

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra zahradnictví



**Česká zemědělská
univerzita v Praze**

**Příjem selenu a zinku hlívou ústříčnou (*Pleurotus
ostreatus*) kultivovanou na různých substrátech s cílem
využití plodnic hub jako doplňků stravy**

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Anna Panina

Obor studia: Výživa a potraviny

Vedoucí práce: Ing. Ivan Jablonský, CSc.

© 2021 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Příjem selenu a zinku hlívou ústřičnou (*Pleurotus ostreatus*) kultivovanou na různých substrátech s cílem využití plodnic hub jako doplňků stravy" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 26.4.2021

Poděkování

Ráda bych poděkovala vedoucímu mé diplomové práce panu Ing. Ivanu Jablonskému, CSc. za odborné vedení práce, rady, připomínky a poskytnutí pramenů, které byly nezbytné pro vznik této práce. Chtěla bych také poděkovat Ing. Lukášovi Prausovi, PhD. za analýzu vzorků plodnic pomocí ICP-MS. Dále bych ráda poděkovala doc. Ing. Martinu Koudelovi, Ph.D. za konzultaci, cenné rady a konstruktivní kritiku.

Příjem selenu a zinku hlívou ústříčnou (*Pleurotus ostreatus*) kultivovanou na různých substrátech s cílem využití plodnic hub jako doplňků stravy

Souhrn

Selen a zinek patří mezi stopové prvky mající nezastupitelnou roli v metabolismu lidského organismu. Je proto žádoucí zajištění jejich pravidelného příjmu. Jedním ze způsobů, jak přirozeně tyto mikroprvky tělu dodávat je příjem ze stravy. *Pleurotus ostreatus* je pěstovaná jedlá houba, která má vysoké kulinářské, dietetické a léčivé vlastnosti. Podhoubí *P. ostreatus* se vyznačuje schopností účinné absorpce mikroprvků z růstového substrátu. V předložené práci byla zkoumána schopnost hlívy ústříčné, pěstované na různých substrátech, akumulovat ve svých plodnicích selen a zinek. Současně byl srovnán obsah Se a Zn v kloboucích a třeních hub. Rovněž byl stanoven vliv použitých substrátů a přídavku selenu v koncentraci 1 a 6 mg/kg na růst mycelia *P. ostreatus*. Kromě toho byl zkoumán příjem selenu 5. různými druhy hlívy, za účelem stanovení kmene s největším akumulacním potenciálem. Cílem této práce je možné využití obohacené hlívy ústříčné o selen a zinek jako doplněk stravy poskytující této stopové prvky. Pro zvýšení obsahu Se a Zn v plodnicích hlívy byly substráty obohaceny seleničitanem sodným v koncentraci 2, 6 a 18 mg/kg a síranem zinečnatým v koncentraci 10, 20 a 40 mg/kg. Obsah jednotlivých prvků ve vzorcích plodnic byl stanoven pomocí hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS, Inductively coupled plasma mass spectrometry) po předběžné mineralizaci vzorků v mikrovlnném rozkladném systému.

V rámci experimentu bylo zjištěno, že obohacování substrátu zinkem mělo zanedbatelný účinek, obsah zinku v plodnicích *P. ostreatus* byl jen mírně zvýšen. Výsledky pokusu s obohacováním selenem statisticky prokázaly schopnost *P. ostreatus* akumulovat tento stopový prvek z různých substrátů. Náš pokus potvrdil účinek přidání Se k substrátu na jeho obsah v plodnicích. Bylo také stanoveno, že obsah Se a Zn v kloboucích hub je průkazně vyšší než v třeních. Výsledky ukázaly, že rychlost růstu mycelia *P. ostreatus* byla významně ovlivněna složením substrátu a použité koncentraci solí Se. Bylo stanoveno, že mycelium hlívy prorůstá pomaleji substrátem s přídavkem vyšší koncentraci Se. Bylo také zjištěno, že mycelium hlívy ústříčné prorůstá rychleji substrátem z *Miscanthus* a pšeničných otrub než stejný substrát s přídavkem listnatých pilin. Současně bylo zjištěno, že plodnice z pilinového substrátu naakumulovaly mnohem více selenu, což může způsobovat pomalejší růst mycelia na tomto substrátu. Při porovnání příjmu Se různými kmeny hlívy bylo zjištěno, že nejvyšší obsah selenu měl kmen HK35, a to jak v kloboucích, tak v třeních. K prokázání průkaznosti je zapotřebí další výzkumy.

Příprava doplňků stravy byla provedena v společnosti Terezia Company. Na základě získaných výsledků bylo vyhodnoceno, že pro výrobu doplňků stravy je vhodná koncentrace seleničitanu sodného v substrátu 18 mg/kg. Podařilo se připravit doplňky stravy v kapslích o hmotnosti 300 mg a obsahem Se 20,7 µg, což odpovídá 37 % z denní referenční hodnoty příjmu Se pro dospělé (55 µg).

Klíčová slova: selen, zinek, hlíva ústříčná, substrát, mycelium, obohacování, doplňky stravy

Intake of selenium and zinc by oyster mushrooms (*Pleurotus ostreatus*) cultivated on various substrates in order to use fungal fruiting bodies as food supplements

Summary

Selenium and zinc are among the trace elements having an irreplaceable role in the metabolism of the human body. It is therefore desirable to ensure their regular intake. One way to naturally supply these microelements to the body is through dietary intake. *Pleurotus ostreatus* is a cultivated edible fungus that has high culinary, dietary and medicinal properties. The fungus *P. ostreatus* is characterized by the ability to efficiently absorb microelements from the growth substrate. In the present work, the ability of oyster mushrooms, grown on various substrates, to accumulate selenium and zinc in their fruiting bodies was investigated. At the same time, the content of Se and Zn in hats and mushroom friction was compared. The effect of the substrates used and the addition of selenium at concentrations of 1 and 6 mg/kg on the growth of *P. ostreatus* mycelia was also determined. In addition, selenium uptake by 5 different species of oyster was examined to determine the strain with the greatest accumulation potential. The aim of this work is the possible use of oyster mushrooms enriched with selenium and zinc as a dietary supplement providing this trace element. To increase the Se and Zn content in oyster plants, the substrates were enriched with sodium selenite at a concentration of 2, 6 and 18 mg/kg and zinc sulfate at a concentration of 10, 20 and 40 mg/kg. The content of individual elements in the samples of fruiting bodies was determined by Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) after preliminary mineralization of the samples in a microwave digestion system.

In the experiment it was found that the enrichment of the substrate with zinc had a negligible effect, the content of zinc in the fruiting bodies of *P. ostreatus* was only slightly increased. The results of the selenium enrichment experiment statistically demonstrated the ability of *P. ostreatus* to accumulate this trace element from various substrates. Our experiment confirmed the effect of adding Se to the substrate on its content in fruiting bodies. It was also determined that the content of Se and Zn in mushroom hats is significantly higher than in friction. The results showed that the growth rate of *P. ostreatus* mycelia was significantly affected by the composition of the substrate and the concentration of Se salts used. It was determined that the fungal mycelium grows more slowly through the substrate with the addition of a higher concentration of Se. It has also been found that the oyster mushroom mycelium grows faster through a substrate from Miscanthus and wheat bran than the same substrate with the addition of deciduous sawdust. At the same time, it has been found that fruiting bodies from sawdust substrate have accumulated much more selenium, which can cause slower mycelial growth on this substrate. When comparing the intake with different strains of oyster mushrooms, it was found that the HK35 strain had the highest selenium content, both in hats and in frictions. Further research is needed to demonstrate evidence.

The preparation of food supplements was performed by Terezia Company. Based on the obtained results, it was evaluated that the concentration of sodium selenite in the substrate of

18 mg/kg is suitable for the production of food supplements. Dietary supplements were prepared in capsules weighing 300 mg and containing Se 20.7 μg , which corresponds to 37% of the daily reference value of Se intake for adults (55 μg).

Key words: selenium, zinc, oyster mushroom, substrate, mycelium, enrichment, food supplements

Obsah

1 Úvod	9
2 Vědecká hypotéza a cíle práce.....	10
3 Literární rešerše.....	11
3.1 Všeobecná charakteristika hub.....	11
3.2 Hlíva ústříčná (<i>Pleurotus ostreatus</i>)	11
3.2.1 Popis houby a výskyt.....	11
3.2.2 Historie pěstování	12
3.2.3 Metody pěstování	12
3.2.3.1 Pěstební jednotky.....	13
3.2.3.2 Substráty pro pěstování	13
3.2.3.3 Sadba, sázení a prorůstání substrátu	13
3.2.3.4 Iniciace tvorby plodnic a sklizeň	14
3.3 Látkové složení hub.....	14
3.3.1 Obsahové látky hlívy ústříčné a jejich léčivé účinky.....	16
3.4 Selen.....	18
3.4.1 Zdroje selenu.....	18
3.4.2 Metabolismus selenu	20
3.4.3 Funkce selenu	21
3.4.3.1 Selen a štítná žláza	21
3.4.3.2 Vliv na antikarcinogenní účinky.....	22
3.4.3.3 Selen a kardiovaskulární onemocnění.....	22
3.4.3.4 Selen a virová onemocnění.....	23
3.4.4 Toxicita selenu	23
3.4.5 Projevy deficitu	24
3.4.6 Výživová doporučení pro příjem selenu	24
3.5 Zinek.....	25
3.5.1 Zdroje zinku	25
3.5.2 Metabolismus zinku	26
3.5.3 Funkce zinku.....	27
3.5.3.1 Imunitní systém.....	27
3.5.3.2 Zinek a oxidační stres.....	28
3.5.3.3 Zinek a apoptóza	28
3.5.3.4 Zinek a kardiovaskulární onemocnění	28
3.5.4 Toxicita zinku	29

3.5.5	Projevy deficitu	29
3.5.6	Výživová doporučení pro příjem zinku	30
3.6	Transport prvků v houbách	30
3.7	Pokusy s fortifikací houbových substrátů.....	31
3.8	Doplňky stravy.....	36
4	Metodika.....	37
4.1	Příprava a obohacování substrátů hlívy ústříčné (<i>Pleurotus ostreatus</i>) různými koncentracemi Se a Zn.....	37
4.1.1	Harmonogram pokusů	37
4.1.2	Pokus č. 1 - Ověření přídavku vody s 3. různými koncentracemi seleničitanu sodného do slaměných pelet a zjištění jeho příjmu do plodnic hlívy	37
4.1.3	Pokus č. 2 – Ověření přídavku vody s různými koncentracemi síranu zinečnatého do slaměných pelet a zjištění jeho příjmu do plodnic <i>Pleurotus ostreatus</i>	38
4.1.4	Pokus č. 3 – Vliv jedné koncentrace Se na různé kmeny hlívy	38
4.1.5	Pokus č. 4 – Hlíva na různých substrátech	39
4.2	Analýza vzorků plodnic hlívy.....	40
4.2.1	Měření obsahu Se a Zn v plodnicích technikou ICP-MS	40
4.3	Statistické vyhodnocování výsledků.....	41
5	Výsledky	42
5.1	Vliv složení substrátu a přídavku seleničitanu sodného na růst mycelia <i>Pleurotus ostreatus</i>.....	42
5.2	Stanovení obsahu Se a Zn v plodnicích hub <i>Pleurotus ostreatus</i>.....	43
5.2.1	Stanovení obsahu selenu v plodnicích hlívy pěstované na různých substrátech	43
5.2.2	Stanovení obsahu selenu v plodnicích hlívy při různých koncentracích seleničitanu sodného v substrátu	44
5.2.3	Stanovení obsahu zinku v plodnicích hlívy při různých koncentracích síranu zinečnatého v substrátu	45
5.2.4	Stanovení obsahu selenu v plodnicích různých kmenů hlívy	47
5.3	Příprava doplňků stravy z plodnic <i>Pleurotus ostreatus</i>	48
6	Diskuze	49
7	Závěr.....	53
8	Literatura	54
9	Seznam zkratk a symbolů použitých v práci.....	59
10	Samostatné přílohy	I

1 Úvod

V dnešní době přibývá stále více lidí trpících civilizačními chorobami. Důvodem je nedostatečný pohyb, stres, a především nesprávné dodržování zásad racionální stravy. Zdravá výživa je předpokladem pro správný růst a vývoj člověka. Aby organismus mohl správně fungovat, je zapotřebí dostatek vitaminů a minerálů, včetně stopových prvků, jako je selen a zinek, které plní v lidském těle mnoho důležitých funkcí.

Selen hraje významnou roli v metabolismu, funkci štítné žlázy a chrání buňky před oxidačním poškozením. Tento prvek také důležitý pro posílení imunitního systému, zlepšení funkce mozku a snížení rizika kardiovaskulárních onemocnění. Zinek je koenzym řady enzymů. Má roli v metabolismu nukleových kyselin, proteinů, sacharidů, lipidů a sekundárních metabolitů, což ovlivňuje dělení, růst a regeneraci buněk. Deficit Se a Zn vede ke snížení antioxidační kapacity, zhoršení imunitní odezvy, zvýšení rizika kardiovaskulárních onemocnění a také doprovází mnoho chronických onemocnění.

Houby, včetně *Pleurotus* spp., mají schopnost absorbovat, akumulovat a transformovat anorganické sloučeniny stopových prvků na organické. Fortifikace nám umožňuje získat surovinu se známým obsahem potřebných chemických sloučenin, zaměřenou na využití v potravinářském, farmaceutickém, veterinárním nebo kosmetologickém průmyslu. Produkci obohacených hub se dá uvažovat o možnosti využití jejich plodnic jako doplňků stravy k pokrytí nedostatku důležitých mikroprvků v běžné stravě naší populace.

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Hypotéza: Příjem selenu a zinku myceliem hlívy ústříčné je ovlivněn složením substrátu. Koncentrace solí zinku a selenu ovlivňuje termín nasazení a výnos plodnic.

Cílem práce je ověřit optimální koncentrace solí, jejich vliv na výnos a na jejich optimální obsah v plodnicích. Bude sledován také příjem selenu a zinku myceliem hlívy ze substrátů o různém složení. Současně bude sledována příprava doplňků stravy z takto obohacených hub u vybrané společnosti.

3 Literární rešerše

3.1 Všeobecná charakteristika hub

Houby (latinsky *Fungi*) představují velkou skupinu živých organismů, původně byly řazeny mezi rostliny, ale nyní jsou považovány za samostatnou říši. V současné době jsou uvažovány dvě části: houby a houbám příbuzné organismy (Jablonský et al. 2019).

Houby jsou eukaryotické (mají pravá buněčná jádra) heterotrofní (živí se organickými látkami) organismy. Tělo hub (nazývané stélka) má jednoduchou stavbu, je složeno z vláken (hyf), která jsou rozvětvená a propletená, a tvoří tak podhoubí (mycelium) (Antonín et al. 2013).

Rozmnožují se houby buď vegetativně (rozpadem vlákna mycelia), nepohlavně (tvorba spor) nebo pohlavně (sexuální rozmnožování). Věda, která se zabývá houbami se nazývá mykologie a vědec, jenž je zkoumá je mykolog (Jablonský et al. 2019).

3.2 Hlíva ústříčná (*Pleurotus ostreatus*)

3.2.1 Popis houby a výskyt

Hlíva se pěstuje ve všech klimatických pásmech naší planety a k tomu slouží chladnomilné, teplomilné i tropické druhy. Nejvíce pěstované hlívy jsou kříženci vycházející z hlívy ústříčné [*Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) P. Kumm] (Obrázek 1) s některým z teplomilných kmenů či druhů. Původní hlíva ústříčná je rozšířena v mírném klimatickém pásu (Jablonský et al. 2019).



Obrázek č. 1. Hlíva ústříčná – pěstované plodnice (Antonín et al. 2013)

Hlíva ústříčná vytváří plodnice většinou na podzim a v zimě, někdy na jaře, a plodnice vyrůstají střežovitě nad sebou. Klobouk o průměru 50-150 mm, někdy až 350 mm, je masitý, v mládí na okrajích úzce podvinutý, později rozložený, šedé až hnědé barvy, někdy

modročerné, na povrchu je hladký a suchý. Dužina je poměrně tlustá, bělavá, příjemné vůně a chuti. Lupeny jsou bělavé, dosti řídké, celokrajné, sbíhající na třeň. Třeň je dlouhý 15-50 mm, tlustý 18-20 mm, obvykle silně excentrický až postranní, hladký nebo podélně rýhovaný, tuhý, bělavý (Jablonský & Šašek 2006).

3.2.2 Historie pěstování

Již před staletími lidé používali substrát k přenosu hub blíže k jejich domovům. Substrát si ukládali na vlhkém místě, a tam sklízeli plodnice několik let. Podle Dudky et al. (1978) se hlíva ústříčná pěstuje od počátku 20. století. Během první světové války se za účelem získání dalšího potravinového produktu byl *P. ostreatus* intenzivně pěstován. Pařezy byly očkovány myceliem a houby byly sklizeny, dokud nebyl pařez zničen. Po skončení války zájem o tuto houbu poklesl a začali ji pěstovat jen v malém množství. Teprve v 60. letech, se začátkem průmyslového pěstování *P. ostreatus* v Maďarsku a Československu, znovu vzrostla poptávka po této houbě. Maďarští vědci Véssey a Tóth (1968) dokázali, že *P. ostreatus* může být pěstován na oslabených stromech infikováním kmenů stromů myceliem; pro zdravé stromy rostoucí v okolí nepředstavuje nebezpečí. Tato houba roste nejlépe na topolu a habru.

Počátkem 70. let začali hlívu pěstovat i v Itálii, a to na pšeničné slámě a kukuřičných vřetenech. Používali zapařovací tunely určené pro přípravu žampionového substrátu. Od té doby se pěstování hlívy ústříčné rozšířilo do četných sezónních staveb, jako jsou drůbežárny, kravíny, fóliovníky a další hospodářské budovy (Jablonský et al. 2019).

V 80. letech v řadě zemí jihovýchodní Asie i v Africe se rozšířilo pěstování tropických druhů hlív na různých rostlinných odpadech. V současnosti hlavním světovým producentem hlív je Čína. V Evropě jsou největšími producenty Španělsko, Itálie, Francie, Maďarsko a Polsko (Jablonský & Šašek 2006).

Pěstováním hlívy v Československu se na přelomu let 1964/1965 zabývala RNDr. Anastázia Ginterová, která vyvinula technologický postup výroby sadby a pěstování. Koncem 60. let byla v České republice v JZD Liptál u Vsetína založena první velkoplantáž špalků naočkovaných myceliem hlívy. Později zde také došlo k prvnímu pěstování hlívy na slámě a kukuřičných vřetenech (Jablonský et al. 2019).

V roce 1975 použil poprvé pan Ing. Rudolf Rýzner v pěstírně hlív JZD Sokolovo Bohdalice v Kojátkách metodu plodících stěn ve velkých paletách. V 80. letech pak byl zahájen provoz v dalších podnicích, kde se substrát ze slámy tepelně ošetřoval v tunelu a osázený plnil do pytlů. V dnešní době díky novému výzkumu ohledně léčivých účinků této houby se poptávka po hlívě zvyšuje a stejně každoročně stoupá i produkce hlívy (Jablonský et al. 2019).

3.2.3 Metody pěstování

Efektivní způsoby pěstování hlívy – pěstování na různých organických odpadech, jako je sláma, kukuřičná vřetena, hrachovina, pazdeří, vojtěškové seno nebo papír. Tyto suroviny jsou charakterizovány jako lignocelulózové odpady, tedy látky obsahující lignin, celulózu a hemicelulózu. Je důležité, aby tyto netradiční materiály pro pěstování hlívy byly předem tepelně ošetřeny – pasterizovány, případně sterilizovány. K rozkladu lignocelulózových odpadů využívá hlíva systém příslušných enzymů, především lakázu, peroxidázu a celulózu (Jablonský et al. 2019).

3.2.3.1 Pěstební jednotky

Substrát se v evropských zemích plní do různých pěstebních jednotek, jako jsou polyetylenové pytle, slisované bloky zabalené do samosmršťující fólie, pěstební palety ve tvaru válců či plodících stěn. Hlíva vyžaduje k optimálnímu vývoji plodnic intenzivní výměnu vzduchu, a proto je důležitý poměr substrátu na metr čtvereční, nebo na objem místnosti. Bylo zjištěno, že se zvětšujícím se množstvím substrátu na jednotku podlahové plochy klesá jakost i výnos plodnic. Nejlepší podmínky pro rozvoj plodnic jsou při počtu čtyř pytlů na 1 m² podlahové plochy, tedy zhruba 80–100 kg na 1 m² (Jablonský et al. 2019).

V Evropě se používají dva způsoby pěstování, a to v PE pytlích, případně fóliových válcích a blocích. Do pytlů z polyetylenové fólie se dávkuje 15-20 kg osázeného substrátu. Každá výrobní substrátu je vybavena strojem na jeho plnění do pytlů – pytlovačkou, do které se zavěšují prázdné pytle a odnímají naplněné. Pytle se stavějí na podlahu do jedné vrstvy, případně do plodících stěn, do sloupců po 3–4 na sebe, do výšky 120-150 cm. Dále se pak s pytlí manipuluje ručně. Od tohoto způsobu pěstování se ale ustupuje, protože ve většině evropských zemí převládá systém pěstování v lisovaných blocích, kdy je výroba substrátu částečně automatizovaná (Jablonský et al. 2019).

3.2.3.2 Substráty pro pěstování

Hlavními surovinami pro přípravu substrátu jsou sláma obilnin, kukuřice nebo kukuřičná vřetena, případně piliny. V ČR je nejnadhěji dostupná sláma ozimé pšenice nebo žita. Použití samotné ječné slámy se nedoporučuje, protože se velmi rychle rozkládá, rychle nasává vodu a vzniklý substrát ztrácí strukturu. Přídavek menšího podílu ječné slámy k pšeničné slámě je však prospěšné, protože urychluje kolonizaci substrátu myceliem a plodnice se objevují o 5–7 dnů dříve než jen na samotné pšeničné slámě. Osvědčil se i přídavek hrachoviny nebo řepkové slámy, pokud nejsou ošetřeny pesticidy. Kromě vápenného přídavku není potřeba k slámě dodávat další minerální látky, k výživě kultury hlívy zcela postačuje obsah dusíku obsažený ve slámě (0,57–0,71 %) (Jablonský et al. 2019).

Studie provedené v Polsku porovnávala efekt růstu mycelia hlívy ústřičné na substrátech z pilin listnatých stromů, pšeničné a žitné slámy a vedlejších produktů z textilního průmyslu: lněného a konopného pazdeří. Výnos hlívy ústřičné závisel na typu použitého substrátu. Substráty připravené z pšeničné a žitné slámy a lněného pazdeří se ukázaly jako nejlepší pro růst mycelia testovaných kmenů *P. ostreatus*. Vyšší výnosy byly zaznamenány na substrátech z lněného pazdeří a směsi pšeničné slámy a konopného pazdeří než na substrátech založených pouze na pšeničné slámě (Sobieralski et al. 2011).

