

OPONENTSKÝ POSUDEK DISERTAČNÍ PRÁCE Mgr. JANA VONDRUŠKY

vypracované na téma

**„OBSAH VYBRANÝCH RIZIKOVÝCH PRVKŮ V PLODNICÍCH HUB
S LÉČIVÝMI ÚČINKY“**

Disertační práce Mgr. Jana Vondrušky je včetně obsahu, vlastního textu, seznamu literatury (68 citací) a seznamu příloh prezentována na 87 stranách. Práce je doplněna přílohami (kopie 2 impaktovaných publikací souvisejících s disertační prací, kopie 2 impaktovaných publikací nepřímo souvisejících s disertační prací, kopie 1 publikace v databázi Scopus nesouvisející s disertační prací) a celá práce je pojata jako diskuse k již publikovaným článkům při zachování klasického dělení. Téma disertační práce je velmi zajímavé, nejen pro příslušnou vědeckou komunitu, ale i pro odbornou veřejnost v oblasti potravinářství a potravinových doplňků. Cíle disertační práce jsou uvedeny na str. 20.

Úvod a literární část shrnují stručným způsobem a velmi přehledně danou problematiku. Práce působí velmi dobrým dojmem, je kompaktní, všechny údaje jsou logicky řazeny. Osobně se mi líbí přístup autora, který zvolil studium rizikových prvků v plodnicích hub s léčivými účinky. Těmto houbám se začíná věnovat stále větší pozornost, ať je to již hlíva ústříčná, penízovka sametonohá, ale dokonce i hřib žlučník. K práci mám některé připomínky a dotazy. Začal bych odběrovými lokalitami. Je jasné, že lokality byly zvoleny na základě předpokladu růstu studovaných druhů hub, nicméně bych se rád zeptal autora, zda se nesnažil získat vzorky i z jiných než uvedených lokalit. Lokality jsou sice popsány, ale jejich lokaci by bylo vhodné doplnit výsekem mapy pro lepší orientaci čtenářů. Plodnice hlívy ústříčné byly pěstovány na slámě - jaká to byla sláma? V prvním provedení obohacovacího experimentu (str. 23) byl substrát rozdělen do tří bloků o hmotnosti zhruba 2 kg, které byly ještě rozpuřeny, takže výsledná hmotnost je cca 1 kg. Při druhém provedení experimentu (třetí odstavec na str. 23) není hmotnost uvedena, což je ale důležité pro výpočet hmotnostní bilance prvků. Předpokládám, že to byl rovněž 1 kg. Byly dvě formy Zn zvoleny náhodně, nebo na základě

nějaké hypotézy (literárních údajů?), anebo čistě proto, že v půdě se vyskytuje ve větší míře dusičnanový anion? Jak bylo zajištěno homogenní obohacení substrátu použitými solemi zinku, nebo selenu? Ze své praxe si dovedu představit, že je to velmi obtížná úloha, podobně jako příprava stacionární fáze pro chromatografii, kdy se musí substrát (stacionární fáze) smísit s přebytkem rozpouštědla (vody) obsahujícího danou látku a rozpouštědlo (voda) se musí odpařit za stálého míchání, resp. voda se musí odpařit volně na vzduchu.

K výsledkům a diskusi.

Ve studii 1 bylo sledováno 18 prvků, zatímco ve studii 2 bylo sledováno 21 prvků. Co bylo přesně záměrem rozšíření studie 2 o další tři zajímavé rizikové prvky, vždyť např. sledování stříbra ve studii 1 by bylo, zejména v Jižních Čechách, také velmi zajímavé. Data obsahu prvků jsou v disertační práci prezentována dvojím způsobem, např. v tabulkách č. 5, 9 a 10 jsou uvedeny obsahy prvků (správněji souhrnné obsahy prvků) proti tabulce č. 11, kde jsou uvedeny obsahy v jednotlivých lokalitách, což přináší čtenáři zajímavou možnost si porovnat obsahy mezi jednotlivými lokalitami a dále následuje tabulka č. 12, kde je uveden souhrnný obsah prvků. Škoda, že tímto způsobem nebyla zpracována také data z tabulek č. 5, 6 a 10.

