



DEBRECENI EGYETEM
AGRÁRTUDOMÁNYI CENTRUM
MEZŐGAZDASÁGTUDOMÁNYI KAR

**ÉLELMISZERTUDOMÁNYI, MINŐSÉGBIZTOSÍTÁSI
ÉS MIKROBIOLÓGIAI INTÉZET**

**NÖVÉNYTERMESZTÉSI ÉS KERTÉSZETI
TUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA**

Doktori iskola vezető:

Dr. Győri Zoltán

egyetemi tanár, MTA doktora

Témavezetők:

Dr. Győri Zoltán

egyetemi tanár, MTA doktora

és

Dr. Kovács Béla

egyetemi docens

**Szelénvegyületek átalakulásának vizsgálata tartamkísérletből
származó talaj- és növénymintákban**

Doktori értekezés

Készítette:

Széles Éva

DEBRECEN
2007

SZELÉNVEGYÜLETEK ÁTALAKULÁSÁNAK VIZSGÁLATA TARTAMKÍSÉRLETBŐL SZÁRMAZÓ TALAJ- ÉS NÖVÉNYMINTÁKBAN

*Értekezés a doktori (PhD) fokozat megszerzése érdekében
a Növénytermesztési és kertészeti Tudományok tudományágban*

Írta: Széles Éva, doktorjelölt

Készült a Debreceni Egyetem, Agrártudományi Centrum, Növénytermesztési és
kertészeti Tudományok doktori iskolája keretében

Témavezetők: Prof. Dr. Győri Zoltán, egyetemi tanár, DSc;
Dr. Kovács Béla, egyetemi docens, PhD

A doktori szigorlati bizottság:

	Név	Tud. Fokozat
Elnök:	Dr. Loch Jakab	DSc
Tagok:	Dr. Kátai János	CSc
	Dr. Heltai György	DSc

A doktori szigorlat időpontja: 2007. július 6.

Az értekezés bírálói:

Név	Tud. fokozat	Aláírás
.....		
.....		
.....		

A bíráló bizottság:

	Név	Tud. fokozat	Aláírás
Elnök:			
Titkár:			
Tagok:			
			
			
			

Az értekezés védésének időpontja: 200.....

TARTALOMJEGYZÉK

RÖVIDÍTÉSEK	5
1. BEVEZETÉS	6
2. CÉLKITŰZÉSEK	8
3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	9
3.1. A szelén története.....	9
3.2. A szelén kémiai sajátosságai	10
3.3. A szelén előfordulása.....	11
3.4. A szelén szerepe élettani folyamatainkban	12
3.5. A szelén, mint antioxidáns.....	14
3.6. A szelén szükséges és toxikus mennyisége, szelénhiány, szelénpótlás	16
3.7. A szelénhiány betegségei és szerepe egyéb betegségekben	17
3.8. A szelén toxikus hatása.....	20
3.9. A szelén szerepe táplálkozásunkban.....	21
3.10. A szelén ipari felhasználása	23
3.11. Szelénszennyezés	24
3.12. A szelén analitikája - összes szeléntartalom meghatározása	27
3.13. A speciációs analitika fogalmai, nevezéktana	30
3.14. A szelén speciációs analitikája	31
3.15. Mintaelőkészítés: szelénformák meghatározása vizes kivonatból talaj és növényminták esetén.....	33
3.16. Szelénformák meghatározása IC-ICP-MS rendszerrel	35
3.17. A szelén megkötődése a talajban	36
3.18. A nagyhőrsöki szabadföldi kísérlet bemutatása.....	39
3.19. Talajok szennyezésének megszüntetése fitoremediációs technikával, különös tekintettel a szelénszennyezésekre.....	43
4. ANYAG ÉS MÓDSZER	45
4.1. Felhasznált minták	45
4.2. Teljes szeléntartalom és a minták összes elemtartalmának meghatározásához végzett mintaelőkészítés	47
4.3. A szelén speciációs analitikai vizsgálatához végzett mintaelőkészítés	48
4.4. A minták összes elemtartalmának meghatározásához alkalmazott készülék, mérési paraméterek és standard anyagok.....	51
4.5. A vizes kivonatok összes felvehető és a savas roncsolatok teljes szeléntartalmának meghatározása ICP-MS technikával	53
4.6. Szelénformák meghatározása IC-ICP-MS rendszerrel; a mérés körülményei, standard anyagok és oldatok	55
4.7. Adszorpciós izotermák mérése	56
4.8. Stabilitási kísérlet.....	57
4.9. Talajminták pH-jának meghatározása	58
4.10. A kísérletek értékelésének statisztikai módszerei.....	58
5. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELESÜK	59
5.1. A szelén speciációs vizsgálatának kidolgozása	59
5.1.1. Szelénformák azonosítása standardanyagok csúcsai alapján.....	59
5.1.2. Az ütközési cella (CCT) alkalmazásának vizsgálata	63
5.2. A nagyhőrsöki szabadföldi kísérletből származó talajminták vizsgálata.....	64
5.2.1. A talajok speciációs vizsgálata	64

5.2.2. A szelén megkötődése a nagyhőrcsöki kezeletlen talajmintákban: az adszorpciós izotermák vizsgálata.....	71
5.2.3. Az adszorpciós izotermákból számolt összes vízdoldható szelenit és szelenát mennyisége, valamint ennek összevetése a talajban lévő teljes és a kioldott összes szelénkoncentrációval	75
5.2.4. A talaj összes elemtartalmának vizsgálata és alakulása a nagydózisú szeléntrágyázás hatására	84
5.2.5. Stabilitási kísérlet; a szelénformák stabilitásának vizsgálata a tárolt talajmintákban.....	86
5.3. A nagyhőrcsöki szabadföldi kísérletből származó növényminták vizsgálata.....	89
5.3.1. A növényminták speciációs vizsgálata, a szelénfelvétel és a növényben jelen lévő szelénformák értékelése fajtánként	89
5.3.2. Növényminták összes szelén koncentrációjának vizsgálata és összevetése a vizes kivonatokban kapott szelénkomponensek koncentrációival, ismétlések összevetése.....	97
5.3.3. A növényminták összes elemtartalmának vizsgálata és alakulása a nagydózisú szeléntrágyázás hatására	103
6. KÖVETKEZTETÉSEK.....	107
7. ÖSSZEFOGLALÁS	111
SUMMARY	115
ÚJ ÉS ÚJSZERŰ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK	119
IRODALOMJEGYZÉK	121
1. Melléklet.....	135
KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	136

RÖVIDÍTÉSEK

<u>Rövidítés</u>	<u>Angol megfelelő</u>	<u>Magyar megfelelő</u>
AAS	Atomic Absorption Spectrometry	Atomabszorpciós spektrometria
AFS	Atomic Fluorescence Spectrometry	Atomfluoreszcens spektrometria
AL		Ammónium-laktát kivonószer
CCT	Collision Cell Techology	Ütközési cellás technológia
CRM	Certified Reference Materials	Hitelesített referencia-anyagminták
DRC	Dynamic Reaction Cell	Dinamikus reakciócella
FAAS	Flame Atomic Absorption Spectrometry	Lángatomabszorpciós spektrometria
GC	Gas Chromatography	Gázkromatográfia
HG	Hydride Generation	Hidridfejlesztés
HPLC	High-performance LC	Nagy hatékonyságú folyadékkromatográfia
IC	Ion-exchange Chromatography	Ioncserés kromatográfia
ICP	Inductively Coupled Plasma	Induktív csatolású plazma
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry	
LC	Liquid Chromatography	Folyadékkromatográfia
LD ₅₀	Lethal Dose, 50%	A halálos dózis 50%-a
LDL	Low-density lipoprotein	Alacsony sűrűségű lipoprotein
MS	Mass Spectrometry	Tömegspektrometria
MTA		Magyar Tudományos Akadémia
NAA	Neutron Activation Analysis	Neutron Aktivációs Analízis
OES	Optical Emission Spectrometry	Optikai Emissziós Spektrometria
PEEK	Polyether – ether –keton	Poliéter-éter-keton
PP		Polipropilén
RDI	Recommended Daily Intake	Ajánlott napi bevitel
RP	Reversed Phase	Fordított fázis
RSD	Relative standrad deviation	relatív szórás
TAKI		Talajtani és Agrokémiai Kutató Intézet
TRIS	Tris(hydroxymethyl)aminomethane	Trisz(hidroximetil)aminometán
UV	Ultra violet	Ultraibolya

1. BEVEZETÉS

Mára a szelén egyike lett a leginkább tanulmányozott mikroelemeknek, mivel számos élettani folyamatban bizonyították fontos szerepét. Közvetlen vagy közvetett módon, de a szelénhiány számos betegség kialakulásában vagy kórképének súlyosbodásában játszhat szerepet, mint pl. felnőttkori cukorbetegség, szürkehályog, cisztás fibrózis, agyérkatasztrófa vagy vastagbél-fekélyesedés, különféle ráktípusok (prosztatarák, vastagbél- és végbélrák, tüdőrák, stb.) valamint szív- és érrendszeri betegségek. Emellett olyan betegségek esetén is kimutattak összefüggést a szelénhiánnyal, mint pl. a Down-szindróma, Alzheimer-kór, vagy az AIDS, amelyek korunk igen súlyos és elterjedt betegségei (NAVARRÓ-ALARCÓN és LÓPEZ-MARTINEZ, 2000).

Napjainkban általában inkább a szelénhiány okozta betegségek vizsgálatával, ezzel együtt pedig a hiány csökkentésével, a szelénpótlás lehetőségeivel kapcsolatos kutatásokat folytatnak. Hiszen köztudott, hogy pl. Európa talajainak egy része (Anglia, Finnország és a Kárpát-medence) valamint a világ számos más területe szelénben hiányos, vagyis az ezeken a területeken élő lakosság (így hazánk lakói is) szelénben hiányosan táplálkozik, ami komoly egészségügyi kockázatot jelent (REILLY, 1998).

Emellett azonban szintén egészségügyi kockázatot jelenthet a szelénszennyezés is. A különböző ipari tevékenységek, és egyes bányászatok körzetében a talajok, valamint a környező vízi világ igen erőteljesen elszennyeződhet szelénnel. Az ilyen területek felkutatása, vizsgálata és regenerálása (a szennyezés megszüntetése, a talaj és az élővilág eredeti állapotának visszaállítása) szintén igen komoly feladat a kutatók számára, hiszen egy nagymérvű környezeti terhelés az emberi táplálkozásra, s így egészségünkre is kihat. A szelén ugyanis egyike azoknak az elemeknek, amelyek nagyon szűk toleranciatartománnyal jellemezhetők, azaz a szervezet számára szükséges és toxikus Se mennyiség nagyon közel esik egymáshoz (MICHALKE, 1995).

A megfelelő szeléntartalmú táplálkozás elérése érdekében már több helyen bevezették a Se-tartalmú műtrágyázást. Valójában azonban még nem tisztázott, hogy pl. a műtrágyázás hatásaként a különféle növények hogyan képesek hasznosítani és továbbadni a számunkra nélkülözhetetlen szelént. Fontos vizsgálnunk, hogy a szelén pótlása az állatok, ill. az ember számára milyen formában történhet a talajra kijuttatott szelén-tartalmú vegyületek esetében. Mekkora mennyiségben szükséges adagolásuk, és a talajban, növényekben az adott szelén vegyületek milyen átalakulási folyamatokon

mennek keresztül, milyen formákban kerülnek be az élő szervezetbe, s azokra milyen hatással vannak (DERNOVICS, 2003).

Szintén fontos új kutatási terület a szelén-tartalmú élelmiszerek előállítása, amelyek esetében is vizsgálni kell, hogy a szelén milyen formákban kerül bele az élelmiszerekbe; milyen átalakulásokon megy keresztül, hogyan tud hasznosulni, stb.

Lényeges, hogy a szennyezés szempontjából is vizsgáljuk a környezet szelénterhelését, vagyis az elemzéseknek ki kell terjedniük a kijuttatott mennyiségekre is. Fontos, hogy mindenképpen megvizsgáljuk a talajba juttatott szelénvegyületek átalakulását és mozgását, valamint a felvételüket a növényekben. Vagyis nem csupán az összes szelén-tartalom meghatározása a fontos, hanem azt is vizsgálni kell, hogy a szelén milyen formákban van jelen a talajban és a növényekben. Csak így kaphatunk teljes képet a szelén talajban való mozgásáról, a növényi felvételről és arról, hogy mely szelénvegyületek hasznosak, ill. különösen toxikusak az élő szervezetek számára.

Hazánkban Dr. Kádár Imre, a Magyar Tudományos Akadémia Talajtani és Agrokémiai Kutató Intézetének (MTA TAKI) professzora a szennyezések vizsgálatára állított be egy nehézfémterheléses kísérletet, amelyben a nehézfémek mellett szelénese kezelést is alkalmazott. A tartamkísérletben különböző dózisban juttattak ki a kísérleti parcellákra toxikus nehézfémeket, valamint szelént, amelyet szelenit (Se(IV)), Na_2SeO_3) só formájában alkalmaztak. A kísérlet során vizsgálták ezen elemeknek a szántóföldi növényekre, valamint a talajéletre gyakorolt hatását. A szabadföldi kísérletet 1991 tavaszán állították be a TAKI, Nagyhörcsöki Kísérleti telepén, mészlepedékes csernozjom talajon.

A kísérletben azt tapasztalták, hogy a növényekre gyakorolt toxikus hatás a kezdeti években nőtt, majd 10 év elteltével csökkent. Ez a tapasztalat arra utal, hogy a szelenit más formákká alakulva lemosódott a talaj mélyebb rétegei felé, ezáltal csökkent a feltalaj toxicitása a növényekre nézve.

A kísérlet jó támpontot és megfelelő kísérleti anyagot szolgáltat a szelén talajban történő átalakulásának és mozgásának, valamint a növényi felvételnek a vizsgálatára.

2. CÉLKITŰZÉSEK

Napjainkban a tapasztalatok szerint egyre inkább erősödő igény, hogy bizonyos elemeknél ne csupán azok teljes koncentrációját mérjük meg a talajban, talajextraktumokban, ill. a növényekben, hanem azt is fontos tudnunk, hogy az illető esszenciális vagy potenciálisan toxikus elem milyen ionformában, oxidációs állapotban, vagy milyen szerves vegyületként van jelen a talajban, hiszen ez alapvetően meghatározza toxicitását, hatását a talajéletre. A speciációs analitika és ezzel együtt az adott elemek különböző formáinak meghatározása egyre nagyobb jelentőséggel bír az analitikai kémiában.

A TAKI nagyhorcsöki kísérleti telepén beállított szabadföldi kísérlet a világon egyedülálló, így nagyon sok egyedi, s egyúttal hasznos információt szolgáltat az egyes elemek viselkedésére a talajban. A trágyázás során alkalmazott sókat igen nagy dózisban juttatták ki, a kapott eredmények világos képet adnak az adott elem viselkedéséről a talajban, ill. a növényekben, mivel a nagy koncentrációk miatt a hatások és változások jól nyomonkövethetők. Ezt felhasználva doktori munkámban feldolgoztam a Prof. Dr. Kádár Imre által az Intézetünk rendelkezésére bocsátott mintaanyagot, majd a kapott eredményeket összegezve, s összehasonlítva olyan következtetéseket kívántam levonni, amelyek megválaszolhatnak bizonyos kérdéseket, pl. a szeléntrágyázás, szelén-hiány kezelése, a szelénnek talajban történő megkötődése és mozgása, valamint a nagy koncentrációjú szelénszennyezés kezelésének tárgykörében. 3 éves munkám során a következő kérdésekre kerestem a választ:

- Hogyan alkalmazható talaj és növéyminták Se formáinak vizsgálatához az IC-ICP-MS kapcsolt rendszer?
- A kijuttatott szelenit hogyan alakul át, illetve milyen formákban vándorol a talajban?
- Fennáll-e a kimosódás veszélye a vizsgált mészlepedékes csernozjom talajon?
- Milyen formákban (szerves vagy szervetlen) van jelen a termesztett szántóföldi növényekben a szelén?
- Hogyan modellezhető a szelén az általam vizsgált mészlepedékes csernozjom talajban, milyen adszorpció izotermákkal írható le a megkötődés?
- Milyen hatással van a szelenit kezelés az egyes makro- és mikroelemek mennyiségére a talajban és a termesztett növényekben?

3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

3.1. A szelén története

A XIII. században egy olasz tudós, Arnold of Villanova feljegyzéseiben már szerepel a “vörös kén” nevet viselő anyag, az akkori analitikai módszerek azonban még nem tették lehetővé az elem azonosítását (REILLY, 1996).

A szelént 1817-ben izolálták; a felfedezés Jöns Jacob Berzelius és Gahn érdeme. Berzelius vizsgálta egy gripsholmi kénsavgyár dolgozói rosszullétének okát, s eközben fedezte fel az új elemet, amelyet Szelénéről a hold görög istennőjéről, szelénnek (Se) nevezett el. A dolgozók rosszullétének megjelenése éppen akkor történt, amikor a gyár a kénsavgyártáshoz szükséges importált vas-szulfid felhasználásról a helyi ellátásra tért át. Berzelius ennek tudatában arra következtetett, hogy a dolgozók tüneteit valószínűleg a kénforrás valamilyen szennyezése okozhatja. Először az akkor már ismert és mérgező tünetekkel leírt arzént, illetve a szintén általa felfedezett tellúrt vélte a lehetséges szennyezőnek. Amikor azonban megvizsgálta a savkádak üledékét, egy illékony, vörösesbarna lerakódást fedezett fel, amelyben egy új, addig még ismeretlen elemet tudott meghatározni; ez volt a szelén.

Habár a szelént már 1817-ben felfedezték, először csak 1957-ben Schwarz és Foltz bizonyította esszenciális jellegét. Patkánykísérleteik során állapították meg, hogy az állatok étrendjébe illesztett szelén fontos szerepet játszott a máj-nekrózis megelőzésében (SCHWARZ és FOLTZ, 1957).

Igazán nagy jelentősége a szelénnek csak a 70-es évektől lett, amikor is Kína Keshan nevű tartományában megjelent egy furcsa betegség, amely következtében sokan meghaltak. A betegség szívizomgyengüléshez és halálhoz vezetett. A problémával foglalkozó tudósok többek között a helyiek táplálékát is megvizsgálták, és így derült ki, hogy a betegség által sújtott területeken élők tápláléka az átlagosnál jóval kevesebb szelént tartalmaz. Ezt követően egy egyszerű szelénvegyülettel; nátrium-szelenittel egészítették ki a lakosság táplálékát, és ezzel megállították a halálos betegséget (CHEN et al., 1980). Csak jóval később derült ki, hogy a lakosok betegségét nem közvetlenül a szelénhiány okozta, hanem egy különleges kórokozó, az ún. Cocksackie-vírus fertőzése. Ez a vírustörzs azok közé tartozik, melyek sejten belüli reprodukcióját a szelén szelektíven gátolja (LEVANDER és BECK, 1997).

Pár évvel később (CONE et al., 1976) azonosították a glicin-reduktáz enzimben lévő szelénkomponenst, a szelenociszteint, a kéntartalmú cisztein aminosav szelén analógját.

3.2. A szelén kémiai sajátosságai

A szelén rendszáma 34, relatív atomtömege 78,96. Hat stabilis izotópja ismert, a leggyakoribb a ^{80}Se -izotóp (relatív gyakorisága: 49,96%). Az ICP-MS-el történő méréseknél is ezt az izotópot figyelik leggyakrabban. Ezt követi a ^{78}Se (relatív gyakoriság: 23,61%), majd sorban; ^{76}Se , ^{82}Se és a ^{77}Se , amely izotópok természetes előfordulása sokkal kisebb (rendre: 9,12; 8,84 és 7,5% rel. gyakoriság).

Többféle oxidációs számmal fordul elő, melyek: -II, 0, +IV és +VI, de vegyületei a +IV-es oxidációs állapotban a legstabilabbak. A szelén megtalálható a talajban, a vizekben és a levegőben is, talajban: $0,1\text{--}0,3\ \mu\text{g g}^{-1}$, a levegőben $0,1\text{--}10\ \text{ng m}^3$, a felszíni vizekben pedig $0,06\text{--}400\ \mu\text{g l}^{-1}$ mennyiségben mutatták ki. Oldódásának mértékét a vizes közeg pH-ja nagyban befolyásolja. A szelénterhelés forrásai között említhetők: a vulkáni tevékenység, valamint az ipar, a közlekedés, a tüzelés és a mezőgazdaság (SKINNER, 1999).

A szelén tulajdonképpen, mint a 6. főcsoport tagja, a kénnel analóg módon viselkedik, minden kéntartalmú molekulának létezik szelént tartalmazó, analóg vegyülete. Így a kén és a szelén egymással versengve szerepelhet egyes biokémiai reakciókban (COMBS és COMBS, 1986)

A két elemnek hasonló a külső vegyértékhéj elektronszerkezete és atommérete, valamint kötési energiáik, ionizációs potenciáljuk és elektronaffinitásuk tulajdonképpen hasonló nagyságrendű. Közös sajátosságuk a diszulfid (-S-S-), ill. diszelenid (-Se-Se-) hidak kialakítása szerves vegyületekben. A hasonlóságok ellenére, a kén és a szelén biokémiája eltér egymástól, ami a biológiai rendszerekben megkülönbözteti őket. Két szempont szerint különböztethetők meg leginkább; az egyik különbség, hogy a biológiai rendszerek anyagcsere folyamatai során a szelénformák redukálódnak, szemben a kén vegyületekkel, melyek oxidálódnak. A szelenit (SeO_3^{2-}) enyhe, a szelenát (SeO_4^{2-}) erős oxidálószer, míg a szulfít (SO_3^{2-}) redukál, addig a szulfát (SO_4^{2-}) nem vesz részt a redoxi-folyamatokban. A másik igen fontos eltérés a hidridjeik savas jellegéből adódik. A H_2Se sokkal savasabb karakterű, mint a H_2S . A savfokbeli eltérést a szelenocisztein szelenohidril- és a cisztein szulfhidril csoportjának disszociációs tulajdonságai okozzák. Ebből adódóan, míg a tiolok (cisztein) főleg protonált formában

vannak jelen fiziológiai pH-érték mellett, addig a szelenolok szelenohidril csoportjai (szelenocisztein) ugyanilyen körülmények között inkább disszociációra hajlamosabbak. Ezekre az eltérésekre vezethető vissza, hogy a szelénkomponensek átlagosan hatszázszorosan aktívabbak a daganatos megbetegedések ellen, mint kén analógjaik (IP és GANTHER, 1992; KÁPOLNA, 2006)

3.3. A szelén előfordulása

A szelén környezetünkben, a talajban, a talajvízben és egyéb felszíni és felszín alatti vizeinkben, valamint az összes élő szervezetben előfordul. A biológiailag nem hozzáférhető elemi szelén csak ritkán fordul elő természetes körülmények között, de a talajban stabilis formában megtalálható. Vízben nem, vagy csak kissé oldható. Az elemi szelén szelén-dioxiddá oxidálódhat; az oxidok leginkább a talaj felszínén fordulhatnak elő. Levegőtől elzárt, anaerob körülmények között, a talajokban a szelén elemi formája van jelen (CRAIG, 1986).

A fő szelénvegyületek, amelyek a környezetünkben előfordulnak:

- a talajban: Se(IV), Se(VI), dimetil-szelenid (dMeSe), dimetil-diszelenid (dMedSe) $[(CH_3)_2Se_2]$, dimetil-szelenon $[(CH_3)_2SeO_2]$
- biológiai mintákban: szelenocisztin (SeC), szelenocisztein (SeCys), szelenometionin (SeMet), szelenoetionin (SeE), szelenourea (SeU) (MCSHEEHY et al., 2000, MICHALKE et al., 2001)

A hidrogén-szelenid vizes közegben gyenge savként viselkedik, míg gázállapotban színtelen, kellemetlen szagú, igen mérgező vegyület. Enyhe redukálószer hatására, mint pl. az aszkorbinsav, a szelenit könnyen elemi szelénre redukálódik. A szelenátok (SeO_4^{2-}) és a szelenitek (SeO_3^{2-}) vízzoldékony vegyületek, így a vizekben a szelén leginkább ilyen formáiban fordul elő (GÓMEZ-ARIZA et al., 1998).

Általánosságban elmondható, hogy a talaj szelénellátottsága szabja meg az azon termesztett növény szeléntartalmát (TERRY et al., 2000). Kis mennyiségben alkotója a foszfát műtrágyáknak, így a megfelelő mértékben műtrágyázott mezőgazdasági talajok általában 400 mg t^{-1} szelént tartalmaznak.

Jobb biológiai hozzáférhetőség miatt a vízzoldékony szelénvegyületek veszélyesebbek lehetnek, mint az elemi szelén, amely sokkal kevésbé mozgékony és oldékony a

talajban, azaz az emberi szervezet számára ez a szelénforma nem jelent veszélyforrást (KÁDÁR, 1998).

A savas, szerves anyagokban gazdag, redukáló tulajdonságú talajokban a nem mobilis és felvehetetlen szelenid, valamint az elemi szelén, míg a lúgos kémhatású, jól szellőzőtt, oxidatív tulajdonságú talajokban a szelenit (SeIV) és a szelenát (SeVI) van inkább jelen.

A szervetlen formák mellett ismertek a szelén szerves kötésben lévő formái is, amelyekben a szelén szelenitként van jelen. Ezek leginkább szeleno-aminosavak, vagy azok származékai, amelyek tulajdonképpen olyan aminosavak, amelyekben a kén helyett szelén szerepel.

A szelén legfontosabb szerves formáinak tekintik a növényi eredetű szelenometionint (SeMet), illetve az állati fehérjékből származó szelenociszteint (SeCys). Sem az állatok, sem pedig az emberek nem képesek szervetlen szelénforrásból metionint és ebből adódóan SeMet-t előállítani, így ezt a szeleno-aminosavat növényi vagy mikrobiális forrásból szükséges pótolnunk.

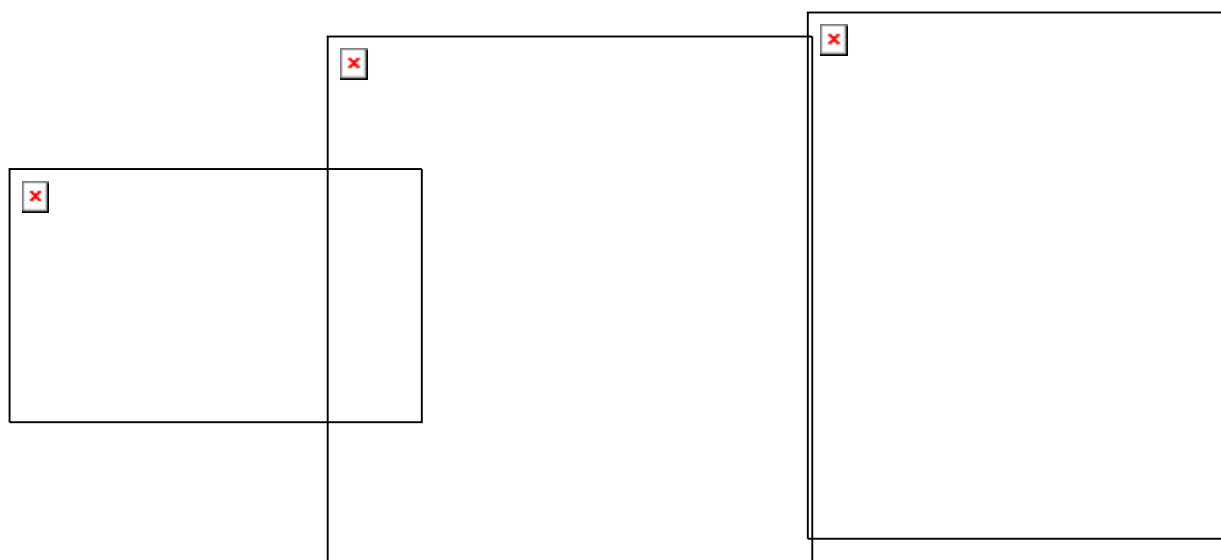
A szerves módosulatok közül a szeleno-metil-szelenociszteint (MeSeCys) kell még megemlítenünk, amely egy szeleno-aminosav származék, illetve annak glutamil származékát, a γ -glutamil-szeleno-metil-szelenociszteint (γ -MeSeCys). Ezek olyan nem fehérjéhez kötött, metilezett szeléntartalmú komponensek, amelyek megnövelt szeléntartalmú táptalajon termesztett növényekben elsődleges formaként vannak jelen (KÁPOLNA, 2006).

3.4. A szelén szerepe élettani folyamatainkban

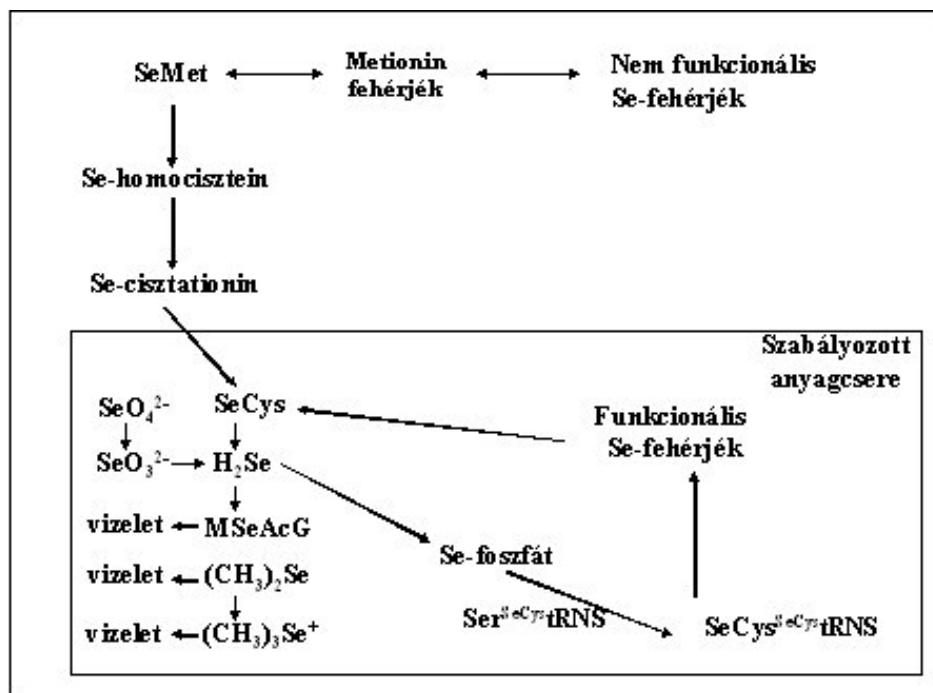
Mára a szelénnek számos élettani folyamatban bizonyították fontos szerepét. Pl. alkotója a 21. aminosavnak, a szelenociszteinnak (SeCys), mely nem valamelyik aminosav utólagos módosításával jön létre, hanem saját kódonnal és t-RNS-el is rendelkezik (STADTMAN, 1996). A SeCys szabályozottan épül be egy sor enzimbe, amelyek katalitikus folyamataihoz ez az aminosav elengedhetetlen; cseréje, pl. a kéntartalmú ciszteinnel több nagyságrendnyi aktivitáscsökkenést eredményez. Az emberi jodotironin-dejodináz a jód anyagcseréjében, a glutation-peroxidázok egész családja és a tioredoxin-reduktáz a sejtek oxidatív stressz elleni védelmében rendelkezik rákellenes hatással (SCHRAUZER, 2000). Ezeken kívül sikerült még kimutatni SeCys-t tartalmazó (valószínűleg funkcionális, de még nem tisztázott feladattal rendelkező)

szeléntartalmú fehérjéket (összesen több mint 30 félé), pl. a mitokondriumokban, a prosztatában és a herékben is (BEHNE et al., 1998). Az utóbbi két előfordulási hely megalapozza azt az állítást, miszerint a nem kielégítő szelénbevitel ronthatja a férfiak nemzőképességét (REILLY, 1998). Közvetlen vagy közvetett módon, a szelénhiány nagyon sok betegség kialakulásában játszhat szerepet (NAVARRO-ALARCÓN és LÓPEZ-MARTINEZ, 2000). A szelén hiánya az állatoknál is sok betegség kialakulásához vezethet, pl. izomsorvadás, szarvasmarháknál izzadási hajlam, valamint sperma- és vérszegénység, sertéseknél májnekrózis, bárányoknál fejlődési zavarok lépnek fel.

A szelén útja és hasznosulása az emberi szervezetben már nagyjából feltérképezett terület. Az 1. ábra a szeléntartalmú aminosavak és egyéb szerves Se-vegyületek szerkezeti képletét mutatja be.



1. ábra: A különböző szelénvegyületek (pl. szeléntartalmú aminosavak) szerkezeti képlete és neve (APPEL, 2001/2002)



2. ábra: Az emberi szervezet Se-anyagcserefolyamatainak sematikus ábrázolása (LOBINSKI *et al.*, 2000; KOBAYASHI *et al.*, 2002)

A 2. ábra az emberi szervezet szelén anyagcserefolyamatit szemlélteti.

A különböző szelén-anyagcsereszakaszokban nem beszélhetünk éles határkoncentrációkról, rögzített beviteli mennyiségekről. Az optimális tartomány felső értékeit elérve már megindul a szelén kiválasztása a vizeleten keresztül; először a szervezetet legkevésbé terhelő szelenocukrok, majd a kissé mérgezőbb, de könnyebben szintetizálható TMSe^+ forma választódik ki. Ha DMSe távozik a szervezetből, amely jellegzetes tünetekkel jár (fokhagymaszagú lehelet, ill. verejték), az már igen súlyos mérgezésre utal (DERNOVICS, 2003).

3.5. A szelén, mint antioxidáns

A szelén antioxidáns szerepe nagyon jelentős. Számos különböző biológiai funkcióval rendelkezik, pl. védelmet nyújt a sejtmembránok oxidatív károsodása ellen, vagy kölcsönhatásba lép a toxikus nehézfémekkel.

A normál egészséges életműködéshez szüksége van szervezetünknek néhány létfontosságú szelén tartalmú fehérjére, illetve enzimre. A legismertebb ezek közül az antioxidáns hatású glutation-peroxidáz enzim (GPx), amely hidrogén-peroxiddal, és más káros hatású lipid- és foszfolipid hidroxidokkal reagálva eliminálja az azokból

képződött káros szabadgyököket és egyéb reaktív oxigénvegyületeket (AL-KUNANIA et al., 2001), valamint meggátolja a DNS károsodást és a metabolikusan aktív karcinogének kialakulását (KARAG et al., 1998). A GPx minden szövetünkben jelen van. Az enzim működését részben a redukált glutation mennyisége (szubsztrát), részben pedig a szervezet aktuális szelén ellátottsága (aktív centrum) határozza meg (MEISTER és ANDERSON, 1983). A szelén szelenociszteinként épül be az enzimbe és mint ciszteinanalog a kén helyét foglalja el. Ez a biokémiai tulajdonság magyarázza a szelén fontos szerepét a szervezetünk oxidáció elleni védekező rendszerében, mert könnyebben redukálódik, mint a kén (CSER és SZIKLAI-LÁSZLÓ, 1998). Ez idáig négy szeléntartalmú glutation-peroxidázt (GPx) azonosítottak: sejti vagy a klasszikus GPx, plazma vagy extracelluláris GPx, foszfolipid hidroperoxid GPx és a gasztrointesztinális GPx. Bár mindegyik egy-egy különálló szelenoprotein, mégis mindegyik enzim antioxidáns hatású; redukálják a veszélyt jelentő reaktív oxigényököket (HOLBEN és SMITH, 1999; <http://lpi.oregonstate.edu>).

A szelén tehát antioxidáns hatású enzimek alkotója, szemben akár az E-, illetve C-vitaminnal, melyek nem enzimikus módon működő antioxidánsok (BURK, 2002).

A szelenoproteinek az anyagcserében aktív szerepet betöltő fehérjék, amelyek a szervezeten belül keletkezett szelenociszteint tartalmazznak. Ezek a proteinek kizárólag szelén jelenlétében képesek működni és szintézisük lecsökken, ha a szervezetbe bevitt szelén mennyisége nem megfelelő. Számos szelenoproteinnek ismert a fiziológiai szerepe. Ezek között található legalább öt glutationin izoforma, a szelenoprotein P, három jodotironin-dejodináz, három tioredoxin-reduktáz és a szelenofoszfát-szintetáz enzim (ALLAN et al., 1999).

A szelenoprotein P a plazmában található és a véredények belső falát alkotó sejtekkel (endotél sejtek) áll összeköttetésben. Ugyan még nem tisztázott ennek a fehérjének az emberi szervezetben betöltött funkciója, feltételezhető azonban, hogy szerepet kap mind a transzport feladatokban, mind pedig antioxidáns képességével védelmet nyújt az endotél sejteknek a reaktív nitrogén formák, az ún. peroxinitritek káros hatásaival szemben. A szelenoprotein W az izomban található, és feltételezhetően annak metabolizmusában van szerepe (HOLBEN és SMITH, 1999).

A szelenocisztein szelenoproteinekbe történő beépülése genetikai kód alapján vezérelt és a folyamat lejátszódását a szelenofoszfát-szintetáz enzim katalizálja (RAYMAN 2000; KÁPOLNA, 2006).

A szelén karotinoidokhoz hasonló immunerősítő hatása és ezzel együtt az antikarcinogén, azaz rákellenes hatása is jól ismert.

3.6. A szelén szükséges és toxikus mennyisége, szelénhiány, szelénpótlás

A szelén egyike azoknak az elemeknek, amelyek nagyon szűk toleranciatartománnyal jellemezhetők, azaz a szervezet számára szükséges és toxikus Se mennyiség nagyon közel esik egymáshoz (MICHALKE, 1995).

Táplálkozástudományi vonatkozásaival azért nagyon fontos foglalkoznunk, mert Európa egy részének (Finnország, Németország, Svédország, Franciaország, a Kárpát-medence, stb.) talajai szelénben hiányosak, vagyis az ezeken a területeken élő lakosság (így hazánk lakói is) étrendje feltehetően szelénben hiányos, ami komoly egészségügyi kockázatot jelent (REILLY, 1998). Ez igaz számos más területre is a világon, nem csak Európában. Ázsiában Kína, Afrikában Zaire, az ötödik kontinensen pedig Új-Zéland déli része nevezhető kiemelten szelénhiányos térségnek (WHANGER, 2004). Ezzel szemben viszont, pl. Amerika egyes területein a talajok a geológiai adottságokból kifolyólag magas Se-tartalmúak, így ezeken a területeken nincs szükség az étrend kiegészítésére. A felvett napi szelénmennyiség tehát a földrajzi adottságokból adódóan országonként változik, így a napi szükséglet is területenként más és más. A 3. ábra a világ egyes országaiban, a vérplazmában mért Se mennyiségét, illetve az elfogadható Se szintet mutatja be. Jól látható az ábrán, hogy Magyarország a kívánatos szint alatt van, azaz hazánkban az emberek jelentős részének étrendje szelénhiányos.



