

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: Mgr. Daniela CHVALOVÁ
Narozen(a): 9. 11. 1970 v Havlíčkově Brodu
Studijní program: Chemie
Studijní obor: Zemědělská chemie
Forma studia: Kombinovaná
Školící pracoviště: KCH ZF JU v Č. Budějovicích
Datum a místo konání zkoušky: 21. 9. 2016, ZF JU v Č. Budějovicích
Zkušební termín č.: 1.

Název disertační práce:

Zastoupení biologicky účinných mastných kyselin v lipidech vybraných druhů sladkovodních ryb

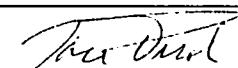
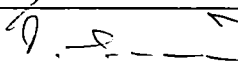
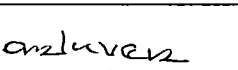
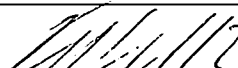
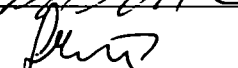
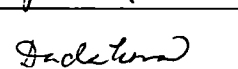
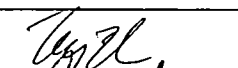
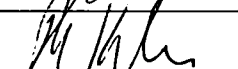
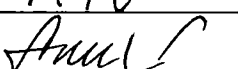
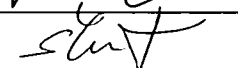
Výsledek obhajoby:

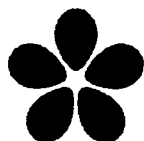
Prospěl (a)

Neprospěl (a)

Zkušební komise:

Podpis:

Předseda:	prof. Ing. Jan Tříška, CSc.; CVGZ AV ČR	
Členové:	prof. Ing. Pavel Kalač, CSc.; ZF JU v Č. Budějovicích	
	prof. Dr. Ing. Jan Mareš; Mendelova univerzita v Brně (oponent)	
	doc. Ing. Jan Pánek, CSc.; VŠCHT Praha (oponent)	
	doc. Mgr. Roman Grabic, Ph.D.; FROV JU v Českých Budějovicích (oponent)	
	doc. Ing. Eva Dadáková, Ph.D.; ZF JU v Č. Budějovicích	
	doc. Ing. Josef Hejzlar, CSc.; BC AV ČR v Č. Budějovicích, HÚ	
	doc. Ing. Roman Kubec, Ph.D.; ZF JU v Č. Budějovicích	
	doc. Ing. Eva Samková, Ph.D.; ZF JU v Č. Budějovicích	
Školitel:	doc. Ing. Jiří Špička, CSc.; ZF JU v Č. Budějovicích	



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: Mgr. Daniela Chvalová
Narozen(a): 9. 11. 1970 v Havlíčkově Brodu

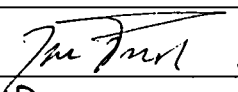
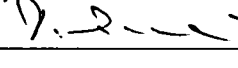
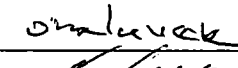
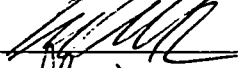
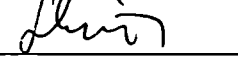
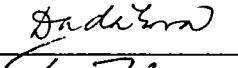
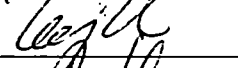
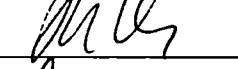
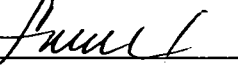
Studijní program: Chemie
Studijní obor: Zemědělská chemie
Forma studia: Kombinovaná

Výsledek hlasování:

Počet členů komise:	9	počet přítomných členů komise:	8
počet platných hlasů:	8	kladných:	8
		záporných:	0
počet neplatných hlasů:	0		

Zkušební komise:

Podpis:

