



ZÁPIS O OBHAJOBĚ DIZERTAČNÍ PRÁCE DSP

Jméno studenta: Mgr. Jan VONDRUŠKA
Narozen(a): 23. 1. 1993 v Jindřichově Hradci
Studijní program: Chemie
Studijní obor: Zemědělská chemie
Forma studia: Kombinovaná
Školící pracoviště: KCH FZT JU v Č. Budějovicích

Datum a místo konání zkoušky: 21. 9. 2022, FZT JU

Zkušební termín č.: 1

Název dizertační práce:

Obsah rizikových prvků v plodnicích hub s léčivými účinky

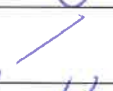
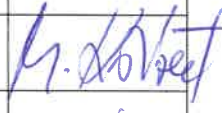
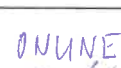
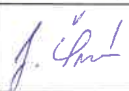
Výsledek obhajoby:

Prospěl(a)

Neprospěl(a)

Zkušební komise:

Podpis:

Předseda:	prof. Ing. Ivo Šafařík, DrSc.; AV ČR, ÚPB České Budějovice	
Členové:	prof. Ing. Jiřina Száková, CSc.; ČZU v Praze, FAPPZ (oponentka)	
	prof. Ing. Jan Tříška, CSc.; AV ČR, ÚVGZ České Budějovice (oponent)	
	prof. Ing. Martin Křížek, CSc.; FZT JU v Českých Budějovicích	
	doc. Ing. Eva Dadáková, Ph.D.; FZT JU v Českých Budějovicích	
	doc. Ing. Eva Samková, Ph.D.; FZT JU v Českých Budějovicích	
	doc. Ing. Jana Pexová Kalinová, Ph.D.; FZT JU v Českých Budějovicích	
	doc. RNDr. Jiří Gabriel, DrSc.; AV ČR, MBÚ Praha (oponent)	
	doc. Ing. Roman Kubec, Ph.D.; FZT JU v Českých Budějovicích	
Školitel:	doc. RNDr. Jan Šíma, Ph.D.; FZT JU v Českých Budějovicích	



OBHAJOBA DIZERTAČNÍ PRÁCE DSP PROTOKOL O HLASOVÁNÍ

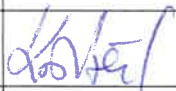
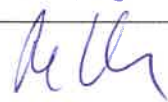
Jméno studenta: Mgr. Jan VONDRUŠKA
Narozen(a): 23. 1. 1993 v Jindřichově Hradci
Studijní program: Chemie
Studijní obor: Zemědělská chemie
Forma studia: Kombinovaná

Výsledek hlasování:

Počet členů komise: 9
Počet přítomných členů komise: 7 + 1 ON-LINE
Počet platných hlasů: 8
Kladných: 8
Záporných: 0
Počet neplatných hlasů: 0

Zkušební komise:

Podpis:

Předseda:	prof. Ing. Ivo Šafařík, DrSc.; AV ČR, ÚPB České Budějovice	
Členové:	prof. Ing. Jiřina Száková, CSc.; ČZU v Praze, FAPPZ (oponentka)	
	prof. Ing. Jan Tříška, CSc.; AV ČR, ÚVGZ České Budějovice (oponent)	
	prof. Ing. Martin Křížek, CSc.; FZT JU v Českých Budějovicích	
	doc. Ing. Eva Dadáková, Ph.D.; FZT JU v Českých Budějovicích	
	doc. Ing. Eva Samková, Ph.D.; FZT JU v Českých Budějovicích	
	doc. Ing. Jana Pexová Kalinová, Ph.D.; FZT JU v Českých Budějovicích	
	doc. RNDr. Jiří Gabriel, DrSc.; AV ČR, MBÚ Praha (oponent)	ONLINE
	doc. Ing. Roman Kubec, Ph.D.; FZT JU v Českých Budějovicích	

