eredményezte. Ugyanezt mutatta a tilakoid membránok lipidperoxidációjának vizsgálata is, csak a nagyobb koncentrációjú szenátkezelések okoztak oxidatív stresszhatásra utaló szignifikánsan megnövekedett MDA szintet.

Az állatkísérletek során már nem a NanoSel szolt, hanem a LactoMicroSel szeléntartalmú joghurtport használtuk, 0,425 mg/kg és 4,25 mg/kg szelénre vonatkoztatott koncentrációban, önmagában és rákliszt/halliszt keverékével kiegészítve, 0,425 mg/kg szelénre vonatkoztatott koncentrációjú szelenometion tartalmú SelPlex® kezeléssel összehasonlítva.

A brojler csirkékkel végzett kísérletben a testömeget vizsgálva a LactoMicroSel kezelés önmagában nem okozott szignifikáns különbséget, azonban rákliszt/halliszt keverékével kiegészítve kedvező hatást gyakorolt mindkét koncentrációban, bár a különbség statisztikailag nem szignifikáns. A vágáskori élőtömeg a rákliszt/halliszt/LactoMicroSel 10x csoportban volt a legkedvezőbb. Ugyanezt a tendenciát figyelhettük meg az átlagos tömeggyarapodást vizsgálva, ami az állati eredetű melléktermékek révén bevitt többlet fehérjével magyarázható. Az átlagos napi takarmányfogyasztást vizsgálva megállapítottuk, hogy a LactoMicroSel kiegészítést tartalmazó takarmányokból minden csoportban kevesebbet fogyasztottak az állatok, és az átlagos takarmányértékesítés minden esetben kedvezőbb alakult, mint akár a kontroll, akár a SelPlex csoportok. A négy LactoMicroSel tartalmú kezeléssel a 4,25 mg/kg szelénkoncentrációjú, rákliszttel/halliszttel kiegészített csoport rendelkezett a legjobb takarmányértékesítéssel. Az állatok relatív máj, mell és combtömegét vizsgálva láthattuk, hogy minden kísérleti csoport teljesítménye meghaladta a kontroll értékeit, azonban a csoportok között nem akadt szignifikáns eltérés. A máj szeléntartalmában csak a 4,25 mg/kg LactoMicroSel kezelések okoztak jelentős emelkedést, rákliszttel kiegészítve és anélkül is. Ezzel szemben az izomban a SelPlex kezelés esetén találtunk szignifikánsan emelkedett szelénszintet, a LactoMicroSel-es kezelések tízszeres koncentrációban is csak mérsékeltebb növekedést eredményeztek. A toll szeléntartalma egyértelműen bizonyította, hogy az állatok képesek a LactoMicroSelt hasznosítani a takarmányból, mivel szignifikáns különbséget figyelhettünk meg a kezelések hatására.

A tojótyúkokkal végzett kísérletben azt tapasztaltuk, hogy a LactoMicroSel kezelés hatására minden esetben javult a tojástermelés, a tízszeres rákliszt/halliszt kezelés esetén az eltérés csaknem +10% volt. Bár a tojásindex minden kezelés hatására javult, a

szik tömege statisztikailag is szignifikánsan csökkent a kontrollhoz képest. Ezt a hatást a rákliszt/halliszt kiegészítés kompenzálta. A szik színe világosabb lett a szelén kezelés hatására. Ez a hatás a SelPlex esetén volt a legintenzívebb. A rákliszttel kiegészített kezelés esetén a szik szignifikánsan vörösebb lett, ami a rákliszttben található antaxantin színanyaggal magyarázható. A tojástömeget vizsgálva megállapítottuk, hogy a tojások az 1x LactoMicroSel-t tartalmazó kezelésekben lettek a legkisebbek, a kontrollhoz viszonyítva 7 %-kal. A héj vastagságát és száraz tömegét vizsgálva megállapíthattuk, hogy a 10x LactoMicroSel bevitel megnövelte a héj tömegét és vastagságát, melyet a rákliszt/halliszttben található Ca tovább növelt. A tojások szeléntartalma szignifikánsan megemelkedett a LactoMicroSel kezelés hatására, mind a fehérjében, mind a sárgájában, akár a kontroll csoporthoz, akár a SelPlex csoporthoz viszonyítva.

A kísérletek eredményeit együttesen vizsgálva elmondható, hogy a tejsavbaktériumok által előállított nanoméretű elemiszelén-részecskék vizes közegben szelenidre és szelenidre alakulnak egy egyensúlyi folyamat során, melynek következtében egy stabil, alacsony szelenitszint alakul ki az oldatban, ami egyfajta szelén rezervoárként funkcionál. Ezt a szelenidet a növények és az állatok képesek felvenni és hasznosítani, toxikus hatások nélkül. A növények esetén megfigyelt számos pozitív változás, úgymint a megnövekedett gyökértömeg, lassabb öregedés, vitrifikációval szembeni ellenállóképesség mellett bebizonyosodott, hogy a nanoszelenből kioldódott szelenit bejut a sejtekbe és a kloroplasztiszba is, károsító hatások nélkül. Állatok esetén javuló termelési paraméterek, illetve a májban, izomban, tollban és tojásban mérhető megnövekedett szelénszint bizonyítja a nanoszelen hasznosulását. Ezen eredmények alapján a nanoméretű elemiszelén-részecske ideális formája lehet a szelénpótlásnak, az állandó, nem toxikus, alacsony szelenitszint biztosítása révén.

## 6. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Kidolgoztam a szelenittel dúsított MRS tápközegben inkubált *Lactobacillus casei* tejsavbaktérium által előállított, 250 nm átmérőjű vörös elemi szeléngömbök kinyerését és tisztítását, illetve a laboratóriumi célokra felhasználható NanoSel szol előállítását. Az előállítási folyamat módosításával és az élelmiszeriparhoz való optimalizálással kidolgoztam a szeléntartalmú joghurtpor, a LactoMicroSel gyártási technológiáját. A legyártott termék felhasználásával szelénrel dúsított instant tejpor (No. 42®), illetve szeléntartalmú tejdesszertek (Milk®) és étrendkiegészítők (LactoMicroSel®, Pajzskomplex®, Cardio komplex®) készülnek, melyek elemi szelénrel dúsított funkcionális élelmiszerként a szelénpótlás legfejlettebb formáját képviselik, és segítségükkel könnyedén biztosítható a megfelelő formájú és mennyiségű szelénbevitel. A nanoméretű elemiszelén-részecskék vizes közegben való viselkedését vizsgálva felállítottam egy modellt, mely bemutatja az elemi szelén szelenitté és szeleniddé való feltételezett átalakulását, amely az elemi szelén felé erősen eltol, igen hosszú idő alatt beálló egyensúlyi folyamat.
2. Talajvizsgálatok alapján igazoltam, hogy a humuszos homok és mészlepedékes csernozjom talajokhoz adott elemi szelén a talajhoz kötött vízben szelenitté és szeleniddé alakul. Utóbbi hidrogén-szelenid formájában eltávozik, 8 hét alatt 20-28% szelénvesztéssel eredményezve. Az oldott szelenit mennyisége kevéssé függ az elemi szelén koncentrációjától. Homoktalajban 1000 µg/kg-os kezelés esetén az oldott szelenit mennyisége 114 µg/kg, 10.000 µg/kg-os kezelés esetén 126 µg/kg. Csernozjom talaj esetén ugyanezen érték 39 µg/kg illetve 47,3 µg/kg.
3. Dohánynövényekkel végzett kísérletek során igazolást nyert, hogy a nanoszelén gömbökből képződő szelenitet a növények képesek nem csak felvenni, de az bejut a sejtekbe, kloroplasztisba is, és még 100 mg/kg kezelés esetén sem okoz semmilyen negatív élettani elváltozást, a szelenáttal ellentétben.
4. Brojler- és tojóállománnyal végzett kísérletekkel bizonyítást nyert, hogy a szeléntartalmú joghurtpor alkalmas a takarmány szelénpótlására, rákliszttel és halliszttel kiegészítve pozitívan hat az állatok termelési mutatóira, hatására nő a máj, mell és comb relatív tömege, a tojástermelés, és a tojások héjvastagsága, így a tojások ellenállóbbak a fizikai hatásokkal szemben. A nanoszelént az állatok képesek felvenni és hasznosítani, melyet a máj, izom és toll megemelkedett szelénkoncentrációja is igazolt. Továbbá a szelén bejut a tojásokba is: mind a fehérje, mind a sárgája szignifikánsan több szelént tartalmazott, mint a kontroll, így a szelénpótlás ezen formája alkalmas lehet szelénrel dúsított tojás, mint funkcionális élelmiszer előállítására.

## 7. GYAKORLATNAK ÁTADHATÓ EREDMÉNYEK

1. Az értekezésben bemutatott módszer alapján elemi szelént tartalmazó, tisztított szelén szol állítható elő. A módszer módosításával, szelénrel dúsított tejsavó és joghurtbaktériumok segítségével elemi szelént tartalmazó joghurtpor állítható elő. A LactoMicroSel elnevezésű joghurtpor alkalmas takarmány- és étrendkiegészítésre, felhasználásával számos termék készül, mint a szelénrel dúsított instant tejpör (*No. 42<sup>®</sup>*), szeléntartalmú tejdesszertek (*Milx<sup>®</sup>*), illetve étrendkiegészítők (*LactoMicroSel<sup>®</sup>*, *Pajzskomplex<sup>®</sup>*, *Cardio komplex<sup>®</sup>*).
2. A tejsavbaktériumok által előállított nanoméretű elemi szelén részecskék alkalmasak a talaj szelénpótlására, alkalmazásukkal hosszú ideig tartó, ideális koncentrációjú, a növények számára könnyen hozzáférhető szeleniszint tartható fent.
3. A növények képesek a nanoszelént a talajból felvenni és hasznosítani. Az elemi szeléngömbök átalakulásával képződő szelenit bejut a növényi sejtekbe és a kloroplasztiszba, és toxikus hatások nélkül biztosítja a növények szelénszükségletét.
4. A LactoMicroSel szeléntartalmú joghurtpor alkalmas a takarmány szelénpótlására. Alkalmazásával javítható a brojler csirkék takarmányértékesítése, élőtömege és tömeggyarapodása, megnövekszik a máj, mell és comb relatív tömege, megemelkedik az izom szelénkoncentrációja. Tojó állományok esetén javul a tojástermelés, megnő a tojások héjvastagsága, a szelén bejut a fehérjébe és sárgájába, így szelénrel dúsított tojás, mint funkcionális élelmiszer állítható elő.