Předseda:	prof. Ing. Jan Tříška, CSc.; CVGZ AV ČR	
Členové:	prof. Ing. Pavel Kalač, CSc.; ZF JU v Č. Budějovicích	
	prof. Dr. Ing. Jan Mareš; Mendelova univerzita v Brně (oponent)	
	doc. Ing. Jan Pánek, CSc.; VŠCHT Praha (oponent)	
	doc. Mgr. Roman Grabic, Ph.D.; FROV JU v Českých Budějovicích (oponent)	
	doc. Ing. Eva Dadáková, Ph.D.; ZF JU v Č. Budějovicích	
	doc. Ing. Josef Hejzlar, CSc.; BC AV ČR v Č. Budějovicích, HÚ	
	doc. Ing. Roman Kubec, Ph.D.; ZF JU v Č. Budějovicích	
	doc. Ing. Eva Samková, Ph.D.; ZF JU v Č. Budějovicích	

Odpovědi na dotazy a připomínky oponentů disertační práce „Zastoupení biologicky účinných mastných kyselin v lipidech vybraných druhů sladkovodních ryb“.

Doktorand: Mgr. Daniela Chvalová

Školitel: doc. Ing. Jiří Špička, CSc.

Obhajoba: 21.9.2016

Dotazy z posudku prof. Dr. Ing. Jana Mareše

Připomínky k metodické části:

1. Doplnit údaje o době od zabití ryb do jejich zpracování, včetně teploty při přepravě materiálu a přechovávání.

Ryby pocházely z prodejny společnosti Lesy a rybníky města ČB, s.r.o. Byly to tržní ryby, tříletí kapři s plně vyvinutými gonádami o hmotnosti 2,5 – 3 kg. Vzorky byly zakoupeny chlazené, převezeny do laboratoře, očištěny, naporcovány a zmrazeny.

2. Porovnání gonád a svaloviny identické ryby.

Děkuji za námět pro případný další výzkum.

Dotazy:

1. Lze cíleně ovlivňovat v rybích tkáních obsah furanových mastných kyselin?

Ryby musí furanové mastné kyseliny přijímat v potravě. Pokud tedy budou součástí rybí výživy, je možné jejich obsah takto ovlivnit. Práce na toto téma zatím nevyšla. U kapra se furanové MK nacházejí v mlíči. Je tedy otázka, do jaké míry je možné výživou ovlivnit zastoupení mastných kyselin v této tkáni.

2. Domníváte se, že složení mastných kyselin v jikrách a mlíči je ovlivňováno výživou ryb stejně jako spektrum FA jejich svaloviny?

Vliv výživy na zastoupení MK ve svalovině je prokázán a v praxi využíván. Studií, které by se tímto zabývaly u gonád, moc není. Zde je spíše sledován vliv reprodukčního období na zastoupení MK.

Následující práce se vztahují k tématu reprodukce:

Pacetti, D. et al.: J. Agri. Food Chem., 61, 3969-3977, 2013.

Sushchik N. N. et al.: Food Chemistry, 104, 1353-1358, 2007.

Podle autorů první práce se furanové MK během tření ryb nemění, ostatní MK ano. V druhé práci autoři sledují kvalitu svaloviny během tření. Dochází k mobilizaci zásobních tuků, které přecházejí ze svaloviny do gonád, a výživová kvalita svaloviny klesá.

Práce *Czesny S. et al.: Aquaculture, 189, 145-153, 2000* se vztahuje k vlivu výživy na zastoupení MK v jikrách ryb žijících volně a chovaných v akvakultuře. Autoři našli rozdíly zejména ve frakci neutrálních lipidů jiker.

3. Může dojít k rozdílům ve spektru mastných kyselin ve svalovině kaprů chovaných v jednom rybníce?

Netroufám si dát jednoznačnou odpověď. Pokud by kapři měli stejný přístup k potravě, tak zřejmě ano. Ale může se uplatnit vliv řady dalších faktorů, například velikost rybníka, chuťové preference ryb aj.

Dotazy z posudku doc.Ing.JanaPánka,CSc.

