

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Fakulta zemědělská a technologická

DISERTAČNÍ PRÁCE

Obsah vybraných rizikových prvků v plodnicích hub
s léčivými účinky

Vypracoval: Mgr. Jan Vondruška
Školitel: doc. RNDr. Jan Šíma, Ph.D.

České Budějovice 2022

Poděkování

Touto cestou bych rád poděkoval vedoucímu své disertační práce doc. RNDr. Janu Šímovi, Ph.D. za vedení, odborné konzultace a pomoc při sestavování této práce. Dále děkuji prof. Ing. Martinu Křížkovi, CSc. a Mgr. Bc. Marku Koberovi, Ph.D. za pomoc se statistikou a všem pracovníkům katedry aplikované chemie.

V neposlední řadě také patří velké poděkování všem, kteří mi umožnili se věnovat studiu tohoto tématu.

Prohlášení

Prohlašuji, že svoji disertační práci jsem vypracoval samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47 b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své disertační práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne 13. 6. 2022

Obsah	
Abstrakt	1
Abstract	3
1. Úvod	5
2. Literární část	6
2.1 Systematika hub a základní pojmy.....	6
2.2 Studované druhy hub	9
2.3 Výzkum složení hub.....	15
2.4 Analytické metody ve stopové prvkové analýze hub	18
3. Cíle práce	20
4. Experimentální část	21
4.1 Vzorky a jejich odběr	21
4.2 Chemikálie a materiál.....	24
4.3 Přístroje a zařízení.....	25
4.4 Pracovní postup a stanovení prvků	25
5. Výsledky a diskuze	27
5.1 Studie 1.....	27
5.1.1 Obsahy prvků v plodnicích	27
5.1.2 Statistická analýza.....	36
5.1.3 Závěr studie č. 1	40
5.2 Studie 2.....	41
5.2.1 Obsahy prvků v plodnicích	41
5.2.2 Statistická analýza.....	51
5.2.3 Závěr studie č. 2	55
5.3 Studie 3.....	56
5.3.1. Obohacovací experiment – první provedení.....	56
5.3.2. Obohacovací experiment – druhé provedení.....	64
5.3.3. Závěr studie 3	76
6. Závěr	77
7. Literatura	79
8. Publikační výstupy	87

Abstrakt

Disertační práce se zabývá obsahem vybraných rizikových a esenciálních prvků v plodnicích hub s léčivými účinky. Studovanými druhy hub byly boltcovitka ucho Jidášovo (*Auricularia auricula-judae*), hřib žlučník (*Tylopilus felleus*), hlíva ústříčná (*Pleurotus ostreatus*), penízovka sametonohá (*Flammulina velutipes*), václavka smrková (*Armillaria ostoyae*) a hnojník obecný (*Coprinus comatus*). Vzoroky byly sbírány z lokalit nalézajících se v jižních Čechách. Hlíva ústříčná byla pěstována na komerčně dodávaném substrátu.

Jednotlivé prvky byly stanovovány atomovou absorpční spektrometrií v režimu plamenové nebo elektrotermické atomizace a pomocí plamenové fotometrie. Bylo zjištěno, že volně rostoucí boltcovitka ucho Jidášovo je bohatým zdrojem Ca a Mg (2200 a 2080 mg kg⁻¹ sušiny) a hřib žlučník silně akumuluje Rb, Cd, Cu, Zn, Se a Mg (biokoncentrační faktory: 65,7; 2,47; 2,32; 1,93; 1,67 a 1,27). Jako další volně rostoucí houba byla studována penízovka sametonohá, která ve svých plodnicích obsahovala značné množství Ca, Fe, Mg, Mn a Zn (375, 112, 1200, 26, 98 mg kg⁻¹ sušiny). Pro václavku smrkovou byly stanoveny vysoké obsahy následujících prvků (v mg kg⁻¹ sušiny): Ag (5,6), Ca (149), Cu (29), Fe (186), Mg (1100), Mn (30) a Zn (40). Posledním studovaným volně rostoucím druhem byl hnojník obecný, který ve svých plodnicích silně akumuloval Ag, Cd, Cu, Se a Rb (biokoncentrační faktory: 12; 2,5; 2,3; 1,8 a 1,1). Koncentrace rizikových prvků v těchto houbách byly převážně nízké, nelze tudíž předpokládat negativní vliv na lidský organismus v případě jejich využití jako potravinových doplňků nebo při jejich konzumaci. Na druhou stranu mohou být využity jako alternativní zdroj esenciálních prvků (zejména Zn a Se). V případě hlívy ústříčné byly provedeny experimenty s obohacením růstového substrátu zinkem a selenem. U zinku byl nárůst koncentrace v plodnicích zcela minimální a lze tedy usuzovat, že míra obohacení růstového substrátu nemá významný vliv na výsledný obsah Zn. U selenu byla situace s obohacením růstového substrátu zcela odlišná. Už při přidavku 1 mg Se (ve formě Na₂SeO₃) do bloku růstového substrátu o hmotnosti zhruba 2 kg došlo k nárůstu obsahu Se v sušině plodnic na 3 až 6 mg kg⁻¹, což představuje více než o jeden řád vyšší obsah ve srovnání s blokem substrátu, který nebyl selenem obohacen. V případě přidavku 5 mg Se došlo k dalšímu výraznému nárůstu koncentrace tohoto prvku na 40 až 60 mg kg⁻¹ sušiny.

Klíčová slova: rizikové a esenciální prvky, houby s léčivými účinky, atomová absorpční spektrometrie, obohacování růstového substrátu

Abstract

This dissertation thesis is focused on determination of detrimental and essential elements in fruiting bodies of selected medicinal mushrooms. *Auricularia auricula-judae*, *Tylopilus felleus*, *Pleurotus ostreatus*, *Flammulina velutipes*, *Armillaria ostoyae* and *Coprinus comatus* were studied. Individual samples were collected from selected sites in South Bohemia. *Pleurotus ostreatus* was cultivated on the block of the substrate.

Individual elements were determined using atomic absorption spectrometry with the flame or electrothermal atomization and flame photometry. Wild growing *Auricularia auricula-judae* was a good source of Ca and Mg (2200 and 2080 mg kg⁻¹ dry matter) and *Tylopilus felleus* strongly accumulated Rb, Cd, Cu, Zn, Se and Mg (bioconcentration factors: 65.7; 2.47; 2.32; 1.93; 1.67 and 1.27). Another studied wild growing mushroom species was *Flammulina velutipes*; it was characterized with significant contents of Ca, Fe, Mg, Mn and Zn (375, 112, 1200, 26 and 98 mg kg⁻¹ dry matter). For *Armillaria ostoyae*, high contents of the following elements were determined (mg kg⁻¹ dry matter): Ag (5.6), Ca (149), Cu (29), Fe (186), Mg (1100), Mn (30) and Zn (40). The last wild growing species studied was *Coprinus comatus*. It strongly accumulated Ag, Cd, Cu, Se and Rb (bioconcentration factors: 12; 2.5; 2.3; 1.8 and 1.1). The concentrations of detrimental elements were generally rather low indicating no considerably negative effect on human health in the case of studied species consumed as a delicacy or used as food supplements. On the other hand, the mushroom species can be used as an alternative source of essential elements (especially Zn and Se). An experiment with enrichment of the cultivation substrate with zinc and selenium was performed in the case of *Pleurotus ostreatus*. The increase in the zinc content in fruiting bodies was low, thus it can be concluded that the level of enrichment indicates no considerable effect on the final content of zinc in fruiting bodies. The bioconcentration of selenium was totally different. The addition of 1 mg of Se (in the form of Na₂SeO₃) into the cultivation substrate (cca 2 kg) increased the content of Se in fruiting bodies to about 3 – 6 mg kg⁻¹ dry matter. This content was one order higher compared to the Se content in fruiting bodies harvested from the substrate with no Se addition. In the case of the addition of 5 mg of Se, there was a further significant increase in the content of this element to about 40 – 60 mg kg⁻¹ dry matter.

Key words: risk and essential elements, medicinal mushrooms, atomic absorption spectrometry, enrichment of the cultivation substrate

1. Úvod

V posledních desetiletích byly prováděny rozsáhlé studie týkající se stopových prvků v jedlých houbách. Výzkumy byly zaměřené zejména na vyhledávání druhů, které dokáží hromadit vysoké koncentrace rizikových prvků. Bylo zjištěno, že některé volně rostoucí druhy hub ve svých plodnicích kumulují vysoké koncentrace Cd, Hg, Pb a Cu, což může být problémem v oblasti potravinářství.

Údajů o obsahu zdravotně škodlivých stopových prvků v jedlých houbách je poměrně velké množství, ale informace pro druhy hub s léčivými účinky (tzv. medicínální druhy) jsou neúplné a často zcela chybí.

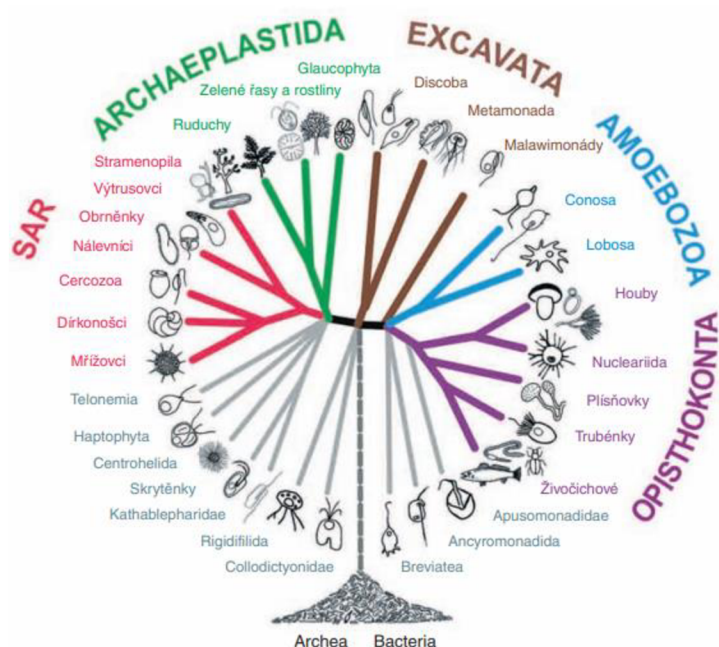
Předmětem této disertační práce bude zmapování obsahů vybraných prvků v plodnicích volně rostoucích nebo pěstovaných hub s léčivými účinky. Vybrány byly následující druhy hub: hřib žlučník (*Tylopilus felleus*), boltcovitka ucho Jidášovo (*Auricularia auricula-judae*), hlíva ústřičná (*Pleurotus ostreatus*), václavka smrková (*Armillaria ostoyae*), hnojník obecný (*Coprinus comatus*) a penízovka sametonohá (*Flammulina velutipes*).

2. Literární část

2.1 Systematika hub a základní pojmy

Z mykologického pohledu se tato práce zabývá hřibem žlučníkem (*Tylopilus felleus*), boltcovitkou uchem Jidášovým (*Auricularia auricula-judae*), hlívou ústříčnou (*Pleurotus ostreatus*), václavkou smrkovou (*Armillaria ostoyae*), hnojníkem obecným (*Coprinus comatus*) a penízovkou sametonohou (*Flammulina velutipes*). Níže je tedy uvedena systematika pro zmíněné druhy.

Na obrázku 1 můžeme vidět Eukaryotický strom z roku 2016, ve kterém je možné vidět postavení říše hub. Houby dle eukaryotického stromu spadají do větve s názvem Opisthokonta v pravé dolní části tohoto stromu.



Obrázek 1. Eukaryotický strom ^a

^a <https://ziva.avcr.cz/promeny-vyssi-systematiky-eukaryot-a-jeji-odraz-ve-stredoskolske-biologii.html> staženo dne 23.5.2022 v 6:49

V rámci rozdělení hub do jednotlivých kmenů, tříd, řádů, čeledí a rodů byly studované houby v této práci zařazeny dle České mykologické společnosti následovně:

Říše: houby (*Fungi*)

Kmen: stopkovýtrusné (*Basidiomycota*)

Třída: rouškaté (*Agaricomycetes*)

Řád: hřibotvaré (*Boletales*)

Čeď: hřibovité (*Boletaceae*)

Rod: hřib (*Tylopiulus*)

Druh: hřib žlučník (*Tylopiulus felleus*) (Bull.) P. Karst. 1881

Říše: houby (*Fungi*)

Kmen: stopkovýtrusné (*Basidiomycota*)

Třída: rouškaté (*Agaricomycetes*)

Řád: boltcovitkotvaré (*Auriculariales*)

Čeď: boltcovitkovité (*Auriculariaceae*)

Rod: boltcovitka (*Auricularia*)

Druh: boltcovitka ucho Jidášovo (*Auricularia auricula-judae*) (Bull.) Quél. 1886

Říše: houby (*Fungi*)

Kmen: stopkovýtrusné (*Basidiomycota*)

Třída: rouškaté (*Agaricomycetes*)

Řád: pečárkotvaré (*Agaricales*)

Čeď: hlíovité (*Pleurotaceae*)

Rod: hlíva (*Pleurotus*)

Druh: hlíva ústříčná (*Pleurotus ostreatus*) (Jacq.) P. Kumm. 1871

Říše: houby (*Fungi*)

Kmen: stopkovýtrusné (*Basidiomycota*)

Třída: rouškaté (*Agaricomycetes*)

Řád: pečárkotvaré (*Agaricales*)

Čeď: *Physalacriaceae*

Rod: václavka (*Armillaria*)

Druh: václavka smrková (*Armillaria ostoyae*) (Romagn.) Herink 1973

Říše: houby (*Fungi*)

Kmen: stopkovýtrusné (*Basidiomycota*)

Třída: rouškaté (*Agaricomycetes*)

Řád: pečárkotvaré (*Agaricales*)

Čeleď: pečárkovité (*Agaricaceae*)

Rod: hnojník (*Coprinus*)

Druh: hnojník obecný (*Coprinus comatus*) (O. F. Müll.) Pers. 1797

Říše: houby (*Fungi*)

Kmen: stopkovýtrusné (*Basidiomycota*)

Třída: rouškaté (*Agaricomycetes*)

Řád: pečárkotvaré (*Agaricales*)

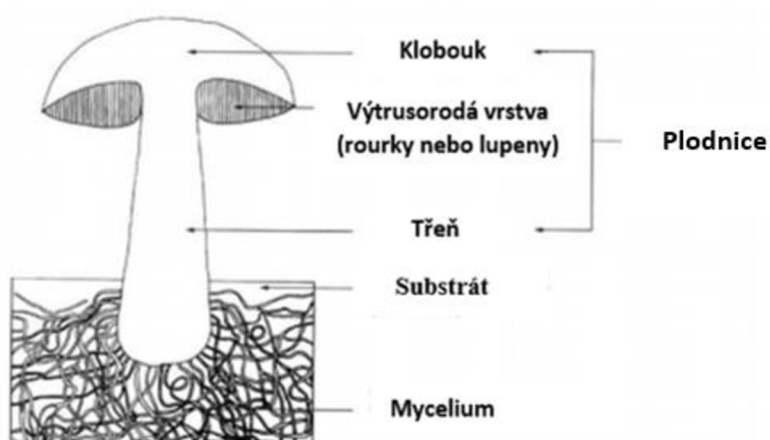
Čeleď: *Physalacriaceae*

Rod: penízovka (*Flammulina*)

Druh: penízovka sametonohá (*Flammulina velupites*) (Curtis) Singer 1951.

U houbového organismu jsou rovněž známé jednotlivé morfologické části, na které bude v této práci odkazováno. Na obrázku 2 jsou tyto části znázorněny. V rámci této práce bude nejčastěji hovořeno o plodnicích, substrátu a myceliu.

Z hlediska biologické morfologie je součástí plodnice klobouk, výtrusorodá vrstva (roučky nebo lupeny), třeň. Za substrát je považována půda, případně speciální růstový materiál u pěstovaných druhů hub, ze kterého plodnice vyrůstá. Mycelium je označení pro houbová vlákna, která přivádějí do houbového organismu živiny.



Obrázek 2. Morfologické části houbového organismu (upraveno dle Kalač, 2009)

2.2 Studované druhy hub

Hřib žlučník – *Tylopilus felleus*

Tento druh houby je morfologicky velmi podobný hříbu smrkovému (*Boletus edilus*), který je rozšířen obzvláště na severní polokouli naší planety. Hřib žlučník je ve střední Evropě známý hlavně pro svou silně hořkou chuť a spadá tedy do nejedlých hub. Silně hořké chuti může být však v potravinářství využíváno. Jsou popsány návody pro přípravu hořkých nápojů svou chutí podobných toniku (Antonín, 2003). Prášek připravený z tohoto druhu houby může dokonce být používán pro správnou funkci gastrointestinálního traktu (Grzybek a kol., 1994).

V souvislosti s lidským zdravím byl tento druh v dřívějších dobách hojně zkoumán. Kohlmuzner a kol. (1977) se ve své práci zmiňují o jeho protizánětlivých účincích. Chlap a Kohlmunzer (1978), Kohlmunzer a kol. (1980) a Defaye a kol. (1988) hovoří o protirakovinných účincích hříbu žlučníku.

Obsahy prvků v tomto druhu jsou v literatuře popsány velmi sporadicky a mnohdy údaje chybí. Lze tedy pouze zmínit několik informací s morfologicky příbuznými druhy z čeledi hřibovité (*Boletaceae*). Dimitrijevic a kol. (2016) pro druhy z čeledi *Boletaceae* uvádějí následující obsahy některých esenciálních a rizikových prvků (vše mg kg^{-1} sušiny): Ca (112 – 2300), Mn (3 – 24), Cu (5 – 27), Zn (18 – 302), Se (0,1 – 2,3), Cd (0,7 – 2,9) a Pb (0,3 – 10,6). Ze zmíněných hodnot pro vybrané prvky je patrné, že obsahy jsou v jednotlivých druzích značně rozdílné a lze tedy říci, že obsahy budou závislé na druhové příslušnosti. Tuto skutečnost naznačují i Blanusa a kol. (2001) a Kalač (2016).



