

## Szelénnel dúsított étkezési csírák szelénspeciációs vizsgálata

Bódi Éva – András Dávid – Kovács Béla

Debreceni Egyetem Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Kar,  
Élelmiszertudományi Intézet, Debrecen  
bodieva@agr.unideb.hu

### ÖSSZEFOGLALÁS

Jelen kísérletünkben szelénnel dúsított borsó- és búzacsírákat állítottunk elő. Kutatásunk során a csírák összes szeléntartalmának meghatározásán kívül célkitűzésünk volt a csírákban jelenlévő szelénmódosulatok elválasztása is.

Az élelmiszerek különböző szelén (Se) módosulatainak analitikai vizsgálata elsősorban azért indokolt, mert tudományos kutatások szerint, szelénhiányos táplálkozás esetén a szelén valamennyi módosulata hasznos, az éppen kielégítő szintet elérő szelénellátottságtól kezdve azonban jelentős eltérések figyelhetők meg egyes módosulatok szervezetre gyakorolt kedvező hatásai között. Különbség van a módosulatok biológiai hozzáférhetőségében, hasznosulásában, felhalmozódásában, toxicitásában, a kutatások azonban a legfőbb eltérést a szelén rákellenes hatásával kapcsolatban mutatták ki.

Kísérletünkben a szelént nátrium-szelenit, illetve nátrium-szelenát formájában alkalmaztuk és a csíráztatáshoz felhasznált oldatok koncentrációja 10 mg/dm<sup>3</sup> volt. A kontroll kezelés desztillált vízen való csíráztatást foglalt magában.

A csíráminták összes szelénkoncentrációját azok mikrohullámú roncsolását követően induktív csatolású plazma tömegspektrométerrel (ICP-MS) határoztuk meg. A szelénmódosulatok elválasztásához szükséges minta-előkészítés során különböző extrakciós oldószereket [0,1 M és 0,2 M HCl; illetve 10 mM citromsav puffer (pH 5,0)] alkalmaztunk, és arra a kérdésre kerestük a választ, hogy a felhasznált extrakciós oldószerek közül melyik eredményez legnagyobb szelén kinyerési hatásfokot. A csíráminták extraktumainak szelénspeciációs vizsgálatát nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiával (HPLC), anioncserélő oszlopon történő elválasztással végeztük el, a szelénmódosulatok detektálását pedig ICP-MS készülék segítségével oldottuk meg.

Kísérleti eredményeinket kiértékelve megállapítottuk, hogy a csíráztatásnál alkalmazott szerves szelénformák jelentős része átalakult szerves szelénvegyületekké. A búza- és borsócsírák egyes szelén módosulatainak mennyiségében eltéréseket figyeltünk meg és a mérési eredményeink arra is rámutatnak, hogy a csírák szelén felvétele, és szelén módosulatainak megoszlása a csíráztatásnál alkalmazott szelénformától is függ.

Ezen kívül a mérésnél kapott kromatogramokból az is nyilvánvalóvá vált, hogy minta-előkészítésnél alkalmazott extrakciós eljárások közül a szerves szelénformák esetében citromsav kivonószerezrel végzett extrakció a leghatásosabb.

**Kulcsszavak:** borsó- és búzacsírák, szelén módosulatok

### SUMMARY

In this present study, we prepared selenium-enriched pea and wheat sprouts. During our research we aimed not only to measure the total selenium content of the sprouts but to identify different selenium species.

Scientific researches show why the analytical examination of different selenium (Se) species is necessary: consumption of all kind of Se-species is useful for a person who suffers in selenium deficit, while there is significant difference between effects of different Se-species on person, in whose body the Se-level is just satisfactory. Biological availability, capitalization, accumulation, toxicity of Se-species are different, but the main difference was manifested in the anti-cancer effect of selenium.

During our research selenium was used in form of sodium selenite and sodium selenate, the concentration of the solutions used for germination was 10 mg dm<sup>-3</sup>. Control treatment meant germination in distilled water. Total selenium content of sprout samples was measured after microwave digestion by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). Different extraction solvents were applied during sample preparation in order to separate different Se-species (0.1 M and 0.2 M HCl or 10 mM citric acid buffer). We wanted the following question to be answered: Which extraction solvent resulted the best extraction efficiency? Selenium speciation analysis of sprout sample extracts was performed by high performance liquid chromatography with anion exchange column, detection of selenium species was performed by ICP-MS.