3.2.3.3 Sadba, sázení a prorůstání substrátu

Pro intenzivní pěstování hlívy se používá zrnitá sadba narostlá na zrnech žita, pšenice nebo nejčastěji prosa. Použitá sadba musí být čerstvá a hotová sadba se smí skladovat maximálně 4–6 týdnů při 2–4 °C. Při pokojové teplotě vydrží sadba mnohem kratší dobu. Stárnutím sadba ztrácí aktivitu, která je důležitá pro rychlou kolonizaci substrátu (Jablonský et al. 2019).

Důležité je množství sadby. Čím vyšší je podíl sadby, tím více se zvyšuje aktivita substrátu a hrozí jeho přehřátí. Jablonský et al. (2019) uvádějí, že obvykle stačí dávka sadby o 1,5-3 % hmotnosti hotového substrátu. Při sázení se sadba musí rovnoměrně promíchat se substrátem.

Velké podniky v poslední době balí substráty do neprůhledné fólie. Substrát je ve fólii zabalený trvale, aby se ochránila kultura před vysycháním a byla zajištěna zvýšená koncentrace oxidu uhličitého v substrátu. Fólie zároveň chrání povrch substrátu před infekcí tzv. zelenými houbami a napadením hmyzem. Při plnění pytlů či bloků je třeba počítat s tím, že je nutné fólii perforovat. Fólie se perforuje buď předem, nebo po naplnění jednotek (Jablonský & Šašek 2006).

Optimálně mycelium prorůstá substrátem po dobu 14–17 dnů při teplotě 24-28 °C. Teplota vzduchu během inkubace v pěstírně má být o několik stupňů nižší (18–20 °C), čímž se udržuje teplota substrátu v potřebném rozmezí. Teplota substrátu nesmí nikdy překročit 30 °C (Zervakis et al. 2001).

3.2.3.4 Iniciace tvorby plodnic a sklizeň

Všechny činitele prostředí, jako jsou intenzita osvětlení, kvalita spektra, teplota, koncentrace CO₂, a relativní vlhkost, musí být během nasazování a tvorby plodnic v souladu. Během nasazování plodnic je třeba nastavit optimální intenzitu osvětlení. Osvětlovací tělesa mají být zavěšena nejméně 90-100 cm nad substrátem (Jablonský et al. 2019).

Hlíva bývá v některých vývojových obdobích plodnic značně citlivá na zvýšenou koncentraci CO₂. V období sklizně nemá být koncentrace vyšší než 800 ppm, protože při koncentraci 1500–1800 ppm se nasazují deformované zárodky plodnic, které se dále nevyvíjejí. Intenzita výměny vzduchu závisí na množství substrátu v kóji, vývojové fázi a teplotě. Kvalitu plodnic ovlivňuje i rychlost proudění vzduchu. Čím vyšší je vlhkost vzduchu, tím větší rychlost proudění vzduchu si může pěstitel dovolit. Při vlhkosti vzduchu 85 % by rychlost proudění vzduchu na povrchu plodnic neměla přesáhnout 6-8 cm za sekundu (Jablonský et al. 2019).

Plodnice se vytvářejí v trsech uspořádaných taškovitě nad sebou. Velikost trsů plodnic závisí na počtu otvorů v bloku. Při větším počtu otvorů je velikost trsů menší a naopak. Plodnice se objevují ve vlnách, které nejsou vždy časově striktně odděleny. První sklizňová vlna se sbírá po 12 dnech od nasazení plodnic. Sklízí se najednou celé trsy, kdy většina plodnic má mírně podvinutý okraj klobouku (Jablonský & Šašek 2006).

3.3 Látkové složení hub

Houby jsou využívány jako potravina již odpradáva. Jsou nejenom nutričně hodnotnou potravinou, ale díky obsahu biologicky aktivních látek s příznivým účinkem na lidské zdraví jsou některé druhy hub využívány jako léčivé.

Houby mají vysoký obsah vody, proto jsou relativně krátkodobě skladovatelné a rychle podléhají rozkladným procesům. Voda v plodnicích ovlivňuje nejen fyziologické funkce, ale také jejich senzorycké vlastnosti. V čerstvých houbách je v závislosti na druhu obsaženo 70 až 95 % vody, u většiny druhů se však tato hodnota pohybuje v rozmezí 86–94 % hmotnosti plodnic (Jablonský et al. 2019).

Sušinu hub tvoří dusíkaté látky (hrubá vláknina), lipidy, popeloviny (minerální látky), sacharidy (glukóza, alkoholické cukry, glykogen, chitin, glukany aj.). Poslední dva jmenované polysacharidy jsou součástí vlákninového komplexu a lidský organismus je nestráví. Obsah vlákniny je rozdílný mezi různými druhy hub, v třeni a klobouku je obsaženo odlišné množství vlákniny (Jablonský et al. 2019).

Obsah bílkovin v sušině plodnic hub se pohybuje od 4 do 25 % a závisí na druhu pěstované houby, na složení pěstebního substrátu, podmínkách růstu a termínu sklizně. Tyto bílkoviny obsahují vysoký podíl esenciálních aminokyselin. Protože při hodnocení jednotlivých složek potravy hraje důležitou roli tzv. výživová hodnota založená právě na obsahu esenciálních aminokyselin, jsou houby považovány za podstatně výživnější než zelenina (Antonín et al. 2013).

V houbách se vyskytují všechny tři typy sacharidů. Monosacharidy a oligosacharidy jsou v houbách ve velmi malém množství a z hlediska výživové hodnoty jsou zanedbatelné. Polysacharidy vytvářejí ve vazbě na proteiny či lipidy glykoproteiny, glykolipidy, lipopolysacharidy a jiné látky. Houbám slouží jednak jako zásobní látky (glykogen, inulin), jednak jako materiál stavební (chitin a glukany). Poslední jmenované jsou dieteticky důležité pro člověka jako vláknina a β -glukany svým léčebným potenciálem (Antonín et al. 2013). Vlastnosti glukánů závisí na struktuře, teplotě, vazbě na další látky (bílkoviny, chitin) aj. Jablonský et al. (2019) uvádějí, že β -glukany mají imunomodulační účinky na lidský organismus, neboť významně posilují jeho obranyschopnost, mají antivirotické a antibakteriální účinky, snižují rovněž hladinu cholesterolu v krvi a krevní tlak.

V porovnání s bílkovinami a cukry jsou lipidy v houbách zastoupeny v malém množství (viz Tabulka 1). Jsou složeny převážně z glycerolu a nenasycených nebo nasycených mastných kyselin. Nejhojnějšími vyššími mastnými kyselinami jsou známé kyseliny palmitová, stearová a olejová. Mají vysokou energetickou hodnotu a slouží jako zásoba energie (Jablonský et al. 2019).

Tabulka č. 1. Obsahové látky v sušině hub (Jablonský et al. 2019)

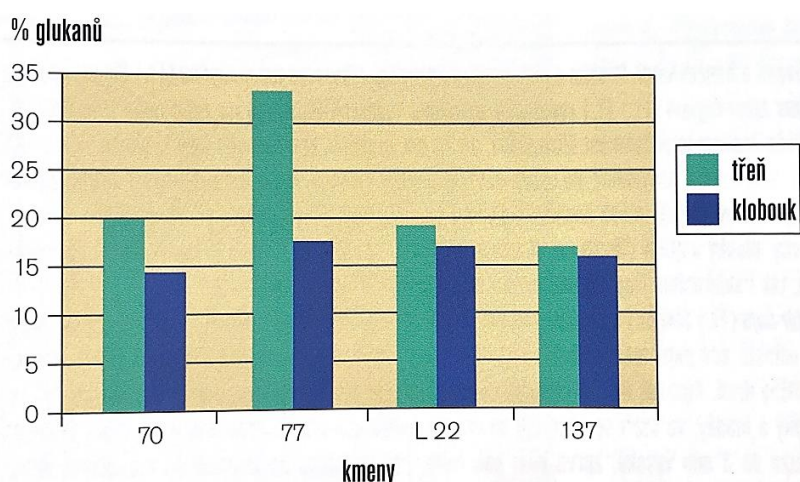
Houba	Energetická hodnota (kcal/kg)	Polysacharidy (%)	Bílkoviny (%)	Lipidy (%)	Popel (%)
Žampion dvouvýtrusý	325	74,0	14,1	2,2	9,7
Houževnatec jedlý	772	87,1	4,5	1,73	6,7
Hlíva ústříčná	416	85,9	7,0	1,4	5,7
Hlíva máčková	421	81,4	11,0	1,5	6,2

Popel tvoří v průměru 8 % sušiny hub. Nejvíce je zastoupen draslík (3 000 mg/100 g sušiny), dále fosfor (500-1000 mg), síra (200 mg), hořčík (80-180 mg) a malé množství tvoří sodík a vápník (přibližně 30 mg) (Antonín et al. 2013).

Údaje o množství vitaminů v houbách jsou často nadsazené. V případě vitamínu C (askorbové kyseliny), B2 (riboflavinu), PP (niacinu) jsou řádově v miligramech na 100 g čerstvé hmotnosti hub, u dalších vitaminů skupiny B a vitamínu D to jsou pouze desítky mikrogramů na 100 g čerstvých hub. Ve srovnání s těmito čísly je množství ergosterolu (provitamínu D) ohromné – okolo 60 mg na 100 g čerstvých hub (Antonín et al. 2013).

3.3.1 Obsahové látky hlívy ústříčné a jejich léčivé účinky

I když hlíva patří k nejznámějším pěstovaným houbám, přesto není veřejnost dostatečně informována o jejích léčivých vlastnostech. Analýzy prokázaly vysoký obsah léčivých látek v plodnicích. Z hlív byla izolována a identifikována řada polysacharidů (β -glukany, α -glukan a glykoproteiny). Obsah glukánů v třeních je vyšší než v kloboucích plodnic, což je znázorněno na Obrázku 2.



Obrázek č. 2. Obsah glukánů (v %) v kloboucích a třeních vybraných kmenů hlívy (Antonín et al. 2013)

Hlíva obsahuje specifický β -D-glukan – pleuran. Tento glukan se podílí na zvýšení imunity lidského organismu. Další zajímavou skupinou aktivních látek jsou terpeny s antitrombotickou a protirakovinnou aktivitou, které houba syntetizuje (viz Tabulka 2). Jedním z nich je pleurotin, který byl uměle syntetizován (Jablonský et al. 2019).

V myceliu, v zárodcích plodnic a v určitých částech zralých plodnic hlívy ústříčné je obsažen lovastatin. Lovastatin patří do skupiny statinů, které aktivně působí při odbourávání cholesterolu. Cholesterol se snižuje i působením dietetické vlákniny, kterou u hlívy tvoří především chitin a z něj alkalickou hydrolyzou vznikající chitosan. Obě tyto složky mohou být také zodpovědné za zachycování cholesterolu i jeho produktů. Z plodnic hlívy byly izolovány bílkoviny vázané na cukry, zvané lektiny, použitelné ve směsi s ionty vápníku jako koagulační faktor mající antibiotické vlastnosti (Jablonský & Šašek 2006).

Bylo zjištěno, že metanolové extrakty z hlívy mají protizánětlivé účinky a dále mají vliv na snížení srážlivosti krve. Ukázalo se, že při uměle vyvolaném zánětu hlíva ústříčná má stejný účinek jako běžně používaný lék Voltaren (Diclofenac). Extrakt z hlívy potlačil srážení trombocytů o 88-95 %. Tyto vlastnosti hlívy naznačují její potenciál při léčbě kardiovaskulárních chorob (Antonín et al. 2013).

Tabulka č. 2. Účinky léčivých hub (Jablonský & Šašek 2006)

Účinky použitých hub	Ab	Cs	Ff	Fv	Gf	Gl	He	Io	Le	Po	Pu	Sc	Tv
protivirové	•		•	•	•	•		•	•	•			•
protibakteriální		•	•		•	•	•	•	•	•	•	•	•
protizánětlivé				•	•	•	•	•	•	•		•	•
protirakovinné	•	•		•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
při léčbě cukrovky	•	•			•	•		•					
léčba astmatu, plic		•			•	•					•		
snižování stresu		•			•	•			•				
posilující činnost jater		•			•	•		•	•		•	•	•
posilující činnost ledvin		•				•			•				•
zvyšování libida		•				•			•				
imunomodulační	•	•		•	•	•	•	•	•		•	•	•
kardiovaskulární choroby		•				•				•			
posílení nervové činnosti		•				•	•			•			
snižování cholesterolu	•	•		•	•			•	•	•			
snižování krevního tlaku		•			•	•		•	•				
léčba únavového syndromu					•	•			•				

Zkratky označující jednotlivé druhy hub v tabulce

Ab *Agaricus brasiliensis* = žampion mandlový

Cs *Cordyceps sinensis* = housenice čínská

Ff *Fomes fomentarius* = troudnatec kopytovitý

Fv *Flammulina velutipes* = penízovka sametonohá

Gf *Grifola frondosa* = trusnatec lupenatý

Gl *Ganoderma lucidum* = lesklokorka lesklá

He *Hericiium erinaceus* = korálovec ježatý

Io *Inonotus obliquus* = rezavec šikmý

Le *Lentinula edodes* = houževnatec jedlý

Po *Pleurotus ostreatus* = hlíva ústříčná

Pu *Polyporus umbelatus* = choroš oříš

Sc *Schizophyllum commune* = klanolístka obecná

Tv *Trametes versicolor* = outkovka pestrá

3.4 Selen

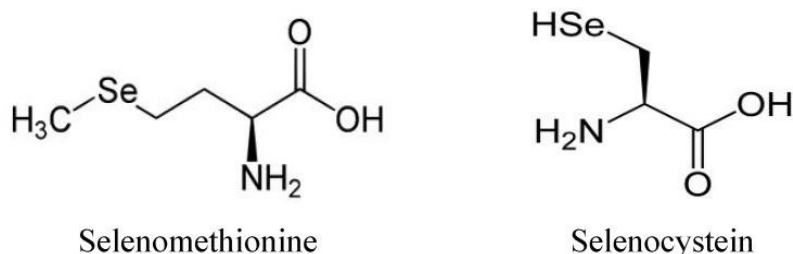
Selen objevil švédský chemik Jöns Jacob Berzelius v roce 1817 při analýze nečistot, které kontaminovaly kyselinu sírovou vyráběnou v konkrétní továrně ve Švédsku, a určil, že je to prvek úzce spjatý se sírou a tellurem (Heindl 2011).

Selen (latinsky *Selenium*) je chemický prvek se symbolem Se a atomovým číslem 34. Je polokov ze skupiny chalkogenů, zařazený do Periodické tabulky prvků do 4. periody a 16. (VI. A) skupiny. Relativní atomová hmotnost tohoto prvku je 78,96. Oxidační čísla selenu jsou – II, +II, +IV, +VI. Elementární selen se vyskytuje v několika krystalických formách, které jsou šedé nebo tmavě červené barvy. Selen se stává těkavým v kyselém prostředí a je proto nutné ho chránit před ztrátami v těchto podmínkách. Elementární selen prakticky nerozpustný ve vodě, ale mnoho z jeho solí (seleničitany a selenany) rozpustných je (Heindl 2011).

3.4.1 Zdroje selenu

Selen je stopový prvek, který se přirozeně vyskytuje v mnoha potravinách a je k dispozici jako doplněk stravy. Selen existuje ve dvou formách: anorganický (selenát a seleničitan) a organický (selenomethionin a selenocystein). Obě formy mohou být dobrými dietními zdroji selenu. V rostlinách nebo rostlinných produktech byla identifikována řada organických sloučenin selenu. Anorganické formy se vyskytují pouze v doplňcích stravy nebo jako kontaminant (Sunde et al. 2012).

Selen se v lidském organismu hromadí v největší míře hlavně požitím. Produkty rostlinného a živočišného původu jsou hlavními zdroji tohoto prvku. Rostliny akumulují selen ve formě anorganických sloučenin, selenátů (IV) nebo (VI), které se pak převádějí na organické formy, zejména selenomethionin a selenocystein (Obrázek 3) z nichž se posléze vytvářejí bílkoviny. V případě přítomnosti selenu v substrátech, jej mohou houby do molekul aminokyselin (methionin, cystein) zabudovat místo síry. Selenocystein dominuje také v produktech živočišného původu. Množství selenu v potravě je různorodé a závisí na místě, ve kterém rostliny rostly a zvířata žila. Je určováno množstvím selenu v půdě v dané oblasti, typem půdy, agroklimatickými podmínkami a typem plodiny v zeměpisné oblasti (Navarro-Alarcon & Cabrera-Vique 2008).



Obrázek č. 3. Selenomethionin a selenocystein jako hlavní organická forma selenu (Mehdi et al. 2013)

Biologická dostupnost selenu závisí na mnoha faktorech, z nichž hlavní faktor je připisován chemické formě tohoto prvku. Selen je nejnádhěji absorbován ve formě organických sloučenin a v přítomnosti vitaminů A, D a E (Kieliszek & Błażejask 2016).

Nejlepším zdrojem selenu jsou potraviny s vysokým obsahem bílkovin – vejce, játra a ledviny (viz Tabulka 3). Přesto, že mořské ryby obsahují vysoké množství selenu (40-150 µg/100 g), jeho využitelnost je nízká. Je to způsobeno pravděpodobně tím, že selen reaguje s těžkými kovy, jejichž zvýšené množství se nachází v rybích tkáních (Heczková 2009).

Bohatý zdroj selenu se také vyskytuje v mořské soli, kvasnicích (kvasinky obsahující selen), chlebu, houbách a česneku. Ovoce a zelenina se vyznačují relativně nízkým obsahem selenu. Vysoký obsah selenu lze nalézt v některých rostlinách (hyperakumulátory), např. *Astragalus bisulcatus* a několik zástupců čeledi *Brassicaceae*. Takovéto rostliny se nazývají selenomilné rostliny (Finley 2005).

Tabulka č. 3. Obsah selenu ve významných surovinách a potravinách v různých zemích (mg.kg⁻¹) (Velíšek & Hajšlová 2009)

Potravina	Obsah Se v mg.kg ⁻¹				
	USA ^{a)}	Kanada ^{a)}	Finsko ^{b)}	Německo	ČR a SR
maso vepřové	0,04-0,24	0,31	0,01-0,09	0,19	0,02-0,07 ^{c)}
maso hovězí	0,06-0,27	-	0,01-0,03	-	0,02
maso kuřecí	0,10-0,12	-	0,08-0,14	-	0,07-0,11
játra vepřová	0,64-0,70	0,36	0,34-0,51	0,17	0,09-0,34
játra hovězí	0,43	0,5	0,03-0,13	0,09	0,02-0,14
ledviny vepřové	1,90-2,21	3,22	1,54-1,76	0,78	0,97-1,84
ledviny hovězí	1,45-1,70	2,31	0,62-0,78	0,95	0,20-1,02
ryby sladkovodní	0,34-0,37	0,59	0,12-0,53	0,38	0,05-0,38
ryby mořské	0,12-1,41	0,75-1,48	0,11-0,80	-	-
mléko plnotučné	0,06	0,15	0,001-0,004	0,2	0,003
sýry	0,09	-	0,01-0,06	-	0,02-0,04 ^{c)}
jogurt	0,05	-	0,003	-	0,004-0,008 ^{c)}
vejce slepičí	0,1	0,39	0,02-0,16	-	0,18-0,24
vaječný bílek	0,03-0,05	0,12-0,15	-	-	0,06
vaječný žloutek	0,13-0,18	0,13-0,69	0,3	-	0,53
pšenice	0,20-0,61	0,58-1,09	0,004-0,025	0,34-0,88	-
mouka pšeničná	0,18-0,52	0,28-0,64	0,010-0,12	-	0,016
chléb celozrnný	0,33-0,41	0,59-0,68	0,003-0,01	-	0,015-0,026 ^{c)}
rýže loupaná	0,21-0,38	-	0,01-0,03	-	0,024-0,034 ^{c)}
čočka	-	0,61	-	0,1	0,03-0,08 ^{c)}
fazole	0,02-0,13	0,06	-	-	0,09
zelí	0,023	0,03	0,001-0,02	0,014	0,003
květák	0,007	0,004	<0,002	0,014	0,005
brazílské ořechy	0,08	-	-	-	-
hlávkový salát	0,001-0,011	0,008	<0,002	0,006	0,001
rajčata	0,005	0,001	<0,002	0,007	<0,001 ^{c)}
mrkev	0,022	0,006	<0,002	0,004	0,001-0,003 ^{c)}
hrášek	-	-	0,001-0,002	-	0,005

Po absorpci jsou druhy Se transportovány do různých orgánů a tkání pomocí proteinových nosičů, nejčastěji albuminu nebo SEPP1. Suzuki et al. (2010) navrhli, že použitý Se se nejprve váže na albumin, který transportuje tento prvek do jater, kde se uvolňuje Se a slouží k syntéze selenoproteinů, zejména SEPP1. SEPP1 pak vstupuje do krevního řečiště a sám se stává transportérem Se mezi játry a jinými orgány a tkáněmi. SEPP1 je ústřední pro transport selenu a homeostázu. Játra, která syntetizují většinu plazmatického SEPP1, regulují transport selenu v celém těle a homeostázu a zdá se, že plazmatický SEPP1 odráží stav selenu v celém organismu (Burk et al. 2006). Játra jsou orgán s nejvyšším obsahem selenu, na druhém místě jsou ledviny. Tyto orgány jsou dvěma hlavními místy pro syntézu většiny selenoproteinů, zejména SEPP1 a buněčných GPx v játrech a extracelulárních GPx v ledvinách (Suzuki et al. 2010).

Tkáně s vysokou rychlostí syntézy bílkovin, zejména kosterní svalstvo, uchovávají Se ve formě SeMet (Navarro-Alarcon & Cabrera-Vique 2008). Naopak, jiné formy Se nelze uložit, a vstupují do cesty syntézy selenoproteinů. To vyžaduje přeměnu výchozích sloučenin na selenid vodíku (H_2Se) (nebo jeho ekvivalent), běžný prekurzor selenoproteinů pro všechny zdroje selenu v potravě (Suzuki et al. 2006). Reakce tvorby selenidu závisí na počáteční formě Se. Selenit lze přímo redukovat na selenid buněčným glutathionem. K této reakci dochází v červených krvinkách bezprostředně po průchodu selenitu střešní membránou. Čerstvě syntetizovaný selenid je poté transportován do orgánu pro syntézu selenoproteinů, obvykle do jater. Selenát v původní formě vstupuje do jater a poté se redukuje na seleničitan a selenid. Organické druhy Se se také dostávají do jater v původní formě a procházejí tam transformací (Suzuki et al. 2006).