Obrázek 3. Volně rostoucí plodnice hříbu žlučníku.

Ucho Jidášovo – *Auricularia auricula-judae*

Ucho Jidášovo je již podle svého názvu houba, která je v přírodě snadno rozpoznatelná. Svým tvarem totiž připomíná lidské ucho. Tento druh houby roste obzvláště na bezu černém (*Sambucus nigra*). Ucho je rozšířené hlavně v severní mírné klimatické zóně.

Z medicínálního pohledu je ucho využíváno pro správnou funkci imunitního systému a také pro snížení hladiny glukózy v krvi. Dále u boltcovitky můžeme jmenovat využití beta-glukanů, které jsou předmětem výzkumu proti rakovině (Antonín, 2013) a (Zhu a kol., 2015). V neposlední řadě lze také zmínit antimikrobiální, antioxidační a protizánětlivé účinky polysacharidů z toho druhu houby (Cai a kol., 2015) a (Damte a kol., 2011).

V případě obsahu prvků lze u boltcovitky vycházet z údajů o volně rostoucích plodnicích (Ohiri a Bassey, 2011), (Stijve 1977), (Michelot a kol., 1999), (Cocchi a kol., 2006), (Eze a kol., 2014) – Mn ($1,7 \text{ mg kg}^{-1}$ sušiny), Ca ($58 - 810 \text{ mg kg}^{-1}$), Mg (1366 mg kg^{-1}), Pb ($19 - 31 \text{ mg kg}^{-1}$) a Cd ($1,6 \text{ mg kg}^{-1}$), k dispozici jsou rovněž data získaná pro plodnice zakoupené na lokálním trhu (Kadnikova a kol., 2015) – Ca (1600 mg kg^{-1}), Mg (2000 mg kg^{-1}) a Pb ($0,1 \text{ mg kg}^{-1}$).



Obrázek 4. Volně rostoucí plodnice boltcovitky ucha Jidášova

Hlíva ústříčná – *Pleurotus ostreatus*

Tento druh houby je ve střední Evropě jedním z nejoblíbenějších v oblasti gastronomie. Současně se jedná o druh, který je velmi hojně pěstován a často i obohacován o esenciální prvky. Nároky na jeho pěstování nejsou nikterak vysoké a budou popsány níže v textu. V naší práci byla tato houba uměle obohacována zinkem a selenem a data z těchto experimentů jsou diskutována ve výsledkové části.

Plodnice hlívy ústříčné jsou velmi podobné ústřicím, podle kterých dostala své přizvisko. Klobouk této houby je často šedomodrý a třeh bývá šedobílý a velmi krátký. Výskyt tohoto druhu je vázán na dřevo (zejména listnatých stromů). Hlíva ústříčná je rozšířena v mírném pásmu celého světa.

V případě hlívy jsou ve vědecké komunitě hojně diskutované zejména polysacharidy tohoto druhu, které vykazují silné protirakovinné účinky (Kong a kol., 2014) a (Khinsar a kol., 2021).

V oblasti obsahu prvků je hlíva ústříčná taktéž diskutována. Vzhledem k tomu, že je tento druh rovněž hojně pěstován, mohou se hodnoty obsahů prvků lišit. Například obsahy (vše v mg kg⁻¹ sušiny) ve volně rostoucí hlívě jsou dle autorů (Tel-Çayan a kol., 2017), (Radulescu a kol., 2010), (Kalač 2019) následující: Ca (1000 – 2000), Mg (500 – 1000), Se (<0,5), Zn (50 – 60), Cd (0,5 – 2) a Pb (<1). Oproti tomu v pěstované hlívě jsou obsahy dle autorů (Bach a kol., 2017), (Goncalves a kol., 2014), (Mleczek a kol., 2018), (Niedzielski a kol., 2015) (Kalač 2019) následující: Ca (500 – 1000), Mg (1250 – 2500), Se (<0,5), Zn (50 a více) Cd (<1) a Pb (<1).



Obrázek 5. Plodnice volně rostoucí (vlevo) a pěstované (vpravo) hlívy ústříčné

Václavka smrková – *Armillaria ostoyae*

Václavka smrková je morfologicky velmi podobná václavce obecné (*Armillaria mellea*), se kterou patří do stejné čeledi. V. smrková nejčastěji vyrůstá z kořenů smrku ztepilého (*Picea abies*). Klobouk tohoto druhu je hnědočervený a hustě pokrytý hnědočernými šupinami, třeň je válcovitý s hnědými šupinami. Vyskytuje se v lesích severního mírného pásu.

Dle práce Merdivan a Lindequist (2017) václavka vykazuje antialergické účinky, čehož je využíváno zejména v alergologii. Dále je václavka využívána taktéž v boji proti rakovině, dle Antonína (2013) tento druh vykazuje protirakovinné účinky.

Studie týkající se obsahu stopových prvků jsou pro tento druh velmi omezené. Jedna z mála prací, která se tímto druhem zabývá, je rozsáhlá studie Koskina a kol. (2021), kde autoři uvádějí obsahy následujících prvků (vše v mg kg⁻¹ sušiny): As (0,47), Cd (2,4), Se (<0,12), Hg (15,1), Cu (17,4).



Obrázek 6. Volně rostoucí plodnice václavky smrkové ^b

^b <https://www.myko.cz/myko-atlas/Armillaria-ostoyae/> staženo dne 23.5.2022 v 7:10

Penízovka sametonohá – *Flammulina velupites*

Tento druh je v Evropě hojně sbírán obzvláště v zimních měsících. Penízovka je houba, která roste na odumřelém dřevě. Plodnice bývají drobnější s úzkým třenem a lepkavým kloboukem medového zabarvení.

Jak z plodnic tohoto druhu, tak z růstového substrátu byly v nedávné době izolovány bioaktivní terpeny, které vykazují antimikrobiální aktivitu (Fukushima-Sakuno a kol., 2020). Současně jsou u penízovky také známé antialergické účinky (Merdivan a Lindequist, 2017).

Tento druh taktéž patří mezi oblíbené pěstované houby. Největší oblibu má v Asii, kde Huang a kol. (2015) zakoupili jeho plodnice na trhu v Pekingu a stanovili v nich následující obsahy prvků (vše v mg kg⁻¹ sušiny): Cd (0,16), As (0,13), Hg (0,05), Pb (2,56), Fe (153) a Zn (62,7). Niedzielski a kol. 2017 ve své práci uvádějí následující obsahy pro volně rostoucí penízovky: Cd (0,06), As (1,1), Pb (1,2). Vetter (1994) studoval obsah kadmia v tomto druhu a uvádí hodnotu 4,91 mg kg⁻¹ sušiny.



Obrázek 7. Volně rostoucí plodnice penízovky sametonohé °

° <https://www.myko.cz/myko-atlas/Flammulina-velutipes/> staženo dne 23.5.2022 v 7:16

Hnojník obecný – *Coprinus comatus*

Hnojník obecný je druh, který se nejčastěji vyskytuje ve větších skupinkách zejména v travních porostech, loukách nebo zahradách. Jedná se o saprotrofní houbu, která potřebnou energii získává z rozkládající se organické hmoty.

Z medicínálního hlediska je tento druh velmi diskutovaný. Mohl by totiž být přírodním zdrojem antiandrogenních modulátorů, které se používají při léčbě onemocnění prostaty (Dotan a kol., 2011). Dále hnojník obsahuje exopolysacharidy, které snižují hladinu glukózy v krvi (Yamac a kol., 2009).

Stilinovic a kol. (2020) pojednávají ve své práci o obsazích prvků v pěstovaných plodnicích tohoto druhu. Obsahy vybraných prvků jsou následující (vše v mg kg⁻¹ sušiny): Pb (0,17), Cd (0,14), Hg (0,02), As (0,38), Fe (1471), Mg (1334), Cu (10,2), Zn (31,7) a Se (0,51). Oproti tomu obsahy ve volně rostoucích plodnicích jsou následující (Severoglu a kol., 2013) (Falandysz a kol., 1994): Pb (5,4), Cd (1,73), Fe (337), Mg (1380), Cu (61) a Zn (86).



Obrázek 8. Volně rostoucí plodnice hnojníku obecného

2.3 Výzkum složení hub

Vlivy environmentálních faktorů na obsah prvků v plodnicích hub

Koncentrace jednotlivých prvků v plodnicích hub jsou značně závislé na druhu sledované houby, na substrátu, ze kterého houba roste, a dokonce i na stáří jednotlivých plodnic. (Michelot a kol., 1998)

U hub (*Agaricus malaolens* a *Agaricus arvensis*), které rostly na území města, byly zjištěny zvýšené koncentrace Cd, Pb a Hg (Svoboda a Kalač, 2003). K podobným výsledkům dospěli Schlecht a Säumel (2015), kteří se zabývali houbami rostoucími na území městské aglomerace Berlín, a závěrem jejich práce bylo zjištění, že zvýšené koncentrace jsou u dvou prvků (Cd a Pb).

Zvýšené nebo extrémně vysoké obsahy prvků jsou typické pro plodnice, které rostou ve znečištěných oblastech ve srovnání s lokalitami, které jsou málo nebo vůbec kontaminované. Příkladem mohou být plodnice hub sbírané podél silnic a dálnic. Tyto plodnice byly zatíženy zvýšenou koncentrací olova z olovnatých benzinů. (Petkovšek a Pokorný, 2013)

Vysoké koncentrace prvků, zejména Hg a Cd, byly zjištěny v okolí hutí vyrábějících rtuť a měď (Svoboda a kol., 2000) či olovo (Komárek, 2007). Zvýšené koncentrace Al, Pb a Rb byly taktéž stanoveny z lokalit v oblasti bohaté na kovové rudy (Falandysz a kol., 2008). Dále pak koncentraci jednotlivých prvků může ovlivňovat průmyslová činnost. Jako příklad můžeme uvést studii Liu a kol. (2015), kteří naměřili zvýšené koncentrace As, Cd a Pb pro vzorky jedlých hub v okolí průmyslových závodů v provincii Yunnan v Číně.

Schopnosti hub kumulovat do svých plodnic stopové prvky ze substrátu bývá velice často využíváno v oblasti výživy nebo v oblasti farmacie. Dokonce bylo vyvinuto obohacování substrátů selenem nebo lithiem. Tímto obohacováním se zabývali Maseko a kol. (2013). Substráty hub druhu *Agaricus bisporus* a *Lentinula edodes* byly obohacovány seleničitanem sodným a následně se pozorovaly změny koncentrace Se v sušině hub.

Obsahy prvků v plodnicích volně rostoucích a pěstovaných hub

Sbírání volně rostoucích hub má v centrální Evropě velkou tradici. Češi jsou dokonce vnímáni jako národ houbařů. Šišák (2007) ve své práci uvádí, že průměrná česká domácnost za rok zkonsumuje více jak 5,6 kg čerstvých hub. Některá data však naznačují, že existují i osoby, které zkonsumují i více jak 10 kg hub za rok.

První práce, které se zabývaly biokoncentrací esenciálních a rizikových prvků v plodnicích hub, vznikaly v 70. letech 20. století (Kalač, 2010). Jako jednu z průkopnických prací lze považovat studii profesorky Ruth Seeger, která byla zaměřena na problematiku kadmia v plodnicích hub (Seeger, 1978). Rozvoj těchto studií souvisel s rozšířením atomové absorpční spektrometrie (AAS) a hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP – MS) (Kalač, 2016).

Souhrnnou publikaci o minerálním složení jedlých hub sestavil Kalač (2019). V souvislosti s touto publikací lze nahlédnout do tabulky 1, která pojednává o obvyklých obsazích prvků v plodnicích pěstovaných a volně rostoucích jedlých hub (hodnoty jsou vyjádřeny v mg kg⁻¹ sušiny). Z tabulky je patrné, že obsahy prvků v plodnicích pěstovaných hub jsou nižší v porovnání s obsahy prvků stanovených v plodnicích volně rostoucích hub.

Odlíšná je však situace s obohacováním růstových substrátů. Mezi nejčastěji obohacované druhy patří hlíva ústříčná (*Pleurotus ostreatus*), která je velmi často obohacována o zinek a selen. Zde autoři uvádějí různé míry obohacení, a tudíž i různé obsahy v plodnicích tohoto druhu, které budou diskutovány ve výsledkové části této práce (Vieira a kol., 2013), (Gašicka a kol., 2016), (Poniedzialek a kol., 2017), (da Silva a kol., 2012), (Niedzielski a kol., 2015) nebo (Savic a kol., 2012).

V souvislosti s minerálním složením hub je vhodné rozdělit prvky na esenciální, neesenciální a na prvky s možnými negativními účinky na lidské zdraví. Z tohoto hlediska lze rozdělit i prvky studované v této práci. Z esenciálních prvků byly stanovovány Ca, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, Se a Zn, z neesenciálních Al, Cs, Li, Rb a Sr a z rizikových Ag, As, Be, Cd, Pb a Tl.

Tabulka 1. Obsahy prvků (v mg kg⁻¹ sušiny) v plodnicích pěstovaných a volně rostoucích hub.

prvek	pěstované	volně rostoucí
Al	<25	<25 – 500
As	<0,5	<2
Ca	50 – 1000	50 – 1000
Cd	<1	<1 – 15
Co	<0,2 – 5	<0,2 – 10
Cr	0,5 – 10	0,5 – 10
Cu	<30	<10 – 75
Fe	<50 – 300	<50 – 1000
Li	<1,5	<1,5
Mg	<500 – 1500	<500 – 1500
Mn	<25	<25 – 75
Ni	<0,5 – 5	0,5 – 5
Pb	<5	<5
Rb	<25 – 500	<25 – 500
Se	0,5 – 5	<0,5 – 5
Sr	<2	<2 – 5
Zn	<25 – 125	<25 – 125

2.4 Analytické metody ve stopové prvkové analýze hub

V rámci této disertační práce bylo pro stanovení prvků využito atomové absorpční a emisní spektrometrie. V souvislosti se stanovovanými prvky byly využívány tyto metody:

- AAS s plamenovou atomizací (F – AAS),
- AAS s elektrotermickou atomizací (ETA – AAS)
- plamenová fotometrie (F – AES)

Tyto metody byly využívány v závislosti na mezích stanovitelnosti jednotlivých prvků. Z analýz je patrné, že při AAS s plamenovou atomizací je možné v porovnání s plamenovou fotometrií dosáhnout nižších hodnot mezí stanovitelnosti. Výjimkou však jsou snadno excitovatelné prvky, u kterých je tato metoda výhodnější. Co se týká elektrotermické atomizace, tak zde je mez stanovitelnosti ještě nižší, a je tedy často využívána pro stanovení rizikových a esenciálních prvků, které se ve vzorcích nacházejí v nižší koncentraci.

Přehledné porovnání mezi detekce jednotlivých metod je uvedeno v tabulce, která je upravena dle knihy Skoog a kol. (2019):

Tabulka 2. Meze detekce (v ng ml⁻¹) dosahované v různých metodách atomové spektrometrie

prvek	F-AAS	ETA-AAS*	F-AES
Ag	3	0,02	20
Al	30	0,2	5
Ba	20	0,5	2
Ca	1	0,5	0,1
Cd	1	0,02	2000
Cr	4	0,06	5
Cu	2	0,1	10
Fe	6	0,5	50
K	2	0,1	3
Mg	0,2	0,004	5
Mn	2	0,02	15
Mo	5	1	100
Na	0,2	0,04	0,1
Ni	3	1	600
Pb	5	0,2	200
Sn	15	10	300
V	25	2	200
Zn	1	0,01	200

*Mez detekce je vztažena k dávkování 10 µl

3. Cíle práce

Cíle této disertační práce korespondují se třemi prováděnými studii. První studie se zabývá esenciálními a rizikovými prvky v plodnicích hříbu žlučníku, boltcovitky ucha Jidášova a hlívy ústříčné. Druhá studie se zabývá esenciálními a rizikovými prvky v plodnicích václavky smrkové, hnojníku obecného a penízovky sametonohé. Třetí studie se zabývá obohacováním plodnic hlívy ústříčné zinkem a selenem. V prvních dvou studiích bylo cílem stanovení vybraných prvků ve vzorcích hub, následné zhodnocení a porovnání obsahů toxických a esenciálních prvků v plodnicích studovaných druhů hub. Ve třetí studii bylo cílem stanovení selenu a zinku v obohacených a nebohacených plodnicích a zjištění míry akumulace zmíněných prvků.

4. Experimentální část

4.1 Vzorky a jejich odběr

Sběr plodnic

Odběry vzorků hub, půd a růstových substrátů započaly na podzim roku 2017 a skončily na sklonku roku 2021. Konkrétně byly vzorky získávány následovně.

Na podzim roku 2017 byl započat sběr volně rostoucího hříbu žlučníku (*Tylopilus felleus*) a ucha Jidášova (*Auricularia auricula-judae*). Současně s tímto sběrem probíhalo pěstování hlívy ústřičné (*Pleurotus ostreatus*) z růstového substrátu. Trojice těchto druhů bude diskutována ve výsledkové části jako studie 1. Veškerá měření v souvislosti s touto studií proběhla v roce 2018.

V březnu roku 2019 byl založen obohacovací experiment s růstovým substrátem, ze kterého vyrůstaly plodnice hlívy ústřičné (*Pleurotus ostreatus*). Tento experiment byl dokončen na přelomu roku 2019 a 2020. Druhé provedení obohacovacího experimentu bylo založeno v červnu roku 2021 a dokončeno v první třetině roku 2022. Toto druhé provedení bylo výrazně rozšířeno jak do počtu růstových bloků, tak do konečného počtu vzorků hub a růstových substrátů. Tyto obohacovací experimenty budou ve výsledkové části uvedeny ve studii 3.

