

Egyetemi doktori (PhD) értekezés tézisei

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

Jelölt: Sztrik Attila

Témavezető: Dr. Prokisch József



DEBRECENI EGYETEM

Hankóczy Jenő Növénytermesztési, Kertészeti és Élelmiszertudományok Doktori Iskola

Debrecen, 2016

TARTALOMJEGYZÉK

1.	A DOKTORI ÉRTEKEZÉS ELŐZMÉNYEI ÉS CÉLKITŰZÉSEI	3
2.	A KUTATÁS MÓDSZEREI	4
2.1.	Előállítás	5
2.1.1.	NanoSel tisztított monodiszperz szelén szol előállítása	5
2.1.2.	LactoMicroSel szelénrel dúsított joghurtpor előállítása	6
2.2.	Tisztított nanoszelén szol vizsgálata	7
2.3.	Nanoszelén vizsgálata a talajban	8
2.4.	Nanoszelén vizsgálata növényekben	8
2.5.	Nanoszelén vizsgálata állatokban	9
3.	EREDMÉNYEK	10
3.1.	Nanométerű elemiszelén-részecskék előállítása és analitikai vizsgálata	10
3.1.1.	Elektronmikroszkópos vizsgálat	10
3.1.2.	Lézerdiffrakciós szemcseméret-eloszlás vizsgálat	11
3.1.3.	Nanométerű elemi szeléngömbök vizsgálata vizes közegben.....	11
3.2.	Nanoszelén vizsgálata talajban.....	14
3.2.1.	Teljes szeléntartalom.....	14
3.2.2.	Vízoldható szeléntartalom.....	15
3.2.3.	Savoldható szeléntartalom.....	15
3.3.	Nanoszelén vizsgálata növényekben	16
3.3.1.	Biomassa-produkció dohánynövény gyökerében és hajtásában.....	16
3.3.2.	Izolált protoplaszt és tilakoid membrán teljes szeléntartalma.....	16
3.3.3.	Tilakoid membránok lipidperoxidációja	18
3.4.	Nanoszelén vizsgálata állatokban – Brojler csirke kísérlet	19
3.5.	Nanoszelén vizsgálata állatokban – Tojóttyúk kísérlet	21
4.	ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK	23
5.	GYAKORLATNAK ÁTADHATÓ EREDMÉNYEK.....	24
6.	IRODALOMJEGYZÉK.....	25
7.	PUBLIKÁCIÓK AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉBEN	26

1. A DOKTORI ÉRTEKEZÉS ELŐZMÉNYEI ÉS CÉLKITŰZÉSEI

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 (*Bogye 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 mozgékonyágának 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 amikor szelénről beszélünk kiemelten fontos a módosulat konkretizálása. A természetben gyakran előforduló szelenit (SeO_3^{2-}) és szelenát (SeO_4^{2-}) sók, szerves szelénformák, illetve a szelenidek (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), hanem 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. Mohnsen Zonmara által szabadalmaztatott (*Prokisch és Zonmara, 2008*) technológiára alapuló, a tejsavbaktériumok számukra toxikus koncentrációjú szelénre mutatott védekezési mechanizmusa során létrejövő nanoméretű elemi szeléngömböket 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. A KUTATÁS MÓDSZEREI

Mint a célkitűzéseimből is látszik, munkám 5 részre osztható:

1. Tisztított nanoméretű elemi szeléngömböket tartalmazó monodiszperz szelén szol előállításának kidolgozása és analitikai vizsgálata (NanoSel)
2. Liofilizált nanoméretű elemi szeléngömböket tartalmazó joghurtpor előállításának kidolgozása és homogenitásvizsgálata (LactoMicroSel)
3. Nanoszelén vizsgálata a talajban
4. Nanoszelén vizsgálata növényekben
5. Nanoszelén vizsgálata állatokban

2.1. Előállítás

Munkám elsődleges célja a laboratóriumi felhasználásra szánt, nanoméretű elemi szelént tartalmazó tisztított monodiszperz szelén szol (NanoSel), illetve takarmány- és étrendkiegészítésre alkalmazható szelénrel dúsított joghurtpor (LactoMicroSel) gyártási módszerének kidolgozása volt. Bár maga az előállítási módszer kidolgozása is eredmények minőségű, az Anyag és Módszer rész önálló értelmezhetősége és a könnyebb áttekinthetőség érdekében itt mutatom be.

2.1.1. NanoSel tisztított monodiszperz szelén szol előállítása

A laboratóriumi felhasználásra szánt NanoSel szol előállításához 1 liter sterilizált MRS táplevest (*de Man, Rogosa, Sharpe, 1960*) használunk, melyet 10 ml 10.000 mg/liter koncentrációjú nátrium-hidrogén-szelenit törzsoldattal kiegészítve biztosítjuk az átalakítani kívánt szelénforrást, az ideálisnak ítélt 200 mg/l koncentrációjú szelén szol előállításához. Az élelmiszeripari felhasználhatóság és hozzáférhetőség, átalakítási hatások és létrejött szeléngömbök mérete alapján választott *Lactobacillus casei* baktériumkultúrával való beoltás után a táplevest 48 órán keresztül 37°C-on inkubáljuk, 70 rpm-es rázatás mellett. A fermentáció végére a létrejövő nanoméretű elemi szeléngömbök miatt piros színűvé vált szolból ki kell nyernünk a gömböket tartalmazó baktériumokat, ehhez 15 percig tartó 6000 rpm-en történő centrifugálást, majd 100 ml desztillált vízben való szuszpendálást alkalmazunk. A sejtfal roncsolásához 37%(m/m)-os sósavat alkalmazunk, a 100 ml szolhoz 150 ml-t adunk. 5 nap savas hidrolízis után semleges pH eléréséig ismételt centrifugálást és desztillált vizes mosást követően a sejttörmelék és nanoszeléngömböket tartalmazó szolt ultrahangos fürdőbe tesszük, hogy az összetapadt gömbök szétessenek, majd vákuumszűrő segítségével átszűrjük 1 réteg 3,3 µm pórusméretű teflon szűrőanyagon és 2 réteg 65 g/m² sűrűségű szűrőpapíron, ezzel eltávolítva a sejttörmelék a szolból. Az elkészült NanoSel szol a nanorészecskéket tartalmazó szuszpenziókra jellemző optikai tulajdonságokat mutat, azaz visszavert fényben piros, fény felé fordítva kékes színű, lézerrel átvilágítva pedig a fénycsík jól látható (1. ábra).



1. ábra: NanoSel szol visszavert fényben, fény felé fordítva, lézerrel átvilágítva

2.1.2. LactoMicroSel szelénnel dúsított joghurtpor előállítása

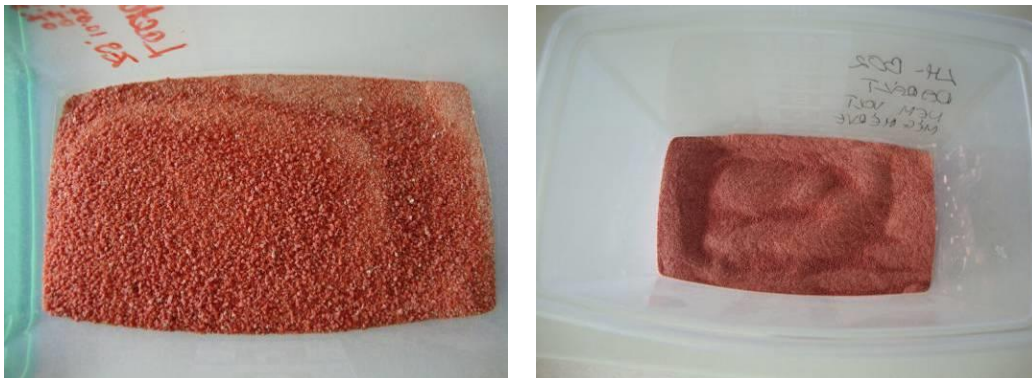
A NanoSel gyártásánál bemutatott folyamat során, amennyiben az elemi szeléngömböket nem nyerjük ki a baktériumokból és tápközegnek MRS helyett tejet alkalmazunk, szelénrel dúsított joghurtpor állítható elő, mely alkalmas lehet takarmány- vagy étrendkiegészítésre. Ez a termék a LactoMicroSel nevet kapta.