Odpovědi na otázky oponentů

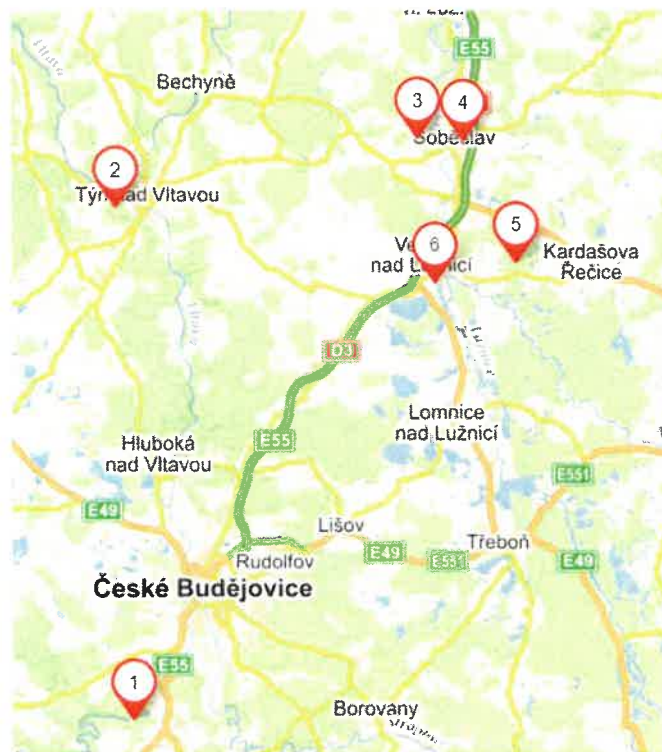
doc. RNDr. Jiří Gabriel, DrSc.

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“?

Na základě údajů od dodavatele substrátu (průměr klobouku > 7cm)



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.



1. hřib žlučník, hnojník obecný
2. václavka smrková
3. boltcovitka ucho Jidášovo
4. hnojník obecný, penízovka sametonohá
5. hřib žlučník
6. hnojník obecný

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?

Roztok o objemu 50ml byl sprejován do dodaného substrátu a substrát byl důkladně promíchán.

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).

Přírozně se vyskytující selen v živých organismech je ve formě selenoproteinů, selenomethioninu či selenocysteinu. Námi dodaný selen je ve formě seleničitanu. Dle literárních zdrojů lze očekávat, že bude částečně adsorbován na povrch substrátu a nelze vyloučit přeměny v důsledku mikroorganismů či redukci seleničitanu na amorfní selen s nulovým nábojem. (Falandysz 2008, Tsivileva a Perfilova 2017).

prof. Ing. Jiřina Száková, CSc.

Jaké kritérium výběru tedy bylo použito?

Byly vybrány méně běžné druhy hub s léčivými účinky. Dále byl výběr druhů hub zvolen na základě dostupnosti, četnosti plodnic v lokalitách a na základě ekologické strategie (mykorhizní vs. parazitické druhy vs. saprotrófní).

Teoretická část

1. Pokud byla Tabulka 1 převzata z práce, kterou publikoval Kalač (2019), pak by to mělo být uvedeno v hlavičce nebo zápatí této tabulky.

Tabulka nebyla převzata jako celek. Z publikace Kalač 2019 byly vybrány údaje a shrnuty do 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?

Principem je převedení analytu do formy volných atomů v excitovaném stavu a následné sledování emise spektrálních čar odpovídajících jednotlivým chemickým prvkům. Intenzita spektrální čáry je úměrná koncentraci analytu. Základní výhodou je možnost stanovení více prvků v rámci jednoho experimentu. Dále je možnost měření v širokém rozsahu koncentrací. Nevýhodou této metody je nižší citlivost ve srovnání s ET - AAS, citlivosti dosahované pomocí ICP - OES jsou srovnatelné s F - AAS. (Velká spotřeba argonu).

3. Zmiňujete výhodu AAS ve srovnání s F-AES při stanovení snadno excitovatelných prvků. Můžete uvést o které prvky se jedná?

