

# **DIPLOMAMUNKA**

Dobák Viktória

2023

Állatorvostudományi Egyetem

Növényteni Tanszék

# **Lenmagfajták ciánglikozid tartalmának vizsgálata csírázási fázisonként**

Készítette: Dobák Viktória

VI. évfolyamos állatorvostan-hallgató

Témavezető: Dr. Vetter János László

ÁTE, Növénytani tanszék

professzor emeritus, habil, kandidátus, MTA doktora

Témavezető: Dr. Gerencsér Ferencné

ÁTE, Növénytani tanszék

tanszéki mérnök, okleveles kertészmérnök

Budapest, 2023

# Tartalomjegyzék

|                           |    |
|---------------------------|----|
| Bevezetés .....           | 2  |
| Célkitűzések .....        | 8  |
| Anyag és módszer .....    | 9  |
| Eredmények .....          | 14 |
| Következtetések .....     | 20 |
| Összefoglalás .....       | 22 |
| Abstract .....            | 24 |
| Irodalomjegyzék .....     | 26 |
| Köszönetnyilvánítás ..... | 31 |

# Bevezetés

Háziállataink betegségeinél mindig gondolnunk kell a takarmányozásuk során elkövethető hibákra, növényi mérgezésekre. A fitotoxikózisok pontos okának felderítése azonban nem egyszerű feladat, ezek gyakran összetett laboratóriumi vizsgálatokat igényelnek [1].

Dolgozatunk témaválasztása a lenmag mérgezőségének vizsgálatára esett, mivel a bioétkezés aktualitása, a tápértékét bizonyító új kutatások, valamint az intenzív takarmányozás mellett nő a kereslet iránta [2], de meggondolatlan fogyasztása számos veszélyt is rejthet. Kutatásunk célja rávilágítani a lenmagfogyasztás lehetséges kockázataira, azok elkerülésére.

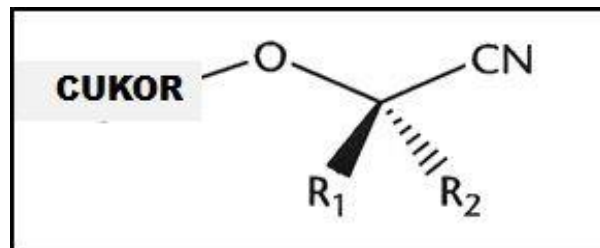
A lenmag, mint fontos tápanyagforrás, a világ olajosmag kínálatának 1%-át teszi ki, 2009-2010 között a világtermelés közel 2,3 millió tonna volt [3, 4]. Takarmányozási szempontból történelmi jelentőséggel bír, már a honfoglaló magyarok is ismerték a len növényt, és elkezdték a takarmánynövényként történő ültetését, felhasználását. Vizsgálatok szerint a magasabb cianogén glikozid-tartalmú növények termesztését az első gazdálkodók előnyben részesíthették, mivel ellenállóbbnak mutatkoztak a kártevőkkel szemben, valamint a növényevő állatok is sok esetben inkább más táplálékot kerestek maguknak [5]. Talán a cianogén glikozidban gazdagabb kemotípusok, növények térhódításának köszönhető, hogy már őseink életében is nagy szerepet játszott a len. A növény termesztése napjainkban is jelen van hazánkban, amelynek klímáját tekintve az olajlen termesztése azokon a területeken javasolt, ahol az éves csapadék nem haladja meg a 600 mm-t [6].

A len nyersfehérjetartalma 20-24 %, rostokban gazdag, fontos nyálkaanyagokat tartalmaz, amelyek hozzájárulnak az állatok egészséges emésztéséhez, bélgyulladás esetén javallott az alkalmazása, mivel a bélnyálkahártyán bevonatot képeznek. Mindemellett az omega-3 zsírsavak közé tartozó  $\alpha$ -linolénsav legfontosabb forrása. Azok az állatok, amelyek takarmányozásában jelen volt a lenmag, magasabb tejhozamot, tojástermelést mutattak [7]. A bőr, bél, valamint szőrzet egészségének megőrzése érdekében lófélék etetésében is előszeretettel alkalmazzák, azonban sokan nincsenek tisztában a kockázatokkal [8]. Rengeteg előnyös tulajdonsága mellett meg kell említeni az ösztrogén hatású fitoszterol, valamint cianogén glikozid-tartalmát, amely súlyos mérgezéshez is vezethet [3, 9].

A cianogén glikozid-tartalmú növények nagyon széles körben megtalálhatóak a növényvilágban, de leginkább az alábbi családokon belül gyakoriak: *Linaceae*, *Fabaceae*, *Rosaceae*, *Poaceae* [10]. A pázsitfűvek között nagy gyakorlati jelentősége van a cirok (*Sorghum*) nemzetség fajainak, fajtáinak, hibridjeinek, hiszen jelentős ciánhordozók lehetnek.

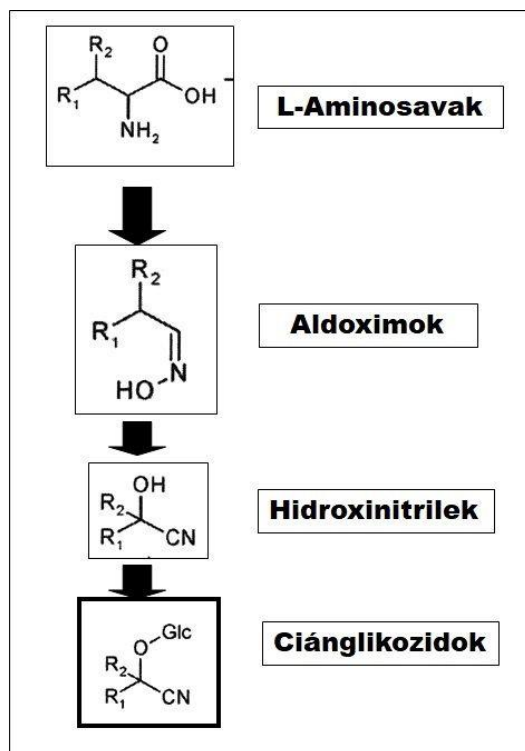
A trópusi vidékeken fontos cianogén növények a Bambus nemzetség fajai [11]. A *Phaseolus*, *Glycine*, *Solanum tuberosum*, *Arachis hypogaea* csíranövénye mutatott még jelentős HCN ciánglikozid-tartalmat [12]. A dolgozatban a *Linaceae* családba tartozó *Linum usitatissimum* jelentőségével foglalkozunk.

A cianogén glikozidok (1.ábra) a növények másodlagos anyagcsere-termékei, de szerepük még teljesen nem tisztázott [10, 13]. Számos kutatás vizsgálja szerepüket, de a növényevők elleni védekezés az, ami leginkább bizonyítást nyert. Feltételezések szerint a cianogén növények jobban alkalmazkodnak a melegebb klímájú területekhez [14]. A védekezéssel kapcsolatos funkciók mellett, a cianogén glikozid energiaraktárként is szolgál a növekvő csíranövény számára [15]. Ebből egyértelműen következik, hogy a ciántartalom felszabadulása az intenzív növekedés, az elongáció fázisában magasabb [16]. Számos kutatás folyik a ciánglikozid és nem ciánglikozid-tartalmú növények baktériumokkal, gombákkal szembeni ellenállóságával kapcsolatban. Megállapították, hogy számos gombafaj képes formamid-hidrolizázának köszönhetően a cianidot formamiddá alakítani, amely toleranciáját javítja [17]. A baktériumokkal szemben a ciánglikozid-tartalmú növények ellenállóbbnak mondhatók.



1.ábra A ciánglikozidok általános szerkezete, (Vetter, 2019 nyomán)

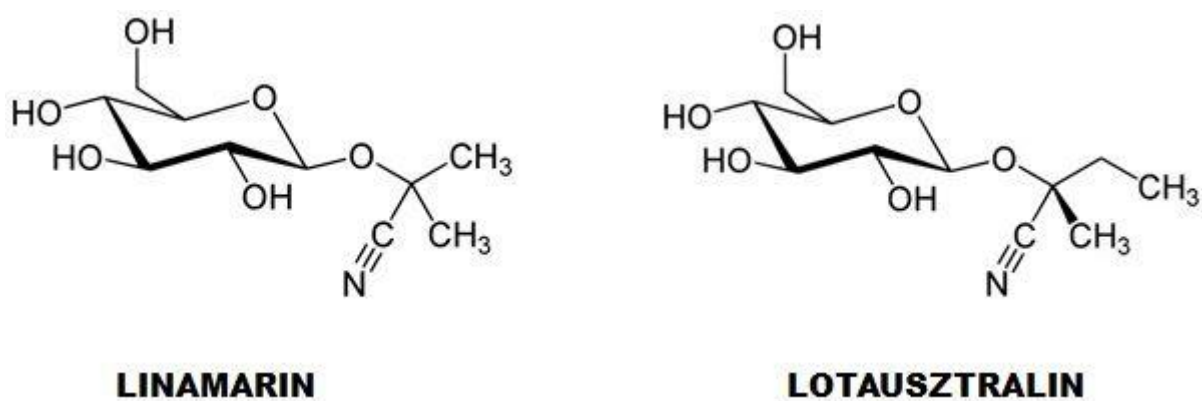
A cianogén glikozidok bioszintézise L-aminosavakból történik, melyekből aldoximok keletkeznek, amelyek majd hidroxinitrilekké alakulnak tovább, ez egy kétlépéses folyamat [18]. A nitrilekhez egy cukormolekula kapcsolódik, így jön létre a cianogén glikozid [15]. Mai ismereteink szerint 80 féle ciánglikozid különböztethető meg, ezek feltérképezése folyamatos témát biztosít a kutatók számára [19] (2. ábra).