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. Előkísérleteink során megállapítottuk, hogy a tejalapú gyártás jól működik, de gazdaságossági szempontok miatt végül a jóval olcsóbb 75% édes savó és 25% főlözött tej keverékét választottuk.

A törzsválasztásnál alapvető fontosságú volt, hogy a jó hatásfok és megfelelő szűrhetőség mellett a törzs élelmiszergyártáshoz engedélyezett legyen, ezért a kifejezetten joghurtgyártáshoz kialakított Yo-Mix 401 keverék mellett döntöttünk, mely *Streptococcus thermophilus* és *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* tartalmaz.

A 11 napon keresztül tartó, 42-44 °C-on, kevertetés nélkül történő inkubálás után kapott joghurt szárításához összehasonlítottuk a liofilizálást és a légfűvásos szárítást. Liofilizálással szép, könnyen darálható, jól használható anyagot kaptunk (2. ábra, balra), azonban kiderült, hogy a termék könnyebben felveszi a vizet a levegőből, így bizonyos alkalmazásokhoz előnytelen és ráadásul igen drága eljárás. A légfűvásos 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 (2. ábra, jobbra).



2. ábra:
Liofilizált és darált LactoMicroSel (balra)
Légfúvással szárított és darált LactoMicroSel (jobbra)

A gyártási folyamat kidolgozása után azt ipari előállításához módosítottuk, engedélyeztettük, majd az Instantpack Kft. Berettyóújfaluban található gyárában megkezdttük a gyártást. A 3000 mg/kg-os, 93,88%-ban elemi szelént tartalmazó késztermékből (3. ábra, balra) a kutatási felhasználáson kívül szeléntartalmú étrendkiegészítő és szelénnel dúsított instant tejpör is készült (3. ábra, középen és jobbra).



3. ábra: Elkészült LactoMicroSel szelénnel dúsított joghurtpor (balra),
a belőle készült instant tejpör (középen) és étrendkiegészítő tablettá (jobbra)

2.2. Tisztított nanoszelén szol vizsgálata

A tisztított nanoszelén szollal (NanoSel) az alábbi vizsgálatokat végeztem:

- Teljes szeléntartalom meghatározása atomfluoreszcens (AFS) módszerrel, *Kovács et al. (2003)* módszere szerinti mintaelőkészítéssel
- Szelénspeciació HPLC-AFS módszerrel
- Pásztázó elektronmikroszkópos felvételek készítése a vörös elemi szeléngömbökről
- Szemcseméreteloszlás-változás mérése lézerdiffrakciós szemcseméreteloszlás-mérővel

Továbbá az elemi szeléngömbök vizes közegben való viselkedésének vizsgálatához 2 liter 200 mg/kg-os NanoSel szol tiszta felülúszójából minden nap mintát vettem 1 hónapon keresztül, majd egy 200 nm-es membránszűrőt alkalmazva elválasztottam az oldott formákat az elemi szeléngömböktől. Az oldott formák koncentrációjának változására alapozva alakítottuk ki az elméleti átalakulási modellt.

2.3. Nanoszelén vizsgálata a talajban

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/kg-os nanoszelén szol hozzáadásával és homogenizálással 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 kétnaponta ionmentesített vízzel pótoltuk az elpárolgott vizet. A talajok szobahőmérsékleten voltak tárolva és nem voltak lefedve. A kísérlet végétével mindkét talajból 10-10 mintát vettem.

A talajmintákból az alábbi méréseket végeztük:

- Teljes szeléntartalom meghatározása AFS módszerrel
- Vízoldható szeléntartalom meghatározása AFS módszerrel
- Savoldható szeléntartalom meghatározása AFS módszerrel

2.4. Nanoszelén vizsgálata növényekben

Dohánynövényekkel végzett korábbi kísérletekben korábban már bebizonyosodott, hogy a nanoszelén kezelés hatására megnő a növények szeléntartalma a gyökér és hajtás részben, továbbá számos pozitív hatás is megfigyelhető, mint a gyorsabb, erőteljesebb gyökérképződés, az öregedésgátlás vagy a vitrifikáció gátlása kalluszenyészetekben (*Domokos-Szabolcsy, 2012*). Kísérletünkben ezért azt vizsgáltuk, hogy a nanoszelén magába a sejtbe és kloroplasztisba is bejut-e. A kísérlethez szilárd, hormonmentes, MS táptalajon (*Murashige és Skoog, 1962*) nevelt dohánynövényeket (*Nicotinia tabacum* L. cv. Ottawa) használtunk kontroll, 1 mg/kg szelenát, 10 mg/kg szelenát, 100mg/kg szelenát, 100 mg/kg NanoSel kezelésekkel.

A kísérlet során a következő vizsgálatokat végeztük:

- Biomassza produkció mérése gyökérben és hajtásban
- *Nagy és Maliga (1976)* módszere alapján elválasztott protoplasztok teljes szeléntartalmának meghatározása AFS módszerrel

- *Jajoo et al. (2012)* módszere alapján izolált tilakoidmembránok teljes szeléntartalmának meghatározása AFS módszerrel
- Teljes levél és izolált tilakoidmembránok lipidperoxációjának mérése TBARS teszttel (*Zhang és Huang, 2013*)

2.5. Nanoszelén vizsgálata állatokban

Brojler- és tojóállománnyal végzett kísérleteink során vizsgáltuk a nanoszelén viselkedését állatokban, mindkettőhöz LactoMicroSel szelénrel dúsított joghurtport alkalmaztunk.

Brojler csirkékkel végzett kísérletünkben a különböző szelénforrások hatását vizsgáltuk 120 db Cobb 500 brojler vegyes ivarú (1:1) baromfiállománnyal, 42 napon keresztül, a következő kezelésekkel:

- Kontroll: 0,2 mg/kg teljes szeléntartalom, a használt takarmánykeverék alap szeléntartalma
- SelPlex: szelenometionin tartalmú takarmánykiegészítő, 0,425 mg/kg teljes szeléntartalom
- LactoMicroSel 1x (LMS 1): 0,425 mg/kg teljes szeléntartalom
- LactoMicroSel 10x (LMS 10): 4,25 mg/kg teljes szeléntartalom
- Rákliszt 1x (RH+LMS 1): 0,425 mg/kg teljes szeléntartalom, rákliszt/halliszt 1:1 arányú keverékével kiegészítve, 40 g/kg mennyiségben
- Rákliszt 10x (RH+LMS 10): 4,25 mg/kg teljes szeléntartalom, rákliszt/halliszt 1:1 arányú keverékével kiegészítve, 40 g/kg mennyiségben

A kísérlet során mértük az állatok testtömegét, tömeggyarapodást, átlagos takarmányfogyasztást, takarmányértékesítést, relatív máj-, mell- és combtömeget, illetve a máj, izom és toll teljes szelénkoncentrációját AFS módszerrel.