Období podzimu 2019 až zimy 2020 bylo věnováno sběru volně rostoucí václavky smrkové (*Armillaria ostoyae*), penízovky sametonohé (*Flammulina velutipes*) a hnojníku obecného (*Coprinus comatus*). Veškerá měření, která se týkala těchto druhů, byla provedena v roce 2020 a jsou ve výsledkové části uvedena jako studie 2.

Odběrové lokality

Lokality odběrů byly zvoleny na základě předpokladu růstu studovaných druhů hub. Plodnice ucha Jidášova (*Auricularia auricula-judae*) byly sbírané v okolí města Soběslav (49.2615469N, 14.6844700E). Plodnice tohoto byly nacházeny obzvláště na bezu černém (*Sambucus nigra*). Plodnice hříbu žlučníku (*Tylopilus felleus*) byly sbírané v lesích nedaleko obcí Opalice (48.8895042N, 14.4088939E) a Drahov (49.1827217N, 14.7849186E). Společně s plodnicemi hříbu žlučníku byly odebrány také půdy pro stanovení biokoncentračních faktorů. Půda byla odebrána z hloubky 10 cm. Plodnice hnojníku obecného (*Coprinus comatus*) byly sbírány na pomezí lesů a luk nebo v parcích poblíž obce Opalice (48.8895042N, 14.4088939E), v okolí Veselských

pískoven (49.1611111N, 14.7043128E) a v okolí města Soběslav (49.2615469N, 14.6844700E). Plodnice václavky smrkové (*Armillaria ostoyae*) byly sbírány poblíž města Týn nad Vltavou (49.2167614N, 14.3929661E). Plodnice tohoto druhu byly nalezeny na smrku ztepilém (*Picea abies*). Plodnice penízovky sametonohé byly sbírány v okolí města Soběslav (49.2615469N, 14.6844700E). Plodnice byly vyrostlé na kmenech listnatých stromů.

V lokalitách, kde byly sbírané plodnice zmíněných druhů, se často nacházel smíšený les. Mezi velmi časté druhy dřevin v těchto lokalitách patřily bříza bělokorá (*Betula pendula*), líska obecná (*Corylus avellana*), modřín opadavý (*Larix decidua*), smrk ztepilý (*Picea abies*), borovice lesní (*Pinus sylvestris*), druhy dubů (*Quercus spp.*) a bez černý (*Sambucus nigra*).

Pěstování plodnic

Plodnice hlívy ústříčné byly pěstovány za podmínek stanovených dodavatelem (Jedlé houby, Dolany). Růst hlívy probíhal ve dvou fázích. Nejprve se dodaný naočkovaný růstový substrát ve formě slámy zabalil do plastové folie a vložil do prostoru s teplotou 20°C. Ve zmíněné teplotě mycelium prorůstalo celým substrátem nejlépe. V této první fázi substrát produkoval vyšší koncentraci oxidu uhličitého, který působil jako růstový stimulant. První fáze růstu trvala šest týdnů. Po šesti týdnech se v předem vytvořených otvorech objevily malé zárodky plodnic.

V tomto okamžiku růst hlívy přešel do své druhé fáze. V této druhé fázi bylo nutné substrát se zárodky plodnic přesunout do místnosti s rozmezím teplot 10°C – 15°C. Současně v této fázi růstu hlíva potřebovala mírné světlo po dobu 8 hodin denně. V těchto podmínkách plodnice rostly z předem připravených otvorů v substrátu. Plodnice správné velikosti obvykle vyrostly v rozmezí 4 až 7 dnů.

Po sklizni se růstový substrát ponechal v prostoru s teplotami 10°C – 15°C zhruba tři týdny odpočinout. Po třech týdnech bylo možné substrát přenést do prostoru s teplotami 20°C – 25°C na dva až tři dny. Tímto teplotním šokem bylo možné nastartovat další vlnu růstu plodnic. Po teplotním šoku se substrát opět přesunul do prostoru s teplotami 10°C – 15°C, kde se znovu dodržel osvit po dobu osmi hodin denně. Z takto nastartovaného substrátu opět vyrůstaly plodnice. Potup s nastartováním lze opakovat až do vyčerpání substrátu.

V našich podmínkách jsme byli schopni vypěstovat plodnice ve třech vlnách.

Obohacovací experiment

V našem případě byl na počátku růstový substrát upravován dle potřeb obohacovacího experimentu. Experiment byl proveden celkem dvakrát s níže uvedenými parametry.

V prvním provedení byl substrát rozdělen do tří bloků o hmotnosti zhruba 2 kg, které byly následně ještě rozpůleny na obohacenou část a neobohacenou část. Obohacená část bloků byla doplněna přísadkou selenu a zinku ve formě pentahydrátu seleničitanu sodného a dihydrátu octanu zinečnatého. Níže jsou přesné přísadky zmiňovaných prvků:

- vzorek 1 – 10 mg Zn + 1 mg Se
- vzorek 2 – 50 mg Zn + 5 mg Se
- vzorek 3 – 100 mg Zn + 10 mg Se

Při druhém provedení experimentu byl substrát rozdělen do šesti bloků, které ještě byly rozpůleny na obohacenou a neobohacenou část. Obohacení bylo opět provedeno přísadkou selenu a zinku ve formě pentahydrátu seleničitanu sodného, dihydrátu octanu zinečnatého a hexahydrátu dusičnanu zinečnatého. Níže jsou přesné přísadky a formy zmiňovaných prvků:

- vzorek 1 – 10 mg Zn + 1 mg Se $[(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Zn} \cdot 2\text{H}_2\text{O} + \text{Na}_2\text{SeO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}]$
- vzorek 2 – 50 mg Zn + 5 mg Se $[(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Zn} \cdot 2\text{H}_2\text{O} + \text{Na}_2\text{SeO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}]$
- vzorek 3 – 100 mg Zn + 10 mg Se $[(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Zn} \cdot 2\text{H}_2\text{O} + \text{Na}_2\text{SeO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}]$
- vzorek 4 – 5 mg Se $(\text{Na}_2\text{SeO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O})$
- vzorek 5 – 50 mg Zn $[(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Zn} \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$
- vzorek 6 – 50 mg Zn $[\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$

4.2 Chemikálie a materiál

Vedle běžného laboratorního vybavení (zejména laboratorního skla) byly při práci používány následující chemikálie a materiál:

- acetylen (čistý), Linde Gas a.s., Praha, Česká republika
- argon (4.8), Linde Gas a.s., Praha, Česká republika
- oxid dusný (4.8), Linde Gas a.s., Praha, Česká republika
- deionizátory pro F-AAS CsCl a KCl, Astasol, Analytika Praha, Česká republika
- deionizovaná voda, Simplicity[®] system, Milipore SAS, Molsheim, Francie
- kyselina dusičná, Merck, Darmstadt, Spolková republika Německo, kvalita suprapur[®]
- modifikátor pro ET-AAS Pd(NO₃)₂, Merck, Darmstadt, Spolková republika Německo
- směsný zásobní standard (Ag, Al, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Li, Mg, Mn, Ni, Pb, Sr, Tl, Zn), Merck, Darmstadt, Spolková republika Německo
- zásobní plastové prachovnice 60 ml, P-lab Praha, Česká republika
- zásobní standard pro As, Merck, Darmstadt, Spolková republika Německo
- zásobní standardy pro Be, Cs, Rb, Se, Astasol, Analytika Praha, Česká republika

4.3 Přístroje a zařízení

- analytické váhy, Kern, Sohn, GmbH, Balingen, Spolková republika Německo
- mikrovlnné rozkladné zařízení MARS[®] 5, CEM Corporation, Matthews, Severní Karolina, USA
- atomový absorpční spektrometr Thermo Scientific iCE 3500 series, Thermo Fisher Scientific inc., Cambridge, Velká Británie
- grafitové kyvety s prodlouženou životností, Thermo Fisher Scientific, Dreieich, Německo
- zařízení pro přípravu deionizované vody, Simplicity[®] system, Milipore SAS, Molsheim, Francie
- šrotovací mlýnek, VIPO, Partizánske, Slovensko

4.4 Pracovní postup a stanovení prvků

Stanovení obsahů prvků bylo prováděno ve vzorcích hub, půd a růstových substrátů, které byly prostřednictvím mikrovlnného rozkladu převedeny do formy homogenního roztoku v kyselině dusičné.

Plodnice, které byly sbírané ve volné přírodě – boltcovitka ucho Jidášovo (*Auricularia auricula-judae*), hřib žlučník (*Tylopilus felleus*), penízovka sametonohá (*Flammulina velutipes*), václavka smrková (*Armillaria ostoyae*) a hnojník obecný (*Coprinus comatus*), byly vždy pečlivě očištěny a přepraveny do laboratoře. Zde byly plodnice nakrájeny na tenké plátky za pomoci keramického nože a následně byly rozloženy na filtrační papír a připraveny k sušení za laboratorní teploty.

Pěstované plodnice hlívy ústříčné (*Pleurotus ostreatus*) byly sklizeny tehdy, když byl okraj klobouku plodnice mírně sklenutý a tmavě šedý. Plodnice vyrůstaly z předem připravených otvorů v růstovém bloku. Sklizeň probíhala vykroucením celého trsu z tohoto růstového bloku. Plodnice bylo možné sklídit celkem ve třech vlnách. Nakrájení a sušení plodnic probíhalo stejně jako u volně rostoucích plodnic.

Současně se vzorky plodnic byly také odebírány a následně zpracovávány vzorky půd a růstových substrátů. Vzorky půd byly odebírané pod plodnicemi hříbu žlučníku (*Tylopilus felleus*) a pod plodnicemi hnojníku obecného (*Coprinus comatus*) z hloubky 10 cm pod plodnicí tak, aby bylo možné stanovit biokoncentrační faktory (BCF). Tyto faktory se vyjadřují jako poměr obsahu prvku v plodnici k jeho obsahu v půdě, kdy

obsahy jsou vztaženy na sušinu (Kalač, 2016). Vzorky růstových substrátů byly odebírány z bloků, ze kterých rostla hlíva ústříčná (*Pleurotus ostreatus*), po jejich zhomogenizování. Vzorky půd a růstových substrátů byly sušeny za laboratorní teploty. Po usušení vzorků půd následovala homogenizace pomocí třecí misky s tloučkem a poté byly vzorky prosáté přes síto s velikostí ok 0,5 mm. Takto připravený vzorek půd byl nachystán k dalšímu zpracování.

Plodnice volně rostoucích a pěstovaných hub a růstové substráty byly po usušení rozdrčeny za pomoci laboratorního mlýnu. Následně byly tyto vzorky uloženy do plastových prachovnic a připraveny k dalšímu zpracování.

Při dalším zpracování bylo přesně naváženo zhruba 0,5 g vzorku. K této navážce byla přidána koncentrovaná kyselina dusičná (10 ml) a směs byla podrobena mikrovlnnému rozkladu. Po rozkladu byly vzorky doplněny na objem 50 ml a následně uchovány v lednici.

Stanovení jednotlivých analytů bylo prováděno za pomoci atomového absorpčního spektrometru. V režimu plamenové AAS byly stanoveny následující prvky: Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, Zn, v režimu emise Cs, Li, Rb a Sr. Plamen N_2O/C_2H_2 byl využit při stanovení Ca a Sr a pro stanovení ostatních prvků byl použit plamen vzduch/ C_2H_2 . Délka hořáku byla pro všechny zmíněné prvky 5 cm. Pro korekci nespécifické absorpce pozadí byla využita deuteriová výbojka.

V režimu elektrotermické atomizace byly stanoveny následující prvky: Ag, Al, As, Be, Cd, Co, Cr, Ni, Pb, Se a Tl. Vyhodnocována byla vždy plocha píku daného signálu. Objem vzorku dávkovaného do kyvety byl 20 μL (s výjimkou stanovení Al, Cd, Cr a Ag – zde bylo dávkováno 10 μL). Při stanovení As a Se bylo do kyvety dávkováno také 10 μL modifikátoru matrice (roztok Pd, 1,0 g L^{-1}). V režimu elektrotermické atomizace byla nespécifická absorpce pozadí korigována pomocí Zeemanova jevu (štěpení spektrální linie v magnetickém poli).

Všechny analytické metody byly optimalizovány a validovány. Meze stanovitelnosti pro jednotlivé prvky byly následující: 0,02 (Ag), 0,17 (Al), 0,06 (As), 0,005 (Be), 4,44 (Ca), 0,02 (Cd), 0,02 (Co), 0,03 (Cr), 0,14 (Cs), 5,11 (Cu), 6,67 (Fe), 0,08 (Li), 7,36 (Mg), 3,21 (Mn), 0,11 (Ni), 0,05 (Pb), 0,16 (Rb), 0,12 (Se), 0,23 (Sr), 0,10 (Tl) a 1,21 (Zn) mg.kg^{-1} sušiny.

5. Výsledky a diskuze

5.1 Studie 1

První studie je zaměřená na rizikové a esenciální prvky v plodnicích boltcovitky ucha Jidášova, hlívy ústříčné a hříbu žlučníku.

V rámci této studie bylo proměřeno celkem 50 vzorků hub a půd. Konkrétně bylo analyzováno 12 vzorků plodnic boltcovitky ucha Jidášova, 12 vzorků plodnic hlívy ústříčné, 13 vzorků plodnic hříbu žlučníku a 13 vzorků půd odebraných pod plodnicemi hříbu žlučníku.

5.1.1 Obsahy prvků v plodnicích

Obsahy prvků v plodnicích boltcovitky ucha Jidášova

Provedené analýzy prokázaly vysoký obsah Ca a Mg v plodnicích všech studovaných druhů hub. Obsahy zmíněných prvků v plodnicích boltcovitky ucha Jidášova (*Auricularia Auricula-judae*) byly 2200 ± 1440 a 2080 ± 920 mg kg⁻¹ sušiny a současně obsahy Fe ($63,1 \pm 54,6$ mg kg⁻¹ sušiny) a Al ($46,1 \pm 32,1$ mg kg⁻¹ sušiny) byly v tomto druhu taktéž značně vysoké. Obsah železa je srovnatelný s výsledky, které publikovali Mleczek a kol. (2018) (58 mg kg⁻¹ sušiny). Autoři rovněž zmiňují obsahy Ca (810 mg kg⁻¹ sušiny) a Mg (810 mg kg⁻¹ sušiny), což je v porovnání s naší studií výrazně méně.

V naší studii byly dále zjištěny poměrně vysoké obsahy Mn, Zn, Sr, Cu a Rb ($18,3 \pm 10,6$, $17,9 \pm 3,78$, $12,7 \pm 7,36$, $6,27 \pm 3,20$ a $3,94 \pm 2,30$ mg kg⁻¹ sušiny). Nicméně obsahy Cd, As, Cr a Pb byly pouze $0,35 \pm 0,14$, $0,21 \pm 0,32$, $0,20 \pm 0,12$ a $0,12 \pm 0,06$ mg kg⁻¹ sušiny.

Průměrné obsahy prvků (\bar{x}), směrodatné odchylky (s) a rozmezí ($x_{\min} - x_{\max}$) hodnot jsou shrnuty v tabulce 3.

Tabulka 3. Obsah prvků (mg kg⁻¹ sušiny) v plodnicích boltcovitky ucha Jidášova (*Auricularia auricula-judae*)

prvek	\bar{x}	s	X _{min} – X _{max}
Al	46,1	32,1	13,5 – 117
As	0,21	0,32	0,06 – 1,15
Ca	2,20 · 10 ³	1,44 · 10 ³	(0,53 – 4,98) · 10 ³
Cd	0,35	0,14	0,12 – 0,64
Co	0,09	0,04	0,05 – 0,18
Cr	0,20	0,12	0,10 – 0,53
Cs	<0,14	–	–
Cu	6,27	3,20	5,20 – 14,9
Fe	63,1	54,6	21,3 – 221
Li	0,30	0,15	0,11 – 0,62
Mg	2,08 · 10 ³	0,92 · 10 ³	(0,92 – 3,72) · 10 ³
Mn	18,3	10,6	7,2 – 36,8
Ni	0,99	0,77	0,24 – 2,97
Pb	0,12	0,06	0,06 – 0,29
Rb	3,94	2,30	0,67 – 8,05
Se	0,52	0,68	0,12 – 2,60
Sr	12,7	7,40	1,90 – 22,6
Zn	17,9	3,80	11,7 – 25,1

Obsahy prvků v plodnicích hlívy ústřičné

Hlíva ústřičná (*Pleurotus ostreatus*) je jedna z nejčastěji pěstovaných hub u nás i ve světě. Rashid a kol. (2018) uvádějí obsahy pro Zn, Cu, Mn, As, Cd, Cr, Ni, Pb a Co (v mg kg⁻¹ sušiny) následovně: 50,2 ± 11,3, 13,2 ± 3,7, 12,2 ± 2,4, 0,45 ± 0,11, 0,41 ± 0,10, 0,30 ± 0,16, 0,30 ± 0,12, 0,22 ± 0,13 a 0,013 ± 0,005. V naší studii byly obsahy (v mg kg⁻¹ sušiny) výrazně nižší: Zn (27,5 ± 4,3), Cu (<5,11), Mn (3,37 ± 1,45), As (0,12 ± 0,06) a Pb (<0,05). Nicméně obsah Cd byl 0,70 ± 0,17 mg kg⁻¹ sušiny, což je v porovnání s Rashid a kol. (2018) výrazně více.

Frangkun a kol. (2011) v porovnání s naší prací uvádějí značně rozdílné obsahy Zn, Cu, Mn, Cd, Cr, Ni a Pb (57,9, 6,83, 13,5, 0,06, 22,3, 0,83 a 12,9 mg kg⁻¹ sušiny). V jejich práci se však jedná o data, která pocházejí z volně rostoucích plodnic hlívy ústřičné. Je tedy zjevné, že obsahy prvků v plodnicích jsou závislé na substrátu či na růstových podmínkách. Taktéž lze usuzovat, že obsahy prvků v pěstovaných plodnicích jsou nižší než v plodnicích volně rostoucích. Podobné závěry uvádí také Kalač (2016).