2.ábra A ciánglikozidok bioszintézisének lépései, (Vetter, 2019 nyomán)

A cianogén glikozidok szilárd formában vannak jelen a növényben, melyek a citoszolban keletkeznek és aktív transzporttal a vakuólumokba szállítódnak [20]. A cianogén glikozidok ennek köszönhetően a lebontó enzimektől elkülönítve találhatóak [15, 21]. A növényi szövet sérülése során találkozunk a többségében a vakuólumban elhelyezkedő cianogén glikozid az enzimmel, ebben az esetben a  $\beta$ -glikozidázzal. A lebontó enzim hidroxinitrillé és cukorrá bontja a cianogén glikozidot. Híg savas közegben a hidroxinitril spontán hasadása következik be, amely során szubsztituált keton és HCN keletkezik, melynek mérgező hatása van már a szervezetre [19]. Tehát a HCN minden cianogén glikozid-tartalmú növényben kötött, glikozidos formában van jelen, csupán még nem alakult át, ehhez az átalakuláshoz enzimatis vagy nem enzimatis hidrolízisre van szükség [22]. Az enzim aktivitása a közeg víztartalmától és pH-értékétől függ. Főzéssel az enzim denaturálható, ezáltal a cianidképződés csökkenthető [23]. A kérődzőknél ennek ellenére is fel tud szabadulni cianid, mert a növényi enzimek denaturálása mellett, a bendőflóra bakteriális tevékenysége termel  $\beta$ -glikozidázt, ami a cianid felszabadulásához vezet [24]. A bendő közel semleges pH-ja kedvez az enzim működésének, emiatt gyors a HCN felszabadulás. Abban az esetben, ha a kérődző állat magas zsírtartalmú diétán van, akkor a bendő savasabbá válhat, amely kevésbé kedvez a HCN felszabadulásának [25].

A lenmagban is előforduló cianogén glikozidok a linamarin és lotustralin, melyek közel azonos mennyiségben vannak a len növényben [22, 26]. Ezen kívül számos forrás linusztatin és neolinusztatin (a diglikozidok csoportjába tartoznak) tartalmát is igazolt [27, 28, 29]. Vizsgálataink során nem törekedtünk a mono-, és diglikozidok elkülönítésére, hiszen a ciánfelszabadulás szempontjából lényegtelen, hogy az adott időszakban pontosan melyik vegyületből szabadul fel a HCN. Kutatások bebizonyították ugyanakkor, hogy a csírázás első 36 órájában a diglikozidok értéke magasabb, amelyek a 3. napra már detektálhatatlan szintre csökkennek. A monoglikozidok viszont a kezdeti alacsony szintről növekednek és átveszik a diglikozidok vezető szerepét [30] (3.ábra).



3.ábra A linamarin és a lotausztralin szerkezete, (Vetter, 2019 nyomán)

A cián mérgezőségét az adja, hogy a nehézfémionokkal a cianid komplexet képez. A sejtlégzés gátlása is ezen alapul, mert a citokrómoxidáz központi atomjához az  $Fe^{3+}$ -hoz köt és a negatív töltésű cianid inaktíválja azt. A kötődés azonban reverzibilis, egy bizonyos fokig a szervezet természetes méregtelenítő funkciói a cianidot tiocianáttá alakítják, amely a vizelettel ürülni tud, vagy aminosavakhoz köti a cianid iont [19].

A cianidmérgezésnek sokféle tünete lehet, ezek már az etetés utáni 6-8 órával észlelhető. Imbolygó járás, bizonytalanság is megfigyelhető az állatoknál, legelőn tartott állatoknál ez lehet a legfeltűnőbb jel [31]. Egy, a szakirodalomban ismertetett juhfarmon bekövetkező mérgezésnél is ezeket a tüneteket észlelték, valamint nyálzást, az állatok elfekvését és a megalvatan, cseresznyepiros vért, melyek mind egyértelműen a cianmérgezésre utalnak [32].

Kétféle mérgezést tudunk megkülönböztetni, az egyik esetben hirtelen pusztul el az állat, ilyenkor nehézlégzés, görcsök figyelhetők meg, a halál beállta előtt. A másik esetben, idült mérgezésről beszélhetünk, amely során hosszabb ideig, kisebb cianmennyiség kerül a szervezetbe. Ebben az esetben a méregtelenítő funkciók már nem tudják ellátni rendesen a

feladatukat, kimerülnek részben a méregtelenítésre elhasznált vegyületek mennyiségi hiányából adódóan hiánytünetekként idegrendszeri problémák alakulnak ki, részben pedig a keletkező kevésbé mérgező vegyület (a tiocianát) felhalmozódása is tüneteket okoz [1].

Nemcsak állatainkra lehetnek veszélyesek ezek a növények, hanem az emberekre is. A trópusi országokban a manióka (*Manihot esculenta*) fontos népélelmezési cikk, amely a szöveteiben cianogén glikozidot tartalmaz, melyből hidrolízis útján mérgező HCN keletkezik [10, 13]. A cianid okozta mérgezéses tünetek súlyos problémát jelentenek ezeken a területeken. A manióka monodiéta által okozott fő tünet a golyva kialakulása, melyet a folyamatos méregtelenítő funkció által előállított tiocianátnak tulajdonítanak, hiszen ez a vegyület csökkenti a pajzsmirigy működését [33]. Állataink takarmányozásánál a folyamatos kis mennyiségű cianogén glikozid-tartalmú növény etetése okozhat még ilyenfajta mérgezéses eseteket. Súlyos mérgezés időben való észlelése esetén alkalmazhatunk antidótumot is, amely intravénásan beadva Na-nitrit és Na-tioszulfát lehet [24, 25].

Az ember esetén a hidrogencianid letális dózisa 1 mg HCN/ttkg, emiatt veszélyes lehet a len növény csírájának fogyasztása, amely a napjainkban is divatos bioszempléletű, csíranövény fogyasztók körében nem eléggé köztudott. Főleg a csíranövények nyers fogyasztása okozhat problémát, mert a növény megfőzésével a  $\beta$ -glikozidáz elbomlik, és csak a bélflóra enzimek lesznek képesek a bontásra, így kevesebb HCN tud felszabadulni [19]. A mag nagymennyiségű fogyasztása is problémát okozhat, ugyanúgy, mint más cianogén glikozid-tartalmú mag fogyasztása (pl.: keserű mandula, szilva magjai) [34]. Az emberi egészséggel kapcsolatos kockázatok miatt az ESFA megkérte a Contam Panelt, hogy végezzen vizsgálatokat az élelmiszerekben a cianogén glikozidok jelenlétére vonatkozóan [35].

Kérdéseket vet fel, a lenmagolaj iránti keresletnövekedés, hiszen az olaj kinyerése után keletkező lenmagpogácsa, majd extrahált dara az állatok takarmányozására kiváló lehetne, de ciántartalmának növekedése kérdéses [27]. Kérődzők esetében 400g/100ttkg lenmag olajpogácsa etetése már nem ajánlott [23]. A ciántartalom kivonására, ennek legmegfelelőbb módszerére folyamatosan vannak törekvések. Az egyik leginkább hatásosnak bizonyuló az autokláv használata volt (15 perc 1,055 kg/cm<sup>2</sup> nyomáson), ebben az esetben a lenmag pogácsa cianid tartalma igen nagy mértékben lecsökkent. Hasonlóan jó módszernek bizonyult a lenmagpogácsa vízbe áztatása, majd megszáritása, amely során az eredeti cianidtartalom a felére csökkent [36].



A témakör tudományos kutatásai közül a hazai szakirodalom tekintetében kiemelkedő Vetter János professzor munkája. Külföldi publikált kutatások és idegennyelvű szakirodalom főleg az 1960-70-es években jelent meg, így dolgozatomban ezek áttekintésével is foglalkoztam. A cián kimutatásának számos módszerét vizsgálták már, azonban a legtöbb eddigi kutatás a pikrinsavas papír módszert alkalmazta [37, 38, 39]. Megállapították, hogy a pikrinsavas papír színváltozásának intenzitása szoros összefüggésben áll a felszabaduló HCN mennyiségével [22].

A Guignard-féle klasszikus teszt (1906), adta a dolgozatomban elvégzett kísérlet kiindulási alapját. A módszer a lúgos pikrinsavas papír színreakcióján alapul a friss, zúzott növényi anyagból felszabaduló HCN-dal, amely során a szűrőpapír színváltozásait a reakciótermékként kialakuló Na-izopurpurát okozza [1, 13]. A kimutatást száraz növényi anyaggal is lehet végezni, de jobb a friss növényi szövetet használni [22]. A pikrinsavas módszernek számos továbbfejlesztett változata ismert [36], más módszerrel végzett vizsgálatok a mono-, és diglikozidokat is elkülönítik egymástól [30].

## Célkitűzések

Kutatásunk célja a hazai nemesített lenfajtákban található cianogén glikozid-tartalom kimutatása, szemikvantitatív meghatározása volt. Eltérő csírázási fázisokban vizsgáltuk a lenmagokat pikrinsavas papír módszerrel. Kérdéseink, melyekre választ kerestünk a vizsgálattal:

1. A csírázás különböző fázisaiban miként változik a cianogén glikozid-tartalom?
2. Melyik fajtában található a legtöbb felszabadítható cianid, valamint van-e szignifikánsan kiemelkedő fajta?
3. Létezik-e az állatok takarmányozása szempontjából előnyösebb fajta, vagy esetleg előnyösebb csírázási időszak, mikor nem ér el toxikusnak tekinthető szintet a ciántartalom?

A rendelkezésre álló szakirodalmak áttekintése során a pikrinsavas módszert találtuk a legalkalmasabbnak a kísérlethez, mivel ennek érzékenysége kielégítő eredménnyel szolgált számunkra, valamint a kapott kvalitatív színreakciókból spektrofotometriásan, szemikvantitatív mérést tudtunk végezni.