A tojó állománnyal végzett kísérletünkben azt vizsgáltuk, hogy az egyes szelénforrások önmagukban, illetve rákliszt/halliszt keverékével együtt hogyan befolyásolják a tyúkok tojástermelési mutatóit, valamint a tojás egyes mennyiségi és minőségi paramétereit. Az 56 napig tartó vizsgálatot 60 db Bovans Goldline tojótyúkkal végeztük a brojler kísérletnél bemutatott kezelésekkel, az I. menetben Kontroll, Selplex, LMS 1x, LMS 10x kezelésekkel, a II. menetben Kontroll, Rákliszt szelén nélkül, Rákliszt+LMS 1x, Rákliszt+LMS 10x csoportokkal. A kísérlet során mértük a tojástermelést, tojásindexet, tojástömeget, a szik tömegét és színét, a héj száraz tömegét és vastagságát, illetve a tojások teljes szeléntartalmát, fehérjére és sárgájára elkülönítve AFS módszerrel.

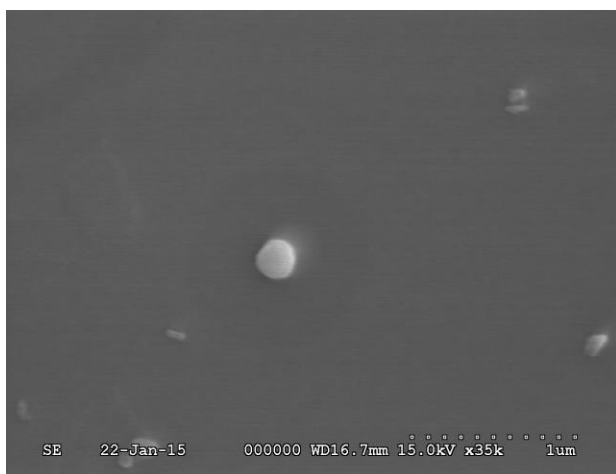
3. EREDMÉNYEK

3.1. Nanoméretű elemiszelén-részecskék előállítása és analitikai vizsgálata

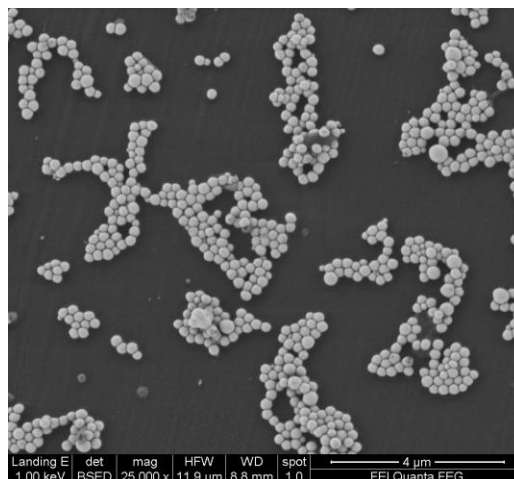
A vizsgált NanoSel monodiszperz szelén szol és LactoMicroSel szelénrel dúsított joghurtpor előállítását és a gyártási folyamat kidolgozását az Anyag és Módszer részben ismerttettem.

3.1.1. Elektronmikroszkópos vizsgálat

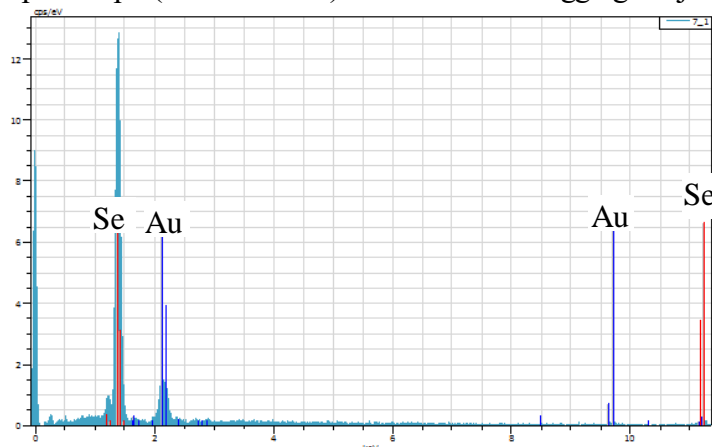
Az előállított NanoSel szol elektronmikroszkópos vizsgálata során készült képeken látható, hogy a *Lactobacillus casei* által előállított elemi szeléngömbök 250 nm átmérőjűek (4. ábra), azonban összetapadásra hajlamosak (5. ábra). Ez a későbbi kísérletek szempontjából különösen fontos, hiszen így a megfelelően megválasztott pórusméretű szűrővel (pl. 200 nm) igen egyszerűen kivitelezhető a szelénspeciáció, pl. felülúszó vizsgálata során az elemi szeléngömbök és oldott szelénformák szétválasztása. Továbbá a képeken szintén látható, hogy a sósavas feltárás és szűrés során sikerült a sejtekből a gömböket kinyerni, a sejttörmelék pedig eltávolítani. A röntgen fluoreszcens elemanalízis pedig bizonyítja, hogy a képeken látható anyag valóban szelén (6. ábra).



4. ábra: Tisztított nanoszeléngömb elektronmikroszkópos képe (Hitachi SEM)



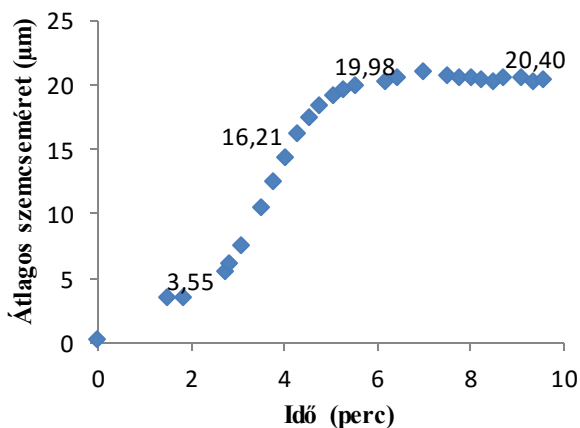
5. ábra: Tisztított nanoszeléngömbök aggregációja (QFEG)



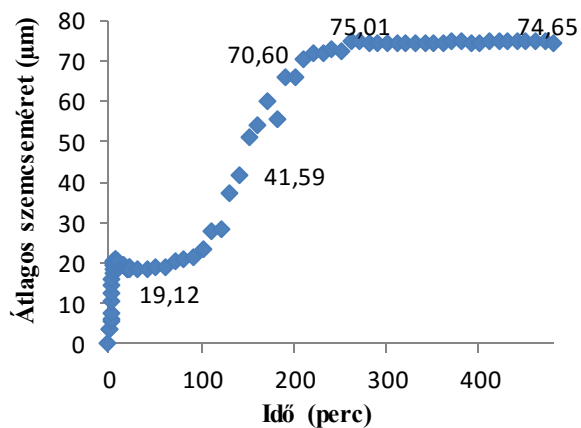
6. ábra: Bruker SPECTRA EDX készülékkel készített XRF spektrum (Az arany a méréshez szükséges katódporlasztással történő bevonás miatt jelenik meg)

3.1.2. Lézerdiffrakciós szemcseméret-eloszlás vizsgálat

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 az átlagos szemcseméretben bekövetkező változások követésére. A 7. ábrán láthatjuk, hogy a gömböket szétválasztó ultrahangos fürdő után alig 1,5 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 (7. ábra). A 8. 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 $75 \mu\text{m}$ -es maximumára, mely után már nem változik.