Evaluating our experimental results we have been found that significant amount of selenium of inorganic forms used during germination transformed into organic selenium compounds. There was difference between the amount of Se-species in pea and wheat sprouts and selenium uptake and repartition of selenium species were depended on Se-form used during germination.

In addition the chromatogram analysis made us clear as well, that the citric acid solvent proved to be the most effective extraction solvent during sample preparation in the view of organic Se species.

**Keywords:** pea and wheat sprouts, selenium species

### BEVEZETÉS

A szelén biológiai szerepe az elmúlt évtizedek kutatásai alapján jelentősen felértékelődött. Számos kutatás igazolja, hogy csökkenti a szív- és érrendszeri megbetegedések kialakulását (Rayman, 2000; Stranges et al., 2006), erősíti immunrendszerünket (Dubois és

Belleville, 1988), elősegíti az agy működését (Whanger, 2001), illetve hatástalanítja a nehézfémek (Cd, Hg) mérgező hatását a szervezetünkben (Sasakura és Suzuki, 1998). Navarró-Alarcón és López Martínez (2000) megállapításai szerint közvetlen vagy közvetett módon, de a szelénhiány számos betegség kialakulásában vagy kórképének súlyosbodásában játszhat szerepet,

mint például a felnőttkori cukorbetegség, szürkehályog, cisztás fibrózis, agyérkatasztrófa, vastagbél fekélyesedés, különféle ráktípusok, valamint szív- és érrendszeri betegségek. A szelén ezen kívül egyik legkiemelkedőbb jellegzetessége, hogy antioxidáns tulajdonsággal rendelkező enzimek alkotójaként hatékonyan részt vesz a szabad gyökök semlegesítésében, így jelentős mértékben csökkentheti a rák kialakulásának kockázatát (Herbert et al., 1996).

A szelén fent említett kedvező élettani hatásai, illetve az a tény, hogy a mindennapi ételmiszereink csekély szeléntartalommal rendelkeznek (Reilly, 1998), számos kutatót indított arra, hogy szelénnel dúsított ételmiszereket, úgynevezett funkcionális ételmiszereket hozzon létre, ezáltal is növelve az emberek Se ellátását. Szelénnel dúsított állati eredetű ételmiszerek között szerepelt például a csirkehús (Surai, 2000), illetve a tojás (Surai és Sparks, 2001), míg a megnövelt szeléntartalmú növényi eredetű ételmiszerekre példaként hozható fel a káposzta, a hagyma és a szója (Maneetong et al., 2013; Shah et al., 2004; Chan et al., 2009). A speciációs irodalomban ezen kívül számos tanulmány jelent meg, amely komposztot termesztett csiperkegomba (Gergely et al., 2004), illetve élesztő (Schrauzer, 2000) szeléndúsításával foglalkozott.

Azonban e funkcionális ételmiszerek esetében mindenképpen fontos volt feltérképezni azt, hogy a szelént milyen kémiai formában tartalmazzák, ugyanis jelentős különbségek figyelhetők meg az egyes szelénmódosulatok között. Különbség van az egyes módosulatok biológiai hozzáférhetőségében, hasznosulásában, felhalmozódásában, toxicitásában, valamint antikarcinogén hatásában (Whanger et al., 2000).

Számos kutatás igazolja, hogy a szelén antikarcinogén hatását elsősorban szerves módosulatainak keresztül fejt ki (szelenometionin, szelenocisztein, szelenometil-szelenocisztein), jelenlegi ismereteink szerint azonban úgy tűnik, hogy a szeleno-metil-szelenocisztein, illetve a  $\gamma$ -glutamil-szeleno-metil-szelenocisztein antikarcinogén hatása szignifikánsan nagyobb bármely más szerves szelénmódosulathoz viszonyítva (Ip et al., 2000; Whanger, 2002).

## ANYAG ÉS MÓDSZER

### Magvak csíráztatása

Kísérleteinkben a csíráztatáshoz biotermesztésből származó, kereskedelmi forgalomban kapható búzát (*Triticum aestivum*) és zöldborsót (*Pisum sativum*) használtunk fel. Több tényező is indokolta, hogy a csíráztatáshoz ezeket a magvakat választottuk. A csíráztatott magvak közül a búza és a borsó kiemelkedő biológiai és élvezeti értékkel rendelkezik, valamint a csíráztatásuk is egyszerűbb az apróbb magvakhoz viszonyítva.