## Anyag és módszer

Kutatásunkban 3 lenfajta magjait vizsgáltunk, adott csírázási fázisokban. A Szegedi Gabonakutató Intézetnek köszönhetően két magyar nemesítésű lenmag ciántartalmát kutathattuk, ezek a fiatalabb 'Helga' és régebben engedélyezett 'Zoltán' fajták [40]. Harmadik, referencia lenmagnak, egy bioboltban is vásárolható 'Aranysárga Bio' lenmagot választottunk (1.kép). A rendelkezésünkre bocsátott lenmagok vizsgálata az Állatorvostudományi Egyetem Növényteni Tanszékének laboratóriumában történt.



1.kép A választott lenfajták (balról-jobbra) Aranysárga-Bio, Helga, Zoltán

A kimutatási próba alapjául szolgáló pikrinsavas papír elkészítéséhez Schleicher-Schüll 2043b szűrőpapírt használtunk. A filterpapírt a kémcsövekhez megfelelően 0,8x8 cm-es csíkokra vágtuk. A lúgos pikrinsavas oldat elkészítéséhez 0,25 N NaOH oldatot készítettünk, melybe veszteség nélkül 0,228 g pikrinsavat oldottunk bele, lassú keverés mellett. Az oldatot 100 ml-re egészítettük ki desztillált víz hozzáadásával. A kész pikrinsavas oldatba merítettük a szűrőpapírokat, melyeket felakasztva szárítottunk. A kész tesztcsíkjaink sárga színt kaptak a pikrinsavas oldattól. Szakirodalmi adatok szerint száraz állapotban, fénytől védve hosszú ideig tárolhatóvá váltak [22] (2.kép).



2.kép Pikrinsav és a pikrinsavba mártott, kiszáritott szűrőpapír csíkok

A ciántartalom méréséhez elengedhetetlen volt, hogy ismert ciántartalmú kalibrációs egyenest tudjunk felvenni. Minden mérést 4 ismétlésben végeztünk a hibalehetőség minimalizálása érdekében. A kalibrációs oldatok elkészítéséhez 100  $\mu\text{g}$  KCN/ml-es törzsoldatot készítettünk. A kalibrációs kémcsövekbe a ciánkális törzsoldatból 0,05; 0,10; 0,25; 0,50; 0,75; 1,00 ml-es adagokat mértünk ki, ezeket desztillált vízzel 1,00 ml-re egészítettük ki (3.kép). A kalibrációs oldatban található cianid felszabadításához feleslegben 0,50 ml 3N HCl oldatot adtunk. A sósav hozzáadása után rögtön lezártuk a kémcsöveket gumidugókkal, melyekhez hozzá volt rögzítve a pikrinsavas tesztescsík. A kémcsöveket ezek után termosztátban 50 °C-on 30 percig inkubáltuk. A sósav hatására felszabaduló cianid reakcióba lépett a Na-pikráttal, melynek hatására vörös Na-izopurpurát keletkezett. A cianidtartalomnak megfelelő mértékben színeződtek el a tesztescsíkok. A színárnyalatok különbsége jelen esetben csak kvalitatív jellegű, de a szín maradéktalan leoldásával, melyet szakirodalmi adatok támasztanak alá, szemikvantitatívvá tettük [41]. A tesztescsíkokat 4  $\text{cm}^3$  desztillált vízbe aprítottuk, és 10 percig rázatógépbe tettük. A szűrőpapír leszűrése után a színes oldatok abszorbancia-értékei spektrofotométerben mérhetővé váltak.

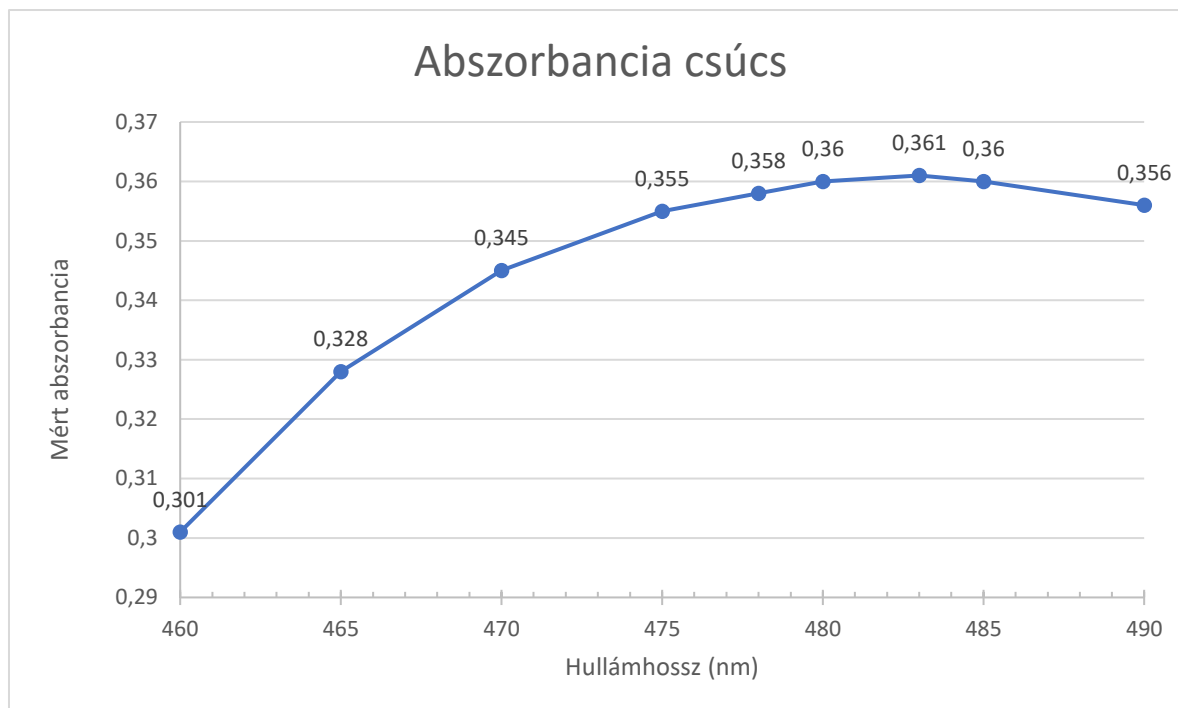


3.kép A KCN kalibrációs oldatok színreakció után, balról-jobbra a cianidtartalom (5, 10, 25, 50, 75, 100  $\mu\text{g}$ ) szerint sorban

A kvantitatív mérésekhez Rayleigh UV-1601 UV/VIS spektrofotométert használtunk. A spektrofotométer elvi működéséről, valamint beállításáról Fábíán István művéből tájékozódunk [42].

A mérési hullámhossz beállításához referenciafolyadéknak pikrinsavas oldatot használtunk. Az oldatot cianidos reakció nélküli papírcsíkról oldottunk le, a reagált csíkokkal egyező módon, megegyező töménységben. Az ismert cianidtartalmú oldatainkkal vettük fel a spektrumot.

Eddigi kutatásokban 480-510 nm-en végezték a legtöbb mérést, de az abszorbancia maximumának pontos meghatározása érdekében 440-560 nm között kezdünk mérni 20 nm-es lépésközökkel. A mérési eredmények ingadozásával egyértelművé vált, mely tartományba kell szűkítenünk a méréseinket. 460-490 nm között 5 nm-es lépésközzel mértünk, majd tovább szűkítettünk 479-487 nm közé, ahol 1 nm-enként mértünk. Az abszorbancia maximuma, 481-484 nm között volt, így méréseinket 483 nm-en végeztük a továbbiakban (4.ábra).



4.ábra A szűrőpapírból kioldott Na-izopurpurát spektruma 460-490 nm között

A vizsgálandó lenmagok szárazanyagtartalmának vizsgálata 4 ismétlésben történt. Kísérletünkben 0, 1, 4, valamint 7 napos lenmagokat, illetve csíranövényeket vizsgáltunk, ennek megfelelően minden egyes csíráztatási tételből a ciánfelszabadítással párhuzamosan szárazanyagtartalom-meghatározást is végeztünk, ehhez 2,00 g-ot mértünk ki fajtánként a 0 napos száraz magból, valamint a csíranövényekből is. 3 órán keresztül 105 °C-on szárítottuk, majd visszamértük.

Kutatásunkban a 'Helga', 'Zoltán' és 'Aranysárga Bio' lenmag ciántartalmát állapítottuk meg, 0, 1, 4 és 7 napos korban (4.kép). A növények csíráztatását azonos körülmények között végeztük. Számos eddigi tanulmány említi a talaj jelentőségét, valamint a vetőmag fajtáját, évjáratát, mint befolyásoló tényezőt [2, 43], a vizsgálat során talaj nélkül, egy minőségű, évjáratú lenmaggal dolgoztunk. Azt a tényt, hogy a cianogén vegyületek körforgalma fényhatásra felgyorsult [44], sötétben való csíráztatással minimalizáltuk. A 0. napnál a száraz lenmagokat kávédarálóval porra őröltük, ebből mértünk 1-1 g-ot a kémcsövekbe [43]. A csíranövények esetében 1-1 g növényi részt dörzsöltünk igen gyorsan homogén állagúvá 0,5 g kvarchomok segítségével. A kimért 1 g-os növényi részeket 2 ml desztillált vízzel öblítettük a kémcsövekbe. A cianid felszabadulásához szükséges volt, hogy a növényi sejteket roncsoljuk, valamint a maradéktalan felszabadulás érdekében feleslegben levő 0,50 ml 3N HCl oldatot adtunk hozzá. A kémcsöveket azonnal lezártuk a pikrinsavas testcsíkokat tartó dugókkal. A

csöveket termosztátba helyeztük 50 °C-ra, 30 perces inkubációs időre. A kísérlet alapjául szolgáló reakció a cianogén glikozidból felszabaduló gáznemű cianid és a papírcsíkok sárga színét kialakító Na-pikrát között alakul ki.