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



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

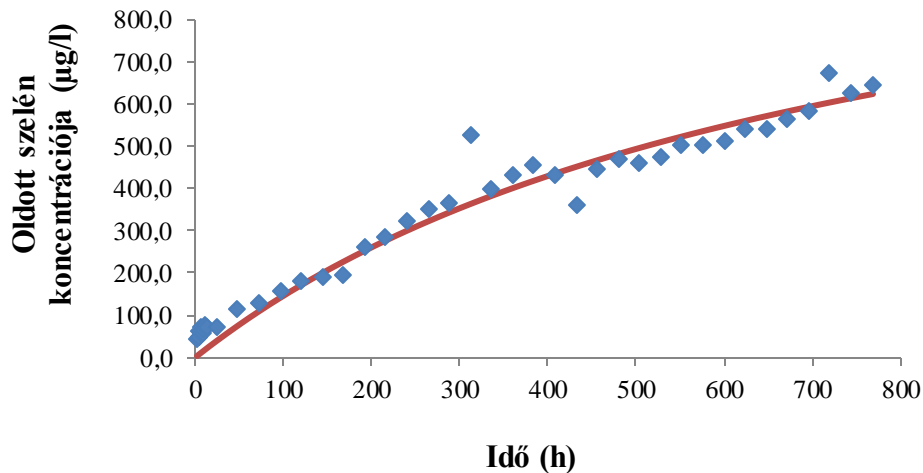
3.1.3. Nanoméretű elemi szeléngömbök vizsgálata vizes közegben

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

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

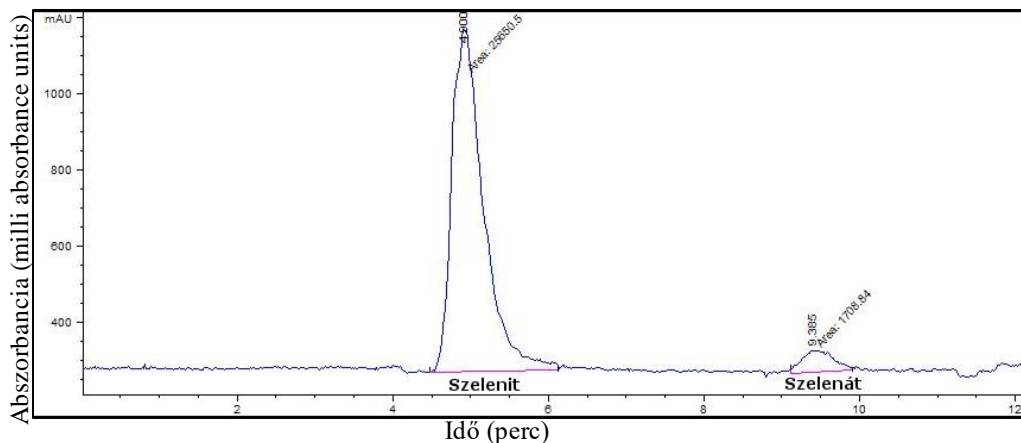


A hipotézis vizsgálatára végrehajtott kísérlet folyamán a NanoSel szol felülűszőjából 0,2 µm pórusú szűrő segítségével elválasztott oldott szelénformák koncentrációját az idő függvényében ábrázoltuk, majd telítési görbét illesztettünk rá (9. ábra). A görbe elméleti maximum koncentrációértéke (C_{max}) 1,219 mg/l, amely jóval kisebb a teljes szol 200 mg/l-es értékénél, és ez az alacsony érték is nagyon lassan, mintegy 2,5 hónap alatt áll be.



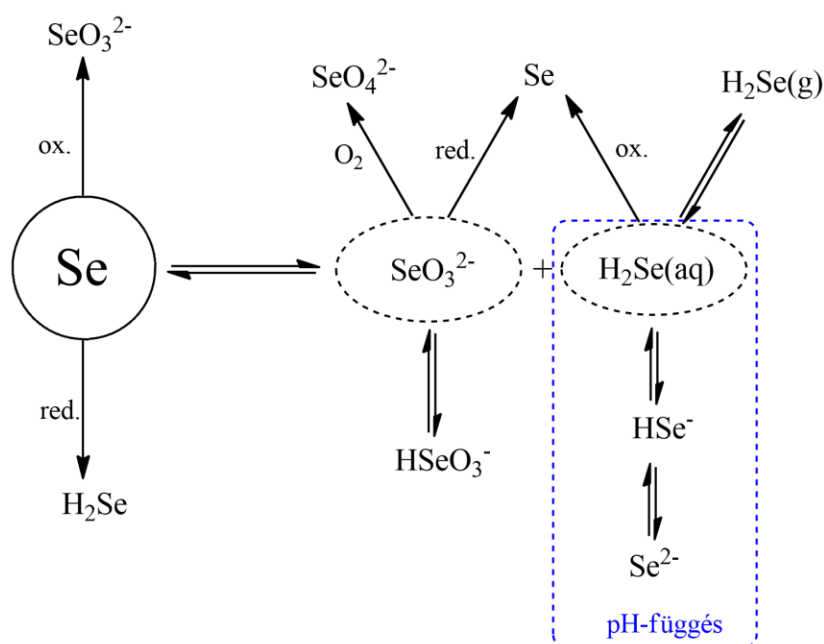
9. ábra: NanoSel szol felülűszőjének oldott szelénkoncentrációja a felülűsző cseréje óta eltelt idő függvényében, és a rá illesztett telítési görbe ($1/C = 1/C_{max} + k/C_{max} \cdot t$)

A felülűsző szelénspeciációs vizsgálata igazolta (10. ábra), hogy az elemi szeléngömböket kiszűrve abban oldott szelénit található. Az oldott szelénid mennyisége kimutatási határ alatti volt, így arra csak az oldat jellegzetes fokhagyma szaga utalt. Láthatunk még egy alacsony szelenát csúcsot is, ez mutatja, hogy az oldott szelénit egy része a 30 napos kísérlet során szelenáttá oxidált.