## 8. ÖSSZEFOGLALÁS

A szelén (Se) antioxidáns hatású mikroelem, nélkülözhetetlen az emberek, állatok, archeák és más mikroorganizmusok megfelelő és egészséges működéséhez. Kőzetekben, talajokban, vizekben egyaránt előfordul, de geográfiai eloszlása erősen változó, akár egy országon belül is, a természetes szubsztrátoktól, klímától, flórától függően. A világ számos részén a szelénhiányos talaj miatt szelénpótlásra van szükség, hiszen a szelénhiány miatt kialakulhat pajzsmirigy alulműködés, fáradtság, elhízás, terméketlenség, illetve olyan súlyos kórok, mint a Keshan-kór vagy Kashin-Beck betegség. A szelénpótlás megszokott formái a szervetlen szelénsók vagy élesztő által előállított szelenometionin tartalmú gyógyszerek, étrendkiegészítők, de nagyon jó megoldást jelenthetnek a funkcionális élelmiszerek is, mint pl. szelénrel dúsított hagyma, tojás, hús, tejtermékek.

A szelén „esszenciális mérég” elnevezését az egymáshoz nagyon közel eső szükséges és toxikus koncentrációhatárok miatt kapta, melyet a természetben előforduló, szignifikánsan különböző felvehetőséggel és toxicitással rendelkező módosulatok tovább bonyolítanak. A természetben gyakran előforduló szelenit ( $\text{SeO}_3^{2-}$ ) és szelenát ( $\text{SeO}_4^{2-}$ ) sók, szerves szelénformák, illetve a szelenidek ( $\text{Se}^{2-}$ ) mellett az üledékes kőzetekben, redukált, anaerob körülmények között (pl. Keshan tartomány, Kína) jelenlevő elemi szelén kisebb toxicitással rendelkezik, mint a többi szelénforma. A tejsavbaktériumok a toxikus koncentrációk elleni védekezőmechanizmusuk részeként képesek a szelenit-ionokat vörös elemi szelénre alakítani, és azt a sejten belül nanoméretű gömbök formájában eltárolni. Ezt a jelenséget kihasználva elsődleges célkitűzésem a *Lactobacillus casei* által előállított vörös elemi szeléngömbök kinyerésének és tisztításának kidolgozása, majd ezen nanoméretű elemiszelén-részecskék vizsgálatához alkalmas monodiszperz szelén szol előállítása volt, mely a NanoSel nevet kapta. Amennyiben az inkubálás után a sejteket nem roncsoljuk és távolítjuk el, tápközegnek pedig a megszokott MRS tápoldat helyett tejsavót használunk, elemi szelénrel dúsított joghurt képződik, melyet szárítva és darálva szelénpótlásra alkalmas, LactoMicroSel-nek elnevezett takarmány- és étrendkiegészítőt kapunk.

Alapvető kérdés volt a tejsavbaktériumok által képzett nanoméretű elemiszelén-részecskék viselkedése, különös tekintettel a felvehetőségre és toxicitásra. Első lépésként megvizsgáltuk a részecskék vizes közegben való viselkedését, és a kapott

eredmények alapján felállítottunk egy elméleti modellt, mely magyarázza az elemi szelén szelenitté és hidrogén-szeleniddé való diszproporcionálódását, mely az elemi szelén irányába erősen eltoltt egyensúlyi folyamat. A nanoszelén részecskékből képződő hidrogén-szelenid az oldatból deszorpció útján a gáztérbe távozik, jellegzetes fokhagyma szagot eredményezve, a felülúszó szelenit koncentrációja pedig egy telítési görbe szerint változik, az elemi szelénhez képest igen alacsony maximális koncentrációval, mely lassan, körülbelül 2,5 hónap alatt áll be. Ez a jelenség ideális szelénpótlási formává teszi a nanoszelén részecskéket, hiszen bár a 250 nm átmérő miatt a gömbök nem jutnak át az élőlények sejtfalain, a belőlük keletkező szelenid és szelenit már könnyen hozzáférhető és felhasználható, ráadásul a relatíve alacsony koncentráció miatt még toxicitás sem léphet fel. Ezt a feltételezett modellt már számos korábbi növény és állatkísérlet is alátámasztotta, például dohánynövények esetén a nanoszelénes kezelés hatására megnövekedett gyökértömeg, lassabb öregedés és csökkent vitrifikáció jelentkezett (*Domokos-Szabolcsy, 2012*), egerekkel végzett toxicitási vizsgálat során pedig LactoMicroSel-ből a rendkívül magas, 50 mg/kg koncentrációjú kezelés sem okozott semmilyen negatív elváltozást (*Nagy et al., 2015*).

A nanoszelén talajban való viselkedését vizsgáló kísérletünkben humuszos homok és mészlepedékes csernozjom talajt kezeltünk 1 és 10 mg/kg NanoSel szollal, majd 8 hét után megvizsgáltuk a különböző szelénformák koncentrációját. A modellünknek megfelelően az elemi szelén 20-28%-a hidrogén-szeleniddé alakult és eltávozott a nyílt rendszerből, a talajvízben pedig szelenit jelent meg, kis koncentrációban, amely nem egyenesen arányosan korreált a kezelés koncentrációjával. Ebből azt a következtetést vonhattuk le, hogy a lejátszódó egyensúlyi folyamat a kezdeti időszakban nem függ az elemi szelén koncentrációjától, az csak a maximális értéket vagy az annak eléréshez szükséges időt befolyásolja. A csernozjom talajok esetén azonos tendencia mellett kisebb szelenitkoncentrációt tapasztaltunk, mely a nagyobb szervesanyagtartalommal és a szelenit baktériumok fehérjébe való beépülésével magyarázható.

A dohánynövényekre vonatkozó korábbi eredményekre alapozva a sejtfaltól megfosztott protoplaszttal és izolált tilakoidmembránnal végzett növénykísérletünkben azt vizsgáltuk, hogy a nanoméretű elemi szeléngömbökből származó szelén a szelenáttal összehasonlítva bejut-e a növényi sejtekbe, hatással van-e a fotoszintézisre. Eredményeink alapján elmondható, hogy a nanoszelén gömbök nem jutnak át a 2-2,5 nm átmérőjű plazmodezmosz mikrocatornákon, azonban az oldott szelenit útján

nem csak a sejten belül, de magában a kloroplasztiszban is emelkedett szelénkoncentrációt okoznak, toxikus hatások nélkül, ellentétben a szelenáttal.

A brojler és tojó állománnyal végzett állatkísérletek bebizonyították, hogy a LactoMicroSel szeléntartalmú joghurtpor alkalmas a takarmány szelénpótlására, rákliszttel és halliszttel kiegészítve pozitívan hatott az állatok termelési mutatóira, hatására nőtt a máj, mell és comb relatív tömege, a tojástermelés, és a tojások héjvastagsága is, így azok ellenállóbbak lettek a fizikai hatásokkal szemben. A nanoszelént az állatok képesek voltak felvenni és hasznosítani, melyet a máj, izom és toll megemelkedett szelénkoncentrációja is mutatott. Továbbá a szelén bejutott a tojásokba is, mind a fehérje, mind a sárgája szignifikánsan több szelént tartalmazott, mint a kontroll, így a szelénpótlás ezen formája alkalmas lehet szelénrel dúsított tojás, mint funkcionális élelmiszer előállítására.

Az eredményeket összesítve elmondhatjuk, hogy a tejsavbaktériumok által előállított vörös elemi szeléngömbök hosszú időn keresztül alacsony koncentrációjú oldott szelenitet biztosítanak a talajban és vizes közegbené, amely könnyen felvehető és hasznosítható a növények és állatok számára, toxikus hatások nélkül, így szelénpótlás céljából ideálisak.

## 9. SUMMARY

Selenium (Se), an essential micronutrient with antioxidant effects, is an integral part of the proper and healthy functioning of humans, animals, archeas and other organisms. It occurs in rocks, soils, waters, but it has an uneven geographic distribution, even within the same country, depending on the natural substrates, climate and flora. In many parts of the world there is a need for selenium supplementation because of the selenium deficiency of soil, since hypothyroidism, fatigue, obesity, infertility or serious diseases such as Keshan disease and Kashin-Beck disease may develop due to selenium deficiency. The usual forms of selenium supplementation are medications or dietary supplements containing inorganic selenium salts or selenomethionine produced by yeasts, but functional foods such as selenium-enriched onion, eggs, meat and dairy products can also be a very good solution.

Selenium is also known as "the essential poison" due to its very close necessary and toxic concentration limits. In nature it occurs in various species with significantly different availability and toxicity. Besides selenite ( $\text{SeO}_3^{2-}$ ) and selenate ( $\text{SeO}_4^{2-}$ ) salts, organic selenium forms and selenides ( $\text{Se}^{2-}$ ), elemental selenium occurring in sedimentary rocks with reduced, anaerob conditions (e. g. Keshan province, China) has lower toxicity than the other selenium forms. Lactic acid bacteria can convert selenite ions to red elemental selenium as part of their defence mechanism, and store them as nanospheres inside their cells. My primary objective was to develop the extraction and purification procedure of the red elemental selenium spheres produced by *Lactobacillus casei*, and to produce a purified monodisperse selenium sol (called "NanoSel") suitable for the analysis of the nano selenium particles. When the cells are not digested and removed and whey is used as culture media instead of MRS, elemental selenium enriched yogurt can be produced. The dried and milled yogurt can be used as a feed and food supplement called LactoMicroSel, suitable for selenium supplementation.

The study of the behavior of nano-size elemental selenium produced by lactic acid bacteria was a fundamental issue, especially its availability and toxicity. As a first step the behavior of these particles in aqueous conditions was examined. Based on the results a theoretical model was set up that explains the disproportionation of elemental selenium to selenite and hydrogen-selenide. This transformation is strongly skewed toward the elemental form. Hydrogen-selenide formed from nano-size selenium particles volatilizes from the sol, resulting in a typical garlic odour. The selenite

concentration in the supernatant changes according to a saturation curve with a quite low maximum concentration compared to elemental selenium, and it takes 2.5 months to reach its maximum value. This phenomenon makes the nano-size selenium particles ideal for selenium supplementation, since the 250 nm diameter particles can not pass through the cell walls, but they transform into an easily accessible and usable dissolved selenite form. In addition, there is no risk of toxicity due to the relatively low concentration. This hypothetical model has also been supported by several former plant and animal studies, for example increased root mass, slower aging and decreased vitrification occurred in tobacco plants (*Domokos-Szabolcsy, 2012*), and even an extremely high (50 mg/kg) concentration of LactoMicroSel did not cause any negative effects during the toxicity experiments with mice (*Nagy et al., 2015*).