3. ábra: A világ országai Se-szintjének alakulása a vérplazmában (COMBS, 2005)

A szelénhiányos táplálkozás, s az ennek következtében kialakuló hiánybetegségek kiküszöbölésére, illetve javítása érdekében a világ szelénhiányos régióiban, országaiban különböző módon igyekeztek megoldani a problémát: Finnországban és Új-Zélandon műtrágyához adagolnak szelént, így növelve a szelén koncentrációját a gabonafélékben. Kínában szelénrel egészítik ki a konyhasót, másutt pedig az ivóvízhez adagolnak szelén vegyületeket. Továbbá világszerte megkezdtek különféle szeléntartalmú táplálékkiegészítők forgalmazását is. Nagy-Britanniában kezdetben a médián keresztül próbálták felhívni a lakosság figyelmét, hogy szeléntartalmú táplálékkiegészítőket, ill. szelénben természetesen gazdag élelmiszereket fogyasszanak (pl. brazil dió, amelyben a szelén szemenként akár 100 µg mennyiségben is jelen lehet (CHANG et al., 1995)). Ezt követően világszerte megindult a szelénben dúsított élelmiszerek előállítása és forgalmazása is (pl. szelénes tojás, szelénes kenyér, stb.). Az erre irányuló kísérletek napjainkban nagy intenzitással folynak.

Hazánkban a szelén ajánlott napi beviteli mennyiségét (RDI) testtömeg kg alapján állapítják meg, amely alapján, pl. egy 70 kg-os embernek naponta átlagosan 80 µg szelént kellene a szervezetébe juttatnia a napi szükséges mennyiség bevitelére. Ettől kevesebb az USA-ban megállapított érték: 70 µg, és eltérés van a nők és a férfiak részére ajánlott mennyiségek között is; előbbi 60, utóbbi 75 µg-ban van megállapítva Magyarországon (MAGYAR ÉLELMISZERKÖNYV, 2001). Az egyénenként meghatározott RDI értékektől kis mértékű (néhány 10 µg) eltérés még nem okoz egészségügyi károsodást.

Az említett koncentráció alatti fogyasztás esetén hiánybetegségek alakulhatnak ki, míg a felső határt, azaz napi 500 µg szelént meghaladó fogyasztásnál mérgezési tünetek jelentkezhetnek (KOLLER és EXON, 1986).

3.7. A szelénhiány betegségei és szerepe egyéb betegségekben

A szelénhiány betegségei közé tartozik a már említett, első ízben felfedezett, igen súlyos hiánybetegség, a Keshan-szindróma, amely Kínában ütötte fel a fejét az 1970-es években. Ehhez a betegséghez hasonló, és szintén Kínában és környékén (Észak-Kína, Észak-Korea és Kelet-Szibéria) jelentkezett az ún. Kashin-Beck elnevezésű betegség, amely az ízületi porc degenerációjában nyilvánul meg. A betegség elsősorban az 5 és 13 év közötti gyermekeket támadja meg és szélsőséges esetekben ízületi deformációkhoz,

illetve törpeséghez vezethet, melyet a porcokat alkotó sejtek degenerációja idéz elő. Ellentétben a Keshan-kórral azonban, ennek a betegségnek a kialakulását a megemelt szelénbevitel nem előzi meg, vagyis ebből adódóan a szelénhiány szerepe a betegség létrejöttében igazából nem egyértelmű. Azért kötik a Kashin-Beck-szindrómát mégis a szelén hiányához, mert a betegség az említett régiók kifejezetten szelénhiányos területein jelenik meg (FOSTER és SUMAR, 1997).

Napjainkban a feltételezhetően szelénhiánnyal összefüggésbe hozható megbetegedések köre bővülni látszik. Ilyen betegségek, pl. a fehérje-hiányos étrendű Kwashiorkór, a szívrendszeri megbetegedések széles skálája, a leukémia, daganatos megbetegedések, a fiatalkori krónikus izületgyulladás, a mongol idiotizmus (Down-szindróma), az inzulin-függő cukorbetegség, valamint gyerekkori cukorbetegség, búskomorság, vérszegénység, bölcsőhalál, terhesség alatti depresszió, Alzheimer-kór, sőt még az AIDS is (<http://healthlink.mcw.edu>). A számtalan leírt és kutatott betegség közül csak néhányat emeltem ki részletesebb bemutatásra.

A szelén fontos szerepet tölt be az agyi funkciókban, mivel metabolikus folyamatai az agyban nagymértékben eltérnek más szervekben történő metabolizmusától (WHANGER, 2001). Szelénhiányos táplálkozás esetén az agyi szövetek szelénellátása elsőbbséget élvez más szövetek, mint pl. vese vagy a máj kárára (FINLEY és PENLAND, 1998; BUCKMAN et al., 1993).

A szelén hiánya a kedélyállapotot is jelentősen befolyásolja. Táplálkozási kísérletben igazolták, hogy szelénhiányos étrend esetén a depresszió tünetei erősödtek, míg megfelelő pótlás esetén ez nem volt megfigyelhető (HAWKES és HORNBOSTEL, 1996, FINLEY és PENLAND, 1998). Azoknál az egyéneknél, akiknél 100–150 µg szelén nap⁻¹-os dózist alkalmaztak, a kedélyállapot szignifikánsan javult a kísérlet 5 vagy 6 hete alatt, a placebót kapó egyénekhez képest (BENTON és COOK, 1991; SCOTT, 1993). Egy HIV-fertőzött betegekkel végzett kísérletben a kutatók azt tapasztalták, hogy napi 200 µg szelén adagolásakor a depresszió és a levertség huszad részére csökkent a betegek körében, amely hozzájárult a betegek jobb minőségű életének kialakulásához (SHOR-POSNER et al., 2003).

A mechanizmus, amellyel a szelén a hangulatunkra hat, egyelőre még nem tisztázott, de a tiroid funkció apró változásait már összefüggésbe hozták a depressziós szindrómákkal (HENLEY és KOEHNLE, 1997). A szelén szükséges ugyanis a tiroid hormonok szintéziséhez és metabolizmusához (RAYMAN, 2000).

Járványtani adatok alapján a szelén és a szívbetegségek között összefüggést találtak, és nem csak a Keshan-kór tekintetében. Az alacsonyabb antioxidáns szint a kardiovaszkuláris megbetegedések nagyobb előfordulásához vezet az LDL (alacsony-sűrűségű lipoprotein) oxidáció megemelt szintjén keresztül. A szelén egyike azon antioxidánsoknak, amely az LDL oxidációját gátolja (GEY, 1998).

Az utóbbi években írták le azt is, hogy a szelén az inzulinéhoz hasonló hatással is rendelkezik; közrejátszik számos az inzulin hatásához hasonló reakcióban, mint pl. a glükóz felvétel stimulálása, és olyan metabolikus folyamatok szabályozása, mint a glikolízis, a glikoneogenezis, a zsírsavszintézis és a pentóz-foszfát ciklus. Jóllehet a szelén inzulinhoz hasonló hatásmechanizmusa ma még tisztázatlan, azt már leírták, hogy ezek a reakciók az inzulin-jel láncreakciójában szereplő kulcsfehérjék aktiválásában játszanak közre (STAPLETON, 2000).

A szelén a cukorbetegség következtében kialakuló oxidatív stressz mérséklésében is szerepet játszik, ezáltal háttérbe szorítva a cukorbetegség olyan másodlagos szövődményeinek kialakulását, mint pl. a neuropátia vagy a szürkehályogbetegségek (TUVEMO és GEBRE-MEDHIN, 1983; KARAKUCUK et al., 1995; NAZIROGLU et al., 2004).

Előzetes kutatások azt mutatják, hogy a szelén, mint szabadgyököket megkötő antioxidáns, késleltetheti az ízületi gyulladás előrehaladását. (STONE et al, 1997).

A HIV/AIDS betegség előrehaladásánál gyenge abszorpcióból fakadó szelénhiányt figyeltek meg. 24 HIV-fertőzött gyereket vizsgáltak 5 éven keresztül, amelyek közül az alacsony szelénszinttel rendelkezők körében nagyobb volt a korai elhalálozás esélye. A szelénnek azért is lehet fontos szerepe a HIV-betegségben, mivel szerepe van az immunrendszer erősítésében azáltal, hogy segíti a sejteket az oxidatív stressz elleni védelemben (<http://thebody.com>; DWORKIN, 1994; ROMERO-ALVIRA ÉS ROCHE, 1998).

Egyéb kutatások szerint a vérplazma alacsony szelénkoncentrációja összefüggésbe hozható az időskori szenilitással és csökkenő értelmi képességekkel, valamint az Alzheimer-kór kialakulásával is (CORRIGAN et al., 1991; BUSCIGLIO és YANKNER, 1995; DE HAAN et al., 1997).

Egyes kutatók azt is megfigyelték, hogy a szelénnel kiegészített táplálkozás csökkentette a gyermekepilepszia kialakulásának esélyét (WEBER et al., 1991).

Több tanulmány megállapítása szerint Down-szindrómás gyerekek vérérumában a szelén és a cink koncentrációja alacsony. A szelén a glutation-peroxidáz kofaktoraként

javíthat bizonyos immunfunkciókat (ANNEREN et al., 1989, 1990; ANTILA et al., 1990), amely szintén szerepet játszhat a Down-szindrómában.

A szelén csökkenti a higany és a kadmium hozzáférhetőségét a szervezetben oly módon, hogy az említett fémekkel oldhatatlan vegyületet (pl. higany-szelenid) képez, amely a szervezetből való kiürüléssel csökkenti toxikus hatásukat (SEPPANEN et al., 2000; FEROCI et al. 2005).

Az említetteken kívül számos más betegséget összefüggésbe tudtak hozni a szelénhiánnyal. Megállapították, hogy a szelénhiánynak szerepe van az adott betegség kialakulásában, súlyosbodásában. Ilyen betegségek, pl. a prosztatarák, bőrrák, tüdőrák, asztma, cisztás fibrózis, korpásodás, fáradékonyság, májbetegségek, terméketlenség, kis születési súly, limfádémia, hasnyálmirigygyulladás, szepszis, stb., de hatása van a kemoterápiás kezeléseknél, a vese dialízis esetén és égési sérülések gyógyulásánál is (<http://nlm.nih.gov>).

A szelénhiány klinikai tünetei között szerepel: szív- és vázizomzat gyengesége és elfajulása, csont- és ízületi rendszer rendellenessége, a bőr fehér foltosodása, hajritkulás és hajhullás, stb. Mivel egyik tünet sem specifikus, így a szervezet szelén ellátottságának meghatározása nélkül nem lehet egyértelműen megállapítani, hogy szelénhiány okozza-e a tüneteket. A szervezet Se ellátottságát a teljes vér, plazma, a vörösvérsejtek, a haj, a köröm, illetve a vizelet Se koncentrációjának meghatározásával lehet megállapítani (CSER és SZIKLAI-LÁSZLÓ, 1998).

3.8. A szelén toxikus hatása

Jóllehet, a szelén alapvetően esszenciális nyomelem, túl nagy mennyiségben azonban toxikussá válik. Az ajánlott napi bevitel 3-4-szeresét meghaladó fogyasztás esetén először gyengébb, majd később rendkívül erőteljes mérgezési tünetek jelennek meg (ARTHUR, 1991).

Krónikus mérgezési tünetek közt a bőr- szaruhártya- és körömelváltozás, hajhullás, gyomor- és bélműködés zavara, fogazat romlása, fáradtság és szédülés említhető meg, akut mérgezés esetén a szervezetbe került szelén mennyiségétől függően, 5-10 mg testsúlykg⁻¹-től kezdődően néhány órán belül beáll a halál (OLSON, 1986). Éppen ezért eleinte a szelént kifejezetten toxikus elemnek tekintették, s csak a Kínában szelénhiányból adódó Keshan-betegség kapcsán nyilvánították a szelént esszenciális elemmé.

Emellett állatkísérletekben kimutatták, hogy a nagy mennyiségű szelén mind a sperma, mind a női petesejt termelésében zavart idézett elő. A növények esetén pedig a nagy mennyiségben adagolt szelén terméscsökkenést eredményez.

Az elemi szelén és a legtöbb szelenid kevésbé toxikus, kis biológiai hasznosíthatóságuk, felvehetőségük miatt. Ezzel szemben a szelenit és a szelenát meglehetősen toxikus szelénforma, amelyek hatásukat tekintve hasonlóak az arzénhez. A hidrogén-szelenid igen mérgező és korrozív gáz, $1,5 \text{ mg kg}^{-1}$ koncentrációban már halálos az emberi szervezet számára. A szelén szerves vegyületei, mint pl. a szelenometionin, a szelenocisztein vagy a dimetilszelenid jól felvehető vegyületek, így nagy koncentrációban szintén toxikusak.

Igen nagy dózisban ($> 500 \text{ } \mu\text{g nap}^{-1}$) az összes szelénvegyület toxikus hatást fejt ki és mérgezőes tüneteket produkál, amely tünetek a vérplazma $100 \text{ } \mu\text{g dl}^{-1}$ ($> 12,7 \text{ } \mu\text{mol l}^{-1}$)-nál nagyobb szelén koncentrációjánál lépnek fel (CORVILAIN et al., 1993; <http://atsdr.cdc.gov>). Az erős mérgezés (szelenózis) tünetei lehetnek: fokhagymaszagú lehelet, gasztrointesztinális rendellenességek, hajhullás, körömkárosodás, kimerültség, ingerlékenység, illetve idegi károsodás. Extrém esetekben a szelenózis cirrózisos májgyulladás, tüdővizenyőhöz, végül halálhoz vezethet.

A szelenitre megadott LD_{50} értékek: $7,08 \text{ mg testsúlykg}^{-1}$ egereknél, $2,25 \text{ mg testsúlykg}^{-1}$ nyulaknál és $7 \text{ mg testsúlykg}^{-1}$ patkányoknál (<http://fscimage.fishersci.com>). Ugyanez a szelenát esetén: $2,25 \text{ mg testsúlykg}^{-1}$ nyulaknál és $1,6 \text{ mg testsúlykg}^{-1}$ patkányoknál (<http://sciencelab.com>).

3.9. A szelén szerepe táplálkozásunkban

A szelénhiányos területeken élő emberek számára a szelénhiányos táplálkozás komoly egészségügyi kockázat (ELLIS és SALT, 2003).

A szelén leginkább a következő élelmiszerekben fordul elő, amelyekből napi szelénszükségletünket fedezhetjük: barnarizs, hántolatlan magvak, búzacsíra, kenyér, gabonafélék, halhús és egyéb tengeri élőlények, szárnyas és egyéb húsfélék. A legjobb szelénforrások a diófélék (pl. a brazil dió). Ezekben az élelmiszerekben a szelén általában szerves és szervetlen formában is előfordul, de inkább a szerves forma jellemző. Ezek közül is főleg a szelén tartalmú aminosavak, a szelenometionin és a szelenocisztein van jelen a gabonafélékben és egyéb magvakban, valamint a

takarmánynövényekben. A szerves komponensek közül leginkább a szelenit és a szelenát fordul elő az élelmiszerekben, de ezek felvehetősége jóval kisebb, mint a szerves formáké. Sokkal kisebb jelentőségű egyéb szelénforrások a víz és a levegő (<http://nal.usda.gov>).

Az Amerikai Egyesült Államok néhány területén (különösen a nyugati részeken, Nebraszkában és Dakotában) kifejezetten magas a talaj szeléntartalma. Az ezeken a területeken élő emberek táplálkozása szelénben nagyon gazdag (LONGNECKER et al., 1991), adott esetben szervezetükbe akár a szükségesnél nagyobb mennyiségű szelén is juthat, amely szintén egészségügyi kockázatot jelent. Napjainkban azonban mégis inkább a szelénpótlást tartják elsődleges problémának, mivel a szelén hiánybetegségei jelenleg több embert érintenek, mint a szeléntoxicitás.

A hiánybetegségek kiküszöbölésére kezdetben szeléntartalmú táplálékkiegészítő tablettákat kezdtek el forgalmazni. Majd a későbbiekben a szelénrel dúsított élelmiszerek (ún. funkcionális élelmiszerek) előállítására irányuló kísérletek indultak meg. Az ilyen élelmiszerek előállítása napjainkban igen intenzíven foglalkoztat számos kutatót. A szelénrel dúsított élelmiszerek az élelmiszeripar legújabb termékei, amelyek szintén hozzájárulnak a megfelelő mennyiségű szelén napi beviteléhez. Ez utóbbi esetben arról van szó, hogy egy adott élő állati vagy növényi rendszerbe a tápanyag vagy takarmány kiegészítéseként visszük be a szelént, majd az ilyen módon a szervezetbe került szelén egy sor metabolizációs folyamaton megy keresztül. Ezzel együtt a szelén különböző, várhatóan szerves vegyületeiben lesz jelen, amelyek nagy valószínűséggel hatékonyabban hasznosulnak szervezetünkben. Ily módon az adott növény vagy állat egyfajta biológiai szűrőként szerepel a szeléntartalmú élelmiszer előállításában.

A kutatók szerint az ideális táplálékkiegészítő egy olyan szelénrel dúsított ehető növény lenne, amelyben a szelén metabolizmusából keletkező, biológiailag felvehető szerves szelénkomponensek lennének jelen. Azt már tudjuk, hogy az olyan növények, amelyek természetesen is nagyobb mennyiségben tartalmazzák, mint pl. a hagyma vagy a káposztafélék, szeléndúsításra alkalmasak. A szelénrel dúsított fokhagyma, pl. ma már jól ismert, forgalomban lévő, rákellenes hatású táplálékkiegészítő (IP és DONALD, 1994).

A szelén a táplálékkiegészítő tablettákban legtöbbször nátrium szelenitként, szelenometionin, vagy magas szeléntartalmú élesztő formájában található meg. Feltételezések szerint a szerves formák, mint a szelenometionin, jobban kötődnek és

hasznosulnak a szervezetben, mint a szervetlen formák. (Tipikus, Magyarországon is forgalmazott szeléntartalmú táplálékkiegészítő: a Selenoprecise és a Bio-Szelénium 50).

Magyarországon humán táplálkozási célból többek között szelénrel dúsított kenyeret, péksüteményeket, margarint, tojást, illetve ún. szelénes szezámpelyhet hoznak forgalomba. Előállításukról nem áll rendelkezésre információ, így a legtöbbször nem ismert, hogy a szelén mely módosulatával dúsítják a terméket, és milyen koncentrációban történik a dúsítás. A metabolikus folyamatokkal létrehozott, szelénben dúsított termékekben is szükséges a szelén egyes formáit vizsgálni, mivel nem tudhatjuk előre, hogy az állati vagy növényi szervezet milyen módon hasznosítja, alakítja át a bejuttatott szelénformát valamely más szeléntartalmú vegyületté.

A speciációs irodalomban számos tanulmány jelent meg egyes állati (csirkehús, tojás), illetve növényi rendszerek (brokkoli, hagyma- és káposztafélék, búza, stb.), valamint más élő szervezetek (gomba, élesztő) szelénrel történő dúsításáról és a dúsítás következtében kialakuló speciesz-összetételről (GERGELY et al., 2004; SHAH et al., 2004; RAYMAN et al., 2005).

3.10. A szelén ipari felhasználása

A szelént ipari felhasználása során elsősorban fotoelektromos cellákban, napelemekben félvezetőkként, fénymérőkben és fénymásoló gépekben alkalmazzák (GEORGE, 2003). Szintén igen fontos felhasználási terület az üvegipar, ahol a szelén az üvegek és porcelánok vörös színű festéke (HOLMES, 1947).

Emellett megtalálható korpásodás elleni samponokban, illetve egyéb kozmetikai szerekben is. Mivel hatása a karotinoidokhoz hasonló, így vegyületei megtalálhatóak, pl. naptejekben.

A szelénnek vannak radioaktív izotópjai is, amelyeket mesterségesen lehet előállítani neutronaktivációval. Ezek közül, pl. a gamma-sugárzó ⁷⁵Se izotópot korábban orvosi diagnosztikai célokra is használták (FAWWAZ, 1971; <http://en.wikipedia.org>).

3.11. Szelénszennyezés

Jelenleg öt olyan elem van, amelyet a legintenzívebb és legveszélyesebb elemi környezeti szennyezőknek tartanak (az amerikai szakirodalom „The Big 5”-ként emlegeti ezeket (ADRIANO, 2001)): a króm, a higany, a kadmium, az ólom és az arzén, de sok esetben, hatodik elemként a szelént is ide sorolják.

A szelén természetesen előforduló nyomelem, így bányászati meddők, mezőgazdasági, petrokémiai és egyéb ipari tevékenységek hulladékai nagy mennyiségben tartalmazhatják. Az említett ipari és mezőgazdasági tevékenységek környezetében a vízi ökológiai rendszerek igen gyorsan elszennyeződhetnek; toxikus mennyiségű szelén szennyezheti a vizeket és a vízi élőlények táplálékát. Ez elsősorban a halakra és a vadon élő állatokra; vízi ragadozókra jelent veszélyt. A szelén vízi ökológiai rendszerekben történő mozgását, a szennyezés útját szemlélteti a 4. ábra. A szelén ökotoxikus hatásának ezen alapelve a világon mindenütt elismert és ezzel együtt a szelénszennyezés napjainkban az egyik fő környezetvédelmi kutatási téma.



4. ábra: Szelénszennyezés a vízi ökológiai rendszerekben. A szelén áramlása: szennyező forrás a halak és a vízi vadvilág táplálékában, bioakkumuláció (LEMLY, 2004)

Mivel a halak nem pusztulnak el hirtelen a nagyobb mennyiségű szelén vízbe kerülésekor, hanem akkumulálják azt (bioakkumuláció), így a víz ökológiai rendszerének szelénrel történő elszennyezése az emberi táplálkozásra is veszélyt jelent, hiszen a halakban dúsuló, toxikus mennyiségű szelén bekerülhet az emberi szervezetbe is.

A fő szelénszennyező források (<http://srs.fs.usda.gov>; LEMLY, 2004):

- Szén, ezüst, arany, nikkel és foszfát bányászat
- Fémolvasztók, galvanizálók
- Kommunális szemétklerakók
- Olajkitermelés, szállítás, finomítás és hasznosítás
- Mezőgazdasági öntözés

Jóllehet a fosszilis tüzelőanyagok sokszor olcsóbbak és látszólag biztonságosabbak, mint a nukleáris energiahordozók, nem feltétlenül környezetkímélőbbek, hiszen a nyers szén és annak égéstermékei számos szennyezést tartalmaznak. Az energiaipar szilárd hulladékai, valamint szennyvizei sokkal szennyezettebb, pl. szelénrel, mint a talaj- és a felszíni vizeink. Bármely más nyomelemet tekintve a szén szelénszennyezése a legmagasabb (WEISS et al., 1971).

Az ezüst-, arany- és nikkelbányászat a szelénszennyezést tekintve is, közvetett negatív hatással van az ipari környezetre. A szelén fontos összetevő eleme az érclelőhelyek ásványi mátrixának, s így, habár más ásványi elemek mennyiségével összehasonlítva a szeléntartalom az ásványokban látszólag kicsinek tűnik (a szelén mennyisége mindössze néhány ppm (mg kg^{-1}) a bányászott elemek %-os arányához képest), ennek ellenére a vízi életteret gyorsan elszennyezi a táplálékláncba való bekerülése, valamint a bioakkumuláció által. Néhány bányászati eljárásban a fémek érceinek fizikai/kémiai extrakciós feltárása során, az érc szeléntartalma is mobilizálódik, és kapcsolatba kerül a vízi életterekkel. A szelén elszennyezi a felszíni vizeket, ezzel együtt, pedig a hal- és vadállományt a bányák közelében (LEMLY, 2004).

Fontos felismerni a szennyező forrásokat, mivel a források, közvetlen környezetüknek elszennyezése mellett, hatással vannak a távolabbi területekre is a légköri szállítás és a párolgás útján. Ezen az úton a szelénszennyezés hasonló jelenségekhez vezethet, mint pl. a savas esők. A gázfázisú szennyezések emissziója révén a vízi ökoszisztémák a leginkább veszélyeztetett területek. Így pl., az intenzíven működő fémolvasztók lehetnek leginkább okozói a savas esők kialakulásának és a szelénszennyezéseknek (LEMLY, 2004).

A kommunális hulladéklerakók szintén komoly szennyezőforrásoknak számítanak, ezt a tényt már régóta felismerték. A szemétklerakók hulladékát sok esetben átmossa a

csapadék, és az ilyen átszivárgó vizekben is jelen lehet szennyező mennyiségű szelén, ha a hulladék anyagok között egyébként is találhatók szeléntartalmúak. A szelén koncentrációja ezekben az átszivárgó vizekben elérheti az $5-50 \mu\text{g l}^{-1}$ értéket. Néhány nevezetes példa található erre az Amerikai Egyesült Államokban, az Egyesült Királyságban, Svédországban, Hong Kong-ban és Japánban. Pl. egyedül csak az Amerikai Egyesült Államokban évenként több, mint 120 millió tonna szállóhamu keletkezik, amely anyag elhelyezésénél újabb szelénszennyező források alakulhatnak ki a hulladéklerakók átázása során.

A szénbányászathoz és a széniparhoz hasonlóan az olajkitermelés és finomítás is szelénterhelést jelent. Az olaj szelénszennyezése hasonlít a természetes szén szennyezéséhez, sőt; a nyersolaj általában sokkal nagyobb mennyiségben tartalmaz geológiai eredetű szelént, mint a bányászott szén.

A mezőgazdasági öntözést arid és szemi-arid (azaz száraz és félszáraz) mezőgazdasági területeken alkalmazzák, a területtől függően általában évente 60-80 cm mennyiségben. Környezetvédelmi szempontból az öntözési technikák is jelenthetnek szennyező forrást. A különféle öntözőrendszerek és technikák közül a földalatti öntözés jelenti a legnagyobb veszélyforrást a szelénterhelés szempontjából a felszíni talajrétegekre nézve. Ha a felszín alatti öntözőrendszer csövei talajvízzel telítődnek, akkor egy sor káros biológiai folyamat játszódhat le. Közvetlen hatás a talajfelszín lepusztulása és ezzel együtt a talajvíz minőségének leromlása sótartalmának megnövekedése, illetve toxikus vagy potenciálisan toxikus elemekkel (pl. szelén, arzén, bór, molibdén, króm, stb.) történő elszennyeződése (LEMLY, 2004, 1996; www.srs.fs.usda.gov).

Magyarországon, a Csepeli Gyártelepen fedeztek fel nemrégiben Se szennyezőforrást. Budapest XXI. kerületében, az egykori Csepel Vas és Fémművek területén az I. világháborút megelőző évektől kezdve folyt ipari tevékenység. A 40-es években bombatámadás érte a területet, ahol később salak feltöltés is történt. Mindezek következtében a terület szennyezetté vált. 1995-ben a 200 hektáros területre rendezési terv készült, és egyenletes hálózatban 33 db talaj/talajvíz feltáró fúrást mélyítettek le. 1997-ben egy amerikai tanulmány megerősítette a korábbi mérések és tanulmányok állításait, miszerint nem lehet pontosan megállapítani, hogy a feltárt szennyezést az említett tényezők melyike okozta. Ilyen előzményeket követően szállított be és helyezett el illegálisan egy Kft. 1200 tonna galvániszapot a Csepeli Gyártelep területén 2004-ben. A hulladék káros anyagai: króm, króm (VI), réz, nikkel, foszfor, ólom, kén, ón, cink,

higany, bór, tömény savak és szelén. A vizsgálatok szerint a talaj felső rétegének szennyezettsége több 100-szorosan meghaladja a környezetvédelmi rendeletben megadott szennyezettségi határértékeket. Jellemző szennyező anyagok: bór, higany, nikkel, cink és a szelén (<http://kvvm.hu>).

3.12. A szelén analitikája - összes szeléntartalom meghatározása

A szelén viszonylag nehezen meghatározható elem, mivel vegyületei hőre érzékenyek. Az olyan elemek meghatározására, amelyek a klasszikus lángfotometriás, illetve atomabszorpciós technikákkal nem, vagy csak nehezen voltak meghatározhatók, speciális módszereket dolgoztak ki (pl. a Hg, Ge, Sb vagy a Se).

A szelén kovalens, gáz halmazállapotú hidridet (Se/SeH_2) képező elem. Kémiai reakcióval, szobahőmérsékleten, gázhalmazállapotba vihető és az oldatporlasztásos módszerrel lényegesen nagyobb hatásfokkal juttatható be az AAS vagy az ICP-OES készülékekbe. Ezzel a módszerrel jelentősen javítható a szelén meghatározása. A hidrideket a savas mintához adagolt nátrium-[tetrahidro-borát(III)] reagenssel állítják elő. Fontos az elem oxidációs állapotának megfelelő beállítása, a savas koncentráció és a reagens-koncentráció optimalizálása. A szelén hidridet a készülékekben atomizálni, illetve ionizálni kell, ami AAS technikánál a 2000-2500°C-os hőmérsékletű levegő-acetilén lánggal fűtött küvettában, illetve az ICP-OES technikánál az argonplazmában történhet (POKOL és SZTATISZ, 1999).

A műszeres analitika folyamatos fejlődésével a későbbiekben számos analitikai módszert dolgoztak ki a szelén környezeti és biológiai mintákból, igen kis koncentrációban ($\mu\text{g kg}^{-1}$, ng kg^{-1}) történő meghatározására. Ilyen módszerek, pl. a fluorometria, spektrofotometria, röntgen-sugár fluoreszcens analízis, neutron aktivációs analízis (NAA) (ez a módszer mintaelőkészítést nem igényel, viszont csak igen rossz reprodukálhatósággal képes mérni), hidrid technika atomfluoreszcens detektálással (HG-AFS), vagy a különböző csatolt technikák, mint pl. HPLC-AAS, GC-AAS és GC-MS, HG-ICP-OES, stb. Az ICP-MS kapcsolt technika megvalósítása és alkalmazása csak az utóbbi tíz-tizenöt évben vált lehetővé (D'ULIVO, 1997). Ez utóbbi igen érzékeny meghatározási módszer, különösen, ha a készülék rendelkezik ütközési vagy reakció cellával, egy a zavaró hatásokat megszüntető egységgel (CCT (Collision Cell Technology) vagy dinamikus reakciócella, DRC (Dynamic Reaction Cell)). Mint

minden méréstechnikának, az ICP-MS rendszernek is megvannak a maga nehézségei. Jelentős zavarást jelentenek, pl. a különböző összetett ionokkal történő átlapolások (Pl. $^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}^+$ és $^{56}\text{Fe}^+$, $^{40}\text{Ar}^{40}\text{Ar}^+$ és $^{80}\text{Se}^+$, $^{37}\text{Cl}^{18}\text{O}^+$ és $^{55}\text{Mn}^+$, stb.), valamint az izobár zavarások. Az ICP-MS készülék ICP-részének (ionforrás) argon-plazmájában ún. poliatomos adduktumok (összetett ionok) jöhetnek létre, amelyek jelenlétükkel lehetőséget teremtenek különböző összetételű, de azonos vagy nagyon hasonló tömeg/töltés (m/z) értékű ionok együttes létezésére, vagyis zavaróhatásként jelentkeznek. Ezen jelenség kiderítésére, illetve megszüntetésére, kvadрупól analizátor használata esetén alkalmazunk ún. ütközési cellát. Az ütközési cella működésének lényege, hogy a tömegspektrométer egyes részeibe ún. reakció és ütközési gázokat (H_2 , He , NH_3 vagy ezek keverékét, általában 7-8% H_2 + 92-93% He) vezetnek, amelyek az egyes poliatomos adduktumokkal ütközve, különböző reakciókon keresztül reagálnak és szétütik azokat (ütközési disszociáció, kémiai reakció, töltésátvitel, ütközés után fellépő visszatartás, energiaszűrés). Kis koncentrációban történő meghatározásukhoz kifejezetten ütközési cellát igénylő elemek: As, Se, Mg, Fe, Sn, K, Ca, V, Cr, Cu, Zn, Ge, S, Si (POKOL és SZTATISZ, 1999; MŰSZERES ANALITIKAI KÉMIA GYAKORLATOK, 1999). Az ütközési cella, azaz CCT az angliai Thermo Corporation cég (ma: Thermo Fisher Scientific, Bréma, Németország) szabadalma és elnevezése. Más cégek, mint pl. az amerikai Perkin Elmer, ugyanezt a cellát dinamikus reakciócellának (DRC) nevezi, amely szintén sajátos szabadalom. Működési elve hasonló az ütközési celláéhoz, de vannak eltérések (az ütközési reakciókat követően a készülék egy tömegszűrést végez, és csak egy szűk tömegtartományt enged tovább az ionszatórnában). Reakció és ütközési gázként a Perkin Elmer készülékekben a H_2 , He és NH_3 mellett CH_4 -t is alkalmaznak.

Ütközési vagy reakció cellát alkalmazva tehát a szelén igen kis koncentrációban ($\text{ppq} = 10^{-9} \text{ mg kg}^{-1}$) is meghatározhatóvá válik (KO és YANG, 1996). A technika további előnye, hogy használatával elhagyható a hidridgenerálási folyamat, vagyis a mérés egyszerűsödik, hiszen nem szükséges a hidridképzéshez használandó oldatok előállítás, a mérés is egyszerűbb és gyorsabb lesz. Az ICP-MS készülék továbbá könnyen csatlakoztatható többféle elválasztástechnikai módszerrel is (kromatográfia: GC, HPLC, LC, IC). Multieleemes detektálás (70-80 elem egyidejű meghatározása), valamint a készülékgyártók szerint 10 nagyságrenden keresztül lineáris tartomány jellemzi (HILL et al., 1993).

A szelén kis koncentrációban történő meghatározásához alkalmazható nagyfelbontású ICP-MS készülék is, amelyet kifejezetten a zavaróhatások eliminálásához fejlesztettek ki. A módszer hátránya azonban, hogy lassabb a kvadrupol készülékekhez képest és a nagy felbontással együtt csökken az érzékenység is.

Az összes Se tartalom meghatározásánál nem csupán a műszeres mérés okozhat problémát, hanem a minta megfelelő előkészítése is. A szilárd halmazállapotú mintáknál gyakran alkalmazott mintaelőkészítési módszer a légköri nyomáson végzett nedves roncsolás. A szelén esetében azonban egy nyitott rendszerben történő magas hőmérsékletű roncsolás során az illékonyságából adódó veszteség számottevő lehet, így adott esetben a mérés is megbízhatatlanná válhat. Különösen igaz ez, ha a vizsgálni kívánt Se csak kis koncentrációban van jelen a mintában. Éppen ezért az utóbbi években kifejlesztettek zárt rendszerű roncsoló technikákat is, melyek előnyei, hogy nem lép fel az illékonyságból származó veszteség, rövidebb a reakcióidő és hatékonyabb roncsolás érhető el az alkalmazható magasabb hőmérséklet által. A vak minták elemtartalma is lecsökken, mivel az eljáráshoz kevesebb mennyiségű reagens is elegendő, valamint a külső forrásokból származó szennyeződések sem terhelik a módszert (VANDECASTEELE és BLOCK, 1997). Ilyen zárt rendszerű mintaelőkészítési eljárás, pl. a mikrohullámú roncsolás (MENA et al., 1999).

A nedves roncsolások alkalmazásánál elsődleges szempont, hogy a mintában lévő szervesanyag tartalmat teljes mértékben elroncsoljuk és a mérendő komponenseket oldatformába hozzuk. Néhány esetben előfordul, hogy pl. a helytelen roncsolás következtében a mintában más formák is lesznek jelen (pl. kevés mennyiségű szerves forma). Ez főleg a hidrid-technikáknál okoz gondot, ugyanis a különböző formák eltérő mértékben képeznek hidridet (a szelén +6 oxidációs állapotú formája, pl. nem képez hidridet). Ilyen esetben a detektálás előtt be kell iktatni egy megelőző redukciós lépést (pl. sósavas, kálium-bromidos vagy kálium-bromátos reagens alkalmazásával (VILANÓ et al., 1998)).

A teljes elemtartalom meghatározásához leggyakrabban nagy oxidáló képességgel rendelkező reagenseket választanak, mint pl. salétromsavat, hidrogén-peroxidot, illetve kénsavat. A feltárást általában nagy hőmérsékleten és zárt rendszerű roncsolás esetén, nagy nyomáson végzik.

3.13. A speciációs analitika foglmai, nevezéktana

Az utóbbi 10-15 évben a „speciáció”, illetve „speciációs analitika” kifejezéseket számos publikációban alkalmazták. A speciáció fogalma vonatkozhat magára az elem különböző vegyérték- és kötésformáira, az elemforma átalakulására, az elemformák eloszlására vagy az elemformák mennyiségének meghatározására. Általánosságban a speciáció kifejezést abban az esetben alkalmazzák, ha fel akarják hívni a figyelmet arra, hogy a módszer több információt szolgáltat az adott elemről, mint más szokásosan alkalmazott technika (pl. elkülönített szerves Hg-vegyületek meghatározása, az összes Hg meghatározásával szemben) (ZÁRAY, 2006).

A IUPAC (International Union for Pure and Applied Chemistry) speciációs analitikai nevezéktanra vonatkozó ajánlása alapján az olyan kémiai komponenseket, amelyek izotópeloszlásukban, szerkezetükben, oxidációs állapotukban, töltésükben vagy komplexeik és kovalensen kötött vegyületeik tulajdonságaiban különböznek, kémiai elemformának vagy az angol kifejezés (species) alapján specieszeknek nevezzük. A speciációs analitika egy adott biológiai rendszerben előforduló elem vagy elemek formáinak (specieszeinek) eloszlását vizsgálja mind minőségi, mind pedig mennyiségi szempontból (TEMPLETON et al., 2000).

Korábban a “kémiai forma” kifejezést egy adott elem specifikus módosulatára alkalmazták, amelyben az adott elem előfordul (egyatomos, molekuláris vagy konfigurációs állapot). Gyakran alkalmazott kifejezés volt egy jól megkülönböztetett atomok csoportjára, amelyek állandó jelleggel fordulnak elő különböző komponensekben, illetve mátrixokban (NIEBOER, 1992). A speciáció azonban egyre tágabb értelmezést kapott, miszerint a vizsgált elem kémiai, fizikai vagy morfológiai jegyek alapján azonosítható formában van jelen az adott mátrixban (NIEBOER és THOMASSEN, 1995).

Manapság a specieszek következő csoportjait különböztetjük meg:

- vegyérték formák, mint pl. az As(III)/As(V), Cr(III)/Cr(VI), Se(IV)/Se(VI)
- szervesetlen vegyületek és komplexek, mint pl. a NiSO₄/NiCl₂ és az alumínium-hidroxó komplexek
- az alkilezett formák, mint pl. a metil-higany, ólom-etil
- nagy molekulatömegű vegyületek, mint pl. a metalloproteinek.

A magyar szaknyelvben sokszor gondot okoz az angolból átvett szakkifejezések magyar nyelvbe való helyes átültetése. Az elválasztástechnikában még mindig nincsen kialakult, egységesen elfogadott nevezéktan, az ezekkel a problémákkal foglalkozó bizottságok hivatalos álláspontjának hiányában egyénileg döntenek el a szakemberek, hogy ki melyik kifejezést/kifejezéseket részesíti előnyben. Egyesek kifejezetten a „módosulatanalitikát”, valamint a módosulat kifejezést alkalmazzák, bár a módosulat szó is sokszor képezi vita tárgyát, hiszen korábban csupán molekuláris állapotra, szerkezeti struktúrákra utalt, mára azonban kibővült a szó jelentése. A módosulat mellett, az angol szóból származó „speciesz” és ezzel kapcsolatban a „speciáció, speciációs analitika” is gyakran használt fogalmak. Emellett alkalmazzák még a „kémiai formát”, „elemformát” és a „komponenseket” is. Dolgozatomban igyekeztem egyenlő arányban és következetesen alkalmazni ezeket a kifejezéseket.