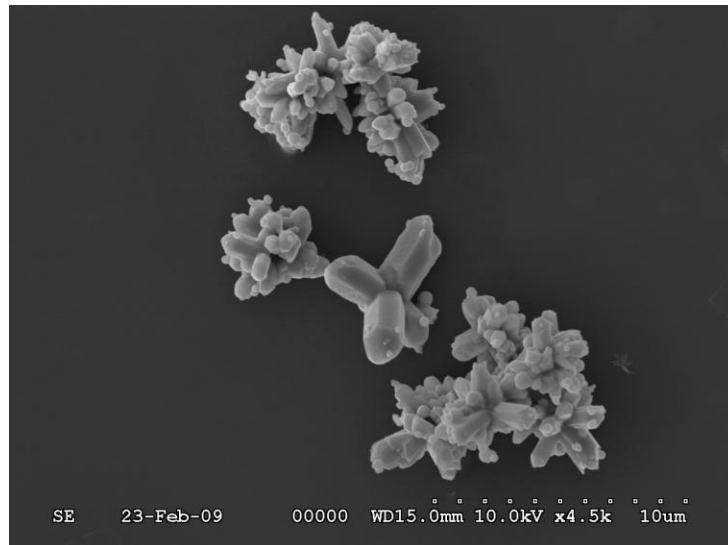
10. ábra: NanoSel szol 30 napos felülűszőjének szelénspeciációs vizsgálata (Millenium Merlin HPLC-HF-AFS)

A kapott eredmények alapján megpróbáltam létrehozni egy modellt, mely magyarázza a feltételezett egyensúlyi átalakulást:



11. ábra: Nanoszelen átalakulásának feltételezett modellje

A 11. ábrán látható az az elméleti modell, mely az elemi szelén desztillált vizes közegben történő diszproporcionálódását mutatja be, hidrogén-szelenidre és szelenittra. Ez egy olyan, az elemi szelénforma irányába erősen eltoltságú 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 nanoszelen szol teljes szelénkoncentrációját, melynek 199,83 mg/l-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 $\text{H}_2\text{Se(aq)}$ több lépcsőben deprotonálódik, a különböző formák között egyensúly alakul ki pH-tól függő arányokkal. Ugyanez a pH-függő egyensúly kialakulása igaz a SeO_3^{2-} protonálódására is. Fontos megjegyezni, hogy az elemi szelén átalakulása során egyensúlyi folyamatról beszélünk, azonban a szelenitból és szelenidből létrejövő elemi szelén már feltételezhetően nem a baktériumok által előállított vörös monoklin formában van, hanem hexagonális szürke elemi szelénkristályok formájában a nanoszelen-gömbökre tapad. Ez a 12. ábrán látható.



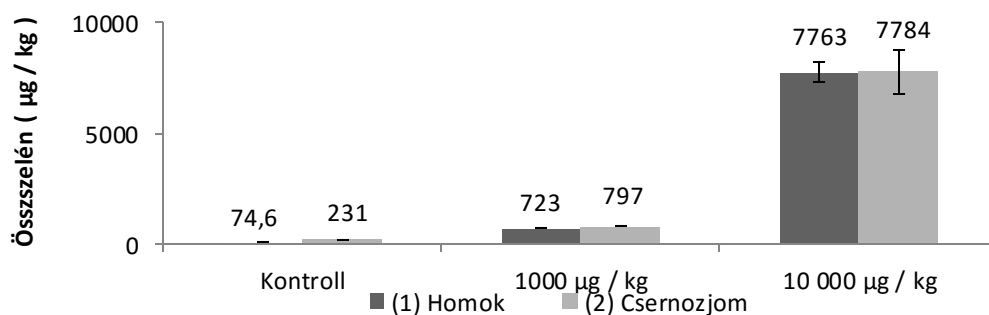
12. ábra: Elektronmikroszkópos felvétel a nanoszelen-gömbökre kivált hexagonális elemi szelenkristályokról (Hitachi SEM)

3.2. Nanoszelen vizsgálata talajban

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

3.2.1. Teljes szeléntartalom

Míg az elemi szelén a talajhoz erősen kötődik, a keletkező gáz halmazállapotú hidrogén-szelenid viszont könnyen eltávozik. Ezt bizonyítja a talajok összes szelén tartalmának változása is (13. 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 fokhagyma szaga is. A csernozjom és homoktalaj között az összszeléntartalmat tekintve nem volt jelentős különbség, kivéve a kontroll talajokat, ahol a csernozjom talajban 230 µg/kg szelén található, míg a homoktalajban csak 75 µg/kg. Ez a kiindulási koncentrációkülönbség a csernozjom talajok magasabb szerves anyag tartalmával magyarázható.



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

3.2.2. Vízoldható szeléntartalom

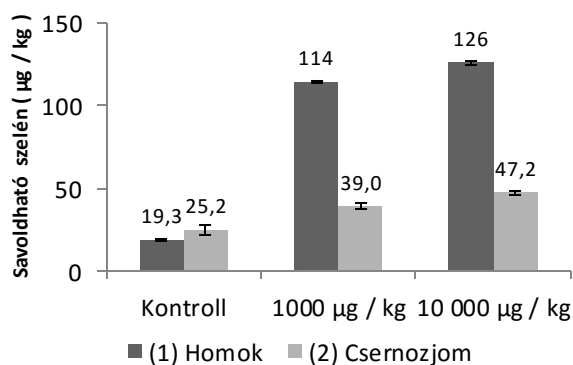
A talajok vízoldható szeléntartalmát is vizsgáltam, azonban az kimutatási határ (0,1 µg / kg) alatt volt. Ez arra utal, hogy a talajban lévő szelenit a talajhoz erősen kötődik, és ennyi idő alatt még nem oxidálódott jelentős mennyiségben szelenáttá, melyhez szántóföldi körülmények között is hosszabb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

3.2.3. Savoldható szeléntartalom

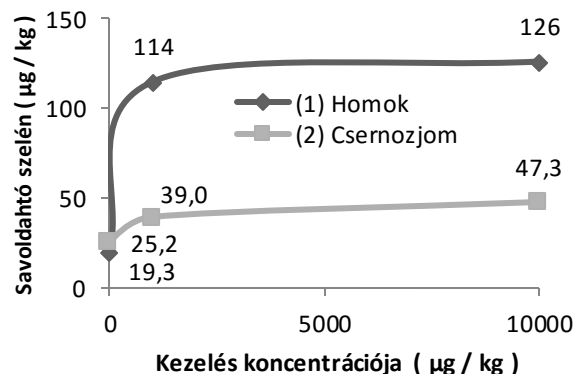
A talajok savoldható szeléntartalmát vizsgálva (14. ábra) megállapíthatjuk, hogy a savoldható szeléntartalom, mely nagyrészt szelenit, töredéke az összeszelénnek, 7800 µg/kg-ból 120 µg/kg, azaz a hozzáadott nanoszelen nagy része megmaradt elemi szelén formában a bemutatott átalakulási modellnek megfelelően. 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, a 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).

Észrevehetjük továbbá, hogy a savoldható szeléntartalom nem arányosan növekedett az összeszelénnel, illetve a kezeléssel, ezt jól láthatjuk a 15. ábrán is.



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



15. ábra: A savoldható szeléntartalom és a kezelés koncentrációja (Tenyészedényes kísérlet, Debrecen, 2012)

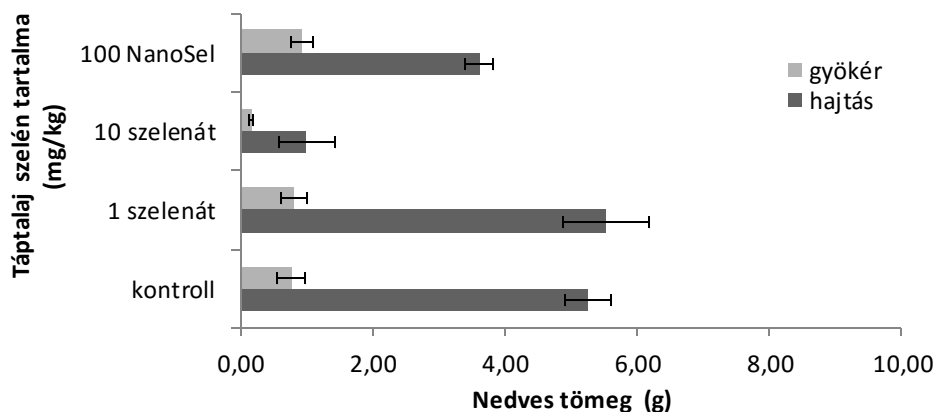
Ez az eredmény beleillik a korábban bemutatott átalakulási modellbe, az egyensúlyi folyamat során keletkezett oldott szelenit koncentrációja a kezdeti időszakban csak kis mértékben függ az elemi szelén koncentrációjától, az eltérő maximális érték csak igen hosszú idő alatt állna be, de ennyi idő alatt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

3.3. Nanoszelén vizsgálata növényekben

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

3.3.1. Biomassza-produkció dohánynövény gyökerében és hajtásában

A 16. 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.