Csíráztatás előtt eltávolítottuk a törött és repedt magvakat, majd mindegyik edénybe 20–20 g magot mértünk be. A bemért magvakat 12 órán keresztül áztattuk, így a magvak az eredeti méretük többszörösére duzzadtak.

A magvak csíráztatása során a szelént nátrium-szelenit ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) (Fluka, Buchs, Svájc), illetve

nátrium-szelenát ( $\text{Na}_2\text{SeO}_4$ ) (Sigma-Aldrich, Steinheim, Németország) formájában, ioncserélt vízben feloldva alkalmaztuk és a csíráztatáshoz felhasznált oldatok koncentrációja  $10 \text{ mg/dm}^3$  volt. A kétféle szelénmódosulatot tartalmazó oldatok elkészítéséhez a szükséges koncentrációt szelénre vonatkoztatva számoltuk ki. A kontrollkezelés kísérletünkben desztillált vízen való csíráztatást foglalt magában. A csíráztatásnál arra is odafigyeltünk, hogy biztosítsuk a búzák és a zöldborsók csíráztatásához az ideális  $20^\circ\text{C}$  csírázási hőmérsékletet. A csírák öblítését naponta kétszer megisméltük, így elkerültük a magvak kiszáradását, illetve a felületi nyálkaképződést.

A csíráztatás búzacsírák esetében 5 napig, zöldborsó csíráknál 4 napig tartott. A csírák a kiértékeléskor  $3,5 (\pm 1,0) \text{ cm}$ -es csíráruddal és  $3,5 (\pm 1,0) \text{ cm}$ -es gyökérmennyel rendelkeztek.

A magvak csíráztatását, valamint a minták előkészítését és mérését a Debreceni Egyetem Élelmiszertudományi, Minőségbiztosítási és Mikrobiológiai Intézetében végeztük el. Az alkalmazott minta-előkészítést és a méréseket minden esetben három ismétlésben hajtottuk végre.

### Borsó- és búzacsírák összes szelén koncentrációjának meghatározása

A borsó- és búzacsírák összes szelénkoncentrációjának meghatározásához a mintákat mikrohullámmal elősegített nagynyomású roncsolásnak vetettük alá, melyet Milestone Start D típusú mikrohullámú roncsoló készülékkel végeztünk.

A mintákból ezredgramm pontossággal  $1 \text{ g}$ -ot mértünk be az egyes teflon bombákba, majd a bemért mintákhoz  $8 \text{ cm}^3$  cc.  $\text{HNO}_3$ -at ( $65 \text{ m/m}\%$ , Scharlau Chemie, Spanyolország) adtunk. A mintákat  $10$  perc felfűtést követően  $10$  percen keresztül  $180^\circ\text{C}$ -on roncsoltuk. Ezt követően, amikor a leroncsolt minta lehűlt, a roncsolmányt ionmentes vízzel  $50 \text{ cm}^3$ -es centrifugacsövekbe mostuk át, majd ionmentes vízzel  $25 \text{ cm}^3$ -re egészítettük ki.

A kész minták Se tartalmát egy X7-es típusú, Thermo Elemental gyártmányú induktív csatolású plazma tömegspektrométerrel (ICP-MS) határoztuk meg, amely beállítási és mérési paraméterei megegyeznek Puskás-Preszner és Kovács (2009) által alkalmazott spektrométerrel.

### Borsó- és búzacsírák szelén módosulatainak elválasztása

A csírák szelén módosulatainak elválasztásához szükséges mintaelőkészítést Cuderman et al. (2010), illetve Montes Bayón et al. (2005) publikációja alapján végeztük el.

A homogenizált nyers borsó- és búzacsírákból  $0,6 \text{ g}$ -ot mértünk be  $10 \text{ cm}^3$ -es centrifugacsövekbe, majd megfelelő extrahálószerrel  $2,5 \text{ cm}^3$ -t adtunk hozzá. A mintaelőkészítés során extrakciós oldószerként  $0,1 \text{ M}$  és  $0,2 \text{ M HCl}$ -t; illetve  $10 \text{ mM}$  citromsav puffert ( $\text{pH } 5,0$ ) alkalmaztunk. Az így előkészített mintákat  $24$  órán keresztül,  $37^\circ\text{C}$ -on inkubáltuk, majd ezt követően  $30$  percen keresztül  $6000/\text{min}$  fordulatszámon Sigma 3K30

típusú laboratóriumi centrifugán centrifugáltuk. Az extrakció után a centrifugálással kapott felülúszókat elválasztottuk az üledéktől és hígításukat követően 0,45 µm porúsátmérőjű fecskendőszűrőn szűrtük át. Az előbbieket szerint nyert extraktumokból a szelénformák elválasztását nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiával (HPLC), HAMILTON PRP-X anioncserélő oszlopon történő elválasztással végeztük el, a szelénmódsulatok detektálását pedig ICP-MS készülék segítségével oldottuk meg. A vivőfolyadék 5,0 pH-jú citromsav volt.