3.14. A szelén speciációs analitikája

A különböző szelénformák meghatározásának fontosságát az indokolja, hogy a szelén eltérő oxidációs állapotaiban, szervetlen vagy szerves vegyületeiben különbözőképpen hathat az élő szervezetekre, illetve a különböző specieszeket eltérő mértékben képes felvenni és akkumulálni a növényi és állati szervezet. Valamint jelentős a szelén bioakkumulációs sajátosságának és a szelénrel szennyezett talajok, üledékek toxikusságának vizsgálata szempontjából is. A szelénnek számos módosulata létezik, hiszen négy különféle oxidációs állapotban, valamint számos szerves vegyületben lehet jelen. Minden módosulata hasznos lehet, pl. szelénhiányos táplálkozás esetén, hiszen létfontosságú enzimek alkotórésze. A kielégítő szintet elérő szelén mennyiségtől kezdődően viszont jelentős különbség mutatkozik az egyes szelénformák között. A legfőbb eltéréseket a szelén rákellenes hatásával kapcsolatban mutatták ki. Jelenlegi ismereteink alapján úgy tűnik, hogy a szelén-metilszelenocisztein és a γ -glutamil-Se-metilszelenocisztein szignifikánsan hatékonyabb rákellenes vegyületeknek bizonyultak bármely más szelénformához képest (WHANGER et al., 2000; BLOCK et al., 2001). A szelenometionin szelén pótlásra alkalmas, de a szervezetbe jutva a fehérjék körforgásának ciklusába kerül, amely közben feldúsulhat a szövetekben. Ez pedig kedvezőtlen folyamat.

A szerves Se(IV) sókat tartalmazó készítmények esetén, a szelenit nem dúsul a szövetekben, azonban felvételénél reaktív oxigénradikálokat tartalmazó molekulák keletkezhetnek, melyek a szelenitet a többi formához képest toxikusabbá teszik (KOBAYASHI et al., 2001). A szelenát felvétele nem vált ki hasonló negatív hatásokat, azonban biológiai felvehetősége csupán 25%-os a Se(IV)-hez képest és egy része változatlan formában azonnal kiürül a szervezetből (GÓMEZ-ARIZA et al., 1998, KOBAYASHI et al., 2001). Az említett szelénformák a leggyakrabban vizsgált szelénvegyületek, amelyek alkalmazhatók legegyszerűbben szelénrel dúsított élelmiszerek vagy szeléntartalmú táplálékkiegészítők előállítására. Ezek a formák alkalmasak leginkább szelénhiány kezelésére; ezek a legelterjedtebb és legegyszerűbb szelénvegyületek.

A leírt élettani hatásokat figyelembe véve tehát látható, mennyire fontos, hogy ne csupán az összes szelén-tartalom meghatározása legyen a cél a különféle minták (talaj, növény, vagy élelmiszer) vizsgálatánál, hanem fontos, hogy a szelén egyes formáinak mennyiségét is meghatározzuk a mintákban. Az ilyen – a specieszekre is kiterjedő – vizsgálatok segítségével tárhatjuk fel igazán az optimális szelénbevitel lehetőségeit. Ehhez fontos a gyakran fogyasztott szeléntartalmú (dúsított) élelmiszerekben a szelénformák azonosítása és vizsgálata, valamint az élettani kutatások folytatása.

Valójában még mindig nem tudjuk, hogy pl. a műtrágyázás hatásaként a különféle növények hogyan képesek hasznosítani és továbbadni a számunkra nélkülözhetetlen szelént annak hasznos formáiban. Ugyanakkor a táplálékkiegészítők többnyire csak szerves szelén sókat tartalmaznak (sok esetben még akkor is, ha a készítményen az áll, hogy a szelént szerves/kötött formában tartalmazza), amelyek felvehetősége kisebb a szerves formákhoz képest, és a szervezetben kifejtett hatásuk is más és más lehet. Jó példa erre egy kísérletsorozat, amelyet patkányokon és sertéseken hajtottak végre. A témával foglalkozó szakirodalom szerint a patkányok esetében, a szelénrel dúsított élesztő fehérjében kötött SeMet tartalma jóval kevésbé terheli a szervezetet és sokkal nagyobb hatásfokkal szívódik fel a szerves Se-sókhöz, vagy magához az önmagában adagolt SeMet-hoz képest, míg a sertések esetén részben ellentétes eredményhez jutottak a kísérletek során (MAHAN és PARRETT, 1997). Fontos kiemelni, hogy ezeket a vizsgálatokat emlősökön végezték, ugyanis a SeMet halak és madarak esetén egyértelműen toxikusabb hatású a szerves Se-sókhöz képest (FAN et al., 2002).

A standard szelénvegyületeket felhasználva, az már nagyjából tisztázott, hogy az egyes szelénformák felszívódásuk után milyen szerepet töltenek be a szervezet

folyamataiban. Ha viszont az egyes szelénformák nem önmagukban, hanem különféle összetett rendszerekben, azaz valódi mátrixszal együtt jutnak be a szervezetbe (pl. élelmiszer mátrix, vagy a táplálékkiegészítők egyéb összetevő sói), akkor már nem tudjuk nyomon követni, hogy az emésztés során milyen folyamatok játszódnak le pontosan; az egyes szelénformák mely folyamatokban hogyan viselkednek, mivé alakulnak át. A szervezet egyes részeiben (vérben, vizeletben, gyomorban, stb.) jelen lévő szelénformákat ugyan meg tudjuk határozni, de az egész emésztési rendszer olyan összetett folyamat, amely miatt mai napig nem magyarázhatók a kísérletekből adódó látszólagos ellentmondások. Erre az igen lényeges kérdésre magyarázat lehet az eltérő kísérleti paraméterek megléte, hiszen a kísérletek pontosan sosem ugyanolyan körülmények között folynak (pl. kísérletben részt vevő személyek/egyedek szervezetének eltérősége, egyedi tulajdonságai, az adott vizsgálatban szereplő élelmiszerek, táplálékkiegészítők egyéb összetevői, stb.) (FAIRWEATHER-TAIT, 1999). Éppen ezért is az egyik fő feladat a szelén meghatározásánál a valódi mátrixtartalmú minták vizsgálatának tisztázása, kidolgozása, a szelénformák egzakt meghatározása a mátrixok figyelembevételével (DERNOVICS, 2003).

3.15. Mintaelőkészítés: szelénformák meghatározása vizes kivonatból talaj és növényminták esetén

Talaj és növényminták speciációs vizsgálatánál különféle kivonatokat készítenek a mintákból. Többféle kivonat létezik: vannak alkalikus (SÉBY et al., 1997) és savas kivonószerek (WROBEL et al., 2004; MONTES-BAYÓN et al., 2006; KÁPOLNA et al., 2007), valamint enzimatis (GILON et al. 1995; MICHALKE, 2003; UDEN et al., 2004), szerves oldószeres (GÓMEZ-ARIZA et al., 2002), továbbá foszforsavas és foszfátos (MARTENS és SUAREZ, 1999) oldatokat is alkalmaznak a komponensek kinyeréséhez.

Az egyik legegyszerűbb és leggyakrabban alkalmazott eljárás az 1:10 arányú vizes kivonat készítése (MSZ 21470-50:1998, 2006; VASSILEVA et al., 2001, OCHSENKÜHN-PETROPOULOU et al., 2003). Ezt az eljárást a legtöbb esetben alkalmazzák; a talajkivonatok készítésére és a talajból a növények számára felvehető elemtartalom vizsgálatára vonatkozó Magyar Szabvány is az 1:10 arányú vizes kivonat készítését írja elő. Emellett számos szakirodalomban megtalálható, hogy a más

kivonószerekkel készített talajkivonatok mellett is szinte minden esetben vizsgálják a vizes kivonatok is. Ugyanez vonatkozik a növényekből készített extraktumokra is.

A kivonat készítéséhez általában 1 vagy 5 g-nyi anyagot mérnek be, és ehhez adnak 10 vagy 50 ml nagy tisztaságú ioncserélt vizet, majd különböző ideig rázatják a mintákat. (A Magyar Szabvány 24 óra rázatási időt ír elő). Egyes irodalmakban forró vizes kivonatokat használnak (OCHSENKÜHN-PETROPOULOU et al., 2003). Ilyen módszerek esetében a szerves formák nem nyerhetők ki külön-külön, hiszen a szelenit és a szelenát fokozottan érzékeny a hőmérsékletváltozásra. Ennek következtében a szelenit magasabb hőmérsékleten szelenáttá oxidálódhat, amiből csak az összes szerves szeléntartalomra lehet következtetni (ZHANG és MOORE, 1997).

A nemzetközi irodalmakban a vizes kivonat hatékonyságát igen kicsire becsülik; mindössze nagyjából 10% körülire, mivel ezzel a módszerrel leginkább csak a nem fehérjékhez kötött Se formák oldódnak ki a növényekből, illetve a talajból (CASIOT et al., 1999; YIQIANG és FRANKENBERGER, 2001). ICP-MS technikával azonban a kivonat kis koncentrációjú szelénformái is jól mérhetők. A megkötődés modellezésére használt adszorpciós izotermákból, valamint az összes Se koncentrációból pedig vissza lehet következtetni az eredetileg megkötött szelén mennyiségére, illetve a kivonószerek hatékonyságára.

Hatékonyabb, illetve rövidebb idejű mintaelőkészítési módszert jelent az ultrahangos rázatással történő extrakció, amelyről az 1990-es évek elején jelent meg első ízben tanulmány (PÉREZ-CID et al., 1998). A vizsgálatok során azt tapasztalták, hogy az addig alkalmazott szabványos rázatásos technikához szükséges idő jelentősen lerövidíthető ultrahangos rázatást alkalmazva. Szelénformák növényekből ultrahangos fürdő segítségével történő kivonására irányuló kísérleteket MONTES-BAYÓN (2006) et al. írtak le nemrégiben. A vizsgálatok során arra a megállapításra jutottak, hogy ultrahangos fürdő alkalmazásával lehetőség nyílik a hosszadalmas speciációs analitikai mintaelőkészítés időtartamának jelentős csökkentésére. A módszer egyébként alkalmas összes szelén meghatározásához is, ha a mintákhoz az előkészítés során erős oxidáló szereket adunk (cc. HNO_3 , illetve H_2O_2), és a rázatást magas hőmérsékleten végezzük.

3.16. Szelénformák meghatározása IC-ICP-MS rendszerrel

Mint korábban már láthatóvá vált, az ICP-MS módszer az egyik legalkalmasabb technika a szelén kis koncentrációban történő érzékeny és precíz, egyszerű meghatározására. Ugyanakkor a módszer könnyen csatlakoztatható más mintabeviteli, illetve elválasztástechnikai eljárásokkal, ami lehetőséget ad nem csak az összes szeléntartalom kis koncentrációban történő meghatározására, hanem az elválasztás által meghatározhatóvá válnak a különböző szelénformák is. Az egyik leggyakrabban alkalmazott csatolás a HPLC-ICP-MS (nagy hatékonyságú folyadékkromatográfia induktív csatolású plazma tömegspektrometria) rendszer. Ennek több típusa is van, pl. méretkiszorításos kromatográfia, fordított fázisú kromatográfia, fordított fázisú ionpár kromatográfia, vagy az ioncserés kromatográfia, amely utóbbi az egyik leggyakrabban alkalmazott és legegyszerűbb elválasztástechnikai módszer. IC-ICP-MS (ioncserés kromatográfia induktív csatolású plazma tömegspektrometria, (ion-exchange chromatography inductively coupled plasma mass spectrometry)) csatolással a következő kimutatási határok nyerhetők a különböző szelén komponensekre: szelenit és szelenát 100 pg, szelenometionin esetén pedig még alacsonyabb kimutatási határok érhetők el: <100 pg (THOMPSON és HOUK, 1986; QUIJANO et al., 1996; OLIVAS et al., 1996; GONZÁLEZ-LAFUENTE et al., 1996).

Az ioncserés kromatográfia a töltéssel rendelkező komponensek (anionok vagy kationok) és a pozitívan vagy negatívan töltött funkciós csoporttal rendelkező álló fázis közötti kölcsönhatáson alapszik. A kationcserés kromatográfia esetén a vizsgált komponensek pozitívan töltöttek és az oszlopon lévő negatívan töltött kötőhelyekkel lépnek reakcióba. Az anioncserés kromatográfia esetében pedig éppen ellentétes folyamat játszódik le, tehát a negatívan töltött komponensek lépnek kölcsönhatásba az oszlop pozitívan töltött kötőhelyeivel. Mindkét mechanizmus nagymértékben függ attól, hogy milyen az eluens pH-ja, hiszen az befolyásolja a komponensek disszociációját.

Az ioncserés kromatográfiában az állófázisok lehetnek szilikagél alapúak, ezen belül, pedig szerves polimerrel fedettek, illetve módosított szilikagélek. A szilikagél alapú állófázisok mellett előfordulnak szerves polimer alapú állófázisok is. Az ezek felületére kötött ionos funkciós csoportok anioncserés oszlopok esetében kvaterner aminokat, valamint elsődleges amino csoportokat tartalmaznak felületükön (SUTTON és CARUSO, 1999). Eluensként leggyakrabban vizes-sós puffereket alkalmaznak (mint pl. a ftálsav-TRIS tartalmú pufferek).

Elnyújtott, csak hosszú idő alatt leérkező csúcsok esetén sok esetben gradiens elúció használható. Ez azt jelenti, hogy a kromatográfiás futtatás során az ionerősséget változtatják, illetve folyamatosan módosítják a puffer pH-ját, így a későn eluálódó komponensek retenciós idejét lecsökkentik.

Az IC-ICP-MS módszert nagyon gyakran alkalmazzák speciációs analitikai vizsgálatokhoz. Több nemzetközi irodalomban is leírtak a szerzők ilyen vizsgálatokat, szelénformák meghatározására, elsősorban növényi, de környezeti (talaj, üledék, különféle vizek (akár tengervíz is)) és biológiai mintákra egyaránt (BEHNE et al., 1998; KOTREBAI et al., 2000; LINDEMANN et al. 2000; MCSHEEHY et al., 2000; VASSILEVA et al., 2001; MONTES-BAYÓN et al., 2002a, 2002b; OCHSENKÜHN-PETROPOULOU et al.; 2003).

3.17. A szelén megkötődése a talajban

Ahogy már többször is láthattuk; a szelén esszenciális vagy toxikus tulajdonsága a talajban, a vizekben és az élelmiszerekben, nem csak koncentrációjától, hanem attól is függ, milyen formában van jelen. Hiszen a különböző szelénformák közvetlenül hatással vannak az adszorpciós folyamatokra, valamint a biológiai felvehetőségre is (MIKKELSEN et al., 1989).

WANG és munkatársai (1995) egy Finnországban folytatott szelénnel kiegészített trágyázási kísérletet vizsgáltak, összefüggésben a kísérlet idejével, a kijuttatott szelénformákkal, a kijuttatott dózisok nagyságával, valamint a szelén bioakkumulációjával és szedimentációjával a környező vízi ökológiai rendszerekben. Vizsgálataik során azt tapasztalták, hogy a múlt században az 1990-es évekig a vízi üledékekben jelentősen megnőtt a szelén koncentrációja valószínűleg az erőteljes mezőgazdasági tevékenység valamint a légköri szennyezés következtében.

DÍAZ és munkatársai (1996) az ivóvizek, öntözővizek és a szennyvizek szeléntartalmát vizsgálták egy spanyol ipari terület körzetének 62 pontján. Kutatásaik szerint a vizekben alacsony volt a szelén koncentrációja, ami az ottani talajok eredetileg is alacsony szelénkoncentrációjára utal.

Mégis világszerte inkább a szelénhiány jelentőségével foglalkoznak. Egyes tanulmányok szerint azonban lehetséges, hogy a szelénhiányos táplálkozás veszélye csak a szigorú vegetáriánusoknál fordulhat elő, akik szelénhiányos talajon termesztett

növényeket fogyasztanak, és az állati eredetű élelmiszereket mellőzik táplálkozásukban (MCLAUGHLIN et al., 1999). Általában ugyanis a talajokban mind a megkötött, mind a felvehető szelén mennyisége geológiai eredetből kifolyólag alacsony, vagyis eredendően a világ sok területén csupán kis mennyiségű szelén található csak a talajokban.

WANG és GAO (2001) munkájuk során arra a következtetésre jutottak, hogy a szelén biológiai felvehetősége főként a talaj szervesanyag-tartalmától függ, valamint hogy a szelén mennyisége a talajban nagymértékben függ a kimosódási és hidrológiai transzportfolyamatoktól. Az alacsony Se-tartalmú talajok szintén alacsony szelén-tartalmú alapkőzetből származnak, így a növények és a talaj között igen kis mennyiségű szelén áramlik csak át, azaz kevés lesz a növények által felvehető szelén mennyisége. A szelén esszenciális voltát a magasabb rendű növények számára mindeztáig nem bizonyították, azonban tény, hogy könnyen felveszik és asszimilálják a kénhez való kémiai hasonlósága miatt (LÄUCHLI, 1993). Továbbá azt is megállapították, hogy a növények szeléntartalma gyakran csak kis mértékben korrelál a talaj összes szelén tartalmával, számottevőbb a szelén komplexkémiai viselkedése az adott talajon, vagyis a komplexekben kötött szelén mennyisége a meghatározó tényező a szelén felvételénél (MCLAUGHLIN et al., 1999).

A talajban előforduló, egyéb oxidok minőségét és mennyiségét is ismernünk kell, amelyekhez a szelén nagymértékben kötődhet. Néhány szerző leírja, hogy a talajban lévő vasoxidok és hidroxidok, valamint a szerves szén és humusztartalom mennyisége is befolyásolja a szelén megkötődését (GEERING et al., 1968; DHILLON és DHILLON, 1999; WANG és CHEN, 2003).

További igen meghatározó tényező a pH. A szelenit savas talajokon igen nagymértékben kötődik, míg semleges és lúgos talajokon az adszorpció gyenge; nagy az esélye a kimosódásnak (NEAL et al., 1987a). A szelenit (SeO_3^{2-}) tehát igen erősen adszorbeálódik a talajban, biológiai felvehetősége kicsi, a növények számára nem elérhető. Ezzel szemben a szelenát (SeO_4^{2-}) sokkal mozgékonyabb forma; a talajban csak gyengén kötődik, így nagyobb a felvehetősége és a kimosódás veszélye is fennáll (NEAL et al., 1987a, 1987b, NEAL és SPOSITO, 1989). A szelenát egyike a legmobilisabb szelénformáknak, ez a tulajdonsága a komponens nagy oldékonyságán és a talaj szemcséin való gyenge adszorpcióján alapszik (ZAYED et al., 1998).

HAMDY és GISSEL-NIELSEN (1997) azt találták, hogy az 1:1 agyagásványok (kaolinit) jóval nagyobb megkötési kapacitással rendelkeznek a szelenitre nézve, mint a 2:1 agyagásványok (vermikulit és montmorillonit).

A szelén koncentrációja és kémiai formája, előfordulása a talajban, illetve a talajvizekben és kapillárisvízben, tehát nagymértékben függ számos kémiai és fizikai paramétertől, mint pl. a pH-tól, kémiai és ásványi összetevőktől, az adszorbeáló felülettől és az oxidációs-redukációs állapottól (DHILLON és DHILLON, 1999).

Az egyes kémiai elemek adszorpciója a talajban modellezhető különféle megkötődési izotermákkal, mint pl. a Langmuir-, vagy a Freundlich-féle adszorpció izotermák. A vizsgálatokat, illetve az izotermák felvételét a talaj különböző mélységű rétegeiben szokták elvégezni, hogy az adott elem megkötődését leírják. A kísérlethez a talajminták 1 g-ját mérik be, majd ehhez adják a vizsgálandó elem vagy ioncserélt vízzel, vagy különböző ionkoncentrációjú extraháló szerekkel (KCl, KH_2PO_4) készített, ismert koncentrációjú oldatát, 1:10, 1:25 vagy 1:50 arányban, hogy a növények számára felvehető szelénmennyiséget kapják meg a kivonatokban. Ezt követően a mintákat adott ideig rázatják (legtöbb esetben ez az idő megközelítőleg 2 óra). Végül a mintákat szűrik, és a szűrletekből meghatározzák az adszorbeálódott elem mennyiségét.

Az adszorpció izotermák megadják az egyensúlyi oldat (C_e [mg l^{-1}]) és az adszorbensen megkötődött anyag mennyisége közötti függvénykapcsolatot. A mért egyensúlyi és az ismert kiindulási oldatkoncentrációk ismeretében számítható az adszorbensen megkötött elem (jelen esetben a Se, ill. szelénformák) mennyisége (q_e [mg g^{-1}]).

Az adszorpció izotermákat leggyakrabban Langmuir-izotermával jellemzik, amely segítségével megadható a talaj adszorpció kapacitása, és a görbék lefutásából esetenként lehet következtetni különböző típusú adszorpció helyek együttes jelenlétére. Az adszorpció jellemzésére és a benne szereplő paraméterek meghatározására a Langmuir-izoterma következő alakja használható:

$$1/q_e = 1/Q + k_L/(Q \times C_e),$$

ahol, q_e az egyensúlyban a talaj által adszorbeált elem mennyisége mg g^{-1} mértékegységben, a Q a talaj adszorpciós kapacitása mg g^{-1} -ban, a k_L az egyenlet mg l^{-1} dimenziójú konstansa, a C_e pedig az egyensúlyi oldat koncentrációja mg l^{-1} -ben. Az izotermák linearizálhatók (PROKISCH, 1997).

A Freundlich-féle adszorpciós izoterma esetén a következőképpen alakul a számítás:

$$S = K \times C_e^{1/n},$$

ahol, S az adszorbeált S_e mennyisége ($\mu\text{g g}^{-1}$), K a kötési energiához tartozó konstans ($\mu\text{l mg}^{-1}$), C_e a szelén végső egyensúlyi koncentrációja ($\mu\text{g ml}^{-1}$), $1/n$ pedig a koncentráció gradienst reprezentálja (DHILLON és DHILLON, 1999).

3.18. A nagyhörcsöki szabadföldi kísérlet bemutatása

A környezetterheléssel és a nagydózisú mikroelemes trágyázással kapcsolatos kísérletek napjainkban még nemzetközileg sem igazán elterjedtek. Az ilyen típusú kísérleteket legtöbbször csíranövényeken végzik tápoldatos kultúrákban, illetve tenyészedényekben. Ezek azonban inkább csak élettani-toxikológiai tesztek, amelyek a világ bármely pontján elvégezhetőek, s mindenütt hasonló és reprodukálható eredményt adnak. Ez a fajta tenyészedényes kísérlet vagy tápoldatos közeg azonban nem természetes a növények számára, mivel az adott elemek tényleges felvétele a termőhelyi viszonyoktól (talajtulajdonságok, az adott területen folytatott gazdálkodás, éghajlat, egyéb tényezők) függ, azaz lokális jelleggel bír. A világ különböző területein ugyanis eltérő, pl. a hőmérséklet, a csapadék mennyisége, a napsütéses órák száma, a talajok és a növények összetétele, a vizek minősége, vagyis eltér a földtani, hidrológiai, éghajlati és az agronómiai-gazdálkodási környezet.

A környezetvédelem szempontjából olyan terhelési és toxicitási határkoncentrációkat szükséges megállapítani, amelyek biztonságos útmutatást adhatnak a gazdálkodásban, szaktanácsadásban, és a környezetvédelmi előírásokat is jól teljesítik. A határkoncentrációkkal kapcsolatos vizsgálatokban a természetes körülmények között folytatott szabadföldi kísérletek elhagyhatatlanok. A kísérletek csak tartamjelleggel folytathatók, így nagy körültekintéssel kell megtervezni, beállítani és véghezvinni azokat.

A Prof. Dr. Kádár Imre (MTA TAKI) által megtervezett nagyhörcsöki nehézfémterheléses szabadföldi kísérlet arra irányult, hogy egy esetleges lokális, ipari

szennyezés esetén a területre kijutott nagy dózisú toxikus elemek környezetre (a talajéletre és a növényekre) gyakorolt hatását vizsgálni tudják, valamint hogy megállapítsák, hogyan lehetne egy ilyen jellegű szennyezést adott talajviszonyok között orvosolni.

A nagyhőrcsöki kísérletet hazánkban az egyik legjellemzőbb termő talajtípusunkon tervezték meg (mészlepedékes csernozjom), a beállításnál a területre különböző dózisokban juttattak ki nehézfém-, illetve arzén- és szelénsókat.

A kísérlet szelénterheléses részében a szelént eltérő mennyiségekben juttatták ki a kísérleti parcellákra, nátrium-szelenit (Se(IV) , Na_2SeO_3), szervetlen só formájában, és vizsgálták a különböző dózisoknak a szántóföldi növényekre, valamint a talajéletre gyakorolt hatását.

A kísérlet során azt tapasztalták, hogy az elemek, így a szelén felvételének sajátosságai, dúsulásának mértéke vagy nagyságrendje is, talajra/termőhelyre specifikus. Hasonló arányok adódtak ugyanis az 1991 évi kukorica, 1992 évi sárgarépa, 1993 évi burgonya és 1994 évi borsó levelében az egyes elemek, így a szelén viselkedését illetően is. A nagy dózisú szelénkezelések az első négy évben minden növényre erősen fitotoxikus és depresszív hatással voltak, minden növény esetében lassabb kelést, növekedést és érést tapasztaltak, a lombozat minden esetben teljesen elsárgult és elpusztult a tenyészidőszak végére. A termés csökkenés és a lombozat elhalása tehát általános volt. A növények öregedése felgyorsult és ezzel együtt aratásra jóval nagyobb lett a zöldtömeg szárazanyagtartalma. A szelén volt az egyik olyan mikroelem a vizsgáltak közül, amely a legnagyobb fajlagos termés csökkenést okozta. A kukoricakísérletben, pl. a szemtermés emberi fogyasztásra, a kukoricaszár pedig takarmányozásra alkalmatlanná vált a nagy dózisú Se trágyázás következtében. Ugyanez mondható el a sárgarépa gyökértermésénél is, amely esetében a Se dúsulása eléri az ezerszeres értéket is. A zöldborsó esetében a nagyobb dózisú terheléseknél már értékelhető szemtermés sem alakult ki.

A növények analitikai vizsgálata továbbá azt is kimutatta, hogy a növények a szelént szinte korlátlan mennyiségben képesek felvenni és dúsítani (hiperakkumuláció). Vagyis a szelén esetében a növényben hiányzik az a genetikai szűrő, amely a toxikus mennyiségű mikroelem felvételét megakadályozná. Az eredetileg igen toxikusnak hitt nehézfémek (mint pl. a Cd vagy az Pb) esetében ez a genetikai gátlás létezik, így a várakozásokkal ellentétben ez utóbbi elemek kevésbé voltak fitotoxikus hatásúak a kísérlet tanúsága szerint, mint a Se. Ugyanezzel magyarázható az is, hogy a

szeléndúsulás nem csupán a növények gyökerében történik meg, mint ahogy azt a nehézfémek esetében tapasztalták, hanem a növények hajtásai is nagy mennyiségben tartalmazzák a szelént. Vagyis a Se mennyisége lényegesen nem tér el a föld feletti és a földalatti szervekben.

Ennek ellenére a vizsgálatok és az eredményekből adódó számítások alapján a nagydózisú kezelés esetén a növényi felvétel elenyésző a kezelés mértékéhez képest. Vagyis a talaj növényekkel történő megtisztítása ekkora mértékű szennyezés esetén több ezer évet venne igénybe, ami nyilvánvalóan nem megoldás. Azt láthatjuk tehát, hogy a talaj ilyen mértékű szennyezése az adott talaj minőségét hosszú távon befolyásolja; ilyen módon minden valószínűség szerint megfordíthatatlan folyamat.

A gyomokkal kapcsolatos megfigyelések kimutatták, hogy a nagydózisú Se kezelés minden esetben igen jó gyomirtó hatással bír, hiszen minden esetben a gyomok részleges vagy teljes pusztulását okozta (mind az egyed, mind pedig a fajtaszám csökkent a kezelt területeken). Ezzel összefüggésben van a Se csírázásgátló, csíraölő hatása is.

A kísérletben azt is vizsgálták, hogy a nagydózisú Se felvétele milyen hatással van az egyéb makro- és mikroelemek felvételére; milyen antagonista és szinergista hatások léphetnek fel. A vizsgálatok azt eredményezték, hogy a nagymennyiségű Se felvételével egy időben jó néhány létfontosságú tápelem felvétele háttérbe szorul (pl. K, $\text{NO}_3\text{-N}$, Sr, Mn, Ba és az alkáli földfémek), ugyanakkor más elemek felvétele fokozódik, pl. a Ca-é, amelynek hatására a növény kiszáradt és elöregedett. A burgonyakísérletben azt tapasztalták, hogy a burgonyanövényben a virágzás végére jelentősen megnőtt a Fe és az Al mennyisége, amelyek közül az Al toxikus elem. A zöldborsó kísérletben többek között a B mennyisége drasztikusan csökkent, ami a kísérlet meszes talaján fellépő egyaránt igen mozgékony borát és szelenát ionantagonizmusának jelenségére utal. Összességében tehát megállapítható, hogy a Se-mérgezés a legtöbb vizsgált esszenciális tápelem felvételét kifejezetten gátolhatja, míg a toxikusabb elemek felvételét elősegítheti. Ezzel együtt jelentős hatással lehet a talaj tápelemszolgáltató képességére. A nagydózisú Se kezelés tehát komoly anyagcserezavarokhoz vezetett a növényekben, s végeredményben ez okozta a fitotoxikus hatást is.

A sárgarépakísérletben a kezeléseknél a répatest karotinoid-tartalmára gyakorolt hatását is megvizsgálták. A karotinoidok az utóbbi időkben a kutatások középpontjába kerültek, mivel nemrégiben kimutatták, hogy nemcsak az A-vitamin képződésében van szerepük, hanem antioxidáns hatással is rendelkeznek. A béta-karotin szimmetrikus

felépítésű, így optikailag inaktív, ezzel együtt széthasadva két A-vitamint képez. Az alfa-karotin optikailag aktív, mivel aszimmetrikus szerkezetű, de így bomlásakor csak egy A-vitamin keletkezik, vagyis az alfa-karotin A-vitaminban szegényebb (INSTITUTE OF MEDICINE, 2001). A szelén a 270 kg ha⁻¹-os terhelésig növelte a répa béta-karotin tartalmát, majd a legnagyobb dózis esetében igazolhatóan és jelentősen nőtt az alfa-karotin mennyisége (vagyis úgy tűnik, hogy a béta-karotin átalakult alfa-karotinná). Ezzel viszont csökkent a répa A-vitamin tartalma, hiszen az alfa-karotin fele annyi A-vitamint tartalmaz. A kezelés tehát nemcsak a mikroelemekre és az ásványi tényezőkre hatott, hanem a szerves asszimiláták változására, azaz a termék egyéb minőségi paramétereire is hatással volt.

Végül olyan vizsgálatokat is végeztek, amelyekben a kezelések nitrogénkötő, gyökérszimbionta organizmusokra gyakorolt hatását figyelték meg. Egyértelműen bebizonyosodott, hogy a nagyobb terhelési szinteken a Se nemcsak a növényekre volt pusztító hatású, hanem a Rhizobium baktériumokra is. Ez arra utal, hogy hasonló mértékű szennyezés esetén a Se a talajt sterilizálhatja, vagyis veszélybe kerülhet a légkörből történő N-megkötés. A vizsgálatok alapján 100 kg ha⁻¹ az a terhelési szint, amely felső határértéknek tekinthető. E fölötti a magasabbrendű pillangós növények és a talajlakó N-kötő mikroorganizmusok is károsodhatnak.

A szelénterhelés nyomán a gyökerek mikorrhizás kolonizációja is veszélyeztetett. A Se-el kezelt talajon termett növények gyökereinek egy részében mikorrhizáltság már nem fordult elő. A talajszennyezés részleges vagy teljes sterilitást okozva tehát ilyen módon is a talaj termékenységének jelentős csökkenését okozhatja.

Összességében 4 év vizsgálatai során megállapították, hogy a Se növekvő terhelése minden évben és minden növénynél pusztító hatásúnak bizonyult, valamint, hogy ezen elem mozgékonysága és toxicitása a meszes cserjőznom talajon évek teltével nem csökkent, sőt, inkább fokozódott (KÁDÁR, 1995, 1998, KÁDÁR és NÉMETH, 2005). Később; 10 év elteltével a növényekre gyakorolt toxikus hatás csökkent. Erre a jelenségre lehetséges magyarázat a kimosódás, amellyel a felső szántott rétegben a szelén mennyisége, s ezzel együtt a növényekre gyakorolt fitotoxikus hatása is csökkent.

Továbbá azt is megállapították, hogy a kísérletre teljes szelén anyagmérleg nem számolható, mivel a kijuttatott szelenit egy része H₂Se gáz formájában távozik a talajból.

3.19. Talajok szennyezésének megszüntetése fitoremediációs technikával, különös tekintettel a szelénszennyezésekre

Nehézfémekkel szennyezett területek remediációja általában költségesen kivitelezhető hagyományos, fizikai és kémiai technológiákkal, hiszen a nehézfémek nem bonthatóak legfeljebb a stabilizáció, kémiai extrakció, talajmosás, adszorpció, fizikai-kémiai szeparáció stb. révén lehet ezeket immobilizálni, vagy eltávolítani a szennyezett közegből (TAMÁS, 2002). Emellett a hagyományos technológiák sok esetben maradandó változásokat okoznak a talajban mind fizikai, mind biológiai értelemben. Nem utolsó szempont az sem, hogy a hagyományos eljárások igen költségesek. Így a felsoroltak okán mindenképpen szükség van olcsóbb és környezetbarát technológiákra. Ilyen megoldás lehet a magasabb rendű növényeket alkalmazó fitoremediáció.

Szelénnel szennyezett talajok kármentesítése több tanulmány szerint is kivitelezhető különböző fitoremediációs eljárásokkal, pontosabban fitopárolgattatással és fitoextrakcióval (BERKEN et al., 2002; BANUELOS et al., 2005).

A fitopárolgattatás során az erre alkalmas növényfajok a szelént felveszik, a hajtásaikba transzportálják, akumulálják és metabolizáció során a szerves és szervetlen szelénformákat (Se(IV), Se(VI), SeMet) illékony formába alakítják át a szelén metilálásával (BERKEN et al. 2002). Ez a metilálási folyamat azért is lényeges, mert a dimetil-szelenid – mint illékony Se vegyület – hatszázszor gyengébb toxicitással rendelkezik, mint a szervetlen formák (BERKEN et al., 2002). Több szerző, az indiai mustárt (*Brassica juncea*) jelöli meg alkalmas növényként fitopárolgattatás céljából gyors növekedése, nagy biomassza tömege és jó akumulációs sajátosságai miatt (BERKEN et al., 2002; SIMON, 1999). Az indiai mustár fitopárolgattatását tekintve szelenit esetén a felvétel, valamint a hajtásba történő transzlokáció lehet a limitáló tényező, míg szelenát esetében, amelynek kétszer gyorsabb az akumulációja, a redukció az, ami befolyásolja a párolgattatás mértékét (SOUZA et al., 1998; PILON-SMITS et al., 1999). Tehát a fitopárolgattatás megfelelő mértékű akumuláció, fitoextrakció nélkül nem működhet.

Fitoextrakció során olyan, hiperakkumulátor növényfajok alkalmazása javasolt, amely a hajtás szöveiteiben legalább 1%-os koncentrációig képes a felvett nehézfémeket hajtásrészeiben akumulálni (CUNNINGHAM et al., 1995). A szelén fitoextrakciójával kapcsolatban legtöbbször az indiai mustárt alkalmazzák a vizsgálatok során, a már

említett tulajdonságai miatt (TERRY és CHANG, 2004). Azonban PARKER et al. (2003) a *Stanelya pinnatát* (*Brassicaceae*) az USA-ban széles körben elterjedt növényfajt vizsgálták, és bizonyították a fitoremediációban történő alkalmazhatóságát. Ennél a növénynél a szelén a növényi hajtásokban jórészt oldható aminosavak formájában van jelen, amely az illékony dimetil-szelenid közvetlen prekursora. Továbbá SRIVASTAVA et al. (2005) hidropóniás körülmények között vizsgálták további 11 növényfaj (*Pteris vittata*, *P. quadriaurita*, *P. dentata*, *P. ensiformis*, *P. cretica*, *Dryopteris erythrosora*, *Didymochlaena trunctula*, *Adiantum hispidulum*, *Actiniopteris radiata*, *Davallia griffithiana*, és *Cyrtomium fulcatum*) Se-akkumulációs tulajdonságait, de csak három páfrányfaj (*D. griffithiana*, *A. radiata*, *P. vittata*) bizonyult alkalmasnak fitoextrakcióra, a nagymértékű akkumulációjuknak és a hajtásba történő szelén transzlokációnak köszönhetően.

A kutatások gyakran nem állnak meg a természet adta lehetőségek alkalmazásánál. Egyre több kutatás foglalkozik transzgénikus növények előállításával és fitoremediációban történő alkalmazhatóságával. BANUELOS et al. (2005), valamint MONTES-BAYON et al. (2002b) az indiai mustár transzgénikus változatainak akkumulációs sajátosságait vizsgálva rámutattak arra, hogy ezeknek a változatoknak kétszer-négyszer jobb az akkumulációs képességük, mint az eredeti, nem módosított típusnak.

A fitoremediációnál azonban felmerülnek olyan kérdések is, hogy mennyi idő szükséges egy erősen szennyezett terület megtisztításához, mivel ez gyakran évtizedeket vagy több száz évet is igénybe vehet. A másik probléma, hogy a toxikus elemekkel szennyezett növények ugyancsak veszélyes hulladéknak minősülnek; elhelyezésük, megsemmisítésük újabb problémákat és költségeket okoz.

4. ANYAG ÉS MÓDSZER

4.1. Felhasznált minták

Vizsgálataimhoz a mintaanyagot Prof. Dr. Kádár Imre biztosította az MTA TAKI Nagyhörcsöki Kísérleti Telepéről (Fejér megye déli része, Sárbogárdtól 20 km-re, ÉNY-ra). A Kísérleti Telep az Alföld nagy tájának Dunántúlra eső Mezőföld részén helyezkedik el, a Ny-Mezőföld „Bozót-Sárvíz közti löszhát” geomorfológiai tájrészében. A tengerszint feletti magasság 140-150 m. Részletes talajföldrajzi vizsgálatok alapján ezt a területet a dunavölgyi mészlepedékes csernozjomok közepes és mélyebb humuszcsernozjom változatába sorolják. A humuszcsernozjom itt 50-100 cm vastag (SZÜCS, 1965).