For the investigation of nanoselenium in soils calcareous chernozem and humic sandy soils were treated with 1 and 10 mg/mg NanoSel sol, then the concentrations of the various selenium forms were measured after 8 weeks. 20-28% of elemental selenium transformed into hydrogen-selenide and left the open system, which fits into our model. Low concentrations of selenite were measured in the soils, which concentrations did not linearly correlate with the treatment concentrations. This indicates that the equilibratory transformation process during the initial period does not depend on the concentration of elemental selenium, which only affects its maximum value or the time required to reach it. Regarding chernozem soil the same trend was observed with lower selenite concentration. This can be explained by the higher organic content, and the incorporation of selenite into the bacteria proteins.

Taking the previous experiments with tobacco plants further, we wanted to know whether the selenium from the nano-size elemental selenium spheres gets into the plant cells, and if it has any effect on photosynthesis compared to selenate, so we examined cell wall deprived protoplasts, and isolated thylakoid membranes. Based on the results it can be concluded that the nano-size selenium spheres can not pass through the 2-2.5 nm diameter plasmodesmos micro-channels, however, through dissolved selenite they cause higher selenium concentration not only within the cell, but also in the chloroplast, without any toxic effects in contrast to selenate.

Experiments with broiler and layer chicken showed that the selenium enriched yoghurt powder is suitable to be used as feed supplement, and by adding crab/fish meal it has a positive effect on the production indexes, relative liver, breast and leg weight. It increases egg production and quality and results in increased egg shell weight and

thickness, which can provide better mechanical resistance. Nanoselenium was successfully absorbed and used by the animals, indicated by increased selenium concentration in liver, muscle and feathers. Furthermore, selenium also got into the egg, since both yolk and white contained significantly more selenium than the control, thus this form of selenium supplementation can also be suitable for the production of selenium enriched eggs as functional food.

Summarizing the results it can be said that red elemental selenium spheres produced by lactobacteria provide low concentrations of dissolved selenite for a long period. Selenite is easily available and usable for plants and animals without any toxic effects, therefore nanoselenium can be an ideal form of selenium supplementation.

## 10. SZAKIRODALMI JEGYZÉK

1. Abdelouas A., Gong W.L., Lutze W., Shelnett J. A., Franco R., Moura I. (2000): Using cytochrome c(3) to make selenium nanowires. *Chem. Mater.* 12: 1510.
2. Abdulah R., Farjed A., Kobayashi K., Yamazaki C., Suradi E.W., Ito K., Suzuki K., Murakami, Kuwano H., Koyama H. (2009): Selenium enrichment of broccoli sprout extract increases chemosensitivity and apoptosis of LNCaP prostate cancer cells. *BMC. Cancer.* 9: 414-426.
3. Arnér E. S. J. (2012): History of selenium research. In: *Hatfield DL, Berry MJ, Gladyshev VN: Selenium: its Molecular Biology and Role in Human Health. Springer, New York/Dordrecht/ Heidelberg/London,* 1–19.
4. Austin H. C., Milton L. S. (1974): The effect of selenium in the hen's diet on egg production, hatchability, performance of progeny and selenium concentration in eggs. *Poultry. Sci.* 53: 1870-1880.
5. Bailey R. T., Hunter W. J., Gates T. K. (2012): The influence of nitrate on selenium in irrigated agricultural groundwater systems. *J. Environ. Qual.* 41: 783–792.
6. Banning H. M., Stelling M., Eiche E., Nothstein A. K., Neumann T., Schoenberg R., Riemann M., Nick P. (2014): Use of stable isotope signatures in plants as a tool to explore selenium cycle in the „critical zone”. In: *Bañuelos, Lin & Yin: Selenium in the Environment and Human Health. Taylor & Francis Group, London,* 22-23.
7. Bañuelos G. S., Ajwa H. A., Mackey B., Wu L., Cook Charles, Akohoue S., Zambruzuski S. (1997): Evaluation of different plant species used for phytoremediation of high soil selenium. *J. Environ. Qual.* 26: 639-646.
8. Bañuelos G. S., Lin Z. Q. (2005): Phytoremediation management of selenium-laden drainage sediments in the San Luis Drain: a greenhouse feasibility study. *Ecotox. Environ. Safet.* 62: 309-311.
9. Beilstein M. A., Whanger P. D., Yang G. Q. (1991): Chemical forms of selenium in corn and rice grown in a high selenium area of China. *Biomed. Environ. Sci.* 4: 392-398.
10. Birringer M., Pilawa S., Flohe I. (2002): Trends in selenium biochemistry. *Nat. Prod. Rep.* 19: 693–718.

11. Bogye G., Alfthan G., Machay T., Zubovics L. (1998): Enteral yeast-selenium supplementation in preterm infants.  
*Arch. Dis. Child. – Fetal Neonat. Ed.* 78: 225-226.
12. Brody T. (1994): Nutritional Biochemistry, *Academic Press, London*: 581-595.
13. Brown K. M., Arthur J. R. (2001): Selenium, selenoproteins and human health: review. *Public Health Nutr.* 4: 593-599.
14. Brown T.A., Shrift A. (1982): Selenium: toxicity and tolerance in higher plants. *Biol Rev* 57: 59–84.
15. Cai X. J., Block E., Uden P. C., Zhang X., Quimby B. D., Sullivan J. J. (1995): Allium chemistry: Identification of selenoamino acids in ordinary and selenium-enriched garlic, onion and broccoli using gas chromatography with atomic emission detection. *J. Agr. F. Chem.* 43: 1754-1757.
16. Cermelli C., Vinceti M., Scaltriti E., Bazzani E., Beretti F., Vivoli G., Portolani M. (2002): Selenite inhibition of Cocksackie virus B5 replication: implications on the etiology of Keshan disease. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 16: 41-46.
17. Chen X. S., Yang G. Q., Chen J. S., Chen X. C., Wen Z. M., Ge K. Y. (1980): Studies on the relations of selenium and Keshan disease.  
*Biol. Trace Elem. Res.* 2: 91-107.
18. Christensen N. M., Faulkner C., Oparka K. (2009): Evidence for unidirectional flow through plasmodesmata. *Plant Physiol.* 150: 96–104.
19. Combs G. F. (2005): Importance of selenium in human nutrition.  
*In proceedings book: Merja E.: Twenty Years of Selenium Fertilization, September 8-9, 2005, Helsinki, Finland, Agrifood Res. Rep.* 69: 108.
20. Combs G. F. Jr. (2001): Selenium in global food systems. *Br J Nutr.* 85: 517-547.
21. Combs G. F., Combs S. B. (1986): Chemical aspects of selenium.  
*In: The Role of Selenium in Nutrition, Academic Press, San Diego, CA.*: 1-8, 535.
22. Cominetti C., de Bortoli M. C., Garrido A. B., Cozzolino S. M. (2012): Brazilian nut consumption improves selenium status and glutathione peroxidase activity and reduces atherogenic risk in obese women. *Nutr. Res.* 32: 403-407.
23. Cone J. E., Del Rio M. R., Davis J. N., Stadtman T. C. (1976): Chemical characterization of the selenoprotein component of clostridial glycine reductase: identification of selenocysteine as the organoselenium moiety. *In: Proceedings: Nat. Acad. Sci. USA* 73: 2659-2663.

24. Craig P. J. (1986): Organometallic Compounds in the Environment. *Longman Group Ltd., London: 255–277.*
25. Cser Á., Sziklai L. I. (1998): A szelén szerepe a humán medicinában. *A szelén szerepe a környezetben és egészségvédelemben konferencia, Budapest, Hungary: 33-43.*
26. Cser M. A., Sziklai L. I., Menzel H., Lombeck I. (1996): Selenium and glutathione peroxidase activity in Hungarian children. *J. Trace Elem. Med. Biol. 10: 167-173.*
27. Christensen N. M., Faulkner C., Oparka K. (2009): Evidence for Unidirectional Flow through Plasmodesmata. *Plant Phys. 150: 96–104.*
28. Daniels L. A. (1996): Selenium metabolism and bioavailability. *Biol. Trace Elem. Res. 54: 185-199.*
29. De Almeida J. N., Dos Santos G. R., Beteto F. M., De Medeiros L. G., Oba A., Shimokomaki M., Soares A. L. (2012): Dietary supplementation of chelated selenium and broiler chicken meat quality. *Sem. Cien. Agr. 33: 3117-3122.*
30. De Filippis L. F. (2010): Biochemical and molecular aspects in phytoremediation of selenium. *In: Ashraf M, Ozturk M, Ahmad MSA: Plant adaptation and phytoremediation. Springer, Dordrecht/Heidelberg/London/New York.*
31. De Man J. D., Rogosa M., a. Sharpe M.E. (1960): A medium for the cultivation of *Lactobacilli*. *J. Appl. Bact. 23: 130-135.*
32. De Medeiros L. G., Oba A., Shimokomaki M., Pinheiro J. W., Da Silva C. A., Soares A. L., Pissinati A., De Almeida M. (2012): Performance, broiler carcass and meat quality characteristics, supplemented with organic selenium. *Sem. Cien. Agr. 33: 3361-3370.*
33. Dernovics M., Lobinski R. (2008a): Characterization of the selenocysteine-containing metabolome in selenium-rich yeast Part 1. Identification of new species by multi-dimensional liquid chromatography with parallel ICP-MS and electrospray Q-TOFMS/MS detection. *J. Anal. Atomic Spect.: 72-83.*
34. Dernovics M., Lobinski R. (2008b): Characterization of the selenocysteine-containing metabolome in selenium-rich yeast Part 2. On the reliability of the quantitative determination of selenocysteine. *J. Anal. Atomic Spect.: 744-751..*
35. De Souza M. P., Lytle C. M., Mulholland M. M., Otte M. L., Terry N. (2000): Selenium assimilation and volatilization from dimethylselenoniopropionate by Indian mustard. *Plant Physiol. 122: 1281-1288.*