Získaná data obsahu prvků ve studovaných plodnicích hub s léčivými účinky jsou velmi zajímavá a v diskusi jsou srovnávána s dostupnými literárními údaji. Z mého pohledu oponenta, resp. člověka, který se také zabývá otázkami životního prostředí se jako červená nit táhne všemi daty obsah rubidia, který v některých případech dosahuje až enormních hodnot. Začnu ale obsahy rubidia v půdách, např. průměrná hodnota obsahu rubidia v půdách (Tab. 13) je $38,9 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ suš.}$, což je cca 6 x více než průměrná hodnota obsahu rubidia v půdách uvedená v Tab. 6 ($7,19 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ suš.}$). Tyto hodnoty mě vedou k dotazu, zda autor nepátral po geochemii rubidia a zda se nesnažil zjistit něco o horninovém složení podloží v těchto lokalitách. Obsah rubidia je v zemské kůře poměrně vysoký ($100 - 300 \text{ mg/kg}$) a jeho výskyt je tedy zhruba ve stejné úrovni jako u niklu, mědi a zinku. Množství rubidia v půdě nepřímo koreluje s pH půdy, t.zn., že nejvyšší množství rubidia lze nalézt v kyselých půdách. V této souvislosti by bylo tedy také zajímavé měřit pH a obsah draslíku v půdě. Obsah rubidia v plodnicích hříbu žlučníku je enormní ($430 \pm 119 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ suš.}$), což koresponduje s biokoncentračním faktorem (65,7) – viz Tab. 7.

Velmi zajímavá je studie 3, ve které byl sledován vliv obohacování růstového substrátu zinkem a selenem a přechod těchto prvků do plodnic hlívy ústříčné. Autor získal velké množství dat, ze kterých kromě jiného plyne, že obohacení nemá vliv na výsledný obsah zinku v plodnici. V případě obohacování substrátu selenem mohou obohacené plodnice zajišťovat dostatečné množství selenu k zajištění denního příjmu pro dospělou osobu. Jaká je vlastně doporučená denní dávka selenu pro dospělou osobu? V případě obohacení substrátu selenem odpovídají průměrné hodnoty obsahu selenu v substrátu řádově přidané hmotnosti selenu ve formě seleničitanu (Tab. 47), zatímco v případě zinku jsou obsahy zinku v substrátu (Tab. 42) několikanásobně vyšší, než by plynulo z hmotnostní bilance, i když autor tvrdí na str. 68, že množství koresponduje s množstvím nadávkovaného obohacovacího roztoku. Poslední věta v prvním odstavci na str. 74 mě vede k dotazu, zda autor neuvažoval také o zavedení metody stanovení antioxidační aktivity? Metody nejsou příliš experimentálně náročné a výsledky by velmi obohatily disertační práci – samozřejmě tato poznámka není námitkou proti kvalitě disertační práce a tato stanovení nebyla ani v cílech disertační práce.

Výsledky disertační práce jsou velmi zajímavé a originální a byly uveřejněny ve dvou kvalitních impaktovaných publikacích.

Musím zmínit i určité formální nedostatky práce, kterých je ale naprosté minimum. V Literatuře na str. 79 a dále je třeba dodržet jednotnou velikost fontů (např. Cai et al., Huang et al.) a psaní latinských názvů hub kurzívou (např. Damte et al. a další). V abstraktu a v podobných textech by neměl autor používat pouze jednu hodnotu obsahu (jedno číslo), ale průměrný obsah prvku spolu se směrodatnou odchylkou, anebo koncentrační rozsahy. Na str. 74, poslední věta, je uvedeno, že ...“že plodnice hlívy ústříčné obohacené selenem dokonce mohou mít pozitivní účinky na mykopatogenní plísň“...Autor patrně chtěl vyjádřit, že se v tomto případě mykopatogenním plísňím nedaří, takže účinky spíše negativní.

Závěrem konstatuji, že předložená disertační práce Mgr. Jana Vondrušky vypracovaná na téma „Obsah vybraných rizikových prvků v plodnicích hub s léčivými účinky“ je velmi dobře

zpracována a dokládá odbornou úroveň jmenovaného s tím, že jednoznačně prokázal tvůrčí schopnosti a schopnost ovládat vědecké metody. Práce splňuje požadavky kladené na disertační práci v oboru a může být podkladem pro obhajobu disertační práce ve smyslu §47 Sbírky zákonů č. 111/1998.