A talajtípus mészlepedékes csernozjom (tulajdonságai: pH_{KCl} : 7,1-7,4; agyagos textúra, agyag+iszap-tartalom: 75-85%; humusz: 3-3,5%; $CaCO_3$ ekvivalens %: 3-5%; CEC: 30-32 $cmol_c\ kg^{-1}$; K_A : 44), talajképző kőzete 15-20 m vastagságú lösz. A löszön létrejött vályog csernozjom mechanikai összetétele állandó; az agyagfrakció mintegy 20%, a leiszapolható rész pedig mintegy 40%. A löszre jellemző frakció mennyisége meghatározó: 35-50% (0,02-0,05 mm). Az összes agyagásvány 47%-a illit, 29%-a klorit, 16%-a szmektit, a maradék 8%-ot illit-szmektit, illetve illit-klorit alkotja (FÜLEKY, 1987). A kicserélhető kationok közül a Ca 80, Mg 16, a K 3, a Na pedig 1%-ban található meg ezen a talajon.

A talajvíz tükre kb. 15 m mélyen helyezkedik el. A szántott rétegében az AL- P_2O_5 80–100, AL- K_2O 140–160, KCl-Mg 150–180, a KCl+EDTA-oldható Mn 80–150, Cu 2–3, Zn 1–2 $mg\ kg^{-1}$ értéket mutat. A MÉM NAK (1979) által bevezetett módszerek és határértékek alapján ezek az adatok a talaj igen jó Mn-, kielégítő Mg- és Cu-, közepes N- és K-, valamint gyenge P- és Zn-ellátottságáról tanúskodnak (KÁDÁR, 2001).

A kísérletet 1991 tavaszán állították be. A blokkelrendezésben a 21 m^2 területű parcellákat a megközelíthetőség és a talajáthordás megakadályozása végett 1 m széles utak határolják. Egy-egy főparcellában a kezelt és kezeletlen parcellák egymás mellett helyezkednek el. Az osztott parcellás (split-plot) elrendezésben a mikroelemek jelentették a főparcellát, a négy terhelési szint az alparcellát, 2 ismétlésben. A kísérleti elrendezést a 1. Melléklet szemlélteti.

A talajt tekintve parcellánként a mintavétel évente történik 20-20 pontminta egyesítésével a felső szántott rétegből. Mélyfúrásokat 3-5 évente végeznek 3, illetve

6 m mélységig. A mintavételt követően a talajokat szárítják (40 °C), majd homogenizálják (darálás < 0,1 mm).

A növényeknél esetenként többször is lehetséges mintavétel, amely során 20-40 növényből álló átlagmintát képeznek. Egyes esetekben külön mintázzák a gyökeret, hajtást, levelet (burgonya, sárgarépa), az aratáskori szem és szártermést (kukorica, búza). Mintavételnél a külső sorokat elhagyják az esetleges parcellák közötti átszennyeződés miatt, s azt követően a növényeket megtisztítják az esetleges szennyeződésektől (mint pl. talajjal való szennyezettség), majd szintén szárítják (40 °C), és darálással homogenizálják azokat.

A kísérletben vizsgálták a szomszédos parcellák szennyeződésének mértékét is, hiszen a művelés során a traktor és egyéb munkagépek kerekeivel, illetve a mintavevővel a szomszédos területeket elszennyezhetik. Ez a vizsgálat azért fontos, mert a mikroelemeket csak kis mennyiségben veszik fel a növények, így kis mértékű átszennyezés is hibát okozhat a kísérletek kiértékelésekor. Az eredmények alapján a szelén esetében a keresztzsennyezés hatása jelentéktelen.

A szelént nátrium-szelenit (Na_2SeO_3) formájában juttatták ki a területre 30, 90, 270 és 810 kg ha^{-1} dózisokban. A vizsgált minták a talajok esetében az 1991, 1992, 1994, 1997 és a 2000-es évből származtak. Mélységi minták a 2000-es évből álltak rendelkezésemre 3 m mélységig. A növényminták esetén a minták szintén az 1991, 1992, 1994, 1997 és 2000 évekből származtak. A növényfajták és részek rendre a következők voltak: kukorica (szár), sárgarépa (gyökér), borsó (szár), őszi búza (szalma+pelyva), valamint őszi árpa (szalma+pelyva). A növények esetében rendelkezésemre állt 1996-os évből is minta (spenót, szár és levél is, külön), amely mintákban tudtam vizsgálni a növény egyes részeiben is a szelénformákat, így azok mennyiségét összevethettem.

Az 1. kép a szelénittel kezelt parcellákat szemlélteti az MTA TAKI Nagyhörcsöki Kísérleti telepén. A kép előterében a 4. kezelés I. ismétlése látható, azaz a legnagyobb dózisu szelénittel kezelt parcellák egyike. Jól látható, hogy 810 kg ha^{-1} kezelési szint a növényzet teljes pusztulását okozta.



1. kép: Szelenittel kezelt parcellák az MTA TAKI Nagyhorcsöki Kísérleti Telepén

4.2. Teljes szeléntartalom és a minták összes elemtartalmának meghatározásához végzett mintaelőkészítés

A vizsgált minták teljes szeléntartalmának valamint összes elemtartalmának meghatározásához légköri nyomáson végzett, nedves roncsolásos mintaelőkészítést alkalmaztam KOVÁCS et al. (1996, 2000) módszere szerint. A mintákból 1 g-nyi mennyiséget mértem be roncsolócsövekbe (25x420 mm, 50 cm³-re és 100 cm³-re kalibrált, hőálló kvarccsövek, Magyarország), majd a talajminták esetén 5, növényminták esetén, pedig 10 ml cc. HNO₃-at (65 m/m %, Scharlau Chemie, Spanyolország) adtam hozzá. Ezt követően a mintákat a savval együtt egy éjszakán át állni hagytam. A következő napon a mintákat a blokkroncsoló készülék fűtőegységébe (Labor MIM OE 718/A, Magyarország) helyeztem, melybe egy alkalommal maximum 50 db roncsoló csövet lehet elhelyezni. Majd a talajok esetén 1 órán át, a növények esetén pedig 30 percen keresztül végeztem az előroncsolást 60 °C-on. Az előroncsolást követően a mintákat a fűtőegységről levettem és megvártam, amíg lehűlnek, majd talajok esetén 5, növények esetén 3 ml cc. H₂O₂-ot (30 % m/m %, Merck, Németország) adtam a mintákhoz. A peroxid elreagálását követően a mintákat visszahelyeztem a roncsoló fűtőegységére és megkezdtem a főroncsolást, amely 120 °C-on történt, a talajok esetében 4 órán át, a növények esetében, pedig 90 percig. A főroncsolást követően a mintákat lehűtöttem, majd ioncserélt vízzel (18 MΩ cm, Millipore Corporation, USA, oszlop: QuantumTM, EX Milli-Q) 50 ml-re, jelre töltöttem, Velp Scientifican (Magyarország) típusú laboratóriumi keverővel homogenizáltam, végül 100

ml-es Erlenmeyer lombikokba szűrtem MN 619 G1/4 típusú szűrőpapíron (Macherey-Nagel, Németország) keresztül. Ezt követően a mintákat 25 ml-es műanyag szcintillációs edényekbe öntöttem.

A minták feltárásánál roncsolási vakpróbát is készítettem. (A továbbiakban minden mintaelőkészítéshez, oldatkészítéshez és mosogatáshoz ugyanazt az ioncserélt vizet alkalmaztam (lásd előző oldal, alulról 2. sor)).

A teljes szeléntartalom meghatározásához végzett mintaelőkészítés hatékonyságát ellenőriztem referenciaanyagok azonos módon történt előkészítésével és mérésével 3 ismétlésben. Az ellenőrző vizsgálathoz CRM 281 számú perje és a CRM 320 számú folyóüledék mintákat vizsgáltam. E két minta esetén a Se-re kapott koncentrációkat az 1. táblázatban mutatom be. A vakminták vizsgálatánál kapott kimutatási határ: $0,01 \mu\text{g kg}^{-1}$, ismételhetőség: 3,5 %.

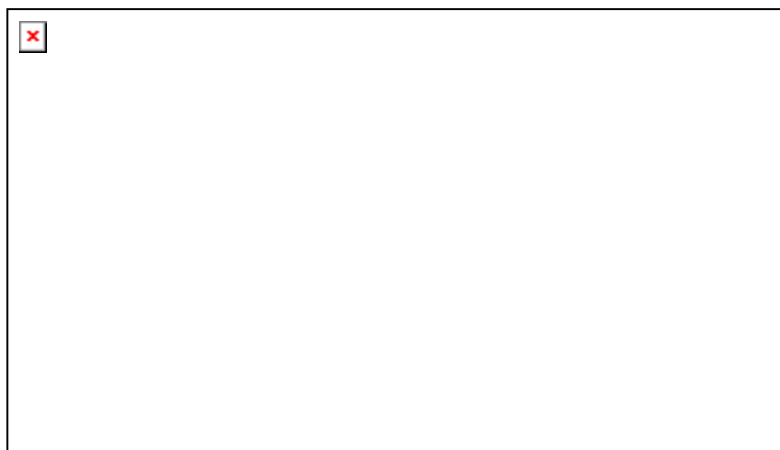
1. táblázat: A Se visszanyerésének és a mintaelőkészítés valamint a műszeres mérés hatékonyságának ellenőrzése CRM minták (hivatalos referenciaanyagok) vizsgálatával

Se	Referencia érték ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Mért érték ($\mu\text{g kg}^{-1}$)
CRM 281	$0,028 \pm 0,004$	$0,021 \pm 0,005$
CRM 320	$0,214 \pm 0,034$	$0,189 \pm 0,055$

4.3. A szelén speciációs analitikai vizsgálatához végzett mintaelőkészítés

A talaj- és növényminták szelénformáit az MSZ 21470-50:1998, 2006 szabványban és több nemzetközi irodalomban (pl. VASSILEVA, 2001, OCHSENKÜHN-PETROPOULOU, 2003), növények által felvehető nyomelemek és szelénformák kinyerésére leírt módszer alapján terveztem meghatározni 1:10 arányú, hideg vizes kivonatból. A kivonat készítését meggyorsítandó, hatékonyabbá és könnyen kezelhetővé téve azt, néhány paraméter megváltoztatásával vizsgáltam azok hatását a szelénformák kinyerésére.

A rázatási arányok esetében a szabványos 1:10 mellett vizsgáltam az 1:5 és 1:20 arányú kivonatok, valamint az ultrahangos ráztatás hatását és a szükséges ráztatási időket (2, 4 és 24 órás extrakció). Az egyes ráztatási típusok vizsgálatának eredményeit az 5. ábra mutatja be.



5. ábra: A rázatási idők és egyéb paraméterek vizsgálata a szelenitre és szelenátra számolt koncentrációk esetén (vizsgált talajminta: a nagyhőrcsöki kísérletből; 1997 év, 1. dózis (30 kg ha^{-1}), I. ismételés)

A diagramon látható, hogy az egyes rázatási típusok között nincs szignifikáns különbség, így lerövidíthettem a rázatási időt 2 órára. A forró víz alkalmazását problematikusnak, nehezen kezelhetőnek ítélttem (hőmérséklet beállítása és tartása, stb.), valamint a szelenit és a szelenát fokozottan érzékeny a hőmérsékletváltozásra (ZHANG és MOORE, 1997).

A rázatási arányok vizsgálatánál a következő diagramok szemléltetik a kapott eredményeket.

a)



b)



c)



d)



6. ábra: A rázatási arányok vizsgálata

a) a szelenit koncentrációjának alakulása a vizes oldatban; b) a szelenit koncentrációjának alakulása a talajra számolva; c) a szelenát koncentrációjának alakulása a vizes oldatban d) a szelenát koncentrációjának alakulása a talajra számolva (alkalmazott talajminta: a nagyhőrcsöki kísérletből; 1997, 30 kg ha⁻¹-os dózis, I. ismételés)

A diagramokból látható, hogy az adszorpciós folyamatoknak köszönhetően a rázatási arányok növekedésével a komponensek koncentrációja az oldatban, azaz a vizes extraktumban csökken, míg a talajra visszaszámolt koncentrációjuk nő. A koncentrációk változása az adszorpciós izotermák telítési szakaszát elérve nem lineáris, vagyis a kioldott mennyiség nem lineárisan nő az extraháló víz mennyiségével. Az 1:20-as aránynál gyakorlatilag elérjük azt a pontot, amikor már számottevően nem növelhető tovább a kioldható komponensek mennyisége.

Az előkísérleteket követően, optimális mintaelőkészítési eljárásként a következőket találtam: a talaj- és a növénymintákból egyaránt 0,5 g-nyi, elporított és megfelelően

homogenizált mintát mértem be műanyag kémcsövekbe (15 ml-es, PP, Magyarország), majd 5 ml hideg ioncserélt vizet adtam hozzájuk (1:10 arány). Ezt követően ultrahangos fürdőbe (HF-frekvencia: 35 kHz, Bandelin Electronic, Sonorex Super RK 103H, Németország) helyeztem a kémcsöveket, majd 10 percen át ultrahangoztam azokat szobahőmérsékleten (25 °C). Ezután a fürdőből kivéve a mintákat, 2 órán át állni hagytam, időnkénti összerázással. A 2 óra elteltével a mintákat 5 percre ismét ultrahangos fürdőbe helyeztem, majd összerázást követően MN 619 G1/4 típusú szűrőpapíron (Macherey-Nagel, Németország) keresztül szűrtem, műanyag kémcsövekbe. Ezt követően a szűrletek 1 ml-ét használtam fel a vizsgálatokhoz. A növények vizes extrakciójánál ugyanezt az eljárást alkalmaztam, csak a növényi száraz tömeg nagy térfogata miatt 5 ml víz helyett 10 ml vizet kellett alkalmaznom. Itt tehát a rázatási arány: 1:20 volt.

A vizsgált paraméterek alapján tehát, gyakorlati megfontolásokból a 2 órás, ultrahangot is alkalmazó hideg vizes rázás alkalmazását találtam a legcélszerűbbnek a speciációs vizsgálatokhoz, mivel ugyanolyan hatékony, de gyorsabb és könnyebben kezelhető módszert adott, mint a hagyományos, szabványos 24 órás, vizes extrakció. Az 1:10 arányú rázásnál kapott oldatkonzentrációk a mérési tartományba esnek, és a kapott oldattérfogat is megfelelő a vizsgálatokhoz.

4.4. A minták összes elemtartalmának meghatározásához alkalmazott készülék, mérési paraméterek és standard anyagok

A $\text{HNO}_3\text{-H}_2\text{O}_2$ -os nedves roncsolással előkészített talaj- és növénytípusok összes elemtartalmát egy Perkin Elmer Ltd. gyártmányú, Optima 3300 DV típusú, ICP-OES készülékkel határoztam meg (USA). A készülék optikai rendszere Echelle-rendszerű, argon gázzal öblített, a detektálást szilárdtest detektor (SCD) végzi. A plazmamegfigyelés axiális irányból történt, a porlasztó Meinhard-A típusú koncentrikus porlasztó, amelyhez a minták perisztaltikus pumpa segítségével $1,0 \text{ cm}^3 \text{ perc}^{-1}$ áramlási sebességgel jutottak el.

A készülék beállításai és adatai, a mérési paraméterek, valamint az alkalmazott hullámhosszak az alábbi táblázatokban láthatóak:

2. táblázat: Az induktív csatolású plazma optikai emissziós spektrométer paraméterei

ICP-OES készülék	
Típus	Optima 3300 DV
Gyártó	Perkin-Elmer Ltd.
Optikai rendszer	Echelle-rendszerű, argon gázzal öblített
Hullámhossz tartomány	160-782 nm
RF generátor	40 MHz
Detektor	szilárdtest áramkör detektálás, SCD
Plazma megfigyelés	axiális
Porlasztó típusa	koncentrikus (Meinhard Type A)
A perisztaltikus pumpacső típusa	fekete-fekete
Az optikai rendszer felbontása	normal
Feloldóképesség	0,007 nm

3. táblázat: Az ICP-OES berendezés adatai

Az ICP-OES berendezés	
változtatható paraméterei	értékei
Kicsatolt teljesítmény	1300 W
Porlasztógáz áramlási sebesség	0,95 dm ³ min ⁻¹
Hűtőgáz áramlási sebesség	15 dm ³ min ⁻¹
Segédgáz áramlási sebesség	1,0 dm ³ min ⁻¹
Mintabetáplálás sebessége	1 cm ³ min ⁻¹

4. táblázat: A vizsgált elemek és az alkalmazott analitikai vonalak hullámhossza

Elem	Hullámhossz (nm)	Elem	Hullámhossz (nm)
Al	308,215	Li	670,784
B	249,772	Mg	279,077
As	188,980	Mn	257,610
Ca	317,933	Ni	341,746
Cd	228,802	P	214,914
Co	228,616	Pb	220,353
Cr	267,716	S	181,975
Cu	327,393	Sr	460,733
Fe	238,204	Zn	213,857
K	404,721		

A készülék vezérlőszoftvere: Perkin Elmer ICP Winlab™ (Instrument Control Software, 1997), 1.42 verzió. Az adatok kiértékelése Microsoft Office Excel, 2003 programban történt egy általunk írt makro segítségével.

Az ICP-OES készülékhez automata mintaadagoló is tartozik (AS 91 Tray F típus, Perkin Elmer Ltd. gyártmány, USA).

A kalibrációs görbe felvételéhez a multielemes standardoldat 1000 mg l⁻¹-es koncentrációjú, atomabszorpciós monoelemes, savas standardoldatokból (0,5 M HNO₃-tartalom, Scharlau Chemie, Spanyolország) lett összeállítva és különböző koncentrációban tartalmazza az egyes elemeket (elemenként és a növény-, illetve talajminták méréséhez egyaránt).

A multielemes standard törzsoldatból egy hígítási sort készítettem a kalibrációs görbe felvételéhez (0,2; 1; 5; 20 és 100 %). Az oldatok savtartalma 3 mol l⁻¹ HNO₃, amely egyezik a nedves roncsolás során előkészített minták savtartalmával.

4.5. A vizes kivonatok összes felvehető és a savas roncsolatok teljes szeléntartalmának meghatározása ICP-MS technikával

A növényi és a talajmintákban az összes szeléntartalmat egy Thermo Elemental (ma Thermo Fisher Scientific, Németország) gyártmányú, X series típusú ICP-MS

készülékkel határoztam meg. A készülék vezérlőszoftvere: Plasmalab típusú, 2.3.0. verziószámú szoftver. A mérési paraméterek az alábbi táblázatban találhatók meg:

5. táblázat: Az ICP-MS készülék beállítási és mérési paraméterei
(A *-al jelölt kifejezéseknek nincs magyar megfelelője)

RF kicsatolt teljesítmény	1400 W
Plazmagáz áramlási sebesség	14 l min ⁻¹
Porlasztógáz áramlási sebesség	0,8 l min ⁻¹
Segédgáz áramlási sebesség	0,95 l min ⁻¹
Minta áramlási sebesség	1 l min ⁻¹
Pole Bias*	- 3,1 V
Hexapole Bias*	4,5 V
Extrakció	-118 V
Fókusz	3 V
Analóg detektor	2500 V
PC detektor	3850 V
CCT gáz (H ₂ :He) áramlási sebesség (7% H ₂ + 93% He)	5,9 ml min ⁻¹
Integrációs idő	0,1 s
Stabilizációs idő	35 s
Vizsgált szelén izotópok	⁷⁷ Se, ⁷⁸ Se, ⁸⁰ Se, ⁸² Se
Mintaszállító pumpacső átmérője (Anachem Ltd., Anglia)	1,02 mm

A méréseknél keletkező zavaróhatások (poliatomos adduktumok) kiküszöbölésére ütközési cellát (collision cell technology, CCT) alkalmaztam.

A mérésekhez egy Cetac gyártmányú, ASX-510 típusú automata mintaváltót is használtam, amely az ICP-MS készülék tartozéka (Anglia).

A mérések során a ⁷⁷Se, ⁷⁸Se, ⁸⁰Se és ⁸²Se izotópokat monitoroztam, azonban a kiértékelésnél csak a ⁸⁰Se izotóp esetén kapott jeleket vettem figyelembe, mivel CCT technikát is alkalmazva ez az izotóp mérhető legnagyobb pontossággal. Valamint a ⁸⁰Se izotóp előfordulásának legnagyobb a relatív gyakorisága. A mintabevitelhez egy hagyományos Meinhard típusú koncentrikus porlasztót használtam.

4.6. Szelénformák meghatározása IC-ICP-MS rendszerrel; a mérés körülményei, standard anyagok és oldatok

A szelénformák meghatározását IC-ICP-MS csatoláson keresztül végeztem. Az ICP-MS készüléket HPLC technikával kapcsoltam össze, amelyben a fő egység egy IC-AN1 típusú (100 mm x 4,6 mm x 12 μ m, Polyspher, Merck, Németország) szerves polimer alapú (hidrofil polimetakrilát-típusú gélen kötött kvaterner ammonium csoportok) anioncserélő oszlop volt (IC).

A csatolást műanyag perisztaltikus pumpacső segítségével végeztem (65 cm hosszú, 0,38 mm belső átmérőjű), amely végén az oszlopról lejövő oldatot, egy teflon csövön keresztül vezettem be az ICP-MS készülék porlasztójába.

A szelénformák elválasztásához alkalmazott HPLC pumpa egy Merck Hitachi gyártmányú, L-6200A Intelligent Pump típusú készülék volt (alkalmazott áramlási sebesség: 1 ml perc⁻¹, nyomás: 30 bar). A mintainjektáló csap egy Rheodyne (Kalifornia, USA) gyártmányú 4 állású injektor. A minták felszúrásához egy Jectmed típusú, 2,5 ml-es műanyag injekciós fecskendőt alkalmaztam (Dispomedicor, Magyarország). A mintainjektáló hurok általam készített, 100 μ l-es PEEK csőből készült (külső átmérő: 1,56 mm, belső átmérő: 0,5 mm, Alltech, USA).

Anioncserélő oszlop alkalmazásával az anionos szelénkomponensek elválasztása valósítható meg (OCHSENKÜHN-PETROPOULOU, 2003).

Az alkalmazott ICP-MS készülék, a vezérlőszoftver, valamint a mérési paraméterek megegyeznek az összes szeléntartalom meghatározásánál leírtakkal (3.5. fejezet).

Az eredmények feldolgozása Windows NT Office Excel 2002 programjában történt. A kapott beütésszámokat grafikonon ábrázoltam. A mérések során ismétlésszám-beütés adatsorokat kaptam, amelyekben az ismétlésszámot elosztva az ismétlések idejével (5 s) és megszorozva 60-al, az x tengely értékeit percben kaptam (idő-beütésszám kromatogramok). Az ismétlések száma minden esetben 350 volt.

A mérések során ebben az esetben is vizsgáltam a szelén valamennyi izotópját; ⁷⁷Se, ⁷⁸Se, ⁸⁰Se és ⁸²Se, azonban a kiértékelésnél szintén csak a ⁸⁰Se izotóp esetén kapott jeleket vettem figyelembe. Mintabeviteli egységként jelen esetben is egy hagyományos Meinhard koncentrikus porlasztó állt rendelkezésemre.

A mérésekhez az alábbi, szelénre számítva 1000 mg l⁻¹ (Se-metionin esetén pedig 100 mg l⁻¹) koncentrációjú törzsoldatokat használtam fel: L-szelén-cisztin (SeCys₂;

Fluka Chemie, Svájc); szelén-DL-metionin (SeMet; 99%, Fluka Chemie, Svájc), Se(IV) ($\text{Na}_2\text{SeO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ -ként; 99%; Sigma-Aldrich, Svájc), valamint Se(VI) (Na_2SeO_4 -ként; 98%; Aldrich Chemical Company, WI, USA). A mérések kalibrálásához használt vizes standard oldatokat (koncentrációjuk: Se-re számítva $100 \mu\text{g l}^{-1}$) minden nap frissen készítettem.

A szelénkomponensek oszlopon történő elválasztásához ftálsav:TRIS puffer oldatot alkalmaztam, amelyet 0,171 g TRIS (Trisz(hidroximetil)aminometán, Sigma-Aldrich, Svájc) és 0,249 g ftálsav (Fluka Chemie, Svájc) összemérésével készítettem. A szilárd sókat 1 l ioncserélt vízben oldottam fel, majd az oldatot negyedórán keresztül ultrahangoztam, végül szűrőpapíron szűrtem. Az IC-ICP-MS csatolt rendszer a 2. képen látható.



2. kép: IC-ICP-MS rendszer

4.7. Adszorpció izotermák mérése

Az adszorpció izotermák vizsgálatához a nagyhőrcsöki csernozjom talaj kontroll, azaz kezeletlen, 0-20 cm-es feltalaját használtam. A kísérlet során a talaj 1,5 g-jához adtam különböző (Se-re számolt) koncentrációjú ($0,930$; $1,90$; $4,63$; $8,81$; $17,3$; $43,8$; $65,0$; $87,5 \text{ mg l}^{-1}$) szelenit és ($0,947$; $1,68$; $4,11$; $8,27$; $17,1$; $42,8$; $66,2$; $85,3 \text{ mg l}^{-1}$) szelenát ioncserélt vizes oldatok 15 ml-ét. Ezt követően a mintákat rázógépből (Sklárny, Avalier, Csehország) 2 órán át rázattam, majd MN 619 G1/4 típusú (Macherey-Nagel, Németország) szűrőpapíron szűrtem. A szűrletek koncentrációját

ICP-MS készülékkel mértem (a készülék és a mérési paraméterek megegyeznek a 4.5. fejezetben leírtakkal).

A kapott koncentrációkból számoltam a szürletekben az egyensúlyi koncentrációkat, majd felrajzoltam a szelenit és a szelenát megkötődési izotermáit a vizsgált mészlepedékes csernozjom feltalajban.

A linearizált Langmuir-izotermák szerkesztéséhez az izoterma következő alakját alkalmaztam:

$$1/q_e = 1/Q + k_L/(Q \times C_e),$$

ahol, q_e az egyensúlyban a talaj által adszorbeált elem mennyisége mg g^{-1} mértékegységben, a Q a talaj adszorpciós kapacitása mg g^{-1} -ban, a k_L az egyenlet mg l^{-1} dimenziójú konstansa, a C_e pedig az egyensúlyi oldat koncentrációja mg l^{-1} -ben. Az izotermák linearizálhatók (PROKISCH, 1997).

4.8. Stabilitási kísérlet

Ehhez a kísérlethez is a nagyhőrcsökről származó kontroll talajmintát használtam. A talajminták 200 g-nyi mennyiségéhez az Arany-féle kötöttséggel meghatározott mennyiségű nedvesítő víz 75%-ának megfelelő mennyiségű (66 ml) szelenit oldatot adtam (az oldatkészítéshez szükséges Na-szelenit pontos jellemzését lásd a 4.6. fejezetben). Az oldat a szelenitet szelénre nézve 10 mg l^{-1} mennyiségben tartalmazta. A szelenit-oldattal a talajt átnedvesítettem és összekevertem, majd a talajmintákat 40°C -on, szárítószekrényben (Labormim, Magyarország) szárítottam 24 órán át. Ezt követően a talajokat daráltam (Retsch, Németország), és homogenizáltam (GAWLIK et al., European Commission, 200X).

A kezelt mintákból véletlenszerűen 2*5-5 pontmintát vettem, majd a minták savas roncsolatainak és vizes kivonatainak mérésével ellenőriztem a minták homogenitását.

A kezelt talajokból 0,5 g-nyi mennyiségeket mértem műanyag kémcsövekbe. A stabilitási kísérletet 3 különböző hőfokon (-20°C , 4°C és 25°C), valamint 3 ismétlésben végeztem. Az 5 hónap elteltével a mintákat egyszerre elemeztem IC-ICP-MS csatolt rendszerrel (speciációs mérések) a 4.6. fejezetben leírtak szerint. Vizsgáltam, hogy történt-e átalakulás a mintákban laboratóriumi tárolási körülmények között.

4.9. Talajminták pH-jának meghatározása

A növények elemfelvételének vizsgálatához szükségem volt a talajminták pH-jának ismeretére is. A minták pH-ját vizes szuszpenzióban vizsgáltam. 0,5 g talajmintához 12,5 ml ioncserélt vizet adtam, majd erős összerázást követően a mintákat egy éjszakán át állni hagytam. Ezt követően ismét erős összerázás után a szuszpenzió pH-ját Radelkies gyártmányú, OP-211/2 típusú (Magyarország) pH-mérő készülékkel mértem (MSZ-08 0206/2-78).

4.10. A kísérletek értékelésének statisztikai módszerei

A mintaelőkészítés, vagyis a savas roncsolatok és a vizes kivonatok pontosságát (precision) és egyezését, illetve a minták homogenitását és a műszeres mérések megbízhatóságát 3 ismétlésből vizsgáltam meg. Az összes elemtartalom meghatározásához használt mintaelőkészítési és mérési módszerek hiteles anyagmintákkal történt ellenőrzését KOVÁCS et al. (1996, 2000) korábban leírták. Az összes Se meghatározásához használt hiteles anyagminta vizsgálatát a 4.2. fejezetben mutattam be.

A kísérletek eredményeit a leíró statisztika eszközeivel jellemeztem: átlag, szórás, RSD%.

A kísérlet minden eredményére varianciaanalízissel számoltam p-értékeket $SZD_{5\%}$ szignifikancia szint mellett. Az eredményeket a kontroll mintákhoz viszonyítottam, a szignifikancia szinteket a kezeletlen minták eredményeinek figyelembevételével számoltam. Kontrollként a talajok esetében az Pb-kezeléses parcellák kontroll mintáit (0 kg ha^{-1}), illetve abszolút kontroll mintát használtam. A növények esetében szintén az Pb-kezelés kontroll parcelláin termesztett növények elemtartalmát vettem figyelembe. A Se esetén ugyanis nem volt külön kontroll (0 kg ha^{-1} -os terhelés) beállítva a kísérletben.

A kémiai összetételre vonatkozó paramétereket minden esetben a minta szárazanyag-tartalmára vonatkoztatva adtam meg.

A kijuttatott szeléndózisoknak a növényminták elemfelvételére gyakorolt hatását korrelációs analízissel vizsgáltam.

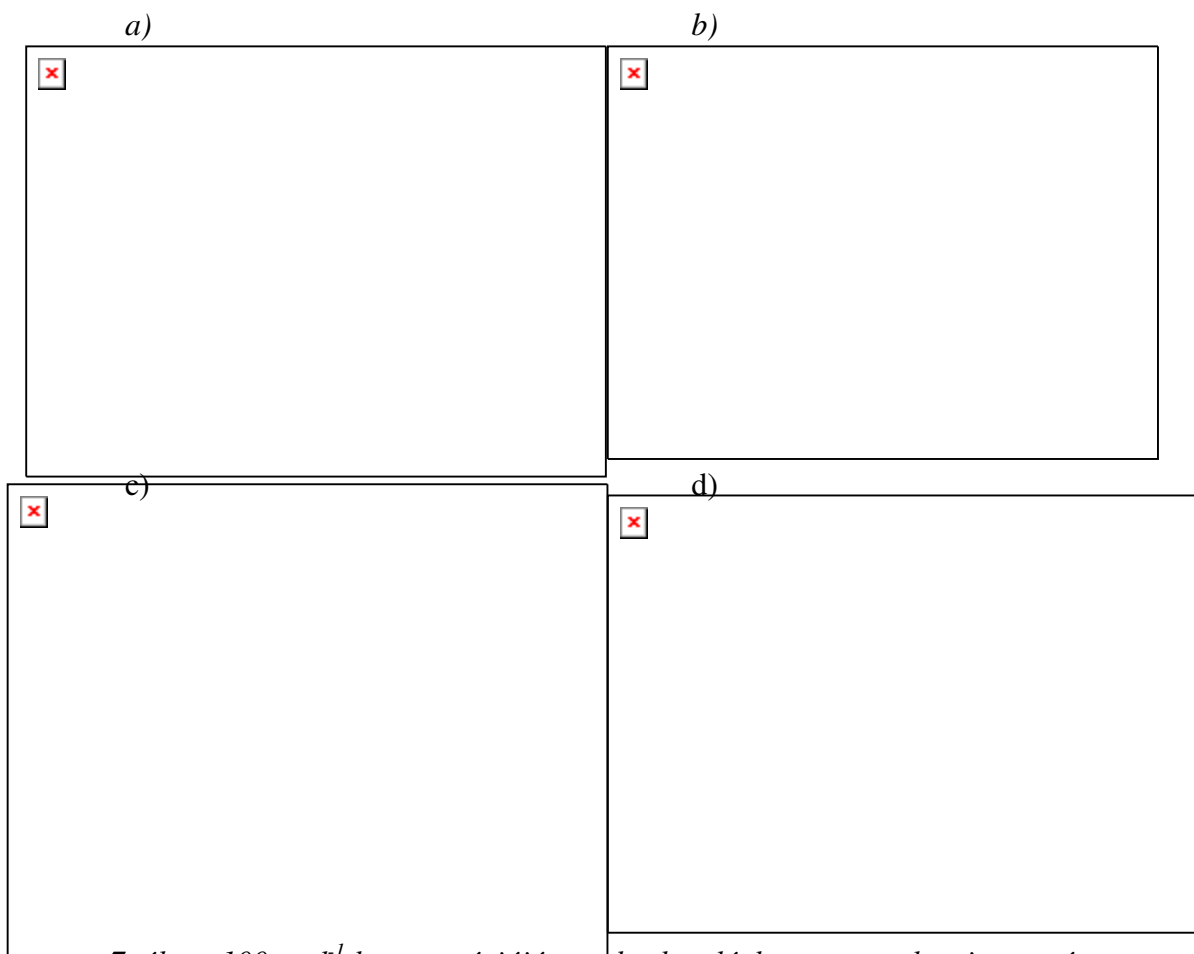
A vizsgálatok eredményeit Microsoft Office Excel, 2003 program segítségével értékeltem ki, a varianciaanalízis számításokat SVÁB (1973) szerint számítottam ki, az ábrákat Excel 6.0 for Windows program segítségével készítettem.

5. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

5.1. A szelén speciációs vizsgálatának kidolgozása

5.1.1. Szelénformák azonosítása standardanyagok csúcsai alapján

A speciációs analitikai mérések megkezdése előtt vizsgáltam a későbbi mintacsúcsok azonosításához szükséges standardanyagok egyedi csúcsait, meghatároztam az egyes szelénkomponensek retenciós idejét és az adott koncentrációhoz tartozó csúcsmagasságot. Majd a standardanyagokból, Se-re egyenként $100 \mu\text{g l}^{-1}$ koncentrációjú elegyoldatot készítve a háromkomponensű oldat kromatogramját is meghatároztam. A kapott egyedi eredmények és az összes standardanyag csúcsát ábrázoló kromatogram a 7. ábrán látható. (A vizsgálatokat, illetve az elválasztást IC-ICP-MS rendszerrel végeztem a 4.6. fejezetben leírtak alapján).



7. ábra: $100 \mu\text{g l}^{-1}$ koncentrációjú standard szelénkomponensek anioncserés elválasztásának kromatogramjai egyenként: a) szeleno-metionin (SeMet); b) szelenit (Se(IV)); c) szelenát (Se(VI)) és d) együtt a 3 komponens (csúcsok: 1 = SeMet; 2 = Se(IV); 3 = Se(VI))

Az ábrákból leolvasható az egyes szelénformák retenciós ideje és a $100 \mu\text{g l}^{-1}$ koncentrációjú standard komponensek csúcsmagassága. Ezeket felhasználva, a későbbiekben be lehet azonosítani a mintákból vizes rázatással, majd anioncserés elválasztással kapott szelénformákat, illetve számítható lesz azok koncentrációja. A megfelelő retenciós időket és az azokhoz tartozó csúcsmagasságok értékeit a 6. táblázatban foglaltam össze.

6. táblázat: A szelénformák retenciós ideje és csúcsmagassága standardanyagok csúcsai alapján

Se-forma	Retenciós idő (min)	Csúcsmagasság (CPS)
SeMet	2,75	75000
Se(IV)	5	34000
Se(VI)	18	15000

A retenciós idők és a csúcsmagasságok a nagyszámú minta elválasztása során, az alkalmazott friss pufferek, és egyéb paraméterek változása miatt kismértékben változtak. A retenciós idők és csúcsmagasságok változása azonban nyomonkövethető és korrigálható az egyes elválasztások standard anyagokkal történő ellenőrzésével.

A csúcsmagasság alapján történő koncentrációsámítás helyességét, illetve pontosságát, néhány kromatogram esetén, a görbe alatti terület számításából kapott koncentrációk meghatározásával ellenőriztem. A területeket az időegységre eső intenzitások összegéből számítottam, minden csúcs esetén azonos időintervallumot tekintve. A kapott eredmények azt mutatták, hogy a csúcsmagasság és a görbe alatti terület alapján számolt koncentrációk jól egyeznek, vagyis a számításokhoz a csúcsmagasság alkalmazása is elegendő. A területből történő számítást eredetileg speciális szoftver hiányában kellett mellőznöm.

A kapott számítási eredményeket a 7. táblázatban mutatom be.

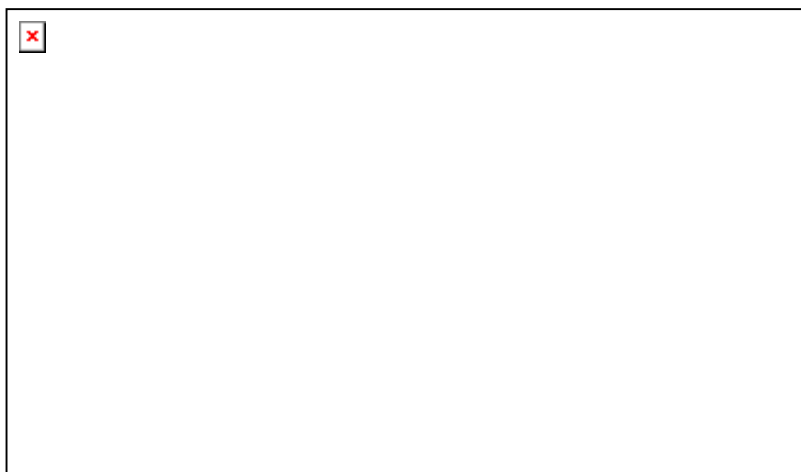
7. táblázat: Csúcsmagasság és görbe alatti terület alapján számolt koncentrációk összevetése egy-egy talaj- és növényminta Se-formái esetében

	Csúcsmagasság alapján számolt koncentráció (mg kg ⁻¹)	Görbe alatti terület alapján számolt koncentráció (mg kg ⁻¹)
Talajminta: 1991, 270 kg ha⁻¹		
Szerves Se formák	0,112±0,028	0,144±0,018
Szelenit	17,3±0,15	17,2±0,25
Szelenát	0,392±0,055	0,411±0,072
Összeg:	17,8±0,13	17,8±0,21
Növényminta: 1991, 30 kg ha⁻¹		
Szerves Se formák	0,187±0,033	0,175±0,028
Szelenit	0,134±0,02	0,157±0,021
Szelenát	-	-
Összeg:	0,321±0,03	0,332±0,021

A mérések megkezdése előtt a szerves szelénkomponensek anioncserés elválasztásának vizsgálata céljából több szerves komponens (szeleno-metionin, szeleno-cisztin) csúcsát is felvettem. A vizsgálatok azt mutatták, hogy anioncserélő oszlopon, az alkalmazott puffer (pH = 3,85) esetében, várt módon, a szerves komponensek nem válnak szét, azaz a SeMet és SeCys azonos retenciós idővel voltak detektálhatók. Így a továbbiakban a SeMet standard retenciós idejénél kapott komponenseket csak „szerves szelén-komponensnek”, illetve „szerves szelénformáknak” nevezem.

