



Zemědělská  
fakulta  
Faculty  
of Agriculture

Jihočeská univerzita  
v Českých Budějovicích  
University of South Bohemia  
in České Budějovice

## OBHAJOBA DISERTAČNÍ PRÁCE DSP PROTOKOL O HLASOVÁNÍ

**JMÉNO STUDENTA:** Ing. Petra KREJČOVÁ

**NAROZEN(A):** 18. 7. 1984

**STUDIJNÍ PROGRAM:** Chemie

**STUDIJNÍ OBOR:** Zemědělská chemie

**FORMA STUDIA:** Prezenční

### Výsledek hlasování:

počet členů komise: 7

počet přítomných členů komise: 7

počet platných hlasů: 7

kladných: 7

záporných: 0

počet neplatných hlasů: 0

### ZKUŠEBNÍ KOMISE:

### Podpis:

|   |  |
|---|--|
| <b>Předseda:</b> prof. Ing. Jaromír Lachman, CSc., ČZU v Praze                              |  |
| <b>Členové:</b> <del>doc.</del> Ing. Jan Tříška, CSc., CVGZ AV ČR České Budějovice<br>prof. |  |
| prof. Ing. Martin Křížek, CSc., ZF JU v Českých Budějovicích                                |  |
| prof. Ing. Pavel Kalač, CSc., ZF JU v Č. Budějovicích                                       |  |
| prof. RNDr. Vlastimil Kubáň, DrSc., UTB Zlín ( <b>oponent</b> )                             |  |
| doc. Ing. Dr. Karel Cejpek, VŠCHT v Praze ( <b>oponent</b> )                                |  |
| doc. Ing. Jan Pánek, CSc., VŠCHT v Praze ( <b>oponent</b> )                                 |  |
| <b>Náhradníci:</b> prof. Ing. Ladislav Kolář, DrSc., ZF JU v Českých Budějovicích           |  |
| doc. Ing. Eva Dadáková, Ph.D., ZF JU v Českých Budějovicích                                 |  |



Zemědělská  
fakulta  
Faculty  
of Agriculture

Jihočeská univerzita  
v Českých Budějovicích  
University of South Bohemia  
in České Budějovice

## PROTOKOL O OBHAJOBĚ DISERTAČNÍ PRÁCE DSP

**JMÉNO STUDENTA DSP:** Ing. Petra KREJČOVÁ

**NAROZEN(A):** 18. 7. 1984 v Táboře

**STUDIJNÍ PROGRAM:** Chemie

**STUDIJNÍ OBOR:** Zemědělská chemie

**FORMA STUDIA:** Prezenční

**ŠKOLICÍ PRACOVISTĚ:** KCH, ZF JU v Českých Budějovicích

**DATUM A MÍSTO KONÁNÍ ZKOUŠKY:** 23. 9. 2013, ZF JU v Č. Budějovicích

**ZKUŠEBNÍ TERMÍN Č.:** první

**NÁZEV DISERTAČNÍ PRÁCE:**

**Významné sirlé metabolity v rostlinách čeledi Alliaceae (česnekovitě)**

**VÝSLEDEK OBHAJOBY:**

Prospěl(a)

~~Neprospěl(a)~~

**ZKUŠEBNÍ KOMISE:**

**Podpis:**

|   |      |
|---|------|
| <b>Předseda:</b> prof. Ing. Jaromír Lachman, CSc., ČZU v Praze  |      |
| <b>Členové:</b> doc. Ing. Jan Tříška, CSc., CVGZ AV ČR České Budějovice<br>prof. Ing. Martin Křížek, CSc., ZF JU v Českých Budějovicích | <br> |
| prof. Ing. Pavel Kalač, CSc., ZF JU v Č. Budějovicích   |      |
| prof. RNDr. Vlastimil Kubáň, DrSc., UTB Zlín ( <b>oponent</b> )   |      |
| doc. Ing. Dr. Karel Cejpek, VŠCHT v Praze ( <b>oponent</b> )  |      |
| doc. Ing. Jan Pánek, CSc., VŠCHT v Praze ( <b>oponent</b> )   |      |
| <b>Náhradníci:</b> prof. Ing. Ladislav Kolář, DrSc., ZF JU v Českých Budějovicích   |      |
| doc. Ing. Eva Dadáková, Ph.D., ZF JU v Českých Budějovicích   |      |

Odpovědi na připomínky oponentského posudku **doc. Dr. Ing. Karla Cejпка**  
při obhajobě disertační práce Ing. Petry Krejčové