Průměrné obsahy prvků (\bar{x}), směrodatné odchylky (s) a rozmezí ($x_{\min} - x_{\max}$) hodnot jsou shrnuty v tabulce 4.

Tabulka 4. Obsah prvků (mg kg⁻¹ sušiny) v plodnicích hlívy ústříčné (*Pleurotus ostreatus*)

prvek	\bar{x}	s	X _{min} – X _{max}
Al	4,37	1,53	2,61 – 7,89
As	0,12	0,06	0,05 – 0,22
Ca	46,1	26,5	4,50 – 79,0
Cd	0,70	0,17	0,36 – 0,94
Co	0,03	0,01	0,02 – 0,06
Cr	0,21	0,43	0,06 – 1,63
Cs	3,07	0,67	2,22 – 4,52
Cu	<5,11	–	–
Fe	43,9	10,4	24,3 – 64,7
Li	0,26	0,02	0,22 – 0,28
Mg	766	138	567 – 953
Mn	3,37	1,45	1,17 – 5,91
Ni	0,22	0,24	0,11 – 0,84
Pb	<0,05	–	–
Rb	7,54	1,02	6,19 – 9,13
Se	0,35	0,19	0,12 – 0,74
Sr	1,00	0,40	0,65 – 2,16
Zn	27,5	4,30	21,9 – 36,5

Obsahy prvků v plodnicích hříbu žlučníku

Hřib žlučník (*Tylopilus felleus*) je zařazován mezi houby s léčivými účinky. Současně je ve střední Evropě řazen do nejedlých hub. Plodnice tohoto druhu mají silně hořkou chuť a nemohou být tedy využité při kuchyňských úpravách. O tomto druhu dosud nebylo v odborné literatuře týkající se stopové prvkové analýzy mnoho napsáno. Nicméně data z této studie mohou být porovnána s výsledky pro čeleď *Boletaceae*, kam hřib žlučník patří (Sun a kol., 2017). Autoři se zmiňují o obsazích Mg, Zn, Fe a Cu (v mg kg⁻¹) v následujících rozmezech: 749 – 972, 95,2 – 161, 92,3 – 183 a 25,1 – 42,7. V naší studii je obsah zmíněných prvků v plodnicích hříbu žlučníku následující: 745 ± 112, 79,8 ± 16,4, 24,7 ± 6,59 a 20,8 ± 5,13 v mg kg⁻¹ sušiny.

Lze tedy usuzovat, že hřib žlučník má podobnou schopnost akumulovat zmíněné prvky (s výjimkou Fe) jako druhy z čeledi *Boletaceae*. Tato skutečnost je v souladu s výsledky Falandysze a kol. (2008), kteří uvádí pro Cu a Fe obsahy v rozmezí 26 – 51 a 34 – 53 mg kg⁻¹ pro *Boletus edilus*. Šíma a kol. (2019) se ve své práci zmiňují o vysokém obsahu Rb v plodnicích *Imleria badia* (319 mg kg⁻¹ sušiny) a *Xerocomellus chrysenteron* (172 mg kg⁻¹ sušiny). Vysoký obsah Rb byl zjištěn i v této studii, konkrétně 430 ± 119 mg kg⁻¹ sušiny. O vysokých obsazích Rb (od desítek do stovek mg kg⁻¹) pro čeleď *Boletaceae* diskutuje i Kalač (2016).

Průměrné obsahy prvků (\bar{x}), směrodatné odchylky (s) a rozmezí ($x_{\min} - x_{\max}$) hodnot jsou shrnuty v tabulce 5.

Tabulka 5. Obsah prvků (mg kg⁻¹ sušiny) v plodnicích hříbu žlučníku (*Tylopilus felleus*)

prvek	\bar{x}	s	X _{min} – X _{max}
Al	9,62	5,28	2,00 – 21,5
As	0,22	0,15	0,09 – 0,61
Ca	333	226	47,0 – 818
Cd	0,56	0,34	0,12 – 1,44
Co	0,06	0,05	0,02 – 0,21
Cr	0,06	0,03	0,03 – 0,12
Cs	14,1	6,90	4,40 – 27,8
Cu	20,8	5,10	14,5 – 27,3
Fe	24,7	6,60	18,5 – 45,8
Li	0,50	0,31	0,29 – 1,51
Mg	745	112	(0,55 – 1,00) · 10 ³
Mn	13,9	21,0	4,7 – 86,1
Ni	0,65	0,29	0,32 – 1,29
Pb	<0,05	–	–
Rb	430	119	255 – 634
Se	0,35	0,25	0,12 – 0,85
Sr	3,29	1,18	1,29 – 5,42
Zn	79,8	16,4	66,2 – 109

Akumulace prvků v plodnicích hříbu žlučníku

Pro zjištění míry akumulace prvků v plodnicích hříbu žlučníku byly určeny biokoncentrační faktory (BCF). Za účelem vyjádření BCF byly stanoveny obsahy prvků v půdách, ze kterých plodnice rostly.

Hřib žlučník silně akumuluje Rb, Cd, Cu, Zn, Se, a Mg. Biokoncentrační faktory jsou následující: $65,7 \pm 23,5$, $2,47 \pm 1,74$, $2,32 \pm 0,83$, $1,93 \pm 0,64$, $1,67 \pm 1,24$ a $1,27 \pm 0,40$.

O schopnosti akumulovat Rb v plodnicích hub z čeledi *Boletaceae* hovoří Svoboda a Chrastný (2008). Akumulace Cu a Zn v naší studii je porovnatelná s výsledky, které uvádějí Alonso a kol. (2003). Nicméně míra akumulace Se je v naší studii nižší v porovnání se závěry, které uvádějí Borovička a Řanda (2007).

Průměrné obsahy prvků v půdách či BCF (\bar{x}), směrodatné odchylky (s) a rozmezí ($x_{\min} - x_{\max}$) hodnot jsou shrnuty v tabulkách 6 a 7.

Tabulka 6. Obsah prvků (mg kg⁻¹ sušiny) v půdách

prvek	\bar{x}	s	X _{min} – X _{max}
Al	2,16 · 10 ³	1,24 · 10 ³	(0,71 – 5,65) · 10 ³
As	3,07	1,87	0,65 – 7,36
Ca	2,88 · 10 ³	1,44 · 10 ³	(0,92 – 5,91) · 10 ³
Cd	0,25	0,15	0,02 – 0,54
Co	1,03	0,67	0,04 – 2,33
Cr	10,5	3,30	4,60 – 14,7
Cs	<0,14	–	–
Cu	9,52	2,15	6,89 – 14,1
Fe	2,13 · 10 ³	0,68 · 10 ³	(0,96 – 3,13) · 10 ³
Li	0,87	0,71	0,08 – 2,33
Mg	622	162	433 – 929
Mn	540	325	30,0 – 898
Ni	8,80	6,76	1,18 – 23,2
Pb	34,3	18,8	6,70 – 62,8
Rb	7,19	2,90	3,80 – 14,0
Se	0,21	0,16	0,12 – 0,49
Sr	10,5	4,20	4,40 – 19,2
Zn	45,3	15,6	26,6 – 87,8

Tabulka 7. Biokoncentrační faktory určené pro hřib žlučník (*Tylophilus felleus*)

prvek	\bar{x}	s
Al	0,01	<0,01
As	0,13	0,24
Ca	0,18	0,22
Cd	2,47	1,74
Co	0,11	0,13
Cr	0,01	<0,01
Cu	2,32	0,83
Fe	0,01	<0,01
Li	0,99	1,15
Mg	1,27	0,40
Mn	0,08	0,06
Ni	0,17	0,13
Pb	$2 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-3}$
Rb	65,7	23,5
Se	1,67	1,24
Sr	0,37	0,21
Zn	1,93	0,64

5.1.2 Statistická analýza

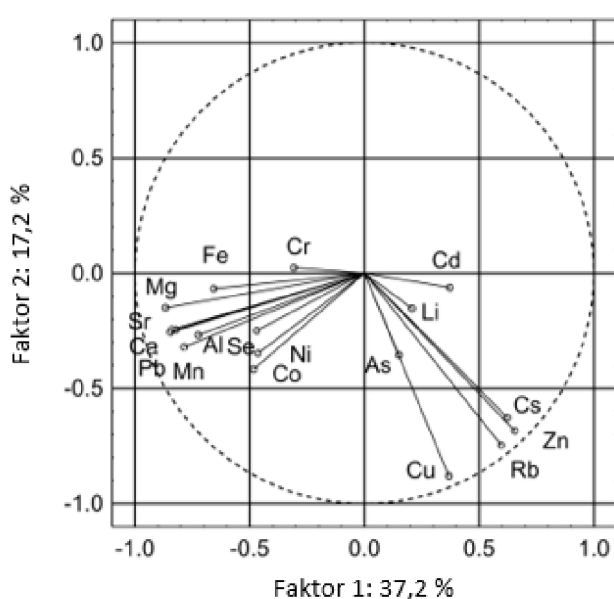
Výsledky byly vyhodnoceny za pomoci analýzy hlavních komponent (PCA), shlukové analýzy a analýzy rozptylu (ANOVA). Jednofaktorová analýza rozptylu byla provedena pro 18 různých prvků. Celkem bylo provedeno 18 analýz a nulová hypotéza byla, že se průměrná hodnota obsahu konkrétního prvku mezi uvažovanými druhy nezměnila. Tato hypotéza byla zamítnuta na hladině významnosti 5% pro všechny prvky s výjimkou As ($P = 0,428$), Cr ($P = 0,280$), Li ($P = 0,254$) a Se ($P = 0,572$). V některých případech byly obsahy prvků pod mezí detekce As (3 případy), Ca (1 případ), Co (1 případ), Cs (12 případů), Cu (6 případů), Li (1 případ), Rb (3 případy), Ni (5 případů) a Se (4 případy). Analýzou rozptylu bylo prokázáno, že obsahy jednotlivých prvků studovaných druhů hub mohou mezi druhy výrazně kolísat (viz tabulka 8).

Tabulka 8. P-hodnoty získané z Tukeyho testu analýzy rozptylu jednotlivých prvků (párové porovnání studovaných druhů hub)

prvek	boltcovitka ucho	boltcovitka ucho	hlíva ústříčná vs. hřib žlučník
	Jidášovo vs. hlíva ústříčná	Jidášovo vs. hřib žlučník	
Al	$1 \cdot 10^{-4}$	$2 \cdot 10^{-4}$	(0,778)
As	(0,659)	(0,916)	(0,408)
Ca	$1 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-4}$	(0,687)
Cd	0,004	(0,106)	(0,323)
Co	0,005	(0,291)	(0,150)
Cr	(0,991)	(0,390)	(0,322)
Cs	(0,213)	$1 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-4}$
Cu	0,009	$1 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-4}$
Fe	(0,352)	0,018	(0,328)
Li	(0,467)	(0,244)	(0,906)
Mg	$1 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-4}$	(0,995)
Mn	$1 \cdot 10^{-4}$	0,001	(0,207)
Pb	$1 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-4}$	(0,924)
Rb	(0,988)	$1 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-4}$
Sr	$2 \cdot 10^{-4}$	$3 \cdot 10^{-4}$	(0,893)
Ni	0,009	(0,105)	(0,503)
Se	(0,725)	(0,556)	(0,951)
Zn	0,088	$1 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-4}$

Hodnoty v závorkách jsou statisticky nevýznamné; významně se nelišily mezi dvěma druhy na hladině významnosti 5 %.

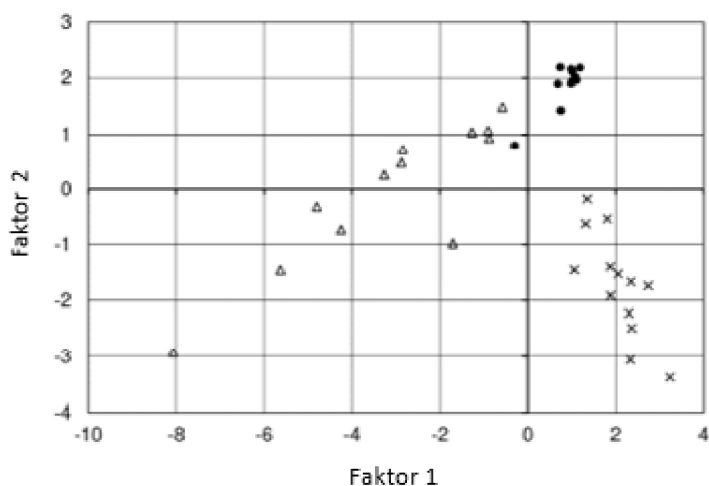
P-hodnoty $< 0,05$ byly považovány za statisticky významné. Z výsledků však nebylo možné vyvodit jednoznačný závěr. Na jedné straně máme Cu a Zn, jejichž obsahy se výrazně měnily u všech tří párů hub (nejvyšší obsahy zaznamenané pro h. žlučník). Na druhou stranu máme kromě Li a Se ještě As a Cr. Jejich obsah se významně nezměnil pro žádné párové srovnání ve shodě s ANOVA. Zajímavé jsou zvýšené obsahy (ve srovnání se zbývajícími druhy) Al, Ca, Pb, Mg, Mn a Sr u boltcovitky ucha Jidášova a Cs a Rb u hříbu žlučníku. Následně byly využity vícerozměrné statistické metody pro analýzu dat bez ohledu na druhovou příslušnost. PCA byla provedena na celém souboru vzorků. Výsledky jsou znázorněny na obrázku 9.



Obrázek 9. Analýza hlavních komponent. Projekce v rovině dvou hlavních faktorů.

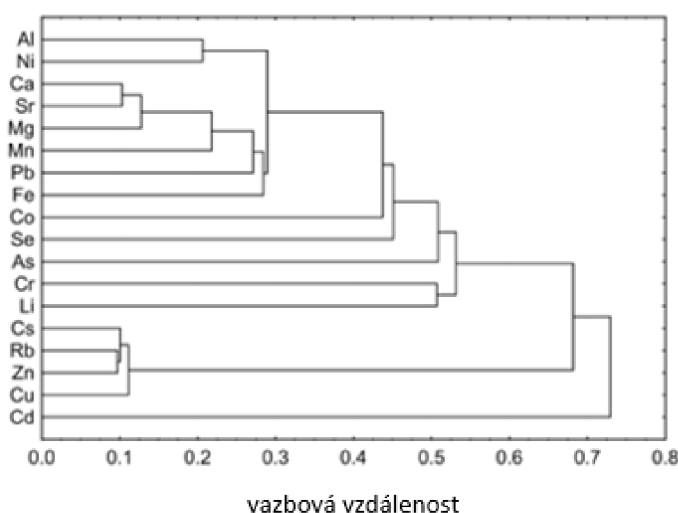
PCA neodhaluje žádné statisticky významné faktory. Byl vybrán model, který má čtyři faktory a které současně mají vlastní hodnotu (eigenvalue) > 1 . Tento model vysvětluje 74,8 % celkové variability dat. Nelze očekávat, že při tomto typu studie bude určeno přesné chemické složení studovaných hub, ale můžeme se pokusit identifikovat důležité ionty, ligandy a formy v různých druzích hub. Z výsledků vyplývá koexistence, či příbuzný obsah a chování alkalických kovů Cs a Rb na jedné straně a kovů alkalických zemin Ca, Mg a Sr na straně druhé. Nezdá se však, že by se Li chovalo obdobně jako Rb. Prvním faktorem našeho modelu je „deficit kovů alkalických zemin Mg, Ca a Sr v kombinaci s Pb“ s ohledem na průměrný obsah ve vzorku. Druhý faktor lze chápat jako „deficit Cu, alkalických kovů Rb a Cs v kombinaci se Zn“. Třetí faktor souvisí s Ni, As,

Al a Li. Čtvrtý faktor souvisí s Cr, Cd a Fe. Příslušné vlastní hodnoty jsou 6,70; 3,09; 1,96 a 1,72. Na obrázku 10 je uvedena projekce druhů hub do roviny prvních dvou faktorů. Trojúhelníky, kruhy a křížky označují boltcovitku ucho Jidášovo, hlívu ústříčnou a hřib žlučník.



Obrázek 10. Druhy hub promítnuté do roviny prvních dvou hlavních faktorů.

Z obrázku vyplývá, že rozptyl dat je nejmenší pro hlívu ústříčnou, pouze s několika málo odlehlými hodnotami. Shluková analýza byla provedena metodou nejbližšího souseda a je znázorněna na obrázku 11.



Obrázek 11. Horizontální hierarchický dendrogram pro analyzované prvky.

Tato metoda byla vybrána z důvodu potlačení převažujícího vlivu prvků s vysokými obsahy jako je Ca a Mg. Obrázek je do značné míry konzistentní s výsledky

získanými pomocí PCA. Nejvýrazněji odlišné prvky jsou Cd, Cu, Cs, Rb, Zn, As, Cr a Li (v sestupném pořadí). Ca, Sr, a Mg hrají významnou roli v obou typech vícerozměrných analýz.

5.1.3 Závěr studie č. 1

Obsahy prvků v plodnicích hub byly značně závislé na druhu studované houby. Ekologická strategie druhů hub (mykorhizní vs. parazitické) výrazně ovlivňuje akumulaci a obsah prvků v plodnicích.

V porovnání s oběma volně rostoucími druhy hub byly obsahy prvků v pěstované hlívě ústříčné (*Pleurotus ostreatus*) výrazně nižší.

Hřib žlučník (*Tylopilus felleus*) silně akumuloval Rb (BCF = 65,7), Cd (2,47), Cu (2,32), Zn (1,93), Se (1,67) a Mg (1,28). Tato skutečnost koresponduje s akumulací prvků v ostatních druzích čeledi *Boletaceae*.