Vizsgálataim elsősorban a szelenit-szelenát átalakulásra irányultak, mivel a talajban ez az átalakulás játszik fő szerepet. Így a talajok esetében csak ez a két forma volt számomra érdekes, a növények esetében pedig csak az volt kérdés, hogy a szelenit vagy szelenát formát veszik és alakítják-e át a növények könnyebben, illetve, hogy ezekből mennyi van jelen a növényekben a szerves formák mellett. A szerves formák pontos ismerete akkor igazán fontos, amikor már konkrétan fel szeretnénk használni a növényt élelmezési vagy táplálékkiegészítési célokra. Így a szerves formák elválasztása jelen dolgozat elkészítésénél nem volt cél; ebben az esetben a növények csak egyfajta indikátorai a talajban lejátszódó átalakulási folyamatoknak.

A 8. ábra a szelenocisztin esetén kapott csúcsot szemlélteti. Látható, hogy a szeleno-cisztin retenciós ideje megegyezik a szeleno-metionin retenciós idejével (t_R : ~ 3,2 perc).



8. ábra: *L-Szeleno-cisztin* esetén kapott kromatogram (konc.: $\sim 100 \mu\text{g l}^{-1}$)

A 9. ábra egy talajminta vizes kivonatának szelénkomponenseit ábrázoló kromatogramot mutat be. Látható, hogy a kapott csúcsok azonosíthatók a standard anyagok megfelelő kromatográfiás csúcsai alapján.



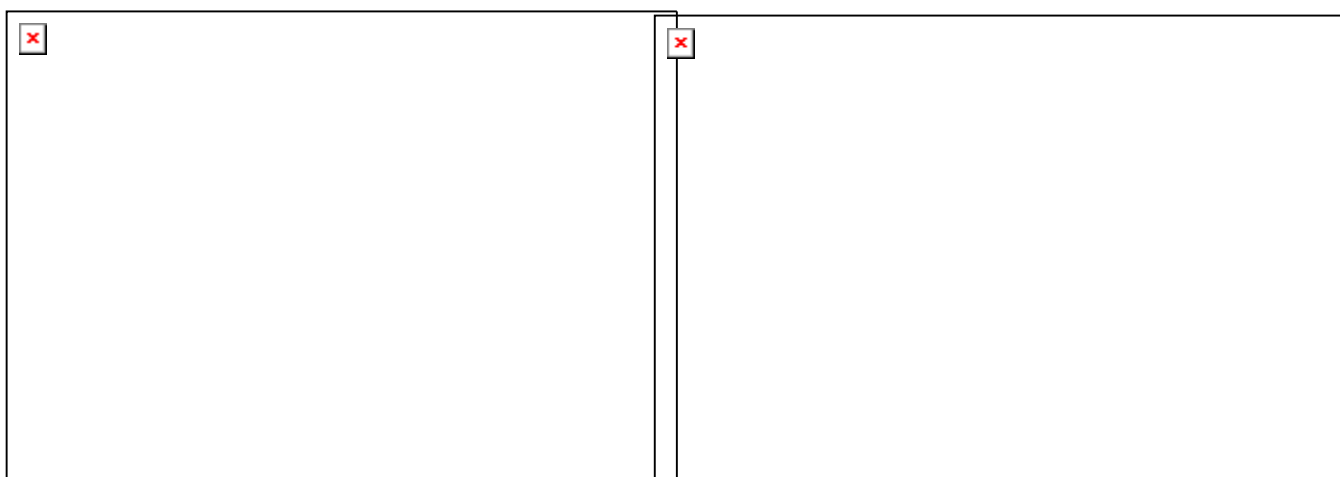
9. ábra: Talajminta vizes kivonatából nyert szelénkomponensek kromatogramja (csúcsok: 1 = szerves Se formák; 2 = Se(IV); 3 = Se(VI), a talajminta a nagyhőrcsöki kísérletből származik: 1997, 90 kg ha⁻¹-os kezelés, II. ismétlés)

5.1.2. Az ütközési cella (CCT) alkalmazásának vizsgálata

Az ICP-MS készülékkel történő mérések során, a szelén kis koncentrációban való meghatározásánál fellépő interferenciák megszüntetésére ütközési cellát (CCT) alkalmaztam. A következő ábrán két kromatogramot mutatok be, amelyek jól szemléltetik, hogy miért szükséges alkalmaznunk az ütközési cellát ilyen meghatározásoknál. Az ábra jól mutatja az alapvonal, azaz a háttér jel megemelkedését a CCT alkalmazása nélkül, valamint a szelénkomponensek csúcsainak elfedését, mivel ebben az esetben az $^{40}\text{Ar}^{40}\text{Ar}$ adduktumok zavaró hatása nagymértékben érvényesül.

a)

b)



10. ábra: A CCT alkalmazásának vizsgálata a szelénkomponensek mérésénél;
100 $\mu\text{g l}^{-1}$ koncentrációjú standard oldat kromatogramja a) CCT alkalmazása nélkül és
b) CCT alkalmazásával (csúcsok: 1 = szerves Se formák; 2 = Se(IV); 3 = Se(VI))

5.2. A nagyhőrcsöki szabadföldi kísérletből származó talajminták vizsgálata

5.2.1. A talajok speciációs vizsgálata

A vizsgálatok megkezdése előtt először kromatográfiásan vizsgáltam a kontroll (kezeletlen) talajminták szelénformáit. Azt tapasztaltam, hogy a szelén mennyisége kimutatási határ alatt van az általunk vizsgált nagyhőrcsöki csernozjom talaj vizes kivonataiban, mivel a kromatogramokon értékelhető Se-csúcsokat nem kaptam.

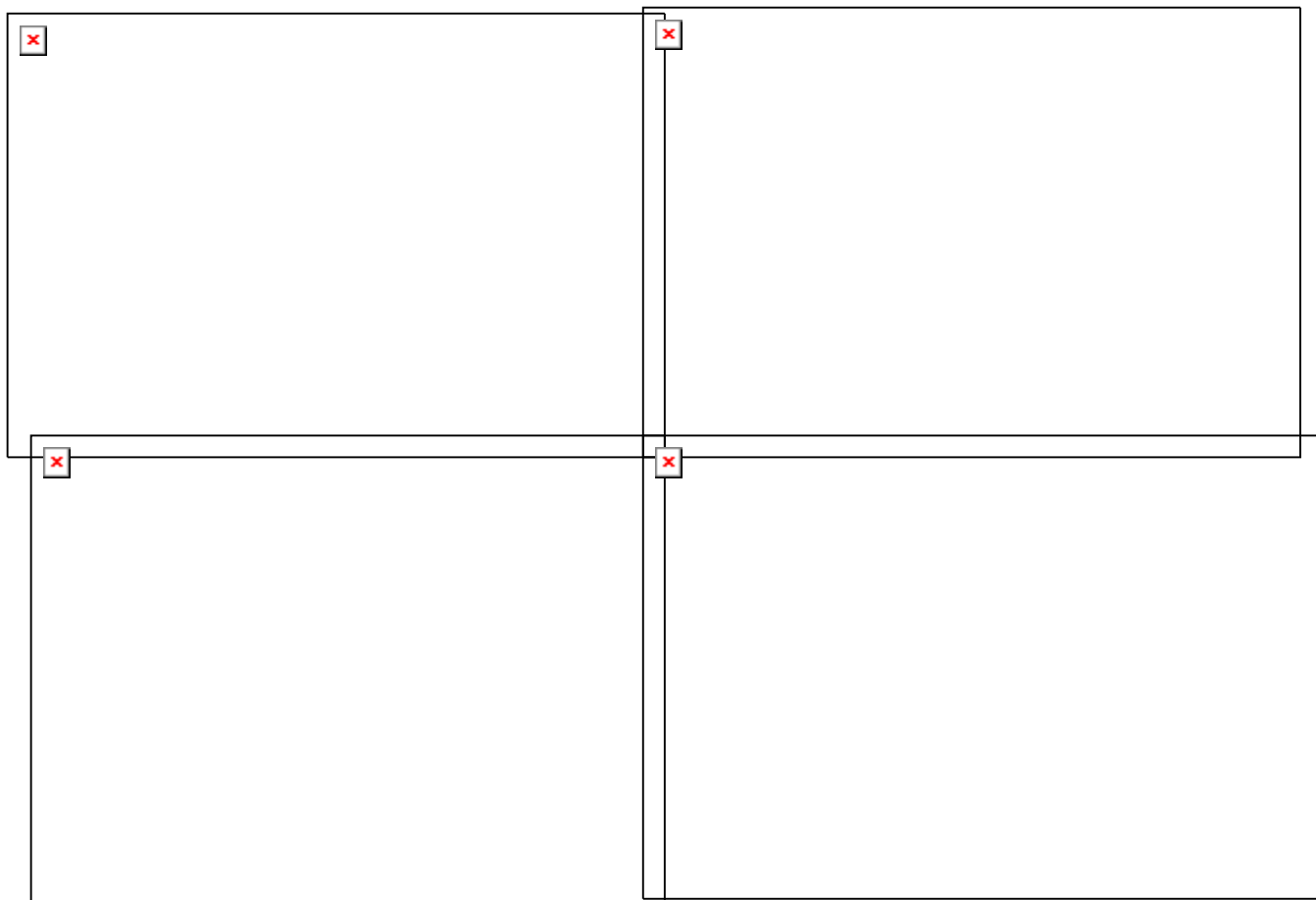
Ezt követően az 1991-ből származó kezelt talajmintákat elemeztem. A kijuttatott dózisok növekvő mennyisége mérési eredményeim alapján jól nyomonkövethető. A dózisok nagyságának emelkedése mellett az is megfigyelhető, hogy már az első évben megjelennek a talajban a szelenit forma mellett a szelenát és a szelén szerves formái is. Tehát már közvetlenül a kijuttatást követően megtörténik a szelenit kis mértékű átalakulás a talajban. A 11. ábra az 1991-ben vett talajminták vizsgálatánál kapott kromatogramokat szemlélteti.



11. ábra: Az 1991-ben vett talajminták elemzésénél kapott szelénformák és azok mennyiségeinek összehasonlítása (I: 1. ismétlés, 1,2,3,4: dózisok: 30, 90, 270 és 810 kg ha⁻¹, csúcsok: a = szerves Se formák; b = Se(IV); c = Se(VI))

Ezt követően a különböző években vett talajminták kromatogramjait hasonlítottam össze. A mérési eredmények egyértelműen mutatják, hogy a szelenit mennyisége évről évre csökken a feltalajban, míg a szelenát mennyisége nő, a szerves szelén mennyisége

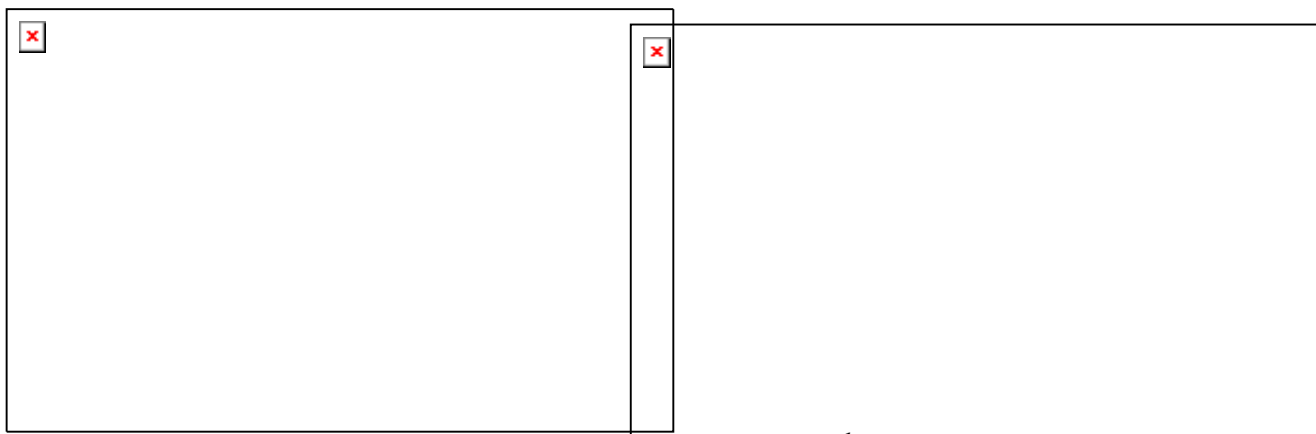
jelentősebb mértékben nem változik. A mérési eredmények a következő ábrákon láthatóak.



12. ábra: A különböző években vett feltalaj minták szelénformái, az egyes formák mennyiségének időbeli változása 1991; 1994; 1997; és 2000 években (I. ismétlés, 1. dózis: 30 kg ha^{-1} , csúcsok: a = szerves Se formák; b = Se(IV); c = Se(VI))

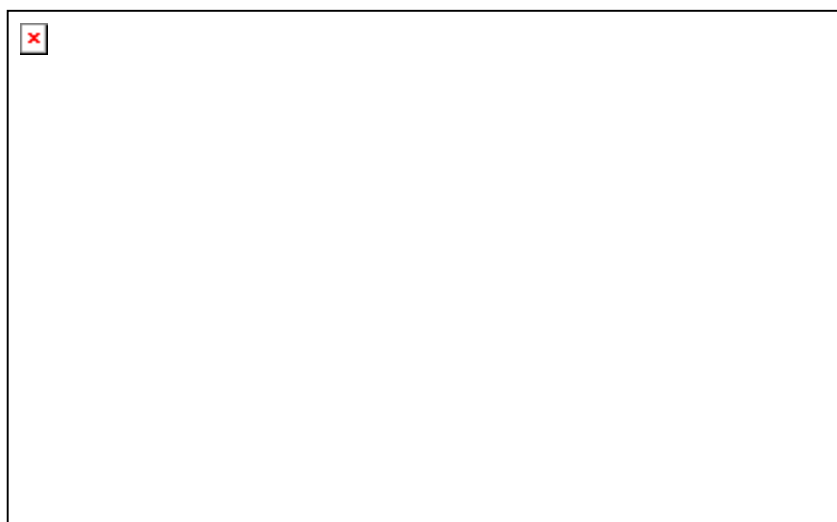
Az eredmények megfelelő szemléltetése érdekében a kromatogramokat azonos skálával ábrázoltam. Az ábrák jól mutatják, hogy a kísérletben eltelt 10 év alatt a szelenit mennyisége folyamatosan csökkent. Ennek egyik oka a folyamatos átalakulás szelenáttá és szerves szelénformákká, a másik ok pedig, a szelenit felső talajrétegből történő folyamatos lemosódása és eltávozása gázként (H_2Se).

Az átalakulás még jobban nyomonkövethető a nagyobb dózisok vizsgálatával. A 13. ábra jól szemlélteti ezt, amelyen az 1991-ben és 2000-ben vett feltalajminták szelénformáit mutatom be a 3. alkalmazott dózis esetén (270 kg ha^{-1}).



13. ábra: Az 1991-ből és 2000-ből származó 270 kg ha^{-1} szelenittel kezelt feltalajminták szelénformáinak mennyiségi összehasonlítása; 1991-es minták és 2000-es minták esetén (I. ismétlés, csúcsok: a = szerves Se formák; b = Se(IV); c = Se(VI))

A szelenit és a szelenát mennyiségének időbeni alakulását egy másik ábrán is bemutatom, amelyen a komponensek mennyiségének változását ábrázoltam oszlopdiagramon (a megfelelő szórásokkal). A 14. ábra még szemléletesebben mutatja, hogy a szelenit mennyisége a feltalajban, a kísérletben eltelt 10 év alatt csökkent, míg a szelenát mennyisége folyamatosan nőtt. Ahogy a későbbiekben látható lesz ez a mélyebb rétegekben még látványosabb, hiszen nem csak az átalakulás történik meg az időben, hanem a szelenát mélyebb rétegek felé történő vándorlása is.



14. ábra: A különböző években vett feltalaj minták szelénformáinak mennyiségi változása oszlopdiagramon ábrázolva (logaritmikus skála, minták: 270 kg ha^{-1} Na-szelenittel kezelve)

A 15. ábrán a szerves Se-formák mennyiségének változását mutatom be a kísérletben eltelt 10 év alatt.



15. ábra: Szerves Se-formák mennyiségének változása a kísérletben eltelt 10 évben (minták: 270 kg ha⁻¹-os dózissal kezelve)

Az oszlopdiagram mutatja, hogy a szerves formák mennyisége a talajban nem változott szignifikánsan, mivel a talajbaktériumok csak kis mennyiségű szelént képesek átalakítani szerves formává, nagyobb dózisoknál más mechanizmus indul be a toxicitás csökkentésére. Ugyanakkor a nagyobb dózisú szelén a baktériumok mennyiségét is csökkenti a talajban. A szerves formákká alakítás tehát a baktériumszámtól függ. Egyes kísérletekben azt tapasztalták, hogy a baktériumok a nagy mennyiségű szelént kezdetben szerves formákká, majd fém szeléné alakítják.

A szelénformák mozgása a talajban a mélységi minták vizsgálatával követhető nyomon. A szabadföldi kísérletben mélységi mintákat 3-5 évente vettek, 30 cm-enként, 3 méter mélységig. Rendelkezésemre álltak a 2000 évben vett mélységi minták a legnagyobb dózissal (810 kg ha⁻¹) kezelt területről. A minták elemzésével megvizsgálhattam, hogy az egyes szelénformák hogyan mozognak a talajban. A 16. ábra a mélységi minták elemzésénél kapott eredményeket szemlélteti.



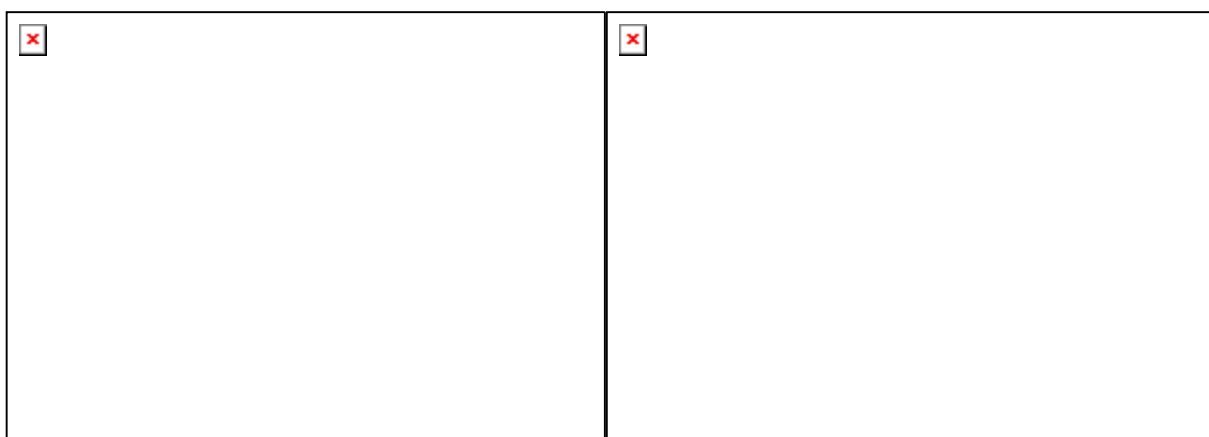
16. ábra: A 2000-ben vett mélységi talajminták szelénformáinak vizsgálata a talaj mélységi rétegeit tekintve (1. ismételés, dózis: 30 kg ha^{-1} , csúcsok: $a = \text{szerves Se formák}$; $b = \text{Se(IV)}$; $c = \text{Se(VI)}$)

Az ábrán látható, hogy a szelenit még a kísérlet megkezdése után 10 évvel is viszonylag jelentősebb mennyiségben van jelen a feltalajban, 0-60 cm mélységig. Ezt követően viszont mennyisége 1 m mélységet követően szinte teljes egészében csökken. A szerves szelénformák mennyisége hasonlóképpen alakul. A szelenát igen nagy koncentrációban van jelen még közel 3 méter mélységben is, ami mutatja egyrészt, hogy az előzetes feltevéseket igazolva, a szelenit ezen a talajtípuson idővel jórészt szelenáttá alakul, és ebben a formában vándorol a talajban. Az intenzív lefelé történő mozgás pedig arra utal, hogy a szelenát esetében fennáll a kimosódás veszélye.

A szelenit és a szelenát mennyiségének változását a talaj mélyebb rétegeiben a 17. ábra a) és b) részei mutatják be. A szelenát mozgását és kimosódását jól szemlélteti az ábra b) része.

a) SeO_3^{2-}

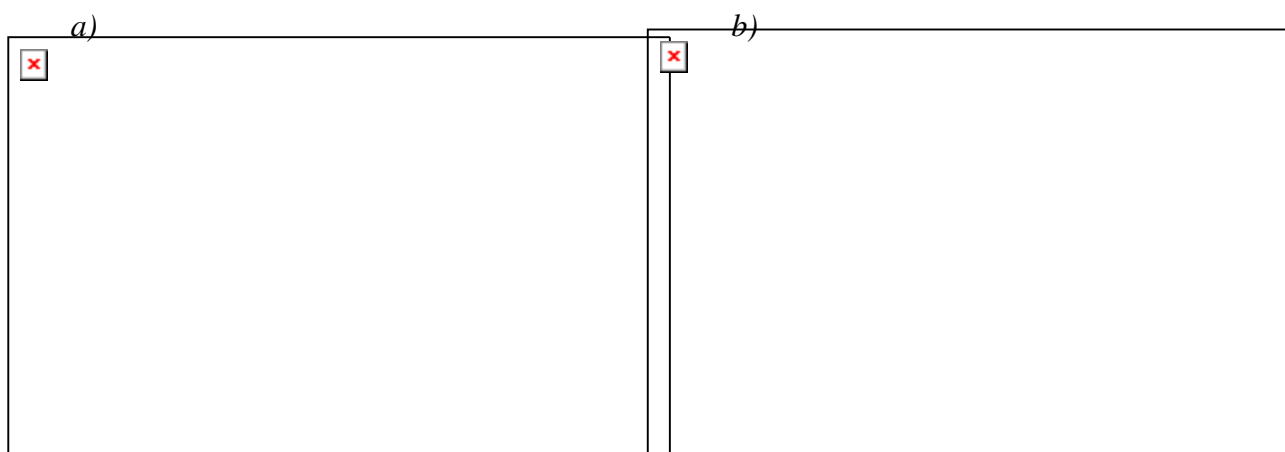
b) SeO_4^{2-}



17. ábra: A szelenit és a szelenát mennyiségének alakulása a talaj mélyebb rétegeiben a 2000-es évből származó mélységi talajmintákban

A vízzel oldható Se formák, azaz a szelenit és a szelenát is folyamatosan vándorolnak a talajban lefelé, amint azt a 16. és 17. ábrák is szemléltetik. A feltalajban, oxidatív körülmények között, megtörténik a szelenit szelenáttá alakulása, majd a szelenát vándorol a talajban lefelé. A kísérlet ideje alatt eltelt 10 év után is olyan nagy mennyiségű szelenit van a feltalajban, hogy a folyamatos átalakulás miatt ott található a szelén legnagyobb mennyisége.

Vizsgáltam továbbá a kísérletben alkalmazott ismétlések egyezését is. A vizsgálat eredményét a 18. ábrán mutatom be.



18. ábra: A kísérlet ismétléseinek vizsgálata az 1992-es minták alapján
a) I és b) II ismétlések (dózis: 270 kg ha^{-1} , csúcsok: a = szerves Se formák; b = Se(IV);
c = Se(VI))

Az ismétlések számszerűsítése végett az alábbi (8. számú) táblázatban mutatom be a számított koncentrációértékeket, valamint az azokhoz tartozó szórásokat és RSD% értékeket.

8. táblázat: A kísérlet ismétléseinek összevetése a szelénformák koncentrációi alapján (a szórásértékeket is feltüntetve)

	Koncentráció (mg kg ⁻¹)				
	I. ismétlés	II. ismétlés	átlag	szórás	RSD %
szelenit	60,3	64,3	62,3	2,85	4,57
szelenát	1,68	1,17	1,43	0,355	24,9
szerves Se formák	0,299	0,420	0,360	0,085	23,7

5.2.2. A szelén megkötődése a nagyhőrcsöki kezeletlen talajmintákban: az adszorpciós izotermák vizsgálata

Az adszorpciós izotermáknál az oldat koncentrációjának függvényében ábrázoljuk az adszorbens által megkötött anyag mennyiségét. A méréshez 15 ml különböző Se-re számított koncentrációjú (9. táblázat), szelenit és szelenát oldatot adtam a vizsgált talajminta 1,5 g-nyi mennyiségeihez, majd 2 órás rázatás és szűrés után mértem az egyensúlyi oldatok szeléntartalmát. Minden kezelést három ismételtesben végeztem, és mind a Se(IV), mind Se(VI) esetén, a kontrollal együtt 9 koncentrációértéket állítottam be.

Az adszorpciós izotermák megadják az egyensúlyi oldat (C_e [mg l^{-1}]) és az adszorbensen adszorbeált anyag mennyisége közötti függvénykapcsolatot. A mért egyensúlyi oldatkoncentráció és az ismert kiindulási oldatkoncentráció ismeretében számítottam az adszorbensen megkötött szelén mennyiségét (q_e [mg g^{-1}]) a nagyhőrcsöki mészlepedékes csernozjom talaj kontroll mintájára.

Az izotermák mérésekor beállított kiindulási és a mért egyensúlyi oldatkoncentrációkat a 9. táblázatban, az adatokból számolt, szobahőmérsékletre vonatkozó adszorpciós izotermákat pedig a 19. ábrán mutatom be.

9. táblázat: Az adszorpciós izotermák vizsgálatához tartozó kiindulási és egyensúlyi oldatkoncentrációk (mg l^{-1}) Se-re számolva, a szelenit és szelenát oldatok esetében

Kiindulási oldatkoncentrációk [mg l^{-1}]		Egyensúlyi oldatkoncentrációk (C_e [mg l^{-1}])	
Szelenit (SeO_3^{2-})	Szelenát (SeO_4^{2-})	Szelenit (SeO_3^{2-})	Szelenát (SeO_4^{2-})
87,5	85,3	34,1	51,1
65,0	66,2	24,6	38,9
43,8	42,8	15,4	24,7
17,3	17,1	5,24	9,89
8,81	8,27	2,06	5,13
4,63	4,11	1,016	2,61
1,90	1,68	0,314	0,96
0,930	0,947	0,153	0,503
0	0	0,00	0,00

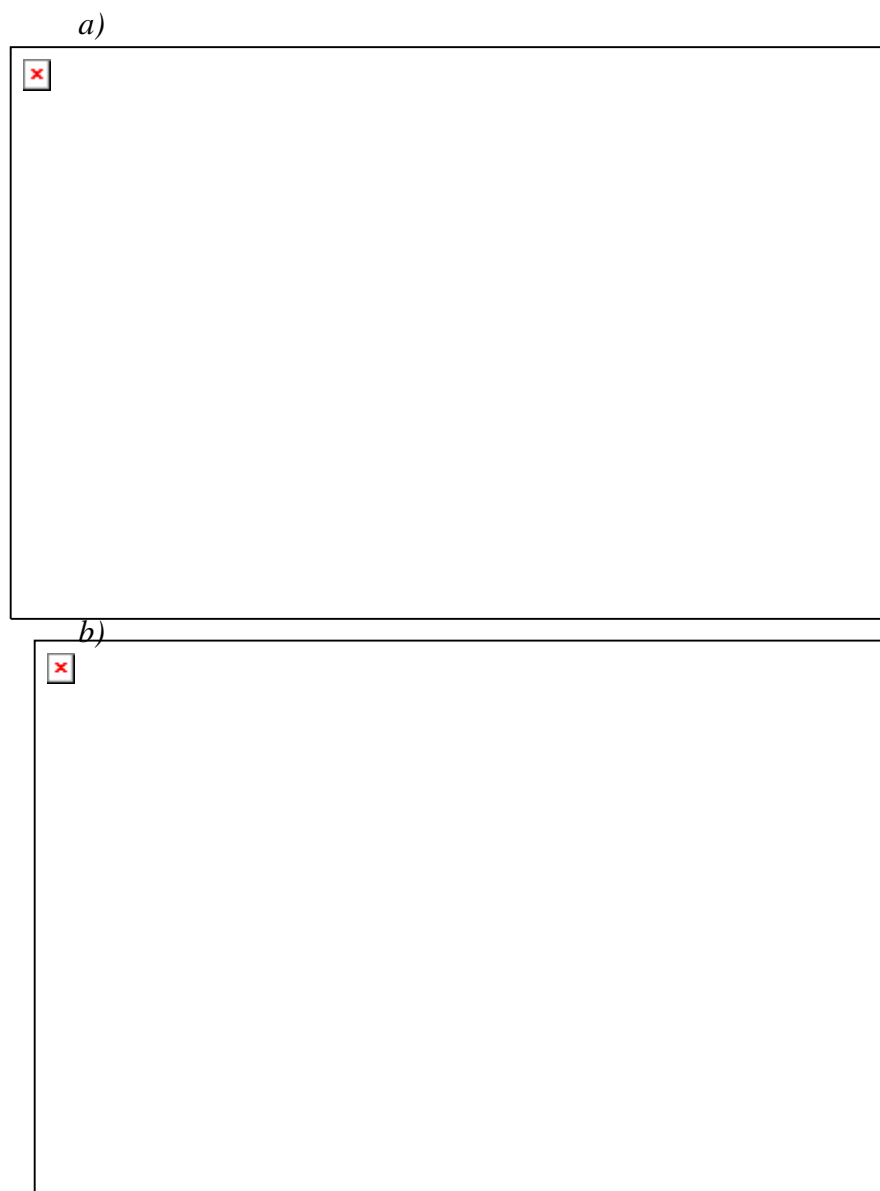


19. ábra: A szelénformák adszorpciós izotermái (q_e az egyensúlyban a talaj által adszorbeált szelén mennyisége (mg g^{-1}) egységben, C_e pedig az egyensúlyi oldat koncentrációja (mg l^{-1}))

Mind a szelenit, mind pedig a szelenát megkötődése modellezhető adszorpciós izotermákkal a vizsgált feltalajban. Az izotermák lefutása pedig jól mutatja, a már többször feltételezett, illetve leírt jelenséget; a vizsgált mészlepedékes csernozjom talajon a szelenit erősebben kötődik a talajhoz, mint a szelenát. Vagyis a Se, szelenát formájában mozgékonyabb, és ahogy a kísérletek korábbi eredményei is mutatták, ebben a formában is mozogni fog a talaj mélyebb rétegei felé. Ezzel együtt fennáll a kimosódás veszélye is.

Az adszorpciós izotermák matematikai leírására többféle izotermát is alkalmaznak. Ezek közül általánosan használt a Langmuir-, és a Freundlich-féle izoterma. A szelénformák megkötődésének modellezésére a Langmuir-féle adszorpciós izotermát használtam, amely segítségével megadható akár a talaj adszorpciós kapacitása is.

A linearizált izotermákat a 20. ábrán mutatom be. Az ábrán látható izotermák is mutatják, hogy mind a szelenit, mind pedig a szelenát adszorpciója jól közelíthető a választott modellel.



20. ábra: A szelénformák Langmuir-izotermái a) szelenit és b) szelenát esetén

Az egyenesek tengelymetszetéből és a meredekségekből kiszámíthatók a Langmuir-egyenlet paraméterei, amelyeket a 10. táblázatban foglalok össze.

Az izotermák meghatározása azért hasznos, mert így a kapott paraméterek alapján vizsgálhatjuk a szelenit és a szelenát egymáshoz viszonyított megkötődését az adott talajon.

10. táblázat: A Se adszorpciós Langmuir-izotermáinak a tengelymetszetből és az egyenesek meredekségéből számított paramétereit. A táblázatban szereplő r^2 -értékek az egyenes illeszkedésére jellemző regressziós koefficiensek.

minta	Se(IV)			Se(VI)		
	k_L [mg l ⁻¹]	Q [mg g ⁻¹]	r^2	k_L [mg l ⁻¹]	Q [mg g ⁻¹]	r^2
nagyhörcsöki mészlepedékes csernozjom talaj	0,702	17,9	0,997	21,8	20,5	0,9996

5.2.3. Az adszorpciós izotermákból számolt összes vízdoldható szelenit és szelenát mennyisége, valamint ennek összevetése a talajban lévő teljes és a kioldott összes szelénkoncentrációval

A talajminták teljes szeléntartalmát ICP-MS készülékkel határoztam meg mind a vizes kivonatokból, mind pedig a savas roncsolatokból.

Először a kontroll talaj összes felvehető szeléntartalmát határoztam meg a vizes kivonatokból, majd a savas oldatok teljes szeléntartalmát mértem meg. A vizes kivonatban meghatározott Se mennyisége $39,6 \pm 0,08 \mu\text{g kg}^{-1}$, a roncsolt talajban mért teljes Se-tartalom pedig $200 \pm 4 \mu\text{g kg}^{-1}$ volt, azaz csak kevés szelént tartalmaz a kontroll talaj. A vizes kivonat speciációs vizsgálatánál értékelhető jelet szelénkomponensre nem kaptam.

A kezelt talajok esetén kapott eredményeket táblázatos formában foglaltam össze, amelyekben a koncentrációértékekhez tartozó szórásokat is feltüntettem (minden mérés 3 ismételtsben történt). A táblázatban a roncsolt talajokból kapott teljes, a vizes kivonatokban mért összes, valamint a speciációs mérések komponenseinek koncentrációiból számolt összes szelén mennyiségei szerepelnek.

11. táblázat: A talajminták összes szeléntartalma (a roncsolt mintákban mért, a vizes kivonatokban mért és a komponensek alapján számolt koncentrációk, dózisok: 1 = 30, 2 = 90, 3 = 270, 4 = 810 kg ha⁻¹)

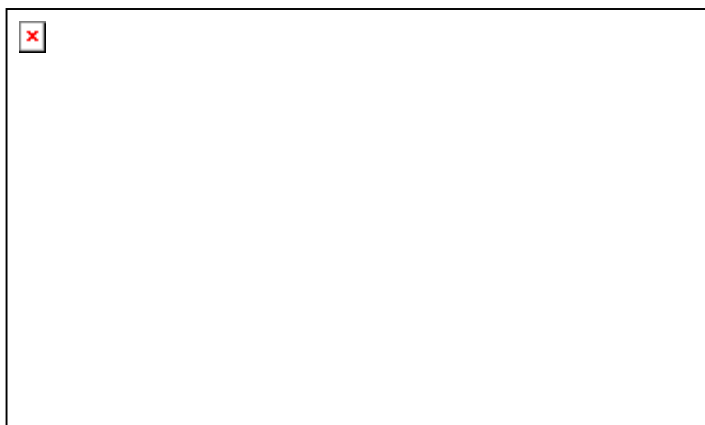
Évek/dózisok	Koncentráció (mg kg ⁻¹)		
1991	Roncsoltból (teljes)	Vizes össz. mért	Spec.-ból számolt
1	2,70±0,103	0,596±0,05	0,767±0,043
2	13,1±1,20	4,37±0,312	4,51±0,311
3	50,7±3,12	20,6±3,22	17,6±2,55
4	118±9,22	37,1±2,11	37,3±5,67
1992			
1	5,90±0,46	0,974±0,07	0,899±0,123
2	9,37±0,4	6,55±0,231	6,25±1,4
3	110±3,9	25,8±1,11	22,7±3,56
4	258±9,9	30,4±1,45	30,2±4,44
1994			
1	4,96±0,11	0,876±0,01	0,911±0,088
2	14,6±0,752	5,24±0,89	3,75±1,01
3	49,1±2,3	24,4±1,88	22,4±2,34
4	188±7,1	33,1±2,10	31,7±3,98
1997			
1	3,04±0,124	1,01±0,089	0,618±0,099
2	8,50±0,252	3,99±0,89	3,89±0,998
3	12,2±0,9	5,12±1,22	2,98±1,01
4	90,4±1,2	28,2±4,89	25,3±3,77
2000			
1	3,17±0,034	0,460±0,054	0,382±0,1
2	6,64±0,307	0,780±0,03	0,644±0,09
3	10,9±0,9	1,66±0,43	1,10±0,089
4	24,2±1,44	11,5±2,55	10,3±3,67

A 11. táblázatban látható összes Se koncentrációk jól mutatják a kezelések növekvő dózisait, valamint az időbeni szelénvesztéseget a talajban (le mosódás, növényi felvétel, gáz formában történő távozás). Az összes Se koncentráció tehát a kísérletben eltelt 10 év alatt folyamatosan csökken.

A következő ábrákon a koncentrációk szemléletesebb összevethetősége érdekében oszlopdiagramokon ábrázoltam a talaj összes szelén koncentrációit az 1991-es és a 2000-es évből (a jobb áttekinthetőség érdekében az ábrákon logaritmus skálát alkalmaztam).

Az ábrák a) részében minden esetben a savas roncsolatokban mért összes Se mennyiségét hasonlítom össze a vizes kivonatokban mért összes Se mennyiségével. Az ábrák b) részén a vizes kivonatokban mért összes Se mennyiséget hasonlítom össze szintén a vizes kivonatokban mért egyes szelénkomponensek koncentrációjának összegéből adódó összes szelén mennyiséggel (vagyis: számolt össz. $Se = c_{\text{szelenit}} + c_{\text{szelenát}} + c_{\text{szervesSe}}$). Az ábrák c) része az egyes szelénkomponensek (szerves Se, szelenit, szelenát) mennyiségét és egymáshoz viszonyított arányát szemlélteti a vizes kivonatokban.

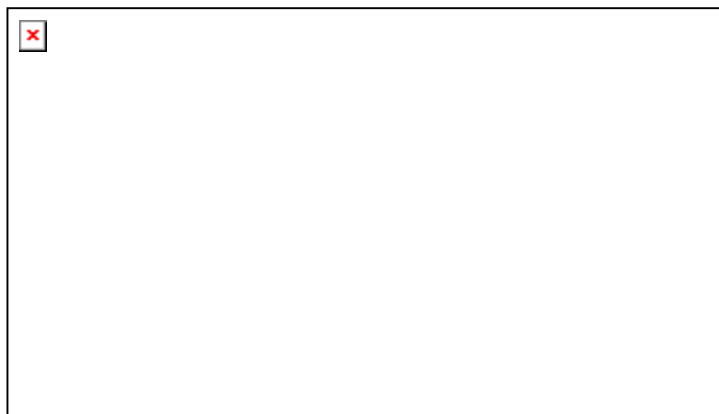
a)



b)



c)



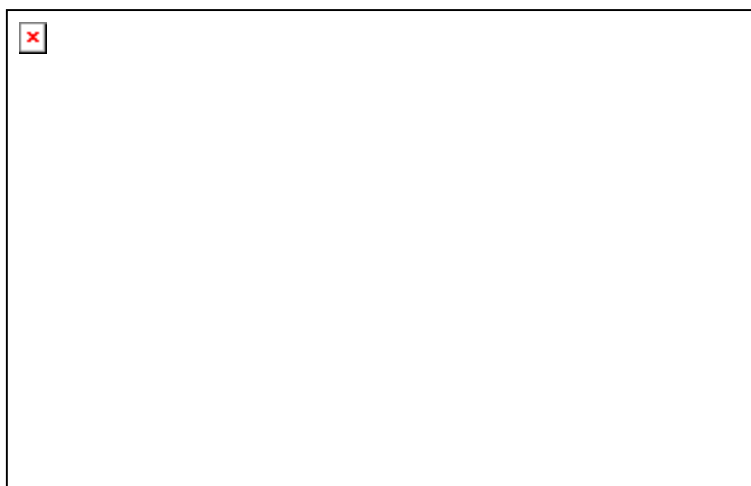
21. ábra: Összes szelénkoncentráció összehasonlítása az 1991-es évből

A diagramok mutatják az összes Se és az egyes komponensek mennyiségének növekedését a kezelés dózisainak növekedésével.