36. Dlouha G., Sevcikova S., Dokoupilova A., Zita L., Heindl J., Skrivan M. (2008): Effects of dietary selenium sources on growth performance, breast muscle selenium, glutathione peroxidase activity and oxidative stability in broilers. *Czech J. Anim. Sci.* 53: 265-269.
37. Domokos-Szabolcsy É. (2011): Szervetlen szelénmódosulatok biológiai hatásának és a fortifikáció lehetőségének tanulmányozása növényi rendszerekben. *Doktori értekezés, Debreceni Egyetem, Debrecen*: 52-56.
38. Domokos-Szabolcsy É., Márton L., Sztrik A., Babka B., Prokisch J., Fári M. (2012): Accumulation of red elemental selenium nanoparticles and their biological effects in *Nicotinia tabacum*. *Plant Growth Regul.* 68: 525-531.
39. Domokos-Szabolcsy É., Alla N. A., Alshaal T., Sztrik A., Márton L., El-Ramady H. (2014): In vitro comparative study of two *Arundo donax* L. ecotypes' selenium tolerance. *Int. J. Hort. Sci.* 20: 119-122.
40. Duffield A. J., Thomson C. D., Hill K. E., Williams S. (1999): An estimation of selenium requirements for New Zealanders. *Am. J. Clin. Nutr.* 70: 896-903.
41. Edens F. W. (2001): Involvement of Sel-Plex in physiological stability and performance of broiler chickens. In: *Proceedings: Science and Technology in the Feed Industry, Alltech's 17th Annual Symposium*: 349-376.
42. Fairweather-Tait S. J., Collings R., Hurst R. (2010): Selenium bioavailability: current and future research requirements. *Am. J. Clin. Nutr.* 91: 1484-1491.
43. Fisinin V. I., Papazyan T. T., Surai P. F. (2008): Producing specialist poultry products to meet human nutrition requirements: Selenium enriched eggs. *World's Poultry Sci. J.* 64: 85-98.
44. Fisinin V. I., Papazyan T. T., Surai P. F. (2009): Producing selenium-enriched eggs and meat to improve the selenium status of the general population. *Crit. Rev. Biotechnol.* 29: 18-28.
45. Fodor P., Kápolna E. (2007): Bioavailability of selenium from selenium-enriched green onions (*Allium fistulosum*) and chives (*Allium schoenoprasum*) after *in vitro* gastrointestinal digestion. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 4: 282-296.
46. Fleming G. A. (1962): Selenium in Irish soils and plant. *Soil Sci.* 91: 28-35.
47. Foster L.H., Sumar, S. (1997): Selenium in health and disease: A review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 37: 211-228.
48. Ganther H. E. (1986): Pathways of selenium metabolism including respiratory excretory products. *J. Am. Coll. Toxicol.* 5: 1-5.

49. Gao X., Zhang J., Zhang L. (2002): Hollow sphere selenium nanoparticles: their *in-vitro* anti hydroxyl radical effect. *Adv. Mater.* 14: 290.
50. Garbisu C., Gonzalez S., Yang W. H., Yee B. C., Carlson D. L., Yee A., Smith N. R., Otero R., Buchanan B. B., Leighton T. (1995): Physiological mechanisms regulating the conversion of selenite to elemental selenium by *Bacillus subtilis*. *Biofactors* 5: 29-37.
51. Gates B., Mayers B., Cattle B., Xia Y. (2002): Synthesis and characterization of uniform nanowires of trigonal selenium. *Adv. Funct. Mater.* 12: 219.
52. Gattow G., Heinrich G. (1964): Thermochemistry of selenium. *Z. Anorg. Allg. Chem.* 331: 256-288.
53. Geering H. R., Cary E. E.; Jones L. H. P.; Allaway W. H. (1968): Solubility and redox criteria for the possible forms of selenium in soils. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 32: 35-40.
54. Gissel-Nielsen G., Gupta U. C. (2004): Agronomic approaches to increase selenium concentration and food crops. In: *Welch RM, Āakmak I: Impacts of Agriculture on Human Health and Nutrition, in Encyclopedia of Life Support Systems: EOLSS), Developed under the Auspices of the UNESCO, Eolss Publishers, Oxford*
55. Gjorgovska N., Kiril F., Vesna L., Toshko K. (2012): The effect of different levels of selenium in feed on egg production, egg quality and selenium content in yolk. *Lucrări Științifice - Seria Zootehnie* 57: 270-274
56. Gómez-Ariza J. L., Pozas J. A., Giraldez I., Morales E. (1998): Speciation of volatile forms of selenium and inorganic selenium in sediments by gas chromatography–mass spectrometry. *J. Chromatography A.* 823: 259-277.
57. Gondi F., Pantó G., Fehér J., Bogye G., Alfthan G. (1992): Selenium in Hungary, The rock-soil-human system. *Biol. Trace Elem. Res.* 35: 299-306.
58. Gojkovic Z., Vilchez C., Torronteras R., Vígara J., Gómez-Jacinto V., Janzer N., Gómez-Ariza J., Márová I., Garbayo I. (2014): Effect of selenate on viability and selenomethionine accumulation of *Chlorella sorokiniana* grown in batch culture. *The Sci. World J.* 2014, Article ID 401265
59. Gronbaek H., Thorlacius-Ussing O. (1992): Selenium in the central nervous system of rats exposed to <sup>75</sup>-Se selenomethionine and sodium selenite. *Biol. Trace Elem. Res.* 35: 119–127.

60. Hartill M. (2004): Geographic distribution of geologically bioavailable selenium: correlations with health and disease. *Denver Annual Meeting, 2004*: 46.
61. Hasanuzzaman M., Hossain M. A., Fujita M. (2010): Selenium in higher plants: physiological role, antioxidant metabolism and abiotic stress tolerance. *J. Plant Sci.* 5: 354–375.
62. Hassan El-Ramady, Abdalla N., Alshaal T., El-Henawy A., Faizy E.-D.A. S., Shams S. M., Shalaby T., Bayoumi Y., Elhawat N., Shehata S., Sztrik A., Prokisch J., Fári M., Pilon-Smits E. A., Domokos-Szabolcsy É. (2015): Selenium and its Role in Higher Plants. *Environmental Chemistry for a Sustainable World, Chapter 6, Springer International, Svájc*: 235-296.
63. Haug A., Graham R. D., Christophersen O. A., Lyons G. H. (2007): How to use the world's scarce selenium resources efficiently to increase the selenium concentration in food. *Microb. Ecol. Health Dis.* 19: 209-228.
64. Hawkesford M.J., Buchner P. (2001): Molecular Analysis of Plant Adaptation to the Environment. *Springer Netherlands, Hollandia*
65. Heindl J., Ledvinka Z., Englmaierová M., Zita L., Tumová E. (2010): The effect of dietary selenium sources and levels on performance, selenium content in muscle and glutathione peroxidase activity in broiler chickens. *Czech J. Anim. Sci.* 55: 572-578.
66. Herbel M. J., Blum J. S., Oremland R. S. (2003): Reduction of elemental selenium to selenide: Experiments with anoxic sediments and bacteria that respire Se-oxyanions. *Geomicrobio. J.* 20: 587-602.
67. Hogue D. E., Proctor J. F., Warner R. G. and Loosli J. K. (1962): Relation of selenium, vitamin E and an unidentified factor to muscular dystrophy: stiff-lamb or white muscle disease in the lamb. *J. Anim. Sci.* 21: 25-29.
68. Holmes J. G. (1947): Colorimetry in the glass industry, *Proceedings. Physical Society* 59: 592-610.
69. Hu Y., McIntosh G. H., Young G. P. (2012): Selenium-rich foods: A promising approach to colorectal cancer prevention. *Curr. Pharm. Biotechnol. no.* 13: 165-172
70. Huang B., Zhang J., Hou J., Chen C. (2003): Free radical scavenging efficiency of nano-Se *in vitro*. *Free Rad. Biol. Med.* 35: 805-813.

71. Huang Z., Rose A. H., Hoffmann P. R. (2012): The role of selenium in inflammation and immunity: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities. *Antioxid Redox Signal* 16: 705-743.
72. Hurd-Karrer A. M. (1935): Factors affecting the absorption of selenium from soils by plants. *J. Agr. Res.* 50: 413-427.
73. IP C., Birringer M., Block E., Kotrebai M., Tyson J. F., Uden P. C., Lisk D. J. (2000): Chemical speciation influences comparative activity of selenium-enriched garlic and yeast in mammary cancer prevention. *J. Agric. Food Chem.* 48: 2062-2070.
74. Ip C., Dong Y., Ganther H. E. (2002): New concepts in selenium chemoprevention. *Cancer Metast. Rev.* 21: 281-289.
75. Jajoo A., Szabó M., Zsiros O., Garab G. (2012): Low pH induced structural reorganization in thylakoid membranes. *Biochim. Biophys. Acta* 1817: 1388–1391
76. Janghorbani M., Ting T. G. Bill, Young R. Vernon (1981): Use of stable isotopes of selenium in human metabolic studies: development of analytical methodology. *Am. J. Clin. Nutr.* 34: 2816-2830.
77. Johnson C. C., Fordyce F. M., Rayman M. P. (2010): Symposium on “Geographical and geological influences on nutrition”: factors controlling the distribution of selenium in the environment and their impact on health and nutrition. *Proc. Nutr. Soc.* 69: 119–132.
78. Juniper D. T., Phipps R. H., Ramos-Morales E., Bertin G. (2008): Effect of dietary supplementation with selenium-enriched yeast or sodium selenite on selenium tissue distribution and meat quality in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 86: 3100–3109.
79. Kabata-Pendias A. (2012): Trace Elements in Soils and Plants 4th Edition. *CRC Press, Boca Raton, USA*
80. Kádár I. (1999): Szelénforgalom a talaj-növény rendszerben. *Agrokémia és Talajtan* 48: 233-242.
81. Kádár I., Németh T. (2003a): Mikroelem-szennyezők kimosódásának vizsgálata szabadföldi terheléses tartamkísérletben. *Agrokémia és Talajtan* 52: 315-330
82. Kádár I., Németh T. (2003b): Mikroelemek kilúgzása meszes csernozjom talajon. *In: Simon L., Szilágyi M.: Mikroelemek a Táplálékláncban, Bessenyei György Kiadó, Nyíregyháza: 134-149*

83. Kápolna E. (2006): Mérési eljárások kidolgozása és alkalmazása szeléntartalmú élelmiszerek és étrend-kiegészítők módszeranalitikai vizsgálatára. *Doktori értekezés, Budapesti Corvinus Egyetem, Budapest*: 122-123.
84. Kápolna E., Shah M., Caruso J. A., Fodor P. (2007): Selenium speciation studies in Se-enriched chives *Allium schoenoprasum* by HPLC-ICP-MS. *Food Chem. 101*: 1398-1406.
85. Kasaikina V. M., Hatfield L. D., Gladyshev N. V. (2012): Understanding selenoprotein function and regulation through the use of rodent models. *Biochim. Biophys. Acta 1823*: 1633-1642.
86. Kessi J., Ramuz M., Wehrli E., Spycher M., Bachofen R. (1999): Reduction of selenite and detoxification of elemental selenium by the phototropic bacterium *Rhodospirillum rubrum*. *App. Envir. Microbiol. 65*: 4734-4740.
87. Kim J. E., Choi S. I., Lee H. R., Hwang I. S., Lee Y. J., An B. S., Lee S. H., Kim H. J., Kang B. C., Hwang D. Y. (2012): Selenium significantly inhibits adipocyte hypertrophy and abdominal fat accumulation in OLETF rats via induction of fatty acid  $\beta$ -oxidation. *Biol. Trace. Elem. Res. 150*: 360-370.
88. Kotrebai M., Birringer M., Tyson J. F., Block E., Uden P. C. (2000): Selenium speciation in enriched and natural samples by HPLC-ICP-MS and HPLC-ESI-MS with perfluorinated carboxylic acid ion-pairing agents. *Analyst 125*: 71–78.
89. Kovács B., Prokisch J., Győri Z., Balla A., Kovács A., Palencsár J. (2000): Studies on soil sample preparation for inductively coupled plasma atomic emission spectrometry analysis. *Comm. Soil Sci. Plant Analysis 31*: 1949-1963.
90. Kovács B., Kádár I., Széles É., Prokisch J., Győri Z., Simon L. (2005): Investigation of selenium using soil and plant samples from a long-term field experiment. *In: Proceedings: EuroLa M.: Twenty Years of Selenium Fertilization, Finnország, 2005*: 108.
91. Kyriakopoulos A., Behne D. (2002): Selenium-containing proteins in mammals and other forms of life. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol. 145*: 1-46.
92. Łabanowska M., Filek M., Koscielniak J., Kurdziel M., Kulis E., Hartikainen H. (2012): The effects of short-term selenium stress on Polish and Finnish wheat seedlings—EPR, enzymatic and fluorescence studies. *J. Plant Physiol. 169*: 275–284.
93. Läuchli A. (1993): Selenium in plants: uptake, functions and environmental toxicity. *Bot. Acta 106*: 455-468.