Doplnění k řešení:

1. Biosyntéza furanových kyselin.

Biosyntéza furanových mastných kyselin probíhá v rostlinách, řasách a mořských bakteriích. Základní skelet pochází z acetátu, methyl na furanovém jádře z methioninu a kyslík ze vzduchu. Prekursorem pro furanové MK s pentylovým postranním řetězcem je linolová kyselina, pro furanové MK s propylem je prekursorem 9,12-hexadekadienová kyselina. Důležitým meziproduktem je 13-hydroperoxysloučenina. Primárně vzniklá furanová MK může být dále prodlužována po C2 jednotkách pocházejících z acetátu. U mořských bakterií je mechanismus biosyntézy trochu jiný, začíná zavedením methyly do *cis* vakcenové kyseliny

2. Metabolity furanových kyselin.

Metabolity byly popsány v 80. letech minulého století, jedná se o dikarboxylové kyseliny. Nejvýznamnější z nich je 3-karboxy-4-methyl-5-propyl-2-furanpropanová kyselina (CMPF). Tato látka je v posledních letech intenzivně studována jako možný biomarker onemocnění různými formami diabetu a ledvinovými chorobami. Metabolit CMPF v beta buňkách inhibuje glykolýzu, což vede k narušení biosyntézy a uvolňování inzulínu. Příčina a mechanismus zvýšení hladiny CMPF v plasmě diabetických pacientů zatím nebyly objasněny.

Dotaz:

1. Vysoký obsah furanových kyselin v triacylglycerolové frakci mlíčí je poněkud v rozporu s tím, co zatím bylo publikováno (Spiteller; Lipids 40(8), 755-771, 2005), kde se u mlíčí uvádí určitý obsah ve fosfolipidech a nulový v triacylglycerolech). Lze najít nějaké vysvětlení? A existuje nějaká hypotéza, proč je vysoký obsah právě v mlíčí?

Zde bych jako příčinu rozporu uvedla ne zcela jasnou terminologii. Mlíčí lze do angličtiny přeložit více výrazy. Charakter vzorku zpracovávaných v předložené disertační práci nejvíce odpovídal anglickému výrazu testes. Zde je výskyt furanových MK prokázán v triacylglycerolech. Hypotéza vysvětlující vysoký obsah furanových MK v mlíčí publikována nebyla. Dle mého názoru je možné, že tento vysoký obsah souvisí s vysokým obsahem polynenasycených MK a furanové MK tam mají funkci antioxidantů.

Připomínky:

1. Str. 15: Neumím si představit použití trans-nenasycených mastných kyselin jako aditiva do potravin? Jsou v citovaném článku nějaké podrobnosti?

Děkuji za upozornění a omlouvám se za špatnou formulaci. Uvedené citace se vztahují pouze zdravotním problémům v souvislosti s trans kyselinami.

2. Str. 17: Kromě cholesterolu se v rybách (asi s výjimkou dravých ryb) zcela jistě najde i významné množství fytosterolů.

Děkuji za upozornění. V práci Ozogul F. et al.: *Int. J. Food Prop.*, 18, 2026-2041, 2015 autoři sledují obsah sitosterolu a stigmasterolu ve svalovině kapra obecného, pstruha duhového a candáta obecného při kuchyňských úpravách. Fytosteroly u ryb pocházejí pravděpodobně z jejich potravy. Vzhledem k uvedeným nízkým obsahům však zůstávají, z hlediska výživy člověka, nejdůležitějším zdrojem fytosterolů rostlinné oleje.

Dotazy z posudku doc. Mgr. Romana Grabice, Ph.D.

1. Jaký byl důvod používat GC/FID pro kvantitativní stanovení esterů mastných kyselin místo GC/MS, která je selektivnější a také citlivější?

Metodu GC/FID pro kvantitativní stanovení jsem používala především ze dvou důvodů. Tato metoda byla na pracovišti již dobře rozpracovaná doc. Špičkou a také v literatuře patří tato metoda mezi nejběžnější pro kvantitativní stanovení mastných kyselin. Výhodou FID detekce je přibližně stejná odezva pro většinu mastných kyselin, není nutná složitá kalibrace. Také provoz je, ve srovnání s GC/MS, levnější.

2. Proč nebyla vyzkoušena metoda tandemové hmotnostní spektrometrie pro chemickou ionizaci? Pravděpodobně by bylo možné určit strukturu i z těchto spekter.

Zaměřila jsem se na určení struktury pouze u furanových mastných kyselin a zde jsou v literatuře a knihovně spektra k dispozici zatím jen hmotnostní spektra získaná elektronovou ionizací.