A komponensek közül nyilvánvalóan a szelenit van jelen legnagyobb mennyiségben a kísérlet első évében, de kis mennyiségben már a szerves és szelenát formák is megjelennek.

A 22. ábrán ugyanazon típusú diagramokat tüntettem fel a 2000-es évből.

a)



b)



c)



22. ábra: Összes szelénkoncentráció összehasonlítása a 2000-es évből

A bemutatott diagramokon is látható a dózisok növekedésével emelkedő szelén koncentráció. Az ábra c) részén azonban az is látható, hogy a kísérlet megkezdését követő közel 10 évben a szelenit jelentős része szelenáttá alakult.

A következőkben a 2000-es évből származó mélységi minták összes szelén koncentrációit hasonlítottam össze. A kapott koncentrációértékek, a megfelelő szórásértékekkel együtt a 12. táblázatban találhatók.

12. táblázat: Az összes szeléntartalom mg kg^{-1} egységben megadva a 2000-ben vett mélységi talajminták vizes kivonataiban

Mélység (cm)	Koncentráció (mg kg^{-1})		
	Roncsoltból (teljes)	Vizes össz. mért	Spec.-ből számolt
0-30	26,7±1,52	11,6±1,56	10,0±2,43
30-60	12,8±0,3	7,20±0,455	6,44±1,12
60-90	7,42±0,49	3,12±0,33	3,08±0,98
100-130	6,49±0,244	2,89±0,211	2,79±0,789
130-160	3,15±0,1	2,11±0,123	2,25±0,99
160-190	2,19±0,11	1,01±0,17	1,77±0,45
200-230	2,46±0,15	0,899±0,32	0,768±0,01
230-260	3,25±0,09	1,78±0,161	1,55±0,23
260-290	3,12±0,12	1,23±0,18	1,12±0,22

A táblázat adatai mutatják, hogy 2000-ben, azaz 10 évvel a kísérlet megkezdése után, 3 m mélységben is kb. 10%-a van jelen a bevitt szelénnek. A feltalajban ezáltal lecsökkent a szelén mennyisége.

A 23. ábra diagramjain a mélységi minták esetén kapott összes Se koncentrációkat ábrázoltam különböző összevetésekben a megfelelő szórásokkal együtt. A diagramok jól mutatják, hogy még a 3 méteres mélységből származó mintákban is található szelén, szelenát formájában.

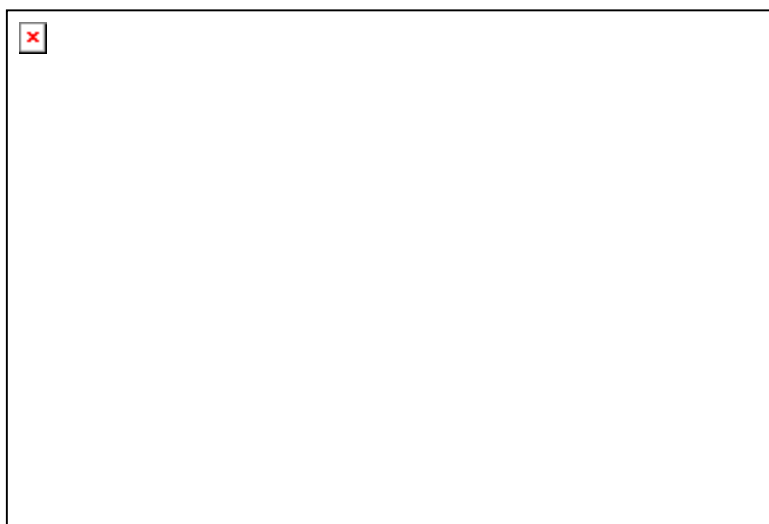
a)



b)



c)



*23. ábra: Összes szelénkoncentráció összehasonlítása
a 2000-es évből származó mélységi mintáknál*

Az összes Se koncentrációt tekintve azt is megvizsgáltam, hogy a roncsolt teljes Se tartalom és a vizes kivonatokból kapott Se koncentrációk milyen kapcsolatban állnak egymással. Vagyis, hogy milyen hatékonyságú volt a vizes extrakció a talajminták esetén. A kapott koncentráció és az azokhoz tartozó szórás-, valamint %-értékeket a 13. táblázat tartalmazza.

13. táblázat: A vizes rázatás hatékonysága az 1991-ből származó talajminták esetén (dózisok: 1 = 30, 2 = 90, 3 = 270, 4 = 810 kg ha⁻¹)

Év/dózis	Koncentráció (mg kg ⁻¹)		számolt hatékonyság %
	roncs. össz.	vizes össz.	
1991			
1	2,70±0,103	0,596±0,05	22,0 ±2,53
2	13,1±1,20	4,37±0,312	34,1 ±7,18
3	50,7±3,12	20,6±3,22	40,7 ±2,18
4	118±9,22	37,1±2,11	31,4 ±0,58

A táblázatból látható, hogy a vizes kivonat hatékonysága az általunk vizsgált nagyhörcsöki talajminták esetén 20-40%-os. Ez több, mint amit a vizes kivonatok hatékonyságáról írnak a szakirodalmakban (~ 10%). Ennek az az oka, hogy a vizsgált talajokban a Se két fő formában van jelen: szelenitként és szelenátként. Ez a két forma pedig jól oldódik vízben.

A vizes kivonatok hatékonyságának vizsgálata mellett az adszorpciós izotermákból visszaszámoltam a talajon kötve maradt vízzoldható komponensek koncentrációját is, így jól becsülhetővé vált az összes vízzoldható szeléntartalom és a talajon erősen kötve maradt szelén mennyisége (oldhatatlan szelénsók, fehérjékben, baktériumokban kötött Se, stb.).

Az adszorpciós izotermák linearizált formáinak egyenleteit felhasználva meghatározható a k_L értéke, valamint kiszámítható az adszorpcióval a talajhoz kötött szelén mennyisége. Az adszorpciós izotermák egyenletei az adott talajon:

- a szelenit esetén: $y = 39,2x + 17,9$
- a szelenát esetén: $y = 1066,8x + 20,5$

Az egyenletek alapján számolt k_L értéke szelenit esetén 0,702, a szelenát esetén pedig 21,8, ahogy az a 10. táblázatban is megtalálható. Az egyenletek átalakításával és a mértékegységek, koncentrációegységek közötti átváltások figyelembevételével az alábbi képletek szerint kapható meg a talajon adszorbeálva maradt vízzoldható komponensek mennyisége:

$$c_{\text{adsz(szelénit)}} = 1/(17,9 + 39,2/c_{\text{vizes kivonatban mért (szelenit)}} \times 10) \times 1000$$

$$c_{\text{adsz(szelénát)}} = 1/(20,5 + 1066,8/c_{\text{vizes kivonatban mért (szelenát)}} \times 10) \times 1000$$

(Az egyenletben kapott mértékegységeket lásd a 14. táblázat kiegészítéseiben).

A komponensek számolt összes vízdoldható koncentrációit, az így kapott teljes Se mennyiségeket, és ezeket összevetve a vizes kivonatokban és a roncsolatokban mért teljes szelénmennyiségekkel, illetve ezek arányait a 14. táblázat szemlélteti. Az értelmezés megkönnyítése végett az egyes oszlopokat az ABC nagybetűivel is jelöltem. A: a teljes roncsolatban mért összes Se mennyisége, B: a vizes oldatokban mért összes Se mennyisége, C: a fent leírt egyenletek segítségével számolt maradék vízdoldható Se mennyisége, amely a talajon az adszorpció miatt kötve marad. Az így kapott koncentrációkból kiszámítható az összes vízdoldható Se mennyisége, vagyis az a Se mennyiség, amely a vízben mért és a talajon kötve maradt vízdoldható Se-komponensek összegéből adódik (B+C). A kapott eredményekből ezután kiszámítottam az összes vízdoldható Se és a roncsolatokban mért teljes Se arányát $((B+C)/A*100)$. Az így kapott százaléértékek megmutatják, hogy a talajban lévő teljes Se-mennyiség mekkora része van vízdoldható formában, és mennyi Se van a talajban erősen kötött formában. A kapott számértékek azt mutatják, hogy a teljes Se-mennyiség kb. 80-90 %-a vízdoldható, és csupán kb. 10-20%-a van a talajban erősen kötve. A szelenitnek csak kis része alakul át szerves formákká, a talaj mikrobiológiai tevékenysége révén, valamint szintén csak kis része alakul át oldhatatlan szelénvegyületekké.

*14. táblázat: Mért és számított összes szelén koncentrációk és azok aránya, az 1991-ből származó talajminták esetén
(dózisok: 1 = 30, 2 = 90, 3 = 270, 4 = 810 kg ha⁻¹)*

1991	Koncentráció (mg kg ⁻¹)				
	Teljes Se, roncsoltból A ^a	Össz. mért vízdoldh. Se B ^b	Talajon adsz., számolt maradék Se C ^c	Számolt össz. vízdoldh. Se B+C ^d	Össz. vízdoldh. és teljes Se arány, % (B+C)/A*100 ^e
1	2,70	0,795	1,84	2,64	97,5
2	13,1	3,78	7,93	11,7	89,3
3	50,7	17,7	24,7	42,4	83,6
4	118	34,0	33,7	67,8	57,2

^a a teljes roncsolatból mért összes Se mennyisége (mg kg⁻¹)

^b a vizes extraktumokban mért vízdoldható Se mennyisége (mg l⁻¹)

^c a talajon az adszorpció miatt kötve maradt vízdoldható Se mennyisége (mg kg⁻¹)

^d a vizes oldatban lévő és a talajon adszorbeált vízdoldható Se összege, azaz az összes vízdoldható Se számolt mennyisége (mg kg⁻¹)

^e az összes vízdoldható Se és a roncsolt mintákban mért teljes Se tartalom aránya (%)

5.2.4. A talaj összes elemtartalmának vizsgálata és alakulása a nagydózisú szeléntrágyázás hatására

A talajminták salétromsav-hidrogén-peroxidos roncsolataiban az összes elemtartalmat ICP-OES készülékkel határoztam meg. A mérések során mészlepedékes csernozjom talajra jellemző elemtartalmat kaptam, amely értékeket a 15. táblázatban foglaltam össze. Méréseimből e helyen egy példát ragadok ki: az 1991-es évből származó talajmintákat, a 4 kísérleti dózis esetén, a kontrollhoz viszonyítva. A kapott értékekre a kísérlet ismételéséből szórást számoltam és ábrázoltam.

15. táblázat: A talajminták savas roncsolatainak összes elemtartalma az 1991-es év kezelt és kontroll talajmintáiban (dózisok: 1, 2, 3, 4 = 30, 90, 270 és 810 kg ha⁻¹)

	Koncentráció (mg kg ⁻¹)				
	kontroll	1	2	3	4
Al	22085±803	23313±806	24647±564	23104±212	23867±330
As	11,3±0,208	10,4±0,78	9,99±0,08	9,78±0,31	10,8±0,57
B	19,8±0,907	20,4±0,28	20±0,28	18,8±0,18	18,4±0,07
Ca	16547±510	14657±507	20456±1528	24675±7218	24131±3032
Cd	0,88±0,067	0,899±0,047	0,834±0,01	0,843±0,12	0,854±0,01
Co	9,68±0,415	8,39±0,37	9,07±0,39	8,44±0,1	8,74±0,23
Cr	29,5±0,891	28,7±0,64	27,6±0,21	28,9±0,49	26,7±0,07
Cu	27,1±1,74	22,3±1,34	22,9±0,07	20,9±0,71	20,7±0,57
Fe	13544±546	11654±471	12750±106	11663±76	12225±289
K	3389±299	3547±125	3969±138	3382±184	3880±256
Li	21,3±0,839	21,8±1,27	24,3±0,14	22,6±0,53	23,4±0,78
Mg	10489±484	9300±1078	1104±165	10715±898	1111±5899
Mn	703±33,2	650± 5,66	686±12	622±20,1	657±5,66
Ni	18,5±1,44	14,4±0,707	15±0,14	14,3±0,42	13,8±0,07
P	1125±66,5	1088±151	1180±82	1106±4,95	111±570,7
Pb	21,5±3,75	19,5±0,99	20,5±1,34	18,9±1,2	20±0,57
S	215±35,1	168±12	180±17	170±2,12	174±0,71
Sr	55,4±4,67	51,6±14,9	61±1,77	60,8±6,43	50,3±11,2
Zn	67,4±3,27	61,2±0,849	63,1±0,14	58,8±0,35	57,6±0,1

A koncentrációkat megvizsgáltam elemenként az egyes években valamint a különböző dózisú szelenittel kezelt parcellákról vett talajminták ismételéseiben. A mintaelőkészítés egyezését és a minták homogenitását is vizsgáltam ismételésekben.

Az egytényezős varianciaanalízissel kapott p-értékek alapján kijelenthető, hogy a nagydózisú szelenit só kijuttatása nem befolyásolta az elemek koncentrációját a talajban. A p-érték minden esetben 0,05-nál nagyobb volt, vagyis az értékek között

nincs szignifikáns különbség. A szignifikancia szinteket minden esetben a kontroll mintához viszonyítottam.

A koncentrációkat a mélységi mintákban is megvizsgáltam. A 16. táblázat a mélységi minták összes elemtartalmát mutatja be. A mélységi mintákban azt követhetjük nyomon, hogyan változik a talaj összetétele, színe és elemtartalma a talajrétegek változásával a mélyebb rétegekben. A felszíni, kb. 30-40 cm-es humuszos réteget (A és B talajszintek), fokozatosan felváltja a sárga színű löszös alapkőzet (C talajszint), amely ásványi elemekben szegényebb a humuszos, fekete színű A és B talajszintekhez képest.

16. táblázat: A talajminták savas roncsolatainak összes elemtartalma a mélységi minták esetén (mg kg⁻¹ egységben, minták: a 2000-es évből, I. ismételés)

	Talajrétegek (mélység: cm)								
	0-30	30-60	60-90	100-130	130-160	160-190	200-230	230-260	260-290
Al	23773	18860	18587	15081	14213	13611	13741	12727	12938
As	10,9	6,01	0,776	0,524	0,378	0,354	0,258	0,158	0,436
B	18,9	14,9	15,2	12,5	12	12	12,2	11,5	11,7
Ca	27461	93508	130257	130257	130257	130257	130257	130257	130257
Cd	1,13	0,918	0,992	0,966	0,945	0,927	0,923	0,965	0,955
Co	8,77	6,88	6,95	6,08	5,97	5,8	5,92	5,52	5,88
Cr	30,9	23,9	23,9	19,5	19,2	18,9	19,6	18,3	17,5
Cu	21,8	15,8	14,7	13,8	14	13,9	16,7	15,7	15,3
Fe	12466	10202	10558	9394	9247	9227	9350	9014	9168
K	3395	2668	2496	1879	1687	1935	1844	1716	2000
Li	24,3	23,7	26,2	23,9	23,3	22,8	23,1	22,2	22,2
Mg	11873	14966	21190	26521	29712	33353	38966	40492	40279
Mn	650	445	414	351	354	371	379	379	397
Ni	14,9	12,4	12,8	11,3	11,4	10,9	11,1	10,7	10,1
P	1255	809	712	550	515	530	563	554	563
Pb	19,9	10,1	7,93	4,93	5,78	5,76	5,81	6,72	5,23
S	172	94,7	71,7	32,1	27,2	14,6	12,8	33,1	10,1
Sr	68,7	83,5	136	182	200	201	208	207	203
Zn	61,8	49,1	50,3	44	43,1	42,2	43,3	41,2	41,1

A talajban az elemek egymásra gyakorolt hatását is vizsgáltam. A természetes korrelációkra találtam számos példát, amelyek normál körülmények között, vagyis a kezeletlen csernozjom talajban is előfordulnak, mint pl. az Al és Fe korrelációja. A korábban már leírt, klasszikus és ismert korrelációknak a jellemzése nem célja a dolgozatnak.

5.2.5. Stabilitási kísérlet; a szelénformák stabilitásának vizsgálata a tárolt talajmintákban

A stabilitási kísérletben azt kívántam vizsgálni, hogy a kezelt talajmintákban a laboratóriumi tárolás során is megtörténik-e a szelenit átalakulása, vagy az valóban szabadföldi körülmények között ment-e végbe. Vagyis, hogy a 10 éve tárolt minták vizsgálatánál hatással vannak-e a tárolási körülmények a vizsgálatok során levont következtetésekre. Ugyanezt az eljárást, vagyis az egyes komponensek tárolási stabilitásának vizsgálatát végzik el a hitelesített referencia anyagok (CRM) esetén is.

A kísérletben a kontroll talajmintát kezeltem szelenit oldattal, majd a kezelt mintákat 5 hónapon át tároltam 3 különböző hőmérsékleten ($-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ és $+25\text{ }^{\circ}\text{C}$).

Öt hónap elteltével a mintákat egyszerre mértem meg IC-ICP-MS módszerrel (szelén-speciációs mérések) és vizsgáltam, hogy történt-e a mintákban átalakulás a tárolási körülmények között.

A kezelt talajok esetében, a hosszabb ideig tartó stabilitási kísérlet megkezdése előtt, először a kezelt minták homogenitását kellett megvizsgálnom. Ehhez a talajokból 5-5 pontmintát vettem, amelyek egy részéből savas roncsolatokat, a másik részükből, pedig vizes kivonatokat készítettem. Az előbbiek megadták a minták teljes Se tartalmát, a vizes kivonatokat, pedig a talajok szelénformáit.

A következő ábrán a talajminta speciációs vizsgálatánál kapott kromatogram látható.



24. ábra: A kezelt talajminta kezdeti speciációs vizsgálata
(Se-re számolt 10 mg l^{-1} koncentrációjú szelenit-oldattal kezelt talaj,
csúcs: $a = \text{Se(IV)}$)

Az ábrán látható, hogy a szelenittel kezelt talaj esetében a speciációs vizsgálat során csak egyetlen csúcsot kaptam; a szelenit csúcsát. Vagyis a kiindulási időpontban, a vártak megfelelően a talajban csak a szelenit forma volt jelen. A méréseket 3 ismételtsben végeztem.

Az ismételések nagyon jól egyeznek, mind a retenciós időket, mind pedig a koncentrációkat tekintve. Ezt szemlélteti a következő táblázat a megfelelő szórásokkal együtt.

17. táblázat: Homogenitás vizsgálat a stabilitási kísérlethez előkészített, kezelt talajminták esetében

Se (IV)	
Koncentráció (mg kg⁻¹)	9,02±0,29
Retenciós idő (min)	5,08±0,046

Az egyezést az összes Se-koncentráció mérési eredményei is igazolják. Savas roncsolatokból mért teljes Se koncentráció a kezelt talajokban: 9,02±0,29 mg kg⁻¹. Vizsgálatok alapján megfelelően homogén talajmintákat kaptam a stabilitási kísérlethez; a kijuttatott koncentráció egyezik a számolt Se koncentrációval. Minimális veszteség lépett fel a kísérletet megelőző kezelés során alkalmazott 40 °C-os szárításnál.

Stabilitási kísérlet befejezését, azaz 5 hónappal a kísérlet megkezdését követően speciációs vizsgálatokkal ellenőriztem, hogy átalakult-e a tárolt talajmintákban a szelenit.

Mintáink speciációs vizsgálatait követően a kapott kromatogramokból és a komponensek alapján számolt Se koncentrációkból megállapítható volt, hogy Se komponenseket tekintve fagyasztoiban és a hűtőszekrényben tárolt minták esetében semmilyen átalakulás nem történt.

18. táblázat: Se koncentráció, szelenittel kezelt talajokban a stabilitási kísérlet végén, -20 °C és 4 °C-on tárolt minták esetén

Hőmérséklet	Tárolási idő (hónap)	Koncentráció (mg kg ⁻¹)
4 °C	0	9,95±0,25
	3	9,89±0,23
	5	10,3±0,19
-20 °C	0	9,4±0,21
	5	9,5±0,29

Az 5 hónapig szobahőmérsékleten tárolt mintákban kis mértékű átalakulás volt megfigyelhető; a szelenit kis mennyisége szerves formákká alakult.

A kromatogramon a szelenit csúcsa mellett a szerves komponensek csúcsa is megjelent, azonban ennek mennyisége igen kicsi, ahogy a 19. táblázat is mutatja, amelyben a komponensek konkrét koncentrációját tüntettem fel. Vagyis az átalakulás olyan csekély mértékű (0,001%), hogy nem számottevő a kísérlet szempontjából.

19. táblázat: A Se(IV) és szerves Se formák koncentrációja a 25 °C-on tárolt minták esetén

Állási idő (hónap)	Se(IV) (mg kg ⁻¹)	Szerves Se (µg kg ⁻¹)
0	10,7±0,65	< 0,01
3	9,57±0,76	< 0,01
5	8,51±0,55	0,087±0,007

Emellett a szelenát csúcsa nem jelenik meg a kromatogramon, vagyis a szelenit-szelenát átalakulás szobahőmérsékleten sem történt meg a vizsgált 5 hónapig tartó tárolás alatt.

Megállapítható tehát, hogy bár a szobahőmérsékleten tárolt talajban a szelenit kis mennyisége szerves formákká alakult, a szelenit átalakulása szelenáttá és szerves formákká szabadföldi körülmények között ment végbe.

5.3. A nagyhőrcsöki szabadföldi kísérletből származó növényminták vizsgálata

5.3.1. A növényminták speciációs vizsgálata, a szelénfelvétel és a növényben jelen lévő szelénformák értékelése fajtánként

Növényminták speciációs vizsgálataihoz is vizes kivonatokból határoztam meg a növényekben található szelénformákat. A vizes kivonatok növények esetében is általánosan használják: ez az egyik leggyakrabban alkalmazott és legegyszerűbb kivonószer. A mintaelőkészítést és a mérést is ugyanúgy végeztem a növények esetében, ahogy a talajoknál (kivétel, hogy a vizes extrakciónál itt 1:20 arányt alkalmaztam), és ahogy azt az Anyag és Módszer c. fejezet 4.3. és 4.6. alfejezeteiben részleteztem. A növények esetében nem állt rendelkezésemre az összes minta, az összes kezelt területről, mivel a kísérletek első évét követően a legnagyobb dózissal kezelt területeken növények teljes egészében kipusztultak, vagy ki sem keltek.

Vizsgáltam, hogy az egyes növényekben milyen formában és mekkora mennyiségben található felvett szelén, valamint milyen mértékben dúsul, átalakítják-e a növények a feltalajban nagyrészt szervetlen szelenit és szelenát formában található szelént szerves formákká. Eredmény már első minta mérésénél mutatkozott, vagyis a növények átalakítják a szelenitet szerves formákká. A következő ábra az 1991-ből, a kísérlet első évéből származó kukoricaszár minta kromatogramját mutatja a 30 kg ha⁻¹-os kezelésű területről.



25. ábra: Az 1991-ből származó kukoricaszár minták elemzésénél kapott szelénformák (II. ismétlés, dózis: 30 kg ha⁻¹, csúcsok: a = szerves Se formák; b = Se(IV))

Jól látható az ábrán, hogy már az első év legkisebb dózisú kezeléséből is megtörtént a szelén nagymértékű felvétele, dúsulása és átalakítása. A növényben a szelén nagy része szerves formában van jelen, a szerves formák mellett szelenit található.

A 26. ábrán az 1991-ből származó, növekvő dózisú nátrium-szelenittel kezelt területekről származó kukoricaszár minták szelénformáinak összehasonlítását mutatom be.



26. ábra: Az 1991-ből származó kukoricaszár minták elemzésénél kapott szelénformák (II. ismétlés, 1,2,3,4: dózisok: 30, 90, 270 és 810 kg ha⁻¹, csúcsok: a = szerves Se formák; b = Se(IV); 3 = Se(VI))

Az ábrán látható, hogy a növekvő dózisokkal a szelénkomponensek mennyisége is növekszik a növényben. A szelénre számítva 100 µg l⁻¹ koncentrációjú, 3 komponensű standard oldat kromatogramját és a csúcsmagasságokat tekintve kiszámítható az egyes komponensek koncentrációja. A kapott értékeket a 20. táblázat tartalmazza.

20. táblázat: Az egyes szelénkomponensek koncentrációja a kukoricaszár mintákban (minták: 1991 évből, 1, 2, 3, 4 dózisok)

	Koncentráció (µg kg ⁻¹)	
	szerves Se	Se(IV)
1	8,09±1,12	4,35±1,22
2	7,54±0,99	3,19±1,01
3	13,2±2,56	8,65±1,44
4	37,8±5,79	20,4±3,56

A szelénkomponensek egymáshoz viszonyított arányát szemlélteti a következő diagram. Diagramon látható, hogy a szerves komponens aránya első két kezelési

dózisnál nagyobb, a harmadik és a legnagyobb dózisok esetében azonban nagyobb a szelenit aránya. De még e két utóbbi esetben is jelentős mennyiségű szerves komponens található a növényben. A diagramon a koncentráció értékekhez tartozó szórásokat is feltüntettem. Minden mérésnél 3 ismétlést végeztem.



27. ábra: Az 1991-ből, a növekvő dózisokkal kezelt parcellákról származó kukoricaszár minták szelénformái

A kísérlet során lehetőségem volt kukorica, sárgarépa, borsó, őszi búza és őszi árpa növények vizsgálatára, valamint az 1996-ból származó spenót minták esetén külön tudtam elemezni a növény egyes részeit (szár és levél) is.

A következő ábrákon néhány növény esetén kapott kromatogramot, valamint a kezelések szintjeinek összehasonlítását mutatom be.



28. ábra: Az 1992-ből származó sárgarépagyökér minták szelénformái a növekvő dózisokban (I. ismétlés, 1,2,3: dózisok: 30, 90 és 270 kg ha⁻¹, csúcsok: a = szerves Se formák; c = Se(VI))

Látható, hogy a sárgarépa-gyökér minták esetében is csak két szelénkomponenst kaptunk a speciációs vizsgálatok során. Ebben az esetben viszont, a szerves forma mellett jelentős mennyiségű szelenát van jelen, míg a szelenit nem jelenik meg.

Jól látható, hogy a talajba kijuttatott emelkedő szelén mennyiséggel a növényekben is növekszik a szelén, ill. a szelénformák koncentrációja. A komponensek egymáshoz viszonyított aránya a sárgarépa esetében csak a 3. kezelésnél változik. Ezt mutatja be a következő diagram.



29. ábra: Az 1992-ből, a növekvő dózissal kezelt parcellákról származó sárgarépagyökér minták szelénformái

A sárgarépánál is jelentős mennyiségben, illetve arányban találhatók meg a növényben a szerves komponensek, és csak a 3. dózis esetén haladja meg a szelenát mennyisége a szerves komponensek koncentrációját.



30. ábra: Az 1997-ből származó őszi búza minták szelénformái a növekvő dózisokban (II. ismételés, 1,2: dózisok: 30 és 90 kg ha⁻¹, csúcsok: a = szerves Se formák; b = Se(IV); c = Se(VI))

A 30. ábrán látható őszi búza kromatogramjának esetében azt tapasztaljuk, hogy a szerves és szelenát formák mellett kis mennyiségben már van jelen szelenit is a növényben, azonban a fő komponense itt is a szelenát. Ennek részint az az oka, hogy 1997-re már a talajban is jelentős mennyiségű szelenát található. A komponensek egymáshoz viszonyított arányát a 31. diagramon mutatom be.



31. ábra: Az 1997-ből, a növekvő dózissal kezelt parcellákról származó őszi búza minták szelénformái

A következőkben még a borsó és az őszi árpa minták szelénformáinak arányát mutatom be egy-egy oszlopdiagramon, a megfelelő szórásokkal együtt. A diagramokon nyomonkövethető a dózisok növekedésével a szelénkomponensek növekedése, illetve

az egyes komponensek egymáshoz viszonyított aránya. Megfigyelhető, hogy mindkét növény esetében, de különösen a borsónál, igen nagy arányban van jelen a szelenát.



32. ábra: Az 1994-ből, a növekvő dózisokkal kezelt parcellákról származó borsószár minták szelénformái



33. ábra: A 2000-ből, a növekvő dózisokkal kezelt parcellákról származó őszi árpa minták szelénformái a növekvő dózisokkal kezelt mintákban

A kísérletek alapján úgy tűnik, hogy az igen nagy koncentrációknál (azaz a 270 és 810 kg ha⁻¹-os terhelési szinteknél) a növényekben inkább a szelén toxikusabb szervesetlen sói dúsulnak fel. Különösen igaz ez a szelenátra, amelynél valószínűsíthető, hogy a növények könnyebben felveszik, mivel gyengébb adszorpciós sajátsága miatt könnyebben mozog a talajban. A vizsgált szántóföldi növények ugyanakkor látszólag nem is alakítják át a szelenátot szerves formákká, vagy legalább is csak kisebb mennyiségben. Ezt jól mutatja az őszi árpa és a borsó szelénkomponenseinek aránya.

Jelentős mennyiségű szelenát található a növényekben, míg a szerves komponensek mennyisége kisebb, szelenitet pedig az őszi árpánál már nem is találunk. Ez kedvezőtlen a növények szempontjából, mivel a szelenát forma toxikusabb a növények számára. A nagyobb dózisok vizsgálatára mindazonáltal csak a kukorica és a sárgarépa esetében volt lehetőségem, mivel a többi növény teljes pusztulását okozta a nagy dózisban kijuttatott szelén.

Összességében elmondható, hogy a szerves forma kisebb-nagyobb mennyiségben minden általam vizsgált, kezelt növénymintában megtalálható, a legtöbb esetben ez az egyik fő komponens a növényekben. A speciációs vizsgálatok azt is megmutatták, hogy a szelén dúsul a növényekben, és sokkal nagyobb koncentrációban van jelen az egyes növényi részekben, mint a talajban. A mérési eredmények alapján az is megállapítható, hogy az egyes növényi részek ugyanolyan mértékű szelén-dúsulást mutatnak, vagyis nemcsak pl. gyökérközelben tapasztalunk szelénfelhalmozódást, hanem a növény minden részében közel azonos mennyiségben található szelénformák. Ez is alátámasztja a már korábbi kísérletekben megállapított feltevést (KÁDÁR, 1995), miszerint a szántóföldi növények esetén nem létezik olyan genetikai gát, amely megakadályozná a szelén nagy mennyiségben történő felvételét, vagyis szinte korlátlan dúsulás alakulhat ki a növényekben, azok pusztulásáig, azaz a toxikus koncentráció eléréséig. Ilyen genetikai szűrő létezik a növényekben az igen toxikus elemek esetében, mint pl. a Hg, Pb vagy a Cd, amely elemek a növény gyökér részében halmozódnak fel és onnan nem szállítódnak tovább más növényi részbe.

Az 1996-os spenót minták esetében az egyes növényi részeket is vizsgálhattam. Rendelkezésemre álltak külön spenót szár- és levélminták.

A speciációs vizsgálat során azt tapasztaltam, hogy mind a szár, mind pedig a levél jelentős mennyiségű szelént tartalmaz, és mindkét esetben jelentős a mennyisége a szelenátnak. A levél látszólag csak két formát tartalmaz: szerves formákat és szelenátot, míg a szárban kis mennyiségű szelenit is jelen van. A koncentrációarányokat a következő két diagram mutatja be szemléletesebben.



34. ábra: Az 1996-ból, a növekvő dózisokkal kezelt parcellákról származó spenótlevél minták szelénformái



35. ábra: Az 1996-ból, a növekvő dózisokkal kezelt parcellákról származó spenótszár minták szelénformái

5.3.2. Növényminták összes szelén koncentrációjának vizsgálata és összevetése a vizes kivonatokban kapott szelénkomponensek koncentrációival, ismételések összevetése

A növénymintákból salétromsavas-hidrogén-peroxidos feltárással savas roncsolatokat készítettem. Ezt követően a minták teljes Se koncentrációját mértem ICP-MS készülékkel. A kapott eredményeket táblázatos formában foglaltam össze, amelyekben a koncentráció értékekhez tartozó szórásokat is feltüntettem (minden mérés, illetve mintaelőkészítés 3 ismételében történt). A táblázatban a roncsolt növénymintákból kapott teljes, a vizes kivonatokban mért összes, valamint a speciációs mérések komponenseinek koncentrációiból számolt összes szelén mennyiségei szerepelnek.

21. táblázat: A kukoricanövény minták összes szeléntartalma (a roncsolt mintákban mért, a vizes kivonatokban mért és a komponensek alapján számolt koncentrációk, dózisok: 1 = 30, 2 = 90, 3 = 270, 4 = 810 kg ha⁻¹)

Évek/dózisok	Koncentráció (mg kg ⁻¹)		
1991	Roncsoltból (teljes)	Vizes össz. mért	Spec.-ból számolt
1	8,40±0,757	0,456±0,03	0,368±0,058
2	7,88±0,362	0,336±0,076	0,321±0,144
3	10,5±0,283	0,733±0,123	0,492±0,203
4	18,0±2,62	1,48±0,455	0,920±0,248
1992			
1	20,8±3,69	3,41±1,01	2,71±1,34
2	28,0±5,63	3,91±1,02	3,65±1,54
3	50,6±7,57	10,5±2,13	7,66±1,45
1994			
1	42,9±5,34	10,0±2,56	7,36±2,57
2	106±12,3	23,0±2,44	20,7±1,55
1997			
1	16,1±2,56	2,56±0,988	2,16±0,889
2	67,3±5,89	12,5±1,78	9,46±1,89
2000			
1	18,4±3,11	4,56±1,23	3,61±1,33
2	181±22,4	33,5±4,23	31,2±5,56

A 21. táblázatban található összes Se koncentrációk mutatják a kezelések növekvő dózisait. A táblázat adatai mutatják, hogy a kijuttatott szelenit mennyiségének

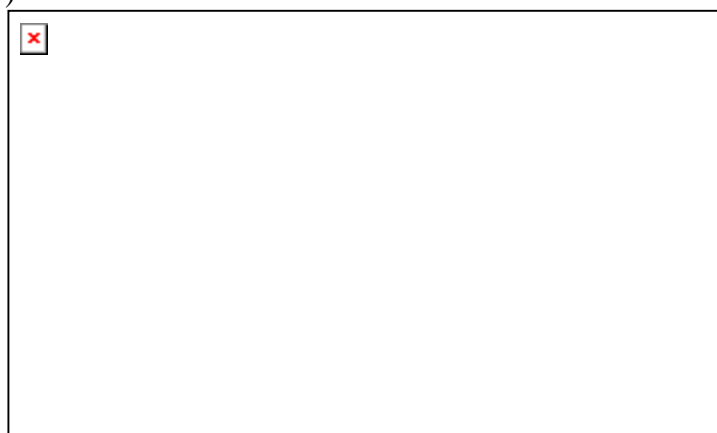
növekedésével a növények szeléntartalma is növekszik. A talajba juttatott mennyiségekhez képest a növényekben kb. háromszoros a dúsulás. Egyes kísérletekben a kukoricanövényben tapasztalt 5-14-szeres dúsulást írtak le szelénre (TRELEASE és DI SOMMA, 1944).

A következő ábrákon a koncentrációk szemléletesebb összevethetősége érdekében diagramokon ábrázoltam az egyes növények összes szelén koncentrációit (a jobb áttekinthetőség érdekében néhány ábrán logaritmikus skálát alkalmaztam). Az ábrák a) részében, csakúgy, mint a talajmintáknál, minden esetben a savas roncsolatokban mért összes Se mennyiségét hasonlítom össze a vizes kivonatokban mért összes Se mennyiségével. Az ábrák b) részén a vizes kivonatokban mért összes Se mennyiséget hasonlítom össze szintén a vizes kivonatokban mért egyes szelénkomponensek koncentrációjának összegéből adódó összes szelén mennyiséggel (vagyis: számolt össz. $Se = c_{szelenit} + c_{szelenát} + c_{szervesSe}$).

a)

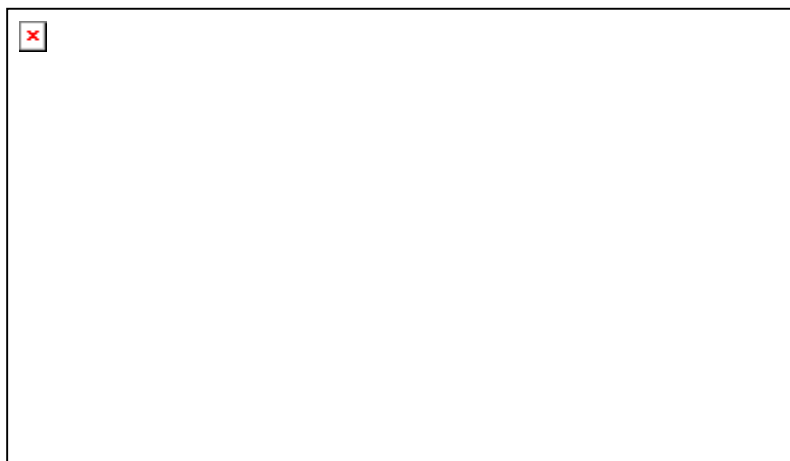


b)



36. ábra: Összes szelénkoncentráció összehasonlítása az 1991-es kukoricaszár mintákban

a)

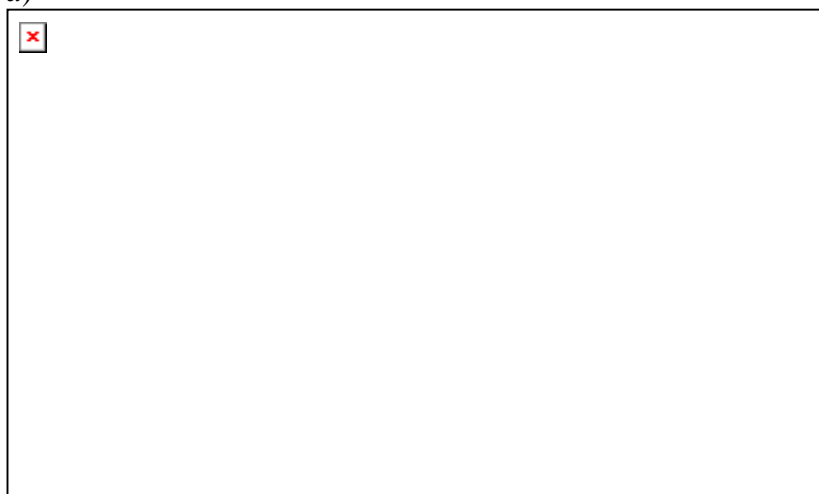


b)



*37. ábra: Összes szelénkoncentráció összehasonlítása
az 1992-es sárgarépagyökér mintákban*

a)



b)



38. ábra: Összes szelénkoncentráció összehasonlítása az 1994-es borsószár mintákban

a)



b)



39. ábra: Összes szelénkoncentráció összehasonlítása az 1997-es őszi búza mintákban

a)



b)



40. ábra: Összes szelénkoncentráció összehasonlítása az 2000-es őszi árpa mintákban

A diagramok is jól mutatják az összes Se mennyiségének növekedését a kezelés dózisainak növekedésével. Valamint látható még, hogy a vizes kivonatokból mért összes Se és a komponensek koncentrációiból számolt összes Se mennyisége közel azonos.