94. Levander O. A. (1986): Selenium. Trace Elements in Human and Animal Nutrition 5th edn, *Academic Press, Orlando*: 209-279.
95. Levander O. A., Burk R. F. (1996): "Selenium." In: *Ziegler E. E. and Filer L. J.: Present Knowledge in Nutrition, : ILSI Press, Washington DC.*: 320-324.
96. Levander, O. A., Beck, M. A. (1997): Interacting nutritional and infectious etiologies of Keshan disease. Insights from Coxsackie virus B-induced myocarditis in mice deficient in selenium or vitamin E. *Biol. Trace Elem. Res.* 56: 5-21.
97. Li S., Shen Y., Xie A., Yu X., Zhang X., Yang L., Li C. (2007): Rapid, room-temperature synthesis of amorphous selenium/protein composites using *Capsicum annuum* L extract. *Nanotech.* 18: 136-141.
98. Lindblom S. D., Valdez-Barillas J. R., Fakra S. C., Marcus M. A., Wangeline A. L., Pilon-Smits E. A. H. (2012): Influence of microbial associations on selenium localization and speciation in roots of *Astragalus* and *Stanleya* hyperaccumulators. *Environ. Exp. Bot.* 88: 33-42.
99. Malagoli M., Schiavon M., Dall'Acqua S., Pilon-Smits E. A. H. (2015): Implications of selenium biofortification in food nutritional quality. *Front Plant Sci.* 6: 1–5.
100. Mao J. (1999): Fractionation and distribution of selenium in soils. *Soil Sci. Plant Anal.* 30: 2347-2447.
101. Maruyama-Nakashita A., Nakamura Y., Yamaya T., Takahashi H. (2004): A novel regulatory pathway of sulfate uptake in *Arabidopsis* roots: implication of CRE1/WOL/AHK4-mediated cytokinin- dependent regulation. *Plant J.* 38: 779–789.
102. McNeal J. M., Balistreri L. S. (1990): Geochemistry and occurrence of selenium: an overview. In: *Jacobs LW: Selenium in Agriculture and the Environment. American Society of Agronomy, Soil Science Society of America, Madison*
103. Mees D. R., Pysto W., Tracha P. J. (1995): Formation of selenium colloids using sodium ascorbate as the reducing agent. *J. Colloid Interface Sci.* 170: 254.
104. Mitchell K., Couture R. M., Johnson T. M., Mason P. R. D., van Cappellen P. (2011): Selenium sorption and isotope fractionation: iron(III) oxides versus iron(II) sulfides. *Chem. Geol.* 342: 21-28.
105. Mohammadi S., Movahedin M., Mowla S. J. (2009): Up-regulation of CatSper genes family by selenium. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 7: 126.

106. Mohapatra P., Swain R. K., Mishra S. K., Behera T., Swain P., Mishra S. S., Behura N. C., Sabat S. C., Sethy K., Dhama K., Jayasankar P. (2014): Effects of dietary nano-selenium on tissue selenium deposition, antioxidant status and immune functions in layer chicks. *Int. J. Pharma.* 10: 160-167.
107. Moxon A. L., Rhian M. (1943): Selenium poisoning. *Physiol. Rev.* 23: 305–337.
108. Mukherjee S., Weiner W. S., Schroeder C. E., Simpson D. S., Hanson A. M., Sweeney N. L., Marvin R. K., Ndjomou J., Kolli R., Isailovic D., Schoenen F. J., Frick D. N. (2014): Ebselen inhibits hepatitis C virus NS3 helicase binding to nucleic acid and prevents viral replication. *ACS Chem. Biol.* 9: 2393-2403.
109. Murashige T., Skoog F. (1962): A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissues cultures. *Plant Physiol.* 15: 473-497.
110. Muth O. H. (1963): White muscle disease, a selenium responsive myopathy. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 142: 272-277.
111. Nakamaru Y. M., Altansuvd J. (2014): Speciation and bioavailability of selenium and antimony in non-flooded and wetland soils: a review. *Chemosphere* 111: 366–371.
112. Nandhakumar I., Elliot J. M., Attard G. S. (2001): Electrodeposition of nanostructured mesoporous selenium films. *Chem. Mater.* 13: 3840.
113. Nagy J. I., Maliga P. (1976): Callus induction and plant regeneration from mesophyll protoplasts of *Nicotiana sylvestris*. *Z. Pflanzenphysiol. Bd.* 78: 453-455.
114. Nagy G., Benko I., Király G., Voros O., Tanzos B., Sztrik A., Takács T., Pócsi I., Prokisch J., Banfalvi G. (2015): Cellular and nephrotoxicity of selenium species. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 30: 160-175.
115. Neuhierl B., Böck A. (1996): On the mechanism of selenium tolerance in selenium-accumulating plants. *Eur. J. Biochem.* 239: 235-238.
116. Nriagu J. O., Pacyna J. M. (1988): Quantitative assessment of worldwide contamination of air, water and soils by trace-metals. *Nature* 333: 134-139.
117. Olson O. E., J. N. E., Whitehead E. I., Palmer I. S. (1970): Investigation of selenium in wheat. *Phytochemistry* 9: 1181-1188.
118. Oremland R. S., Herbel M. J., Blum J. S., Langley S., Beveridge T. J., Ajayan P. M., Sutto, T., Ellis A. V., Curran S. (2004): Structural and spectral features of selenium nanospheres produced by Se-respiring bacteria. *App. Env. Micr.* 70: 52-60.

119. Palmer I. S., Herr A., Nelson T. (1982): Toxicity of selenium in brazil nuts to rats. *J. Food Sci.* 47: 1595-1597.
120. Parker D. R., Feist L. J., Varel T. W., Thomason D. N., Zhang Y. Q. (2003): Selenium phytoremediation potential of *Stanleya pinnata*. *Plant Soil* 249: 157–165.
121. Pilon-Smits E. A. H. (2015): Selenium in plants. In: Luetttge U., Beyschlag W.: *Progress in Botany* 76., Springer International Publishing, Cham, 93–107.
122. Pilon-Smits E. A. H., Bañuelos G. S., Parker D. R. (2014): Uptake, metabolism, and volatilization of selenium by terrestrial plants. In: Chang A.C., Brawer Silva D.: *Science, Technology, and Policy, Global Issues in Water Policy, vol 5.*, Springer, Dordrecht: 147–164.
123. Pilon-Smits E. A. H., Quinn C. F. (2010): Selenium metabolism in plants. In: Hell R., Mendel R R.: *Cell Biology of Metals and Nutrients. Plant Cell Monographs, vol 17.*, Springer, Berlin, 225–241.
124. Pinsent J. (1954): The need for selenite and molybdate in the formation of dehydrogenase by members of the coliaerogenes group of bacteria. *Biochem. J.* 57: 10.
125. Połatajko A., Banas B., Ruiz Encinar J., Szpunar J. (2005): Investigation of the recovery of selenomethionine from selenized yeast by two-dimensional LC–ICP MS. *Anal. Bioanal. Chem.* 381: 844-849.
126. Prokisch J., Kovács B., Széles É., Hovánszki D., Gyóri Z. (2006): QC (Quality Control) minták előállítása és alkalmazása az analitikai mérések minőségbiztosításában. In: *Proceedings: XV. Élelmiszer Minőségellenőrzési Tudományos Konferencia, 2006, Debrecen:* 145
127. Prokisch J., Zommara M. (2008): Process for producing elemental selenium nanospheres. *Pct/Ib2008/052838*, Receiving Office: International Bureau of the World Intellectual Property Organization P104315
128. P.S. Analytical (1999): APP016: Selenium determination in fresh, estuarine and near shore water samples. *P.S. Analytical Application Notes, Kent, UK*
129. P.S. Analytical (1999): APP092: Using the Millenium Excalibur for selenium speciation. *P.S. Analytical Application Notes, Kent, UK*
130. Rashid M. M., Lin Z. Q. (2016): Partitioning of SeNP in the water soluble and the exchangeabl fractions and effects of soil organic matter and incubation time. In: Bañuelos G. S, Lin Z. Q., Moraes M. F., Guilherme L. R. G., dos Reis A. R.: *Global Advances in Selenium Research from Theory to Application*, CRC Press, Boca Raton, USA: 35-36.