Při AAS s plamenovou atomizací je možné v porovnání s plamenovou fotometrií dosáhnout nižších hodnot mezi stanovitelnosti. Výjimkou však jsou snadno excitovatelné prvky (v našem případě Li, Rb, Cs, Sr), u kterých je tato metoda výhodnější.

4. Zmiňujete výhodu ETA-AAS z hlediska nízké meze stanovitelnosti. Má ale také nějaké nevýhody?

Je potřeba co nejefektivněji eliminovat vliv četných interferenčních vlivů (teplotní program, modifikátor matrice, korekce nespecifické absorpce pozadí). Dále vysoké pořizovací i provozní náklady a také časová náročnost stanovení.

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?

Meze detekce uvedené v tabulce jsou převzaty z literárního zdroje Skoog a kol. 2019. V rámci našich studií byly určovány meze stanovitelnosti, které jsou shrnuty v časopiseckých článcích (viz přílohy disertační práce). Meze stanovitelnosti byly určeny na základě 10 σ kritéria, zatímco meze detekce se ve spektrometrických metodách určují na základě 3 σ kritéria.

Metodická část

1. 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?

Kyselina dusičná byla zvolena z důvodu dodržení stejných experimentálních podmínek jako při rozkladu plodnic. Jsem si vědom, že tímto způsobem převedeme do roztoku i podíly stopových prvků, které nemusí být pro houby dostupné. Celkový obsah prvku nezískáme.

Experimentální část

1. Byla při hodnocení dat testována normalita rozdělení?

Nebyla. Jsem si vědom toho, že výsledky stopových analýz mohou někdy vykazovat lognormální rozdělení.

2. Byly stanoveny obsahy prvků v substrátu pro pěstování hlívy také v rámci těchto studií?

Obsah prvků (mg/kg sušiny) v substrátu hlívy ústřičné (*Pleurotus ostreatus*)

prvek	$\bar{x}$	s	$x_{\min} - x_{\max}$
Al	268	5,30	257 – 268
As	0,25	0,07	0,18 – 0,32
Ca	$20,4 \cdot 10^3$	$4,3 \cdot 10^3$	$(16,1 - 26,2) \cdot 10^3$
Cd	0,12	0,09	0,02 – 0,25
Co	<0,02	-	-
Cr	12,9	0,24	12,5 – 13,1
Cs	<0,14	-	-
Cu	<5,11	-	-
Fe	198	60,4	129 – 276
Li	0,93	0,08	0,83 – 1,02
Mg	$5,5 \cdot 10^3$	606	$(4,8 - 6,3) \cdot 10^3$
Mn	116	19,7	94,1 – 142
Ni	5,83	0,80	4,74 – 6,39
Pb	<0,05	-	-
Rb	6,11	1,09	4,84 – 7,50
Se	<0,12	-	-
Zn	4,06	0,64	3,78 – 4,94

Studie 3

Mohl byste, prosím, stručně připomenout význam těchto dvou prvků ve výživě člověka?

Zinek je součástí enzymů v lidském těle. Je potřebný pro tělesný růst a vývoj, nezbytný pro imunitní systém, neurologické funkce a reprodukci. Dále má zinek zásadní vliv na metabolismus živin.

Selen je důležitý pro prevenci nádorových onemocnění, je důležitý pro imunitní systém, omezuje riziko kardiovaskulárních onemocnění a neplodnosti.

1. Jaké množství selenizované hlívy byste doporučil pro denní dietu člověka tak, aby se zvýšil příjem tohoto prvku, ale nedošlo k překročení optimálního rozmezí?

Doporučená denní dávka pro ženu $55 \mu\text{g}/\text{den} = 0,055 \text{ mg}/\text{den}$

Doporučená denní dávka pro muže $70 \mu\text{g}/\text{den} = 0,070 \text{ mg}/\text{den}$

1 g suchého prášku vzorku 2 nebo vzorku 3 může poskytnout zhruba 0,06 mg

2. Existují ve vědecké literatuře informace o sloučeninách selenu v plodnicích hub?

Ano, existují. Často je hovořeno o selenoproteinech, selenomethioninu a selenocysteinu. Existuje i zmínka o amorfním selenu s nulovým nábojem, který může vznikat ze seleničitanu během růstové fáze hub (Falandysz 2008, Tsivileva a Perfilova 2017).