A növényminták esetén is vizsgáltam, hogy milyen hatékonyságú volt a vizes extrakció a mintaelőkészítés során. A kapott koncentráció és az azokhoz tartozó szórás, illetve % értékeket a sárgarépagyökér minták esetében a 22. táblázat tartalmazza.

22. táblázat: A vizes ráztatás hatékonysága az 1992-ből származó sárgarépagyökér minták esetén (dózisok: 1, 2, 3 = 30, 90 és 270 kg ha⁻¹)

Év/dózis	Koncentráció (mg kg ⁻¹)		számolt hatékonyság, %
	roncs. össz.	vizes össz.	
1992			
1	20,8±3,69	3,41±1,01	13,0±1,45
2	28,0±5,63	3,91±1,02	13,1±1,86
3	50,6±7,57	10,5±2,13	15,1±2,66

A táblázatból látható, hogy a vizes kivonat hatékonysága a nagyhörcsöki növényminták vizes extrakciója esetén nagyjából 13-15%-os. Ez nagyjából megegyezik a szakirodalmakban leírt növényi vizes extrakció hatásfokával (~ 10%) (CASIoT et al., 1999; YIQIANG és FRANKENBERGER, 2001).

Vizsgáltam a kísérleti ismételések egyezését is. A 23. táblázatban az 1991-es kukoricaminták roncsolatainak teljes Se koncentrációira számolt átlagot, szórást és RSD% értékeket tüntettem fel a két ismételésből.

23. táblázat: A kísérleti ismételések egyezése az 1991-ből származó kukoricaminták esetén (dózisok: 1, 2, 3, 4 = 30, 90 270 és 810 kg ha⁻¹)

Év/dózisok	Koncentráció (mg kg ⁻¹)		Átlag	Szórás	RSD%
	I.	II.			
1991					
1	7,86	8,93	8,40	0,757	9,01
2	8,13	7,62	7,88	0,361	4,58
3	10,7	10,3	10,5	0,283	2,69
4	16,1	19,8	18,0	2,62	14,6

Az RSD% értékek és az egytényezős varianciaanalízis eredményi alapján a kísérleti ismételések jól egyeznek. A varianciaanalízisből számolt p-érték: 0,08, vagyis az adatok között nincs szignifikáns eltérés.

5.3.3. A növényminták összes elemtartalmának vizsgálata és alakulása a nagy dózisú szeléntrágyázás hatására

A növényminták savas roncsolataiból az összes elemtartalmat is meghatároztam ICP-OES készülékkel, majd vizsgáltam a nagy dózisú szeléntrágyázás hatását a növényi elemfelvételt egyéb elemekre. Nem állt rendelkezésemre minden növény esetén az összes kísérleti területről származó minta, így a korrelációkat érdemben csak az 1991-ből származó kukoricaszár minták esetén tudtam vizsgálni. A többi esetben kevés pont állt rendelkezésemre, amelyek alapján megbízható következtetéseket nem tudtam levonni.

A 24. táblázatban a kukoricaszár minták összes elemtartalma látható a hozzájuk tartozó megfelelő szórásértékekkel, a 4 kísérleti dózis és a kontroll minták esetén.

24. táblázat: Kukoricaszár minták savas roncsolatainak összes elemtartalma az 1991-es évből (dózisok: 1, 2, 3, 4 = 30, 90, 270 és 810 kg ha⁻¹, valamint a kontroll minta)

	Koncentráció (mg kg ⁻¹)				
	kontroll	1	2	3	4
Al	318±52,0	382±56,7	252±23,7	354±12	661±6,36
B	4,85±0,113	4,01±0,37	3,77±0,39	4,92±0,998	6,84±1,94
Ca	3458±120	3349±554	3008±184	3058±51,6	3741±231
Cd	0,111±0,02	0,133±0,01	0,110±0,002	0,127±0,01	0,161±0,007
Co	0,300±0,055	0,319±0,07	0,271±0,004	0,318±0,009	0,424±0,008
Cr	1,06±0,573	0,970±0,96	0,599±0,034	0,456±0,057	0,866±0,08
Cu	8,45±0,445	8,53±0,52	7,9±0,467	9,02±0,601	10,5±1,27
Fe	510±112	568±122	396±56,6	548±19,8	944±1,41
K	1965±198	1858±89,1	1939±260	1761±92,6	1793±120
Li	0,485±0,099	0,540±0,16	0,419±0,04	0,510±0,009	0,806±0,02
Mg	2483±178	2313±62,3	2140±52,3	2138±250	2293±275
Mn	64,6±1,13	56,6±14,1	45,9±2,4	54,9±5,44	71,8±17
Ni	0,456±0,481	0,355±0,12	0,123±0,014	0,236±0,047	0,762±0,03
P	989±235	1095±244	695±51,6	898±116	1305±242
S	1054±65,1	896±12	913±137	922±12	1040±57,3
Sr	12,0±1,98	13,3±3,82	10,5±1,22	11,5±0,565	13,7±4,88
Zn	10,8±0,141	10,0±2,69	11,8±3,61	8,00±1,29	12,3±3,59

A szeléntrágyázás növények elemfelvételére gyakorolt hatásának vizsgálatát egytényezős varianciaanalízissel végeztem. A statisztikai vizsgálat p-értékei alapján a

következő elemekre volt hatással a szeléntrágyázás: Al, Cd, Co, Fe, Li. Ezen elemek felvételét kismértékben növelte. A 25. táblázat mutatja be a megfelelő p-értékeket.

25. táblázat: Egytényezős varianciaanalízis p-értékei a kukoricaminták összes elemtartalmának vizsgálatánál (SZD_{5%} szignifikancia szint mellett)

Elemek	Varianciaanalízis p-értékei:
Al	0,046
B	0,185
Ca	0,221
Cd	0,013
Co	0,044
Cr	0,747
Cu	0,108
Fe	0,035
K	0,703
Li	0,040
Mg	0,705
Mn	0,295
Ni	0,509
P	0,695
S	0,337
Sr	0,740
Zn	0,664

A varianciaanalízis alkalmazásánál, illetve a szignifikancia szintek számításánál a kezelt területekről származó növények elemtartalmi adatait a kontroll területekről származó növények elemkoncentrációihoz viszonyítottam.

Az említett elemek koncentrációjának változását a Se-dózisok növekedésével, azaz a megfelelő korrelációkat a 41. ábra a); b); c); d); és e) részein mutatom be.

a)



b)



c)



d)



e)



41. ábra: Elemkorrelációk a kukoricánövényben, a kezelésekkel a talajban növekvő Se mennyiségek hatására

Az elemfelvétel növekedését nem a talaj pH-jának változása okozta, mivel a pH csak kismértékben változott a kezelések hatására ($\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}} (\text{kontroll}) = 7,65 \pm 0,05$; $\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}} (2000) = 7,4 \pm 0,05$).

A rendelkezésemre álló első 2 dózissal kezelt területről származó többi növényminta összes elemtartalmát vizsgálva, az adott növényre jellemző elemtartalmakat kaptam.

6. KÖVETKEZTETÉSEK

Napjainkban a szelénhiányos táplálkozásból adódó betegségek száma növekszik, így a szelénpótlás táplálkozásunkban szükségszerűnek látszik. A pótlás módja lehet, ha valamilyen szelén só adagolásával a talajba plusz szelént juttatunk a termesztett gazdasági növények számára, melyeket növényi élelmiszerkiegészítő alapanyagként, humán táplálkozásra használunk fel, természetesen a megfelelő kontroll mellett. Ezzel kapcsolatban azonban számos kérdés merül fel, pl. hogy mely Se vegyületek lehetnek alkalmasak trágyázásra és milyen dózisokban? Hogyan, milyen formában veszik fel a növények a szelént és azokra milyen hatással van? Illetve, milyen környezeti terhelést jelenthet az adott szelénvegyületek kijuttatása? Ezzel kapcsolatosan végeztem kísérleteimet, szabadföldi szelénkezeléses kísérlet mintaanyagának felhasználásával.

A minták szelénkomponenseinek kinyeréséhez 1:10-es rázatási arányú hideg vizes (25 °C) extrakciót, a teljes szeléntartalom meghatározásához pedig salétromsavas-hidrogén-peroxidos nedves roncsolást alkalmaztam.

Az ICP-MS mérés paramétereinek optimálása során megvizsgáltam az ütközési cella (CCT) alkalmazásának szükségességét. A mérések egyértelműen azt mutatták, hogy a Se kis koncentrációban történő meghatározásához, különösen a ^{80}Se -as izotóp vizsgálatánál, mindenképpen szükséges ütközési cellát alkalmazni. Ennek használata nélkül a mérés érzékenysége jelentősen csökken a zavaróhatások (pl. a nagy háttér) miatt.

Vizsgálataim alapján megállapítottam, hogy a kontroll talajminta összes Se tartalma $200 \pm 4 \mu\text{g kg}^{-1}$.

A kezelt talajminták vizsgálata során megállapítottam, hogy a mészlepedékes csernozjom talajra juttatott szelenit nagy része a kísérletben eltelt 10 év alatt szelenáttá alakult és ebben a formában mozgott a talaj mélyebb rétegei felé. Kis mennyiségben szerves komponensek is képződtek, de ezek mennyisége a szelenit és a képződő szelenát mennyiségéhez képest nem jelentős.

Azt tapasztaltam továbbá, hogy a szelén kimosódásának veszélye is fennáll a talajban, mivel a mérések során még közel 3 méter mélységben is jelentős mennyiségű szelén volt mérhető, szelenát formájában. A talaj felső 60 cm-es rétegét követően a szelenit és a szerves formák mennyisége a kimutatási határ alatt maradt.

Kísérleteim során vizsgáltam a szelenit és a szelenát megkötődését is mészlepedékes csernozjom talajon. A kapott eredményekből felrajzoltam a megkötődések adszorpciós

izotermáit, melyekből látható, hogy mind a szelenit, mind pedig a szelenát megkötődése jól modellezhető az adszorpciós izotermákkal a vizsgált feltalajban. Az izotermák lefutása jól mutatja, hogy a vizsgált mészlepedékes csernozjom talajon a szelenit erősebben kötődik a talajhoz, mint a szelenát. Vagyis a Se, szelenát formájában mozgékonyabb.

A Langmuir-féle adszorpciós izotermák linearizált formájának egyenleteiből, ill. az egyenletek paramétereiből kiszámítottam a teljes vízdoldható szelenit és szelenát mennyiségét, vagyis a vizes extrakció során az oldatba kioldódó és a talajon az adszorpció miatt megkötve maradt komponensek mennyiségének összegét. A számolt koncentrációk összevethetők a talajok teljes szeléntartalmával és így pontosabban becsülhető a talajon az egyes szelénkomponensek megkötődése.

A vizes extrakció hatékonyságának vizsgálatakor, a kapott értékek (~ 20-40%) nagyobbak voltak, mint a nemzetközi irodalomban általában leírt 10%-os hatékonyság. Ennek az az oka, hogy az általam vizsgált talajban a szelén főként vízdoldható (szelenit és szelenát) formában van jelen, és elhanyagolható a fehérjékhez, illetve baktériumokban kötött szerves komponensek mennyisége. A vízdoldható komponensek teljes mennyisége becsülhető az adszorpciós izotermákból, melyekből kiszámítottam, hogy a talaj összes szeléntartalmának mindössze 10-20%-a van erősen kötött formában.

A savas roncsolatok összes Se tartalmának vizsgálatánál azt tapasztaltam, hogy a kijuttatott szelén dózisok növekedésével a szelén mennyisége növekszik a talajban. A feltalajban viszont csökken a szelén mennyisége a kísérletben eltelt 10 év alatt (leemosódás, növényi felvétel, gáz formában történő távozás miatt).

A talajminták összes elemtartalmának vizsgálata, valamint statisztikai elemzése azt eredményezte, hogy a kijuttatott nagy mennyiségű szelenit só nem volt hatással a talaj összes elemtartalmának alakulására a kísérlet 10 éve alatt. A különböző dózisokkal (30, 90, 270 és 810 kg ha⁻¹) kezelt parcellák talajainak, valamint az egyes évekből származó talajminták összes elemtartalmának statisztikai elemzése nem mutatott szignifikáns különbséget a vizsgált elemek koncentrációi között.

A talajok esetében elvégezett stabilitási kísérlet első lépésében homogenitási vizsgálattal megállapítottam, hogy az általam kezelt minták megfelelően homogének. A kísérlet 5 hónapjának elteltével, a vizes kivonatok speciációs vizsgálatánál megállapítottam, hogy a fagyasztóban (-20 °C) és hűtőszekrényben (4 °C) tárolt mintákban semmilyen átalakulás nem történt, míg a szobahőmérsékleten (25 °C) tárolt mintákban kis mértékű átalakulást tapasztaltam. Ez utóbbi esetben a szelenit egy része

szerves formákká alakult, de ez az átalakulása olyan csekély mértékű (0,001 %) volt, hogy ez a kísérlet szempontjából nem számottevő. Kijelenthető, hogy a szelenit átalakulása az eredeti mintákban szabadföldi körülmények között ment végbe.

A szabadföldi kísérletben termesztett növényekben, a speciációs analitikai vizsgálatok alapján, a szelén alapvetően két fő formában volt jelen: szerves komponensek és szelenát formájában. Néhány növényben csak két forma a szerves formák és a szelenit (pl. kukoricaszár) vagy a szerves formák és a szelenát (pl. sárgarépa-gyökér, őszi árpa), másokban (pl. őszi búza, borsószár) mind a három komponens (Se(IV), Se(VI) és szerves formák) megjelent eltérő mennyiségben, de a szelenit aránya minden esetben kevés maradt a szerves komponensekhez és a szelenáthoz képest. A sárgarépa, a borsó, az őszi búza és az őszi árpa esetében is igen nagy a szelenát aránya a növényben; különösen igaz ez a borsószár esetében.

A jelentős mennyiségű szelenát jelenlétének egyik oka, hogy a növények szelenát formájában veszik fel a szelént, azaz a szelenát felvétele könnyebb a növények számára, a szulfáthoz való hasonlósága miatt. Mivel a szelenit szelenáttá alakulása miatt a kísérlet későbbi éveiben egyre nagyobb mennyiségben van jelen a talajban a szelenát, a növények számára hozzáférhető lesz. Ez magyarázhatja azt is, hogy a kísérlet első két évében nem volt olyan toxikus hatású a szelén a növényekre, mint a későbbiekben. A csak kis mennyiségben előforduló vagy hiányzó szelenitre magyarázat, hogy ebben a formában is felveszik a növények a szelént, de olyan gyorsan alakítják át más (főleg szerves) formákká, hogy emiatt a szelenit jelenlétét nem, vagy csak kis mértékben tapasztaljuk. Mindazonáltal a rendelkezésemre álló adatokból nem jelenthető ki erre vonatkozólag konkrét megállapítások.

A savas roncsolt növénytípusok, valamint a vizes kivonatok összes szelén tartalmát összevetve kiszámoltam a vizes kivonat hatékonyságát, amely 13-15% volt. Ez jól egyezik a nemzetközi irodalmakban közölt tapasztalatokkal, miszerint a vizes kivonatok hatékonysága általában kb. 10%. A savas roncsolatok összes Se tartalmát összevetve a talajminták összes szeléntartalmával megállapítottam, hogy a növényekben kb. háromszoros Se dúsulás tapasztalható, amely a szakirodalmak alapján megalapozott.

Az 1996-ból származó spenótminták esetén volt alkalmam vizsgálni a növény különböző részeit és azok Se tartalmát. A vizsgálatok azt mutatták, hogy az egyes növényi részekben hasonló arányban van jelen a szelén, vagyis a növény minden részében jelen van, nem csak adott helyeken dúsul.

Végül azt is vizsgáltam, hogy a kijuttatott nagy dózisú szelenit só befolyásolta-e a növényekben az egyéb elemek felvételét. A kukoricanövény mintákban a varianciaanalízis p-értékei és a korrelációanalízis alapján megállapítottam, hogy a szelenit növekvő mennyisége a talajban, 5 elem (Al, Cd, Co, Fe és Li) felvételét növelte a növényben, melyek közül 3 (Al, Cd, Co) toxikus elem. Az elemfelvétel növekedését nem a talaj pH-jának esetleges csökkenése okozta, mivel a talaj pH-ja a mérések alapján nem változott számottevően a kísérlet hatására.

Minden vizsgálatban; mind a talajban, mind pedig a növénymintákban egyértelműen nőtt az összes Se, valamint az egyes Se komponensek (szerves Se komponensek, szelenit és szelenát) mennyisége a kezelés dózisainak növekedésével.

7. ÖSSZEFOGLALÁS

Doktori munkám során a szelénhiány és a lehetséges pótlás; a szeléntrágyázás tárgykörében kívántam vizsgálatokat végezni, valamint a szelénnel történő trágyázással kapcsolatban néhány fontos megállapítást tenni az egyes vegyületek (szelenit és szelenát) alkalmasságát, az alkalmazható dózisokat és a környezeti terhelést, illetve növényi toxicitásokat illetően. Ehhez nyújtott segítséget a Prof. Dr. Kádár Imre által rendelkezésemre bocsátott nagydózisú nehézfém-terhelésű szabadföldi kísérlet mintaanyaga, amelyből a szelén kezelések mintáit használtam fel.

A mintákban meghatároztam a teljes szelén mennyiségét és speciációs analitikai méréseket is végeztem a szelénformák vizsgálatára. Célként tűztem ki, hogy felderítsem, a kísérletben eltelt 10 év alatt milyen változásokon ment át a kijuttatott szelenit a talajban, hogyan vették fel a növények, milyen hatással volt a növényekre és a növények elemfelvételére, fennáll-e a kimosódás veszélye a talajban. Mindezek alapján átfogó, általános következtetéseket kívántam levonni a szelenit viselkedéséről (átalakulásáról és mozgásáról) a vizsgált mészlepedékes csernozjom talajban, valamint gyakorlati tanácsokat kívántam megfogalmazni a lehetséges szelénpótlással, azaz a megfelelő szeléntrágyázással kapcsolatban; a szelenit, mint szelénpótló műtrágyaadalék alkalmasságáról.

A szelénformák elválasztására hideg vizes (25 °C) extrakciós mintaelőkészítést és anioncserés-kromatográfiás módszereket dolgoztam ki, a detektáláshoz pedigelemszelektív induktív csatolású plazma tömegspektrometriás technikát használtam, amelynél a zavaróhatások megszüntetésére ütközési cellát is alkalmaztam. Az alkalmazott HPLC-ICP-MS csatolt rendszer az egyik leggyakrabban használt módszer a szelénvegyületek elválasztására és detektálására. Elválasztó egységként anioncserélő oszlopot alkalmaztam, amely a negatív komponensek (anionok) szétválasztására használható neutrális pH alkalmazása mellett. Így tudtam vizsgálni a mintákban jelen lévő szelenit és szelenát vegyületeket. A szerves komponensek elválasztása ezúttal nem volt cél. A minták előkészítéséhez alkalmazott vizes extrakció szintén az egyik leggyakrabban alkalmazott eljárás, a Magyar Szabványban és számos nemzetközi irodalomban is szerepel. Gyors, egyszerű módszer, és a vizes oldatokkal történő adszorpció vizsgálatokból, valamint a savas roncsolatokban mért összes szeléntartalomról visszaszámolható a vízdoldható komponensek teljes mennyisége és aránya.

Először a kontroll talajminta vizes kivonatának speciációs vizsgálatát, valamint a savas roncsolat összes Se tartalmának mérését végeztem el. Ez megmutatta, hogy a kontroll talajban kevés a szelén mennyisége (összes Se: $200 \pm 4 \mu\text{g kg}^{-1}$).

Ezt követően a talajminták vizes kivonatainak speciációs analitikai vizsgálatát végeztem el. Az 1991-ből származó minták vizsgálatánál azt tapasztaltam, hogy a kijuttatott szelenit már a kísérlet első évében kis mennyiségben átalakult szelenáttá és szerves komponensekké a vizsgált mészlepedékes csernozjom talajon. Ezt követően az egyes évekből származó minták vizsgálatánál megállapítottam, hogy idővel a szelenit egyre nagyobb mennyisége alakul át szelenáttá. Az átalakulás a legnagyobb dózisok (270 és 810 kg ha^{-1}) esetében volt a leglátványosabb. Ez mutatja, hogy a kísérlet nagy dózisa alapján az átalakulási folyamatok jól nyomonkövethetők voltak.

A kísérletek további részében a 2000-ből származó mélységi talajmintákat vizsgáltam. A minták 3 m mélységig, 30 cm-enkénti rétegekben álltak rendelkezésemre. A vizsgálatok során megállapítottam, hogy a szelenit és a szerves formák a feltalajban maradnak (felső 30-60 cm), míg a szelenát forma még közel 3 m-es mélységben is jelentős mennyiségben van jelen. Vagyis a szelenát forma esetében fennáll a kimosódás veszélye.

A szelenit és a szelenát formák megkötődésének vizsgálata során a két forma vizes oldatával kezeltem a nagyhőrcsöki kontroll talajt, majd vizsgáltam a szűrletek szelénformáinak egyensúlyi koncentrációit. A kapott eredményekből megállapítottam, hogy a szelenit és a szelenát megkötődése is jellemezhető Langmuir-féle adszorpciós izotermával a vizsgált mészlepedékes csernozjom talajon, valamint hogy a szelenit megkötődése erősebb ezen a talajon, mint a szelenáté.

A Langmuir-izotermát felhasználva a linearizált izotermák egyenleteinek paramétereiből kiszámítottam az összes vízdoldható szelenit és szelenát mennyiségét a csernozjom talajban. Ezáltal megkaptam a vizes extrakció során az oldatba kioldódó és mérhető, valamint a talajon az adszorpció miatt megkötődött vízdoldható komponensek koncentrációinak összegét. A kapott koncentrációkat összevetve a talajok teljes szeléntartalmával, az egyes szelénkomponensek megkötődése a vizsgált feltalajban pontosabban becsülhető.

Talajok kapcsán azt is vizsgáltam, hogy a kijuttatott nagy dózisú szelenit só befolyásolta-e a talaj makro- és mikroelemtartalmát. A kapott vizsgálati eredmények azt mutatták, hogy a talaj elemtartalma nem változott szignifikánsan. A statisztikai elemzés során összehasonlítottam a különböző dózisokkal kezelt, valamint az egyes évekből

származó talajminták összes elemtartalmát a kontroll talajminta elemtartalmával, de nem tapasztaltam az elemek koncentrációi között eltérést.

A talajok esetében stabilitási kísérletet is végeztem. A kontroll talajt szelenit vizes oldatával kezeltem. Ezt követően megvizsgáltam a minták homogenitását, majd a kísérletet 3 különböző hőmérsékleten ($-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ és $25\text{ }^{\circ}\text{C}$) állítottam be, három ismétlésben. A kísérlet 5 hónapjának elteltével, a talajok vizes kivonatainak egyidejű speciációs analitikai vizsgálatával megállapítottam, hogy a fagyasztóban ($-20\text{ }^{\circ}\text{C}$) és hűtőszekrényben ($4\text{ }^{\circ}\text{C}$) tárolt mintákban átalakulás nem történt, míg a szobahőmérsékleten ($25\text{ }^{\circ}\text{C}$) tárolt mintákban kis mértékű átalakulás ment végbe. A $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tárolt mintákban a szelenit kis mennyisége szerves formákká alakult, de ez az átalakulás igen csekély mértékű volt. A kapott eredményekből megállapítottam, hogy a szelenit átalakulása a mintákban szabadföldi körülmények között ment végbe.

A talajok vizsgálatát követően a szelénnel kezelt kísérleti parcellákon termesztett növényekben határoztam meg a vizes kivonatokból nyert szelénformákat, illetve azok mennyiségét. Azt tapasztaltam, hogy a szelén a növényekben főleg szerves komponensek és szelenát formájában jelenik meg. A kukoricaszár, sárgarépagyökér, az őszi árpa és a spenótlevél mintákban csak két szelén komponens (a szerves forma mellett többnyire a szelenát), míg a többi növéymintánál a szerves forma mellett a szelenit és a szelenát is megjelenik a növényekben. A szelenát aránya a másik kettőhöz viszonyítva minden esetben nagy, különösen a borsószár esetében.

A speciációs vizsgálatokat követően meghatároztam a savas roncsolt növéyminták, valamint a vizes kivonatok összes szelén és a roncsolatok összes elemtartalmát is. Az összes Se tartalom összevetése a vizes kivonatokban mért összes Se koncentrációjával jól mutatja a vizes kivonat hatékonyságát (13-15%), amely egyezik a nemzetközi irodalmakban közöltekkel (általában kb. 10%). Az összes elemtartalom elemzését követően vizsgáltam, hogy a növekvő Se dózisok hatással vannak-e a növények elemfelvételére. A növények közül a kukoricamintákat tudtam érdemben elemezni, mert csak ennél a növényenél állt rendelkezésemre megfelelő mennyiségű, értékelhető adat. A varianciaanalízis azt mutatta, hogy a szelenit növekvő mennyisége a talajban, 5 elem (Al, Cd, Co, Fe, Li) felvételét növelte a növényben, melyek közül 3 elem (Al, Cd, Co) toxikus hatású.

Vizsgálatok során megállapítottam, hogy a szelenit nagy dózisban semmiképpen sem alkalmas szelénpótlásra irányuló trágyázásra a talajban, különösen mészlepedékes csernozjom talajon, mert termésdepressziót okoz és idővel szelenáttá alakul, amely

forma toxikusabb a növényekre nézve, valamint mozgékonyabb a talajban, mint a szelenit. A szelenát esetében fennáll a kimosódás veszélye is. A szelenit alkalmazása kis dózisban (max. 30-50 kg ha⁻¹) azonban hasznos lehet, mivel csak lassan alakul át szelenáttá, amely forma könnyebben felvehető a növények számára, így lassú adagolással hosszú ideig biztosít megfelelő szelénellátást a növényeknek. Ugyanakkor maga a szelenit forma megkötődik a talajon, vagyis a szelenit esetében nem áll fenn a kimosódás veszélye.

SUMMARY

The objective of my thesis was to do experiments in the research area of selenium deficiency and supplementation with soil-manuring. To my aims, samples from Prof. Dr. Imre Kádár's heavy metal loaded open-field experiment gave adequate base.

In my PhD work I studied the selenium-treated samples of this open-field experiment. From the obtained results I aimed to answer the questions in the topic of selenium supplementation in human diet with selenium fertilization, possible solution of the selenium deficiency, selenium adsorption, change and moving in soil and remediation of selenium contaminated soils.

Selenium compounds in cold water extracts (25 °C) of soil samples was analysed and the adsorption of selenium species (selenite and selenate) in the investigated chernozem soil was studied. Secondly, speciation analysis of plant samples from the treated areas was also prosecuted. The total selenium and other element content in the acidic digested soil and plant samples was also analysed and the correlation between selenium doses of the experiment and the element contents in the soil and plants was studied.

For separation of selenium compounds, water extraction and anion-exchange chromatographic methods was processed and inductively coupled plasma mass spectrometry for detection of selenium forms was used. The HPLC-ICP-MS coupled system is one of the most applied technique for selenium speciation. The separation was achieved with an anion-exchange column, which can separate the negative selenium compounds (anions) by neutral pH. With this method the inorganic selenium species (selenite and selenate) were analysed. The separation of the organic selenium forms was not aim in this work.

The applied water extraction method is easy, well applicable. More international publications and also the Hungarian standard methods advise this extraction method.

Studying of the acidic digested control soil $200 \pm 4 \mu\text{g kg}^{-1}$ total selenium concentration was determined. By analysis of water extracts of control soil selenium peaks were not obtained. Consequently, the selenium content of control soil of the open-field experiment is low.

Studying of water extracts of soil samples from 1991, the increment of the dose of selenite is good traceable. The obtained results already show the change of selenite to selenate and organic forms in the first year of the experiment, in the studied calcareous chernozem soil.

The results of the speciation analysis of soil samples in respect of time show that the most part of selenite transformed to selenate during the 10 years of the experiment. Organic forms are also present in low content but its presence is not remarkable to selenite-selenate change.

Moving of selenium forms in soil is traceable with study of the deeper soil layers. The selenite is in higher concentration in the top 0-0.6 m soil layer. Below 0.6 m selenite almost disappears. The organic selenium compounds behave in similar way. However, high concentration of selenate could be measured in the deepest soil layer (at 3 m depths). These results show our supposition; in the investigated soil the majority of selenite transforms to selenate and it moves towards deeper soil layers (leaching-effect). The adsorption of selenite and selenate in the top-soil was simulated with Langmuir adsorption-isotherms. Selenite adsorption appeared to be stronger on the studied chernozem soil than selenate adsorption. In this soil selenate is more mobile than selenite and selenium in this form moves toward deeper soil layers.

ICP-MS instrument was used to determine total selenium concentration in water extracted and acidic digested soil samples. By the obtained results, selenite content is the highest in the first year of the experiment but low concentration of selenate and organic forms of selenium are also present.

After the speciation analysis total selenium concentration of the water extracts and acidic digested samples were also measured. Efficiency of the water extraction was calculated; it was between 20-30%. It showed to be higher than previous published efficiency values (~10%). The reason of this high extraction yield is that selenium is mostly in two forms (selenite and selenate) in the studied soil and these forms are water soluble.

Total water soluble concentration of selenite and selenate was calculated from the adsorption isotherms. It means the summa of two concentrations, that of selenite and selenate in the water solution (soluble content) and the adsorbed concentration in soil. The obtained concentration is comparable to the total selenium content in the acidic digested samples. Through this vehicle, the adsorption of the water soluble selenium species and the fixed selenium forms in soil can be estimated more precisely. The obtained results show that 80-90 % from the total selenium is water soluble in soil and only 10-20 % is fixed. The reason of this fact is, that the treatment was carried out with water soluble selenite, which form changed to selenate in soil, which form is also water

soluble. Only little amount of the selenium transforms to organic compounds through microbiological activity of soil.

The stability experiment aimed to study whether the change of selenite to selenate and organic forms came from open-field circumstances or do they also transform under storage in the laboratory.

The stability experiment was carried out at 3 different temperatures (-20 °C, 4 °C and 25 °C) for 5 months in 3 repeats. With the speciation analysis of water extracted samples the stability of selenium forms in samples kept in refrigerator (-20 °C) and fridge (4 °C) was determined. However, a part of selenite changed to organic forms at room temperature but this change was negligible. Consequently, the transformation of selenite to selenate and organic forms was really due to open-field circumstances.

After studying soil samples, plant samples from the treated areas were analysed. Selenium species and their concentrations in water extracts of plant samples were studied. The selenium in plants occurs principally in two forms: organic forms and selenate. In some plants really only these two forms were present, but in certain plants all the three forms occurred (Se(IV), Se(VI) and also organic forms). Ratio of selenite was low in all samples. The selenate content was high in carrot, winter wheat and barley and especially in pea stalk. One cause of the presence of high concentration selenate in plants can be that the prior take up form of selenium is selenate. This form is easily uptakeable for plants, because it is similar to sulphate. The possibility of selenate uptake even increases by the years because ratio of selenate to selenite also increases in soil. Another cause of the high selenate concentration in plants could be, that plants also take up both selenite besides selenate, but it quickly transforms to the latter form.

By comparison of total selenium content in acidic digested and water extracted corn-stalk samples, it can be seen, that the ratio of total selenium content in the water extracts is lower than the same ratio of the soil samples. Efficiency of the water extraction could be calculated; it was between 13-15%, which agrees with the previously published efficiency values (~10%). This is reasonable, because selenium is in organic (not water soluble) form in plants.

Effect of the high selenite doses on the element uptake of plants was also studied. Since only at corn there was enough data in acquisition for sufficient statistics respecting repeats and all doses, this was the only plant involved in this study. Results of the analysis of variance show that the uptake increased at 5 elements: Al, Cd, Co, Fe and

Li. The p-values of the analysis of variance in respect of these elements were in corresponding order: 0.046, 0.013, 0.044, 0.035, 0.04 at SD_{5%} error rate.

On the basis of my results I can firmly state, that selenite is not applicable to selenium supplementation in high doses in respect of soil-manuring. In concern of soil fertilization a maximum of about 30-50 kg ha⁻¹ concentration could be advisable. However, high doses are not applicable on calcareous chernozem soil. Selenite to selenate transformation is very slow, so this mechanism can insure a continuous selenium supply for plants. The adsorption of selenite is stronger on chernozem soil so its leaching possibility is lower.

ÚJ ÉS ÚJSZERŰ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Megállapítottam, hogy a mészlepedékes csernozjom talajra kijuttatott szelenit só szelenáttá oxidálódik. A folyamat nem pillanatszerű, lejátszódásához több év szükséges. Kis mennyiségben szerves komponensek is képződnek ugyan, de ezek mennyisége a szelenit-szelenát átalakuláshoz képest kevés.
2. A szelenittel való trágyázás során a mészlepedékes csernozjom talajokon a szelén kimosódásának veszélye is fennáll, a szelén főként szelenát formájában mozog. 10 év elteltével még 3 méter mélységben is jelentős mennyiségben található szelén a talajban, szelenát formájában. A szelenit a feltalajban marad, a szelenát azonban a mélyebb rétegek felé vándorol.
3. A talajprofilban meghatároztam a szelenit és a szelenát ionok adszorpciós izotermáinak konstansait, amelyek a lemosódás modellezéséhez szükségesek.
4. A szelenit és szelenát Langmuir-féle adszorpciós izotermáinak egyenleteiből kiszámítható a teljes vízzel oldható szelenit és szelenát mennyisége, vagyis a vizes extrakció során az oldatba kioldódó és a talajon az adszorpció miatt megkötve maradt komponensek mennyisége is. A kapott koncentrációk összevethetők a talajok teljes szeléntartalmával és így pontosabban becsülhető a talajon az egyes szelénkomponensek megkötődése.
5. A szelenit kezelés hatására a sárgarépa, a borsó, az őszi búza és az őszi árpa esetében is igen nagy a szelenát aránya a növényben; különösen igaz ez a borsó esetében. Ezek alapján a növények egyrészt könnyebben veszik fel a szelént szelenát formájában, mivel néhány év elteltével már a talajban is nagyobb mennyiségű szelenát van jelen. Másfelől a már felvett szelenit egy része a növényekben is szelenáttá alakul. Ez a növényekre nézve kedvezőtlen, mivel a szelenát toxikusabb forma a szelenitnél.
6. Eredményeim alapján megállapítottam, hogy a szelenit nagy dózisban semmiképp sem alkalmas szelénpótlásra szánt trágyázásra a talajban. A szelenit kis dózisban (max. 30 kg ha⁻¹) alkalmas szelénpótlásra, mert erősen kötődik a talajon, ugyanakkor lassan

alakul át szelenát formává, amely a növények számára hosszú ideig biztosít megfelelő szelénellátást.

IRODALOMJEGYZÉK

- ADRIANO, D.C. (2001): Trace Elements in Terrestrial Environments: Biogeochemistry, Bioavailability, and Risks of Metals. Springer-Verlag, New York, 175. p.
- AL-KUNANIA, A.S., KNIGHT, R., HASWELL, S.J., THOMPSON, J.W., (2001): Lindow The selenium status of women with a history of recurrent miscarriage. *British Journal of Obstetric and Gynaecology*, 108, 1094–1097. p.
- ALLAN, C.B., LACOURCIERE, G.M., STADTMAN, T.C. (1999): Responsiveness of selenoproteins to dietary selenium. *Annual Review of Nutrition*, 19, 1-16. p.
- ANNEREN, G., GEBRE-MEDHIN, M., GUSTAVSON, K.H. (1989): Increased plasma and erythrocyte selenium concentrations but decreased erythrocyte glutathione peroxidase activity after selenium supplementation in children with Down syndrome. *Acta Paediatrica Scandania*, 78, 879-884. p.
- ANNEREN, G., MAGNUSSON, C.G., NORDVALL, S.L. (1990): Increase in serum concentrations of IgG2 and IgG4 by selenium supplementation in children with Down syndrome. *Archives of Disease in Childhood*, 65, 1353-1355. p.
- ANTILA, E., NORDBERG, U.R., SYVAOJA, E.L., WESTERMARCK, T. (1990): Selenium therapy in Down syndrome: A theory and clinical trial. in Emerit and others. *Antioxidants in Therapy and Preventative Medicine*, edition 1. New York Plenum Press, 183-186. p.
- APPEL, M. (2001/2002): Selenoproteine, Seminararbeit, Bayerische Julius-Maximilians-Universitaet, Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie, Würzburg, 61. p.
- ARTHUR, J.R. (1991): The role of selenium in thyroid hormone metabolism. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 69, 1648-52. p.
- BANUELOS, G., TERRY, N., LEDUC, D.L., PILON-SMITHS, E.A., MACKEY, B. (2005): Field trial of transgenic Indian mustard plants show enhanced phytoremediation of selenium-contaminated sediment. *Environmental Science Technology*, 39, 6, 1771-7. p.
- BEHNE, D., HAMMEL, C., PFEIFER, H., RÖTHLEN, D., GESSNER, H., KYRIAKOPOULOS, A. (1998): Speciation of selenium in the mammalian organism. *The Analyst*, 123, 871-873.. p.
- BENTON, D., COOK, R. (1991): The impact of selenium supplementation on mood. *Biological Psychiatry*, 29, 1092–1098. p.
- BERKEN, A., MULHOLLAND, M.M., LEDUC, D.L., TERRY, N. (2002): Genetic engineering of plants to enhance selenium phytoremediation. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 21, 567-582. p.