131. Rayman M. P. (2000): The importance of selenium to human health. *The Lancet* 356: 233-241.
132. Rayman M. P., Infante H. G., Sargent M. (2008): Food-chain selenium and human health: spotlight on speciation. *Brit. J. Nutr.* 100: 238-253.
133. Redman C., Xu M. J., Peng Y. M., Scott J. A., Payne C., Clark L. C., Nelson M. A. (1997): Involvement of polyamines in selenomethionine induced apoptosis and mitotic alterations in human tumor cells. *Carcinogenesis* 18: 1195-1202.
134. Reilly C. (1996): Selenium in food and health. *Springer, USA*: 7-8
135. Reilly C. (1998): Selenium: A new entrant into the functional food arena. *Trends Food Sci. Tech.* 9: 114-118.
136. Reilly C. (2006): Selenium in food and health 2nd ed., *Springer, USA*: 20-21., 30-32.
137. Reis R. N., Vieira S. L., Nascimento P. C., Peña J. E., Barros R., Torres C. A. (2009): Selenium contents of eggs from broiler breeders supplemented with sodium selenite or zinc-L-selenium-methionine. *J. Appl. Poult. Res.* 18: 151-157.
138. Rodruck T., Pope A. H., Ganther H. E., Swanson A. B., Hafeman D. G., Hoekstra W. G. (1973): Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Science* 179: 588-590.
139. Schilling K., Johnson T. M., Wilcke W. (2011): Isotope fractionation of selenium during fungal biomethylation by *Aternaria alternata*. *Environ. Sci. Technol.* 45: 2670-2676.
140. Schrauzer G. N. (2000): Anticarcinogenic effects of selenium. *Cell. Mol. Life Sci.* 57: 1864-1873.
141. Schuyler C. Anderson: 2015. U. S. Geological Survey, *Min. Comm. Summ.* 2015: 142-143.
142. Schwartz K., Foltz C. M. (1957): Selenium as an integral part of factor 3 against dietary necrotic liver degradation. *J. Am. Chem. Soc.* 79: 3292-3293.
143. Senthil K. C. K., Sugapriya S., Dhayalan V., Ranjithkumar R., Chandarsekhar B. (2015): Influence of Dietary Selenium Nanowires on Growth Performance of Broiler Chicken. *Int. J. BioSci. and NanoSci.* 2 (4): 78-83.
144. Shah M., Kannamkumarath S. S., Wuilloud J. C. A., Wuilloud R. G., Caruso J. A. (2004): Identification and characterization of selenium species in enriched green onion (*Allium fistulosum*) by HPLC-ICP-MS and ESI-ITMS. *J. Anal. Atomic Spect.* 19: 381-386.

145. Shamberger R. J., Rudolph G. (1966): Protection against cocarcinogenesis by antioxidants. *Experientia* 22: 116.
146. Simon L., Széles É., Kovács B., Prokisch J., Győri Z. (2006): Phytoextraction of selenium from contaminated soils with Indian mustard, fodder radish and alfalfa. *In: Szilágyi M., Szentmihályi K.: Proceedings of the International Symposium on Trace Elements in the Food Chain, Budapest, 2006: 40-44.*
147. Simon L., Bíró B., Széles É., Balázs S. (2007): Szelén fitoextrakciója és mikrobacsoportok előfordulása szennyezett talajokban. *Agrokémia és Talajtan* 56: 161-172.
148. Skinner C. P. (1999): Environmental Chemistry of Selenium. *Soil Sci. Soc. Amer. J.* 164: 70-72.
149. Sors T. G., Ellis D. R., Salt D. E. (2005): Selenium uptake, translocation, assimilation and metabolic fate in plants. *Photosynth. Res.* 86: 373–389.
150. Stadlober M., Sager M., Irgolic K. J. (2001): Effects of selenate supplemented fertilisation on the selenium level of cereals – identification and quantification of selenium compounds by HPLC- ICP-MS. *Food Chem.* 73: 357–366.
151. Sunde A. Roger (2003): Molecular selenium nutrition: a journey from rats to molecular biology. *A. L. Moxon Honorary Lectures, Special Circular 167-99*
152. Suzuki K. T., Ogra Y. (2002): Metabolic pathway for selenium in the body: speciation by HPLC-ICP MS with enriched Se. *Food Add. Contam.* 19: 974-983.
153. Széles É. (2007): Szelénvegyületek átalakulásának vizsgálata tartamkísérletből származó talaj- és növénymintákban. *Doktori értekezés, Debreceni Egyetem, Debrecen: 81-82.*
154. Terry N., Zayed A. M. (1994): Selenium volatilization by plants. *In: Frankenberger Jr., Benson W.T.: Selenium in The Enviroment, Marcel Dekker, New York: 343-369.*
155. Terry N., Zayed A. M., Souza M. P., Tarun A. S. (2000): Selenium in higher plants. *Annu. Rev. Plant Phys. Plant Mol. Biol.* 51: 401-432.
156. Tin Win D. (2003): Selenium: Atomic number 34, Mass Number 78,96. *AU J. Tech.* 7: 1-7.
157. Tomei F. A., Barton L. L., Lemanski C. L., Zocco T. G., Fink N. H., Sillerud L. O. (1995): Transformation of selenate and selenite to elemental selenium by *Desulfovibrio desulfuricans*. *J. Ind. Micr. Biotech.* 14: 329-336.

158. Turner D. C., Stadtman T. C. (1973): Purification of protein components of clostridial glycine reductase system and characterization of protein A as a selenoprotein. *Arch. Biochem. Biophys.* 154: 366-381.
159. Ungvári É. (2015): Nanopartikuláris szelénkészítmények farmakológiai vizsgálata – új lehetőségek a szelénpótlás területén.  
*Doktori értekezés, Debreceni Egyetem, Debrecen: 25*
160. Utterback P. L., Parsons C. M., Yoon I., Butler J. (2005): Effect of supplementing selenium yeast in diets of laying hens on egg selenium content.  
*Poult. Sci.* 84: 1900-1901
161. Wang H., Zhang J., Yu H. (2007): Elemental selenium at nano size possesses lower toxicity without compromising the fundamental effect on selenoenzymes: Comparison with selenomethionine in mice. *Free Rad. Biol. Med.* 42: 1524-1533.
162. Wang Y., Zhan X., Zhang X., Wu R., Yuan D. (2011): Comparison of different forms of dietary selenium supplementation on growth performance, meat quality, selenium deposition, and antioxidant property in broilers.  
*Biol. Trace Elem. Res.* 143: 261-273
163. Whanger P. D. (2002): Selenocompounds in plants and animals and their biological significance. *J. Am. Coll. Nutr.* 21: 223-232.
164. Whanger P. D. (2004): Selenium and its relationship to cancer: an update.  
*British J. Nutr.* 91: 11-28.
165. White P. J., Bowen H. C., Parmaguru P., Fritz M., Spracklen W. P., Spiby R. E., Meacham M. C., Mead A., Harriman M., Trueman L. J., Smith B. M., Thomas B., Broadley M. R. (2004): Interactions between selenium and sulphur nutrition in *Arabidopsis thaliana*. *J. Exp. Bot.* 55: 1927-1937.
166. Winkel L. H. E., Vriens B., Jones G. D., Schneider L. S., Pilon-Smits E., Bañuelos G. S. (2015): Selenium cycling across soil-plant-atmosphere interfaces: a critical review. *Nutrients* 7: 4199–4239.
167. Wolfrum S., Anliker E., Scharrer E. (1986): Uptake of selenate and selenite by isolated brush border membrane vesicles from pig, sheep and rat intestine.  
*Biol. Trace. Elem. Res.* 10: 293-306.
168. Wolfrum S., Berger B., Grenacher B., Scharrer E. (1989a): Transport of selenoamino acids and their sulfur analogues across the intestinal brush border membrane. *J. Nutr.* 119: 706-712.

169. Wolfram S., Berger B., Grenacher B., Scharrer E. (1989b): Transport of selenomethionine and methionine across the intestinal brush border membrane. *In: A. Wendel: Proceedings of the 4th International Symposium on Selenium in Biology & Medicine, 1988, Tübingen: 109-113.*
170. Wu L. (2004): Review of 15 years of research on ecotoxicology and remediation of land contaminated by agricultural drainage sediment rich in selenium. *Ecotox. Environ. Saf. 57: 257–269.*
171. Wu X., Gu L., Holden J., Haytowitz D. B., Gebhardt S. E., Beechen G., Prior R. (2004): Development of a database for total antioxidant capacity in foods: preliminary study. *J. Food Comp. Anal. 17: 407-422.*
172. Yasumoto K., Iwami K., Yoshida M. (1984): Nutritional efficiency and chemical form of selenium, an essential trace element, contained in soybean protein. *Se-Te Abstracts 25: 73150.*
173. Yoon I., Werner T.M., Butler J.M. (2007): Effect of source and concentration of selenium on growth performance and selenium retention in broiler chickens. *Poult. Sci. 86: 727-30.*
174. Yu X. Z., Gu J. D. (2013): Phyto-transport and assimilation of selenium. *In: Gupta D. K.: Plant-based Remediation Processes. Soil Biology Series vol 35., Springer, Berlin/Heidelberg, 159–175.*
175. Zayed A., Lytle C. M., Terry N. (1998): Accumulation and volatilization of different chemical species of selenium by plants. *Planta 206: 284-292.*
176. Zhang J. S., Gao X. Y., Zhang L. D., Bao Y. P. (2001): Biological effects of a nano red elemental selenium. *Biofactors 15: 27-38.*
177. Zhang S. Y., Zhang J., Wang H. Y., Chen H. Y. (2004): Synthesis of selenium nanoparticles in the presence of polysaccharides. *Mat. Letters 58: 2590-2594.*
178. Zhang, Z., Huang, R. (2013): Analysis of malondialdehyde, chlorophyll proline, soluble sugar, and glutathione content in *Arabidopsis* seedling. *Bio-protocol Vol 3, Iss 14: 1-9*
179. Zhu J. M., Johnson T. M., Clark S. K., Zhu X. K., Wang X. L. (2004): Selenium redox cycling during weathering of Se-rich shales: A selenium isotope study. *Geochim. Cosmochim. Acta 126: 228-249*
180. Zhu Y. G., Pilon-Smits E. A. H., Zhao F. J., Williams P. N., Meharg A. A. (2009): Selenium in higher plants: understanding mechanisms for biofortification and phytoremediation. *Trends Plant. Sci. 14: 436–442.*

## 11. PUBLIKÁCIÓK AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉBEN



DEBRECENI EGYETEM  
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR



Nyilvántartási szám: DEENK/253/2015.PL  
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Sztrik Attila

Neptun kód: I8TOGN

Doktori Iskola: Hankóczy Jenő Növénytermesztési, Kertészeti és Élelmiszertudományok Doktori Iskola  
MTMT azonosító: 10037687

### A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

#### Idegen nyelvű, külföldi könyvrészlet(ek) (1)

1. El-Ramady, H., Abdalla, N., Alshaal, T., El-Henawy, A., Faizy, S.E.A., Shams, M.S., Shalaby, T., Bayoumi, Y., Elhawaf, N., Shehata, S., **Sztrik, A.**, Prokisch, J., Fári, M., Pilon-Smits, E.A., Domokos-Szabolcsy, É.: Selenium and its role in higher plants.  
In: Pollutants in Buildings, Water and Living Organisms. Ed.: Eric Lichtfouse, Jan Schwarzbauer, Didier Robert, Springer International Publishing Switzerland, Switzerland, 235-296, 2015. ISBN: 9783319192765  
DOI: [http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-19276-5\\_6](http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-19276-5_6)

#### Idegen nyelvű tudományos közlemény(ek) hazai folyóiratban (1)

2. Domokos-Szabolcsy, É., Alla, N.A., Akshaal, T., **Sztrik, A.**, Márton, L., El-Ramady, H.: In vitro comparative study of two *Arundo donax* L. ecotypes' selenium tolerance.  
*Int. J. Hortic. Sci.* 20 (3-4), 119-122, 2014. ISSN: 1585-0404.