16. ábra: Dohánynövény hajtás- és gyökér tömegének változása a különböző szelénkezelések hatására
(Táptalajon nevelt dohánynövények, Debrecen, 2015)

3.3.2. Izolált protoplaszt és tilakoid membrán teljes szeléntartalma

A 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 (1. táblázat). A szelenát kezeléshez viszonyítva a NanoSel-lel kiegészített táptalajon fejlődött növények esetében ugyan kisebb mértékű szelénfelhalmozódást mértünk a sejtekben, de a kontrollhoz viszonyítva szignifikáns növekedést realizáltunk (1. táblázat). A növényi szövetekben a sejtek közötti anyagáramlás (metabolitok, szignálmolekulák stb.) a plazmodezmoszok mikroszatornáin keresztül valósul meg, melyek átmérője 2-2,5 nm (Christensen et al., 2009).

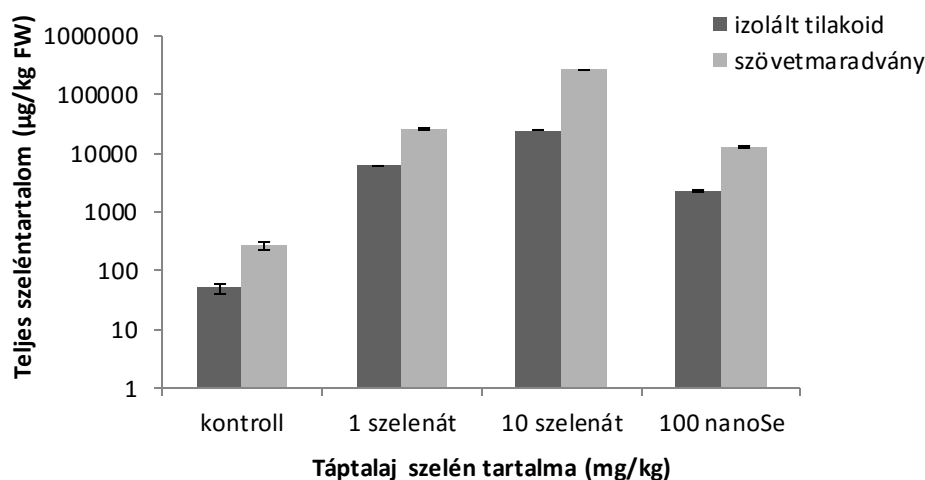
Így a 250 nm nagyságú elemi szelénrészecskék ilyen formán nem juthatnak be, azonban a sejtekben mért szelénfelhalmozódásból arra következtethetünk, hogy a növényi sejtek közötti extracelluláris térben is képesek az elemi partikulumok átalakulni ionos formába és bejutni a sejten belülre.

1. 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 ⁵ sejt szelén tartalom
kontroll	0,194
1 szelenát	14,039
10 szelenát	55,114
100 NanoSel	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 sejtorganellumba a NanoSel-lel kiegészített táptalajon. Az izolálás során a tilakoid membránfrakció mellett visszamaradt szöveti maradvékban is mértük a teljes szelén felhalmozódást. A két szelénformával végzett kezeléseket összehasonlítva a szelén-akkumuláció a kloroplasztiszok izolált tilakoidmembrán frakcióban hasonló tendenciát mutatott, mint az izolált protoplasztok esetében. Eszerint a kontrollal összehasonlítva a NanoSel-t tartalmazó táptalajon nevelt növények izolált tilakoidmembrán frakciójában szignifikánsan nagyobb teljes szeléntartalom volt mérhető (17. ábra). Ezek az eredmények azt bizonyítják, hogy NanoSel kezelés mellett nem csak a növényi sejtekbe, hanem azon belül a kloroplasztiszba is bejut a szelén valamilyen formában. Ezzel együtt a visszamaradt szövettermékben nagyságrenddel nagyobb mennyiségben tudtuk kimérni a felhalmozódó szelént, amit a logaritmikus ábrázolás jól mutat (17. ábra). A szövettermék fel nem tárt intakt sejteket, illetve feltárt sejtfa 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 (17. ábra). Ezen eredményeink korrelálnak a protoplasztokban tapasztalt szeléntartalom eredményekkel.



17. ábra: Izolált tilakoid membránok és az izolálás során visszamaradt szövettermelék teljes szeléntartalma (Táptalajon nevelt dohánynövények, Debrecen, 2015)

3.3.3. Tilakoid membránok lipidperoxidációja

Intakt levélmintákat és izolált tilakoidmembránokat vizsgálva egyaránt azt találtuk, hogy míg a nanoszelén (100 mg/kg) kezelés nem okozott szignifikáns eltérést a kontrollhoz viszonyítva (2. táblázat), addig a szelenát kezelés koncentrációtól függően láthatólag károsította a membránokat, a 10 mg/kg-es kezelés esetén szignifikánsan megnövekedett MDA szintet figyeltünk meg.

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

Kezelés (mg/kg)	MDA nmol/g intakt levél	SD	MDA nmol/g izolált tilakoid	SD
kontroll	29,0	3,29	236	30,7
1 szelenát	82,6	4,90	233	25,8
10 szelenát	146	28,6	391	51,6
100 NanoSel	39,1	9,08	228	6,14

3.4. Nanoszelén vizsgálata állatokban – Brojler csirke kísérlet

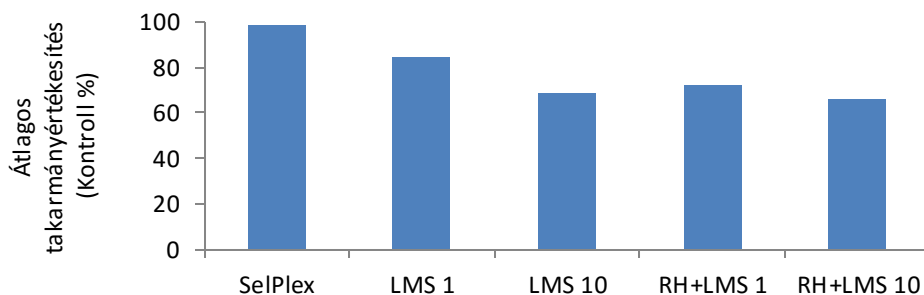
A testtömeg adatok alakulását a 3. táblázatban láthatjuk. Megállapítható, hogy míg a SelPlex és az önálló LactoMicroSel kezelés nem befolyásolta szignifikánsan a madarak testtömegét, addig a rákliszttel kiegészített kezelések mindkét koncentráció esetén kedvező hatást gyakoroltak, mely a kezelés első négy hetében szignifikánsnak adódott ($P < 0,05$).