4.kép 'Helga' és 'Zoltán' fajták a csírázás 1. és 7.napján

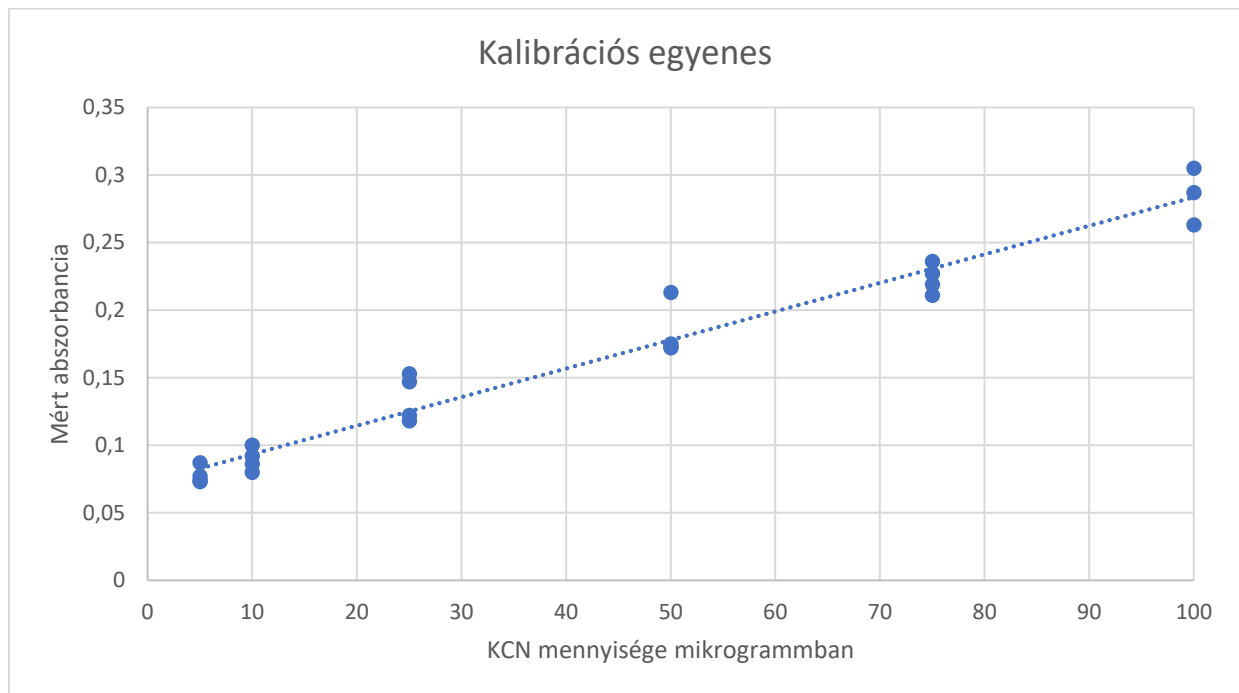
A keletkezett színeredménytért felelős vegyület a Na-izopurpurát. A kimutatási módszer 5-100  $\mu\text{g}$  cianidtartalom vizsgálatára is alkalmas a vörös elszíneződésnek köszönhetően. A színes szűrőpapír csíkokat 4  $\text{cm}^3$  desztillált vízbe aprítottuk bele, ahogy a kalibrációs méréseknél is tettük. Az oldatokat ezután 10 percre rázógépbbe helyeztük, majd leszűrtük. Végeztünk kísérleteket rázatógép használata nélkül is, de nem találtuk teljesnek a szín leoldódását. A rázatógépben töltött idő megnövelése sem bizonyult megfelelőnek, mert a szűrőpapír szétázott és a zavarossá váló oldat hibás méréseket eredményezett. A kapott oldataink cianidtartalmát spektrofotométeren mértük.

A kapott értékek elemzéséhez az R-commander statisztikai programot használtuk, az eredményeket diagramokon, táblázatokban összesítettük.



## Eredmények

A kalibrációs egyeneshez szükséges mérések elvégzése után, az értékeket koordináta rendszerben ábrázoltuk, majd az egyenes egyenlete segítségével elkészítettük a kalibrációs görbénket (5.ábra).



5.ábra Kalibrációs egyenes a 483nm-en mért kalibrációs oldatok eredményeire illetve

A kalibrációs egyenes felvétele után további méréseinket már könnyedén rá tudtuk illeszteni, ebből visszaszámolva megkaptuk a pontos cianid-koncentrációt, ezáltal sikerült szemikvantitatívvá tenni a kvalitatív kimutatást. Az R-commander program, valamint Sváb János könyvének segítségével a következő egyenletet határoztuk meg [45].

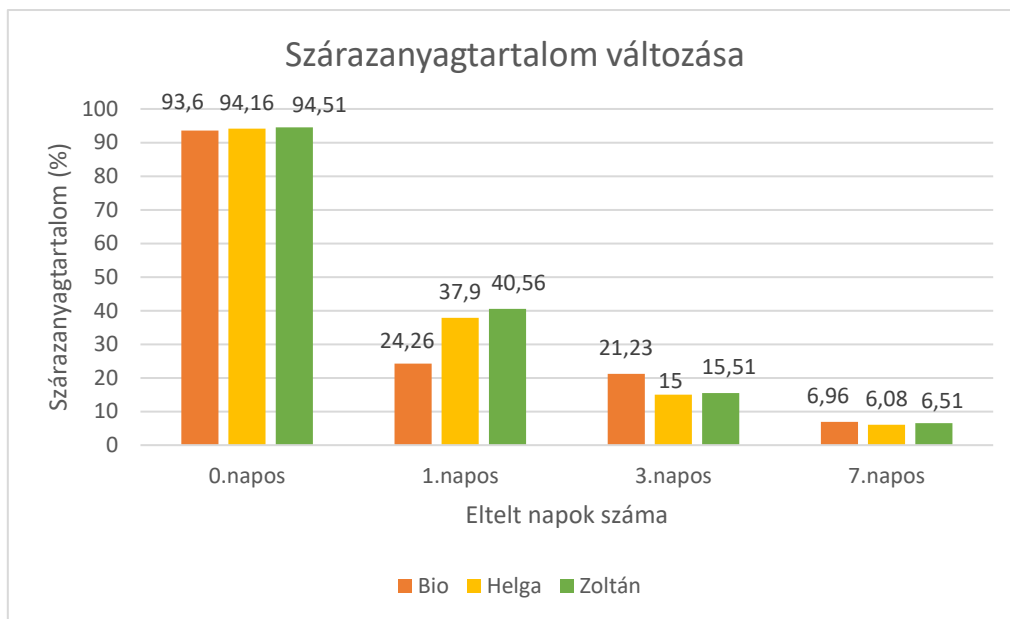
$$\text{Abszorbancia} = \text{KCN} \times 0,0021 + 0,0722$$

tehát,

$$\text{Cianid} = (\text{abszorbancia} - 0,0722) / 0,0021$$

Számításainkhoz azonban elengedhetetlen volt a szárazanyagtartalom mérése, mely értékeket a 1. táblázat 3. oszlopában tüntettünk fel. Megállapítható, hogy a 0. napos lenmag esetében volt a legmagasabb a szárazanyag tartalom, amely a napok előrehaladtával egyre csökkent. A csökkenés nem meglepő, hiszen a csíranövények víztartalma folyamatosan nő, ezáltal szárazanyagtartalmuk csökkenni kezd.





6.ábra Száranyagtartalom mérés eltérő csírázási fázisokban, fajtánként ábrázolva

| Fajták                | 0.napos lenmag abszorbancia mérések átlaga és szórása | 0. napos lenmag számított cianid-felszabadulása mikrogramm/1 g friss növénynél | 0. napos lenmag mért száranyag-tartalmának átlaga és szórása | 0. napos lenmag számított cianid-felszabadulás mg/kg száranyag átlaga és szórása |
|-----------------------|-------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Aranysárga Bio</b> | 0,16 ± 0,015                                          | 39,91                                                                          | 93,60 ± 0,346                                                | 42,63 ± 0,065                                                                    |
| <b>Helga</b>          | 0,11 ± 0,028                                          | 18,36                                                                          | 94,16 ± 0,390                                                | 19,50 ± 0,121                                                                    |
| <b>Zoltán</b>         | 0,10 ± 0,026                                          | 13,71                                                                          | 94,51 ± 0,401                                                | 14,51 ± 0,112                                                                    |

| Fajták                | 1.napos lenmag abszorbancia mérések átlaga és szórása | 1. napos lenmag számított cianid-felszabadulása mikrogramm/1 g friss növénynél | 1. napos lenmag mért száranyag-tartalmának átlaga és szórása | 1. napos lenmag számított cianid-felszabadulás mg/kg száranyag átlag |
|-----------------------|-------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|
| <b>Aranysárga Bio</b> | 0,12 ± 0,027                                          | 20,74                                                                          | 24,26 ± 0,673                                                | 85,47 ± 0,462                                                        |
| <b>Helga</b>          | 0,11 ± 0,012                                          | 19,67                                                                          | 37,90 ± 0,652                                                | 51,89 ± 0,126                                                        |
| <b>Zoltán</b>         | 0,13 ± 0,030                                          | 27,76                                                                          | 40,56 ± 1,043                                                | 68,44 ± 0,303                                                        |