**Není zřejmé, zda zkoušené rostlinné vzorky byly pěstované pod kontrolou pracovišť, které vzorky poskytly, nebo byly získány např. sběrem v původních regionech. I když v práci jde primárně o identifikaci klíčových složek, ne jejich kvantifikaci, jaká je variabilita koncentrací sirných aktivních látek a jejich prekurzorů v česnekovitých rostlinách?**

*Cibule rostliny *Allium stipitatum* původně pocházely z oblasti jejich typického výskytu, a sice Hodja-obi-Garm (pohoří Hissar, Pamír, Tádžikistán), kde byly nalezeny Dr. Leonidem Bondarenkem.*

*Rostliny rodu *Tulbaghia* byly získány z: Hoyland Plant Centre (Hoyland, VB), Silverhill Seeds (Cape Town, JAR) a NCCPG National Collection of *Tulbaghia* (Prime Perennials Nursery, Llanilar, Aberystwyth, VB). Z těchto zdrojů byly získány sazenice, které byly pěstovány ve stejném substrátu 1-2 roky pro eliminaci variability složení půdy.*

*Variabilita koncentrací sirných látek je velká, poměry sirných aminokyselin jsou uvedeny v disertační práci v tabulce 2 na straně 8.*

**Rod *Tulbaghia* obsahuje podle získaných výsledků pouze aminokyselinu marasmin, příp. stopy methiinu. Znamená to, že na rozdíl od česneku stopečkatého se zde nevyskytují zásobní  $\gamma$ -glutamoylpeptidy?**

*Zásobní  $\gamma$ -glutamoylpeptidy jsou pravděpodobně přítomny i v rostlinách rodu *Tulbaghia*. Identifikace  $\gamma$ -glutamoylpeptidů v těchto rostlinách však nebyla předmětem zkoumání.*

**Byla sledována stabilita testovaných látek? Např. změna chuťového projevu marasminu během ředění evokuje možnost vzniku rozkladného produktu.**

*Stabilita testovaných látek nebyla přímo sledována. Nicméně při biologickém testování nebyl pozorován žádný rozklad. Senzorické testování marasminu bylo prováděno během 2 hodin. Změna chuti byla zřejmě způsobena ředěním.*

**V Experimentální části jsem nenašel podmínky derivatizace aminokyselin před stanovením, ani metodiku senzoričského hodnocení marasminu. Byla při senzoričském testování použita metoda *Taste Dilution Analysis*?**

*Podmínky derivatizace jsou uvedeny v disertační práci na str.55.*

*Metodika senzoričského hodnocení je uvedena na str.56. Při senzoričském testování metoda *Taste Dilution Analysis* použita nebyla.*

V Experimentální části je u metody HPLC č. 1 v popisu gradientu během 15.-25. min uveden pokles z 60% na 3% MeCN – byl pro nastavení těch dlouhých 10 min nějaký záměr nebo důvod (obvykle totiž stačí 2-3 min na převedení do výchozího stavu mobilní fáze)?

*Desetiminutové převedení do výchozího stavu žádný zvláštní důvod nemá, jde o pozůstatek po optimalizaci metody.*

V práci je demonstrováno využití moderních identifikačních technik, které umožňují měření složení vzorku v reálném čase (technika DART-MS), což je významné mj. i pro případný kinetický popis a sledování nestabilních metabolitů. V této práci jde zejména o studium vzniku nestabilních sulfenových kyselin, resp. isomerního N-oxidu. Můžete uvést, jaké jsou případné limity techniky DART?

*Limity techniky DART: lze získat pouze elementární vzorec měřené látky (není možno zjistit strukturu měřené látky); u méně těkavých látek je nutno volit vyšší desorpční teploty, takže může docházet k jejich degradaci; u látek, ke kterým není k dispozici standard, je obtížná kvantifikace.*

Výsledky testování biologické aktivity v některých případech neobsahují vyjádření nejistoty. Pokud jsou nejistoty uváděné, jde o směrodatné odchylky nebo intervaly spolehlivosti?

*Testování minimální inhibiční koncentrace sirných látek bylo prováděno zavedenou metodou podle CLCI. Test byl prováděn ve dvou nezávislých experimentech popř. dokud nebyla dvě měření shodná. U uváděných nejistot jde o směrodatné odchylky.*

Z textu není vždy úplně jasné, zda jednotlivé látky testované na biologickou aktivitu jsou ty izolované nebo syntetizované (mohou být odlišné čistoty). Práci by slušelo i zjištění celkové biologické aktivity pro typické nebo předpokládané komerčně využitelné extrakty ze studovaných rostlin. Mohou se v nich totiž uplatnit i jiné aktivní složky zkoumaných rostlin, a také např. synergický efekt. Studium celých extraktů ale zřejmě nebylo definováno v zadání této práce.