#### Idegen nyelvű tudományos közlemény(ek) külföldi folyóiratban (5)

3. El-Ramady, H., Abdalla, N., Taha, H.S., Alshaal, T., El-Henawy, A., Faizy, S.E.A., Shams, M.S., Youssef, S.M., Shalaby, T., Bayoumi, Y., Elhawaf, N., Shehata, S., **Sztrik, A.**, Prokisch, J., Fári, M., Domokos-Szabolcsy, É., Pilon-Smits, E.A., Selmar, D., Haneklaus, S., Schnug, E.: Selenium and nano-selenium in plant nutrition.  
*Environ. Chem. Lett.* 10, 1-25, 2015. ISSN: 1610-3653.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10311-015-0535-1>  
IF:2.573 (2014)

Cím: 4032 Debrecen, Egyetem tér 1. □ Postacím: 4010 Debrecen, Pf. 39. □ Tel.: (52) 410-443  
E-mail: [publikaciok@lib.unideb.hu](mailto:publikaciok@lib.unideb.hu) □ Honlap: [www.lib.unideb.hu](http://www.lib.unideb.hu)



4. El-Ramady, H.R., Abdalla, N., Alshaal, T., Elhenawy, A.S., Shams, M.S., Faizy, S.E.A., Belal, E.B., Shehata, S.A., Ragab, M.I., Amer, M.M., Fári, M., **Sztrik, A.**, Prokisch, J., Selmar, D., Schnug, E., Pilon-Smits, E.A.H., El-Marsafawy, S.M., Domokos-Szabolcsy, É.: Giant reed for selenium phytoremediation under changing climate.  
*Environ. Chem. Lett.* 13 (4), 359-380, 2015. ISSN: 1610-3653.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10311-015-0523-5>  
IF:2.573 (2014)
5. El-Ramady, H.R., Domokos-Szabolcsy, É., Abdalla, N.A., Alshaal, T., Shalaby, T., **Sztrik, A.**, Prokisch, J., Fári, M.: Selenium and nano-selenium in agroecosystems.  
*Environ. Chem. Lett.* 12 (4), 495-510, 2014. ISSN: 1610-3653.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10311-014-0476-0>  
IF:2.573
6. Domokos-Szabolcsy, É., Márton, L., **Sztrik, A.**, Babka, B., Prokisch, J., Fári, M.: Accumulation of red elemental selenium nanoparticles and their biological effects in *Nicotinia tabacum*.  
*Plant growth regul.* 68 (3), 525-531, 2012. ISSN: 0167-6903.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10725-012-9735-x>  
IF:1.67
7. Eszenyi, P., **Sztrik, A.**, Babka, B., Prokisch, J.: Elemental, Nano-Sized (100-500 nm) Selenium Production by Probiotic Lactic Acid Bacteria.  
*Int. J. Biosci. Biochem. Bioinf.* 1 (2), 148-152, 2011. ISSN: 2010-3638.

Magyar nyelvű konferencia közlemény(ek) (1)

8. **Sztrik A.**, Eszenyi P., Takács T., Babka B., Balláné Kovács A., Prokisch J.: Nanoszelen viselkedése a talajban.  
In: Alap és alkalmazott kutatások eredményei a növénytudományokban. Szerk.: Szabó András, Debreceni Egyetemi Kiadó, Debrecen, 195-201, 2012. ISBN: 9786155183171





Idegen nyelvű konferencia közlemény(ek) (3)

9. Prokisch, J., **Sztrik, A.**, Babka, B., Eszenyi, P., Pardi, J., Mika, Z., Zommara, M.: Novel Fermentation Technology for Production of Selenium Nanospheres (LactoMicroSel) and its testing for feed and food applications.  
In: Selenium Global Perspectives of Impacts on Humans, Animals and the Environment : Proceedings of 2nd International Conference on Selenium in the Environment and Human Health. Ed.: Gary Banuelos, Z. Q, University of Science and Technology China Press, China, 69-70, 2011. ISBN: 9787312029295
10. Eszenyi, P., **Sztrik, A.**, Babka, B., Prokisch, J.: Production of LactoMicroSel and nanosize (100-500 nm) selenium spheres by probiotic lactic acid bacteria.  
*Int. Proc. Chem., Biol. Envir. Eng.* 9, 97-101, 2011. ISSN: 2010-4618.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.7763/ipcbee>
11. **Sztrik, A.**, Eszenyi, P., Babka, B., Prokisch, J.: Fate of nano size selenium in biological systems.  
In: 4th European Conference on Chemistry for Life Sciences : August 31 - September 3, 2011, Budapest : Programme and book of abstracts. Hungarian Chemical Society, Budapest, 40, 2011. ISBN: 9789639970144

**További Közlemények**

Idegen nyelvű közlemény(ek) hazai folyóiratban (2)

12. Elhawat, N., Alshaal, T., Kratz, S., Domokos-Szabolcsy, É., El-Ramady, H., Prokisch, J., Eszenyi, P., **Sztrik, A.**, Babka, B., Fári, M.: Ecotoxicology of Copper in Horticultural Soils: A Review.  
*Int. J. Hortic. Sci.* 19 (1-2), 7-18, 2013. ISSN: 1585-0404.
13. Domokos-Szabolcsy, É., Barnóczki, A., Prokisch, J., **Sztrik, A.**, Fári, M.: Variation in selenium tolerance among two onion cultivars in closed fortification system.  
*Int. J. Hortic. Sci.* 17 (1-2), 75-77, 2011. ISSN: 1585-0404.

Idegen nyelvű közlemény(ek) külföldi folyóiratban (5)



14. Nagy, G., Benkő, I., Király, G., Vörös, O., Tánczos, B., **Sztrik, A.**, Takács, T., Pócsi, I., Prokisch, J., Bánfalvi, G.: Cellular and nephrotoxicity of selenium species.  
*J. Trace Elem. Med. Biol.* 30, 160-170, 2015. ISSN: 0946-672X.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtemb.2014.12.011>  
IF:2.371 (2014)
15. El-Ramady, H., Abdalla, N., Alshaal, T., Domokos-Szabolcsy, É., Elhawat, N., Prokisch, J., **Sztrik, A.**, Fári, M., El-Marsafawy, S., Shams, M.S.: Selenium in soils under climate change, implication for human health.  
*Environ. Chem. Lett.* 13 (1), 1-19, 2014. ISSN: 1610-3653.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10311-014-0480-4>  
IF:2.573
16. Elhawat, N., Alshaal, T., Domokos-Szabolcsy, É., El-Ramady, H., Márton, L., Czakó, M., Kátai, J., Balogh, P., **Sztrik, A.**, Molnár, M., Popp, J., Fári, M.G.: Phytoaccumulation potentials of two biotechnologically propagated ecotypes of *Arundo donax* in copper-contaminated synthetic wastewater.  
*Environ. Sci. Pollut. Res.* 21 (12), 7773-7780, 2014. ISSN: 0944-1344.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-014-2736-8>  
IF:2.828
17. Ungvári, É., Monori, I., Megyeri, A., Csiki, Z., Prokisch, J., **Sztrik, A.**, Jávora, A., Benkő, I.: Protective effects of meat from lambs on selenium nanoparticle supplemented diet in a mouse model of polycyclic aromatic hydrocarbon-induced immunotoxicity.  
*Food Chem. Toxicol.* 64, 298-306, 2014. ISSN: 0278-6915.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2013.12.004>  
IF:2.895
18. Benkő, I., Nagy, G., Tánczos, B., Ungvári, É., **Sztrik, A.**, Eszenyi, P., Prokisch, J., Bánfalvi, G.: Subacute toxicity of nano-selenium compared to other selenium species in mice.  
*Environ. Toxicol. Chem.* 31 (12), 2812-2820, 2012. ISSN: 0730-7268.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/etc.1995>  
IF:2.618





Idegen nyelvű konferencia közlemény(ek) (1)

19. El-Ramady, H., Abd Alla, N., Alshaal, T., Elhawat, N., Domokos-Szabolcsy, É., Prokisch, J.,  
**Sztrik, A.**, Fári, M.: Selenium: Its Implications to Human Health through Soils under Climate  
Changes.  
In: Proceedings of the 11th International Conference "Climate Changes and Sustainable  
Development of Natural Resources. Ed.: by IUSS, International Union of Soil Sciences,  
Kafrelsheikh, Egypt, 54, 2014.

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 22,674**

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre):  
9,389**

A DEENK a Jelölt által az iDEa Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudományometriai  
ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján  
elvégezte.

Debrecen, 2015.12.08.



## 12. ÁBRA ÉS TÁBLÁZATJEGYZÉK

### Ábrajegyzék

1. ábra: Vérplazmában mért szelén a Föld különböző országaiban.....	14
2. ábra: A szelén feltételezett bio geokémiai körforgása .....	16
3. ábra: A növényi szelén metabolizmus általános ábrázolása. ....	17
4. ábra: Szelénmetabolizmus gerincesekben.....	21
5. ábra: Dohány kalluszképzés különböző szelénkezelt táptalajokon.....	30
6. ábra: Kontroll és 100 mg/kg NanoSel-t tartalmazó táptalajon nevelt, azonos korú dohánynövény leveles hajtása és gyökérrendszere.. ....	31
7. ábra: Nanoméretű elemi szeléngömböket tartalmazó NanoSel szol.....	33
8. ábra: NanoSel szol visszavert fényben, fény felé fordítva, lézerrel átvilágítva .....	34
9. ábra: Liofilizált és darált LactoMicroSel, Légfúvással szárított és darált LactoMicroSel.....	36
10. ábra: LactoMicroSel szelénrel dúsított joghurtpor gyártásának folyamatábrája .	37
11. ábra: Elkészült LactoMicroSel szelénrel dúsított joghurtpor .....	41
12. ábra: LactoMicroSel-ből készült szeléntartalmú instant tejpor és étrendkiegészítő tableta .....	42
13. ábra: Millenium Excalibur atomflorezcens spektrométer működése .....	43
14. ábra: Tisztított nanoszelén gömb elektronmikroszkópos képe .....	54
15. ábra: Bruker SPECTRA EDX készülékkel készített XRF spektrum.....	55
16. ábra: Tisztított nanoszelén gömbök aggregációja .....	55
17. ábra: NanoSel szol átlagos szemcseméretének változása az ultrahangos tisztítás után eltelt idő függvényében, az első 10 percben .....	56
18. ábra: NanoSel szol átlagos szemcseméretének változása az ultrahangos tisztítás után eltelt idő függvényében, az első 6 órában .....	57
19. ábra: A 200 nm pórusméretű cellulóz-acetát membránszűrőn a NanoSel szolt átszűrve a 250 nm méretű elemi szeléngömbök fennakadnak .....	58
20. ábra: A bal oldali kémcsőben lévő, 200 nm pórusméretű szűrőn átszűrt felülúszóban már nincsenek elemi szeléngömbök, ezért a jobb oldali kémcsőben lévő szűretlen felülúszóval ellentétben nem is látszik a lézernyaláb. ....	59
21. ábra: NanoSel szol felülúszójának oldott szelénkoncentrációja a felülúszó cseréje óta eltelt idő függvényében, és a rá illesztett telítési görbe. ....	59
22. ábra: A linearizált értékek függvénye .....	60