Konstatuji dále, že předloženou disertační práci jsem prostudoval a

doporučuji

ji k obhajobě.

České Budějovice 14. září 2022



Prof. Ing. Jan Triska, CSc.

Laboratoř metabolomiky a izotopových analýz

Ústav výzkumu globální změny AV ČR, v.v.i., Brno

pracoviště Lipová 1789/9

370 05 České Budějovice

mail: triska.j@czechglobe.cz

Oponentský posudek práce Mgr. Jana Vondrušky s názvem „Obsah rizikových prvků v plodnicích hub s léčivými účinky“

Disertační práce Mgr. Jana Vondrušky se zabývá obsahy vybraných rizikových prvků v plodnicích hub, sbíraných ve volné přírodě v letech 2017 – 2021 v několika jihočeských lokalitách. Práce shrnuje tři studie, z nichž první dvě jsou zaměřeny právě na obsahy vybraných prvků ve sbíraných houbách a třetí část disertace, podle mne zajímavější a po vědecké stránce přínosnější se věnuje přenosu selenu a zinku z obohaceného substrátu do plodnic hlívy ústříčné.

Literární úvod není dlouhý, ale pro potřeby práce je dostačující. Tabulka I shrnuje obvyklé obsahy několika prvků v plodnicích pěstovaných i volně sbíraných hub a Tabulka II meze detekce vybraných kovů různými analytickými technikami AAS. Obě tabulky jsou pro další čtení dosti užitečné. V úvodu jsou stručně zmíněny účinky jednotlivých hub resp. látek v nich obsažených. V této souvislosti bych možná byl opatrnější s používáním termínu „protirakovinné účinky“; jde vesměs o imunomodulační účinky (tj. o vliv – zpravidla betaglukanů – na aktivizaci vlastního imunitního systému případného pacienta).

Metodická část je věcná, možná že by ale součástí mohla být i mapa s vyznačením lokalit, kde byly vzorky hub sbírány. GPS data jsou jistě nejpresnější, ale na první čtení čtenáři nic neříkají.

Co se týká dosažených výsledků:

V první studii byly zjišťovány prvky v plodnicích ucha Jidášova, hlívy ústříčné a hříbu žlučníku. K vlastnímu měření oponent připomínky nemá, k dosaženým výsledkům také ne. Totéž platí pro druhou studii, věnovanou obsahům vybraných prvků v plodnicích václavky smrkové, penízovky sametonohe a hnojníku obecného. Dosažená data jsou přehledně shrnuta v tabulkách, včetně biokoncentračních faktorů.

Třetí část práce se věnuje přenosu kovů, přidaných k růstovému substrátu do plodnic hlívy ústříčné; konkrétně jde o přenos zinku a selenu.

Práce obsahuje zajímavá a nová data, autor se je pokusil i uvést do kontextu současného stavu poznání. Vlastní výsledky porovnává s daty dosaženými v dřívějších pracích; důležité je asi především srovnávání s údaji publikovanými dr. Kalačem, protože jsou z podobného regionu. Srovnávání nalezených koncentrací kovů v houbách z jižních Čech s koncentracemi týchž prvků v houbách např. v Číně nebo Bangladéši může být poněkud zavádějící (obsahy mohou být ovlivněny nejen odlišnými geologickými podmínkami, ale třeba i jinými /klimatickými/ parametry). V literatuře se najde i víc prací s obsahy prvků ve sbíraných či pěstovaných houbách z Evropských zemí, než autor uvádí. To ale nijak nesnižuje kvalitu či význam autorem zjištěných výsledků.

Přesto mám za to, že první dvě studie jsou spíše popisné a nároky na kvalitní Ph.D. disertaci splňuje více až třetí část práce, studující přenos kovů ze substrátu do plodnic. Cílem této části bylo kvantifikovat přenos zinku a selenu ze substrátu do plodnic hlívy ústříčné.