Boltcovitka ucho Jidášovo (*Auricularia auricula-judae*) může být podávána jako vhodný zdroj Ca a Mg. Obsahy Ca (2200 mg kg⁻¹ sušiny) a Mg (2080 mg kg⁻¹ sušiny) byly pro tento druh značně vysoké. Vzhledem k tomu, že ucho Jidášovo roste poměrně dlouhou dobu na dřevě, nelze vyloučit nárůst obsahů prvků v důsledku atmosférických depozic. Nicméně obsahy rizikových prvků jako je As, Cd a Pb (0,21, 0,35 a 0,12 mg kg⁻¹ sušiny) byly nízké.

5.2 Studie 2

Druhá studie je zaměřena na rizikové a esenciální prvky v plodnicích václavky smrkové, penízovky sametonohé a hnojníku obecného.

V rámci této studie bylo proměřeno celkem 58 vzorků hub a půd. Konkrétně bylo analyzováno 10 vzorků plodnic václavky smrkové, 11 vzorků plodnic penízovky sametonohé a 19 vzorků plodnic hnojníku obecného. Současně byly analyzovány vzorky půd odebraných pod posledně jmenovaným druhem.

5.2.1 Obsahy prvků v plodnicích

Obsahy prvků v plodnicích václavky smrkové

Obsahy jednotlivých prvků v plodnicích václavky smrkové (*Armillaria ostoyae*) jsou shrnuty v tabulce 9. Z tabulky je patrné, že plodnice tohoto druhu vykazují vysoký obsah stříbra ($5,62 \pm 1,08 \text{ mg kg}^{-1}$ sušiny). Tuto hodnotu lze porovnat s prací Falandysze a kol. (1994), kde autoři uvádějí výrazně nižší obsah stříbra v příbuzném druhu václavky (václavka obecná: $0,46 \pm 0,28 \text{ mg kg}^{-1}$ sušiny).

Obsah kadmia ($1,68 \pm 0,23 \text{ mg kg}^{-1}$ sušiny) byl srovnatelný s výsledky, které publikovali Cocchi a kol. (2006) ($1,8 \text{ mg kg}^{-1}$ sušiny). Na druhou stranu Mititelu a kol. (2012) publikovali výrazně vyšší obsahy kadmia ($6,2 \pm 8,5 \text{ mg kg}^{-1}$ sušiny) v plodnicích příbuzné václavky obecné sbíraných v průmyslových oblastech v Rumunsku. Obsahy ostatních rizikových prvků jako je Pb ($0,23 \pm 0,09 \text{ mg kg}^{-1}$ sušiny), As ($<0,06 \text{ mg kg}^{-1}$ sušiny), Be ($0,02 \pm 0,01 \text{ mg kg}^{-1}$ sušiny) nebo Tl ($<0,10 \text{ mg kg}^{-1}$ sušiny) byly velmi nízké.

Obsah esenciálního železa ($186 \pm 48 \text{ mg kg}^{-1}$ sušiny) byl v naší práci srovnatelný s prací Zavastina a kol. (2018), kde byl obsah železa v příbuzné václavce obecné 220 mg kg^{-1} sušiny.

Na závěr lze ještě stanovené obsahy prvků v plodnicích porovnat s prací Sarikurkcua a kol. (2020). Všechny výsledky jsou vyjádřeny v mg kg^{-1} sušiny. Nižší hodnoty v porovnání se zmíněnou prací jsme stanovili u následujících prvků: Fe (186 ± 48 vs. 330), Mn ($29,9 \pm 5,0$ vs. 59), Co ($0,06 \pm 0,02$ vs. 1,2), Cd ($1,68 \pm 0,23$ vs. 5,3) a Pb ($0,23 \pm 0,09$ vs. 1,8). Vyšší hodnoty jsme stanovili u následujících prvků: Cu ($28,5 \pm 4,0$ vs. 19) a Ni ($0,87 \pm 0,41$ vs. 0,36). Prakticky stejné hodnoty byly naměřeny v případě zinku ($39,5 \pm 7,2$ vs. 36).

Průměrné obsahy prvků (\bar{x}), směrodatné odchyly (s) a rozmezí ($x_{\min} - x_{\max}$) hodnot jsou shrnuty v tabulce 9.

Tabulka 9. Obsah prvků (mg kg⁻¹ sušiny) v plodnicích václavky smrkové (*Armillaria ostoyae*)

prvek	\bar{x}	s	X _{min} – X _{max}
Ag	5,62	1,08	3,98 – 7,09
Al	22,0	7,40	13,2 – 34,2
As	<0,06	-	–
Be	0,02	0,01	0,01 – 0,04
Ca	149	39,0	79,0 – 244
Cd	1,68	0,23	1,16 – 2,00
Co	0,06	0,02	0,03 – 0,09
Cr	0,16	0,05	0,09 – 0,24
Cs	0,67	0,21	0,24 – 0,94
Cu	28,5	4,00	20,3 – 34,1
Fe	186	48,0	115 – 264
Li	0,30	0,03	0,26 – 0,34
Mg	1,06 · 10 ³	0,06 · 10 ³	(0,92 – 1,16) · 10 ³
Mn	29,9	5,00	21,3 – 37,1
Ni	0,87	0,41	0,50 – 1,58
Pb	0,23	0,09	0,14 – 0,39
Rb	14,7	2,20	11,9 – 18,4
Se	<0,12	-	–
Sr	2,31	0,27	1,99 – 2,78
Tl	<0,10	-	–
Zn	39,5	7,20	28,8 – 50,2

Obsahy prvků v plodnicích penízovky sametonohe

Zjištěné obsahy prvků v plodnicích penízovky sametonohe (*Flammulina velutipes*) jsou shrnuty v tabulce 10. Z tabulky je zjevné, že nejvyšší obsahy jsme stanovili pro Mg ($1170 \pm 140 \text{ mg kg}^{-1}$ sušiny), Ca ($356 \pm 130 \text{ mg kg}^{-1}$ sušiny), Fe ($112 \pm 61 \text{ mg kg}^{-1}$ sušiny) a Zn ($97,6 \pm 18,5 \text{ mg kg}^{-1}$ sušiny).

Naše data lze porovnat s rozsáhlou studií autorů Niedzielski a kol. (2017). V porovnání s touto prací jsme naměřili vyšší obsahy následujících prvků (v mg kg^{-1} sušiny): Ag ($0,33 \pm 0,17$ vs. $0,04$), Al ($24,4 \pm 8,9$ vs. $6,5$), Cd ($2,06 \pm 0,9$ vs. $0,06$), Cu ($15,6 \pm 4,8$ vs. 9), Mn ($26 \pm 8,2$ vs. 11), Ni ($0,89 \pm 0,45$ vs. $<0,04$), Sr ($3,91 \pm 1,42$ vs. 1) a Zn ($97,6 \pm 18,5$ vs. 77). Nižší obsahy jsme stanovili u těchto prvků: As ($0,22 \pm 0,12$ vs. $1,1$), Fe (112 ± 61 vs. 138) a Pb ($0,37 \pm 0,23$ vs. $1,2$).

Obsahy toxických prvků (As, Be, Pb a Tl) jsou natolik nízké, že nepředstavují zdravotní riziko při konzumaci tohoto oblíbeného druhu zimní houby. Na druhou stranu vysoké obsahy některých prvků (Mg, Ca, Fe a Zn) mohou být prospěšné pro lidský organismus.

Průměrné obsahy prvků (\bar{x}), směrodatné odchylky (s) a rozmezí ($x_{\min} - x_{\max}$) hodnot jsou shrnuty v tabulce 10.

Tabulka 10. Obsah prvků (mg kg⁻¹ sušiny) v plodnicích penízovky sametonohé (*Flammulina velutipes*)

prvek	\bar{x}	s	X _{min} – X _{max}
Ag	0,33	0,17	0,13 – 0,60
Al	24,4	8,90	5,20 – 35,9
As	0,22	0,12	0,08 – 0,43
Be	0,04	0,03	0,01 – 0,10
Ca	357	130	225 – 659
Cd	2,06	0,90	0,91 – 3,74
Co	0,10	0,09	0,02 – 0,18
Cr	0,18	0,07	0,10 – 0,29
Cs	0,41	0,15	0,24 – 0,69
Cu	15,6	4,80	8,80 – 23,6
Fe	112	61,0	56,0 – 258
Li	0,46	0,16	0,32 – 0,85
Mg	1,17 · 10 ³	0,14 · 10 ³	(0,99 – 1,36) · 10 ³
Mn	26,0	8,20	11,8 – 39,8
Ni	0,89	0,45	0,36 – 1,60
Pb	0,37	0,23	0,07 – 0,81
Rb	21,8	5,60	15,9 – 31,4
Se	<0,12	-	–
Sr	3,91	1,42	2,30 – 5,93
Tl	<0,10	-	–
Zn	97,6	18,5	61,2 – 121

Obsahy prvků v plodnicích hnojníku obecného

V tabulkách 11 – 14 jsou shrnuty výsledky týkající se hnojníku obecného (*Coprinus comatus*). Tyto tabulky ukazují obsahy jednotlivých prvků v plodnicích sbíraných ze tří lokalit, následně souhrnné obsahy, obsahy prvků v půdách odebíraných pod plodnicemi, a nakonec hodnoty biokoncentračních faktorů (BCF).

Biokoncentrační faktory vyšší než 1,0 byly stanoveny pro Ag (12 ± 8), Cd ($2,5 \pm 1,2$), Cu ($2,3 \pm 0,7$), Se ($1,8 \pm 1,0$) a Rb ($1,1 \pm 0,5$). Vysoká míra akumulace stříbra souvisela s vysokým obsahem tohoto prvku v plodnicích ($1,13 \pm 0,92 \text{ mg kg}^{-1}$ sušiny).

Podobný obsah Ag ($0,89 \text{ mg kg}^{-1}$ sušiny) jako v naší studii uvádějí rovněž Falandysz a kol. (1994). Další vysoké obsahy byly stanoveny pro následující prvky (v mg kg^{-1} sušiny): Al (259 ± 183), Ca (484 ± 242), Cd ($1,73 \pm 0,68$), Cu ($61 \pm 13,2$), Fe (337 ± 165), Mg (1380 ± 180), Rb ($43,7 \pm 23,4$) a Zn ($86 \pm 16,5$).

Obsah kadmia lze porovnat se studií Cocchi a kol. (2006) ($1,5 \text{ mg kg}^{-1}$ sušiny) a také se závěry autorů Cuny a kol. 2001 ($1,4 \text{ mg kg}^{-1}$ sušiny). Petkovšek a Pokorný (2013) stanovili v houbách sbíraných v blízkosti bývalých dolů ve Slovinsku vysoký obsah Cd ($5,8 \text{ mg kg}^{-1}$ sušiny).

Z dat uvedených v tabulkách níže lze usoudit, že obsahy toxických prvků (zejména Pb, As, Be a Tl) jsou v porovnání s výsledky Severoglu a kol. (2013) (Pb: $5,4 \pm 0,3 \text{ mg kg}^{-1}$ sušiny) a Zhu a kol. (2011) (Ni: $1,1 \pm 0,1 \text{ mg kg}^{-1}$ sušiny) nízké a nepředstavují zásadní riziko pro lidské zdraví.

Hnojník obecný může být velmi dobrým zdrojem esenciálních prvků a v alternativní medicíně z něj mohou být připraveny doplňky stravy ve formě farmaceutických kapslí. Plodnice tohoto druhu totiž obsahují značné obsahy Cu, Fe, Mg a Zn (viz výše). Naše výsledky lze porovnat s prací Wang a Hou (2011) Cu: 55 mg kg^{-1} sušiny nebo s prací Severoglu a kol. (2013) Fe: 160 mg kg^{-1} sušiny.

Průměrné obsahy prvků v plodnicích, v půdách či BCF (\bar{x}), směrodatné odchylky (s) a rozmezí ($x_{\min} - x_{\max}$) hodnot jsou shrnuty v tabulkách 12 – 14.

Tabulka 11. Obsah prvků (průměr ± směrodatná odchylka, mg kg⁻¹ sušiny) v plodnicích hnojníku obecného (*Coprinus comatus*) ze tří lokalit odběrů (počty plodnic: 7,7 a 5)

prvek	Soběslav	Veselí nad Lužnicí	Opalice
Ag	0,49 ± 0,14	2,10 ± 0,90	0,72 ± 0,14
Al	150 ± 120	270 ± 120	470 ± 180
As	0,32 ± 0,09	0,62 ± 0,10	0,29 ± 0,05
Be	0,03 ± 0,02	0,08 ± 0,02	0,06 ± 0,02
Ca	490 ± 340	410 ± 110	600 ± 170
Cd	1,20 ± 0,20	2,50 ± 0,50	1,30 ± 0,10
Co	0,22 ± 0,16	0,17 ± 0,03	0,30 ± 0,10
Cr	0,37 ± 0,21	0,48 ± 0,19	0,86 ± 0,27
Cs	2,70 ± 1,00	1,90 ± 0,60	1,80 ± 1,20
Cu	72,0 ± 13,0	60,0 ± 10,0	51,0 ± 8,00
Fe	260 ± 150	310 ± 100	490 ± 170
Li	0,46 ± 0,13	0,50 ± 0,07	1,60 ± 0,90
Mg	1300 ± 100	1300 ± 100	1600 ± 200
Mn	16,0 ± 5,00	11,0 ± 2,00	19,0 ± 5,00
Ni	0,29 ± 0,09	0,35 ± 0,16	0,33 ± 0,11
Pb	0,07 ± 0,03	0,38 ± 0,10	0,38 ± 0,12
Rb	26,0 ± 3,00	77,0 ± 10,0	34,0 ± 2,00
Se	0,18 ± 0,12	0,51 ± 0,05	0,14 ± 0,02
Sr	3,60 ± 1,20	1,90 ± 0,40	2,80 ± 0,80
Tl	<0,10	<0,10	<0,10
Zn	100 ± 17,0	80,0 ± 5,00	74,0 ± 11,0

Tabulka 12. Souhrnný obsah prvků (mg kg⁻¹ sušiny) v plodnicích hnojníku obecného (*Coprinus comatus*)

prvek	\bar{x}	s	X _{min} – X _{max}
Ag	1,13	0,92	0,32 – 3,78
Al	259	183	20,0 – 659
As	0,43	0,18	0,17 – 0,80
Be	0,06	0,03	0,01 – 0,13
Ca	484	242	135 – 970
Cd	1,73	0,68	0,97 – 3,38
Co	0,22	0,20	0,04 – 0,43
Cr	0,52	0,29	0,10 – 1,27
Cs	2,25	1,06	0,57 – 4,08
Cu	61,0	13,2	38,9 – 86,0
Fe	337	165	96,0 – 737
Li	0,72	0,62	0,32 – 3,02
Mg	1,38 · 10 ³	0,18 · 10 ³	(1,08 – 1,82) · 10 ³
Mn	14,5	5,60	7,60 – 21,2
Ni	0,33	0,13	0,11 – 0,71
Pb	0,27	0,18	0,03 – 0,46
Rb	43,7	23,4	19,0 – 81,8
Se	0,29	0,19	0,02 – 0,58
Sr	2,74	1,12	1,25 – 5,18
Tl	<0,10		–
Zn	86,0	16,5	58,2 – 130

Tabulka 13. Obsah prvků (mg kg⁻¹ sušiny) v půdách

prvek	\bar{x}	s	X _{min} – X _{max}
Ag	0,09	0,02	0,06 – 0,13
Al	14,0 · 10 ³	2,20 · 10 ³	(10,4 – 17,3) · 10 ³
As	5,39	2,33	1,82 – 9,42
Be	1,50	0,33	1,01 – 1,60
Ca	1,90 · 10 ³	1,00 · 10 ³	(0,80 – 3,60) · 10 ³
Cd	0,72	0,17	0,46 – 1,09
Co	5,28	2,26	2,79 – 8,69
Cr	24,5	6,4	14,8 – 35,0
Cs	4,46	1,74	2,12 – 9,15
Cu	27,4	5,40	17,6 – 35,2
Fe	20,1 · 10 ³	4,30 · 10 ³	(14,6 – 27,8) · 10 ³
Li	15,3	2,60	10,9 – 19,3
Mg	2,40 · 10 ³	1,00 · 10 ³	(1,40 – 4,40) · 10 ³
Mn	472	266	190 – 900
Ni	20,8	9,00	9,00 – 30,6
Pb	13,7	2,3	10,1 – 18,3
Rb	38,9	8,20	30,3 – 58,4
Se	0,18	0,04	0,13 – 0,26
Sr	14,3	2,00	10,3 – 16,7
Tl	0,28	0,12	0,10 – 0,48
Zn	101	12,0	82,0 – 120

Tabulka 14. Biokoncentrační faktory určené pro hnojník obecný (*Coprinus comatus*)

prvek	\bar{x}	s
Ag	12,0	8,0
Al	0,02	0,01
As	0,09	0,04
Be	0,04	0,02
Ca	0,33	0,20
Cd	2,50	1,20
Co	0,05	0,02
Cr	0,02	0,01
Cs	0,60	0,36
Cu	2,30	0,70
Fe	0,02	0,01
Li	0,05	0,03
Mg	0,68	0,20
Mn	0,04	0,02
Ni	0,02	0,02
Pb	0,02	0,01
Rb	1,10	0,50
Se	1,80	1,00
Sr	0,19	0,07
Zn	0,88	0,19

5.2.2 Statistická analýza

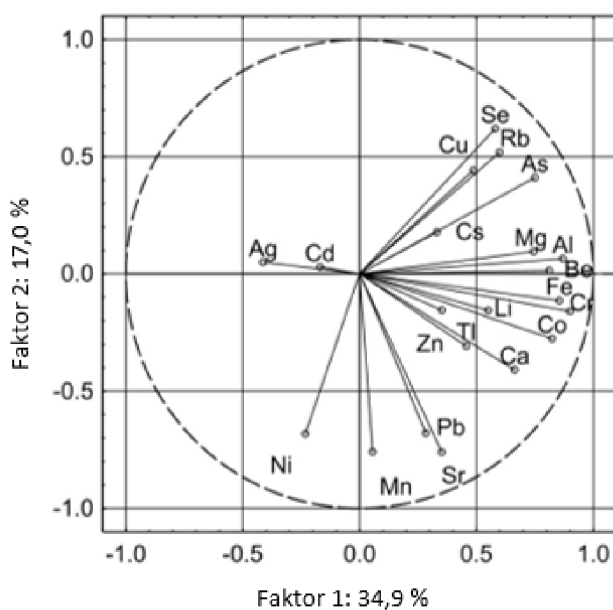
Výsledky byly vyhodnoceny za pomoci analýzy hlavních komponent (PCA), shlukové analýzy a analýzy rozptylu (ANOVA). Jednofaktorová analýza rozptylu byla provedena pro 21 různých prvků. Celkem bylo provedeno 21 analýz a nulová hypotéza byla, že se průměrná hodnota obsahu konkrétního prvku mezi uvažovanými druhy nezměnila. Tato hypotéza byla zamítnuta na hladině významnosti 5% pro všechny prvky. Prvky, kterým byly přisuzovány během rovnoměrné distribuce hodnoty pod mezí detekce, byly As (13 případů), Be (2 případy), Cs (2 případy), Sr (1 případ), Se (22 případů) a Tl (všechny případy). Jeden vzorek měl odlehlé obsahy několika prvků. Byl proto vyloučen z analýz. Analýza rozptylu odhalila, že obsahy jednotlivých prvků mohou mezi druhy výrazně kolísat (viz tabulka 15).