Vylučování selenu močí se rychle mění v souvislosti s příjmem selenu a hodnoty se pohybují v rozsahu $10-600 \mu g \cdot den^{-1}$. Když je příjem selenu nízký, jeho vylučování klesá a je udržován přísun selenu do prioritních orgánů (mozek, reprodukční orgány a žlázy s vnitřní sekrecí). Naopak, když je selen spotřebován v přebytku, zvyšuje se jeho vylučování. Moč je hlavní cestou vylučování Se z lidského těla. Selen obvykle vylučuje jako trimethylselenoniový ion (nebo někdy jako methylselenol) nebo během dýchání (jako dimethylselenid), což vede k charakteristickému „česnekovému“ zápachu při dýchání (Suzuki et al. 2006). Navzdory zvýšenému vylučování, se však při překročení doporučené denní dávky část selenu udrží a může se hromadit, což může dlouhodobě vést k selenotoxicitě (Thiry et al. 2012).

3.4.3 Funkce selenu

Lidské tělo obsahuje 10-14 mg selenu, většina se nachází v játrech, ledvinách, slezině, srdci a varlatech. Selen má zásadní význam pro lidské zdraví, protože plní mnoho důležitých funkcí. Jako složka selenoproteinů má selen strukturní a enzymatické role, je známý jako antioxidant a katalyzátor produkce hormonů štítné žlázy (Rayman 2000).

3.4.3.1 Selen a štítná žláza

Přiměřená dávka selenu je rozhodujícím faktorem pro funkci štítné žlázy. Pokud selen není dodáván v dostatečném množství, může to vést k narušení metabolismu štítné žlázy (Simonova & Pfannhauser 2008).

V roce 1990 tři skupiny vědců nezávisle na sobě a různými postupy dokázali, že enzymatická přeměna neaktivního thyroxinu na aktivní trijódtyronin je závislá na dostatečné

koncentraci Se v organismu, neboť skupina enzymů za tuto přeměnu odpovědných – dejodázy – jsou selenoproteiny a obsahují v aktivním centru selen ve formě selenocysteinu. Při nedostatku Se je aktivita dejodáz snížena (Kvíčala 2003).

Kombinace deficitu selenu a jódu zhoršuje hypotyreózu a může se projevovat jako myxedematózní kretinismus, jaký lze pozorovat v Demokratické republice Kongo (Zair), kde je nedostatek obou těchto minerálů (Vanderpas et al. 1990). Na zvířatech bylo prokázáno, že dlouhodobý a závažný nedostatek jódu vede k nekróze a fibróze. V tomto stavu musí být jakákoliv suplementace jódem prováděna velmi opatrně a musí jí předcházet suplementace selenem, aby nedošlo k narušení funkce štítné žlázy (Duntas & Benvenga 2015).

3.4.3.2 Vliv na antikarcinogenní účinky

V sedmdesátých a osmdesátých letech mnoho retrospektivních a prospektivních studií prokázalo silné důkazy o tom, že Se má ochranný účinek proti některým formám rakoviny. Téměř ve všech bylo konstatováno, že snížený stav selenu je spojen se zvýšením výskytu a úmrtí na rakovinu, a to v některých populacích až šestkrát. Skupina geografických studií v USA ukázala na pokles úmrtnosti obyvatel těch států, které zvýšily spotřebu selenu – jednalo se o celkové snížení úmrtí na rakovinu, a především o ovlivnění výskytu rakoviny plic, zažívacího ústrojí (jícnu, tračnicku, konečnicku), močového měchýře, pankreatu, vaječnicků a čípku děložního (Kvíčala 2003).

Mechanismus chemoprotektivních účinků selenu není znám, ale může být zprostředkován dvěma hlavními redoxními systémy závislými na obsahu Se v buňce. Hlavními typy buněk, které zprostředkovávají destrukci toxinů a mutovaných buněk v oběhu, jsou T-lymfocyty, jejichž syntéza a aktivace může záviset na selenu (Brown & Arthur 2001).

Studie z roku 2017 zkoumala dopad nízkého úrovně selenu v séru na přežití žen s rakovinou prsu. Výzkum ukázal, že hladina selenu nad 64,4 µg/l (mikrogramů na litr) může být prospěšná pro ženy v léčbě rakoviny prsu. Studie poznamenala, že suplementace selenem může být užitečná, ale k potvrzení je zapotřebí dalšího výzkumu (Lubinski et al. 2018).

3.4.3.3 Selen a kardiovaskulární onemocnění

Experimentální studie poskytly protichůdné důkazy o souvislosti selenu s úmrtností na kardiovaskulární onemocnění (KVO). Cílem studie Kuria et al. (2020) bylo posoudit vztah mezi stavem selenu v těle a morbiditou a mortalitou na KVO prostřednictvím systematického přehledu a metaanalýzy observačních studií a randomizovaných kontrolovaných studií. Výsledky ukazují, že celkově došlo k poklesu rizika KVO a úmrtnosti s fyziologicky vysokými hladinami ve srovnání s nízkými hladinami selenu v těle.

Výsledky z různých epidemiologických studií ukázaly souvislost mezi nízkým příjmem Se a nízkým stavem antioxidantů a výskytem kardiovaskulárních chorob. Další důkazy naznačují, že oxidační stres může zhoršovat srdeční onemocnění. Například oxidované lipoproteiny o nízké hustotě (LDL) vedou k zablokování srdečních tepen. Selen je jedním z antioxidantů, které omezují oxidaci lipoproteinů a tím brání srdečním onemocněním (Simonova & Pfannhauser 2008).

3.4.3.4 Selen a virová onemocnění

Selen hraje důležitou roli nejen v samotném imunitním systému, ale také v replikaci virů. Genomy virů, jako je Ebola, které způsobují hemoragickou horečku, obsahují několik kodonů kódujících selenocystein, proto existuje podezření na vliv nedostatku selenu na patofyziologii virové infekce (Simonova & Pfannhauser 2008).

Další RNA viry s geneticky inkorporovanou biosyntézou selenocysteinových proteinů jsou Coxsackie B, Hepatitida B a HIV. Patofyziologicky by replikační účinek těchto virů měl vést k tvorbě volných kyslíkových radikálů v důsledku intracelulárního deficitu selenu, který podporuje mutace ve virové RNA. Předpokládá se, že mechanismus je snížená aktivita buněčného GPx a mutace nebo změna genové exprese virových genů zvýhodněná oxidačním stresem. U lidí s HIV se často vyskytuje nízký stav selenu a je spojen se závažností onemocnění. Z 24 dětí s HIV pozorovaných po dobu pěti let, děti s nižším obsahem selenu zemřely dříve. Studie 125 HIV pozitivních mužů a žen rovněž zjistila souvislost mezi nedostatkem selenu a úmrtností. K prokázání souvislosti mezi stavem selenu a průběhem onemocnění HIV jsou nutné další klinické studie (Simonova & Pfannhauser 2008).

Selen je stopový prvek nezbytný pro lidské zdraví, a to především díky jeho zařazení do selenoproteinů, které mají širokou škálu ochranných funkcí. Studie v Německu zjistila, že hladiny selenu ve vzorcích séra přežívajících pacientů s COVID-19 byly významně vyšší než u pacientů, kteří nepřežili. Kromě toho byl nalezen významný pozitivní lineární vztah mezi mírou vyléčení čínských pacientů s COVID-19 a stavem regionálního selenu. Toto zjištění naznačuje, že redoxní formy selenu produkované vysokým příjmem selenu mohou hypoteticky inhibovat proteázy SARS-CoV-2 (Zhang et al. 2020).

Ve své studii Bermano et al. (2021) došli k závěru, že stav selenu pravděpodobně ovlivní reakci člověka na infekci způsobenou syndromem těžké akutní respirační choroby COVID-19 a je jedním z několika rizikových faktorů, které mohou ovlivnit výsledek infekce SARS-CoV-2, zejména v populacích, kde je příjem selenu neoptimální nebo nízký. Uznání mnoha mechanismů, kterými může selen potenciálně prospět pacientům s COVID-19, poskytuje základ pro randomizované kontrolované studie suplementace selenu u lidí s infekcí SARS-CoV-2 (Zhang et al. 2020).

3.4.4 Toxicita selenu

Toxického množství v příjmu selenu nelze dosáhnout při obvyklé konzumaci potravin, ale může k němu dojít při nekontrolované suplementaci (Simonova & Pfannhauser 2008).

Doporučený bezpečný maximální denní příjem selenu je mezi 400 µg/den. Nepříznivý vliv přebytku selenu byl pozorován u hodnot okolo 1 500 µg/den a chronická selenóza při trvalém příjmu nad 2 000 µg/den (Kvíčala 2003).

Studie ukazuje, že při dávkách do 2310 µg selenu u pozorovaných 12 lidí byly objeveny nevolnosti, změny nehtů, únava nebo podrážděnost, u poloviny z nich vypadávání vlasů, u tří ztráta nehtů. Někteří uvedli výskyt průjmů, bolesti v podbříšku, česnekový dech. Akutní toxický účinek lze u dospělých očekávat po dávce 3500 µg (to odpovídá 50 µg/kg tělesné hmotnosti) (Simonova & Pfannhauser 2008).

3.4.5 Projevy deficitu

V evropských podmínkách je daleko nebezpečnější nedostatek selenu než přebytek. V první fázi deficitu selenu zhoršuje imunitní odezva – postižená populace může být vnímavější na jakékoli poškození včetně virové a bakteriální nákazy. Ve druhé fázi v populaci se mohou objevit epidemiologicky závažná onemocnění, jako je myxedematózní kretenismus, Keshanova choroba či Kashin-Beckův syndrom, u jednotlivců pak onemocnění kůže, nehtů, vlasů, následovaná svalovými potíže včetně dalších patologických nálezů (Kvíčala 2003). Tyto příznaky se vyskytují u lidí s příjmem selenu menším než 20 µg / den (Simonova & Pfannhauser 2008).

Keshanova choroba endemicky postihuje především děti a mladé ženy v oblastech Číny s nízkým obsahem selenu v půdě. Postižené osoby vykazovaly nekrotické a fibrotické změny v myokardu spojené s arytmiemi, zvětšeným srdcem a abnormálními hodnotami EKG. Preventivní suplementace selenem by mohla pozitivně ovlivnit výskyt a průběh nemoci, ale ne úplně ji eliminovat. V epidemiologických studiích bylo pozorováno, že ne u všech lidí s nedostatkem selenu se vyvinulo toto onemocnění a že v četnosti onemocnění byly sezónní rozdíly. Z toho se dospělo k závěru, že toto onemocnění rovněž není jasným onemocněním s nedostatkem selenu, ale je pravděpodobně způsobeno viry a dalšími faktory. Nyní bylo prokázáno, že kromě deficitu selenu je pro vývoj onemocnění rozhodující také infekce virem Cocksacki (Simonova & Pfannhauser 2008).

V případě Kashin-Beckovy choroby, je onemocnění pohybového aparátu, které je endemické na Sibíři, Severní Číně a Severní Koreji, je postihá děti a dospívající. Zjevným projevem je snížení postavy vlivem multifokálních nekrotických změn v oblasti růstových plotének dlouhých kostí. Kromě deficitu selenu a jódu se uvažuje i o účinku plísní kontaminovaného obilí a dalších faktorech. Studie s pacienty Kashin-Beckovy nemoci v Tibetu naznačuje, že suplementace selenem neměla žádný účinek na průběh nemoci, zatímco podávání jódu vedlo k jasnému zlepšení stavu lidí (Simonova & Pfannhauser 2008).

Vysoké ztráty selenu mohou být způsobené těžkým a dlouhodobým průjmem, špatným trávením a vstřebáváním živin, onemocněním ledvin, těžkým krvácením nebo velmi dlouhým obdobím kojení (Simonova & Pfannhauser 2008).

3.4.6 Výživová doporučení pro příjem selenu

Ze získaných výsledků epidemiologických studií je zřejmé, že populace ČR má nedostatek selenu a na základě nízkého příjmu hrozí části populace i výše diskutované zdravotní důsledky. Toto nebezpečí se prohlubuje jednak u skupin lidí se sníženým příjmem potravy (senioři), jednak při potřebě zvýšeného množství tohoto esenciálního stopového prvku, ať již u těhotných a kojících žen a dětí, či sportovců a těžce pracujících. Tyto skupiny se zvýšenou potřebou by měly používat doplňky stravy do doby, než se zvednou hladiny selenu v našem potravním řetězci (Kvíčala 2003).

EFSA Panel poznamenává, že SEPP1 je transportní protein, který zajišťuje přísun selenu do tkání a hraje ústřední roli v metabolismu selenu. Koncentrace SEPP1 v plazmě reaguje na širokou škálu příjmu různých forem selenu. Panel se domnívá, že SEPP1 je nejinformativnějším biomarkerem funkce selenu na základě jeho role v transportu a metabolismu selenu. Vyrovnání plazmatické koncentrace SEPP1 je spojeno s plněním

požadavku na selen, což lze použít jako kritérium pro stanovení dietních referenčních hodnot pro tento prvek (EFSA 2014).

Legislativní limity doporučeného příjmu selenu je regulovány nařízením Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1169/2011 o poskytování informací o potravinách spotřebitelům, které stanoví, že denní referenční hodnota příjmu (RHP) selenu u dospělých osob je 55 µg (Úř. věst. 2011).

3.5 Zinek

Zinek (latinsky *Zincum*) je chemický prvek s atomovým číslem 30 a relativní molekulovou hmotností 65,409, má pouze jeden oxidační stav (Zn^{2+}) a má pět stabilních izotopů. Zinek patří mezi kovy a má modrobílou barvu s leskem, který se však při oxidaci na vzduchu ztrácí. Tento prvek objevil německý chemik Andreas Sigismund Marggraf v roce 1746. Zn obecně nachází uplatnění v nejrůznějších slitinách (mosaz aj.) pro nejrůznější domácí i průmyslové použití, v barvách a nátěrech, v gumárenství, ale i v kosmetice, farmacii a potravinářství jako nepostradatelný doplněk stravy (Yashona et al. 2018).

Zinek se přímo a nepřímo podílí na syntéze a metabolismu živých organismů a rostlin. Zinek je základní složkou enzymů a působí jako funkční, strukturální a / nebo regulační kofaktor pro velké množství enzymů (Yashona et al. 2018).

3.5.1 Zdroje zinku

Zinek je esenciální prvek pro všechny formy života, proto je nutný jeho příjem ze stravy či doplňků stravy. Příjem zinku je založen na množství a biologické dostupnosti zinku ve stravě. Nejmenší vstřebatelnost zinku je z anorganických forem (např. oxid zinečnatý). Další formy zinku je chelátové (zinek navázán na dvě aminokyseliny) a organické (zinek navázán na organickou kyselinu). Nejlépe vstřebatelnou formou zinku je chelátová forma. Zinek má největší schopnost akumulace v rostlinách. Tento stopový prvek má vysokou afinitu k biologicky aktivním sloučeninám rostlinných tkání. Obsah zinku v rostlinách závisí na jeho obsahu v půdě, odrůdě a typu rostlin. Po celém světě jsou luštěniny a obiloviny hlavním zdrojem zinku (Maret & Sandstead 2006). Následující Tabulka 4 vyznačuje množství zinku u vybraných obilovin a pseudoobilovin.

Tabulka č. 4. Množství zinku ve 100 gramech potraviny (Kamenská 2018)

Potravina	Zinek [mg/100 g]
Pšenice obecná (<i>Triticum durum</i>)	2,6
Pšenice špalda (<i>Triticum Spelta</i>)	3,7
Žito (<i>Secale cereale</i>)	2,7
Ječmen (<i>Hordeum sativum</i>)	2,8
Oves (<i>Avena sativa</i>)	3,2
Kukuřice (<i>Zea Mays</i>)	1,7

Čirok (<i>Sorghum vulgare</i>)	2,24
Rýže celozrnná (<i>oryzae</i>)	1,6
Rýže oloupaná (<i>oryzae</i>)	0,12
Pohanka (<i>Fagopyrum sagitatum</i>)	2,7
Amarant (<i>Amaranthus hypochondriacus</i>)	3,7

Ve volné přírodě zvířata obvykle získávají dostatek zinku konzumací rostlin. Potraviny živočišného původu je významným zdrojem snadno stravitelného zinku. Nejlepším zdrojem zinku ve smíšené stravě se považuje červené maso (Tabulka 5) (Maret & Sandstead 2006).

Tabulka č. 5. Obsah zinku v potravinách živočišného původu (Kamenská 2018)

Potravina	Zinek [mg/100 g]
Hovězí maso, plec bez kosti	5,00
Vepřové maso krkovice	4,85
Sýr Eidam, 30 % tuku	3,45
Sýr balkánský	1,70
Jogurt smetanový	0,31
Mléko plnotučné	0,32
Mléko polotučné	0,32
Tvaroh tučný	0,44
Tvaroh nízkotučný	0,62

Velké množství zinku také bylo zjištěno v houbách, vyklíčených pšeničných zrnech a otrubách. Zinek se nachází v 8 až 20 mg/kg v některých semenech, kvasnicích, česneku a vejcích. Dále se vyskytuje v ovesné mouce, kuřecím a králičím masu, ořechách, zeleném čaji od 20 do 50 mg/kg (Salnikova 2016).

3.5.2 Metabolismus zinku

Absorpce zinku je závislá na jeho koncentraci a probíhá v celém tenkém střevě. Zinek podávaný ve vodných roztocích nalačno se vstřebává efektivně (60-70 %), zatímco absorpce z pevné stravy je méně účinná a liší se v závislosti na obsahu zinku a složení stravy. Bylo prokázáno, že k absorpci zinku dochází jak pasivní difúzí, tak pomocí nosiče. Druhý mechanismus je zjevně důležitější při nízkých hladinách zinku a zahrnuje protein CRIP (cysteinem bohatý střevní protein). CRIP váže zinek během transportu přes sliznici a může také fungovat jako jeho intracelulární nosič. Existují důkazy, že CRIP soutěží s metalothioneiny ve vazbě na zinek. Vazebná kapacita CRIP pro ionty zinku je však omezená – při vysokých intestinálních koncentracích tohoto stopového prvku je protein nasycen Zn^{2+} . Proto se zvýšením koncentrace zinku mohou být metalothioneiny zapojeny do jeho homeostázy, jejíž produkce se

zvyšuje v reakci na zvýšení hladiny zinku a iontů jiných těžkých kovů. Dále je zinek vázaný na ligandy transportován do epiteliálních buněk, kde je přenášen na vazebná místa plazmatické membrány. Albumin poté interaguje s plazmatickou membránou a vylučuje zinek z receptorového místa. Množství dostupného albuminu určuje množství zinku odstraněného z epiteliálních buněk, a tím reguluje hladinu kovu, který se dostal do těla (Harmasa & Slobozhanina 2014).

Zinek vstupuje do krve a je distribuován v těle podle typu kostry - 62,6 % z jeho celkového množství se nachází v kosterním svalu, bohatý na zinek je také kostní systém (22,4 %), předstojná žláza (11 %) a sítnice (11 %). V menší míře je zinek distribuován v játrech a ledvinách, i když u novorozenců může být 25 % tohoto stopového prvku přítomno v játrech (Stefanidou et al. 2006).

K vylučování zinku dochází hlavně gastrointestinálním traktem (70-80 %), 14 % se vylučuje močí a při zvýšení příjmu Zn^{2+} do těla se vylučování močí zvýší na 25 %, aby se odstranil jeho přebytek. Dalšími způsoby vylučování zinku z těla jsou potní žlázy, sekrece slin a akumulace tohoto stopového prvku ve vlasech. Bylo zjištěno, že slinivka břišní také denně vylučuje významné množství zinku do duodena, přičemž většina z nich je náchylná k reabsorpci. Rychlost, kterou je kov extrahován, závisí jak na úrovni zinku dodávaného do těla, tak na jeho další spotřebě tělem, zejména na úrovni zásob (Harmasa & Slobozhanina 2014).

3.5.3 Funkce zinku

Zinek je nezbytný pro všechny formy života lidského těla. Je součástí více než 300 enzymů, podílí se na regulaci exprese řady genů a na procesech syntézy a štěpení bílkovin, sacharidů, tuků a nukleových kyselin. Zinek se podílí na procesech růstu, dělení a diferenciaci buněk, je nezbytný pro normální růst vlasů, nehtů a kůže, stejně jako při hojení ran (Presnyakova et al. 2019).

3.5.3.1 Imunitní systém

Zinek má významný vliv na imunitní systém, protože je nezbytný jak pro buněčnou, tak pro humorální imunitu. Je to regulátor aktivity fagocytů, lymfocytů, ovlivňuje chemotaxi neutrofilů. Velký význam ve funkčním stavu T a B-lymfocytů patří enzymu obsahujícímu zinek 5-nukleotidázy. Nedostatek zinku vede k hlubokému narušení různých parametrů funkce T-buněk, včetně atrofie brzlíku, potlačení buněčně zprostředkované cytotoxicity a snížení celkového počtu lymfocytů. Bylo prokázáno, že obyvatelé regionu s nízkým obsahem zinku v životním prostředí mají nedostatek zinku v séru a lymfocytech periferní krve (Prasad 2000).

S postupujícím stárnutím dochází k postupnému poklesu imunitních odpovědí. Změny spojené se stárnutím mohou částečně souviset s nedostatkem Zn, který vyvolává srovnatelné zhoršení imunitní odpovědi. Několik typů imunitních buněk vykazuje sníženou funkčnost po vyčerpání Zn; v monocytech je narušena celková funkčnost, zatímco v přirozených NK buňkách je snížena cytotoxicita a v neutrofilních granulocytech je snížena fagocytóza (Dardenne 2003). Na druhé straně se ukázalo, že zhoršená imunitní funkce u starších lidí v důsledku nedostatku Zn může být ovlivněna adekvátní suplementací Zn. I když byly hlášeny příznivé účinky nižších dávek Zn na imunitní funkci, velmi vysoké dávky Zn (> 150 mg/den) mohou narušit buněčnou imunitu (Meunier et al. 2005).

3.5.3.2 Zinek a oxidační stres

Oxidační stres označuje stav nerovnováhy mezi volnými radikály, kterou je jakákoli molekula obsahující jeden nebo více nepárových elektronů, a schopnost systému detoxikovat nebo zmírnit oxidační poškození DNA, proteinů a lipidů (Stefanidou et al. 2006; Choi et al. 2018).