Práce se opírá o dva články v impaktovaných časopisech, kde je uchazeč prvním autorem a dále mimo jiné o dvě práce nepřímo související s disertací. Práce je čtivá, bez významnějších formálních nedostatků. Práci považuji za vhodnou k obhajobě, ale mám k ní několik připomínek či otázek:

Otázky a připomínky

1. Co znamená v metodické části (Pěstování plodnic) str. 22 věta „Plodnice správné velikosti obvykle vyrostly v rozmezí 4 až 7 dnů)? Co je to „správná velikost“?
2. Oponent postrádá v práci mapku s vyznačenými lokalitami sběrů. GPS data jsou sice nejpřesnější lokalizace odběrových míst, ale myslím, že mapka by byla pro čtenáře srozumitelnější resp. přínosnější.
3. Ještě k metodice obohacovacího experimentu: jak prakticky obohacení proběhlo, tj. kolik ml roztoku bylo aplikováno do bloků slámy a jak? Jak bylo zajištěno homogenní rozptýlení dodaného kovu v celém objemu substrátu tak, aby jeho koncentrace byla v celém objemu bloku slámy (2 kg) alespoň přibližně stejná?
4. Má autor nějaké poznatky (literární či vlastní) o vazbě selenu na složky substrátu, použitého v experimentu (tedy převážně sláma)? Podle metodiky byl obsah zbytkového Se v substrátu po ukončení experimentu zjišťován po mikrovlnném rozkladu v koncentrované kyselině dusičné; ta ale nerozliší ve vzorku mezi celkovým obsahem prvku a biologicky dostupným (tedy vyluhovatelným a přenositelným).

Práci doporučuji po úspěšné obhajobě k přijetí do dalšího řízení, vedoucího k udělení titulu Ph.D. na Jihočeské univerzitě v Českých Budějovicích.

**RNDr. Jiří
Gabriel,
DrSc.**

Digitálně podepsal
RNDr. Jiří Gabriel,
DrSc.
Datum: 2022.08.31
12:05:36 +02'00'

Doc. RNDr. Jiří Gabriel, DrSc.
Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i., Praha

Oponentský posudek

Disertační práce

Mgr Jana Vondrušky

Obsah vybraných rizikových prvků v plodnicích hub s léčivými účinky

Oponent: Doc. Ing. Jiřina Száková, CSc.
Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin
Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů
Česká zemědělská univerzita v Praze

Předložená práce je zaměřena na podrobné studium obsahů širokého spektra chemických prvků ve vybraných druzích hub. Na rozdíl od většiny podobných studií, v tomto případě byla pozornost zaměřena na tu skupinu hub, která je zajímavá nikoli (jenom) využitím v kuchyni, ale možným využitím v medicíně vzhledem k zajímavým obsahům biologicky účinných látek v těchto druzích hub. Jednalo se zejména o populární jedlou houbu hlívu ústříčnou (*Pleurotus ostreatus*), která je studována zejména v souvislosti s obsahem širokého spektra látek s antikancerogenním účinkem a rovněž vyhledávanou penízovku sametonohou (*Flammulina velutipes*), která je mimo jiné známa antimikrobiálním účinkem. Využitím v kuchyni je také známa houba zvaná Ucho Jidášovo (*Auricularia auricula-judae*), u které je také předmětem výzkumu z důvodu obsahu látek s potenciálním antibakteriálním, antioxidačním a antikancerogenním účinkem, podobně jako hnojník obecný (*Coprinus comatus*). Dalšími sledovanými druhy pak byla václavka smrková (*Armillaria ostoyae*), která může působit zdravotní problémy, ale obsahuje také řadu bioaktivních látek, a konečně hřib žlučník (*Tylopilus felleus*), který pro použití k přímé konzumaci diskvalifikuje hořká chuť, ale obsah bioaktivních látek v plodnicích těchto hub je rovněž široce diskutován. Výběr druhů hub k experimentům ale není v práci vysvětlen. Hub s vysokým obsahem bioaktivních látek, které se intenzivně studují je mnohem více (namátkově například lesklokorka lesklá, *Ganoderma lucidum*). Jaké kritérium výběru tedy bylo použito?