- BLOCK, E., BIRRINGER, M., JIANG, W., NAKAHODO, T., THOMPSON, H.J., TOSCANO, P.J., UZAR, H. ZHANG, X., ZHU, Z. (2001): Allyum chemistry: synthesis, natural occurrence, biological activity, and chemistry of Se-alk(en)ylselenocysteines and their γ -glutamyl derivatives and oxidation products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 458-470. p.
- BUCKMAN, T., SUTPHIN, M.S., ECKHERT, C.D. (1993): A comparison of the effects of dietary selenium on selenoprotein expression in rat brain and liver. *Biochemical and Biophysical Acta*, 1163, 176-184. p.
- BURK, R.F. (2002): Selenium, an antioxidant nutrient. *Nutrition in Clinical Care*, 5, 75-79. p.
- BUSCIGLIO, J. YANKNER B.A. (1995): Apoptosis and increased generation of reactive oxygen species in Down's syndrome neurons in vitro. *Nature*, 378, 776-779. p.
- CASIOT, C., SZPUNAR, J., LOBINSKI, R., POTIN-GAUTIER, M. (1999): Sample preparation and HPLC separation approaches to speciation analysis of selenium in yeast by ICP-MS, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 14, 4, 645. p.
- CHANG, J.C., GUTENMANN, W.H., REID, C.M., LISK, D.J. (1995): Selenium content of Brazil nuts from two geographic locations in Brazil. *Chemosphere*, 30, 801-802. p.
- 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. *Biological Trace Element Research*, 2(2), 91-107. p.
- COMBS, G.F., COMBS, S.B. (1986): Chemical aspects of selenium. *The Role of Selenium in Nutrition*, San Diego, CA: Academic Press. 1-8. p.
- COMBS, G.F. (2005): Importance of selenium in human nutrition. Twenty Years of Selenium Fertilization, In *Proceedings book*, Ed. Merja Euroala, September 8-9, 2005, Helsinki, Finland, *Agrifood Research Reports* 69, 108. p.
- 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. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 73, 2659-2663. p.
- CORRIGAN, F.M., REYNOLDS, G.P., WARD, N.I. (1991): Reductions of zinc and selenium in brain in Alzheimer's disease. *Trace Elements in Medicine*, 8, 1-5. p.
- CORVILIAN, B., CONTEMPRE, B., LONGOMBE, A.O., GOYENS, P., GERVY-DECOSTER, C., LAMY, F., VANDERPAS, J.B., DUMONT, J.E. (1993): Selenium and thyroid: how the relationship was established. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 57, 244S-248S. p.

- CRAIG, P. J. (1986): *Organometallic Compounds in the Environment*. Longman Group Ltd., London, 255–277. p.
- CUNNINGHAM, S.C., BERTI, W.R., HUANG, J.W. (1995): Phytoremediation of contaminated soils, *Tibtech*, 13, 393-397. p.
- CSER M.Á., SZIKLAI-LÁSZLÓ I. (1998): A szelén szerepe a humán medicinában. In: *A szelén szerepe a környezetben és egészségvédelemben*. Szerk. CSER M.Á. és SZIKLAI-LÁSZLÓ I., Frag Bt., Budapest, 28-46. p.
- DE HAAN, J.B., WOLVETANG, E.J., CRISTIANO, F., IANNELLO, R., BLADIER, C., KELNER, M.J., KOLA, I. (1997): Reactive oxygen species and their contribution to pathology in Down syndrome. *Advances in Pharmacology*, 38, 379-402. p.
- DERNOVICS M. (2003): Mintaelőkészítési módszerek kidolgozása és referenciaanyagok előállítása módszeranalitikai célokra, Doktori disszertáció, Szent István Egyetem, Alkalmazott Kémiai Tanszék, Budapest, 142. p.
- DHILLON, K.S., DHILLON, S.K. (1999): Adsorption–desorption reactions of selenium in some soils of India. *Geoderma*, 93, 19–31. p.
- DÍAZ, J.P., NAVARRO, M., LÓPEZ, H., LÓPEZ, M.C. (1996): Selenium (IV) and (VI) levels in potable, irrigation and waste waters from an industrial zone in southeastern Spain. *Science of the Total Environment*, 186, 231–236 p.
- D’ULIVO, A. (1997): Determination of Selenium and Tellurium in Environmental Samples CNR, Istituto di Chimica Analitica Strumentale, *Analyst*, 122, 117R–144R. p.
- DWORKIN, B.M. (1994): Selenium deficiency in HIV infection and the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). *Chemico-Biological Interactions*, 91, 2-3, 181-6. p.
- ELLIS, D.R., SALT D.E. (2003): Plants, selenium and human health. *Current Opinion in Plant Biology*, 6, 273-279. p.
- FAIRWEATHER-TAIT, S.J. (1999): The importance of trace element speciation in nutritional sciences. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, 363, 536-540. p.
- FAWWAZ, R.A. (1971): Potential early diagnosis of cancer with radioactive compounds, Review, *Progress in atomic medicine*, 3, 1-18. p.
- FAN, T.W.M., TEH S.J., HINTON D.E., HIGASHI R.M. (2002): Selenium biotransformations into proteinacious forms by foodweb organisms of selenium-laden drainage waters in California. *Aquatic Toxicology*, 57, 65-84. p.

- FEROCI, G., BADIELLO, R., FINI, A. (2005): Interactions between different selenium compounds and zinc, cadmium and mercury. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 18, 227-234. p.
- FINLEY, J.W., PENLAND, J.G. (1998): Adequacy or deprivation of dietary selenium in healthy men: clinical and psychological findings. *Journal of Trace Elements in Medicine*, 11, 11–27. p.
- FOSTER, L.H., SUMAR, S. (1997): Selenium in health and disease: A review. *Critical Reviews In Food Science And Nutrition*, 37, 211-228. p.
- FÜLEKY, GY. (1987): Potassium supply in typical soils of Hungary. *Bulletin of the University of Agricultural Sciences Gödöllő*, 1, 113-119. p.
- GAWLIK, B. M., LAMBERTY, A., PAUWELS, J., MUNTAU, H., BLUM, W.E.H., BUSSIAN, B., EKLO, O., FOX, K., KÖRDEL, W., MAURER, T., MENTLER, A., PERRIN-GANIER, C., PFLUGMACHER, J., ROMERO-TABOADA, E., SZABO G., (200X): Certification of soil-pH (suspensions of water and CaCl₂) and adsorption coefficients for atrazine, 2,4-D and lindane in six different reference soils (EUROSOILS) IRMM-443, European Commission, IRMM information, Reference Materials, EUR 20152 EN, © European Communities, Reproduction is authorised provided the source is acknowledged, Belgium
- 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. *Journal of Soil Science Society of America*, 32, 35–40. p.
- GEORGE, M.W. (2003): Selenium and Tellurium. US Geological Survey, Washington DC. 112. p.
- GERGELY V., KÁPOLNA E., SÜLE A., HAJÓS G., DERNOVICS M., FODOR P. (2004): Preparative liquid isoelectric focusing (Rotofor IEF) based Se-speciation of Se-enriched *Agaricus bisporus*. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 19 1485-1488. p.
- GEY, K.F. (1998): Vitamins E plus C and interacting conutrients required for optimal health. A critical and constructive review of epidemiology and supplementation data regarding cardiovascular disease and cancer. *Biofactors*, 7, 113-74. p.
- GILON, N., ASTRUC, A., ASTRUC, M., POTIN-GAUTIER, M. (1995): Selenoamino acid speciation using HPLC-ETAAS following an enzymatic-hydrolysis of selenoprotein. *Applied Organometallic Chemistry*, 9, 623-628. p.
- 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. *Journal of Chromatography A*, 823, 259-277. p.
- GÓMEZ-ARIZA, J.L., CARO, DE LA TORRE, M.A., GIRÁLDEZ, I., SÁNCHEZ-RODAS, D., VELASCO, A., MORALES, E. (2002): Pretreatment procedure for selenium speciation in shellfish using high-performance liquid chromatography-

- microwave-assisted digestion-hydride generation-atomic fluorescence spectrometry. *Applied Organometallic Chemistry*, 16, 265-270. p.
- GONZALEZ-LAFUENTE, J.M., FERNANDEZ-SANCHEZ, M.L., SANZ-MEDEL, A. (1996): Speciation of inorganic selenium and selenoaminoacids by on-line reversed-phase high-performance liquid chromatography–focused microwave digestion–hydride generation-atomic detection. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 11, 1163. p.
- HAMDY, A.A., GISSEL-NIELSEN, G. (1977): Fixation of selenium by clay minerals and iron oxides. *Zeitung für Pflanzenernaehr Bodenkunde*, 140, 63–70. p.
- HAWKES, W.C., HORNBOSTEL, L. (1996): Effects of dietary selenium on mood in healthy men living in a metabolic research unit. *Biological Psychiatry*, 39, 121–128. p.
- HENLEY, W.N., KOEHNLE, T.J. (1997): Thyroid hormones and the treatment of depression: An examination of basic hormonal actions in the mature mammalian brain. *Synapse*, 27, 36–44. p.
- HILL, S.J., BLOXHAM, M.J., WORSFOLD, P.J. (1993): Chromatography coupled with inductively coupled plasma atomic emission spectrometry and inductively coupled plasma mass spectrometry. A review. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 8, 499-515. p.
- HOLBEN, D.H., SMITH, A.M. (1999): The diverse role of selenium within selenoproteins: a review. *Journal of the American Dietetic Association*, 99, 836-843. p.
- HOLMES, J.G. (1947): Colorimetry in the glass industry, *Proceedings. Physical Society*, 59, 592-610. p.
- INSTITUTE OF MEDICINE (2001): Food and Nutrition Board. Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc. National Academy Press, Washington, DC.
- IP, C., GANTHER, H.E. (1992): Comparison of selenium and sulfur analogs in cancer prevention. *Carcinogenesis*, 13, 1167-1170. p.
- IP, C., DONALD, J.L. (1994): Enrichment of selenium in allium vegetables for cancer prevention. *Carcinogenesis*, 15, 1881-1885. p.
- KARAG E., NÉMETH I., FERKE A., HAJDÚ J., PINTÉR S. (1998): A vörösvértest szelén és antagonistá nyomelemek, valamint a plazma antioxidánsok koncentrációja és összefüggése érett újszülöttek köldökvénáiban. In: A szelén szerepe a környezetben és egészségvédelemben. Szerk. CSER M. Á. és SZIKLAI-LÁSZLÓ I., Frag Bt., Budapest, 112-114. p.

- KARAKUCUK, S., ERTUGRUL MIRZA G., FARUK EKINCILER O., SARAYMEN R., KARAKUCUK, I., USTDAL M. (1995): Selenium concentrations in serum, lens and aqueous humour of patients with senile cataract. *Acta Ophthalmol Scand*, 73, 4, 329-332. p.
- KÁDÁR I. (1995): Környezet- és természetvédelmi kutatások, A Talaj-növény-állat-ember tápláléklánc szennyeződése kémiai elemekkel Magyarországon. Környezetvédelmi és Területfejlesztési Minisztérium MTA Talajtani és Agrokémiai Kutató Intézete, Budapest, 388. p.
- KÁDÁR I. (1998): Szelén forgalma a talaj-növény rendszerben. In: A szelén szerepe a környezetben és egészségvédelemben. Szerk. CSER M.Á., SZIKLAI-LÁSZLÓ I. Frag Bt., Budapest, 20-27. p.
- KÁDÁR I. (2001): Mikroelem-terhelés hatása a borsóra karbonátos csernozjom talajon I. Termés és ásványi összetétel. *Agrokémia és Talajtan*, 50, No. 1-2, 61-82. p.
- KÁDÁR, I., NÉMETH T. (2005): Leaching of microelement contaminants: a long-term field study. *Zeitung für Naturforschung*, 6, 260-264. p.
- KÁPOLNA E. (2006): Szeléntartalmú élelmiszerek és étrendkiegészítők biológiai hasznosulásának vizsgálata, Doktori disszertáció, Szent István Egyetem, Alkalmazott Kémiai Tanszék, Budapest, 137. p.
- KÁPOLNA E., SHAH, M., CARUSO, J. A., FODOR P. (2007): Selenium speciation studies in Se-enriched chives (*Allium schoenoprasum*) by HPLC-ICP-MS. *Food Chemistry*, 101, 4, 1398-1406. p.
- KOBAYASHI, Y., OGRA, Y., SUZUKI, K.T. (2001): Speciation and metabolism of selenium injected with (82)Se-enriched selenite and selenate in rats. *Journal of Chromatography B*, 760, 73-81. p.
- KOBAYASHI, Y., OGRA, Y., ISHIWATA, K., TAKAYAMA, H., AIMI, N., SUZUKI, K.T. (2002): Selenosugars are key and urinary metabolites for selenium excretion within the required to low-toxic range. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99, 25, 15932-15936. p.
- KO, F., YANG, M. (1996): On-line removal of interferences via anion-exchange column separation for the determination of germanium, arsenic and selenium in biological samples by inductively coupled plasma mass spectrometry *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 11, 6, 413. p.
- KOLLER, L. D., EXON, J. H. (1986): The two faces of selenium-deficiency and toxicity are similar in animals and man. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 50, 297-306. p.
- 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. p.

- KOVÁCS B., GYŐRI Z., PROKISCH J., LOCH J., DÁNIEL P. (1996): A study of plant sample preparation and inductively coupled plasma emission spectrometry parameters. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 27, 1177-1198. p.
- 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. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 31, 1949-1963. p.
- LÄUCHLI, A. (1993): Selenium in plants: uptake, functions and environmental toxicity. *Botanica Acta*, 106, 455–468. p.
- LEMLY, D.A. (1996): Assessing the toxic threat of selenium to fish and aquatic birds. *Environmental Monitoring and Assessment*, 43, 1, 19-35. p.
- LEMLY, D.A. (2004): Aquatic selenium pollution is a global environmental safety issue. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 59, 44-56. p.
- 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. *Biological Trace Element Research*, 56, 1, 5-21. p.
- LINDEMANN, T., PRANGE, A., DANNECKER, W., NEIDHART, B. (2000): Stability studies of arsenic, selenium, antimony and tellurium species in water, urine, fish and soil extracts using HPLC/ICP-MS, *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, 368, 214–220. p.
- LOBINSKI, R., EDMONDS, J.S., SUZUKI, K.T., UDEN, P.C. (2000): Species-selective determination of selenium compounds in biological materials. *Pure and Applied Chemistry*, 72, 3, 447-461. p.
- LONGNECKER, M.P., TAYLOR, P.R., LEVANDER, O.A., HOWE, M., VEILLON, C., MCADAM, P.A., PATTERSON, K.Y., HOLDEN, J.M., STAMPFER, M.J., MORRIS, J.S., WILLETT, W.C. (1991): Selenium in diet, blood, and toenails in relation to human health in a seleniferous area. *The American journal of clinical nutrition*, 53, 1288-94. p.
- MAGYAR ÉLELMISZERKÖNYV: 1-1-90/496 számú előírás. Az élelmiszerek tápértékének jelölése. 2001. módosított kiadás.
- MAHAN, D.C., PARRETT, N.A. (1997): Evaluating the efficacy of selenium-enriched yeast and sodium selenite and tissue selenium retention and serum glutathione peroxidase activity in grower and finisher swine. *Journal of Animal Science*, 74, 12, 2967-2974. p.
- MARTENS, D.A., SUAREZ, D.L. (1999): Transformations of volatile methylated selenium in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 31, 1355 -1361. p.

- MÉM NAK. (1979): Műtrágyázási irányelvek és üzemi számítási módszer. MÉM Növényvédelmi és Agrokémiiai Központ. Budapest.
- MCLAUGHLIN, M.J., PARKER, D.R., CLAKE, J.M. (1999): Metals and micronutrients-food safety issues. *Field Crops Research*, 60, 143–163. p.
- MCSHEEHY, S., YANG, W., PANNIER, F., SZPUNAR, J., LOBINSKI, R., AUGER, J., POTIN-GAUTIER, M. (2000): Speciation analysis of selenium in garlic by two-dimensional high-performance liquid chromatography with parallel inductively coupled plasma mass spectrometric and electrospray tandem mass spectrometric detection, *Analytica Chimica Acta*, 421, 147–153. p.
- MEISTER, A., ANDERSON, M.E. (1983): Glutathione. *Annual Review of Biochemistry*, 52, 711-747. p.
- MENA, M.L., GOMEZ, M.M., PALACIOS, M.A., CAMARA, C. (1999): Fast on-line selenium determination in enriched yeast slurry by microwave digestion–hydride generation–atomic absorption spectroscopy. *Laboratory Automation and Information Management*, 34, 159-165. p.
- MICHALKE, B. (1995): Capillary electrophoresis methods for a clear identification of seleno amino acids in complex matrices like human milk. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, 351, 670-677. p.
- MICHALKE, B., WITTE, H., SCHRAMEL, P. (2001): Developments of a rugged method for selenium speciation. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 16, 6, 593. p.
- MICHALKE, B. (2003): Element speciation definitions, analytical methodology, and some examples. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 56, 122-139. p.
- MIKKELSEN, R.L., PAGE, A.L., BINGHAM, F.T. (1989): Factors affecting selenium accumulation by agricultural crops. In: Jacobs, L.W. (Ed.), *Selenium in Agriculture and the Environment*. In: SSSA Special Publication 23. American Society of Agronomy, Soil Science Society of America, Madison, WI, 65–94. p.
- MONTES-BAYÓN, M., YANES E. G., PONCE DE LEÓN C., JAYASIMHULU K., STALCUP A., SHANN J., CARUSO J. A. (2002a): Initial studies of selenium speciation in *Brassica juncea* by LC with ICPMS and ES-MS detection: an approach for phytoremediation studies. *Analytical Chemistry*, 74, 107-113. p.
- MONTES-BAYON, M., LEDUC, DL., TERRY, N., CARUSO, JA. (2002b): Selenium speciation in wild-type and genetically modified Se accumulating plants with HPLC separation and ICP-MS/ES-MS detection. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 17, 872-879. p.
- MONTES-BAYÓN, M., DÍAZ, J., MOLET, M., BLANCO, GONZÁLEZ, E., SANZ-MEDEL, A. (2006): Evaluation of different sample extraction strategies for selenium determination in selenium-enriched plants (*Allium sativum* and *Brassica juncea*) and Se speciation by HPLC-ICP-MS. *Talanta*, 68, 1287-1293. p.

- MSZ-08 0206/78: A talaj egyes kémiai tulajdonságainak vizsgálata, laboratóriumi vizsgálatok. Magyar Szabványügyi Testület, Budapest.
- MSZ 21470-50:1998, 2006: Környezetvédelmi talajvizsgálatok. Az összes és az oldható toxikus elem-, a nehézfém- és a króm(VI)tartalom meghatározása. Magyar Szabványügyi Testület, Budapest.
- MŰSZERES ANALITIKAI KÉMIAI GYAKORLATOK, SEGÉDANYAG (1999): Szerk. FÁBIÁN I., KÖRTVÉLYESI ZS., Kossuth Lajos Tudományegyetem, Természettudományi Kar, Piremon Kisvállalat, Debrecen.
- NAVARRO-ALARCÓN, M., LÓPEZ-MARTINEZ, M. C. (2000): Essentiality of selenium in the human body: relationship with different diseases. *The Science of the Total Environment*, 249, 347-371. p.
- NAZIROGLU, M., KARAOGLU, A., AKSOY, A.O. (2004): Selenium and high dose vitamin E administration protects cisplatin-induced oxidative damage to renal, liver and lens tissues in rats. *Toxicology*, 195, 2-3, 221-230. p.
- NEAL, R.H., SPOSITO, G., HOLTZCLAW, K.M., TRAINA, S.J. (1987a): Selenite adsorption on alluvial soils: I. Soil composition and pH effects. *Journal of Soil Science Society of America*, 51, 1161–1165. p.
- NEAL, R.H., SPOSITO, G., HOLTZCLAW, K.M., TRAINA, S.J. (1987b): Selenite adsorption on alluvial soils: II. Solution composition effects. *Journal of Soil Science Society of America*, 51, 1165–1169. p.
- NEAL, R.H., SPOSITO, G. (1989): Selenate adsorption on alluvial soils. *Journal of Soil Science Society of America*, 53, 70–74. p.
- NIEBOER, E. (1992): Speciation of elements in environmental and biological sciences. *The Analyst*, 117, 549-550. p.
- NIEBOER, E., THOMASSEN, Y. (1995): Conference Chairmen's foreword to special March issue. 30N-31N. p. In: *the Analyst*, Second International Symposium on Speciation of Elements in Toxicology and in Environmental and Biological Sciences. Loen, Norway.
- OCHSENKÜHN-PETROPOULOU, M., MICHALKE, B., KAVOURAS, D., SCHRAMEL, P. (2003): Selenium speciation analysis in a sediment using strong anion exchange and reversed phase chromatography coupled with inductively coupled plasma-mass spectrometry, *Analytica Chimica Acta*, 478, 219–227. p.
- OLIVAS, R.M., DONARD, O.F.X., GILON, N., POTIN-GAUTIER, M. (1996): Speciation of organic selenium compounds by high-performance liquid chromatography–inductively coupled plasma mass spectrometry in natural samples *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 11, 12, 1171. p.

- OLSON, O.E. (1986): Selenium toxicity in animals with emphasis on man. *Journal of the American College of Toxicology*, 5, 1, 45-70. p.
- QUIJANO, M.A., GUTIERREZ, A.M., PEREZ CONDE, M. C., CAMARA, C. (1996): Determination of selenocystine, selenomethionine, selenite and selenate by high-performance liquid chromatography coupled to inductively coupled plasma mass spectrometry *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 11, 6, 407. p.
- PARKER, D.R., FEIST, L.J., VARVEL, T.W., THOMASON, D.N., ZHANG, Y.Q. (2003): Selenium phytoremediation potential of *Stanleya pinnata*. *Plant and Soil*, 249, 157-165. p.
- PÉREZ-CID, B., LAVILLA, I., BENDICHO, C. (1998): Speeding up of a three-stage sequential extraction method for metal speciation using focused ultrasound. *Analytica Chimica Acta*, 360, 35-41. p.
- PILON-SMITS, E.A.H., HWANG, S., LYTLE, M., ZHU, Y., TAI, J.C., BRAVO, R.C., CHEN, Y., LEUSTEK, T., TERRY, N. (1999): Overexpression of ATP sulfurylase in *Brassica juncea* leads to increased selenate uptake, reduction and tolerance. *Plant Physiology*, 119, 123-132. p.
- POKOL GY., SZTATISZ J. (1999): *Analitikai kémia I.*, Műszaki Egyetem Kiadó, Budapest.
- PROKISCH JÓZSEF (1997): Króm(III)-Króm(VI) mérési módszerek fejlesztése és azok talajkémiai alkalmazása, Doktori disszertáció, Debreceni Agrártudományi Egyetem, Mezőgazdaságtudományi Kar, Műszerközpont, Debrecen, 107. p.
- RAYMAN, M.P. (2000): The importance of selenium to human health. *Lancet*, 356, 233-241. p.
- RAYMAN, M. P., THOMPSON, A., WARREN-PERRY, M., GALASSINI, R., CATTERICK, J., HALL, E., LAWRENCE, D., BLISS, J. (2005): Impact of selenium on mood and quality of life: a randomized, controlled trial. *Biological Psychiatry*, 59, 147-154. p.
- REILLY, C. (1996): *Selenium in Food and Health*. Chapman and Hall, London. 155. p.
- REILLY, C. (1998): Selenium: A new entrant into the functional food arena. *Trends in Food Science & Technology*, 9, 114-118. p.
- ROMERO-ALVIRA, D., ROCHE, E. (1998): The keys of oxidative stress in acquired immune deficiency syndrome apoptosis. *Medical Hypotheses*, 51, 2, 169-73. p.
- SCHRAUZER, G. N. (2000): Anticarcinogenic effects of selenium. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 57, 1864-1873 p.
- SCHWARZ, K., FOLTZ, C.M. (1957): Selenium as an integral part of factor 3 against dietary necrotic liver degeneration. *Journal of the American Chemical Society*, 79, 12, 3292-3293. p.

- SCOTT, B.H. (1993): The Effect of Selenium Supplementation on the Mood of Chronic Fatigue Syndrome and Healthy Control Subjects. University of Canterbury, New Zealand. 155. p.
- SÉBY, F., POTIN GAUTIER, M., LESPES, G., ASTRUC, M. (1997): Selenium speciation in soils after alkaline extraction. *The Science of the Total Environment*, 207, 81-90. p.
- SEPPANEN, K., KANTOLA, M., LAATIKAINEN, R., NYSSONEN, K., VALKONEN, V.P., KAARLOPP, V., SALONEN, J.T. (2000): Effect of supplementation with organic selenium on mercury status as measured by mercury in pubic hair. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 14, 84-87. p.
- 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. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 19, 381-386. p.
- SHOR-POSNER, G., LECUSAY, R., MIGUEZ, M.J., MORENO-BLACK, G., GUOYAN, ZHANG, RODRIGUEZ, N., BURBANO, X., BAUM, M., WILKIE, F. (2003): Psychological burden in the era of HAART: impact of selenium therapy. *International Journal of Psychiatry in Medicine*, 33, 55– 69. p.
- SIMON L. (1999): Néhány talajremediációs eljárás részletes ismertetése. In: Talajszennyeződés, talajtisztítás, Környezetgazdálkodási Intézet Környezet- és Természetvédelmi Szakkönyvtár és Információs Központ, Budapest, 165-186. p.
- SKINNER, C.P. (1999): Environmental Chemistry of Selenium. *Soil Science Society of America Journal*, 164, 70-72. p.
- SOUZA, M.P., PILON-SMITS, E.A.H., LYTLE, C.M., HWANG, S., TAI, J., HONMA, T.S.U., YEH, L., TERRY, N. (1998): Rate limiting steps in Selenium assimilation and volatilization by indian mustard. *Plant Physiology*, 117, 4, 1487-1494. p.
- SRIVASTAVA, M., MA, L.Q., COTRUVO, J.A. (2005): Uptake and distribution of Selenium in different fern species. *International Journal of Phytoremediation*, 7, 1, 33–42. p.
- STADTMAN, C. (1996): Selenocysteine. *Annual Review of Biochemistry*, 65, 83-100. p.
- STAPLETON, S.R. (2000): Selenium: an insulin-mimetic, *Cellular and molecular life sciences*, 57, 13-14, 1874-9. p.
- STONE, J., DOUBE, A., DUDSON, D., WALLACE, J. (1997): Inadequate calcium, folic acid, vitamin E, zinc, and selenium intake in rheumatoid arthritis patients: Results of a dietary survey. *Seminars in arthritis and rheumatism*, 27, 180-5. p.

- SUTTON, K. L., CARUSO, J. A. (1999): Liquid chromatography–inductively coupled plasma mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 856, 243-258 p.
- SVÁB J. (1973): *Biometriai módszerek a kutatásban*. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest.
- SZŰCS L. (1965): A mészlepedékes csernozjomok osztályozásának továbbfejlesztése és alkalmazása. *Agrokémia és Talajtan*, 14, 153-170. p.
- TAMÁS J. (2002): *Talajremediáció*. Debreceni Egyetem, Debrecen, 242. p.
- TEMPLETON, D. M., ARIESE, F., CORNELIS, R., DANIELSSON, L.-G., MUNTAU, H., VAN LEEUWEN, H. P., LOBINSKI, R. (2000): Guidelines for terms related to chemical speciation and fractionation of elements. Definitions, structural aspects, and methodological approaches. *Pure Applied Chemistry*, 72, 1453-1470. p.
- TERRY, N., ZAYED, A. M., DESOUZA, M. P., TARUN, A. S. (2000): Selenium in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 51, 401-432. p.
- TERRY, N., CHANG, Y.C. (2004): Phytoremediation of Selenium-Contaminated Drainage Sediments and Different Transgenic Lines of Indian Mustard (*Brassica juncea*) UC Center for water resources, 45-52. p.
- THOMPSON, J.J., HOUK, R.S. (1986): *Analytical Chemistry*, 58, 2541. p.
- TRELEASE, S.F., DI SOMMA A.A. (1944): Selenium accumulation by corn as influenced by plant extracts. *American Journal of Botany*, 31: 544-550. p.
- TUVEMO, T., GEBRE-MEDHIN, M. (1983): The role of trace elements in juvenile diabetes mellitus. *Pediatrician*, 12, 4, 213-9. p.
- UDEN, P.C., BOAKYE, H.T., KAHAKACHCHI, C., HAFEZI, R., NOLIBOS, P., BLOCK, E., JOHNSON, S., TYSON, J.F. (2004): Element selective characterization of stability and reactivity of selenium species in selenized yeast, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 19, 65-73. p.
- U.S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE, AGRICULTURAL RESEARCH SERVICE. (2003): USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 16. Nutrient Data Laboratory Home Page, <http://www.thebody.com/pinf/herbs.html>
- YIQIANG, Z., FRANKENBERGER, JR.W.T. (2001): Speciation of selenium in plant water extracts by ion exchange chromatography-hydride generation atomic absorption spectrometry, *The Science of the Total Environment*, 269, 39-47. p.
- VANDECASTEELE, C., BLOCK, C.B. (1997): *Modern Methods for Trace Element Determination*. Wiley, New York, 225 p.

- VASSILEVA, E., BECKER, A., BROEKAERT, J.A.C. (2001): Determination of arsenic and selenium species in groundwater and soil extracts by ion chromatography coupled to inductively coupled plasma mass spectrometry, *Analytica Chimica Acta*, 441, 135–146. p.
- VILANÓ, M., PADRÓ, A., RUBIO, R., RAURET, G. (1998): Organic and inorganic selenium speciation using high-performance liquid chromatography with UV irradiation and hydride generation quartz cell atomic absorption spectrometric detection. *Journal of Chromatography A*, 819, 211-220. p.
- WANG, D., ALFTHAN, G., ARO, A., MÄKELÄ, A., KNUUTTILA, S., HAMMAR, T. (1995): The impact of selenium supplemented fertilization on selenium in lake ecosystems in Finland. *Applied soil ecology: a section of Agriculture, Ecosystems & Environment*, 54, 137–148. p.
- WANG, Z., GAO, Y. (2001): Biogeochemical cycling of selenium in Chinese environments. *Applied Geochemistry*, 16, 1345–1351. p.
- WANG, M.C., CHEN, H.M. (2003): Forms and distribution of selenium at different depths and among particle size fractions of three Taiwan soils. *Chemosphere*, 52, 585–593. p.
- WEBER, G.F., MAERTENS, P., MENG, X., PIPPENGER, C.E. (1991): Glutathione peroxidase deficiency and childhood seizures. *Lancet*, 337, 1443-1444. p.
- WEISS, H.V., KOIDE, M., GOLDBERG, E.D. (1971): Mercury in a Greenland Ice Sheet: Evidence of Recent Input by Man, *Science* 174, 692-694. p.
- WHANGER, P.D., IP, C., POLAN, C.E., UDEN, P.C., WELBAUM, G. (2000): Tumorigenesis, metabolism, speciation, bioavailability, and tissue deposition of selenium in selenium-enriched ramps (*Allium tricoccum*). *Journal of Agricultural and Food Chemistr*, 48, 5723-5730. p.
- WHANGER, P.D. (2001): Selenium and the brain: A review. *Nutritional neuroscience*, 4, 81–97. p.
- WHANGER, P.D. (2004): Selenium and its relationship to cancer: an update. *British Journal of Nutrition*, 91, 11-28. p.
- WROBEL, K., WROBEL, K., KANNAMKUMARATH, S. S., CARUSO, J. A., WYSOCKA, I. A., BULSKA, E., SWIATEK, J., WIERBICKA, M. (2004): HPLC-ICP-MS speciation of selenium in enriched onion leaves a potential dietary source of Se-methylselenocysteine. *Food Chemistry*, 86, 617-623. p.
- ZHANG, Y.Q., MOORE, J.N. (1997): Changes in selenium speciation in wetland Sediments induced by laboratory testing. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 28, 341-350. p
- ZÁRAY GY. (2006): Az elemanalitika korszerű módszerei. Akadémia Kiadó, Budapest, 634. p.

ZAYED, A., LYTLE, C.M., TERRY, N. (1998): Accumulation and volatilization of different chemical species of selenium by plants. *Planta*, 206, 284-292. p.

Internetes oldalak:

<http://atsdr.cdc.gov>

<http://en.wikipedia.org/wiki/Selenium>

<http://fscimage.fishersci.com/msds/01868.htm>

<http://healthlink.mcw.edu/article/964647329.html>

http://kvvm.hu/dokumentum.php?content_id=1436

<http://lpi.oregonstate.edu/infocenter/minerals/selenium/>

<http://nal.usda.gov/fnic/foodcomp.com>

<http://nlm.nih.gov/medlineplus/druginfo/natural/patient-selenium.html>

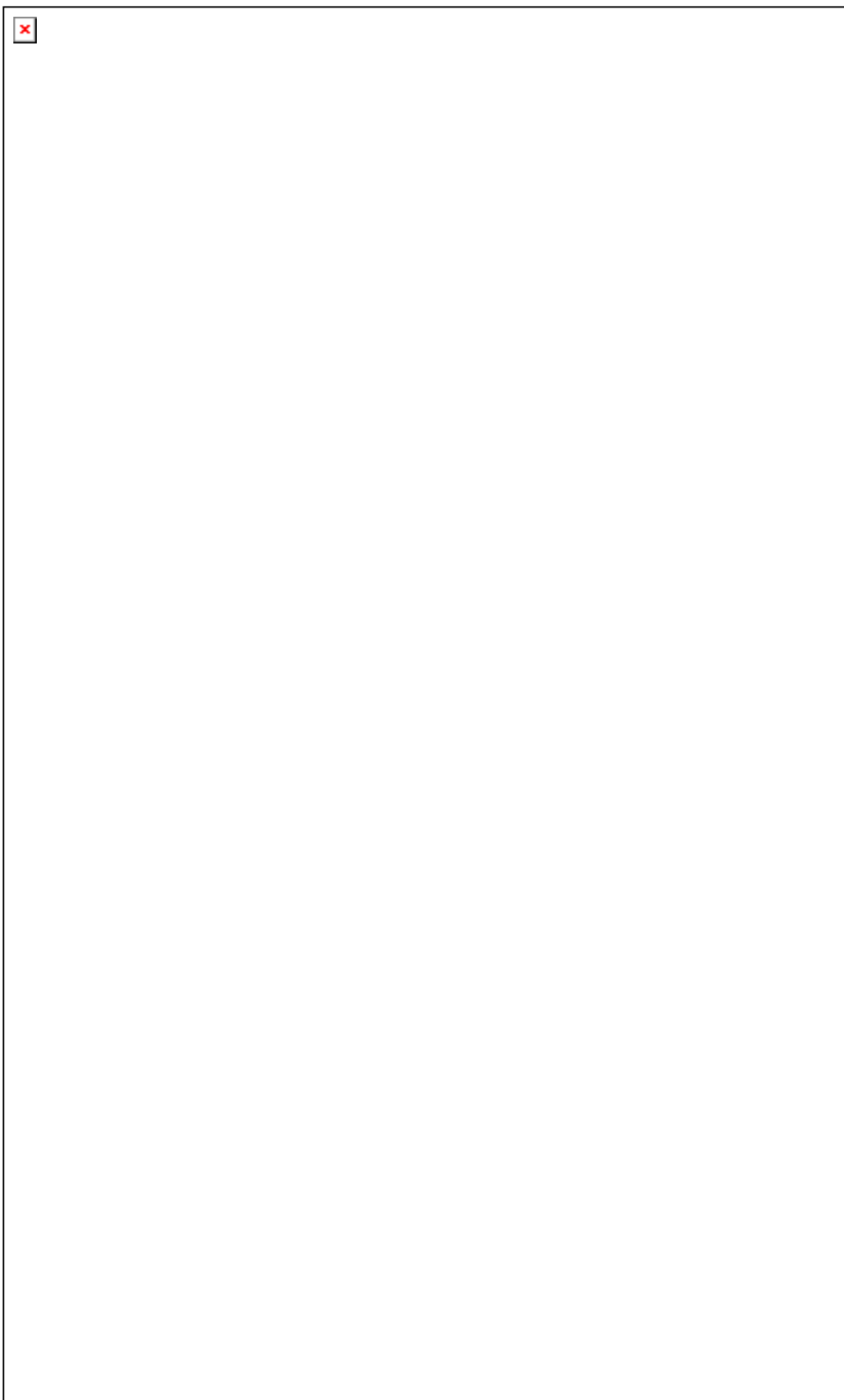
http://sciencelab.com/xMSDS-Sodium_selenate_decahydrate-9925033

<http://srs.fs.usda.gov>

<http://thebody.com>

1. Melléklet

A nagyhőrcsöki kísérlet elrendezése



KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton szeretném kifejezni köszönetemet mindazoknak, akik ezen dolgozat elkészítéséhez segítséget nyújtottak:

- témavezetőimnek Prof. Dr. Győri Zoltánnak és Dr. Kovács Bélának köszönöm a nagyszerű szakmai támogatást és köszönöm, hogy biztosították számomra a megfelelő műszeres és anyagi háttérrel kutatásaimhoz és a nagyszámú konferencián való részvételhez. Valamint köszönöm, hogy ezen a témán dolgozhattam. Szakmailag és emberileg is példaértékű volt számomra munkásságuk és szakmai segítségük.
- köszönöm Prof. Dr. Kádár Imrének (MTA TAKI), hogy doktori munkámhoz felhasználhattam a Nagyhorcsoki nehézfémterheléses kísérletből származó, szelénkezeléses talaj- és növénymintákat. Valamint köszönöm szakmai segítségét, támogatását és a számomra megküldött kontroll talajmintát is.
- Dr. Prokisch Józsefnek köszönöm a nagymérvű szakmai segítséget, a rendkívül hasznos tanácsokat és útmutatásokat. Nélküle sem jöhetett volna létre ez a dolgozat.
- külön köszönet illeti Dr. Tóth Árpád kollegát, aki már PhD tanulmányaim kezdeti lépéseinél is segített eligazítani és kiismerni a dolgok működésében, majd később megfelelő szemléletmódot adott a munka irányításához. A dolgozat megírásánál is segítségemre volt, és mindvégig maximálisan támogatott.
- köszönetet kell mondjak továbbá minden kedves kollegámnak, és tanáromnak, akik munkámat és PhD tanulmányaimat segítették Intézetünkben és az Agrártudományi Centrumon belül (a teljesség igénye nélkül): Prof. Dr. Loch Jakabnak, Prof. Dr. Szász Gábornak, Dr. Lévai Lászlónak, Dr. Kátai Jánosnak, Dr. Borbély Máriának.
- köszönet illeti opponenseimet; Prof. Dr. Pap Lajost és Prof. Dr. Heltai Györgyöt is fáradtságos és áldozatkész munkájukért, amellyel ezt a dolgozatot értékelték, s végleges formában való elkészülését segítették javító szándékú, kritikai észrevételeikkel és hasznos tanácsaikkal.
- valamint köszönet illeti a Műszerközpont összes dolgozóját a hasznos segítségért és a lelki támogatásért.
- köszönet Dr. Simon Lászlónak (Nyíregyházi Főiskola) a hasznos szakmai tanácsokért, a tudományos publikációkért és a lelki támogatásért.
- köszönet Dr. Fodor Péternek (Corvinus Egyetem, Bp.), valamint jelenlegi és volt doktoranduszainak, a szakmai segítségért és hasznos tanácsokért.
- külön köszönet illeti szüleimet és kedvesemet, Rakonczás Nándort, akik lehetővé tették, hogy idáig jussak; köszönöm nekik a kitartó és nélkülözhetetlen lelki támogatást és biztatást valamint szeretetet.
- végül, de nem utolsó sorban köszönet a Magyar Állami Doktori Ösztöndíjnak az anyagi támogatásért.

NYILATKOZAT

Ezen értekezést a Debreceni Egyetem Agrártudományi Centrum Mezőgazdaságtudományi Karán, a Növénytermesztési és Kertészeti Tudományok Doktori Iskola keretében készítettem a Debreceni Egyetem ATC MTK doktori (PhD) fokozatának elnyerése céljából.

Debrecen, 200.....

.....
a jelölt aláírása

NYILATKOZAT

Tanúsítom, hogy Széles Éva doktorjelölt 2004–2007. 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,

.....
a témavezető(k) aláírása