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

Při pěstování mohou houby převést přebytečný selen na těkavé sloučeniny. Existuje zmínka, že dokonce může vznikat selan (Xu a kol. 2021).

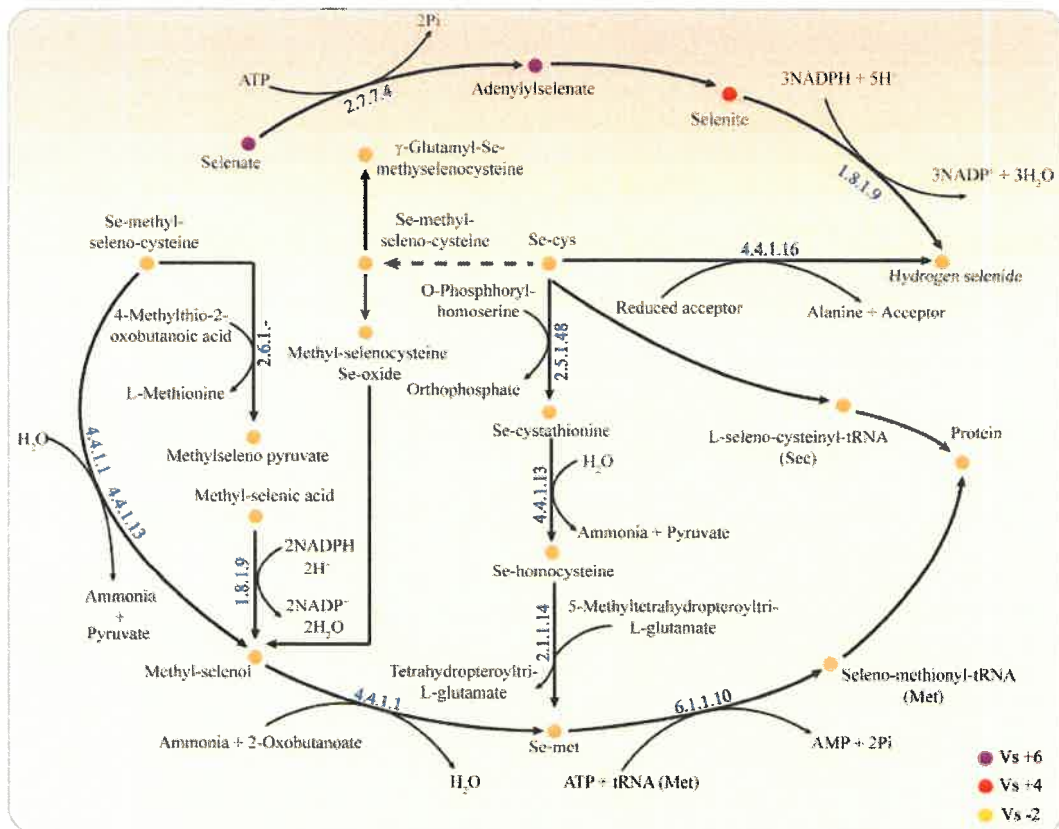
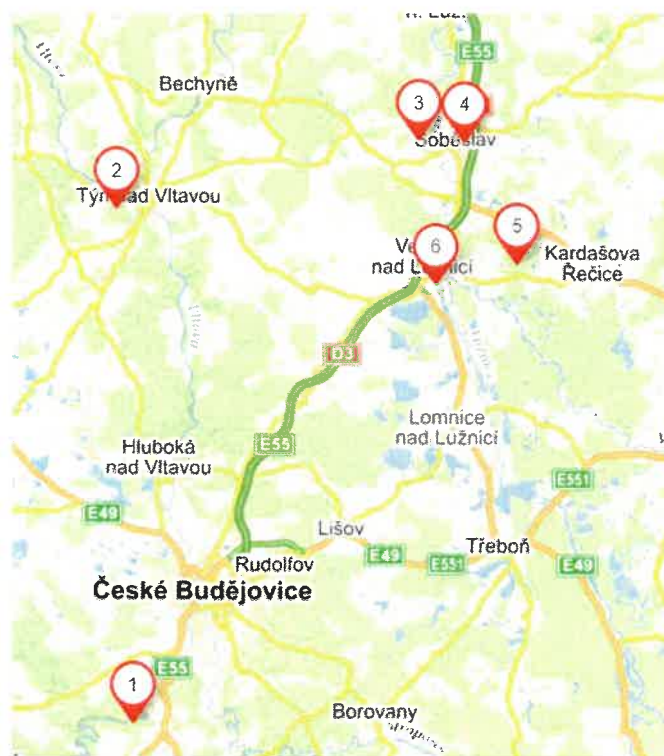