Tabulka 15. P-hodnoty získané z Tukeyho testu analýzy rozptylu jednotlivých prvků v párech studovaných druhů hub.

prvek	václavka smrková vs. hnojník obecný	václavka smrková vs. penízovka sametonohá	hnojník obecný vs. penízovka sametonohá
Ag	$3 \cdot 10^{-4}$	$4 \cdot 10^{-4}$	(0,965)
Al	$4 \cdot 10^{-4}$	(0,929)	$7 \cdot 10^{-4}$
As	$1 \cdot 10^{-4}$	(0,537)	$1 \cdot 10^{-4}$
Be	0,008	(0,467)	(0,144)
Ca	0,002	0,009	(0,941)
Cd	(0,992)	(0,070)	0,046
Co	$9 \cdot 10^{-4}$	(0,579)	0,012
Cr	0,001	(0,456)	(0,031)
Cs	(0,199)	(0,747)	(0,598)
Cu	$1 \cdot 10^{-4}$	(0,579)	$1 \cdot 10^{-4}$
Fe	0,009	(0,806)	0,001
Li	(0,059)	(0,676)	(0,315)
Mg	$1 \cdot 10^{-4}$	(0,166)	0,004
Mn	(0,308)	(0,650)	0,039
Pb	(0,969)	0,046	0,036
Rb	$5 \cdot 10^{-4}$	(0,492)	0,010
Sr	(0,748)	(0,073)	(0,170)
Ni	0,031	(0,653)	0,002
Se	$2 \cdot 10^{-4}$	(0,990)	$1 \cdot 10^{-4}$
Zn	(0,296)	(0,623)	(0,874)
Tl	$1 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-4}$	(0,155)

Hodnoty v závorkách jsou statisticky nevýznamné; významně se nelišily mezi dvěma druhy na hladině významnosti 5 %.

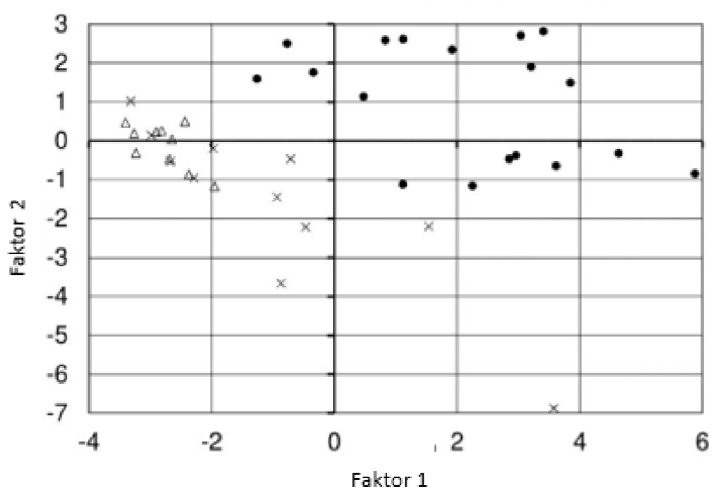
P-hodnoty $< 0,05$ byly považovány za významné. Z výsledků však nebylo možné vyvodit jednoznačný závěr. Na jedné straně nemáme žádné prvky, jejichž obsah by se výrazně měnil pro všechny tři páry hub. Na druhou stranu máme Li, Cs a Sr, jejichž obsah se pro žádné párové srovnání významně neměnil ve shodě s analýzou rozptýlu. Totéž platí i pro Tl, jehož výsledky však nejsou spolehlivé. Za povšimnutí stojí zvýšené obsahy (v porovnání se zbývajícími prvky) Se, Cu, Al, As, Co, Cr, Fe, Mg a Rb v hnojníku obecném, Ag ve václavce smrkové a Pb v penízovce sametonohé. Současně byly pozorovány podstatně nižší obsahy Zn a Ca ve václavce smrkové a Ni v hnojníku obecném. Následně byly využity vícerozměrné statistické metody pro analýzu dat bez ohledu na druhovou příslušnost. PCA byla provedena pro celý soubor vzorků. Výsledky jsou znázorněny na obrázku 12.



Obrázek 12. Analýza hlavních komponent. Projekce v rovině dvou hlavních faktorů.

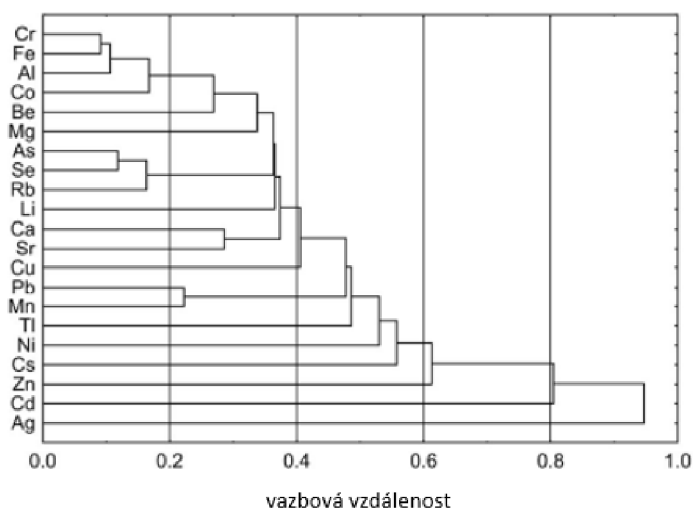
PCA neodhaluje žádné podstatně převažující faktory. Byl vybrán model, který má šest faktorů a které současně mají vlastní hodnotu (eigenvalue) > 1 . Tento model vysvětluje 78,3 % celkové variability dat. Nelze očekávat, že při tomto typu studie bude odhaleno přesné chemické složení studovaných hub, ale můžeme identifikovat důležité ionty, ligandy a chemické formy v různých druzích hub. Zjevná je koexistence Pb a Sr

na jedné straně a koexistence alkalických kovů Li, Cs a Rb a kovů alkalických zemin Ca, Mg a Sr na straně druhé. Prvním faktorem našeho modelu je „nadbytek Cr, Al, Fe a Co v kombinaci s Be“ s ohledem na průměrnou hodnotu vzorku. Druhý faktor lze chápat jako „deficit Sr, Mn, Ni a Pb kombinovaný s přebytkem Se“. Třetí faktor souvisí se Zn, Ag a Li, čtvrtý souvisí s Cu a Cd, pátý a šestý souvisí s Cs. Příslušné vlastní hodnoty jsou 7,33; 3,57; 1,87; 1,38; 1,23 a 1,06. Na obrázku 13 je uvedena projekce druhů hub do roviny prvních dvou faktorů. Trojúhelníky, kruhy a křížky označují václavku smrkovou, hnojník obecný a penízovku sametonohou.



Obrázek 13. Druhy hub promítnuté do roviny prvních dvou hlavních faktorů.

Z obrázku vyplývá, že rozptyl dat pro václavku smrkovou je nejmenší. Shluk pro hnojník obecný odpovídá vyšším hodnotám faktoru 1 i faktoru 2 a je oddělený od zbylých dvou druhů. Shluková analýza byla provedena metodou nejbližšího souseda (viz obrázek 14).



Obrázek 14. Horizontální hierarchický dendrogram pro analyzované prvky.

Tato metoda byla vybrána z důvodu potlačení převažujícího vlivu prvků s vysokými obsahy jako je Ca a Mg. Obrázek je do značné míry konzistentní se závěry vyplývajícími z PCA. Významně odlišnými prvky jsou Ag, Cd, Zn, Cs, Ni, Cu a Li (v sestupném pořadí), což je (s výjimkou Ni) v souladu s předcházejícími studiemi.

5.2.3 Závěr studie č. 2

Plodnice penízovky sametonohé (*Flammulina velutipes*) a václavky smrkové (*Armillaria ostoyae*) vykazují nižší obsahy většiny stanovovaných prvků (s výjimkou Ag u v. smrkové 5,62 mg kg⁻¹ sušiny) v porovnání s plodnicemi hnojníku obecného (*Coprinus comatus*). Tento fakt souvisí s tím, že p. sametonohá a v. smrková jsou druhy hub rostoucí na dřevě. H. obecný vykazoval vysokou míru akumulace Ag, Cd, Cu, Se a Rb s biokoncentračními faktory: 12; 2,5; 2,3; 1,8 a 1,1.

Obsahy rizikových prvků (Be, Cd, Pb a Tl) byly v plodnicích těchto druhů velmi nízké a nepředstavují negativní vliv na lidské zdraví. Naopak zmíněné druhy hub mohou být dobrými zdroji Mg a Zn pro lidský organismus. Rovněž se nabízí možnost jejich využití v alternativní medicíně ve formě kapslí či potravinových doplňků.

5.3 Studie 3

V této studii jsme se zaměřili na obohacování růstového substrátu, ze kterého poté rostly plodnice hlívy ústříčné. Růstový substrát byl obohacen o selen a zinek.

V průběhu studie bylo proměřeno celkem 647 vzorků hub a růstových substrátů. Obohacovací experiment byl proveden ve dvou opakováních. V prvním provedení experimentu bylo proměřeno 174 vzorků plodnic a 30 vzorků růstového substrátu. Ve druhém provedení experimentu bylo proměřeno 389 vzorků plodnic a 54 vzorků růstového substrátu.

Vzhledem k velkému počtu výsledků a tabulek bude porovnání s ostatními autory uvedeno před závěrem této studie.

5.3.1. Obohacovací experiment – první provedení

Zinek – obohacené plodnice

V tabulkách 16, 17 a 18 si můžeme povšimnout, že plodnice narostly celkem ve třech růstových vlnách. Počty jednotlivých plodnic se v jednotlivých růstových vlnách lišily. V poslední třetí vlně byl počet plodnic vždy nejmenší. Tato skutečnost souvisí s tím, že růstový substrát postupně ztrácel živiny, klesala jeho hmotnost, a tudíž byl postupně vyčerpán.

Dále je možné si povšimnout, že průměrné obsahy zinku v plodnicích se pohybovaly v rozmezí 26,2 – 34,1 mg kg⁻¹ sušiny bez ohledu na přídavek Zn (ve formě dihydrátu octanu zinečnatého).

Počty plodnic (n), průměrné obsahy (\bar{x}), směrodatné odchylky (s) a rozmezí ($x_{\min} - x_{\max}$) hodnot jsou uvedené v tabulkách 16 – 18. Hmotnost bloků byla 2 kg.

Tabulka 16. Vzorek 1 – obohacené plodnice (Zn, mg kg⁻¹ sušiny)

vlna	n	\bar{x}	s	X _{min} – X _{max}
1.	15	33,5	5,90	23,2 – 44,0
2.	7	28,7	3,19	23,0 – 32,5
3.	2	33,5	2,43	31,1 – 35,9

Přídavek 10 mg Zn

Tabulka 17. Vzorek 2 – obohacené plodnice (Zn, mg kg⁻¹ sušiny)

vlna	n	\bar{x}	s	X _{min} – X _{max}
1.	15	34,1	6,38	27,6 – 47,6
2.	15	27,7	5,25	19,6 – 37,0
3.	1	26,2	-	-

Přídavek 50 mg Zn

Tabulka 18. Vzorek 3 – obohacené plodnice (Zn, mg kg⁻¹ sušiny)

vlna	n	\bar{x}	s	X _{min} – X _{max}
1.	15	28,3	6,79	21,8 – 47,5
2.	12	26,5	5,36	19,7 – 36,9
3.	4	30,6	1,44	28,8 – 32,6

Přídavek 100 mg Zn

Zinek – neobohacené plodnice

Z tabulek 19, 20 a 21 je na první pohled patrné, že ve třetí růstové vlně již plodnice nevyrostly. Dále je možné si povšimnout, že průměrné obsahy Zn v plodnicích v prvních vlnách růstu si jsou velmi podobné s průměrnými obsahy v první vlně obohacených plodnic (vše v mg kg⁻¹ sušiny): 34,5 resp. 33,5; 42,9 resp. 34,1 a 25,6 resp. 28,3.

V druhých vlnách u neobohacených plodnic došlo k výraznému poklesu obsahu Zn (vše v mg kg⁻¹ sušiny) 12,6 u vzorku 1, 14,6 u vzorku 2 a 10,5 u vzorku 3.

Počty plodnic (n), průměrné obsahy (\bar{x}), směrodatné odchylky (s) a rozmezí ($x_{\min} - x_{\max}$) hodnot jsou uvedené v tabulkách 19 – 21. Hmotnost bloků byla 2 kg.

Tabulka 19. Vzorek 1 – neobohacené plodnice (Zn, mg kg⁻¹ sušiny)

vlna	n	\bar{x}	s	$x_{\min} - x_{\max}$
1.	15	34,5	2,22	29,8 – 38,0
2.	13	12,6	2,10	8,88 – 15,0
3.	0	-	-	-

Tabulka 20. Vzorek 2 – neobohacené plodnice (Zn, mg kg⁻¹ sušiny)

vlna	n	\bar{x}	s	$x_{\min} - x_{\max}$
1.	15	42,9	6,05	30,4 – 53,6
2.	15	14,6	2,00	11,9 – 18,1
3.	0	-	-	-

Tabulka 21. Vzorek 3 – neobohacené plodnice (Zn, mg kg⁻¹ sušiny)

vlna	n	\bar{x}	s	$x_{\min} - x_{\max}$
1.	15	25,6	3,53	20,5 – 32,1
2.	15	10,5	2,48	7,46 – 16,4
3.	0	-	-	-

Zinek – substrát

V tabulce 22 jsou shrnuty průměrné obsahy zinku v substrátech po ukončení experimentu. U substrátů bez obohacení byly hodnoty pod mezí stanovitelnosti (1,21 mg kg⁻¹ sušiny). Co se týká hodnot substrátů s obohacením, tak zde je situace odlišná, nejvyšší obsah Zn má vzorek 3, což souvisí s nejvyšší mírou obohacení na počátku experimentu.

Průměrné obsahy (\bar{x}), směrodatné odchylky (s) a rozmezí ($x_{\min} - x_{\max}$) hodnot jsou uvedené v tabulce 22. Hmotnost bloků byla 2 kg.

Tabulka 22. Substrát po provedení experimentu (s obohacením) (Zn, mg kg⁻¹ sušiny)

vzorek	\bar{x}	s	$x_{\min} - x_{\max}$
1.	56,0	33,2	20,6 - 100
2.	231	141	44,8 – 426
3.	336	184	108 – 607

Selen – obohacené plodnice

V tabulkách 23, 24, a 25 si opět lze povšimnout poklesu počtu plodnic v jednotlivých vlnách. Pokud jde o průměrné obsahy Se v jednotlivých vzorcích, můžeme v tabulkách pozorovat postupný nárůst hodnot. V prvních vlnách byly u všech vzorků průměrné koncentrace nižší než ve vlnách následujících.

Ve druhých a třetích vlnách jsou průměrné obsahy Se v rámci vzorku značně podobné. Největší hodnota je u vzorku 3 v druhé růstové vlně (44,7 mg kg⁻¹ sušiny). Z této skutečnosti lze usuzovat, že obsahy selenu rostou vzestupně v rámci růstových vln.

Počty plodnic (n), průměrné obsahy (\bar{x}), směrodatné odchyly (s) a rozmezí ($x_{\min} - x_{\max}$) hodnot jsou uvedené v tabulkách 23, 24 a 25. Hmotnost bloků byla 2 kg.

Tabulka 23. Vzorek 1 – obohacené plodnice (Se, mg kg⁻¹ sušiny)

vlna	n	\bar{x}	s	$X_{\min} - X_{\max}$
1.	15	2,31	0,67	1,09 – 3,21
2.	7	4,82	1,47	3,11 – 7,27
3.	2	4,12	0,57	3,56 – 4,69

Přídavek 1 mg Se

Tabulka 24. Vzorek 2 – obohacené plodnice (Se, mg kg⁻¹ sušiny)

vlna	n	\bar{x}	s	$X_{\min} - X_{\max}$
1.	15	3,46	0,60	2,54 – 4,51
2.	15	10,5	3,10	5,68 – 15,7
3.	1	9,17	-	-

Přídavek 5 mg Se

Tabulka 25. Vzorek 3 – obohacené plodnice (Se, mg kg⁻¹ sušiny)

vlna	n	\bar{x}	s	$X_{\min} - X_{\max}$
1.	15	22,6	7,18	11,0 – 31,7
2.	12	44,7	11,9	29,3 – 70,7
3.	4	43,2	2,79	39,8 – 47,3

Přídavek 10 mg Se

Selen – neobohacené plodnice

V tabulkách 26, 27 a 28 jsou uvedeny výsledky pro selen v neobohacených plodnicích. V prvních vlnách se průměrné obsahy selenu pohybují v rozmezí 0,22 až 0,37 mg kg⁻¹ sušiny. V druhých vlnách se průměrné obsahy selenu pohybovaly pod mezí stanovitelnosti (0,12 mg kg⁻¹ sušiny). Ve třetích vlnách plodnice nevyrostly vůbec, což může mít souvislost s vyčerpáním růstového substrátu.