Předložená práce má klasickou strukturu, tedy teoretickou, metodickou a experimentální část a shrnující závěr. Cíle práce jsou jasně formulovány. Práce je psána dobrou češtinou s výskytem minima překlepů. Teoretická část je zaměřena na charakteristiku studovaných druhů hub, obsahy prvků v houbách a analytické metody stanovení těchto prvků v houbách. K této části mám následující dotazy a připomínky:

- 1) Pokud byla Tabulka 1 převzata z práce, kterou publikoval Kalač (2019), pak by to mělo být uvedeno v hlavičce nebo zápatí této tabulky
- 2) Výčet analytických metod je omezen na metody, které byly v práci použity. Domnívám se ale, že v této části by měly být zmíněny i metody další, například optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-OES), která také patří k metodám atomové spektrometrie. Můžete, prosím, stručně představit princip této metody a její výhody či nevýhody ve srovnání s F-AAS?
- 3) Zmiňujete výhodu AAS ve srovnání s F-AES při stanovení snadno excitovatelných prvků. Můžete uvést o které prvky se jedná?
- 4) Zmiňujete výhodu ETA-AAS z hlediska nízké meze stanovitelnosti. Má ale také nějaké nevýhody?

- 5) Meze detekce uvedené v tabulce 2 pocházejí z literárního zdroje, nebo byly získány v rámci Vašich měření? V této souvislosti: jaký je rozdíl mezi mezí detekce stanovení a mezí stanovitelnosti?

Metodická část je jasná a přehledná, domnívám se ale, že by zde měly být shrnuty i použité statistické metody, protože metodická část by měla pokrývat celý analytický systém. K této části mám jeden dotaz: Proč byl pro převedení půdy do roztoku zvolen rozklad v kyselině dusičné? Získáme tímto postupem celkový obsah prvku v půdě, nebo pouze některou frakci prvku?

Experimentální část je rozdělena do tří samostatných studií, kdy první dvě jsou věnovány stanovení obsahu vybraných prvků ve studovaných houbách, třetí je pak zaměřena na možnost zvýšení obsahu Zn a Se, tedy důležitých esenciálních prvků ve výživě člověka, v plodnicích hlívy ústříčné. První dvě studie jsou téměř identické, každá z nich je zaměřena na tři ze sledovaných druhů hub. Obě studie byly již publikovány a to v časopise *International Journal of Medicinal Mushrooms* (IF = 1,971) a *Chemistry and Biodiversity* (IF = 2,745). Je tedy zřejmé, že hodnota obou studií byla již potvrzena vědeckou komunitou. Mám tedy pouze dva dotazy:

- 1) Byla při hodnocení dat testována normalita rozdělení?
- 2) Byly stanoveny obsahy prvků v substrátu pro pěstování hlívy také v rámci těchto studií?

Třetí studie zatím publikována nebyla, ale předpokládám, že brzy publikována bude. Tento experiment je zaměřen na příjem Zn a Se plodnicemi hlívy ústříčné ze substrátu obohaceného různými koncentracemi těchto dvou prvků. Není ale uvedeno, proč byly pro experiment vybrány právě tyto prvky. Mohl byste, prosím, stručně připomenout význam těchto dvou prvků ve výživě člověka? Pokus je logicky uspořádán a adekvátně vyhodnocen. Bylo potvrzeno, že zatímco příjem zinku je zřejmě v plodnicích hub dobře regulován a jeho příjem se zvyšujícím se obsahem Zn v substrátu významně nezvyšuje, obsah Se v plodnicích roste se zvyšujícím se obsahem tohoto prvku v substrátu a významně se zvyšuje ve srovnání s neobohacenými plodnicemi. Selen je významným esenciálním prvkem pro člověka, ale jeho optimální příjem se pohybuje ve velmi úzkém rozmezí. Velmi snadno se tedy můžeme tímto prvkem „předávkovat“. K této studii mám následující dotazy:

- 1) Jaké množství selenizované hlívy byste doporučil pro denní dietu člověka tak, aby se zvýšil příjem tohoto prvku, ale nedošlo k překročení optimálního rozmezí?
- 2) Existují ve vědecké literatuře informace o sloučeninách selenu v plodnicích hub?

3) Některé organické i anorganické sloučeniny se jsou velmi těžké. Jsou ve vědecké literatuře dostupné informace o vzniku takových sloučenin při pěstování selenizovaných hub?

Závěrem je třeba konstatovat, že doktorská práce Mgr. Vondrušky přináší nové informace o prvkovém složení hub s potenciálním lékařským využitím a drobné připomínky její hodnotu nesnižují. Práce splňuje potřebná kritéria, proto ji doporučuji k obhajobě a po úspěšném obhájení udělit Mgr Vondruškovi akademický titul doktor.

V Praze 2. 9. 2022

Jiřina Száková