Fig. 2. Proposed selenium metabolism pathway in *Ganoderma lucidum* and the putative enzymes.

prof. Ing. Jan Tříška, CSc.

Lokality jsou sice popsány, ale jejich lokaci by bylo vhodné doplnit výsekem mapy pro lepší orientaci čtenářů.



- 1 *hřib žlučník, hnojník obecný*
- 2 *václavka smrková*
3. *bolcovitka ucho Jidášovo*
4. *hnojník obecný, penízovka sametonohá*
5. *hřib žlučník*
6. *hnojník obecný*

Plodnice hlívy byly pěstovány na slámě – jaká to byla sláma?

Jedná se o vlhkou pšeničnou slámu, která je naočkována od dodavatele.

Byly dvě formy Zn zvoleny náhodně, nebo na základě hypotézy (literárních údajů?), anebo čistě proto, že se v půdě vyskytuje ve větší míře dusičnanový anoin?

Formy Zn byly zvoleny dle literatury (dusičnan) a dle rozdílného charakteru sloučenin (organická – anorganická sloučenina).

Jak bylo zajištěno homogenní obohacení substrátu použitými solemi zinku, nebo selenu?

Roztok o objemu 50ml byl sprejován do dodaného substrátu a substrát byl důkladně promíchán.

Co bylo přesně záměrem rozšíření studie 2 o další tři zajímavé rizikové prvky?

V případě stříbra nebyla při první studii k dispozici výbojka s dutou katodou. V případě thalia a beryllia jsme očekávali nízké obsahy těchto prvků v jednotlivých plodnicích (často ležící pod mezí stanovitelnosti), což se následně pro Tl potvrdilo.

Tyto hodnoty (Rb) mě vedou k dotazu, zda autor nepátral po geochemii rubidia a zda se nesnažil zjistit něco o horninovém podloží v těchto lokalitách.

Prozatím jsem po geochemii rubidia nepátral.

Jaká je doporučená denní dávka selenu pro dospělou osobu?

Doporučená denní dávka pro ženu 55 µg/den = 0,055 mg/den

Doporučená denní dávka pro muže 70 µg/den = 0,070 mg/den

Neuvažoval také autor o zavedení metody stanovení antioxidační aktivity?

O zavedení metody stanovení antioxidační aktivity jsem prozatím neuvažoval.

Falandysz J. Selenium in edible mushrooms. J. Environ. Sci. Health., Part C. 2008; 26: 256 – 299.

Tsivileva O., Perfilova A. Selenium compounds biotransformed by mushrooms: Not only dietary sources, but also toxicity mediators. Current Nutrition and Food Science. 2017; 13: 1 – 15.

Xu M., Zhu S., Li Y., Xu S., Shi G., Ding Z. Effect of selenium on mushroom growth and metabolism: A review. Trends Food Sci. Technol. 2021; 118: 328 – 340.