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

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

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

Az átlagos egyedi tömeggyarapodást és takarmányfogyasztást vizsgálva megállapítottuk, hogy bár mind a négy LactoMicroSelt tartalmazó kezelésből kevesebbet fogyasztottak az állatok, addig tömeggyarapodásuk kedvezőbben alakult a kontrollhoz viszonyítva, tehát a LactoMicroSel kedvezően befolyásolja az állatok takarmányértékesítését, mely hatást a rákliszt/halliszt kiegészítés tovább erősített (18. ábra).



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

A kísérlet 42. napján végzett vágás során megvizsgáltuk a máj, mell és comb relatív tömegét, melyet minden kezelés kedvezően befolyásolt (4. táblázat). A máj teljes szelénkoncentrációját vizsgálva látható, hogy a kezelések közül egyedül a tízszeres LMS és ráklisztes kezeléseknek volt hatása (5. táblázat). Míg az izom szeléntartalmát a SelPlex jelentősen emelte, addig a LMS csak tízszeres kezelésben mutatott a kontrolltól szignifikáns eltérést (5. táblázat).

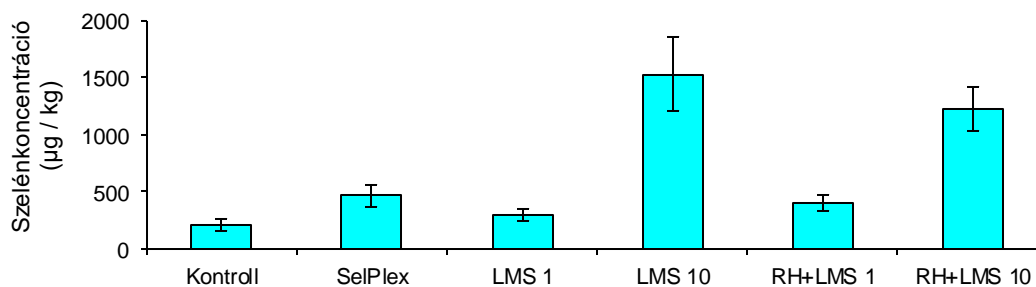
4. táblázat: Relatív máj, mell és combtömeg (g/100 g testtömeg) (Brojler csirke kísérlet, Gödöllő, 2012)

		Máj	Mell	Comb
KONTROLL	ÁTLAG	1,5	8,1	8,8
	SD	0,2	0,8	0,4
SELPLEX	ÁTLAG	2,0	8,5	9,6
	SD	0,3	0,9	0,6
LMS 1	ÁTLAG	1,8	8,4	9,6
	SD	0,2	1,1	0,6
LMS 10	ÁTLAG	1,5a	8,2	9,4
	SD	0,2	0,9	0,7
RH+LMS 1	ÁTLAG	2,0	8,6	9,2
	SD	0,2	1,0	0,6
RH+LMS 10	ÁTLAG	2,0	8,2	9,4
	SD	0,3	0,6	0,7

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

	Máj	Izom
KONTROLL	185 ± 80	42,0 ± 5,9
SELPLEX	300 ± 262	107,5 ± 12,8
LMS 1	160 ± 98	41,8 ± 5,2
LMS 10	890 ± 461	68,3 ± 11,0
RH+LMS 1	160 ± 129	45,4 ± 8,2
RH+LMS 10	517 ± 340	65,1 ± 17,5

A madarak tollát vizsgálva látható, hogy a LactoMicroSel sikeresen felszívódik a takarmányból (19. ábra).



19. ábra: Toll szeléntartalma a különböző kezelések hatására (Brojler csirke kísérlet, Gödöllő, 2012)

3.5. Nanoszelén vizsgálata állatokban – Tojótyúk kísérlet

A 6-7. táblázatban bemutatott tojástermelési adatokon látható, hogy a LactoMicroSel mindkét menetben kedvező hatást váltott ki, mely a rákliszttel kiegészített RH+LMS 10 csoportban csaknem +10%.

6. táblázat: A tojástermelés alakulása az 1. menetben (Tojótyúk kísérlet, Gödöllő, 2012)

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

7. táblázat: A tojástermelés alakulása a 2. 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

A szik tömegét vizsgálva megállapítottuk, hogy az önálló szelén-kiegészítés minden kísérleti csoportban kisebb sziktömeget eredményezett, amit a rákliszt-halliszt hozzáadása kompenzált (8. táblázat). A héj száraz tömege és vastagsága a 10x LactoMicroSel kiegészítés hatására szignifikánsan megnövekedett, amit a rákliszt-halliszt hozzáadása tovább erősített, feltehetőleg a többlet Ca miatt (9. táblázat).

8. táblázat: A szik tömege (Tojótyúk kísérlet, Gödöllő, 2012)

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

9. táblázat: A héjvastagság és –tömeg (Tojótyúk kísérlet, Gödöllő, 2012)

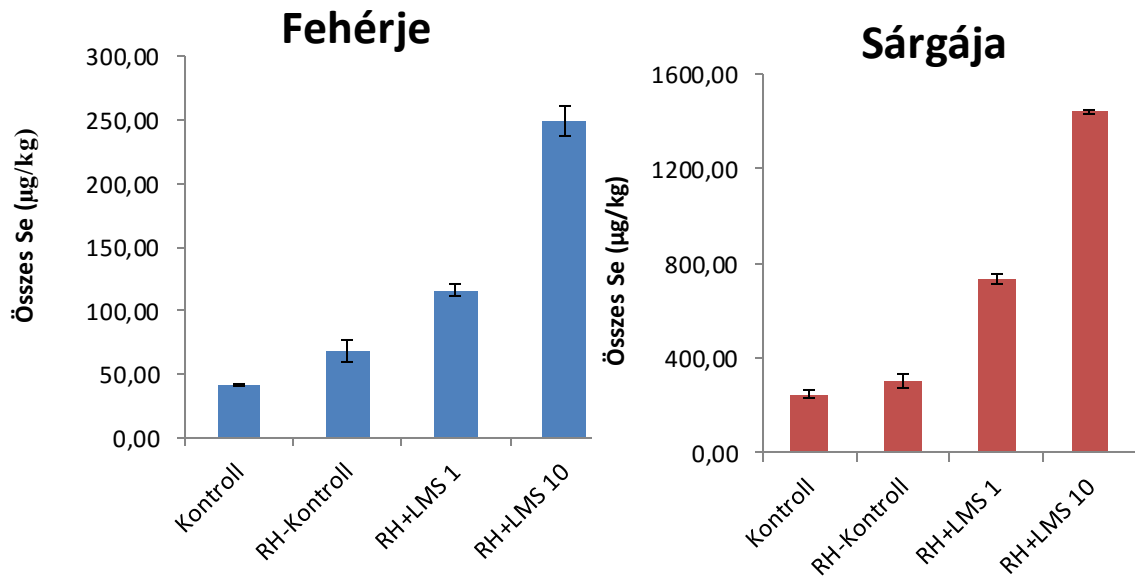
	HÉJVASTAGSÁG (mm)		HÉJTÖMEG (g)	
	átlag	SD	átlag	SD
	I. menet			
Kontroll	0,37 ^{AB}	0,02	6,01 ^A	0,32
SelPlex	0,37 ^{AB}	0,03	5,96 ^A	0,46
LMS 1	0,36 ^A	0,02	5,67 ^B	0,28
LMS 10	0,38 ^B	0,02	6,06 ^A	0,53
	II. menet			
Kontroll	0,34 ^A	0,03	5,76 ^A	0,56
RH-Kontroll	0,37 ^B	0,02	6,18 ^B	0,27
RH+LMS 1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