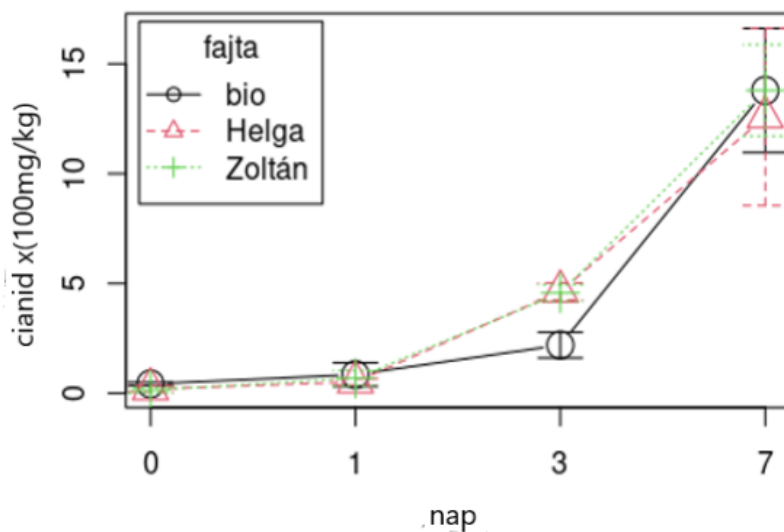
| <b>Fajták</b>         | <b>3.napos lenmag abszorbancia mérések átlaga és szórása</b> | <b>3. napos lenmag számított cianid-felszabadulása mikrogramm/1 g friss növénynél</b> | <b>3. napos lenmag mért szárazanyag-tartalmának átlaga és szórása</b> | <b>3. napos lenmag számított cianid-felszabadulás mg/kg szárazanyag átlaga és szórása</b> |
|-----------------------|--------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Aranysárga Bio</b> | 0,17 ± 0,026                                                 | 46,81                                                                                 | 21,23 ± 13,151                                                        | 220,54 ± 0,505                                                                            |
| <b>Helga</b>          | 0,22 ± 0,012                                                 | 69,91                                                                                 | 15,00 ± 1,000                                                         | 466,03 ± 0,337                                                                            |
| <b>Zoltán</b>         | 0,22 ± 0,012                                                 | 71,21                                                                                 | 15,51 ± 1,000                                                         | 459,08 ± 0,327                                                                            |

| <b>Fajták</b>         | <b>7.napos lenmag abszorbancia mérések átlaga és szórása</b> | <b>7. napos lenmag számított cianid-felszabadulása mikrogramm/1 g friss növénynél</b> | <b>7. napos lenmag mért szárazanyag-tartalmának átlaga és szórása</b> | <b>7. napos lenmag számított cianid-felszabadulás mg/kg szárazanyag átlaga és szórása</b> |
|-----------------------|--------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Aranysárga Bio</b> | 0,28 ± 0,036                                                 | 96,45                                                                                 | 6,96 ± 0,891                                                          | 1385,31 ± 2,448                                                                           |
| <b>Helga</b>          | 0,23 ± 0,045                                                 | 76,81                                                                                 | 6,08 ± 0,602                                                          | 1264,35 ± 3,497                                                                           |
| <b>Zoltán</b>         | 0,26 ± 0,025                                                 | 90,26                                                                                 | 6,51 ± 0,385                                                          | 1385,98 ± 1,801                                                                           |

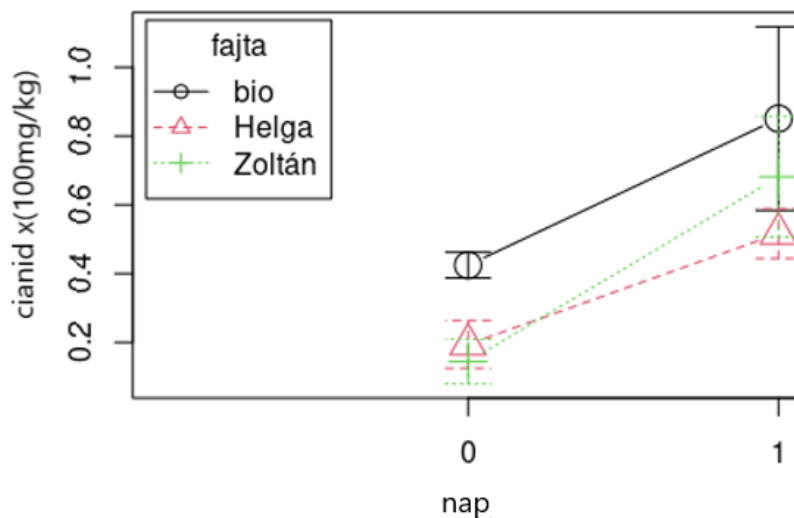
1.táblázat Fajták adott csírázási napján mért abszorbancia-értékek, az ebből számított cianid-koncentráció, valamint a szárazanyagtartalom átlagai és szórása

A 1.táblázat különböző csírázási fázisok során mért fajtánként eltérő értékek láthatók. A feltüntetett értékekből könnyedén kiszámíthatóvá vált a felszabaduló cianid mg/kg szárazanyagra vonatkoztatott mennyisége (1.táblázat).

További statisztikai méréseket végeztünk az R-commander program segítségével. Az általánosított legkisebb négyzetek módszerének segítségével megállapíthatóvá vált a fajták és a napok közötti szignifikancia. (7.ábra, 8.ábra) Minden hatás szignifikánsnak bizonyult, tehát kijelenthető, hogy interakció van a fajta és a nap között, azaz a napok száma befolyásolja a fajták értékeit.



7.ábra A cianidtartalom változása 0-7.napig, fajtánként ábrázolva



8.ábra A cianidtartalom fajtánként ábrázolva, leszűkítve a 0.,1. napra

A 7.ábra tengelyein a fajták cianid koncentrációja és az eltelt napok számát ábrázoltuk. A 8.ábrán a 7. ábra 0., 1. napja van közelebbről ábrázolva a jobb áttekinthetőség, apróbb eltérések elemezhetőségének érdekében. A különböző fajták értékeit, ezek változásait, szórásaikat eltérő színekkel ábrázoltuk. A 7. ábrán kivehető, hogy az 'Aranyárga Bio' lenmag indult a legmagasabb cianidtartalommal, de a 3. napon lelassult a növekedése. Kutatásunk során is láthatóvá vált az 'Aranyárga Bio' lenmag lassabb fejlődése, amely ennek ellenére a 7. napra

beérte a többit. A 7. napon a 'Helga' fajtában volt a legkevesebb a felszabaduló cianid. Az ábrán látható az is, hogy a napok számának növekedésével a szórás is nő. Ez annak köszönhető, hogy a megnőtt lencsírák idősebb korokban nagyobb cianid ingadozást mutattak.

További statisztikai elemzésekre volt szükségünk a szignifikancia meghatározásához. A Tukey módszer segítségével többszörös összehasonlításokat végeztünk a fajták és a napok között (2.táblázat). Ha a p-érték <0,05-nél, akkor szignifikánsnak mondható a különbség.

|                              | <b>0.nap</b> | <b>1.nap</b> | <b>3.nap</b> | <b>7.nap</b> |
|------------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| <b>Aranysárga Bio -Helga</b> | 0,0349       | 0,3329       | 0,0022       | 0,7951       |
| <b>Aranysárga Bio-Zoltán</b> | 0,0109       | 0,7472       | 0,0029       | 1,0000       |
| <b>Helga-Zoltán</b>          | 0,8201       | 0,7593       | 0,9939       | 0,7931       |

2.táblázat A fajták cianidtartalmának összehasonlítása során kapott p-értékek

A 2. táblázatban láthatók az összehasonlítási próba során kapott p-értékek. Megállapítható, hogy a 0. napon az 'Aranysárga Bio' fajta szignifikáns eltérést mutatott a 'Zoltán' és 'Helga' fajtától, viszont a 'Helga' és 'Zoltán' fajta nem különbözött egymástól jelentős mértékben. Az 1. napon egyik fajta sem tért el szignifikáns mértékben a másiktól, ezzel szemben a 3. npra az 'Aranysárga Bio' fajta ismét szignifikáns különbséget mutatott. A 7. napon ismét nem volt jelentős differencia a fajták összehasonlítása során.

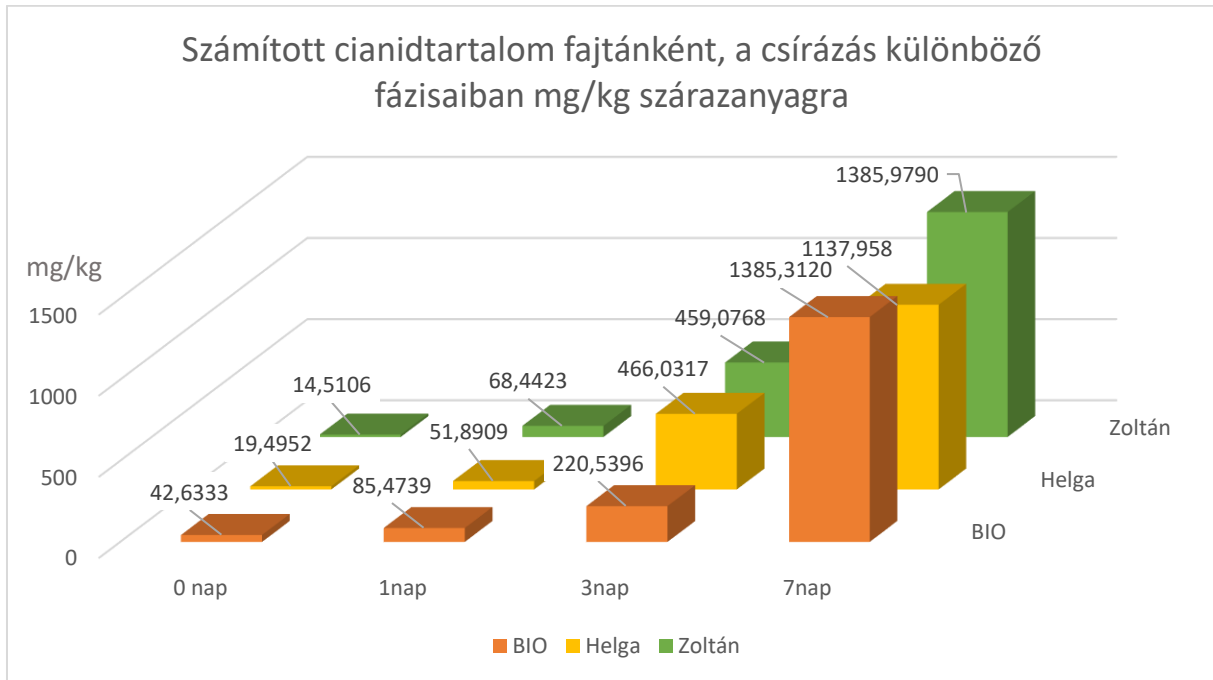
A Tukey módszerrel további összevetéseket végeztünk, szeretnénk volna megállapítani, hogy van-e jelentős különbség a napok között, fajtánként vizsgálva (3.táblázat).