Zápis z obhajoby disertační práce Mgr. Jana Vondrušky, konané 21.09.2022 v 10:30h

Zahájení – přivítání členů komise, oponentů, školitele, uchazeče a hostů doc. Kubcem a prof. Šafaříkem (předseda) a konstatování, že uchazeč splnil podmínky podle statutu FZT JU.

Školitel (doc. Šíma) přečetl životopis uchazeče, seznámil přítomné s jeho publikační činností, přečetl posudek školitele a doporučil práci k přijetí.

Prof. Křížek přečetl své stanovisko vedoucího pracoviště.

Uchazeč přednesl během 20 minut prezentaci ke své disertační práci.

Ze tří oponentů byla prof. Száková přítomna prezenčně, doc. Gabriel online prostřednictvím videokonferenčního hovoru a prof. Tříška se omluvil a nebyl přítomen.

Oponenti přečetli své oponentské posudky, vznesli dotazy, uchazeč je postupně detailně zodpověděl. Všichni oponenti byli s odpověďmi spokojeni, za nepřítomného prof. Tříšku zhodnotili odpovědi uchazeče všichni členové komise.

Zahájení vědecké diskuze, během které byly na uchazeče vzneseny dotazy, na které následně reagoval:

doc. Dadáková: Proč jste sušil vzorky za pokojové teploty? Sušina je většinou definována při sušení vzorku za teploty 105°C. Nemohl mít zbytkový obsah vody ve vzorcích vliv na výsledky?

- Původně jsme měli v plánu stanovovat i rtuť a ta by ze vzorku při vysoké teplotě vytékala.

doc. Samková: Jaké léčivé účinky má hřib žlučník, když se nedá jíst?

- Je protizánětlivý, požívá se někdy jako nápoj z prášku z pomleté houby a vody, je to pak hořké podobně jako tonic.

doc. Samková: Výběr lokality hraje jistě velkou roli. Když jste sbíral třeba hnojník na třech místech, bylo by zajímavé porovnat výsledky z jednotlivých lokalit mezi sebou.

- To nebylo součástí mé práce, ale do budoucna by to určitě šlo.

doc. Samková: Proč jsou v různých druzích hub tak rozdílné akumulace prvků?

- Záleží hlavně na strategii hub, zda jsou mykorrhizní, saprotrófní apod. U jednotlivých prvků bychom to pak musel zvlášť vyzkoušet.

doc. Samková: Nezmínil jste během své prezentace žádné propojení na grant, měl jste na výzkum nějaký?

- Neměl.

doc. Pexová Kalinová: Hlíva moc prvků neakumulovala, není to ale tím, že byla pěstována uměle? Jaký je obsah prvků v plodnicích rostoucích volně v přírodě?

- V literatuře to bohužel není, data jsou hlavně z uměle pěstovaných a obohacovaných hlív.

prof. Šafařík: Je rozdíl mezi různými druhy slámy pro pěstování hlívy?

- Většinou se používá pšeničná nebo rýžová sláma, porovnáním se v literatuře nezabývali.

prof. Šafařík: Je rozdíl mezi obsahem prvků v třeni a v klobouku?

- Tam může být rozdíl, my jsme to ale nestanovovali zvlášť, protože plodnice se konzumují celé.

prof. Šafařík: Nesledovali jste také radioaktivní cesium?

- Nesledovali, to nebylo součástí práce.

prof. Šafařík: Rozumím tomu dobře, že hlíva během kultivace mění svou morfologii?

- Ano, jsou tam rozdíly v rozevření klobouků a v jejich celkové velikosti.

doc. Kubec: Jak funguje to sprejování substrátu? Byla zajištěna homogenita? Nemohlo to rozbití substrátu mít vliv na velikost plodnic?

- Substrát jsme rozemleli šetrně, posprejovali roztoky a pak znovu namačkali do fólie.

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

Po neveřejné poradě následovalo tajné hlasování komise, přičemž doc. Gabriel hlasoval online prostřednictvím software. Z celkového počtu 8 přítomných členů hlasovalo 8 PRO. Komise tak jednomyslně konstatovala, že uchazeč práci obhájil a získává tak titul Ph.D.