Kutatómunkánk során a csírák egyes Se módosulatainak mennyiségi meghatározásán kívül fontosnak tartottuk annak megállapítását is, hogy a minta-előkészítés során felhasznált extrakciós oldószerek közül melyik eredményez legnagyobb szelén kinyerési hatásfokot. A kinyerési hatásfok kiszámításánál a búza- és borsócsírák összes Se mennyiségét vettük alapul.

## EREDMÉNYEK

### Borsó- és búzacsírák összes szelén koncentrációja

A búza és borsócsírák összes Se koncentrációját az 1. táblázatban foglaltuk össze. Ezek az eredmények arra mutatnak rá, hogy a kezeléseknél alkalmazott szerves szelénit és szelenát jól felvehető szelénformának bizonyult a csíranövények számára, azonban mindkét csíranövény esetében azt tapasztaltuk, hogy szelenát kezelés esetén az összes Se koncentrációjuk magasabb volt. Véleményünk szerint ezek az eredmények összefüggésben vannak azzal a ténnyel, hogy a szelenát könnyebben szállítható a növényi szövetekben, mint a szelenit. Ezen kívül a táblázat eredményeiből az is

szembetűnővé válik, hogy a két növényfaj eltérő szelén-akkumuláló képességgel rendelkezik, ugyanis szelenit és szelenát kezelés esetében is a búzacsíráknál közel kétszeres Se-koncentráció értékeket kaptunk.

### Borsó- és búzacsírák szelén módosulatainak koncentrációja

Borsócsírák szelénittel történő kezelése esetében azt tapasztaltuk, hogy a felhasznált szelenit nem alakult át szelenáttá a csírákban, hiszen a szelenát koncentráció mindegyik mintaelőkészítésnél a kimutatási határérték alatt volt. A szelenittel dúsított borsócsírák azonban a szerves szelén mellett szerves szelénmódsulatokat is tartalmaztak, ahogyan azt a 2. táblázat is igazolja.

A táblázatból az is kitűnik, hogy a különböző extrakciós módszerekkel minden esetben 5 szerves szelénmódsulat jelenlétét tudtuk igazolni a mintákban, amelyek közül eddig a szeleno-metionint (SeMet) sikerült azonosítanunk. A többi szerves szelénmódsulat beazonosítása további vizsgálataink tárgyát fogja képezni.

A 2. táblázatban feltüntetett szerves és szerves szelén Se vegyületek koncentráció értékeit a 3. táblázatban összesítettük, amelyből jól látszik, hogy a citromsavval végzett extrakció hatékonyabb a szerves Se vegyületek kioldásában, mint a 0,1 és a 0,2 M HCl. A szerves szelénit kioldásában viszont a 0,2 M HCl-val értünk el legjobb eredményt. A 3. táblázatban az extrakciós hatásfokait is ismertettük, amely alapján a különböző extraháló eljárások közül a citromsavval végzett extrakció bizonyult legeredményesebbnek.

1. táblázat

Borsó- és búzacsírák összes szelén koncentrációja (mg/kg) kontroll, 10 mg/dm<sup>3</sup> szelenit, illetve szelenát kezelés esetén (n=3)

Kezelések(1)	Borsócsírák Se koncentrációja (mg/kg)(2)	Búzacsírák Se koncentrációja (mg/kg)(3)
Kontroll(4)	0,069 ± 0,011	0,089 ± 0,014
Szelenit(5)	6,25 ± 0,31	12,4 ± 0,3
Szelenát(6)	7,75 ± 0,22	13,1 ± 0,3

Table 1: Total selenium concentration (mg kg<sup>-1</sup>) of pea and wheat sprouts in case of control, 10 mg dm<sup>-3</sup> selenite and 10 mg dm<sup>-3</sup> selenate treatments (n=3)