Počty plodnic (n), průměrné obsahy (\bar{x}), směrodatné odchylky (s) a rozmezí ($X_{\min} - X_{\max}$) hodnot jsou uvedené v tabulkách 26, 27 a 28. Hmotnost bloků byla 2 kg.

Tabulka 26. Vzorek 1 – neobohacené plodnice (Se, mg kg⁻¹ sušiny)

vlna	n	\bar{x}	s	$X_{\min} - X_{\max}$
1.	15	0,37	0,07	0,28 – 0,47
2.	13	<0,12	-	-
3.	0	-	-	-

Tabulka 27. Vzorek 2 – neobohacené plodnice (Se, mg kg⁻¹ sušiny)

vlna	n	\bar{x}	s	X _{min} – X _{max}
1.	15	0,30	0,07	0,20 – 0,40
2.	15	<0,12	-	-
3.	0	-	-	-

Tabulka 28. Vzorek 3 – neobohacené plodnice (Se, mg kg⁻¹ sušiny)

vlna	n	\bar{x}	s	X _{min} – X _{max}
1.	15	0,22	0,03	0,12 – 0,25
2.	15	<0,12	-	-
3.	0	-	-	-

Selen – substrát

V tabulce 29 jsou shrnuty výsledky pro selen stanovený v růstových substrátech. O substrátech, které nebyly obohaceny, lze konstatovat, že se obsahy selenu pohybují pod mezí stanovitelnosti ($0,12 \text{ mg kg}^{-1}$ sušiny).

V substrátech, které byly obohaceny, jsou vidět rozdíly v průměrných hodnotách, což souvisí s přísadkami, které byly do substrátu dávkovány. Nejvyšší hodnota ($31,4 \text{ mg kg}^{-1}$ sušiny) koresponduje s nejvyšší koncentrací obohacovacího roztoku.

Průměrné obsahy (\bar{x}), směrodatné odchylky (s) a rozmezí ($x_{\min} - x_{\max}$) hodnot jsou uvedené v tabulce 29. Hmotnost bloků byla 2 kg.

Tabulka 29. Substrát po provedení experimentu (s obohacením) (Se, mg kg^{-1} sušiny)

vzorek	\bar{x}	s	$x_{\min} - x_{\max}$
1.	1,28	1,09	0,32 – 3,22
2.	7,01	2,96	3,95 – 11,0
3.	31,4	13,7	11,5 – 45,6

5.3.2. Obohacovací experiment – druhé provedení

Zinek – obohacené plodnice

Z tabulek 30 – 34 vyplývá, že počet plodnic v jednotlivých růstových vlnách klesal podobně jako při prvním provedení obohacovacího experimentu. Zajímavé je, že průměrné obsahy Zn z druhého provedení jsou zhruba o třetinu a někdy až o polovinu vyšší v porovnání s prvním experimentem. Průměrné obsahy Zn se však opět výrazně neliší pro různé přídavky obohacovacích roztoků (jednotlivé přídavky viz experimentální část).

Celková množství zinku, jež přešla ze substrátů do plodnic, jsou následující:

- vzorek 1 – 2,46 mg
- vzorek 2 – 3,40 mg
- vzorek 3 – 2,67 mg
- vzorek 5 – 3,83 mg
- vzorek 6 – 3,77 mg

Z celkových obsahů zinku je opět patrné, že množství, koncentrace ani forma (sloučenina) dávkovaného obohacovacího roztoku (viz experimentální část) zjevně nemá zásadní vliv na výsledné obsahy zinku v jednotlivých plodnicích.

Počty plodnic (n), průměrné obsahy (\bar{x}), směrodatné odchylky (s) a rozmezí ($x_{\min} - x_{\max}$) hodnot jsou uvedené v tabulkách 30 – 34. Hmotnost bloků byla 2 kg.

Tabulka 30. Vzorek 1 – obohacené plodnice (Zn, mg kg⁻¹ sušiny)

vlna	n	\bar{x}	s	$x_{\min} - x_{\max}$
1.	8	45,5	5,67	38,1 – 53,4
2.	7	63,3	6,20	54,2 – 73,1
3.	3	55,9	2,15	52,9 – 57,5

Přídavek 10 mg Zn

Tabulka 31. Vzorek 2 – obohacené plodnice (Zn, mg kg⁻¹ sušiny)

vlna	n	\bar{x}	s	X _{min} – X _{max}
1.	11	49,2	6,09	38,3 – 57,1
2.	9	84,3	9,95	69,1 – 97,9
3.	8	73,3	12,3	59,2 – 87,5

Přídavek 50 mg Zn

Tabulka 32. Vzorek 3 – obohacené plodnice (Zn, mg kg⁻¹ sušiny)

vlna	n	\bar{x}	s	X _{min} – X _{max}
1.	16	56,3	5,63	48,1 – 66,8
2.	16	73,1	9,90	60,5 – 88,1
3.	0	-	-	-

Přídavek 100 mg Zn

Tabulka 33. Vzorek 5 – obohacené plodnice (Zn, mg kg⁻¹ sušiny)

vlna	n	\bar{x}	s	X _{min} – X _{max}
1.	13	54,5	7,21	44,5 – 70,5
2.	20	71,6	8,29	61,5 – 83,6
3.	6	74,0	6,33	63,0 – 84,0

Přídavek 50 mg (pouze dihydrát octanu zinečnatého)

Tabulka 34. Vzorek 6 – obohacené plodnice (Zn, mg kg⁻¹ sušiny)

vlna	n	\bar{x}	s	$X_{\min} - X_{\max}$
1.	18	59,3	4,24	52,6 – 67,2
2.	20	77,8	6,79	68,0 – 90,2
3.	5	58,8	5,24	51,5 – 67,2

Přídavek 50 mg Zn (pouze hexahydrát dusičnanu zinečnatého)

Zinek – neobohacené plodnice

V níže uvedených tabulkách je možné si povšimnout, že počty plodnic v jednotlivých vlnách opět postupně klesají a u některých vzorků (vzorek 2 a vzorek 6) dokonce ve třetích vlnách znovu žádné plodnice nenarostly.

Pokud se zaměříme na průměrné obsahy Zn, je z tabulek patrné, že v třetích růstových vlnách došlo k poklesu obsahu zinku v plodnicích oproti vlně předchozí (vše v mg kg⁻¹ sušiny):

- vzorek 1 – 57,9 → 19,7
- vzorek 2 – 24,9 → plodnice již nevyrostly
- vzorek 3 – 45,5 → 27,2
- vzorek 5 – 52,4 → 41,9
- vzorek 6 – 27,0 → plodnice již nevyrostly

Lze tedy konstatovat, že s postupnými vlnami v substrátu ubývá živin potřebných pro růst plodnic a obsahy zinku klesají.

Počty plodnic (n), průměrné obsahy (\bar{x}), směrodatné odchylky (s) a rozmezí ($X_{\min} - X_{\max}$) hodnot jsou uvedené v tabulkách 35 – 39. Hmotnost bloků byla 2 kg.

Tabulka 35. Vzorek 1 - neobohacené plodnice (Zn, mg kg⁻¹ sušiny)

vlna	n	\bar{x}	s	$X_{\min} - X_{\max}$
1.	20	49,0	4,40	41,2 – 56,3
2.	12	57,9	8,13	47,4 – 72,1
3.	10	19,7	1,71	17,2 – 22,4

Tabulka 36. Vzorek 2 - neobohacené plodnice (Zn, mg kg⁻¹ sušiny)

vlna	n	\bar{x}	s	$X_{\min} - X_{\max}$
1.	20	54,1	5,96	40,4 – 62,1
2.	6	24,9	1,40	22,8 – 26,9
3.	0	-	-	-

Tabulka 37. Vzorek 3 - neobohacené plodnice (Zn, mg kg⁻¹ sušiny)

vlna	n	\bar{x}	s	$X_{\min} - X_{\max}$
1.	20	49,8	5,90	38,1 – 60,5
2.	10	45,5	6,46	38,6 – 58,1
3.	1	27,2	-	-

Tabulka 38. Vzorek 5 - neobohacené plodnice (Zn, mg kg⁻¹ sušiny)

vlna	n	\bar{x}	s	$X_{\min} - X_{\max}$
1.	20	53,1	6,31	42,2 – 65,7
2.	7	52,4	3,84	46,7 – 57,2
3.	5	41,9	4,55	34,2 – 47,4

Tabulka 39. Vzorek 6 - neobohacené plodnice (Zn, mg kg⁻¹ sušiny)

vlna	n	\bar{x}	s	$x_{\min} - x_{\max}$
1.	20	49,6	5,64	39,4 – 59,8
2.	11	27,0	3,99	21,9 – 33,3
3.	0	-	-	-

Zinek – substrát

V tabulkách 40, 41 a 42 jsou shrnuty výsledky, které se týkají růstových substrátů. Z tabulky 40 je patrné, že růstový substrát na začátku experimentu již určité množství zinku obsahuje. Průměrné obsahy zinku na počátku experimentu se liší velmi málo. Lze konstatovat, že substrát dodaný od výrobce bez obohacení ho obsahuje přibližně 2 mg na růstový blok o hmotnosti zhruba 2 kg.

V tabulce 41 jsou uvedené průměrné obsahy ve vyčerpaném substrátu bez obohacení. Z této tabulky vyplývá, že obsah zinku ve vyčerpaném substrátu je nízký.

Z tabulky 42 je patrné, že obohacený substrát má vysoké průměrné obsahy zinku, které korespondují s množstvím nadávkovaného obohacovacího roztoku.

Průměrné obsahy (\bar{x}), směrodatné odchylky (s) a rozmezí ($x_{\min} - x_{\max}$) hodnot jsou uvedené v tabulkách 40, 41 a 42. Hmotnost bloků byla 2 kg.

Tabulka 40. Substrát před provedením experimentu (Zn, mg kg⁻¹ sušiny)

vzorek	\bar{x}	s	$x_{\min} - x_{\max}$
1	8,13	1,57	6,05 – 9,85
2	7,05	0,80	6,05 – 8,01
3	7,34	0,79	6,42 – 8,36
5	10,6	0,48	10,2 – 11,3
6	11,5	1,24	10,5 – 13,2

Tabulka 41. Substrát po provedení experimentu (bez obohacení) (Zn, mg kg⁻¹ sušiny)

vzorek	\bar{x}	s	X _{min} – X _{max}
1	3,28	0,43	2,69 – 3,71
2	3,01	0,27	2,74 – 3,28
3	2,33	0,67	1,41 – 2,89
5	3,15	0,15	3,01 – 3,31
6	<1,21	-	-

Tabulka 42. Substrát po provedení experimentu (s obohacením) (Zn, mg kg⁻¹ sušiny)

vzorek	\bar{x}	s	X _{min} – X _{max}
1	80,7	12,2	69,4 – 97,7
2	227	16,8	204 – 242
3	314	78,7	227 – 418
5	210	5,08	205 – 215
6	221	13,9	207 – 235

Selen – obohacené plodnice

V tabulkách 42 – 45 jsou uvedené výsledky pro selen v obohacených plodnicích. V porovnání s prvním provedením experimentu jsou výsledky u vzorků 1 a 3 podobné. Odlišné výsledky jsou pouze u vzorku 2. V tomto provedení jsou obsahy selenu v daném vzorku zhruba čtyřikrát vyšší. Podobné výsledky byly rovněž získány pro vzorek 4 (přídavek pentahydrátu seleničitanu sodného), který je z hlediska koncentrace stejný jako vzorek 2 (přídavek pentahydrátu seleničitanu sodného + dihydrát octanu zinečnatého).

Celková množství selenu, jež přešla ze substrátů do plodnic, jsou následující:

- vzorek 1 – 0,21 mg
- vzorek 2 – 2,54 mg
- vzorek 3 – 1,99 mg
- vzorek 5 – 2,14 mg.

Počty plodnic (n), průměrné obsahy (\bar{x}), směrodatné odchylky (s) a rozmezí ($x_{\min} - x_{\max}$) hodnot jsou uvedené v tabulkách 42 – 45. Hmotnost bloků byla 2 kg.

Tabulka 42. Vzorek 1 - obohacené plodnice (Se, mg kg⁻¹ sušiny)

vlna	n	\bar{x}	s	$x_{\min} - x_{\max}$
1.	8	2,83	0,45	1,86 – 3,44
2.	7	5,96	1,16	4,25 – 7,22
3.	3	5,62	1,01	4,41 – 6,88

Přídavek 1 mg Se

Tabulka 43. Vzorek 2 - obohacené plodnice (Se, mg kg⁻¹ sušiny)

vlna	n	\bar{x}	s	$X_{\min} - X_{\max}$
1.	11	41,7	4,46	35,2 – 50,8
2.	9	59,2	9,57	32,4 – 69,9
3.	8	51,6	11,8	38,0 – 72,4

Přídavek 5 mg Se

Tabulka 44. Vzorek 3 - obohacené plodnice (Se, mg kg⁻¹ sušiny)

vlna	n	\bar{x}	s	$X_{\min} - X_{\max}$
1.	16	50,7	12,4	29,2 – 71,5
2.	16	42,5	11,6	26,9 – 59,7
3.	0	-	-	-

Přídavek 10 mg Se

Tabulka 45. Vzorek 4 - obohacené plodnice (Se, mg kg⁻¹ sušiny)

vlna	n	\bar{x}	s	$X_{\min} - X_{\max}$
1.	18	26,1	10,2	9,75 – 43,7
2.	11	52,9	8,27	37,5 – 63,7
3.	5	46,8	2,88	42,8 – 50,5

Přídavek 5 mg Se

Selen – neobohacené plodnice

Obsahy selenu v neobohacených plodnicích byly prakticky u všech vzorků pod mezí stanovitelnosti ($0,12 \text{ mg kg}^{-1}$ sušiny). Pouze u vzorku 2 v druhé vlně byla průměrná hodnota $0,36 \text{ mg kg}^{-1}$ sušiny.

Počty plodnic v jednotlivých vlnách byly relativně vysoké (12 – 20). Pouze ve třetích vlnách byl pozorován výrazný pokles v počtu plodnic, mnohdy plodnice ve třetí vlně nevyrostly.

Selen – substrát

V tabulkách 46 a 47 jsou shrnuty výsledky, které se týkají růstových substrátů. Z tabulky 46 vyplývá, že průměrné obsahy selenu v růstovém substrátu jsou nízké, a tudíž obsah celkového množství selenu v bloku neobohaceného substrátu je po přepočtu nižší než $0,05 \text{ mg}$ na růstový blok.

Pokud bychom se zaměřili na vyčerpaný substrát po provedení experimentu bez obohacení, tak se obsahy selenu pohybují pod mezí stanovitelnosti ($0,12 \text{ mg kg}^{-1}$ sušiny).

Z tabulky 47 je patrné, že obohacený substrát má vysoké průměrné obsahy selenu, které korespondují s množstvím nadávkovaného seleničitanu.

Průměrné obsahy (\bar{x}), směrodatné odchylky (s) a rozmezí ($x_{\min} - x_{\max}$) hodnot jsou uvedené v tabulkách 46 a 47. Hmotnost bloků byla 2 kg .

Tabulka 46. Substrát před provedením experimentu (Se, mg kg^{-1} sušiny)

vzorek	\bar{x}	s	$x_{\min} - x_{\max}$
1.	0,21	0,04	0,18 – 0,26
2.	0,22	0,01	<0,12 – 0,22
3.	0,22	0,01	<0,12 – 0,23
4.	0,22	0,04	0,17 – 0,26

Tabulka 47. Substrát po provedení experimentu (s obohacím) (Se, mg kg⁻¹ sušiny)

vzorek	\bar{x}	s	$X_{\min} - X_{\max}$
1.	2,23	0,03	2,19 – 2,26
2.	7,72	1,24	5,97 – 8,69
3.	10,6	1,49	8,54 – 12,1
4.	7,62	0,52	7,11 – 8,14

Porovnání s ostatními autory

V případě zinku lze naši studii porovnat s prací Patrícia a kol. (2013), kde autoři dospěli k velmi podobným výsledkům. V této práci je uvedeno, že rozdíl obsahů zinku mezi neobohacenou a obohacenou plodnicí je minimální (přibližně 3 mg kg^{-1} sušiny). Tudíž lze konstatovat, že obohacení nemá vliv na výsledný obsah zinku v plodnici. Autoři této práce dále uvádějí, že minerální obohacení zinkem však snižuje antioxidační aktivitu hlívy ústřičné. Oproti tomu Gašeka a kol. (2016) nebo Poniedziątek a kol. (2017) uvádějí, že společné obohacení selenem a zinkem antioxidační aktivitu hlívy zvyšuje.

V případě selenu lze naši studii porovnat s pracemi autorů da Silva a kol. (2012), Niedzielski a kol. (2015) a Savic a kol. (2012). V prvně jmenované práci autoři dospěli k závěru, že nejnižší míra obohacení ($3,2 \text{ mg kg}^{-1}$ Se, srovnatelné s naším vzorkem 1) vedla k tomu, že takto obohacené plodnice poskytují dostatečné množství selenu k zajištění denního příjmu selenu pro dospělou osobu. Nejvyšších obsahů selenu v plodnicích v této práci dosáhli přidáním 51 mg Se na kilogram substrátu. V druhé zmiňované práci se autoři taktéž zmiňují, že nejvíce selenu do plodnic přechází při obohacení v rozmezí $53 - 62 \text{ mg kg}^{-1}$. V naší studii jsme nejvyšší obsah selenu pozorovali u vzorků 2, 3 a 4 v rozmezí $50 - 59 \text{ mg kg}^{-1}$ sušiny. Další zajímavou skutečností je, že da Silva a kol. (2012) poukazují na změnu v morfologické stavbě plodnic hlívy po přidání vyššího množství obohacovacího roztoku, které vedlo k výslednému obsahu 31 mg kg^{-1} sušiny (v naší studii srovnatelné se vzorkem 3). Tato změna nastala i v našem případě (viz obrázek 12). Plodnice mají výrazný a silný třeh a klobouk je silně svinutý. Ve třetí zmiňované práci Savic a kol. (2012) uvádějí, že plodnice hlívy ústřičné obohacené selenem dokonce mohou mít pozitivní účinky na mykopatogenní plísň, které mohou být problémem v oblasti hospodářské produkce tohoto oblíbeného druhu houby.