Bylo prokázáno, že Zn má antioxidační aktivitu in vitro a v mnoha studiích na zvířatech a lidech. Nedostatek Zn ve stravě způsobuje zvýšenou náchylnost k oxidačnímu poškození membránových frakcí u některých tkání (Klotz et al. 2003). Zn přímo váže na sulfhydrylové skupiny v proteinech a peptidech a chrání lipidovou dvojrstvu před oxidací lipidů, čímž stabilizuje buněčnou membránu (Stefanidou et al. 2006).

Enzym, který působí jako antioxidační obrana v buňkách vystavených kyslíku se nazývá superoxid dismutáza (SOD). Katalyzuje dismutaci superoxidového (O_2^-) radikálu na molekulární kyslík (O_2) nebo peroxid vodíku (H_2O_2). SOD má aktivní centrum s iontem Zn a iontem mědi (CuZn-SOD). V podmínkách deficitu Zn je potlačena syntéza a aktivita SOD a buňky jsou náchylnější k oxidačnímu stresu (Chasapis et al. 2020).

3.5.3.3 Zinek a apoptóza

Apoptóza je klíčovým mechanismem programované buněčné smrti, který se podílí na několika biologických procesech. Uplatňuje se při embryogenezi, ve vývoji, ukončení imunitní reakce a remodelaci tkání. Jedná se o kontrolovaný biologický mechanismus potřebný k eliminaci nadbytečných, mutantních nebo poškozených buněk v reakci na toxické látky (Chasapis et al. 2020).

Zinek je zapojen do obou procesů apoptózy, a to aktivace genu TP53 a aktivace určitých proteáz nazývaných kaspázy. Specifická DNA vázající protein p53 má složitou strukturu, která je stabilizována Zn. Zinek inhibuje enzymy apoptózy odpovědné za proteolytické štěpení buňky a nachází se ve struktuře proteinu p53, což je supresorový gen kontrolující dělení buněk. Narušení regulaci apoptózy hraje ústřední roli v patogenetických mechanismech mnoha nemocí, jako jsou neurodegenerativní poruchy, syndrom získané imunodeficience, autoimunitní onemocnění a rakovina. Nadměrná apoptóza může nastat jako přímý nebo nepřímý důsledek snížení intracelulárních koncentrací zinku (Stefanidou et al. 2006).

3.5.3.4 Zinek a kardiovaskulární onemocnění

Kardiovaskulární onemocnění patří mezi hlavní příčiny úmrtí po celém světě. Little et al. (2010) prokázaly, že existuje souvislost mezi nedostatkem zinku a zvýšeným výskytem KVO. Ionty zinku jsou rychle přijímány endotelovými buňkami endocytózou zinku vázaného na albumin. Zinek vázaný na albumin je největší zásoba vázaného zinku v plazmě. Zásoba zinku vázaného na plazmatické bílkoviny je v rovnováze s celkovým plazmatickým zinkem, takže změny v příjmu zinku, včetně nedostatků, mají potenciál změnit hladinu zinku v endoteliálních buňkách. Plazmatické hladiny zinku s věkem klesají a mají silnou souvislost se zvyšujícím se výskytem KVO (Chasapis et al. 2012).

Studie na zvířatech dále ukázaly, že zinek reguluje aterosklerotický proces a nedostatek zinku může být silným rizikovým faktorem pro výskyt aterosklerózy, protože byla zjištěna

inverzní souvislost mezi aterosklerózou a hladinou zinku v séru. Ateroskleróza je charakterizována zvýšeným oxidačním stresem, který je zodpovědný za poškození endotelu. Zinek snižuje expresi zánětlivých cytokinů a biomarkerů oxidačního stresu u aterosklerózy (Choi et al. 2018).

Nižší spotřeba zinku byla spojena s nízkou hladinou HDL cholesterolu v krvi a se zvýšenou prevalencí ischemické choroby srdeční, cukrovky a několika souvisejících rizikových faktorů hypertenze, jako je hypertriglyceridémie a inzulínová rezistence. Nedostatek zinku může mít také nepříznivé účinky u pacientů se srdečním selháním (Chasapis et al. 2012).

3.5.4 Toxicita zinku

Zinek má nízkou toxicitu, ale při konzumaci velkých dávek (asi 1 g) lze pozorovat akutní příznaky, jako je nevolnost, zvracení, průjem, horečka a letargie. Když příjem zinku překročí fyziologické potřeby v rozumně malém množství, lze homeostázu udržovat zvýšeným endogenním vylučováním stolicí a močí. Pokud však nadměrný příjem zinku pokračuje po delší dobu, může dojít ke zhoršení absorpce dalších stopových prvků, zejména mědi a železa. Například příjem doplňků stravy, poskytujících 50 mg zinku denně po dobu šesti týdnů způsobil změny v erytrocytové superoxididismutáze měď-zinek, což je indikátor stavu mědi (Brown et al. 2001).

Při vyšších dávkách zinku (160-660 mg/den) byla kromě abnormálních indexů stavu mědi pozorována anémie a změny imunitní funkce a metabolismu lipoproteinů. Jsou zapotřebí další studie ke stanovení úrovně příjmu zinku, při které se začnou objevovat nežádoucí účinky na metabolismus mědi, hematologické indexy, imunitní funkce a metabolismus lipoproteinů (Davis et al. 2000).

Horní stupeň pro zinek je 40 miligramů denně. Konzumace více než tohoto množství může zvýšit riziko nedostatku mědi blokováním jeho absorpce (Russell et al. 2001). Ale je třeba určit, zda by měla být změněna doporučená horní hranice příjmu zinku, pokud je konzumována s jinými potravinami s různým obsahem fytoátů (Davis et al. 2000).

3.5.5 Projevy deficitu

Deficit zinku může být způsoben následujícími faktory. Nestravitelné rostlinné ligandy, jako je fytoáty, a některá dietní vláknina inhibují absorpci zinku. Dalšími faktory ovlivňující absorpci zinku jsou ionty kovů. Zejména je asimilace zinku inhibována takovými dvojmocnými ionty jako Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} a Cd^{2+} , zatímco ionty Mg^{2+} tento proces neovlivňují (Presnyakova et al. 2019).

Nedostatek zinku v těle se vyvíjí, když je příjem tohoto prvku 1 mg/den nebo méně (Skalny & Rudakov 2004). Jedním z prvních projevů nedostatku zinku je potlačení buněčně zprostředkované imunity. Pacienti mohou vykazovat špatné hojení ran, vlasy mohou být snadno vytrhávány a patrná alopecie; černé vlasy mohou být změněny na červenohnědé. Účinky na nervový systém mohou zahrnovat ataxii, dezorientaci a zhoršený neuropsychologický výkon. Po dlouhodobém trvalém nedostatku zinku mohou být rozpoznány další projevy. Patří mezi ně cirhóza jater, sexuální dysfunkce, anémie a malformace plodu (Maret & Sandstead 2006).

Stárnutí těla, které je spojeno se snížením rozmanitosti stravy, malabsorpcí a zrychleným vylučováním stopových prvků z těla, nakonec vede k nedostatku zinku. Vývoj

arteriální hypertenze a sekundární imunodeficiencie, atrofické změny ve všech orgánech a systémech, stejně jako vývoj impotence jsou spojeny s nedostatkem zinku souvisejícím s věkem (Salnikova 2016).

3.5.6 Výživová doporučení pro příjem zinku

Zinek má v lidském těle několik metabolických rolí. Střevní absorpce zinku z rostlinných produktů není tak vysoká jako ze živočišných produktů. Vegetariáni proto mohou potřebovat až o 50 procent více zinku ve stravě než ne vegetariáni (Russell et al. 2001).

EFSA Panel uvádí, že doporučený příjem zinku lze odvodit pro dospělé na základě dvoustupňového přístupu. První fáze zahrnuje odhad fyziologických požadavků, definovaný jako minimální množství absorbovaného zinku nezbytné pro vyrovnání ztrát endogenního zinku a jeho vztah k tělesné hmotnosti. Ve druhé fázi bylo stanoveno množství zinku použitelného pro absorpci, které je nezbytné pro splnění fyziologických požadavků, s přihlédnutím k inhibičnímu účinku fytátu na absorpci zinku (EFSA 2014).

Legislativní limity doporučeného příjmu zinku je regulovány nařízením Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1169/2011 o poskytování informací o potravinách spotřebitelům, které stanoví, že denní referenční hodnota příjmu (RHP) zinku u dospělých osob je 10 mg (Úř. věst. 2011).

3.6 Transport prvků v houbách

Ideální potravina by měla obsahovat všechny makro a mikroživiny požadované lidmi. Některé živiny, zejména mikroelementy, však nejsou vždy k dispozici v potravinách, a proto mají zásadní význam pro zavedení do stravy jako doplňky nebo obohacením potravin. Ke zvýšení obsahu mikroživin bylo použito přidání vhodných sloučenin do průmyslových nebo zpracovaných potravin.

Spotřeba jedlých hub, zejména rodu *Pleurotus*, se rychle rozšiřuje díky své oblíbené chuti, vysoké nutriční hodnotě a léčivým vlastnostem. Tyto houby jsou dobrým zdrojem bílkovin, sacharidů, vitaminů, vápníku a železa. Navíc mají nízkou cenu a mají důležité léčivé účinky, jako jsou protinádorové vlastnosti, modulace hladin cholesterolu, prevence kardiovaskulárním chorobám, boj proti viru hepatitidy C a antioxidační vlastnosti. Houby jsou dále schopné bioakumulovat základní prvky ve svých plodnicích, protože absorbují živiny ze substrátu použitého jako pěstební médium, které je složeno z organického materiálu. V důsledku vysokého bioakumulačního potenciálu a nedostatku dobrých zdrojů selenu pro lidské zdraví byly houby obohaceny o tento základní prvek během růstových stádií, které předcházejí tvorbě plodnic (Kaur et al. 2018).

Obohacování může změnit chemické složení a distribuci základních prvků v houbách. Z tohoto důvodu je hodnocení distribuce základních prvků nezbytné k zhodnocení obohacených potravin s cílem popsat a pochopit biologické funkce základních prvků v houbách, jakož i synergické nebo antagonistické vztahy mezi různými látkami. Za účelem získání informací o absorpci, translokaci a skladování esenciálních prvků v těchto hyperakumulačních organismech lze použít analytické metody, které umožňují určit celkovou koncentraci esenciálních prvků, lze však použít i metody elementárního mapování nebo zobrazování účel, protože je to proveditelné, jednoduše a rychle (Dixit et al. 2017).

Bylo studováno obohacení hub Se se zaměřením na distribuci prvků mezi různými buněčnými kompartmenty a zejména polysacharidové struktury obsažené v buněčných stěnách. Výsledky ze studie Muñoz et al. (2006) naznačují vazbu selenu na polysacharidové struktury obsahující chitin v buněčných stěnách hub.

Falandysz (2008) zmiňuje, že klobouky hub udržují během zrání vyšší obsah Se ve srovnání s třeni. V plodnicích hub bylo dosud identifikováno několik sloučenin Se v různých poměrech, ale mechanismy absorpce a translokace i metabolické cesty v houbách jsou mezi druhy velmi rozdílné a stále málo známé.

Analýzy různých částí plodnic *B. edulis*, *Suillus luteus* a *Amanita muscaria* naznačují, že u všech třech druhů třeně obsahují méně selenu než masitá část klobouků (Stijve 1977).

Distribuce Zn v plodnicích (klobouky / třeně) různých taxonů hub byla zkoumána Rudawskou a Leskem (2005 a, b). Obsah zinku byl významně vyšší v kloboucích než v třeních.

Oliveira et al. (2019) uvádějí, že obohacování Se zvýhodňovalo hromadění Ca ve spodní části hlívy ústříčné a zabraňovalo transportu tohoto prvku k okrajům a vrcholům. Obohacení Se také změnilo distribuci K a Mg. U houby bílé hlívy ústříčné však i přes změny morfologických charakteristik plodnic po obohacení byly obecně nevýznamné rozdíly v distribuci K a Mg mezi kontrolními a obohacenými o Se houbami.

Ve studii Lee et al. (2009) byl sledován obsah minerálů v kultivačních substrátech, plodnicích hub a posklizňových kultivačních substrátech u kultivovaných jedlých hub *Pleurotus eryngii*, *Flammulina velutipes* a *Hypsizygus marmoreus*. Hlavními minerálními prvky jak v kultivačních substrátech, tak v plodnicích byly K, Mg, Ca a Na. Obsah vápníku v plodnicích bez ohledu na vysoké koncentrací v kultivačních substrátech byl velmi nízký, což naznačuje, že Ca v kultivačních substrátech je v méně biologicky dostupné formě nebo houby nemají účinné receptory pro vychytávání Ca. Mezi minerálními prvky stanovenými v tomto experimentu vykazovaly Cu, Zn a Ni vysoké procento přenosu z kultivačních substrátů do plodnic. Je pozoruhodné, že obsahy minerálů v posklizňových kultivačních substrátech nebyly významně změněny, což znamená, že použité kultivační substráty jsou nutričně neporušené, pokud jde o minerální obsahy, a lze je tedy použít jako minerální zdroje a krmivo pro zvířata.

3.7 Pokusy s fortifikací houbových substrátů

Houby jsou známé svojí schopností akumulace různých druhů esenciálních pro člověka anorganických látek, které se v životním prostředí vyskytují v malém množství. Člověk se snaží využít této jejich vlastnosti ve svůj prospěch. V dnešní době se zkoumá stále více různých metod ke zvýšení léčivých vlastností hub nebo možnosti jejich obohacení o určité prvky.

Ve své studii Estrada a Royse (2006) prokázali, že fortifikace substrátu některými mikroprvky může urychlit růst mycelia hub rodu *Pleurotus* a zvýšit výtěžnost. Přidání manganu do substrátu zvýšilo výnos a velikost hub. Je to spojeno s tím, že mangan zvyšuje schopnost houby rozkládat lignin. Výnosy hub byly významně vyšší u substrátů obsahujících Mn při 50 µg/g. Bylo zjištěno, že přidavkem manganu je ovlivněno minerální složení plodnic – P, Fe, B, Mg, Mn, Cu, Zn.

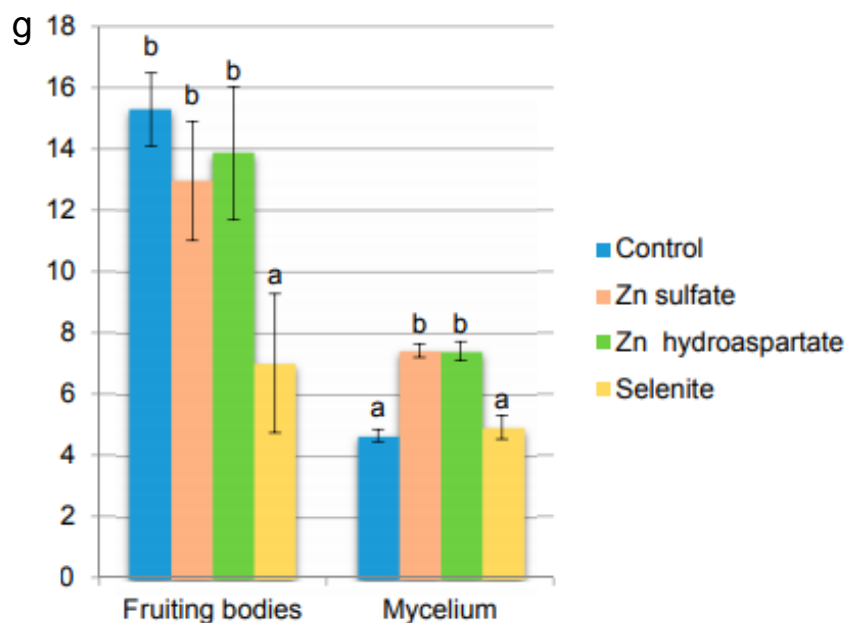
Chemické složení hub může být ovlivněno substráty použitými k jejich růstu. Například výnos a chemické složení plodnic jsou zlepšeny přidáním základních prvků k substrátu. V Brazílii testovali schopnost hlívy ústříčné (*Pleurotus ostreatus*) absorbovat selen. *Pleurotus*

ostreatus byl pěstován na kávových slupkách obohacených o různé koncentrace seleničitanu sodného. Biologická účinnost *P. ostreatus* byla ovlivněna přidáním vysokých koncentrací Se. Bylo prokázáno, že nejvyšší úroveň absorpce Se byla získána přidáním 51 mg/kg seleničitanu sodného. Tyto výsledky ukazují velký potenciál kávových slupek při produkci hub obohacených Se a ukazují schopnost těchto hub absorbovat a zvyšovat obsah Se (Silva et al. 2012).

Pěstování hub na substrátech bohatých na selen může být účinným prostředkem k výrobě potravin obohacených selenem. *Pleurotus ostreatus* cv. *florida*, jedlý druh hlívy ústřičné, byl pěstován na pšeničné slámě ze seleniferního pásu Pandžábu (Indie) a byl studován jeho potenciál mobilizovat a akumulovat selen z pěstebního substrátu. Koncentrace selenu v biologicky obohacených houbách byla 800krát vyšší ve srovnání s kontrolními vzorky pěstovanými na pšeničné slámě z oblastí, které nejsou bohaté na selen. Analýza gastrointestinálních hydrolyzátů ICP-MS ukázala, že biologicky přístupný selen byl přítomen hlavně jako selenomethionin, dobrý biologicky dostupný zdroj selenu, který představoval 73 % ze součtu detekovaných druhů. Tato studie prokazuje možnosti výroby jedlých hub obohacených selenem za použití biologických vedlejších produktů bohatých na selen jako růstových substrátů. Navrhovaný přístup lze použít k vyhodnocení toho, zda lze rostlinné odpadní materiály sklizené z oblastí s vysokým obsahem selenu použít k výrobě jedlých hub obohacených selenem na základě koncentrace, biologické dostupnosti a druhového složení selenu v houbách (Bhatia et al. 2013).

Polští vědci Zięba et al. (2020) provedli studii o obohacování selenem a zinkem mycelia a plodnic *Pleurotus eryngii* jako postup pro sledování jejich biologické aktivity. *Pleurotus eryngii* (DC: Fr.) Quel. je pěstovaná houba s vysokou kulinářskou hodnotou a léčivými vlastnostmi. V této studii byla zkoumána schopnost mycelia z kultur in vitro a plodnic *P. eryngii* účinně akumulovat zinek a selen. Byl také stanoven vliv obohacení Se a Zn na produktivitu (Obrázek 5), chemické složení a obsah biologických prvků v *P. eryngii*. Pro zvýšení obsahu Se a Zn v plodnicích a myceliu *P. eryngii* byly substráty doplněny seleničitanem sodným v koncentraci 50 mg L⁻¹, síranem zinečnatým a hydroaspartátem zinečnatým v koncentraci 87,2 a 100,0 mg L⁻¹. Byla prokázána schopnost *P. eryngii* akumulovat zinek a selen z kultivačního média. Stupeň akumulace zinku se závisí na typu použité soli.

Tato studie také ukázala, že kultivace mycelia *P. eryngii* v in vitro kultuře s vyšším obsahem iontů zinku může vést k získání materiálů s lepší antioxidační schopností. Výsledky této studie lze použít k vývoji složení růstového média, které zajišťuje produkci biomasy s požadovaným složením prvků (Zięba et al. 2020).



Obrázek č. 5. Biomasa plodnic *Pleurotus eryngii* (g plodnic v suchém stavu na 100 g⁻¹ suchého substrátu) a mycelium (g mycelia v suchém stavu na 1 dm³ tekutého média Oddou) v závislosti na biofortifikaci Zn a Se (Zięba et al. 2020)

Další houba, jako je *Grifola frondosa* (Maitake), obsahuje specifické β -glukany, které mají silné imunomodulační a protinádorové vlastnosti. Ale obecně však obsahuje nízké hladiny důležitých stopových prvků, jako je selen. Selen vyvolal velký zájem o výživový a lékařský výzkum, protože slouží jako kofaktor pro enzym glutathionperoxidázu, který se podílí na ničení volných radikálů. Proto byla provedena studie, cílem které bylo zjistit, zda lze trsnatec lupenitý (*Grifola frondosa*) obohatit selenem přidáním seleničitanu sodného do substrátu. Dvě oddělené varianty pilinových substrátů byly obohaceny přidáním různých koncentrací selenu ve formě seleničitanu sodného před pasterizací a inokulací. Selen se zvýšil v plodnicích úměrně k množství přidanému k substrátu. Výsledky ukazují, že kultura *G. frondosa* může být obohacena selenem, aby byly plodnice vynikajícím zdrojem selenu jako doplňku stravy. Rovněž by byla možná výroba extraktů nebo prášků Maitake pro výživové nebo léčebné účely, které mohou kromě β -glukanů obsahovat významné množství selenu (Beelman & Royse 2005).

Byl studován vliv různých koncentrací zinku na jeho akumulaci a výtěžnost biomasy v myceliu i v plodnici *Pleurotus ostreatus* cv. *florida* kultivovaných na tekutém médiu. Výsledky ukázaly, že schopnost akumulace Zn v myceliu *P. florida* byla mnohem vyšší než v plodnicích (Poursaeid et al. 2015).

Zemědělské odpady lze využít k produkci jedlých hub pomocí biotransformací. Nedávná studie z Mexika analyzovala vliv původu zdroje dusíku na antioxidační kapacitu *Pleurotus ostreatus*. Ve vyplozených substrátech hlívy byl stanoven obsah vlhkosti, popela, sacharidů a ligninu. Později byly v těchto odpadech produkovány houby *P. ostreatus* a byla stanovena jejich antioxidační kapacita. Hlíva ústříčná pěstovaná na směsi dubových pilin byla významným zdrojem antioxidačních látek, protože jejich ethanolické extrakty měly antioxidační kapacitu 92,74 %. Byl zjištěn přímý vliv pěstebního substrátu na antioxidační vlastnosti plodnic hlívy ústříčné (Quiñones-Muñoz et al. 2018).

Pleurotus eryngii je důležitý jedlý a léčivý druh hub. Byl prováděn výzkum, cílem kterého bylo zkoumat, jak tři různé zdroje Se přidané do syntetického média ve specifických koncentracích ovlivnily schopnost mycelia absorbovat tento mikroprvek. Osm zkoumaných kmenů *P. eryngii* var. *eryngii* a jeden *P. eryngii* var. *tingitanus* byly převzaty ze sbírky kultury Institutu evoluce na univerzitě v Haifě v Izraeli. Se byl použit ve formách seleničitanu sodného (Na_2SeO_3), selenanu sodného (Na_2SeO_4) a oxidu seleničitého (SeO_2) v následujících koncentracích: 0,3 mg/l, 0,7 mg/l, 1 mg/l a 1,3 mg/l. Výsledky ukazují, že mezi zkoumanými zdroji Se se nejprůzračnějším ukázal seleničitan sodný, zatímco selenan sodný byl nejméně příznivým zdrojem absorpce Se myceliem u většiny studovaných kmenů (Stajic et al. 2005).