Treatments(1), Se concentration of pea sprouts (mg kg<sup>-1</sup>)(2), Se concentration of wheat sprouts (mg kg<sup>-1</sup>)(3), Control(4), Selenite(5), Selenate(6)

2. táblázat

Szelenittel dúsított borsócsírák szerves és szerves szelén módosulatainak koncentrációja (µg/kg) 0,1 M és 0,2 M HCl, illetve 10 mM citromsav extrakciós oldószert alkalmazása esetén (n=3)

Extrakciós oldószert(1)	Szerves Se módosulatok (µg/kg)(2)					Szerves szelén módosulatok (µg/kg)(3)	
	1.	2.	3.	4.	5.	Szelenit(4)	Szelenát(5)
0,1 M HCl	11,6±0,4	44,7±6,4	302±1	2,90±1,05	46,7±0,2	691±8	K.H.>
0,2 M HCl	5,79±0,51	22,8±0,6	70,5±10,4	1,44±0,15	9,72±2,89	723±35	K.H.>
Citromsav(6)	3,44±2,87	87,3±33,9	255±3	299±16	119±33	571±21	K.H.>

K.H.=kimutatási határ, 5. szerves Se-módsulat=SeMet

Table 2: Concentration (µg kg<sup>-1</sup>) of organic and inorganic selenium species in selenite-enriched pea sprouts when 0.1 M and 0.2 M HCl or 10 mM citric acid as extraction solvents were applied (n=3)

Extraction solvent(1), Organic Se species (µg kg<sup>-1</sup>)(2), Inorganic Se species(µg kg<sup>-1</sup>)(3), Selenite(4), Selenate(5), Citric acid(6), Note: LOD=limit of detection, 5. organic selenium species=SeMet

3. táblázat

Szelenittel dúsított borsócsírák összes szerves és szervetlen szelén tartalma ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) 0,1 M és 0,2 M HCl, illetve 10 mM citromsav extrakciós oldószer alkalmazása esetén ( $n=3$ )

Extrakciós oldószer(1)	Összes szerves Se-tartalom ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )(2)	Összes szervetlen Se-tartalom ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )(3)	Összes szerves és szervetlen Se-tartalom ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )(4)	Kinyerési hatások (%) (5)
0,1 M HCl	407 (37,0%)	691 (63,0%)	1098	28,3
0,2 M HCl	110 (13,2%)	723 (86,8%)	833	21,9
Citromsav(6)	763 (57,2%)	571 (42,8%)	1334	35,0

Table 3: Total organic and inorganic selenium content ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) of selenite-enriched pea sprouts when 0.1 M and 0.2 M HCl or 10 mM citric acid as extraction solvents were applied ( $n=3$ )

Extraction solvent(1), Total organic selenium content ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )(2), Total inorganic selenium content ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )(3), Total organic and inorganic selenium content ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )(4), Extraction efficiency (%) (5), Citric acid(6)

Szelenáttal dúsított borsócsírák szelén speciációs vizsgálatának eredményeit a 4–5. táblázatban foglaltuk össze. A számadatok az mutatják, hogy a felhasznált szelénát mindössze 1–8%-ban alakult át szerves szelén módosulatokká a csírákban, így szelénrel dúsított borsócsírák előállításánál érdemesebb szelénit alkalmazni, a nagyobb szerves Se tartalom elérés érdekében.

Szelenittel dúsított búzacsírák esetében az alkalmazott extrakciós oldószerekkel szintén 5 szerves és 2 szervetlen Se módosulatot tudunk kimutatni a mintákban. A búzacsírákban viszont a szelénit 96–99%-ban szerves szelén vegyületekké alakult át, amely lényegesen magasabb a borsócsírák esetében tapasztalt értékeknél (13–57%) (6–7. táblázat).