23.	ábra: NanoSel szol 1 hónapos felülúszójának szelénspeciációs vizsgálata .....	61
24.	ábra: Nanoszelén átalakulásának feltételezett modellje .....	61
25.	ábra: Elektronmikroszkópos felvétel a nanoszelén gömbökre kivált hexagonális elemi szelénkristályokról .....	62
26.	ábra: LactoMicroSel homogenitás vizsgálata SelPlex-el összehasonlítva .....	63
27.	ábra: Szelénnel dúsított instant tejpor homogenitásvizsgálatának egytényezős varianciaanalízise .....	64
28.	ábra: Talajok összszeléntartalma 8 hét után .....	66
29.	ábra: Talajok savoldható szeléntartalma .....	67
30.	ábra: A savoldható szeléntartalom változása a kezelés koncentrációjának függvényében .....	68
31.	ábra: Dohánynövény hajtás- és gyökér tömegének változása a különböző szelénkezelések hatására .....	70
32.	ábra: Izolált tilakoid membránok és az izolálás során visszamaradt szövettermék teljes szeléntartalma .....	72
33.	ábra: Az átlagos egyedi takarmányfogyasztás alakulása a nevelés teljes idejére vonatkoztatva (g/nap) .....	78
34.	ábra: A kísérleti csoportok takarmányértékesítése a teljes hizlalási időre vonatkoztatva a kontrollhoz viszonyítva .....	79
35.	ábra: A máj szeléntartalma a különböző kezelésekben .....	81
36.	ábra: A mellizom szeléntartalma a különböző kezelésekben .....	82
37.	ábra: Toll szeléntartalma a különböző kezelések hatására .....	82
38.	ábra: Tojások szeléntartalmának összehasonlítása a I. menetben .....	89
39.	ábra: Tojások szeléntartalmának összehasonlítása a II. menetben .....	89

## Táblázatjegyzék

1.	táblázat: A kén és a szelén legfontosabb tulajdonságainak összehasonlítása .....	12
2.	táblázat: Fontosabb szelenoproteinek és tulajdonságaik .....	22
3.	táblázat: Szelén RDA és UL életkoronként .....	25
4.	táblázat: Gyártási folyamat főbb jellemzői és időrendje .....	38
5.	táblázat: Mintavételek időpontja és a nátrium-szelenit-átalakulás hatásfoka .....	41
6.	táblázat: Protoplaszt izoláláshoz használt oldatok összetétele, desztillált vízben ..	48
7.	táblázat: Tilakoid izoláláshoz használt oldatok összetétele, desztillált vízben.....	49
8.	táblázat: Szelénnel dúsított tejpor homogenitásvizsgálata .....	64
9.	táblázat: Protoplaszt szelénkoncentrációjának változása a különböző kezelések hatására.....	71
10.	táblázat: Malondialdehid koncentráció változása dohánynövény intakt leveleiben és izolált tilakoidmembránjában különböző szelénkezelések hatására.....	73
11.	táblázat: A brojlercsirkék élőtömegének alakulása a nevelés teljes ideje alatt....	75
12.	táblázat: Napi átlagos tömeggyarapodás (g/állat) .....	76
13.	táblázat: Az átlagos egyedi takarmányfogyasztás alakulása a nevelés teljes ideje alatt heti bontásban (g/nap) .....	77
14.	táblázat: Takarmányértékesítés alakulása a hizlalás egyes heteiben .....	78
15.	táblázat: A relatív máj, mell és combtömeg (g/100 g testtömeg) alakulása az egyes kezelések hatására .....	80
16.	táblázat: Szelénkoncentráció a májban és izomban .....	81
17.	táblázat: A tojástermelés alakulása az I. menetben.....	84
18.	táblázat: A tojástermelés alakulása a II. menetben .....	84
19.	táblázat: A tojás mennyiségi paramétereinek alakulása a kísérlet mindkét menetében .....	85
20.	táblázat: A szik tömegének alakulása a kísérlet során .....	86
21.	táblázat: Szik színének alakulása a kísérlet során.....	87
22.	táblázat: A héjvastagság és –tömeg alakulása a kísérlet során .....	88

## 13. MELLÉKLET

1. számú melléklet: LactoMicroSel szelénnel dúsított joghurtpor gyártmánylapja

### A termék gyártmánylapja:

Kritikus szabályozási pont (gátlóanyag, előmelegítés, hűtés, adalékanyag hozzáadás, homogenizálás, porlasztva szárítás, leválasztás)

## GYÁRTMÁNYLAP

157/2009. (XI.18.) FVM rendelete alapján.

Érvényesség kezdete: 2011. 06. 28.

Érvényesség vége: határozatlan ideig

„LACTOMICROSEL”

Szelénnel dúsított joghurtpor készítmény

Porlasztva szárított

### I. Az élelmiszer-előállító

#### I/1. A vállalkozó neve, székhelyének címe:

**Instantpack Kft.**

4100 Berettyóújfalu

Dózsa György út 75.

#### I/2. Az előállító hely(ek) neve, címe:

**Instantpack Kft**

4100 Berettyóújfalu

Dózsa György út 75.

## II. Az élelmiszer leírása

### **II/1. Megnevezés**

„LACTOMICROSEL”

Szelénnel dúsított joghurtpor készítmény

Porlasztva szárított

**II/2.** *A termék egységnyi mennyiségéhez felhasznált összetevők csökkenő mennyiségi sorrendben történő felsorolása:*

Édes pasztörözött sajt savó, főlözött tehéntej, joghurtkultúra, nátrium-hidroxid oldat, aszkorbinsav, Nátrium-hidrogénszelenit

**II/3.** *Az alkalmazott technológiai segédanyagok felsorolása:*

Joghurt porkultúra: YO-MIX 401

NaOH-oldat (10 % (m/m))

Aszkorbinsav (C-vitamin)

Nátrium-hidrogénszelenit

**II/4.** *Az előállítási eljárás lényeges, a késztermék biztonsága, minősége szempontjából meghatározó lépéseinek és paramétereinek rövid leírása*

A pasztörözött édes savó és főlözött tej adott arányú keveréke és előírás szerinti kezelése.

Laboratóriumi ellenőrzés után az édes savó-főlözött tej keveréket 3 fokozatú, lemezes vákuumbepárlóval kell besűríteni.

A sűrítő berendezésből távozó sűrítmény szárazanyag tartalma 18-22% között legyen.

A sűrítmény hőmérsékletét 42-45°C-ra kell beállítani savanyító tartályban és joghurtkultúrával bekultúrázni, a kiszámított mennyiségű nátrium-hidrogénszelenit oldatot 30 perc után hozzáadni.

A savanyítás során folyamatosan ellenőrizni kell a pH-t és 5,2-5,4 pH értéken tartani, szükség esetén NaOH oldattal beállítani. Folyamatosan vizsgálni kell a szelén átalakulás mértékét.

Ha az átalakulás megfelelő, akkor adott mennyiségű aszkorbinsav oldattal a szabad szelént redukálni kell.

A sűrítmény vizsgálati paraméterei megfelelők 70-72 °C hőkezelní kell és a porító toronyra vezetni, porlasztása 160-200 °C bemenő levegő hőmérséklet és min. 80-90 °C kimenő levegő hőmérséklet mellett történik.

A szelenites joghurtpor készítményt fontosabb hasznos anyag tartalmi jellemzőit a gyártás során laboratóriumi vizsgálattal ellenőrizni kell, esetleg korrigálni.

A kész szelenites joghurtporkészítményt polietilénnel bélelt, rétegelt nátronzsákba kell tölteni.

Száraz, hűvös helyen kell tárolni.

A gyártás során a munkavédelmi és vegyszerkezelési előírásokat be kell tartani.

## 14. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönettel tartozom elsősorban témavezetőmnek, **Dr. Prokisch Józsefnek** az útmutatásért, ötletelésért, szakmai támogatásért és a kutatáshoz szükséges körülmények megteremtéséért mellyel kutatómunkám segítette.

Köszönöm kis kutatócsoportunk minden egykori és jelenlegi tagjának, **Dr. Babka Beátának, Duró Edinának, Takács Timeának és Eszenyi Péternek**, nem csak a munka során nyújtott segítséget, de a kellemes légkört, baráti társaságot is, melyben a munkát folytathattam.

Külön köszönettel tartozom **Dr. Domokos-Szabolcsy Évának** az éveken keresztül tartó jó munkakapcsolatért, számos közösen végzett érdekes kísérletért, a munkámhoz nyújtott segítségért.

Szeretném továbbá megköszönni **Balláné Dr. Kovács Andreának** a talajjal, **Dr. Hassan El-Ramadynak** a növényekkel és **Dr. Erdélyi Mártának** az állatokkal végzett kísérletekben nyújtott segítséget.

Végül, de nem utolsó sorban nagyon hálás vagyok feleségemnek, szüleimnek és testvéremnek a szeretetért, bátorításért, követendő példa mutatásáért, mely nélkül ez az egész nem sikerült volna.

## NYILATKOZAT

Ezen értekezést a Debreceni Egyetem Hankóczy Jenő Növénytermesztési, Kertészeti és Élelmiszertudományok Doktori Iskola keretében készítettem, a Debreceni Egyetem doktori (Ph.D.) fokozatának elnyerése céljából.

Debrecen, 20.....

.....

a jelölt aláírása

## NYILATKOZAT

Tanúsítom, hogy Sztrik Attila doktorjelölt 2009 - 2012 között a fent megnevezett Doktori Iskola keretében irányításommal/irányításunkkal végezte munkáját. Az értekezésben foglalt eredményekhez a jelölt önálló alkotó tevékenységével meghatározóan hozzájárult, az értekezés a jelölt önálló munkája. Az értekezés elfogadását javaslom/javasoljuk.

Debrecen, 20.....

.....

a témavezető(k) aláírása