Čínští vědci provedli studie ohledně vlivu koncentrace selenu v substrátu na konečnou koncentraci selenu v plodnicích hlívy ústříčné. Výsledky ukazují, že: když selen v kultivačním médiu byl v koncentraci 10 až 20 mg/kg, v plodnicích hub koncentrace selenu mohla dosáhnout 70 až 120 μg na 100 g čerstvé hmotnosti. Na konci se v plodnicích může být akumulováno 3,49 % až 4,08 % přidaného selenu. Zvýšená koncentrace selenu má také vliv na některé další důležité látky ve složení houby. V tomto pokusu byly stanoveny amylóza v množství 146,3 mg/g sušiny a také vitamin C ve množství 20 ± 21 mg/100 g sušiny. Co se týká volného projevu, obohacené houby *P. ostreatus* je bezpečné ke konzumaci, protože konečná koncentrace selenu v houbách nízká (Wang et al. 2005).

Účelem studie Milovanovica et al. (2013) bylo zjistit, zda různé koncentrace selenu ovlivňují schopnost osmi druhů hub (*Flammulina velutipes*, *Ganoderma applanatum*, *Ganoderma lucidum*, *Lenzites betulinus*, *Pleurotus eryngii*, *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus pulmonarius*, *Trametes hirsuta*) produkovat biomasu mycelia a absorbovat tento stopový prvek během kultivace v médiu obohaceném Na_2SeO_3 . Získané výsledky prokázaly schopnost mycelií všech testovaných druhů absorbovat selen v analyzovaných koncentracích. Závěrem je, že všechny testované druhy hub lze použít jako uspokojivé zdroje selenu, protože absorbované koncentrace se pohybovaly od 15,8 % (*P. eryngii*) do 36,9 % (*P. ostreatus*) z doporučeného dietního množství selenu (55 μg).

Aby bylo možné definovat strategii pro biologickou přeměnu živin do plodnic, a tedy získat některé ztracené živiny, byly použity zbytky ze vzorků (kukuřičná vřetena a otruby, kakaová slupky, olejové palmové vlákno, výlisky z hroznů, mláto, pito kaše, maniok, slupky z brambor a jitrocel, rýžová otruby) z agro průmyslu. Dva druhy hlívy – *P. ostreatus* (kmen EM1) a *P. eous* (kmen OT3) byly použity pro hodnocení substrátu. Během tohoto kultivačního procesu byla zkoumána schopnost těchto kmenů přijímat minerály (Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, P, K a Na) ze sledovaného substrátu (Youri & Tano-Debrah 2005).

Byla stanovena absorpce minerálů houbami během růstu na různých médiích a porovnána s množstvím přítomným v původním a obohaceném médiu. Data naznačují, že K a P dosáhly nejvyšší koncentrace v plodnicích, zatímco Mn a Ca dosáhly nejnižší. Došlo k značné akumulaci Cu do plodnic oproti kontrolní neobohacené variantě. Koncentrace P v houbách byla srovnatelná s koncentrací původního média. Došlo k akumulaci Na v houbách a koncentrace byla srovnatelná s koncentrací ve vyplozeném substrátu. Koncentrace K byla obecně vysoká ve srovnání s ostatními minerály. Vápník nebyl významně přítomen v analyzovaných houbách navzdory vysoké koncentraci v substrátu. Nejvyšší rychlosti kolonizace a výtěžku bylo dosaženo ze substrátů na bázi kukuřičných palic a kakaových slupek, zatímco nižší výnosy byly získány z médií na bázi rýžových slupek. Obecně neexistovala žádná korelace mezi příjmem

minerálů a výnosem. Studie obecně prokázala schopnost hlívy absorbovat tyto prvky během kultivace, i když v různé míře. Řízeným přidáváním určitých minerálů do substrátů, na nichž se pěstují houby, jsou tyto prvky absorbovány myceliem a později plodnicemi. Houby se pak mohli stát dobrým nebo dokonce vynikajícím zdrojem těchto minerálů (Youri & Tano-Debrah 2005).

Nízké výnosy hub jsou pozorovány, pokud jsou pro výrobu použity neobohacené substráty. V některých studiích byly provedeny pokusy za účelem vyhodnocení potenciálních výhod organických substrátů jako je bavlníkový odpad, kukuřičné palice a substráty z pšeničné slámy používané k pěstování hlívy ústřičné. Substráty obohacené různými dávkami slunečnicového semene byly před inokulací *P. ostreatus* autoklávovány. Byl hodnocen průběh jednotlivých vývojových stadií, vitalita mycelia a výnos hlívy ústřičné na sledovaných substrátech. Energie růstu mycelia se významně zvýšila se zvýšením množství slunečnicového semene jak v substrátech pšeničné slámy, tak v kukuřičném substrátu. Došlo k významnému zvýšení biologické účinnosti se zvýšením hladin fortifikaci na všech substrátech. Substrát z bavlníkového odpadu poskytl významně vyšší výtěžnost při 14% úrovni doplňování slunečnicových semen (Ngezimana et al. 2007).

Houba má schopnost absorbovat, akumulovat a transformovat anorganické Se na organické sloučeniny. Koncentrace a chemické formy Se používané k obohacení však mohou ovlivnit růst mycelia a produkci hub. Cílem studie Silva et al. (2019) bylo analyzovat možnosti *Pleurotus ostreatus* absorbovat, akumulovat a tolerovat rostoucí koncentrace různých chemických forem Se. Na disk agaru s myceliem bylo přidáno koncentrace Se ve formě seleničitanu sodného, selenanu sodného nebo selenomethioninu (SeMet). Největší inhibice růstu mycelia a produkce biomasy byla pozorována při nejvyšší koncentraci Se. Nejvyšší akumulace Se v myceliu byla pozorována v kultivačním médiu se seleničitanem sodným. Suplementace Se ve formě seleničitanu sodného byla tedy doporučena k obohacení hub *P. ostreatus* než selenan sodný a SeMet.

Nedávno bylo navrženo, že obohacení potravin Li je vhodné použít jako strategii na podporu psychiatrické léčby a snížení násilného chování v obecné populaci. Proto byla provedena studie, která rozvinula kultivaci tří komerčně významných druhů hub, *Ganoderma lucidum*, *Pleurotus eryngii* a *Pleurotus ostreatus*, na substrátech obohacených Li ve formě octanu nebo uhličitanu. Byl hodnocen růst kolonie mycelia, produkce plodnic a akumulace Li. Bylo zjištěno, že Li_2CO_3 byla biologicky dostupnější formou, i když měla větší nepříznivý účinek na růst hub. Suplementace substrátu CH_3COOLi vedla k nižší nebo žádné zpomalení růstu, ale snížila absorpci Li. Nejslibnější výsledky byly získány pro *G. lucidum*, které nashromáždilo až $73,58 \pm 10,87$ (Li_2CO_3) a $25,59 \pm 9,98$ (CH_3COOLi) mg Li kg^{-1} suché hmotnosti. Vzhledem k popularitě zkoumaných druhů hub v různých kulturách, by jejich obohacené Li plodnice mohly potenciálně najít sociální přijetí. Koncentrace Li akumulované v plodnicích nebyly dostatečně vysoké pro použití v psychiatrické léčbě, ale mohly by potenciálně podpořit denní příjem Li pro úpravu chování nebo pro účely prospěšné pro zdraví. K úplnému prozkoumání bezpečnostních důsledků hub obohacených o Li na člověka jsou nutné další studie (Mleczek et al. 2017).

3.8 Doplnky stravy

Doplněk stravy je definován podle zákona č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů, ve znění pozdějších předpisů (dále jen „zákon o potravinách a tabákových výrobcích“) jako potravinu, jejímž účelem je doplňovat běžnou stravu a která je koncentrovaným zdrojem vitaminů a minerálních látek nebo dalších látek s nutričním nebo fyziologickým účinkem, obsažených v potravině samostatně nebo v kombinaci, určená k přímé spotřebě v malých odměřených množstvích (Sbírka předpisů České republiky 1997).

Potravinové doplňky nesmějí být označeny na obalech léčebnou indikací (ani nesmějí naznačovat vyléčení nebo prevenci nemocí), což platí pouze pro léčiva. Doplnky stravy jsou podskupinou potravin, a proto musí splňovat všechny platné normy kladené na potraviny. Jejich dodržování kontroluje Státní zemědělská a potravinářská inspekce (SZPI), která rovněž dohlíží na právní komunikaci doplňku stravy (obaly, reklamní letáky atd.), zda nedochází ke klamání spotřebitele. Kromě toho kontroluje dodržování výrobních postupů, které zaručí kvalitu a nezávadnost produktů (Procházková 2012).

Velké množství látek se silnými a jedinečnými přínosy pro zdraví bylo izolováno z léčivých hub a distribuováno do celého světa. Mnohé z nich nejsou přísně farmaceutickými výrobky („skutečnými“ léky), ale představují novou třídu doplňků stravy. Houbové doplňky stravy jsou produkty buď z mycelií nebo z plodnic hub a jsou konzumovány ve formě tobolek, tablet nebo extraktů a mají potenciální terapeutické účinky (Wasser et al. 2000).

Výhody používání doplňků stravy na bázi hub z hlediska bezpečnosti (na rozdíl od rostlinných přípravků) jsou: (1) převážná většina hub používaných k výrobě doplňků stravy je pěstována komerčně (a ne sbírána ve volné přírodě). To poskytuje velmi dobré šance na správnou identifikaci a pro čisté a nefalšované produkty. (2) Houby se snadno množí vegetativně, a udržují tak jeden klon. Mycelium lze skladovat po dlouhou dobu a po značné době lze zkontrolovat genetickou a biochemickou integritu. (3) Hlavní výhodou je podle názoru Wassera et al. (2000) je, že mnoho hub, které nelze pěstovat uměle, jsou schopné růst jako micelární biomasa v tekutých médiích.

4 Metodika

4.1 Příprava a obohacování substrátů hlívy ústříčné (*Pleurotus ostreatus*) různými koncentracemi Se a Zn

4.1.1 Harmonogram pokusů

Pokus č. 1: příprava: 9. 3. 2020
založení: 11. 3. 2020
ukončení: 16. 04. 2020

Pokus č. 2: příprava: 5. 7. 2020
založení: 7. 7. 2020
ukončení: 14. 8. 2020

Pokus č. 3: příprava: 6. 7. 2020
založení: 10. 7. 2020
ukončení: 18. 8. 2020

Pokus č. 4: příprava: 10. 7. 2020
založení: 13. 7. 2020
ukončení: 20. 8. 2020

stanovení obsahu prvků: 24. 11. 2020 – 29. 1. 2021

Materiál

K založení pokusů bylo použito sadby hub připravené na pšeničných zrnech, vody, lahví od mléka, alobalové folie a popřípadě gumiček na upevnění. K samotné přípravě substrátů byly potřeba kyblíky, sáčky, gumové rukavice či nějaká pomůcka na promíchání. K obohacení substrátů byly potřeba roztoky o různých koncentracích seleničitanu sodného (Na_2SeO_3) a síranu zinečnatého (ZnSO_4). Při manipulaci s těmito látkami byly použity ochranné prostředky.

Pro očkování byly použité různé kmeny hlív, jako je: *P. ostreatus* 2019, *P. citrinopileatus* 5114, *P. ostreatus* 5930, *P. ostreatus* HK35, *P. ostreatus* SPOPO, *P. ostreatus* F2013, *P. ostreatus* 2013 AMYCEL. Pro očkování sadby byl mimo jiné třeba flowbox (zajištění sterilního prostředí), sterilní lžice a nůž na nabírání sadby, gumové rukavice a technický líh pro sterilizaci pomůcek.

Příprava substrátů

4.1.2 Pokus č. 1 - Ověření přídavku vody s 3. různými koncentracemi seleničitanu sodného do slaměných pelet a zjištění jeho příjmu do plodnic hlívy

Byly připraveny 4 varianty substrátů.

Substrát byl připraven v poměru 1 díl pelet: 2 díly vody. Od každé varianty (8 bloků vždy 14 litrů celkem) bylo připraveno 21 kg substrátu. K 7 kg slaměných pelet bylo přidáno 14 litrů vody (kontrola) nebo 14 litrů roztoku seleničitanu sodného. Tabulka č. 6 znázorňuje počet potřebných 2kg bloků pro pěstování jednotlivých variant.

Tabulka č. 6. Příprava substrátů pro založení pokusu č. 1

Varianty	Počty bloků o hmotnosti 2000 g	Bylo připraveno	Potřeba vody ke každé variantě
Kontrola 1	4 bloky hlívy	8 kg substrátu	14 litrů
Koncentrace Se nejnižší 2	4 bloky substrátu hlívy		dtto
Koncentrace Se střední 3	4 bloky substrátu hlívy		dtto
Koncentrace Se nejvyšší 4	4 bloky substrátu hlívy		dtto
CELKEM	32 bloků		dtto

Varianta 1 je Kontrolní bez selenu.

Varianta 2 je obohacena 2 mg Se na 1 kg substrátu (vztaženo na vlhký substrát).

Varianta 3 je obohacena 6 mg Se na 1 kg substrátu.

Varianta 4 je obohacena 18 mg Se na 1 kg substrátu.

Ekvivalenty přípravy:

Na 1 kg substrátu pipetovat 10 ml roztoku seleničitanu sodného - 210 ml roztoku

Což dělá 7 kg pelet + 13,79 l vody + roztoku seleničitanu sodného

Substrát se plnil do sáčků, pak následovalo propaření v autoklávu při teplotě 90 °C po dobu 24 hodin.

4.1.3 Pokus č. 2 – Ověření přídavku vody s různými koncentracemi síranu zinečnatého do slaměných pelet a zjištění jeho příjmu do plodnic *Pleurotus ostreatus*

Byly připraveny 4 varianty substrátů.

Slaměné pelety byly smíchány s vodou v poměru 1 díl pelet: 2 díly vody. Bylo připraveno 21 kg substrátu (7 kg pelet + 14 litrů vody s roztokem s různými koncentracemi síranu zinečnatého).

Koncentrace:

10, 20, 40 mg síranu zinečnatého/kg vlhkého substrátu

Kontrola – bez síranu zinečnatého

Substrát byl naplněn do sáčků a tepelně ošetřen při 90 °C po dobu 24 hodin.

4.1.4 Pokus č. 3 – Vliv jedné koncentrace Se na různé kmeny hlívy

Byly připraveny 2 varianty substrátů: se selenem a kontrola bez selenu.

Substrát byl připraven v poměru 1 díl pelet: 2 díly vody. Od každé varianty (8 bloků vždy 14 litrů celkem) bylo připraveno 21 kg substrátu. K 7 kg pelet přidáno 14 litrů vody (kontrola) nebo 14 litrů roztoku seleničitanu sodného. Tabulka č. 7 znázorňuje postup přípravy substrátů pro pěstování kontrolních a obohacených variant plodnic.

Tabulka č. 7. Příprava substrátů pro založení pokusu č. 3

Varianty	Počty bloků o hmotnosti 2000 g	Bude připraveno	Potřeba vody ke každé variantě
Kontrola bez selenu	12 bloky hlívy	8 kg substrátu	14 litrů
Koncentrace selenu 6 mg	12 bloky hlívy	8 kg substrátu	14 litrů (Se)

Substrát se plnil do sáčků, a pak následuje propaření při 90 °C po dobu 24 hodin.

Varianta 1 je kontrolní bez selenu.

Varianta 2 je obohacena 6 mg Se na 1 kg substrátu.

Ekvivalenty přípravy:

Na 1 kg substrátu pipetovat 10 ml roztoku seleničitanu sodného - 210 ml roztoku

Což dělá 7 kg pelet + 13,79 l vody + roztoku seleničitanu sodného

Příprava substrátu a zahájení pasterizace při 90° po dobu 24 hodin.

4.1.5 Pokus č. 4 – Hlíva na různých substrátech

Byly připraveny 3 varianty substrátů:

1. Směs 4 kg listnatých pilin + 4 kg Miscanthus, 2 kg pšeničných otrub a 15 l vody. Do 15 l vody bylo přidáno 40 ml roztoku seleničitanu sodného (1 mg/kg substrátu). Směs se plnila po 2 kg do sáčků. Vyšlo celkem 25 kg (10 sáčků).
2. Miscanthus 8 kg + 2 kg otrub a 15 l vody. Do 15 l vody bylo přidáno 250 ml seleničitanu sodného (6 mg/kg substrátu). Směs se plnila do 2 kg sáčků. Vyšlo celkem 25 kg (11 sáčků).
3. Směs 2 kg listnatých pilin + 2 kg Miscanthus, 1 kg pšeničných otrub a 7,5 l vody. Do 7,5 l vody bylo přidáno 110 ml seleničitanu sodného (6 mg/kg substrátu). Směs se plnila do 2 kg sáčků. Vyšlo celkem 12,5 kg (5 sáčků).

Poté následovala pasterizace při 90 °C po dobu 24 hodin.

Postup založení pokusů

Pro přípravu substrátu byly lihem vydesinfikovány kbelíky, ve kterých se substrát promíchával. Hotový substrát byl navážen do sáčků ve hmotnosti 2 kg. Připravené roztoky seleničitanu sodného a síranu zinečnatého byly aplikovány smícháním s horkou vodou. Během manipulace s roztoky byly použity ochranné pomůcky (rouška, rukavice, plášť), aby nedošlo k potřísnění kůže. Při pokusu číslo 4 byl substrát také naplněn do kyblíků, aby bylo možné měřit

rychlost růstu mycelia. Pak jednotlivé sáčky a kyblíky byly pasterizovány v autoklávu při teplotě 90 °C po dobu 24 hodin (Příloha č. 1).

Po pasteraci probíhalo očkování substrátů sadbou s daným kmenem hlívy. Očkování probíhalo ve flowboxu, aby se zajistilo sterilní prostředí. Sklenice se sadbou hub byly vytřeny v oblasti hrdla technickým líhem. Sadba byla rozdrčena sterilizovanou tyčinkou a nasypaná do sáčků malým otvorem ve množství 3-4 lžíce sadby. Po očkování byly sáčky uzavřeny na impulzní svářečce. Následně byla sadba rovnoměrně promíchána do celého profilu substrátu.

Kyblíky byly očkovány na povrch substrátu a pak byly uzavřeny víčkem s otvorem uprostřed, kde se nachází pěnová guma, umožňující výměnu plynů v substrátu. Naplněné sáčky a kyblíky se substrátem hlívy, obohaceným o dané koncentrace selenu a zinku se uložily na temné místo pro kolonizaci (prorůstání) mycelia při teplotě cca 25 °C po dobu asi 18–20 dnů (viz Příloha č. 2).

Po úplné kolonizaci myceliem byly sáčky přemístěny na fruktifikaci do teploty 10 °C, kde byl také zajištěn dostatek světla. Sáčky se nařízly, aby plodnice mohly prorůstat ven. Pro správné tvarování plodnic byla zajištěna intenzita osvětlení 400 luxů (na bocích bloků byla intenzita menší, kolem 200 luxů) po dobu 12 hodin. Během celého procesu byl kontrolován přívod a cirkulace vzduchu pomocí ventilátorů s filtry.

Měření přírůstků v kyblících se provádělo v pravidelných intervalech, ideálně každý sedmý den. Každý kyblík se vertikálně rozdělil pomocí lihového fixu na přibližně stejné 4 části. Při každém měření přírůstků se na každou část zapsaly různě barevnými fixy (stejný den měření = stejná barva fixu) hranice prorostlého mycelia a neprorostlého substrátu. Po skončení prorůstání se tyto jednotlivé hranice změřily od povrchu až k poslední, zprůměrovaly a statisticky zhodnotily. Konec prorůstání nastal tehdy, když mycelium dorostlo ke dnu u prvního kyblíku. Pokus byl tedy ukončen, i když bylo u dna prorostlé mycelium jen u jednoho kyblíku ze všech.

Příprava vzorků plodnic

Dané varianty vzorků byly sklizeny při určité velikosti plodnic (prodejní velikost, plodnice má mírně podvinutý okraj klobouku). Tvorba plodnic hlívy ústříčné je znázorněna v Příloze č. 3. Jednotlivé varianty byly sklizeny po 30-40 dnech od založení pokusu (viz Příloha č. 4 a 5). Sklizené vzorky (viz Příloha č. 6) byly přeneseny k zmrazení do mrazáku a posléze byly zamražené vzorky lyofilizovány.

Vysušené vzorky hub byly zhomogenizovány v mlýnku na kávu s mlecími kameny ETA 0067. Vzorky byly homogenizovány postupně od nejnižší koncentrace přidaných prvků (kontrola) po nejvyšší. Zhomogenizované vzorky jednotlivých variant jsou znázorněny v Příloze č. 7. Vzorky byly dále zmineralizovány a dodány k analýze hmotnostní spektrometrií s indukčně vázaným plazmatem.

4.2 Analýza vzorků plodnic hlívy

4.2.1 Měření obsahu Se a Zn v plodnicích technikou ICP-MS

Byl měřen obsah selenu a zinku v plodnicích *Pleurotus ostreatus*, kultivovaných na různých substrátech obohacených různými koncentracemi solí Se a Zn. Vzorky pro měření obsahu prvků byly odebrány po skončení pokusu a následně proběhlo samotné měření obsahu prvků. Výsledky jsou přepočteny na sušinu (při 105 °C).

Použité chemikálie

- Kyselina dusičná
- Peroxid vodíku

Přístrojové vybavení

- ICP-MS – Hmotnostní spektrometr s indukčně vázaným plazmatem
- Mikrovlnný rozkladný systém
- Viálky z křemenného skla
- Pipeta
- Zkumavky
- Analytické váhy

Postup

Mineralizace vzorků proběhla v čistých viálkách z křemenného skla v mikrovlnném rozkladném systému (Discover, SP-D, CEM Corp., USA). Do každé z váleček bylo naváženo 0,2 g homogenizovaného vzorku (s přesností na 0,1 mg). Dále byly pipetou přidány 3 mL HNO₃ (Analspure, Analytika, Česká republika) a 3 mL H₂O₂ (p.a., ROTH, Německo). Byl použit následující protokol: 10 min ohřev na teplotu 180 °C, 10 min při teplotě 180 °C, 10 min schlazení na teplotu 50 °C. Mineralizát byl kvantitativně převeden do 50 ml plastové zkumavky a doplněn na finální objem 40 ml ultračistovou (Milli-Q systém, Millipore, SAS, Francie). V takto zředěných mineralizátech byla stanovena koncentrace Se, Fe a Zn při měření izotopů ⁷⁸Se, ⁵⁶Fe, ⁶⁶Zn technikou ICP-MS (Agilent 8900, Agilent Technologies Inc., USA). Jako interní standardy byly použity ⁴⁵Sc, ⁷²Ge, ⁷⁴Ge, ¹⁰³Rh. K zajištění kvality měření a správnosti výsledků metody pro stanovení obsahu prvků ve vzorcích hub byly pravidelně analyzovány také slepé vzorky a certifikovaný referenční materiál (BCR-185R, bovine liver).