|            | <b>Aranysárga Bio</b> | <b>Helga</b> | <b>Zoltán</b> |
|------------|-----------------------|--------------|---------------|
| <b>0-1</b> | 0,0899                | 0,2702       | 0,0219        |
| <b>0-3</b> | 0,0034                | <0,0001      | <0,0001       |
| <b>0-7</b> | <0,0001               | <0,0001      | <0,0001       |
| <b>1-3</b> | 0,0468                | <0,0001      | <0,0001       |
| <b>1-7</b> | <0,0001               | <0,0001      | <0,0001       |
| <b>3-7</b> | <0,0001               | 0,0002       | <0,0001       |

3.táblázat A napok összehasonlítása (fajtánként) során kapott p-értékek

Összevetések szempontjából a 0-1; 1-3; 3-7 sorokat érdemes vizsgálni, hiszen a nagyobb intervallumokat felölelő mérések között egyértelmű lesz az emelkedés. A kapott p-értékekből megállapítható, hogy az 'Aranysárga Bio' fajtán belül a 0-1., valamint az 1-3. nap között nincs szignifikáns cianidtartalom emelkedés, de a 3-7. nap kötött már észlelhető. A 'Helga' fajta esetében a 0-1. nap közötti változás nem jelentős csupán, a többi esetben mind szignifikáns differencia mutatkozik. A 'Zoltán' lenmag esetében már a 0-1. nap között is szignifikáns az

emelkedés, így ez a fajta az, amely mindig érdemi emelkedést mutatott a cianid tartalmát illetően.



9.ábra A cianidtartalom (mg/kg szárazanyag) változása a csírázás előrehaladtával a különböző fajtákban

3 soros térbeli oszlopdiaagram segítségével szemléltettük még inkább a fajták cianidtartalmának változását, melyet mg/kg-ra számoltunk át. Az ábráról könnyedén leolvasható, hogy a 'Helga' fajta mutatta a 7. napon a legkisebb cianidtartalmat, valamint a már említett 'Aranysárga Bio' lemaradását a 3. nap környékén (9.ábra).

## Következtetések

Kutatásunk során, valamint a rendelkezésünkre álló szakirodalomra támaszkodva megállapítottuk, hogy a kvalitatív pikrinsavas módszert lehetséges szemikvantitatívvá tenni. A szín intenzitása a leoldás után sem csökkent, valamint pontosabban meghatározható értékeket kaptunk.

Vizsgálatainkkal igazolni tudtuk a ciántartalom fajtától való függőségét. A HCN produkció Barnett kutatása során is öröklődő jelleget mutatott (környezeti tényezők is nagy mértékben befolyásolhatják) [46]. Egyértelműen megállapítható volt a napok előrehaladtával szignifikánsan növekvő cianidérték, valamint a fajták közötti eltérés.

Az Eredmények fejezetben szemléltetett értékek alapján megállapítható, hogy a 'Helga' és 'Zoltán' fajta indulási cianid tartalma szignifikánsan kisebb, mint az emberi fogyasztásra szánt 'Aranysárga Bio' lenmagé. A 'Helga' és 'Zoltán' fajta cianidnövekedése közel megegyező mértéket mutatott, azonban a 7. napon a 'Helga' alacsonyabb cianid-felszabadulást produkált. Az 'Aranysárga Bio' lenmagnál a 3. napon való lemaradás után a 'Zoltán' fajtával megegyező cianid értékét mértük.

Cianidtartalmuk a 7. napra jelentősen megnövekedett, amely veszélyes lehet, mivel túllépi a CliniTox által megjelölt és már veszélyesnek ítélt 20 mg/kg mennyiséget. Az 'Aranysárga Bio' lenmag ezt a koncentrációt már száraz állapotban kétszeresen meghaladja. Külföldi szakirodalmi adatokkal összevetve a két magyar nemesítésű fajta emellett is alacsonyabb cianid-felszabadulást mutatott, mint más fajták.

A kezdeti (még csírázásmentes) időszakban mind a két magyar fajtát ajánljuk takarmányozási célokra. A 7 napos csíranövények etetését egyetlen esetben sem javasoljuk. Még az alacsonyabb cianidtartalmú magyar fajták magja is komoly mérgezést okozhat. Tárolásuknál vigyázni kell, hogy meg ne ázzanak, vagy bármilyen más okból vizet ne tudjanak felvenni, mert már egy nap után is a veszélyes mennyiség fölé emelkedhet a cianidtartalmuk. A 7. napon, tehát a csírázás jelentős előrehaladtával a 'Helga' fajtát javasoljuk, hiszen ez produkálta a legkisebb szintet a 3 elérhető fajta közül.

A pikrinsavas módszer alkalmazása során az idő tényező volt az egyetlen, amely nehezítette munkánkat, mindemelett egyszerűen alkalmazhatónak bizonyult. További lehetőségeket vet fel egy gyorsított kidolgozása, amely egy a vizeletvizsgálatokhoz is hasonló színskála létrehozásán alapulna, helyben elvégezhető lenne. A takarmány közvetlen adása előtt meg

lehetne mérni a gyorseszteszt segítségével, hogy milyen mértéket öltött a cianid-felszabadulás, adagolható-e a lenmag biztonságosan. A takarmányán megázásának, bepárasodásának veszélye sok esetben fennál, így módszerünk gyakorlati haszna igazolhatóvá válna.

# Összefoglalás

Kutatási munkánk során egyes len (*Linum usitatissimum*) fajták magjaiban előforduló ciánglikozid-tartalmat vizsgáltuk. A ciánglikozidok a növényekben elég gyakran előforduló, nitrogéntartalmú, másodlagos anyagcsere-termékek, melyek fő feladata a növény életében egyes kórokozókkal szembeni védelem

Glikozidos formában közvetlen biológiai hatásuk nincs, az állati és emberi szervezetbe kerülve azonban enzimatikusan az erősen mérgező HCN szabadul fel. Célunknak tűztük ki néhány lenfajta magjából (illetve a fiatal csíranövényekből) felszabaduló HCN mennyiségének meghatározását, egyben változásának nyomon követését a csírázás különböző szakaszaiban.

Vizsgálatunk során két, hazai nemesítésű, takarmányozási szempontból is fontos 'Helga', és 'Zoltán' lenfajtát és a bioboltból származó, humán fogyasztásra szánt 'Aranysárga Bio' fajtát hasonlítottuk össze. A vizsgálat módszere pikrinsavas próba volt. A kimutatás a lúgos pikrinsavas papír színreakcióján alapul. A pikrinsav reakcióba lép a növényből a reakcióedény zárt terében felszabaduló HCN-dal, s ez a vörös Na-izopurpurát létrejöttét eredményezi. A pikrinsavas tesztpapírok színét kvalitatíve, illetve a papírból kioldott festék mennyiségét spektrofotometriásan 483 nm hullámhosszon mértük. A vizsgálandó fajták magjait kutatásunk során sötétben csíráztattuk, melynél jobb eredési százalékot tapasztaltunk. A mintavételekre a 0. (száraz mag), az 1., a 3., és a 7. napokon került sor.

Fontosnak tartottuk a csírázási fázisok közötti különbség vizsgálatát, hiszen nem csupán a nemesítési munkán van a hangsúly, hanem a takarmány megfelelő tárolásán, mely épp olyan fontos, mint a kiválasztott takarmány, ezt méréseinkkel alá is támasztottuk.

Eredményeink több következtetés levonását is lehetővé tették. A vizsgált fajták magjainak ciánglikozid-tartalma a 0. napon (14,51 - 42,63 mg/kg). A vizsgált fajták közül az 'Aranysárga Bio' lenmag (42,63 mg/kg) már száraz állapotban is a veszélyességi szint (20 mg/kg) felett mutatott cianid felszabadulást. 'Helga' és 'Zoltán' fajta száraz magként való etetése még megengedett, a szakirodalom adataival összevetve is alacsony értéket produkáltak. A csírázás során azonban – mely kezdeti szakaszát az igen jelentős, egyben közismert vízfelvétel jellemzi – a ciánglikozid (illetve a cián) szint jelentősen és dinamikusan nőtt. A 7. napon a 0. napos érték sokszorosát érte el és 1264,35 - 1385,31 mg/kg közötti koncentráció volt mérhető. A ciánglikozid molekulákból tehát lehetőség van HCN molekulák felszabadulására is, aminek súlyos toxikológiai következményei lehetnek állatra-emberre egyaránt.



Munkánk további kérdéseket vet fel a lenmagok (lenmagtermékek) cianid hordozó szerepéről, ennek kivédéséről. Úgy értékeljük, hogy egy egyszerű, pikrinsavas teszt segítségével a HCN mérgezés adott esetben és helyszínen kivédhető, megelőzhető lenne.