*Testované látky z rostlin *A. stipitatum* byly synteticky připravené z důvodu jednodušší syntézy a následnému přečištění.*

*Marasmicin byl z rostlin rodu *Tulbaghia* izolován. Extrakt z těchto rostlin byl nedávno testován v rámci jiné práce vznikající na katedře a byla zjištěna blízká souvislost s biologickou aktivitou marasmicinu.*

Jak významná je biologická aktivita nesírných složek česnekovitých rostlin, např. fenolových látek? Jaký podíl na popisovaných biologických aktivitách mají popisované sírné látky a jaké ostatní aktivní složky česnekovitých?

*Fenolické sloučeniny jsou obsaženy v česnekovitých rostlinách hlavně v zelené nati. Jen cibule kuchyňská má fenolické sloučeniny i v cibuli. V cibuli je zastoupení fenolických látek (derivátů kvercetinů) 300 mg/kg.*

*Fenolické sloučeniny mají významné antioxidační vlastnosti.*

*Bez testování nelze říci, jak se jednotlivé složky podílejí na biologické aktivitě.*

**Pro hodnocení biologické aktivity, zvláště pokud je tak široce pojatá jako zde, by bylo přínosné aplikovat přístup zahrnující „benefit“ i „risk“. Proč nebyly látky testovány pro určení alespoň některých forem toxicity?**

*Biologické testování se provádělo na pracovištích v blízkém okolí a ta podobné studie neprovádí. I vzhledem k časově náročným experimentům v rámci práce již k testování toxicity nedošlo. Testování by samozřejmě bylo vhodné vzhledem k potenciálně negativním vlastnostem pyrithionu.*

**Existuje nějaká referenční látka, ke které je obvykle stanovována biologická aktivita typu inhibice cyklooxygenasy a dalších testů – kap. 5.2.3, str. 91, např. ve formě vyjádření ekvivalentu koncentrace té referenční látky? Pro srovnání účinku jednotlivých látek by to bylo výhodné.**

*Bylo uvedeno v prezentaci.*

**V práci mi chybí informace o účasti sledovaných sirných aktivních látek v redoxních reakcích nebo při zhášení radikálů. Existují nějaké relevantní údaje v literatuře?**

*Redoxních reakcí se účastní u česnekovitých rostlin S-alk(en)ylcysteiny (např. u česneku S-allylcystein). Tyto látky dokáží vázat hydroxylové radikály, peroxidové radikály i singletový kyslík.*

*Literatura - Colín-González A. L., Santana R. A., Silva-Islas C. A., Chánez-Cárdenas M. E., Santamaría A., Maldonado P. D. The antioxidant mechanisms underlying the aged garlic extract and S-allylcysteine induced protection. Oxidative medicine and cellular longevity 2012, 2012, 1-16*

**K textu kapitoly Závěr musím uvést, že pokud nebyly analyzovány na biologickou aktivitu celkové extrakty, ale jen jednotlivé látky, nelze s určitostí tvrdit, že jsou za účinky rostlin zodpovědné právě a jen sledované sirné látky, jakkoli je to pravděpodobné. Má, podle Vašeho názoru, větší potenciál stát se komerčně využívaným zdrojem sirných biologicky aktivních látek česnek stopečkatý nebo některý ze zástupců rodu Tulbaghia?**

*Obě studované rostliny obsahují významné senzory a biologicky aktivní látky. Nicméně vyšší aktivita testovaných sirných látek byla nalezena v rostlinách A. stipitatum. Proto se domnívám, že především tato rostlina by se mohla stát zdrojem zdraví prospěšných látek. Nejdříve je samozřejmě nutné prostudovat i zdravotní rizika těchto látek.*

V Českých Budějovicích dne 23. 9. 2013

.....

Petra Krejčová

Odpovědi na připomínky oponentského posudku **doc. Ing. Jan Pánka, CSc.** při obhajobě disertační práce Ing. Petry Krejčové

**Pyrithion (resp. extrakty rostlin, které jej ve větší míře obsahují) se docela široce využívá v lidovém léčitelství, např. při léčbě malárie. Kromě toho se údajně tyto extrakty komerčně využívají do šampónů proti lupům. Genotoxické působení je zřejmě prokázáno. Je ale něco známo o jeho vstřebávání při perorální aplikaci a o potenciálním vstřebávání kůží?**