Měření pomocí hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS, Inductively coupled plasma mass spectrometry) provedl ve své laboratoři FAPPZ ČZU Praha Suchdol Ing. Praus, PhD.

4.3 Statistické vyhodnocování výsledků

Pro statistické vyhodnocení výsledků byly použity následující metody: výpočet základních statistických charakteristik (průměr, směrodatná odchylka průměru); t-test pro nezávislé vzorky a jednofaktorová analýza rozptylu (ANOVA). Výsledky byly zhodnoceny na hladině průkaznosti $\alpha=0,05$. Pro všechny výpočty byl použit program STATISTICA 12.

5 Výsledky

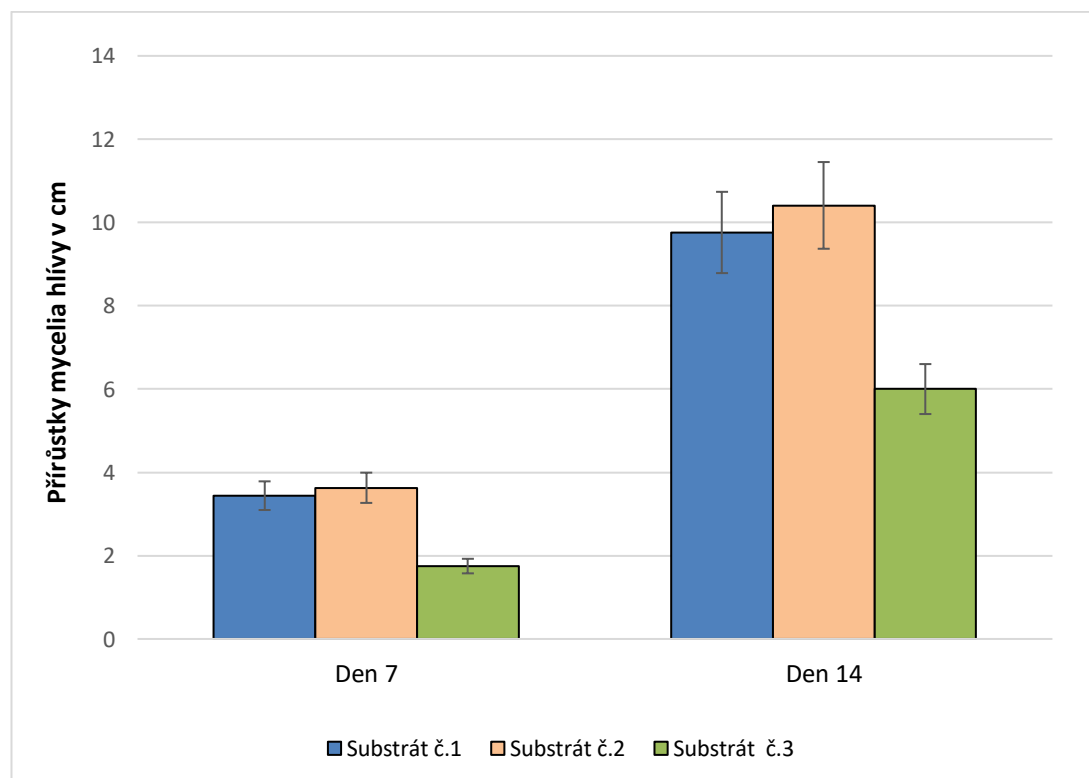
Kapitola výsledky zahrnuje podkapitolu „Vliv složení substrátu a přídavku seleničitanu sodného na růst mycelia *Pleurotus ostreatus*“, prováděné během založení pokusu č. 4 – Hlíva na různých substrátech. V grafu jsou znázorněny výsledky růstových zkoušek mycelia *Pleurotus ostreatus*. Všechny údaje v grafu představují průměr přírůstků mycelia v cm přesně měřených každý týden. Tabulky s jednotlivými přírůstky u všech variant a všech kyblíků viz Příloha č. 8.

Druhou podkapitolou je „Stanovení obsahu Se a Zn v plodnicích hub *Pleurotus ostreatus*“, kde je znázorněn pomocí grafů stanovený obsah prvků. Výsledky provedených pokusů obsahují slovní a grafické zhodnocení a jsou podrobně popsány níže.

Poslední podkapitolou je „Příprava doplňků stravy z plodnic *Pleurotus ostreatus*“, kde je popsána příprava doplňků stravy z obohacených selenem plodnic hlívy ústřičné, která byla realizována ve firmě Terezia Company.

5.1 Vliv složení substrátu a přídavku seleničitanu sodného na růst mycelia *Pleurotus ostreatus*

V tomto pokusu bylo provedeno porovnání růstu mycelia na 3. druzích substrátu obohacených seleničitanem sodným (substrát č. 1 - listnaté piliny, Miscanthus, pšeničné otruby + seleničitan sodný v koncentraci 1 mg/kg, substrát č. 2 – Miscanthus a pšeničné otruby + seleničitan sodný v koncentraci 6 mg/kg, substrát č. 3 - listnaté piliny, Miscanthus, pšeničné otruby + seleničitan sodný v koncentraci 6 mg/kg).



Graf č. 1. Dynamika růstu *Pleurotus ostreatus* na 3. různých substrátech

Pro porovnání rychlosti růstu mycelia na různých substrátech byly hodnoceny substráty č. 2 a č. 3, obsahující stejnou koncentraci (6 mg/kg) seleničitanu sodného. Z grafu č. 1 lze vyvodit, že rozdíly v rychlosti růstu mycelia je statisticky významné ($p < 0,05$). Přírůstky mycelia hlívy u 3. varianty obsahující přírůstek listnatých pilin byly v průměru o 4,41 cm menší než u 2. varianty.

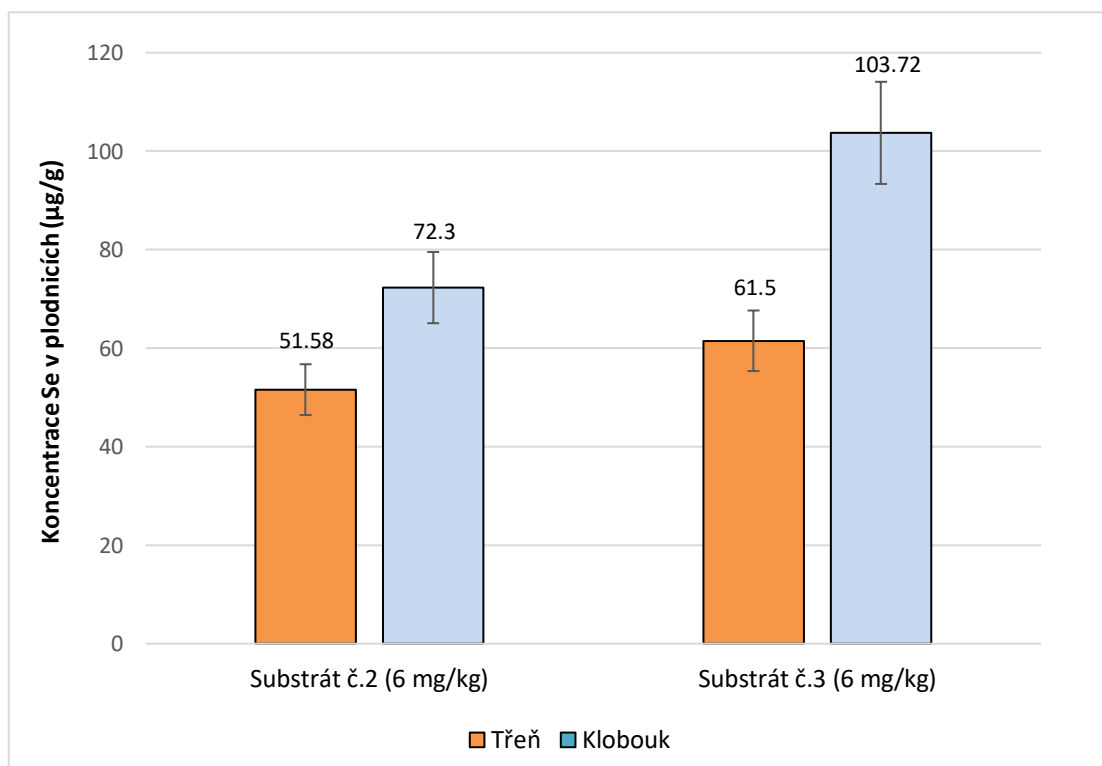
Pro porovnání rychlosti růstu mycelia na stejných substrátech obohacených různými koncentracemi seleničitanu sodného byly hodnoceny substráty č. 1 a č. 3, obsahující koncentrace 1 a 6 mg/kg. Je patrné, že rozdíl v rychlosti růstu mycelia je statisticky průkazný ($p < 0,05$). Průměry vzorků se významně liší. Přírůstky mycelia hlívy u 3. varianty obsahující přírůstek seleničitanu sodného v koncentraci 6 mg/kg byly v průměru o 3,76 cm menší než u 1. varianty. Mycelium roste rychleji na substrátu s nižší koncentrací seleničitanu sodného.

5.2 Stanovení obsahu Se a Zn v plodnicích hub *Pleurotus ostreatus*

5.2.1 Stanovení obsahu selenu v plodnicích hlívy pěstované na různých substrátech

Pro porovnání příjmu selenu plodnicemi *P. ostreatus* na různých substrátech byly hodnoceny substráty č. 2 a č. 3, obsahující stejnou koncentraci seleničitanu sodného. Analýza ukázala, že příjem selenu je statisticky významný ($p < 0,05$). Z provedeného pokusu vyplynulo, že nejvyšší příjem selenu měla hlíva ze substrátu č. 3, a to směs listnatých pilin, Miscanthusu a pšeničných otrub.

Také byl zjištěn průkazný rozdíl v obsahu selenu mezi klobouky a třeni hub. Z grafu č. 2 vyplývá, že na všech substrátech klobouky hub absorbovaly více selenu než třeně.

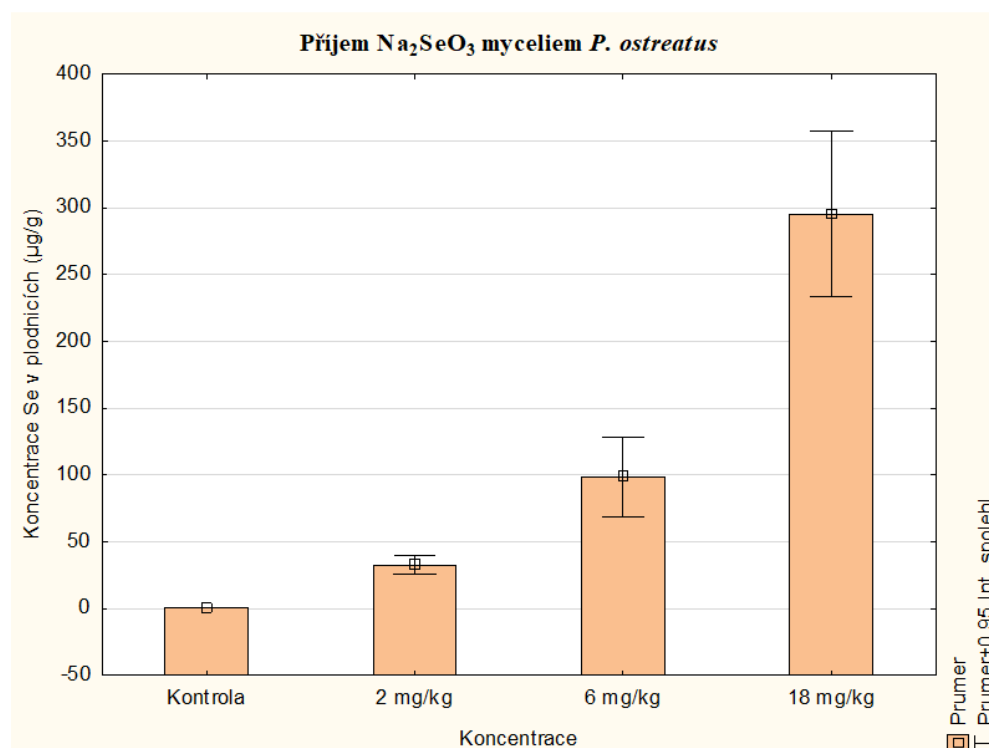


Graf č. 2. Obsah selenu v hlívě na různých substrátech

5.2.2 Stanovení obsahu selenu v plodnicích hlívy při různých koncentracích seleničitanu sodného v substrátu

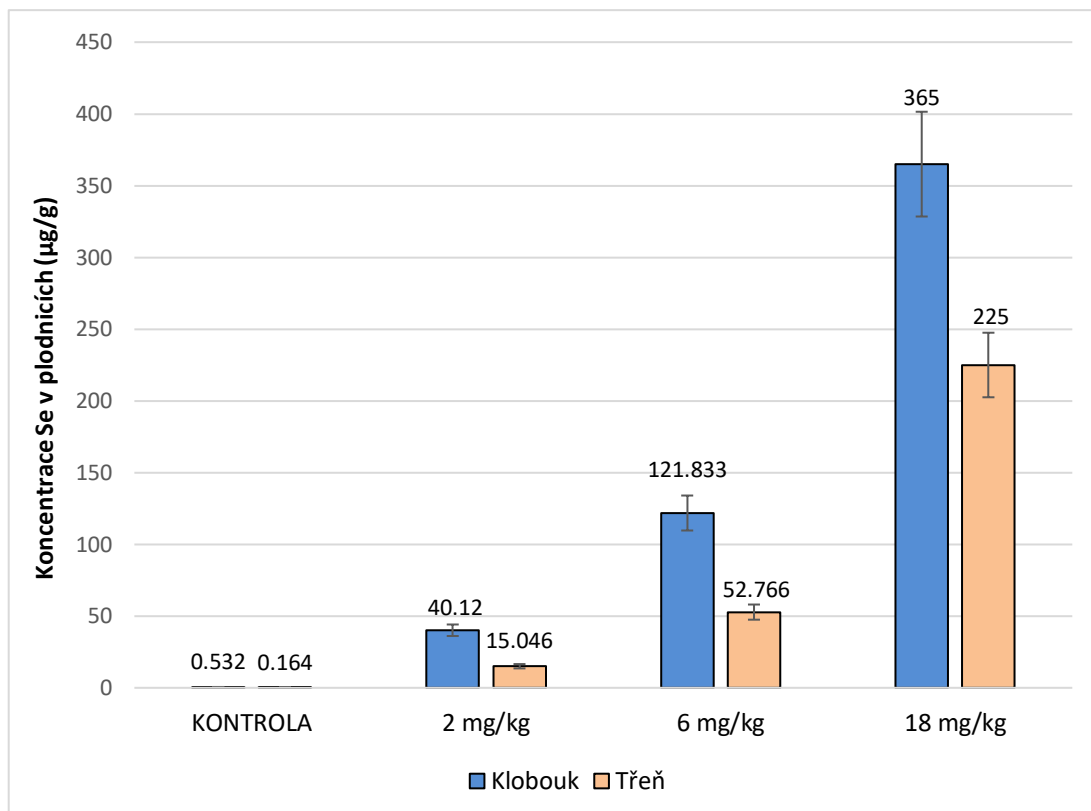
V tomto pokusu byl hodnocen přídavek seleničitanu sodného v postupně se zvyšujících koncentracích v porovnání s neobohaceným substrátem kontrolní skupiny vzorků.

Výsledky ukazují, že příjem selenu hlívou ústřičnou je statisticky průkazný ($p < 0,05$). Graf č. 3 znázorňuje, že se zvyšující se koncentrací selenu v substrátu se stejně zvyšuje obsah selenu v plodnicích hlívy. Koeficient absorpce selenu ve srovnání s koncentracemi 2 a 6 mg/kg je 3,2, zatímco ve srovnání s koncentracemi 6 a 18 mg/kg koeficient absorpce je 3,4. Z toho lze vyvodit, že nejvyšší příjem selenu byl dosažen při nejvyšší koncentraci (18 mg/kg) seleničitanu sodného v substrátu.



Graf č. 3. Obsah selenu v plodnicích hlívy při různých koncentracích seleničitanu sodného v substrátu

Současně v tomto pokusu byl porovnáván obsah selenu mezi klobouky a třeni hub. Bylo zjištěno, že rozdíl v obsahu selenu ve vzorků klobouků a třeních hub je statisticky významný ($p < 0,05$). Třené hub měly mnohem nižší obsah selenu. Ale podle grafu č. 4 je patrné, že při zvýšení koncentraci seleničitanu sodného v substrátu se snižuje rozdíl v obsahu selenu mezi klobouky a třeni.

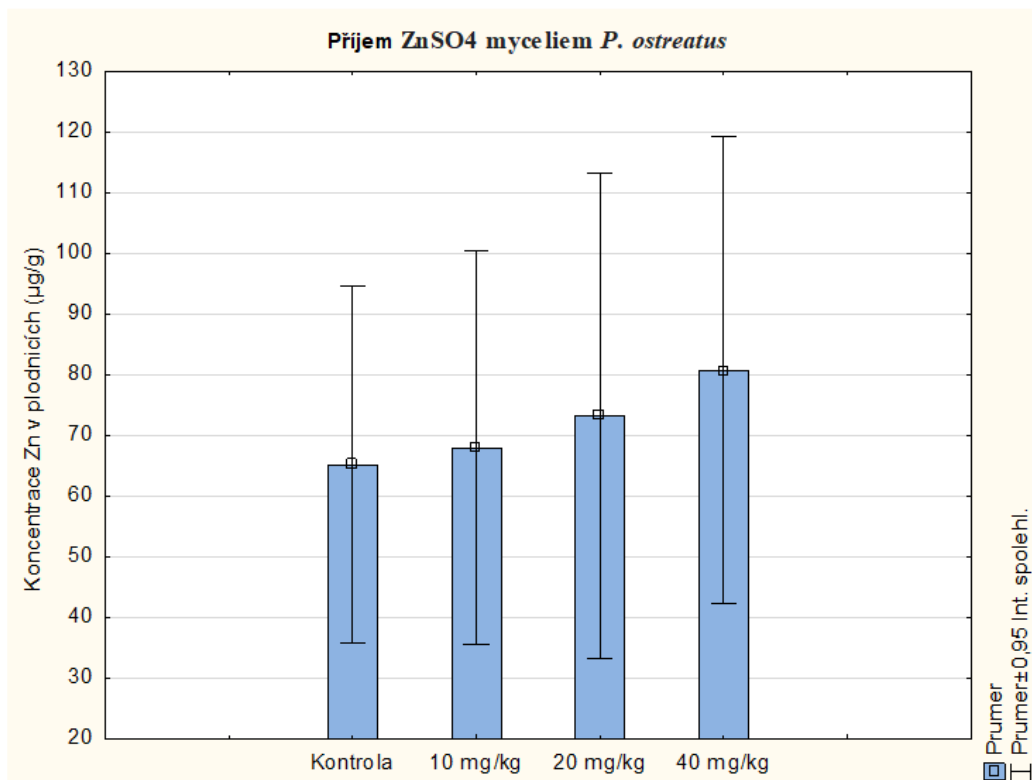


Graf č. 4. Obsah selenu v třeních a kloboucích plodnic hlívy při různých koncentracích seleničitanu sodného v substrátu

5.2.3 Stanovení obsahu zinku v plodnicích hlívy při různých koncentracích síranu zinečnatého v substrátu

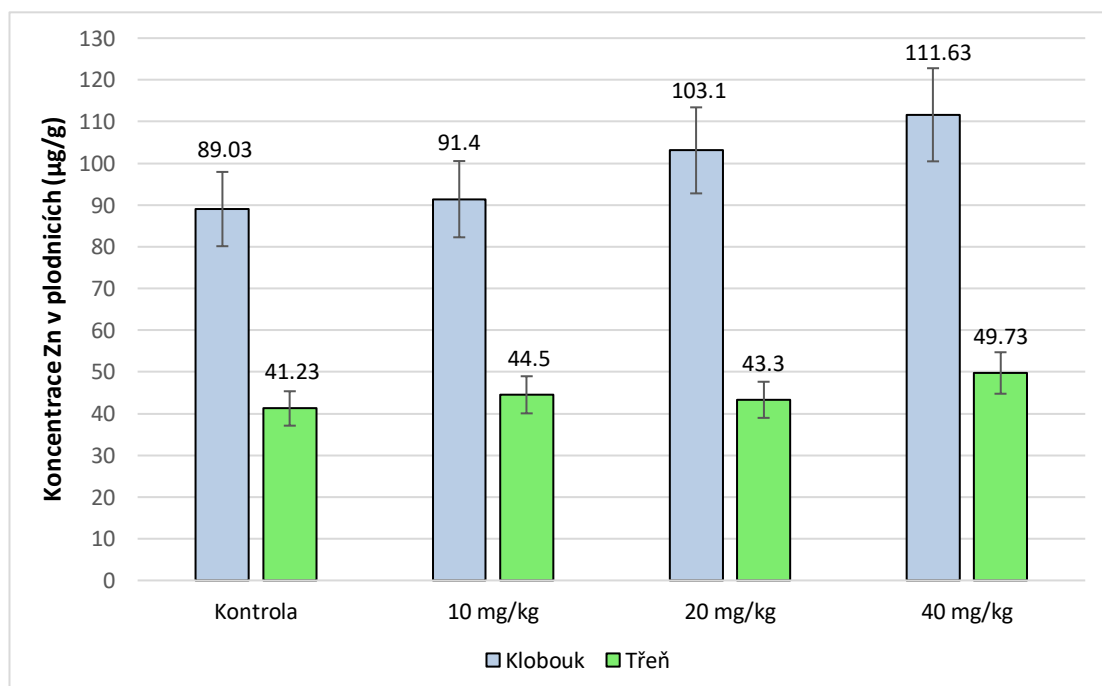
Byl hodnocen přídavek síranu zinečnatého v postupně se zvyšujících koncentracích v porovnání s neobohaceným substrátem kontrolní skupiny vzorků. Bylo zjištěno, že se zvýšením koncentraci zinku v substrátu se zvyšuje obsah zinku v plodnicích hlívy. Ale z grafu č. 5 je zřejmé, že rozdíly v obsahu zinku v plodnicích není statisticky významné ($p > 0,05$), vzorky mají velmi široký interval spolehlivosti.