## Abstract

Cyanogenic glycoside contents of certain cultivars of flaxseed (*Linum usitatissimum*) were examined in course of our study. Cyanogen glycosides are nitrogen-containing secondary metabolites that are quite common in plants and whose main function is to protect against certain pathogens during the plant life.

They do not have a direct biological effect in the glycosidic form, however entering into the animal or human body, the highly toxic HCN will be released enzymatically. Our goal was to determine the amount of HCN released from the flax seeds (or from seedlings) of some cultivars, as well as to monitor their changes during the germination.

In our study, we compared two domestically breed 'Helga' and 'Zoltán' flax cultivars, which are also important from a feeding point of view, and 'Golden Bio' cultivar from the organic shop, intended for human consumption. The test method was a picric acid test. Detection is based on the colour reaction of alkaline picric acid paper. Picric acid reacts with HCN released from the plant in the closed space of the reaction vessel, resulting the red Na isopurpurate. The colour of picric acid test papers was evaluated qualitatively and the amount of dye dissolved from the paper was measured spectrophotometrically at a wavelength of 483 nm. The seeds of the cultivars were germinated in the dark, at which we found a higher rate of germination. Sampling was performed on days 0 (dry seeds), 1, 3, and 7<sup>th</sup> days, respectively.

We found important to examine the difference between germination phases as there is emphasis not only on selection work but on the adequate storage of fodder which is just as important as the selected fodder, this was supported by our measurements as well.

Our results allowed us to draw several conclusions. The cyanogenic glycoside content in seeds of studied cultivars was on day 0 between 14.51 - 42.63 mg/kg. Among the studied cultivars, 'Golden Bio' flaxseed (42.63 mg / kg) showed cyanide release above the hazard level (20 mg / kg) even in the dry state. Feeding of 'Helga' and 'Zoltán' cultivars as dry seeds is still allowed, they have produced low HCN values compared to the data of literature.

However, during germination, the initial stage of which is characterized by a very significant and well-known water uptake, the level of cyanogenic glycosides (or cyanide) increased significantly and dynamically. On day 7, it reached a multiple of day 0 and a concentration between 1264.35 and 1385.31 mg/kg was measurable. Thus, it is also possible to release HCN molecules from cyanogenic glycosides, which can have serious toxicological consequences for both animals and humans.

Our work raises further questions about the cyanide carrier role of flax seeds (flax seed products) and its prevention. We evaluate that a simple picric acid test can prevent and prevent HCN poisoning where appropriate and at the site. Our view is that HCN poisoning can be prevented by performing of a simple picric acid test.

## Irodalomjegyzék

1. Vetter J, Gerencsérné Seidl K (2018) Állatorvosi jelentőségű növényi hatóanyagok egyszerű kimutatása tesztvizsgálatokkal, Magyar Állatorvosok Lapja. 140(12) 755-768.
2. Cuevas Z O, Sangronis E (2012): Caracterización de semillas de linaza (*Linum usitatissimum* L.) cultivadas en Venezuel, Archivos Latinoamericanos de Nutrición. 62(2) 192-200.  
<http://www.alanrevista.org/ediciones/2012/2/art-14/>
3. Imran M, Anjum F M, Butt M S, Siddiq M, Sheikh M A (2013) Reduction of Cyanogenic Compounds in Flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) Meal Using Thermal Treatment, International Journal of Food Properties. 16(8) 1809-1818.  
[DOI: 10.1080/10942912.2011.608914](https://doi.org/10.1080/10942912.2011.608914)
4. Rabetafika H N, Remoortel V V, Danthine S, Paquot M, Blecker C (2011) Flaxseed proteins: food uses and health benefits, International Journal of Food Science & Technology. 46(2) 221-228.  
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02477.x>
5. Jones D A (1998) Why are so many food plants cyanogenic?, Phytochemistry. 47(2) 155-162.
6. Sedmayr K, Baksay L (1955) A len, In: Mándy György (szerk.): Magyarország kultúrflórája. Akadémia Kiadó, Budapest, 17- 24.
7. Bokori J, Gundel J, Herold I, Kakuk T, Kovács G, Mézes M, Schmidt J, Szigeti G, Vincze L (2003) A takarmányozás alapjai, Mezőgazda Kiadó 190.  
[https://regi.tankonyvtar.hu/hu/tartalom/tamop425/2011\\_0001\\_521\\_A\\_takarmanyozas\\_alapjai/index.html](https://regi.tankonyvtar.hu/hu/tartalom/tamop425/2011_0001_521_A_takarmanyozas_alapjai/index.html)
8. Saastamoinen M, Särkijärvi S (2020) Effect of Linseed (*Linum usitatissimum*) Groats-Based Mixed Feed Supplements on Diet Nutrient Digestibility and Blood Parameters of Horses, Animals (Basel). 10(2) 272.  
[DOI: 10.3390/ani10020272.](https://doi.org/10.3390/ani10020272)
9. Beroual K, Agabou A, Bachtarzi K, Haouam S, Hamdi-Pacha Y (2016) Safety assessment of *Linum usitatissimum* (Linn.) Ingestion in New Zealand rabbits, African Journal of Traditional Complementary and Alternative Medicines. 13(2) 151-155.  
[DOI: 10.4314/ajtcam.v13i2.18](https://doi.org/10.4314/ajtcam.v13i2.18)

10. Vetter J (2000) Plant cyanogenic glycosides, *Toxicon*. 38(1) 11-36.  
[https://doi.org/10.1016/S0041-0101\(99\)00128-2](https://doi.org/10.1016/S0041-0101(99)00128-2).
11. Vetter J (2019) Anyagcsalád: ciánglikozidok, In: A növényi hatóanyagok különleges világa. Mezőgazda Kiadó, Budapest, 43-55. ISBN 978-963-286-748-9
12. Nartey F (1970) Cyanide metabolism in higher plants, *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie*. 62(4) 398-400.
13. Vetter J, Haraszi E (1975) Növényi ciánglikozidák meghatározása módosított pikrinsavas módszerrel, *Agrokémia és talajtan*. 24(3-4) 413-422.
14. Bishop J, Korn M, (1969): Natural selection and cyanogenesis in white clover, *Trifolium repens*, *Heredity*. 24 423–430.  
<https://doi.org/10.1038/hdy.1969.58>
15. Ballhorn D J (2011) Chapter 14 – Cyanogenic Glycosides in Nuts and Seeds. *Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention*, 129-136.  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-375688-6.10014-3>
16. Borsos O, Haraszi E, Vetter J (1976): Néhány *Lotus corniculatus* fajta ciánglikozid szintjének változása a vegetációs időszak folyamán, *Botanikai Közlemények*. 63(1) 63-70.
17. Rust L A, Fry W E, Beer S V (1980) Hydrogen Cyanide Sensitivity in Bacterial Pathogens of Cyanogenic and Non-Cyanogenic Plants, *Phytopathology*. 70 1005–1008.
18. Hrazdina G, Jensen R A (1992) Spatial Organization of Enzymes in Plant Metabolic Pathways, *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 43(1) 241-267.
19. Teuscher E, Lindequist U (2010) Biogene Gifte. *Biologie - Chemie - Pharmakologie. Toxikologie*, 3. neu bearbeitete und erweiterte Auflage Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, ISBN 978-3-8047-2438-9
20. Gruhnert C, Biehl B, Selmar D (1994) Compartmentation of cyanogenic glucosides and their degrading enzymes, *Planta*. 195 36-42.  
<https://doi.org/10.1007/BF00206289>
21. Siegień I, Fiłoc M, Staszak A M, Ciereszko I (2021) Cyanogenic glycosides can function as nitrogen reservoir for flax plants cultured under N-deficient conditions, *Plant Soil Environ*. 67(4) 245–253.  
<https://doi.org/10.17221/573/2020-PSE>
22. Harborne J B (1998) *Phytochemical methods-A guide to modern techniques of plant analysis*, London. Charman and Hall. Third Edition. ISBN: 978-0-412-23050-9

23. CliniPharm – CliniTox  
[https://www.vetpharm.uzh.ch/giftdb/pflanzen/0070\\_tvm.htm](https://www.vetpharm.uzh.ch/giftdb/pflanzen/0070_tvm.htm)
24. Gensa U (2019) Review on Cyanide Poisoning in Ruminants, Journal of Biology, Agriculture and Healthcare. 9(6)  
[DOI: 10.7176/JBAH](https://doi.org/10.7176/JBAH)
25. Knight A P (2004) Plant Poisoning of Small Ruminants, The AABP Proceedings. 37  
<https://doi.org/10.21423/aabppro20044914>
26. Butler G W (1965): The distribution of the cyanoglucosides linamarin and lotaustralin in higher plants, Phytochemistry. 4(1) 127-131. ISSN 0031-9422  
[https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)86154-3](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)86154-3).
27. Bekhit A E D A, Shavandi A, Jodjaja, T, Birch J, Teh S, Ahmed I A M, Al-Juhaimi F Y, Saeedi P, Bekhit A A (2017) Flaxseed: Composition, detoxification, utilization, and opportunities, Biocatalysis and Agricultural Biotechnology. ISSN: 1878-8181 13(6) 129-152.  
[DOI:10.1016/j.bcab.2017.11.017](https://doi.org/10.1016/j.bcab.2017.11.017)
28. Zuk M, Pelc K, Szperlik J, Sawula A, Szopa J (2020) Metabolism of the Cyanogenic Glucosides in Developing Flax: Metabolic Analysis, and Expression Pattern of Genes, Metabolites. 10(7) 288.  
[DOI:10.3390/metabo10070288](https://doi.org/10.3390/metabo10070288)
29. Amarowicz R, Chong X, Shahidi F (1993) Chromatographic techniques for preparation of linustatin and neolinustatin from flaxseed: standards for glycoside analyses, Food chemistry. 48(1) 99-101.
30. Niedźwiedz-Siegień I (1998) Cyanogenic Glucosides In Linum Usitatissimum, Phytochemistry. 49(1) 59-63.  
[https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(97\)00953-9](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(97)00953-9).
31. Ordas E (2007) Növényi mérgezők a legelőn (Szakdolgozat), Szent István Egyetem Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar Gyepgazdálkodási Tanszék, Gödöllő.
32. Gajandragad M R, Gopalakrishna S, Ravikumar S B (1992): Pathology of the brain in acute hydrocyanic acid poisoning in sheep, Indian Veterinary Research Institute. Hebbal, Bangalore Indian Vet. J. 69. 206-210.
33. Oke O L (1980) Toxicity of cyanogenic glycosides, Food Chemistry. 6 97-109.
34. Bordás I (2006) Toxikológia, Jegyzet. Országos Kémiai Biztonsági Intézet 15.  
[http://www.uzemdoki.hu/pdf/toxikologia\\_jegyzet2006%20doc.pdf](http://www.uzemdoki.hu/pdf/toxikologia_jegyzet2006%20doc.pdf)