4. táblázat

Szelenáttal dúsított borsócsírák szerves és szervetlen szelén módosulatainak koncentrációja ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) 0,1 M és 0,2 M HCl, illetve 10 mM citromsav extrakciós oldószer alkalmazása esetén ( $n=3$ )

Extrakciós oldószer(1)	Szerves Se módosulatok ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )(2)					Szervetlen Se módosulatok ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )(3)	
	1.	2.	3.	4.	5.	Szelenit(4)	Szelenát(5)
0,1 M HCl	5,38±0,41	18,5±13,1	20,9±0,81	8,76±0,6	36,9±3,3	316±21,4	3369±184
0,2 M HCl	1,15±1,13	1,14±1,16	3,5±0,1	2,49±2,85	6,01±0,6	357±4	3848±26
Citromsav(6)	5,35±0,6	41,2±2,5	20,9±3,3	54,5±10	193±8	312±10	3466±86

Megjegyzés: 5. szerves Se-módosulat=SeMet

Table 4: Concentration ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) of organic and inorganic selenium species in selenite-enriched pea sprouts when 0.1 M and 0.2 M HCl or 10 mM citric acid as extraction solvents were applied ( $n=3$ )

Extraction solvent(1), Organic Se species ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )(2), Inorganic Se species ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )(3), Selenite(4), Selenate(5), Citric acid(6), Note: 5. organic selenium species=SeMet

5. táblázat

Szelenáttal dúsított borsócsírák összes szerves és szervetlen szelén tartalma ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) 0,1 M és 0,2 M HCl, illetve 10 mM citromsav extrakciós oldószer alkalmazása esetén ( $n=3$ )

Extrakciós oldószer(1)	Összes szerves Se-tartalom ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )(2)	Összes szervetlen Se-tartalom ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )(3)	Összes szerves és szervetlen Se-tartalom ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )(4)	Kinyerési hatások (%) (5)
0,1 M HCl	90,4 (2,4%)	3685 (97,6%)	3776	80,0
0,2 M HCl	14,3 (0,3%)	4205 (99,7%)	4219	88,3
Citromsav(6)	311,0 (7,6%)	3772 (92,4%)	4083	86,5

Table 5: Total organic and inorganic selenium content ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) of selenite-enriched pea sprouts when 0.1 M and 0.2 M HCl or 10 mM citric acid as extraction solvents were applied ( $n=3$ )

Extraction solvent(1), Total organic selenium content ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )(2), Total inorganic selenium content ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )(3), Total organic and inorganic selenium content ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )(4), Extraction efficiency (%) (5), Citric acid(6)

6. táblázat

Szelenittel dúsított búzacsírák szerves és szervetlen szelén módosulatainak koncentrációja ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) 0,1 M és 0,2 M HCl, illetve 10 mM citromsav extrakciós oldószer alkalmazása esetén ( $n=3$ )

Extrakciós oldószer(1)	Szerves Se módosulatok ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )(2)					Szervetlen Se módosulatok ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )(3)	
	1.	2.	3.	4.	5.	Szelenit(4)	Szelenát(5)
0,1 M HCl	52,6±2,2	40,8±4,7	602±62	3,79±0,15	18,1±3,2	2,37±0,21	2,6±0,3
0,2 M HCl	41,6±7,4	43,0±9,3	466±26	13,40±2,78	3,3±0,4	16,2±3,1	2,22±0,82
Citromsav(6)	38,7±3,3	160±7	524±2	145±4	364±22	2,85±1,08	4,44±1,34

Megjegyzés: 5. szerves Se-módosulat=SeMet

Table 6: Concentration ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) of organic and inorganic selenium species in selenite-enriched wheat sprouts when 0.1 M and 0.2 M HCl or 10 mM citric acid as extraction solvents were applied ( $n=3$ )

Extraction solvent(1), Organic Se species ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )(2), Inorganic Se species ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )(3), Selenite(4), Selenate(5), Citric acid(6), Note: 5. organic selenium species=SeMet



7. táblázat

**Szelenittel dúsított búzacsírák összes szerves és szervetlen szelén tartalma ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) 0,1 M és 0,2 M HCl, illetve 10 mM citromsav extrakciós oldószer alkalmazása esetén (n=3)**

Extrakciós oldószer(1)	Összes szerves Se-tartalom ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )(2)	Összes szervetlen Se-tartalom ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )(3)	Összes szerves és szervetlen Se-tartalom ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )(4)	Kinyerési hatások (%) (5)
0,1 M HCl	717 (99,3%)	4,97 (0,7%)	722	10,0
0,2 M HCl	567 (96,9%)	18,39 (3,1%)	585	7,8
Citromsav(6)	1232 (99,4%)	7,29 (0,6%)	1240	16,6

Table 7: Total organic and inorganic selenium content ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) of selenite-enriched wheat sprouts when 0.1 M and 0.2 M HCl or 10 mM citric acid as extraction solvents were applied (n=3)

Extraction solvent(1), Total organic selenium content ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )(2), Total inorganic selenium content ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )(3), Total organic and inorganic selenium content ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )(4), Extraction efficiency (%) (5), Citric acid(6)

A 7. táblázatból ezen kívül az is megállapítható, hogy a minta-előkészítésnél alkalmazott extrakciós oldószer hatékonyágában jelentős különbségek vannak. A borsócsíráknál kapott eredményekkel összehangban búzacsírák esetében szintén azt tapasztaltuk, hogy a szerves Se vegyületek kimutatásában a citromsavval érhetünk el legjobb eredményeket, ez viszont a szervetlen Se-vegyületek extrakciójánál kevésbé hatékony, mint a 0,2 M HCl.