Egytényezős varianciaanalízis alapján a különböző betűvel jelölt értékek szignifikáns eltérést jelentenek

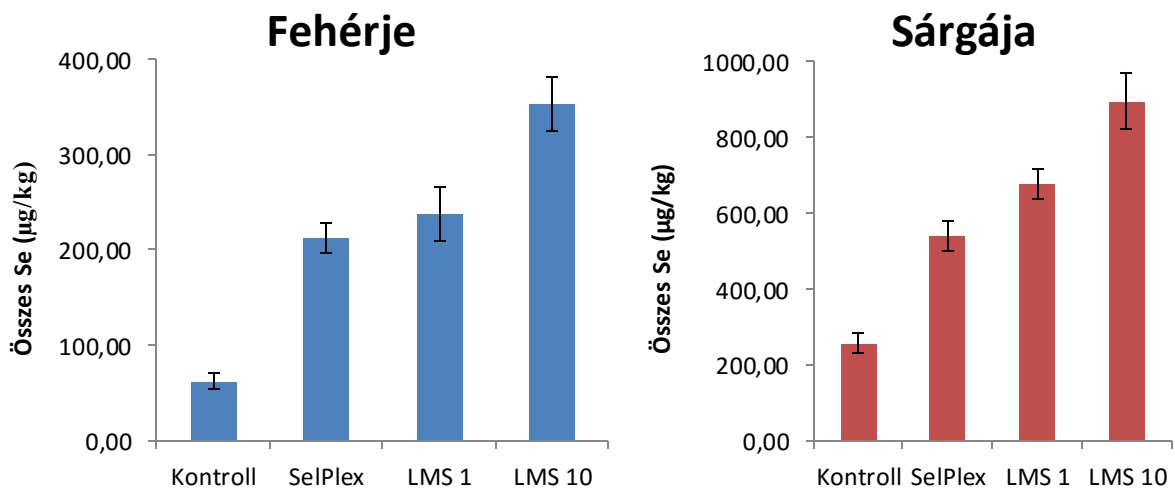
(Egy csillag: $P < 0,05$, Két csillag: $P < 0,01$)

A szik sárga színárnyalata a SelPlex esetén intenzívebb volt, mint a kontroll csoportban, a LactoMicroSel kezelések pedig pont ellenkező hatást váltottak ki. A második kísérleti periódusban a ráklisztes kiegészítések szignifikánsan vörösebb színt eredményeztek, ami feltehetőleg az astaxanthin színanyagnak köszönhető.

A tojások szeléntartalmát bemutató 20-21. ábrán látható, hogy a LactoMicroSelben található elemi szelén jobban növelte mind a fehérje, mind a sárgája szeléntartalmát, mint a SelPlex, így alkalmas lehet szelénrel dúsított tojás, mint funkcionális élelmiszer előállítására.



20. ábra: Tojások szeléntartalmának összehasonlítása a I. menetben (Tojóttyúk kísérlet, Gödöllő, 2012)



21. ábra: Tojások szeléntartalmának összehasonlítása a II. menetben (Tojóttyúk kísérlet, Gödöllő, 2012)

4. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Kidolgoztam a szelenittel dúsított MRS tápközegben inkubált *Lactobacillus casei* tejsavbaktérium által előállított, 250 nm átmérőjű vörös elemi szelengömbök 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 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 eltolt, igen hosszú idő alatt beálló egyensúlyi folyamat.
2. Talajvizsgálatok alapján igazoltam, hogy a homok és 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 kevésbé 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 ugyanez az 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, a kloroplasztiszba 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.

5. GYAKORLATNAK ÁTADHATÓ EREDMÉNYEK

1. Az értekezésben bemutatott módszer alapján elemi szelént tartalmazó, tisztított szelén szol állítható elő. A módszer módosításával, szelénnel 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 szelénnel dúsított instant tejpor (*No. 42*[®]), szeléntartalmú tejdesszertek (*Milx*[®]), illetve étrendkiegészítők (*LactoMicroSel*[®], *Pajzskomplex*[®], *Cardio komplex*[®]).
2. A tejsavbaktériumok által előállított nanoméretű elemi szelén részecskék alkalmasak a talaj szelénpótlására, alkalmazásukkal hosszú ideig tartó, ideális koncentrációjú, a növények számára könnyen hozzáférhető szelenitszint tartható fent.
3. A növények képesek a nanoszelént a talajból felvenni és hasznítani. Az elemi szeléngömbök átalakulásával képződő szelenit bejut a növényi sejtekbe és a kloroplasztisba, 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 szelénnel dúsított tojás, mint funkcionális élelmiszer állítható elő.

6. IRODALOMJEGYZÉK

1. 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.
2. Christensen N. M., Faulkner C., Oparka K. (2009): Evidence for unidirectional flow through plasmodesmata. *Plant Physiol.* 150: 96–104.
3. 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.
4. De Man J. D., Rogosa M., a. Sharpe M.E. (1960): A medium for the cultivation of *Lactobacilli*. *J. Appl. Bact.* 23: 130-135.
5. 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.
6. Hartill M. (2004): Geographic distribution of geologically bioavailable selenium: correlations with health and disease. *Denver Annual Meeting, 2004:* 46.
7. 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.
8. Jajoo A., Szabó M., Zsiros O., Garab G. (2012): Low pH induced structural reorganization in thylakoid membranes. *Biochim. Biophys. Acta* 1817: 1388–1391
9. Kádár I. (1999): Szelénforgalom a talaj-növény rendszerben. *Agrokémia és Talajtan* 48: 233-242.
10. Kádár I., Németh T. (2003a): Mikroelem-szennyezők kimosódásának vizsgálata szabadföldi terheléses tartamkísérletben. *Agrokémia és Talajtan* 52: 315-330
11. Kádár I., Németh T. (2003b): Mikroelemek kilúgzása meszes csernozjom talajon. In: Simon L., Szilágyi M.: *Mikroelemek a Táplálékláncban, Bessenyei György Kiadó, Nyíregyháza: 134-149*
12. Mao J. (1999): Fractionation and distribution of selenium in soils. *Soil Sci. Plant Anal.* 30: 2347-2447.
13. Murashige T., Skoog F. (1962): A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissues cultures. *Plant Physiol.* 15: 473-497.
14. Nagy J. I., Maliga P. (1976): Callus induction and plant regeneration from mesophyll protoplasts of *Nicotiana sylvestris*. *Z. Pflanzenphysiol. Bd.* 78: 453-455.
15. Rayman M. P. (2000): The importance of selenium to human health. *The Lancet* 356: 233-241.
16. Reilly C. (1998): Selenium: A new entrant into the functional food arena. *Trends Food Sci. Tech.* 9: 114-118.
17. Reilly C. (2006): Selenium in food and health 2nd ed., Springer, USA: 20-21., 30-32.
18. 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.
19. Széles É. (2007): Szelénvegyületek átalakulásának vizsgálata tartamkísérletből származó talaj- és növénymintákban. *Doktori értekezés, Debreceni Egyetem, Debrecen:* 81-82.
20. 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.
21. 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*

7. 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: I8T0GN

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., Elhawat, 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

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., Elhawat, 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 □ Honlap: 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., Tánzos, 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.**, Jávori, 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.ftc.2013.12.004>
IF:2.895
18. Benkő, I., Nagy, G., Tánzos, 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.