*O perorální aplikaci jsem bohužel žádnou literaturu nenašla.*

**Je něco známo o vlivu klimatu na syntézu sledovaných sekundárních metabolitů? Jde o podnební odlišnosti v původní domovině těchto rostlin (jižní Afrika, resp. jižní Amerika) a v oblastech mírného pásma.**

*Obsah sirných látek je závislý na složení půdy (obsah síry, dusíku) a také podnebí. Tyto vlivy jsme se snažili eliminovat pěstováním rostlin rodu *Tulbaghia* ve stejném substrátu a za stejných klimatických podmínek po dobu 1-2 let.*

V Českých Budějovicích dne 23. 9. 2013

  
.....  
Petra Krejčová

## ZÁPIS Z OBHAJOBY DISERTAČNÍ PRÁCE ING. PETRY KREJČOVÉ ZE DNE 23. 09. 2013

Prof. Kalač, předseda oborové rady, zahájil obhajobu a představil jednotlivé členy komise a oponenty.

Řízení obhajoby převzal prof. Lachman. Ten seznámil přítomné s životopisem uchazečky a s její publikační činností.

Prof. Křížek, vedoucí katedry aplikované chemie ZF JU, přednesl stanovisko katedry a doporučil práci k obhajobě.

Doc. Kubec, školitel uchazečky, seznámil přítomné se svým stanoviskem, velice ocenil i zapojení uchazečky do výzkumného týmu, pomoc ostatním členům týmu a spolupráci s některými partnerskými pracovišti. Nakonec doporučil práci k obhajobě.

Prof. Lachman vyzval uchazečku o představení své disertační práce formou prezentace s výkladem.

Po prezentaci přednesl prof. Kubáň svůj oponentský posudek a položil uchazečce dotazy. Všechny byly zodpovězeny, oponent konstatoval, že je spokojen.

Další oponent, doc. Pánek, přednesl svůj posudek a položil uchazečce dotazy. Všechny byly zodpovězeny k plné spokojenosti oponenta.

Třetí oponent, doc. Cejpek, přednesl svůj posudek a položil uchazečce celou řadu dotazů. Všechny byly zodpovězeny, oponent konstatoval, že je s odpověďmi spokojen.

Prof. Lachman následně otevřel diskusi:

Prof. Křížek: Již někdo zjišťoval antiparazitickou aktivitu zmíněných látek?

Ing. Krejčová: Ne, byl to náš vlastní nápad i výzkum. V lidovém léčitelství se totiž studované rostliny používají proti střevním parazitům.

Doc. Kubec doplnil antimalarickou aktivitu některý látek.

Doc. Dadáková: Jsou zmíněné látky součástí komerčních léčiv?

Ing. Krejčová: Ne, jen zatím užívané pouze v lidovém léčitelství.

Prof. Kolář: U některých rostlin vznikají bioaktivní látky jen pokud je rostlina ve stresu. Jak je tomu u česnekovitých rostlin?

Ing. Krejčová: Je to pravděpodobné, nicméně kvalitní vědecké údaje nejsou k dispozici.

Prof. Lachman: Mají tyto cizokrajné rostliny šanci na uplatnění a na pěstování ve velkém i v ČR?

Ing. Krejčová: Jelikož nejsou náročné, nejspíš by to šlo.

Doc. Dadáková: Více dat u tabulky týkající se póru znamená více odběrů?

Ing. Krejčová: Ne, jedná se o různé literární zdroje.

Prof. Kalač: Nehrozí při zavedení těchto rostlin do ČR, že se tyto druhy stanou invazivní?

Ing. Krejčová: To nelze spolehlivě odhadnout.

Prof. Tříška: V jaké části česneku a rostlin rodu *Tulbaghia* se tyto aktivní látky nacházejí?

Ing. Krejčová: Vyskytují se ve všech částech, nicméně primárně jsou zastoupeny ve stroužcích resp. kořenech.

Prof. Tříška: Kde jste prováděli testy proti Alzheimerově chorobě? U nás na JU?

Ing. Krejčová: Ne, bylo to v Kodani na stáži.

Prof. Kalač pochválil kvalitu a rozsah literárního přehledu a doporučil ke zvážení, zda by z toho nebylo možné sepsat review. Dále vyzdvihl celkovou úroveň práce, tématu i školitele.

Prof. Lachman ukončil rozpravu, komise a školitel se následně odebrali k neveřejnému hodnocení a k závěrečnému hlasování. Hlasujících: 7. Přítomno: 7. Pro: 7. Proti: 0. Zdržel se: 0.

Ing. Petra Krejčová úspěšně obhájila svou disertační práci.

V Českých Budějovicích dne 23.09.2013 zapsal Martin Šeda.