A 8–9. táblázatok a szelenáttal kezelt búzacsírák mérési eredményeit tartalmazza. A három alkalmazott extrakciós eljárás közül a 0,1 és 0,2 M HCl esetében azt tapasztaltuk, hogy a szelenát nem alakult át szerves szelenmódosulatokká a csírákban. A citromsavval végzett extrakció viszont meglepően magas szerves Se koncentrációt mutat, melynek okát csak további kísérletek során tudjuk meghatározni.

8. táblázat

**Szelenáttal dúsított búzacsírák szerves és szervetlen szelén módosulatának koncentrációja ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) 0,1 M és 0,2 M HCl, illetve 10 mM citromsav extrakciós oldószer alkalmazása esetén (n=3)**

Extrakciós oldószer(1)	Szerves Se módosulatok ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )(2)					Szervetlen Se módosulatok ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )(3)	
	1.	2.	3.	4.	5.	Szelenit(4)	Szelenát(5)
0,1 M HCl	90,3±16,4	58,7±22,9	66,6±25,9	4,5±3,6	68,8±13,5	126±33	4601±774
0,2 M HCl	48,6±1,2	48,9±3,8	29,0±3,2	5,76±0,56	76,5±25,9	147±14	2728±6
Citromsav(6)	62,7±3,8	243±11,2	79,4±10,9	215±16	541±57	218±7	159±66

Megjegyzés: 5. szerves Se-módosulat=SeMet

Table 8: Concentration ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) of organic and inorganic selenium species in selenate-enriched wheat sprouts when 0.1 M and 0.2 M HCl or 10 mM citric acid as extraction solvents were applied (n=3)

Extraction solvent(1), Organic Se species ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )(2), Inorganic Se species ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )(3), Selenite(4), Selenate(5), Citric acid(6), Note: 5. organic selenium species=SeMet

9. táblázat

**Szelenáttal dúsított búzacsírák összes szerves és szervetlen szelén tartalma ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) 0,1 M és 0,2 M HCl, illetve 10 mM citromsav extrakciós oldószer alkalmazása esetén (n=3)**

Extrakciós oldószer(1)	Összes szerves Se-tartalom ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )(2)	Összes szervetlen Se-tartalom ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )(3)	Összes szerves és szervetlen Se-tartalom ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )(4)	Kinyerési hatások (%) (5)
0,1 M HCl	290 (5,8%)	4727 (94,2%)	5017	64,3
0,2 M HCl	209 (6,8%)	2874 (93,2%)	3083	39,4
Citromsav(6)	1141 (75,2%)	377 (24,8%)	1518	19,4

Megjegyzés: 5. szerves Se-módosulat=SeMet

Table 9: Total organic and inorganic selenium content ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) of selenate-enriched pea sprouts when 0.1 M and 0.2 M HCl or 10 mM citric acid as extraction solvents were applied (n=3)

Extraction solvent(1), Total organic selenium content ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )(2), Total inorganic selenium content ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )(3), Total organic and inorganic selenium content ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )(4), Extraction efficiency (%) (5), Citric acid(6), Note: 5. organic selenium species=SeMet

## KÖVETKEZTETÉSEK

Kísérleti eredményeinket kiértékelve megállapítottuk, hogy a borsó- és búzacsírák a csíráztatásnál alkalmazott szervetlen szelénformák jelentős részét szerves szelénvegyületekké alakították át, azonban szelenittel, illetve szelenáttal dúsított csírák szervetlen és szerves Se módosulatának arányában jelentős eltérést figyeltünk meg. Mivel a borsó- és búzacsírák a szelenitet na-

gyobb arányban alakították át szerves szelénvegyületekké, mint a szelenátot, ezért véleményünk szerint szelénrel dúsított csírák előállításánál célszerűbb szelenitet alkalmazni, a nagyobb szerves Se tartalom elérés érdekében.