3. Uvažujete o experimentech, které by objasnily roli furanových kyselin v rybím organismu, speciálně pak s ohledem na jejich vysoký výskyt v mlíčí?

Ano, uvažujeme. V této fázi výzkumu však bude nutné navázat spolupráci s odborníky, od kterých by bylo možné získat definované vzorky rybích tkání.

4. Jsou k dispozici detailnější informace o studovaných rybách – věk, jak intenzivní a jaké bylo krmení během posledního roku a jak dlouhá doba uběhla od výlovu k zakoupení ryb?

Bohužel, detailnější informace k dispozici nemám. Ryby byly kupovány jako tržní bez nějakého bližšího určení. Jednalo se o kapry tříleté s plně vyvinutými gonádami a hmotností 2,5 – 3 kg. Ke vzorků jsem přistupovala spíše z pohledu běžného spotřebitele.

Zápis z obhajoby disertační práce Mgr. Daniely Chvalové, konané 21.09.2016 v 11:00h

Zahájení – přivítání členů komise, oponentů, školitele (doc. Špička), uchazeče a hostů prof. Kalačem a prof. Třískou (předseda) a konstatování, že uchazečka splnila podmínky podle statutu ZF JU.

Prof. Tříska přečetl životopis uchazečky, seznámil s její publikační činností a doporučil práci k přijetí.

Uchazečka přednesla během 20 minut prezentaci ke své vědecké práci.

Oponenti (doc. Pánek, doc. Grabic) přednesli své oponentské posudky, prof. Mareš byl nepřítomen, jeho posudek přečetl prof. Tříska. Oponenti vznesli dotazy, uchazečka je postupně zodpověděla. Všichni oponenti byli s odpověďmi (odevzdány uchazečkou písemně) spokojeni.

Zahájení vědecké diskuze, během které byly na uchazečku vzneseny dotazy, na které následně reagovala:

Prof. Kalač: Nemohou být furanové kyseliny vedlejším produktem oxidace?

- Vyskytují se v rámci dalších antioxidačních látek, takže nejspíš nemohou. Může dojít k cyklizaci kyselin, ale neobjevil by se na nich navázaný methyl.

Doc. Pánek: Navrhnul zpracovat na formulování hypotézy, jakým způsobem by se mohla biosyntetizovat ta látka, kterou jste nově objevili.

Doc. Grabic: Nabídl spolupráci při odběru vzorků a separaci částí gonád. Doporučuje si vybrat malý rybník s homogenním prostředím.

Doc. Hejzlar: Také by bylo vhodné najít zdroj těch furanových kyselin. Z příkrmů na bázi pšenice to asi nebude, takže nejspíš rostlinný plankton nebo bentos. Jinak možností pokračování vaší práce je celý vějíř...

Doc. Dadáková: Gonády bývají prorostlé tukem – což je pro spotřebitele špatně...

Doc. Grabic: Je to problém intenzivního příkrmování, nicméně kapr se prodává na váhu, takže to prodejce nezajímá, kolik obsahuje tuku.

Doc. Dadáková: Pak je ale otázka, jaký poměr mastných kyselin bude převažovat, když v poměru ke gonádám bude převládat útrobní tuk. A furanových kyselin bude tudíž méně...

Doc. Špička: Tuk u gonád odpovídá složením tomu svalovinovému, i proto byl od gonád během výzkumu důsledně odstraňován.

Doc. Kubec: Je nějaká studie, která by sledovala intenzivní konzumenty mlíčí se statistickým vyhodnocením? Ve světě to asi není moc obvyklé...

- V literatuře je psáno hlavně o kaviáru, o mlíčí tam moc nenajdete. Nijak ve velkém se to nejí, je to spíš české specifikum.

Prof. Kalač vyzdvihl potíže provázející publikaci článku ve velmi významném impaktovaném časopise a navrhl uchazečce i školiteli několik možností, čím se dále zabývat ve výzkumu na toto téma.

Tazatelé byli se všemi odpověďmi uchazečky spokojeni. Diskuse byla ukončena.

Po neveřejné poradě a po hlasování komise jednomyslně konstatovala, že uchazečka práci obhájila a získává tak titul Ph.D.