Rozdíl v obsahu zinku mezi kontrolními vzorky a vzorky s nejvyšší koncentrací zinku v substrátu je v průměru 15,6 µg/g, což je v $1,2 \times$ vyšší. Lze vyvodit, že hlíva má nízkou schopnost akumulovat zinek ve svých plodnicích.



Graf č. 5. Obsah zinku v plodnicích hlívy při různých koncentracích síranu zinečnatého v substrátu

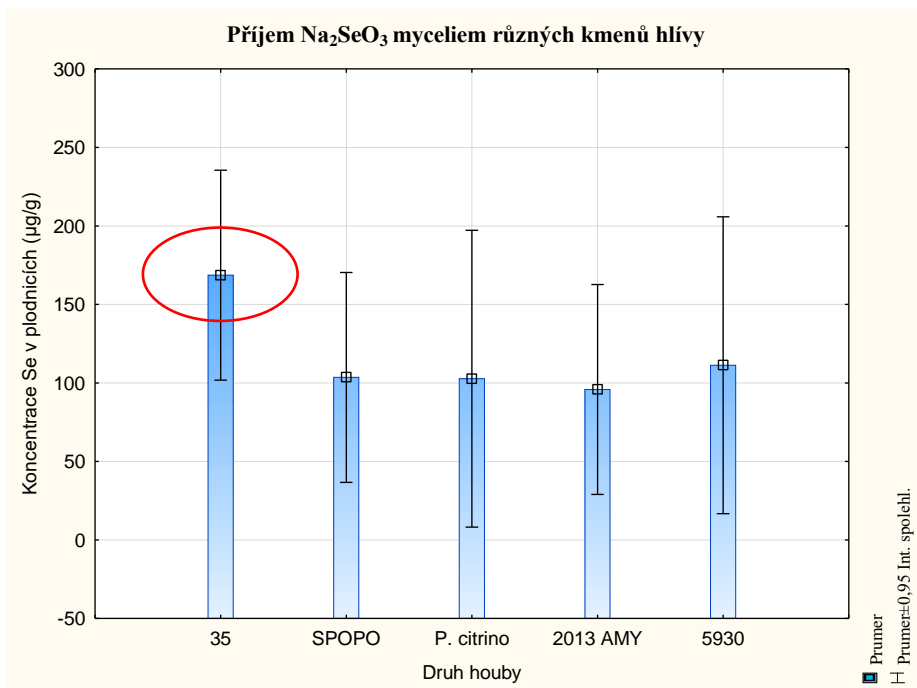
Rozdíl v obsahu zinku u vzorků klobouků a třeních hub je statisticky významný ($p < 0,05$). Průměry vzorků se liší, což znázorňuje graf č. 6. Výsledky ukazují, že na rozdíl od klobouků, při zvýšení koncentraci zinku v substrátech, obsah zinku v třeních zůstává téměř ve stejných hodnotách.



Graf č. 6. Obsah zinku v třeních a kloboucích plodnic hlívy při různých koncentracích síranu zinečnatého v substrátu

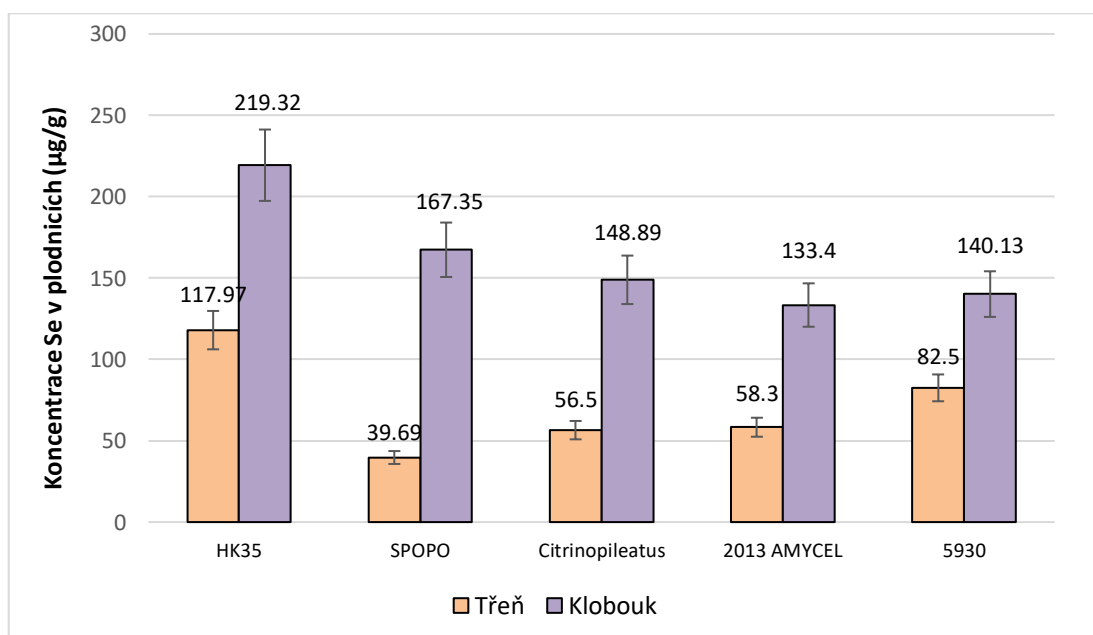
5.2.4 Stanovení obsahu selenu v plodnicích různých kmenů hlívy

Tento pokus porovnával vliv přidavku selenu v koncentraci 6 mg/kg do substrátů s různými kmeny hlívy. Výsledky ukazují, že nebyly zjištěny statisticky průkazné rozdíly ($p > 0,05$) mezi příjmem selenu různými kmeny hlívy. Nicméně, z grafu č. 7 lze vyvodit, že nejvyšší příjem selenu měl kmen HK35. K prokázání průkaznosti je zapotřebí více opakování.



Graf č. 7. Průměrné hodnoty obsahu selenu v různých kmenech hlívy

Současně byl hodnocen obsah selenu v kloboucích a třeních hub. Graf č. 8 znázorňuje, že nejvyšší příjem selenu byl u kmene hlívy HK35, a to jak v kloboucích, tak v třeních.



Graf č. 8. Obsah selenu v třeních a kloboucích různých kmenů hlívy

5.3 Příprava doplňků stravy z plodnic *Pleurotus ostreatus*

Předchozí výsledky ukazují, že plodnice hlívy ústříčné obohacené zinkem nejsou vhodné pro klinické studie. Proto jsme pokusily připravit doplňky stravy pouze z plodnic obohacených selenem.

Při zamýšleném použití hub jako selenový doplněk stravy, by se výrobní proces musel upravit tak, aby bylo dosaženo optimální koncentrace selenu v houbách nastavením správné koncentrace seleničitanu sodného v substrátu. Společnost Terezia Company má požadavek na vyšší obsah selenu v obohacených plodnicích. Na základě výsledků firma vyhodnotila, že koncentrace 2 a 6 mg seleničitanu sodného/ kg substrátu je nedostatečná pro výrobu doplňku stravy obsahující denní referenční hodnotu příjmu selenu. Při přípravě substrátu pro hlívu s vysokým obsahem Se ke klinickému pokusu bylo použito roztoku na nejvyšší hladině (18 mg Se na 1 kg substrátu).

Podarilo se získat 0,8 kg sušené hlívy, která byla jemně namleta a předána do Terezia Company. Výsledky měření obsahu selenu v hlívě ke klinickému pokusu viz Tabulka č. 8.

Tabulka č. 8. Průměrná hodnota obsahu Se, Zn a Fe v hlívě ze substrátu ke klinickému pokusu

Se		Fe		Zn	
$\mu\text{g/g}$	$\pm \text{SD}$	$\mu\text{g/g}$	$\pm \text{SD}$	$\mu\text{g/g}$	$\pm \text{SD}$
69,1	2,7	43,2	2,5	43,5	1,1

SD – Standard deviation (směrodatná odchylka)

Analýza ukázala, že obsah Se v houbách byl v rozmezí 69,1 $\mu\text{g/g}$ sušiny plodnic. Bylo navrženo několik variant kapslí podle jejich velikosti a obsahu Se (% z denní referenční hodnoty příjmu). Firma se rozhodla, že nejlepší variantou bude 300 mg hlívy v 1 kapsli, což je 37 % z RHP selenu (viz Tabulka 9).

Tabulka č. 9. Zamýšlené velikostní varianty kapslí

Hlíva ústříčná sušený prášek v 1 cps – Selen 69 $\mu\text{g/g}$					
Plnění do kapsle	250 mg	270 mg	300 mg	320 mg	350 mg
Obsah Se (μg)	17,25 μg	18,63 μg	20,7 μg	22 μg	24 μg
Obsah Se (% RHP)	(31 % RHP)	(33 % RHP)	(37 % RHP)	(40 % RHP)	(43 % RHP)

pozn. 55 μg Se = 100 % RHP

RHP – referenční hodnota příjmu

6 Diskuze

Rychlost růstu mycelia *Pleurotus ostreatus* byla průkazně ovlivněna složením substrátu. Z výsledků růstových zkoušek mycelia je patrné, že mycelium *Pleurotus ostreatus* prorůstalo nejrychleji substrátem z *Miscanthusu* a pšeničných otrub než stejný substrát s přidavkem listnatých pilin. Pokusy provedené Sobieralskim et al. (2011) prokázaly, že nejlepší růst mycelia zkoumaných kmenů *P. ostreatus* byl zjištěn na substrátech z pšeničné a žitné slámy a lněného pazdeří a až poté z topolových pilin. Významně horší růst mycelia byl pozorován v případě substrátů z březových a dubových pilin. Zervakis et al. (2001) uvádějí velmi dobrý růst mycelia *Pleurotus* na substrátu z bavlněného odpadu. Obohacené dubové piliny a výlisky olivových semen v tomto pokusu byly špatným substrátem pro většinu zkoumaných druhů hub. Lze tedy předpokládat, že substrát z listnatých pilin může zpomalit růst mycelia.

Na druhou stranu, naše výsledky příjmu selenu plodnicemi hlívy z tohoto pokusu (pokus č. 4) ukazují, že plodnice z pilinového substrátu naakumulovaly mnohem více selenu. Tento jev může pravděpodobně způsobovat pomalejší růst mycelia na substrátu s přidavkem listnatých pilin. Silva et al. (2019) uvádějí, že přidavek stopových prvků, zejména Se, může ovlivnit rychlost růstu mycelia hlívy ústřičné. Stajic et al. (2005) svými pokusy zjistili, že mezi zkoumanými zdroji Se se nejprůzračnějším ukázal seleničitan sodný, zatímco selenan sodný byl nejméně příznivým zdrojem Se pro mycelium u většiny studovaných kmenů *Pleurotus*. V našich pokusech se selenem jsme také použili seleničitan sodný (Na_2SeO_3). Ve své studii Silva et al. (2019) prokázali, že největší inhibice růstu mycelia a produkce biomasy byla pozorována při nejvyšší koncentraci Se (75 mg L^{-1}). Muñoz et al. (2006) zjistili, že Se se specificky váže na chitin v buněčných stěnách *P. ostreatus*. Navíc nižší koncentrace Se stimulovala růst hub, zatímco vyšší koncentrace měla inhibiční účinek. Toto tvrzení potvrdila i studie Zięby et al. (2020), která porovnávala přidání Se a Zn do kultivačního média *P. eryngii*. Obohacení síranem zinečnatým a hydroaspartátem zinečnatým nevedlo ke snížení výtěžnosti, ale přidání seleničitanu vedlo ke dvojnásobnému snížení výnosu v porovnání se zbývajícími pokusy. Aplikace síranu zinečnatého a hydroaspartátu zinku významně zvýšila výtěžnost mycelia ve srovnání s kontrolou, zatímco seleničitan neovlivnil produktivitu mycelia *P. eryngii*. Náš pokus potvrdil inhibiční účinek selenu na rychlost růstu mycelia hub uváděný předchozími autory (Muñoz et al. 2006; Silva et al. 2019; Zięba et al. 2020).

U pokusu č. 4 s obohacováním různých substrátů seleničitanem sodným bylo zjištěno, že příjem selenu hlívou je statisticky průkazný, a nejvyšší příjem selenu měla hlíva ze substrátu s přidavkem listnatých pilin. Ve své studii Silva et al. (2012) uvádějí, že pěstování hub obohacených o Se v substrátu z kávových slupek vykazovalo zvýšenou biologickou účinnost a absorpci Se. Výsledky studii Bhatia et al. (2013) ukazují vysoký potenciál zemědělských zbytků bohatých na selen jako substrátů pro výrobu hub obohacených o Se a schopnost různých druhů hlívy ústřičné absorbovat selen. Jejich studie předpokládá potenciální využití zemědělských zbytků bohatých na selen k pěstování hub obohacených o Se pro aplikaci v doplňcích stravy.

Plodnice *P. ostreatus* byly schopny absorbovat a akumulovat Se při použití seleničitanu sodného k obohacení substrátů. Z výsledků pokusů č. 1, kde jsme sledovaly vliv obohacení 3. různými koncentracemi seleničitanu sodného slaměných pelet, vyplývá, že příjem selenu hlívou ústřičnou je statisticky významný. Při zvýšení koncentraci selenu v substrátu se úměrně zvyšuje

obsah selenu v plodnicích hlívy. Stejných výsledků dosáhli ve své studii Beelman a Royse (2005), kde selen se zvýšil v plodnicích *G. frondosa* úměrně k množství přidanému k syntetickému médiu na bázi pilin. Nejnižší testovaná koncentrace (2 mg/kg) vedla k výskytu 27,5 µg Se na g sušiny plodnic hub. Tato hodnota je nižší než hodnota pozorovaná Silvou et al. (2012) v houbách *P. ostreatus* obohacených selenem a pěstovaných na kávových slupkách, která byla v rozmezí 36 µg/g. Na druhou stranu, náš pokus potvrdil statisticky významné rozdíly mezi obsahem selenu v kloboucích a třeních hub. Různé studie (Stijve 1977; Falandysz 2008) uvádějí, že v kloboucích hub byl zjištěn vyšší obsah Se ve srovnání s třeni. Tedy naše nejnižší testovaná koncentrace (2 mg/kg) vedla k výskytu 40,12 µg Se na g sušiny klobouků hub, což je již více než dosáhli ve svém výzkumu Silva et al. (2012). V našem pokusu jsme dosáhli při nejvyšší koncentraci Se (18 mg/kg) v substrátu, koncentrace selenu v sušině klobouků plodnic je 270 až 430 µg/g, a to až 700krát vyšší ve srovnání s kontrolními vzorky. Výsledky studie Bhatia et al. (2013) ukazují, že koncentrace selenu v houbách z obohacených substrátů na bázi pšeničné slámy byla 800krát vyšší ve srovnání s kontrolními vzorky. Wang et al. (2005) ve své studii uvádějí, že: když selen v kultivačním médiu byl v koncentraci 10 až 20 mg/kg, v plodnicích hlívy koncentrace selenu mohla dosáhnout 70 až 120 µg na 100 g čerstvé hmoty. Silva et al. (2012) zjistili, že nejvyšší úroveň absorpce Se byla získána přidáním 51 mg seleničitanu sodného na kg substrátu. Tyto výsledky ukazují schopnost těchto hub absorbovat a zvyšovat obsah Se ve svých plodnicích.

Na rozdíl od pokusů předchozích autorů (Beelman & Royse 2005; Wang et al. 2005; Silva et al. 2012; Bhatia et al. 2013), většina našich pokusů probíhala na peletách pšeničné slámy, proto bylo dosaženo rozdílných výsledků v příjmu Se plodnicemi.

Výsledky pokusu č. 2, kde jsme sledovali příjem Zn do plodnic *Pleurotus ostreatus*, ukazují, že u vzorků plodnic hlívy ústříčné nejsou statisticky významné rozdíly v příjmu různých koncentrací zinku. Při nejvyšší koncentraci Zn (40 mg/kg) v substrátu byla koncentrace zinku v kloboucích plodnic hub 111,63 µg/g, zatímco kontrolní vzorky měly koncentrace zinku v průměru 89,03 µg/g. V našem experimentu byl účinek přidavku zinku zanedbatelný a v plodnicích *P. ostreatus* byl jen mírně zvýšen.

Nízká akumulace zinku plodnicemi hlívy může být ovlivněna chemickou formou přidaného Zn. Ve studii Zięby et al. (2020) bylo stanoveno, že obsah zinku v plodnicích se významně zvýšil pouze působením přidání hydroaspartátu zinečnatého do média. Také bylo zjištěno, že významně větší množství zinku absorbuje mycelium hlívy, než se akumuluje v plodnicích. V pokusech Zięby et al. (2020) obsah zinku v myceliu hub byl 19krát a 12krát vyšší než v kontrolní skupině po přidání síranu zinečnatého a hydroaspartátu zinečnatého. Toto tvrzení potvrdili Poursaeid et al. (2015), kteří sledovali vliv různých koncentrací zinku na bioakumulaci zinku a výtěžnost biomasy v myceliu i v plodnici *Pleurotus ostreatus* cv. *florida* kultivovaných v tekutém médiu. Výsledky ukázaly, že schopnost akumulace Zn v myceliích *P. florida* byla mnohem vyšší než v plodnicích. Lze tedy předpokládat, že mycelium hlívy obohacené zinkem by bylo také dobrým zdrojem pro použití jako doplněk stravy poskytující tento stopový prvek. V našich pokusech jsme akumulace zinku a selenu v myceliích hlívy nesledovali. V tomto pokusu jsme také zjistili, že sledované vzorky měly průkazné rozdíly v obsahu zinku v kloboucích a třeních hub. Výsledky ukázaly, že v kloboucích hub byl významně vyšší obsah zinku než třeních. Distribuce Zn v plodnicích (klobouky / třeně) různých taxonů

hub byla popsána Rudawskou a Leskem (2005 a, b). Obsah zinku byl vždy také vyšší v kloboucích než v třeních.

V pokusů č. 3 byl hodnocen vliv přídatku 6 mg seleničitanu sodného na 1 kg substrátu u různých kmenů hlívy. Významně vysoké hladiny příjmu Se byly pozorovány v plodnicích všech hub pěstovaných na slaměných peletách obohacených Se. Rozdíly v příjmu Se mezi různými kmeny hlívy nebyly statisticky významné, ale lze posoudit, že nejvyšší příjem selenu byl u hlívy kmene HK35, a to jak v kloboucích (219,32 $\mu\text{g/g}$), tak v třeních (117,97 $\mu\text{g/g}$). Nejnižší akumulace selenu v kloboucích byla u vzorků kmene hlívy 2013 AMYCEL (133,4 $\mu\text{g/g}$). Ve své studii Bhatia et al. (2013) také porovnávali pět různých druhů hlívy z hlediska absorpce selenu. Bylo zjištěno, že *P. djamor* akumuluje významně vysoké hladiny Se ve srovnání s kontrolními vzorky, následované *P. ostreatus*, *P. sajor-caju*, *P. fossulatus* a *P. citrinopileatus*. Tyto výsledky lze použít k výběru nejlepšího kmene pro pěstování obohacených selenem hub jako doplňků stravy.

Naše výsledky ukázaly, že nejvyšší příjem selenu hlívou ústřičnou byl zaznamenán při pěstování hlívy kmene HK35 na substrátu ze slaměných pelet obohacených seleničitanem sodným v koncentraci 18 mg/kg. Jedná se tedy o optimální podmínky pěstování hlívy obohacenou selenem. Silva et al. (2012) ve své studii zjistili, že Se přítomný v houbách *P. ostreatus* je biologicky dostupný, protože může procházet střevní bariérou a houby jej mohou zabudovat do proteinů. Forma Se je důležitým faktorem, který nedefinuje pouze jeho biologickou dostupnost, ale také jeho metabolickou cestu, distribuci, nutriční význam, akumulaci a toxicitu. Kieliszek a Błażej (2016) uvádějí, že organický Se je vhodnější formou než anorganický Se kvůli jeho absorpci lidmi a zvířaty, lepší biologické dostupnosti, biotransformaci a akumulačnímu potenciálu. Houby jsou nutričně vysoce ceněnou a chutnou potravou a jsou dobrým zdrojem selenu díky jejich schopnosti absorbovat a zabudovat je do bílkovin, aminokyselin (selenocystein, selenomethionin, Se-methylselenocystein), polysacharidů, nukleových kyselin a několik neidentifikovaných selenosloučenin (Navarro-Alarcon & Cabrera-Vique 2008; Milovanovic et al. 2013; Bhatia et al. 2013). Znalosti o chemických formách selenu, rychlosti jejich absorpce a biotransformačních cestách jsou důležité pro rozvoj biotechnologií pro přípravu nových doplňků stravy, které kompenzují nedostatek selenu v potravinách a krmivech, jakož i pomocných léků pro léčbu mnoha poruch a nemocí. Podle EFSA, koncentrace SEPP1 v plazmě je nejinformativnějším biomarkerem funkce selenu na základě jeho role v metabolismu selenu, protože reaguje na širokou škálu příjmu různých forem selenu. Vyrovnání plazmatické koncentrace SEPP1 je spojeno s plněním požadavku na selen, což lze použít jako kritérium pro stanovení doporučeného denního příjmu pro tento prvek (EFSA 2014).

Součástí této práce bylo mimo jiné sledování přípravy doplňku stravy z hub obohacených selenem, vypěstovaných na substrátu při nejvyšší koncentraci seleničitanu sodného (18 mg/kg). Bylo dosaženo takového množství selenu v kapslích (hmotností 300 mg), které odpovídá 20,7 μg , což je 37 % z legislativně stanovené denní referenční hodnoty příjmu Se pro dospělé (55 μg). Milovanovic et al. (2013) ve svém pokusu zjistili, že všechny testované druhy hub (*Flammulina velutipes*, *Ganoderma applanatum*, *Ganoderma lucidum*, *Lenzites betulinus*, *Pleurotus eryngii*, *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus pulmonarius*, *Trametes hirsuta*) byly uspokojivými zdroji Se kvůli tomu, že mohli tento stopový prvek obsahovat v

koncentracích v rozmezí od 15,8 % (*P. eryngii*) do 36,9 % (*P. ostreatus*) z doporučeno EFSA denního množství Se (55 µg).

Kvíčala (2003) zmiňuje, že maximální bezpečná denní dávka Se ve stravě je 400 µg. Ohledně volného projevu takto obohacených hub, Wang et al. (2005) uvádějí, že houby *P. ostreatus* je bezpečné ke konzumaci, protože konečná koncentrace selenu v houbách je nízká. Vzhledem ke schopnosti hub absorbovat anorganické formy selenu a přeměnit je na bioaktivní sloučeniny, lze houby použít jako selenové doplňky stravy, což poskytuje účinný způsob podpory zdraví (Milovanovic et al. 2013; Silva et al. 2019). Nicméně schopnost plodnic *P. ostreatus* absorbovat selen závisí na substrátu, použitému k jejich pěstování, druhu houby, formě a koncentraci Se v substrátu.