35. Schrenk D, Bignami M, Bodin L, Chipman J K, del Mazo J, Grasl-Kraupp B, Hogstrand C, Hoogenboom L, Leblanc J C, Nebbia C S, Nielsen E, Ntzani E, Petersen A, Sand S, Vleminckx C, Wallace H, Benford D, Brimer L, Mancini F R, Metzler M, Viviani B, Altieri A, Arcella D, Steinkellner H, Schwerdtle T (2019) Evaluation of the health risks related to the presence of cyanogenic glycosides in foods other than raw apricot kernels, *EFSA Journal*. 17(4)  
<https://doi.org/10.2903/j.efsa.2019.5662>
36. Shahidi F, Wanasundara P K J P D (1997) Cyanogenic Glycosides of Flaxseeds. *Antinutrients and Phytochemicals in Food*, ACS Symposium Series. 662 171-185.  
[DOI: 10.1021/bk-1997-0662.ch010](https://doi.org/10.1021/bk-1997-0662.ch010)
37. Loyd R C, Gray E, Shipe E (1971) Effect of Freezing on Hydrocyanic Acid Release from Sorghum Plants, *Agronomy journal*. 63 139-140.  
[DOI: 10.2134/agronj1971.00021962006300010045x](https://doi.org/10.2134/agronj1971.00021962006300010045x)
38. Benson J A, Gray E, Fribourg H A (1968) Relation of hydrocyanic acid potential of leaf samples to that of whole plants of sorghum, *Agronomy Journal*. 61(2) 223-224.  
<http://eprints.icrisat.ac.in/3872/>
39. Gilchrist D G, Lueschen W E, Hittle C N (1967): Revised method for the Preparation of Standards in the Sodium Picrate Assay of HCN, *Crop Science*. 7(3) 267-268.  
<https://doi.org/10.2135/cropsci1967.0011183X000700030031x>
40. Nemzeti Fajtajegyzék, Szántóföldi Növények (2021) Nemzeti Élelmiszerlánc-Biztonsági Hivatal 19.  
<https://portal.nebih.gov.hu/-/nemzeti-fajtajegyzekek>
41. Lian T S, Hamir' N A (1981) Spectrophotometric Quantification of Guignard's Sodium Picrate Test, *MARDI Res. Bull.* 9(I) 35-41.  
<http://jtafs.mardi.gov.my/jtafs/09-1/QUANTIFICATION.pdf>
42. Fábrián I (2009) Spektrofotometria (Fábrián István által összeállított silabusz átdolgozott kiadása), Debreceni Egyetem. Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék
43. Oomah B D, Mazza G, Kenaschuk E O (1992) Cyanogenic compounds in flaxseed, *J. Agric. Food Chem.* 40(8) 1346–1348.  
<https://doi.org/10.1021/jf00020a010>
44. Radin J W (1972) Cyanogenesis in Cotton Plants, *Cotton: A College of Agriculture Report*, College of Agriculture. University of Arizona (Tucson, AZ), 370024 Series P-24.  
<https://repository.arizona.edu/handle/10150/217502>

45. Sváb J (1967) Biometriai módszerek a mezőgazdasági kutatásban, Mezőgazdasági Kiadó, Budapest 13 288-303.
46. Barnett R D, Caviness C E (1968) Inheritance of Hydrocyanic Acid Production in Two Sorghum × Sudangrass Crosses, Crop Science. 8(1)  
<https://doi.org/10.2135/cropsci1968.0011183X000800010026x>



## **Köszönetnyilvánítás**

Köszönettel tartozom témavezetőimnek Dr. Vetter Jánosnak és Gerencsér Ferencnének a kutatási munka során nyújtott segítségükért, valamint a dolgozat létrejöttéért. Szeretném megköszönni az ÁTE Növénytan Tanszékének, hogy helyet, forrást biztosított a kutatásom elvégzéséhez.

Szeretném kiemelni a Szegedi Gabonakutató Nonprofit Közhasznú Kft-t, ezen belül Szakál Márk napraforgó és olajlennemesítési csoportvezetőt, aki rendelkezésünkre bocsátotta a 'Helga' és 'Zoltán' fajtát, amelyek a dolgozat alapját biztosították.


Nagyon hálás vagyok Dr. Harnos Andreának az ÁTE Biomatematikai és Számítástechnikai tanszékéről, aki a statisztikai elemzésekben nyújtott hatalmas segítséget.

Köszönet illeti továbbá a Hutýra Ferenc Könyvtár, Levéltár és Múzeum dolgozóit, akik segítőkészségükkel, kedvességükkel, tájékozottságukkal járultak hozzá a munkámhoz.

## Témavezetői nyilatkozat

Alulírott **Dr. Vetter János Prof. emeritus** mint témavezető nyilatkozom, hogy **Dobák Viktória** állatorvostan-hallgató: „**Lenmagfajták ciánglikozid tartalmának vizsgálata csírázási fázisonként**” c. dolgozata részt vehet az Állatorvostudományi Egyetem 2021. évi Tudományos Diákköri Konferenciáján.

Budapest, 2021. október 3. hó nap.



.....  
témavezető



Diplomamunka konzultációs lap állatorvostan hallgatók részére

A hallgató neve: ..... *Bobaljevic Tiktina* .....  
 Neptun-kódja: ..... *3H17W0* .....  
 A témavezető neve és beosztása: ..... *Prof. Dr. Vetter János és Argencsini Ferencné mestertanár* .....  
 Tanszék: ..... *Növényfajta Tanulmányozás* .....  
 A diplomadolgozat címe: ..... *Lenmag fajta ciszglikozid-tartalmának változása különböző fajtákban* .....  
 .....

Konzultáció - 1. félév

|    | Időpont |     |     | Téma/Témavezető megjegyzése     | Témavezető aláírása |
|----|---------|-----|-----|---------------------------------|---------------------|
|    | Év      | Hó  | Nap |                                 |                     |
| 1. | 2020.   | 03. | 10. | Téma kijelölés                  | <i>Juc'</i>         |
| 2. | 2020.   | 04. | 01. | Dolgozat vázlatának átbeszélése | <i>Juc'</i>         |
| 3. | 2020.   | 05. | 12. | Ciszglitázás indítása           | <i>Juc'</i>         |
| 4. | 2020.   | 05. | 19. | Ciszglitázást. mérés            | <i>Juc'</i>         |
| 5. | 2020.   | 10. | 19. | Ciszglitázást. értékelés        | <i>Juc'</i>         |

Érdemjegy az első félév végén: .....  .....

Konzultáció - 2. félév

|    | Időpont |     |     | Téma/Témavezető megjegyzése | Témavezető aláírása |
|----|---------|-----|-----|-----------------------------|---------------------|
|    | Év      | Hó  | Nap |                             |                     |
| 1. | 2021.   | 08. | 11. | Ciszglitázás indítása       | <i>Juc'</i>         |
| 2. | 2021.   | 08. | 18. | Spektrofotometria ismerete  | <i>Juc'</i>         |
| 3. | 2021.   | 10. | 12. | Dolgozat összeállítás       | <i>Juc'</i>         |
| 4. | 2021.   | 11. | 10. | TDK felkészítés             | <i>Juc'</i>         |
| 5. | 2023.   | 03. | 30. | OTDK felkészítés            | <i>Juc'</i>         |

Érdemjegy a második félév végén: .....  .....

A nyomtatvány a hallgatói és a tanszéki ügyintézői aláírás, valamint az átvétel dátuma nélkül nem érvényes. A konzultációs lap a diplomamunka mellékletét képezi!



A diplomamunka - a szakra vonatkozóan - a Tanulmányi- és Vizsgaszabályzatban, valamint az Útmutató a szakdolgozatok/diplomamunkák készítéséhez című mellékletében leírt követelményeknek megfelel.

A diplomamunka befogadható, védeésre alkalmasnak találtam.

.....  
témavezető aláírása

Hallgató aláírása: .....  
.....

Tanszéki előadó aláírása: ..... Átvétel dátuma: 2021. 10. 24.

## NYILATKOZAT

Alulírott DOBÁK VIKTÓRIA..... nyilatkozom, hogy diplomamunkám, melynek címe éremmagfajtaok csúszglikozid tartalmának.....  
vizsgálata orvosi fázisonként..... tartalmi és formai szempontból teljes mértékben megegyezik azonos című, a 2021..... évi TDK konferencián szerepelt dolgozatommal.

Budapest, <sup>2023.</sup>~~201.~~ 10. 24......

DOBÁK VIKTÓRIA  
Doák Vikt.....

a hallgató neve és aláírása