Kutatási eredményeink ezen kívül arra is rámutattak, hogy minta-előkészítésnél alkalmazott extrakciós oldószer hatékonyágában jelentős különbségek vannak. Mivel a sósavval végzett extrakció a szervetlen

módosulatok feltárásában volt eredményesen alkalmazható, a citromsavval végzett extrakció pedig főként a szerves Se-módosulatok kioldását segítette elő, így

véleményünk szerint ezeknek az oldószereknek célszerű lenne mintaelőkészítés során együttesen alkalmazni, a nagyobb Se kinyerési hatások elérése érdekében.

#### IRODALOM

- Chan, Q.–Afton, S. E.–Caruso, J. A. (2009): Selenium speciation profiles in selenite-enriched soybean (GlycineMax) by HPLC–ICPMS and ESI-ITMS. *Metallomics*. 2: 147–153.
- Cuderman, P.–Ozolt, L.–Kreft, I.–Stibilj, V. (2010): Extraction of Se species in buckwheat sprouts grown from seeds soaked in various Se solutions. *Food Chemistry*. 123: 941–948.
- Dubois, F.–Belleville, F. (1988): Sélénium rôle physiologique et intérêt en pathologie humaine. *Pathologie Biologie*. 36: 1017–1025.
- 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.
- Herbert, V.–Shaw, S.–Jayatileke, E. (1996): Vitamin C driven free radicals generation from iron. *Journal of Nutrition*. 126: 1213–1220.
- Ip, C.–Thompson, H. J.–Zhu, Z.–Ganther, H. E. (2000): In vitro and in vivo studies of methylseleninic acid: Evidence that a monomethylated selenium metabolite is critical for cancer chemoprevention. *Cancer Research*. 60. 11: 2882–2886.
- Maneetong, S.–Chookhampaeng, S.–Chantiratikul, A.–Chinrasri, O.–Thosaikham, W.–Sittipout, R.–Chantiratikul, P. (2013): Hydroponic cultivation of selenium-enriched kale (*Brassica oleracea* var. *Alboglabra* L.) seedling and speciation of selenium with HPLC-ICP-MS. *Microchemical Journal*. 108: 87–91.
- Montes-Bayón, M.–Molet, M. J.–González, E. B.–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.
- Navarro-Alarcón, M.–López-Martínez, M. C. (2000): Essentiality of selenium in the human body: relation with different diseases. *The Science of the Total Environment*. 249: 347–371.
- Puskás-Preszner A.–Kovács B. (2009): Molibdén-kezelés hatása szabadföldi kísérletben a növényi felvételle és a talaj molibdén frakcióira. *Agrártudományi Közlemények*. Debrecen. 36: 117–122.
- Rayman, M. P. (2000): The importance of selenium to human health. *Lancet*. 356: 233–241.
- Reilly, C. (1998): Selenium: A new entrant into the functional food arena. *Trends in Food Science and Technology*. 9: 114–118.
- Sasakura, C.–Suzuki, K. T. (1998): Biological interaction between transition metals (Ag, Cd and Hg), selenide/sulfide and selenoprotein P. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 71. 3–4: 159–162.
- Schrauzer, G. N. (2000): Anticarcinogenic effects of selenium. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 57: 1864–1874.
- 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.
- Stranges, S.–Marshall, J. R.–Trevisan, M.–Natarajan, R.–Donahue, R. P.–Combs, G. F.–Farinaro, E.–Clark, L. C.–Reid, M. E. (2006): Effects of selenium supplementation on cardiovascular disease incidence and mortality: secondary analyses in a randomized clinical trial. *American Journal of Epidemiology*. 163: 694–699.
- Surai, P. F. (2000): Selenium in poultry nutrition. 2. Reproduction, egg and meat quality and practical applications. *World's Poultry Science Journal*. 58: 431–450.
- Surai, P. F.–Sparks, N. H. C. (2001): Designer eggs: from improvement of egg composition to functional food. *Trends in Food Science and Technology*. 12: 7–16.
- Whanger, P. D. (2001): Selenium and the brain: A review. *Nutritional neuroscience*. 4: 81–97.
- Whanger, P. D. (2002): Selenocompounds in Plants and Animals and their Biological Significance. *Journal of the American College of Nutrition*. 21. 3: 223–232.
- 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 Chemistry*. 48: 5723–5730.