7 Závěr

Selen a zinek jsou důležité prvky pro většinu fyziologických a metabolických procesů v našem těle. Pěstování saprofytických hub na substrátech bohatých na selen a zinek může být účinným prostředkem k výrobě potravin obohacených těmito stopovými prvky. Moje diplomová práce byla věnována tomu, jak obohatit substrát používaný k pěstování hlívy ústříčné (*Pleurotus ostreatus*) o tyto prvky a následnému použití takto vypěstovaných hub v lidské výživě jako doplňků stravy.

Z výsledků můžeme usoudit, že *P. ostreatus* má různé schopnosti absorbovat Se a Zn přítomné ve formě seleničitanu sodného a síranu zinečnatého.

- V rámci experimentu bylo jednoznačně prokázáno, že hlíva ústříčná schopna absorbovat selen ze substrátu a akumulovat je ve svých plodnicích. Obsah selenu v plodnicích byl statisticky významný a byl úměrný k přidané koncentraci seleničitanu sodného k substrátu. Současně bylo stanoveno, že obsah Se v různých částech plodnic (klobouk / třeně) se průkazně liší. Klobouky hub absorbovaly více selenu než třeně.
- Dále bylo zjištěno, že vliv přídavku zinku nebyl statisticky prokázán. Obohacením substrátu síranem zinečnatým podařilo získat pouze mírně zvýšený obsah Zn v plodnicích. Nicméně výsledky ukazují, že klobouky hub akumulují více zinku než třeně.
- Byl ověřen vliv použitého substrátu pro pěstování *P. ostreatus* na akumulaci Se v plodnicích. V našem pokusu nejvyšší akumulace Se byla stanovena u plodnic ze substrátu na bázi listnatých pilin, *Miscanthusu* a pšeničných otrub. Také byl zaznamenán vysoký příjem selenu houbami pěstovanými na peletách pšeničné slámy.
- Výsledky ukázaly, že rychlost růstu mycelia *P. ostreatus* byla významně ovlivněna složením substrátu a použité koncentraci solí Se. Bylo stanoveno, že zvýšená koncentrace Se v substrátu a přídavek listnatých pilin zpomaluje růst mycelia.
- Vliv kmene hlívy použitého k obohacení selenem nebyl statisticky významný. Avšak získané námi data naznačují, že kmen HK35 má schopnost akumulovat více selenu než ostatní zkoumané druhy hlívy.
- Podle získaných výsledků byla stanovena koncentrace seleničitanu sodného 18 mg/kg jako vhodná pro přípravu substrátu pro obohacené selenem houby jako doplňky stravy. Podařilo se připravit doplňky stravy v kapslích o hmotnosti 300 mg a obsahem Se 20,7 µg, což je 37 % z denní referenční hodnoty příjmu Se pro dospělé (55 µg).

Data získaná vypracováním této diplomové práce lze použít k vývoji složení substrátů, optimální koncentrace solí a k výběru nejlepšího kmene pro pěstování obohacených selenem hub jako doplňků stravy.

8 Literatura

Antonín V, Jablonský I, Šašek V, Vančuríková Z. 2013. Houby jako lék. Otovo nakladatelství, Praha.

Beelman RB, Royse DJ. 2005. Selenium Enrichment of *Grifola frondosa* (Dicks.:Fr.) S.F.Gray (Maitake Mushroom). *International Journal of Medicinal Mushrooms*. Available from <http://dl.begellhouse.com/journals/708ae68d64b17c52,0d0f121956dd501b,0b4bc022690d2149.html> (accessed August 2020).

Bermano G, Méplan C, Mercer D, Hesketh J. 2021. Selenium and viral infection: Are there lessons for COVID-19? *British Journal of Nutrition* **125**:618-627.

Bhatia P, Aureli F, D'Amato M, Prakash R, Cameotra SS, Nagaraja TP, Cubadda F. 2013. Selenium bioaccessibility and speciation in biofortified *Pleurotus* mushrooms grown on selenium-rich agricultural residues. *Food Chem.* **140**:225-230.

Bhatia P, Prakash R, Prakash NT. 2013. Selenium uptake by edible oyster mushrooms (*Pleurotus* sp.) from selenium-hyperaccumulated wheat straw. *J Nutr Sci Vitaminol* **59**:69-72.

Brown K, Arthur J. 2001. Selenium, selenoproteins and human health: A review. *Public Health Nutrition* **4**:593-599.

Brown KH, Sara EW, Peerson JM. 2001. The Importance of Zinc in Human Nutrition and Estimation of the Global Prevalence of Zinc Deficiency. *Food and Nutrition Bulletin* **2**:113-125.

Burk RF, Norworthy BK, Hill KE, Motley AK and Byrne DW. 2006. Effects of chemical form of selenium on plasma biomarkers in a high-dose human supplementation trial. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention* **15**:804-810.

ČESKÁ REPUBLIKA. Zákon o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů. In: *Sbírka předpisů České republiky*. 19. 05. 1997, ročník 1997, 38/1997 Sb.

Dardenne M. 2003. Zinc and immune function. *Eur. J. Clin. Nutr.* **56**:20-23.

Davis CD, Milne DB, Nielsen FH. 2000. Changes in dietary zinc and copper affect zinc-status indicators of postmenopausal women, notably, extracellular superoxide dismutase and amyloid precursor proteins. *Am J Clin Nutr* **71**:781-788.

Dixit Y, Casado M, Cama-Moncunill R, Cama X, Markiewicz-Kesztycka M, Jacoby F, Cullen PJ, Sullivan C. 2017. Introduction to laser induced breakdown spectroscopy imaging in food: Salt diffusion in meat. *Journal of Food Engineering* **216**:120-124.

Dudka IA, Wasser SP, Bukhalo AS. 1978. *Industrial cultivation of edible mushrooms*. Nauk. Dumka. Kiev.

Duntas LH, Benvenega S. 2015. Selenium: an element for life. *Endocrine* **48**:756-775.

EFSA NDA Panel (EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies). 2014. Scientific Opinion on Dietary Reference Values for selenium. *EFSA Journal* 2014; **12**:3846.

EFSA NDA Panel (EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies). 2014. Scientific Opinion on Dietary Reference Values for zinc. *EFSA Journal* 2014; **12**:3844.

Estrada R, Royse DJ. 2006. Yield, size and bacterial blotch resistance of *Pleurotus eryngii* grown on cottonseed hulls/oak sawdust supplemented with manganese, copper and whole ground soybean. *Bioresource Technology*. Available from

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852406003592> (accessed January 2021).

Falandysz J. 2008. Selenium in Edible Mushrooms. *Journal of environmental science and health. Part C, Environmental carcinogenesis & ecotoxicology reviews* **26**:256-99.

Finley JW. 2005. Selenium accumulation in plant foods. *Nutr Rev.* **63**:196-202.

Finley JW. 2006. Bioavailability of selenium from foods. *Nutrition Reviews* **64**:146-151

Harmasa YM, Slobozhanina EI. 2014. Zinc essentiality and toxicity. *Biophysical aspects. Biofizika* **59**:322-37.

Heczková K. 2009. Vliv selenu na kolorektální karcinom. *Výživa a potraviny* **64**:5-8.

Heindl J. 2011. Zvýšení obsahu selenu v kuřecím mase [disertační práce]. Česká zemědělská univerzita v Praze, Praha.

Chasapis CT, Loutsidou AC, Spiliopoulou CA, Stefanidou ME. 2012. Zinc and human health: an update. *Arch Toxicol.* **86**:521-534.

Chasapis CT, Ntoupa PA, Spiliopoulou CA, Stefanidou ME. 2020. Recent aspects of the effects of zinc on human health. *Arch Toxicol.* **94**:1443-1460.

Choi S, Liu X, Pan Z. 2018. Zinc deficiency and cellular oxidative stress: prognostic implications in cardiovascular diseases. *Acta Pharmacol Sin* **39**:1120-1132.

Jablonský I, Šašek V, Koudela M. 2019. Jedlé a léčivé houby a jak je pěstovat. Profi Press, Praha.

Jablonský I, Šašek V. 2006. Jedlé a léčivé houby: pěstování a využití. Brázda, Praha.

Kamenská I. 2018. Zinek v potravinách rostlinného původu. [BSc. Thesis]. Masarykova univerzita, Brno.

Kaur G, Kalia A, Sodhi HS. 2018. Selenium biofortification of *Pleurotus* species and its effect on yield, phytochemical profiles, and protein chemistry of fruiting bodies. *J Food Biochem.* **42**:12467.

Kieliszek M, Błażej S. 2016. Current knowledge on the importance of selenium in food for living organisms: A review. *Molecules* **21**:609.

Klotz LO, Kröncke KD, Buchczyk DP, Sies H. 2003. Role of copper, zinc, selenium and Tellurium in the cellular defense against oxidative and nitrosative stress. *J. Nutr.* **133**:1448-1451.

Kuria A, Tian H, Li M, Wang Y, Aaseth JO, Zang J, Cao Y. 2020. Selenium status in the body and cardiovascular disease: a systematic review and meta-analysis. *Crit Rev Food Sci Nutr.* **17**:1-10.

Kvíčala J. 2003. Zvýšení příjmu mikronutrientu selenu – utopie, fikce, prozřetelnost či nutnost? – I. část. *Interní medicína pro praxi* **5**:295-300.

Lee CY, Park JE, Kim BB, Kim SM, Ro HS. 2009. Determination of mineral components in the cultivation substrates of edible mushrooms and their uptake into fruiting bodies. *Mycobiology* **37**:109-113.

Little PJ, Bhattacharya R, Moreyra AE, Korichneva IL. 2010. Zinc and cardiovascular disease. *Nutrition* **26**:1050–1057

Lubinski J, et al. 2018. Serum selenium levels predict survival after breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* **167**:591-598.

Maret W, Sandstead HH. 2006. Zinc requirements and the risks and benefits of zinc supplementation. *J Trace Elem Med Biol.* **20**:3-18.

Mehdi Y, Hornick JL, Istasse L, Dufrasne I. 2013. Selenium in the environment, metabolism and involvement in body functions. *Molecules* **18**:3292-3311.

Meunier N, O'Connor JM, Maiani G, Cashman KD, Secker DL, Ferry M, Roussel AM, Coudray C. 2005. Importance of zinc in the elderly: the ZENITH study. *Eur J Clin Nutr.* **59**:1-4.

Milovanovic I, Brcesi I, Stajic M, Knezevic A, Vukojevic J. 2013. Potential enrichment of medicinal mushrooms with selenium to obtain new dietary supplements. *International Journal of Medicinal Mushrooms* **15**:449-455.

Mleczek M, Siwulski M, Rzymiski P, Budzyńska S, Gąsecka M, Kalac P, Niedzielski P. 2017. Cultivation of mushrooms for production of food biofortified with lithium. *European Food Research and Technology* **243**:1097-1104.

Muñoz AHS, Kubachka K, Wrobel K, Corona JFG, Yathavakilla SKV, Caruso JA, Wrobel K. 2006. Se-Enriched Mycelia of *Pleurotus ostreatus*: Distribution of Selenium in Cell Walls and Cell Membranes/Cytosol. *J. Agric. Food Chem.* **54**:3440–3444.

Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 1169/2011 ze dne 25. října 2011 o poskytování informací o potravinách spotřebitelům. *Úřední věstník Evropské unie*, L 304/18-63, 22. 11. 2011.

Navarro-Alarcon M, Cabrera-Vique C. 2008. Selenium in food and the human body: A review. *Sci. Total Environ.* **400**:115-141.

Ngezimana W, Mtaita TA, Mtukwa I. 2007. Potential of organic residues in producing oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus* Fr. (Polyporaceae). *International Journal of Biological and Chemical Sciences* **1**:108-120.

Oliveira A, Leme F, Nomura C, Naozuka J. 2019. Elemental imaging by Laser-Induced Breakdown Spectroscopy to evaluate selenium enrichment effects in edible mushrooms. *Scientific Reports*. Available from <https://www.nature.com/articles/s41598-019-47338-7> (accessed February 2021).

Poursaeid N, Azadbakht A, Balali GR. 2015. Improvement of Zinc Bioaccumulation and Biomass Yield in the Mycelia and Fruiting Bodies of *Pleurotus florida* Cultured on Liquid Media. *Applied biochemistry and biotechnology* **175**:3387-3396.

Prasad AS. 2000. Effects of zinc deficiency on immune function. *J. Trace Elem. Exp. Med.* **13**:1-20.

Presnyakova MV, Kostina OV, Albitskaya ZV. 2019. Biological role of zinc and its importance for pathogenesis of autistic spectrum disorders. *Social and clinical psychiatry* **29**: 63-70.

Procházková P. 2012. Doplnky stravy a zdravotní tvrzení. Available from http://www.edukafarm.cz/data/soubory/casopisy/17/09_zdravotni_tvrzeni.pdf (accessed April 2021).

Quiñones-Muñoz TA, Navarrete NS, Acosta DFC, Gurrola ÉEC, Carbajal GRH, Santos EDCV. 2018. The Effect of Growth Substrate and Extraction Solvent on Biological Activities of Oyster Culinary Medicinal Mushroom *Pleurotus ostreatus* (Agaricomycetes). *International Journal of Medicinal Mushrooms* **20**:989-1001.

- Rayman MP. 2000. The importance of selenium to human health. *Lancet*. **356**:233-241.
- Rudawska M, Leski T. 2005a. Trace elements in fruiting bodies of ectomycorrhizal fungi growing in Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) stands in Poland. *Sci Tot Env*. **339**:103-115.
- Rudawska M, Leski T. 2005b. Macro- and microelement contents in fruiting bodies of wild mushrooms from the Notecka forest in west-central Poland. *Food Chem*. **92**:499-506.
- Russell RM, et al. 2001. Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc. The National Academies Press, Washington, DC.
- Salnikova EV. 2016. Human needs for zinc and its sources (review). *Trace Elements in Medicine* **17**:11-15.
- Silva M, Luz JM, Paiva A, Mendes DR, Carvalho AA, Naozuka J, Kasuya M. 2019. Growth and Tolerance of *Pleurotus ostreatus* at Different Selenium Forms. *Journal of Agricultural Science* **11**:151-158.
- Silva MCS, Naozuka J, Luz JMR, Assunção LS, Oliveira PV, Vanetti MCD, Bazzolli DMS, Kasuya MCM. 2012. Enrichment of *Pleurotus ostreatus* mushrooms with selenium in coffee husks. *Food Chemistry* **131**:558-563.
- Simonova A, Pfannhauser, W. 2008. Selen – Vorkommen, Wirkung und Versorgung. *Die Ernährung = Nutrition* **32**:364-378.
- Skalny AV, Rudakov IF. 2004. Bioelements in medicine, Moscow.
- Sobieralski K, Siwulski M, Sas-Golak I, Mańkowski J, Kotlińska T. 2011. Mycelium growth and yield of wild strains of *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) Quel. cultivated on waste materials from the textile industry. *Folia Horticulturae* **23**:67-71.
- Stajic M, Brceski I, Vukojević J, Duletic-Lausevic S. 2005. Ability of Selenium Absorption by Mycelia of *Pleurotus eryngii* (DC.:Fr.) Quel., Depending on Selenium Source in Medium. *International Journal of Medicinal Mushrooms* **7**:467-468.
- Stefanidou M, Maravelias C, Dona A, Spiliopoulou C. 2006. Zinc: a multipurpose trace element. *Arch Toxicol*. **80**:1-9.
- Stijve T. 1977. Selenium content of mushrooms. *Z Lebensm Unters Forch*. **164**:201-203.
- Sunde RA, et al. 2012. Selenium. *Modern Nutrition in Health and Disease* **11**:225-237.
- Suzuki KT, Doi C, Suzuki N. 2006. Metabolic pathway of ⁷⁶Se-methylselenocysteine compared with that of ⁷⁷Se-selenomethionine and ⁸²Se-selenite. *Toxicology and Applied Pharmacology* **217**:185-195.
- Suzuki Y, Hashiura Y, Matsumura K, Matsukawa T, Shinohara A, Furuta N. 2010. Dynamic pathways of selenium metabolism and excretion in mice under different selenium nutritional statuses. *Metallomics* **2**:126-132.
- Thiry C, Ruttens A, Temmerman LD, Schneider YJ, Pussemier L. 2012. Current knowledge in species-related bioavailability of selenium in food. *Food Chemistry* **130**:767-784.
- Vanderpas JB, Contempné B, Duale NL, Goossens W, Bebe N, Thorpe R, Ntambue K, Dumont J, Thilly CH, Diplock AT. 1990. Iodine and selenium deficiency associated with cretinism in northern Zaire. *Am J Clin Nutr*. **52**:1087-1093.
- Velíšek J, Hajšlová J. 2009. *Chemie potravin 2*. Osis, Tábor.
- Véssey E, Tóth E. 1968. A késői laskagomba nagyüzemben. *Kertész. éz szőlész* **17**:120-121.

Wang X, Dai C, Jiang H, Chen Z, Shi H, LI J. 2005. The Effect of the Se to the Fruiting-body of *Pleurotus ostreatus* and Nutrition Composition. Available from https://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTTotal-SPKX200508016.htm (accessed August 2020).

Wasser S, Sokolov D, Reshetnikov S, Timor-Tismenetsky M. 2000. Dietary Supplements from Medicinal Mushrooms: Diversity of Types and Variety of Regulations. *International Journal of Medicinal Mushrooms* **2**:1-19.

Yashona DS, Mishra US, Aher SB. 2018. Response of pulse crops to sole and combined mode of zinc application: A review. *J. Soils and Crops* **28**:249-258.

Youri MRD, Tano-Debrah K. 2005. Mineral Uptake by First Flush Mushrooms (*Pleurotus* spp.) Cultivated on Various Agro-Processing Waste. *International Journal of Medicinal Mushrooms*. Available from <http://dl.begellhouse.com/journals/708ae68d64b17c52,0d0f121956dd501b,3e7adc65466f30e0.html> (accessed January 2021).

Zervakis G, Philippoussis A, Ioannidou S, Diamantopoulou P. 2001. Mycelium growth kinetics and optimal temperature conditions for the cultivation of edible mushroom species on lignocellulosic substrates. *Folia microbiologica* **46**:231-234.

Zhang J, Saad R, Taylor EW, Rayman MP. 2020. Selenium and selenoproteins in viral infection with potential relevance to COVID-19. *Redox Biol.* **37**:101715.

Zięba P, Kała K, Włodarczyk A, Szewczyk A, Kunicki E, Sękara A, Muszyńska B. 2020. Selenium and Zinc Biofortification of *Pleurotus eryngii* Mycelium and Fruiting Bodies as a Tool for Controlling Their Biological Activity. *Molecules* **25**:889.

9 Seznam zkratek a symbolů použitých v práci

- COVID-19** – Coronavirus disease 2019 (koronavirové onemocnění 2019)
- CRIP** – Cysteine-rich intestinal protein (Cysteinem bohatý střevní protein)
- ČR** – Česká republika
- DNA** – deoxyribonukleová kyselina
- EFSA** – European Food Safety Authority (Evropský úřad pro bezpečnost potravin)
- EKG** – Elektrokardiografie
- GPx** – glutathionperoxidáza
- HDL** – high-density lipoprotein (vysokodenzitní lipoprotein)
- HIV** – Human Immunodeficiency Virus (virus lidské imunitní nedostatečnosti)
- ICP-MS** – Inductively coupled plasma mass spectrometry (hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem)
- JZD** – Jednotné zemědělské družstvo
- KVO** – kardiovaskulární onemocnění
- LDL** – low density lipoprotein (lipoprotein o nízké hustotě)
- NK buňka** – Natural killers (přírozeně zabíječská buňka)
- PE** – Polyethylen
- RHP** – Referenční Hodnota Příjmu
- RNA** – ribonukleová kyselina
- SARS-CoV-2** - Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2 (těžký akutní respirační syndrom vyvolaný koronavirem 2)
- SeMet** – selenomethionin
- SEPP1** – selenoprotein P
- SOD** – superoxid dismutáza
- SZPI** – Státní zemědělská a potravinářská inspekce

10 Samostatné přílohy

Příloha č. 1. Pytle a kyblíky se substrátem po pasterizaci, 4 pokus (foto vlastní)



Příloha č. 2. Začátek prorůstání substrátu myceliem *Pleurotus ostreatus*, pokus č. 4 (foto vlastní)



**Příloha č. 3. Tvorba plodnic hlívy ústříčné (*Pleurotus ostreatus*), pokus č. 2 (28. den)
(foto vlastní)**



**Příloha č. 4. Sběr plodnic *Pleurotus ostreatus* kmen SPOPO, pokus č. 3 (32. den)
(foto vlastní)**



**Příloha č. 5. Sběr plodnic hlívy ústříčné (*Pleurotus ostreatus*), pokus č. 4 (38. den)
(foto vlastní)**



**Příloha č. 6. Sklizené vzorky plodnic hlívy ústříčné (*Pleurotus ostreatus*), pokus č. 2
(foto vlastní)**



Příloha č. 7. Zhomogenizované vzorky jednotlivých variant (foto vlastní)



Příloha č. 8. Tabulky s přírůstky mycelia v 7denních intervalech, pokus č. 4

založeno 13. 7. 2020, ukončeno 27. 7. 2020

<i>P. ostreatus</i>																						
substrát varianta č. 1																						
Den	a					b					c					d					\bar{x}	x
7	3	3	3	2,5	2,8	4	4	3	3,5	3,6	5	4	4	3,5	4,1	3,5	3,5	3	3	3,25	3,44	3
14	9,5	9,5	8	10	9,25	10,5	11	11	10	10,6	10	8,5	9,5	10,5	9,6	10	10,5	9,5	9,5	9,9	9,76	10

<i>P. ostreatus</i>																						
substrát varianta č. 2																						
Den	a					b					c					d					\bar{x}	x
7	3	3	3	2	2,75	3	3,5	3	3	3,13	3	3	4,5	4,5	3,75	5,5	5	4	5	4,88	3,63	4
14	10	10,5	10	10	10,13	10	9,5	10	9,5	9,75	10	10	11	11	10,5	11,5	11	11	11,5	11,25	10,41	10

<i>P. ostreatus</i>													
substrát varianta č. 3													
Den	a					b					\bar{x}	x	
7	2	1	2	1,5	1,625	2	1	2,5	2	1,875	1,75	2	
14	5,5	6	5,5	5,5	5,625	7	5,5	6	7	6,375	6	6	