Obrázek 13. Plodnice hlívy ústříčné po výrazném obohacení selenem (vlevo nahoře fotografie převzatá z práce da Silva a kol. 2012, dole uprostřed fotografie srovnatelné plodnice bez obohacení z naší studie, vpravo nahoře fotografie obohacené plodnice z naší studie)

5.3.3. Závěr studie 3

V závěru této studie lze konstatovat, že v případě obohacování růstového substrátu zinkem, je výsledný obohacovací efekt v plodnicích minimální. Na doplnění tohoto faktu jsou níže uvedené přepočty celkového zinku, který přešel do plodnic (k obohacení je ještě přičten obsah zinku v počátečním růstovém substrátu).

- vzorek 1 – celkem k dispozici 12 mg → do plodnic přešlo 2,46 mg
- vzorek 2 – celkem k dispozici 52 mg → do plodnic přešlo 3,40 mg
- vzorek 3 – celkem k dispozici 102 mg → do plodnic přešlo 2,67 mg
- vzorek 5 – celkem k dispozici 52 mg → do plodnic přešlo 3,83 mg
- vzorek 6 – celkem k dispozici 52 mg → do plodnic přešlo 3,77 mg.

V případě selenu byla situace s obohacováním růstového substrátu zcela odlišná. Obohacovací efekt byl pro jednotlivé vzorky výrazný.

- vzorek 1 – celkem k dispozici 1 mg → do plodnic přešlo 0,21 mg
- vzorek 2 – celkem k dispozici 5 mg → do plodnic přešlo 2,54 mg
- vzorek 3 – celkem k dispozici 10 mg → do plodnic přešlo 1,99 mg
- vzorek 4 – celkem k dispozici 5 mg → do plodnic přešlo 2,14 mg.

6. Závěr

Závěrem lze konstatovat, že obsahy prvků v plodnicích hub jsou značně závislé na druhu sledované houby a dále pak na ekologické strategii studovaných druhů (mykorhizní vs. parazitické), která výrazně ovlivňuje akumulaci a obsah prvků v jednotlivých plodnicích.

V rámci první studie této disertační práce bylo zjištěno, že obsahy jednotlivých prvků v plodnicích pěstované hlívy ústříčné (*Pleurotus ostreatus*) byly výrazně nižší ve srovnání s volně rostoucími druhy.

Hřib žlučník (*Tylopilus felleus*) silně akumuloval Rb (65,7), Cd (2,47), Cu (2,32), Zn (1,93), Se (1,67) a Mg (1,28) (v závorkách jsou uvedeny příslušné biokoncentrační faktory).

Boltcovitka ucho Jidášovo (*Auricularia auricula-judae*) může být podávána jako vhodný zdroj Ca a Mg. Obsahy těchto prvků v plodnicích byly 2200 a 2080 mg kg⁻¹ sušiny. Vzhledem k tomu, že ucho Jidášovo roste poměrně dlouhou dobu na dřevě, nelze vyloučit nárůst obsahů prvků v důsledku atmosférických depozic. Oproti tomu obsahy rizikových prvků jako je As, Cd a Pb (0,21, 0,35 a 0,12 mg kg⁻¹ sušiny) byly nízké.

Plodnice penízovky sametonohé (*Flammulina velutipes*) a václavky smrkové (*Armillaria ostoyae*) vykazovaly nižší obsahy většiny stanovovaných prvků (s výjimkou Ag u v. smrkové - 5,62 mg kg⁻¹ sušiny) ve srovnání s plodnicemi hnojníku obecného (*Coprinus comatus*). Tento fakt souvisí se skutečností, že p. sametonohá a v. smrková jsou druhy hub rostoucí na dřevě. H. obecný vykazoval vysokou míru akumulace Ag, Cd, Cu, Se a Rb s biokoncentračními faktory: 12; 2,5; 2,3; 1,8 a 1,1. Obsahy rizikových prvků (Be, Cd, Pb a Tl) byly v plodnicích těchto druhů nízké a nepředstavují negativní vliv na lidský organismus. Zmíněné druhy mohou být naopak dobrými zdroji Mg a Zn. Rovněž mohou být využity v alternativní medicíně ve formě kapslí či jiných potravinových doplňků.

V rámci obohacování růstového substrátu hlívy ústříčné (*Pleurotus ostreatus*) bylo zjištěno, že v případě přidavku zinku je výsledný efekt obohacení plodnic tímto prvkem minimální. V případě selenu však byla situace s obohacováním růstového substrátu zcela odlišná. Obohacovací efekt byl pro jednotlivé vzorky jednoznačně patrný.

Z výsledků získaných pro selen je dále patrné, že už při přidavku 1 mg Se (ve formě Na₂SeO₃) do bloku růstového substrátu o hmotnosti zhruba 2 kg došlo k nárůstu obsahu Se v sušině plodnic na 3 až 6 mg kg⁻¹, což představuje více než o jeden řád vyšší

obsah ve srovnání s blokem substrátu, který nebyl selenem obohacen. V případě přídatku 5 mg Se došlo k dalšímu výraznému nárůstu koncentrace tohoto prvku na 40 až 60 mg kg⁻¹ sušiny.

7. Literatura

Alonso J., Garcia A., Pérez-López M., Melgar M. J. The concentrations and bioconcentration factors of copper and zinc in edible mushrooms. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 2003; 44: 180 – 188.

Antonín V. Houby: Česká encyklopedie. Praha, Česká republika: Reader's Digest; 2003.

Antonín V. Houby jako lék. Praha, Česká republika: Ottovo nakladatelství; 2013.

Bach F., Helm C. V., Bellettini M. B., Maciel G. M., Haminiuk C. W. I. Edible mushrooms: A potential source of essential amino acids, glucans and minerals. Int. J. Food Sci. Technol. 2017; 52: 2382 – 2392.

Blanusa M., Kucak A., Varnai V. M., Saric M. M. Uptake of cadmium, copper, iron, manganese, and zinc in mushrooms (*Boletaceae*) from Croatian forest soil. J. AOAC Int. 2001; 84: 1964 – 1971.

Borovička J., Řanda Z. Distribution of iron, cobalt, zinc and selenium in macrofungi. Mycol. Prog. 2007; 6: 249 – 259.

Cai M., Lin Y., Luo Y. L., Liang H. H., Sun P. L. Extraction, Antimicrobial, and Antioxidant Activities of Crude Polysaccharides from the Wood Ear Medicinal Mushroom *Auricularia auricula-judae* (Higher Basidiomycetes). Int. J. Med. Mushrooms. 2015; 17: 591 – 600.

Cocchi L., Vescovi L., Petrini L. E., Petrini O. Heavy metals in edible mushrooms in Italy. Food Chem. 2006; 98: 277 – 284.

Cuny D., Van Haluwyn C., Pesch R. Biomonitoring of trace elements in air and soil compartments along the major motorway in France. Water Air Soil Pollut. 2001; 125: 273 – 290.

Damte D., Reza M. A., Lee S. J., Jo W. S., Park S. C. Anti-inflammatory Activity of Dichloromethane Extract of *Auricularia auricula-judae* in RAW264.7 Cells. 2011; 27: 11 – 14.

Da Silva M. C. S., Naozuka J., Da Luz J. M. R., De Assunção L. S., Oliveira P. V., Vanetti M. C. D., Bazzolli D. M. S., Kasuya M. C. M. Enrichment of *Pleurotus ostreatus* mushrooms with selenium in coffee husks. Food Chem. 2012; 131: 558 – 563.

Defaye J., Kohlmunzer S., Sodzawiczny K., Wong E. Structure of an antitumor, water-soluble D-glucan from the carpophores of *Tylophorus felleus*. Carbohydr. Res. 1988; 173: 316 – 323.

Dimitrijevic M. V., Mitic V. D., Cvetkovic J. S., Jovanovic V. P. S., Mutic J. J., Mandic S. D. N. Update on element content profiles in eleven wild edible mushrooms from family Boletaceae. Eur. Food Res. Technol. 2016; 242: 1 – 10.

Dotan N., Wasser S. P., Mahajna J. The culinary-medicinal mushroom *Coprinus comatus* as a natural antiandrogenic modulator. Integr. Cancer Ther. 2011; 10: 148 – 159.

Eze C. S., Amandi J. E., Emeka A. N. Survey and proximate analysis of edible mushrooms in Enugu State, Nigeria. Ann. Exp. Biol. 2014; 2: 52 – 57.

Falandysz J., Bona H., Danisiewicz D. Silver content of wild grown mushrooms from Northern Poland. Z. Lebensm. Unters. Forsch. 1994; 199: 222 – 224.

Falandysz J., Kunito T., Kubota R., Bielawski L., Frankowska A., Falandysz J. J. Multivariate characterization of elements accumulated in King Bolete *Boletus edulis* mushroom at lowland and high mountain regions. J. Environ. Sci. Health Part A-Toxic/Hazard. Subst. Environ. Eng. 2008; 43: 1 – 8.

Frangkun Z., Li Q., Wenxiu F., Meiyong Q., Hailing H., Xuejing W. Assessment of heavy metals in some wild edible mushrooms collected from Yunnan Province, China. Environ. Monit. Assess. 2011; 179: 191 – 199.

Fukushima-Sakuno E. Bioactive small secondary metabolites from the mushrooms *Lentinula edodes* and *Flammulina Velutipes*. J. Antibiot. (Tokyo). 2020; 73: 687 – 696.

GaÅsecka M., Mleczek M., Siwulski M., Niezdzieski P. Phenolic and antioxidant properties of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii* enriched with selenium and zinc. Eur. Food Res. Technol. 2016; 242: 723 – 732.

Gonçalves, J. M., de Souza, M. D. C., Rocha R. C. C., Medeiros, R. J., do Couto Jacob S. (2014). Macro and trace elements in edible mushrooms, Shiitake, Shimeji and Cardoncello from Petropolis. Rio de Janeiro, Brazil. Ci4ncia Rural. 2014; 44: 943 – 949.

Grzybek J., Zgorniaknowosielska I., Kasproicz A., Zawilinska B., Kohlmunzer, S. Antitumor-activity of a fungalglucan tylopilan and propionibacterium-acnes preparation. Acta Soc. Bot. Pol. 1994; 63: 293 – 298.

Huang Q. Q., Jia Y., Wan Y. A., Li H. F., Jiang R. F. Market Survey and Risk Assessment for Trace Metals in Edible Fungi and the Substrate Role in Accumulation of Heavy Metals. J. Food Sci. 2015; 80: H1612 – H1618.

Chlap Z., Kohlmunzer S. Effect of *Tylopilus felleus* preparation on transplantable tumor in mice. Planta Med. 1978; 33: 290 – 291.

Kadnikova I. A., Costa R., Kalenik T. K., Guruleva O. N., Yanguo S. Chemical composition and nutritional value of the mushroom *Auricularia auricula-judae*. J. Food Nutr. Res. 2015; 3: 487 – 482.

Kala P. Edible Mushrooms. Chemical Composition and Nutritional Value. Oxford: Elsevier/Academic Press, 2016.

Kala P. Mineral composition and radioactivity of edible mushrooms. London, UK: Elsevier/Academic Press, 2019.

Kalač P. Trace element contents in European species of wild growing edible mushrooms: A review for the period 2000–2009. *Food Chem.* 2010; 122: 2 – 15.

Kalač P. Chemical composition and nutritional value of European species of wild growing mushrooms: A review. *Food Chem.* 2009; 113: 9 – 16.

Keskin F., Sarikurkcu C., Akata I., Tepe B. Element concentration, daily intake of elements, and health risk indices of wild mushrooms collected from Beograd Forest and Ilgaz Mountain National Park (Turkey). *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2021; 28: 51544 – 51555.

Khinsar K. H., Abdul S., Hussain A., Din R. U., Lei L., Cao J., Abbasi M., Rehman A. U., Farooqui N., Yi X., Min H., Wang L., Mintao Z. Anti-tumor effect of polysaccharide from *Pleurotus ostreatus* on H22 mouse Hepatoma ascites in-vivo and hepatocellular carcinoma in-vitro model. *AMB Express.* 2021; 11(1).

Kohlmunzer S., Grzybek J., Tanaka M. Anti-tumor and cyto-toxic activity of polysaccharides from *Tylopilus felleus*. *Planta Medica.* 1980; 39: 231 – 232.

Kohlmunzer S., Quinn M. L., Benoit P. S., Fransworth N. R. Antiinflammatory activity of *Tylopilus felleus* (Bull EX RF) P-Karst. *Polish Journal of Pharmacology and Pharmacy.* 1977; 29: 539 – 541.

Komárek M., Chrastný V., Štíhová J. Metal/metalloid contamination and isotopic composition of lead in edible mushrooms and forest soils originating from a smelting area. *Environ. Int.* 2007; 33: 677 – 684.

Kong F. L., Li F. E., He Z. M., Jiang Y., Hao R. Y., Sun X., Tong H. B. Anti-tumor and macrophage activation induced by alkali-extracted polysaccharide from *Pleurotus ostreatus*. *Int. J. Biol. Macromol.* 2014; 69: 561 – 566.

Liu B., Huang Q., Cai H., Guo X., Wang T., Gui M. Study of heavy metal concentrations in wild edible mushrooms in Yunnan Province, China. *Food Chem.* 2015; 188: 294 – 300.

Maseko T., Callahan D. L., Dunshea F. R., Doronila A., Kolev S. T., Ng K. Chemical characterization and speciation of organic selenium in cultivated selenium-enriched *Agaricus bisporus*. *Food Chem.* 2013; 141: 3681 – 3687.

Merdivan S., Lindequist U. Medicinal mushrooms with antiallergic activities. In *Medicinal Plants and Fungi: Recent Advances in Research and Development*; Agrawal, D. C.; Tsay, H. S.; Shyur, L. F. Wu, Y.C.; Wang, S.Y., Eds.; Springer: Singapore, 2017; 93 – 110.

Michelot D., Poirier F., Meléndez-Howell L. M. Metal content profiles in mushrooms collected in primary forests of Latin America. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 1999; 36: 256 – 263.

Michelot D., Siobud E., Dore J. C., Viel C., Poirier F. Update of metal content profiles in mushrooms - toxicological implications and tentative approach to the mechanisms of bioaccumulation. *Toxicon.* 1998; 36: 1997 – 2012.

Mititelu M., Nicolescu T. O., Ionita C. A., Nicolescu F. Heavy metals analysis of some wild edible mushrooms. *J. Environ. Prot. Ecol.* 2012; 13: 875 – 879.

Mleczek M, Rzymiski P, Budka A, Siwulski M, Jasińska A, Kalač P, Poniedziałek B, Gąsecka M, Niedzielski P. Elemental characteristics of mushroom species cultivated in China and Poland. *J. Food Compos. Anal.* 2018; 66: 168 – 178.

Niedzielski P., Mleczek M., Budka A., Rzymiski P., Siwulski M., Jasinska A., Gąsecka M., Budzinska S. A screening study of elemental composition in 12 marketable mushroom species accessible in Poland. *Eur. Food Res. Technol.* 2017; 243: 1759 – 1771.

Niedzielski P., Mleczek M., Siwulski M., Rzymiski P., Gąsecka M., Kozak L. Supplementation of cultivated mushroom species with selenium: Bioaccumulation and speciation study. *Eur. Food Res. Technol.* 2015; 241: 419 – 426.

Ohiri R. C., Bassey E. E. Evaluation and Characterization of Nutritive Properties of Jelly Ear Culinary-Medicinal Mushroom *Auricularia auricula-judae* (Agaricomycetes) from Nigeria. *Int. J. Med. Mushrooms*. 2017; 19: 173 – 177.

Petkovšek S. A. S., Pokorny B. Lead and cadmium in mushrooms from the vicinity of two large emission sources in Slovenia. *Sci. Total. Environ*. 2013; 443: 944 – 954.

Poniedziałek B., Mleczek M., Niedzielski P., Siwulski M., Gąsecka M., Kozak L., Komosa A., Rzymiski P. Bio-enriched *Pleurotus mushrooms* for deficiency control and improved antioxidative protection of human platelets? *Eur. Food Res. Technol*. 2017; 243: 2187 – 2198.

Radulescu C., Stihl C., Busuioc G., Gheboianu A. I., Popescu I. V. Studies concerning heavy metals bioaccumulation of wild edible mushrooms from industrial area by using spectrometric techniques. *Bull. Environ. Contam. Toxicol*. 2010; 84: 641 – 646.

Rashid M. H., Rahman M. M., Correll R., Naidu R. Arsenic and other elemental concentrations in mushrooms from Bangladesh: Health risks. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2018; 15: 1 – 18.

Savic M., Andjelkovic I., Duvnjak D., Matijasevic D., Avramovic A., Niksic M. The fungastic activity of organic selenium and its application to the production of cultivated mushrooms *Agaricus bisporus* and *Pleurotus spp.* *Arch. Biol. Sci., Belegrade*. 2012; 64: 1455 – 1463.

Seeger R. Cadmium in mushrooms. *Z. Lebensm. Unters. Forsch*. 1978 166, 23 – 24.

Schlecht M. T., Säumel I. Wild growing mushrooms for the Edible City? Cadmium and lead content in edible mushrooms harvested within the urban agglomeration of Berlin, Germany. *Environ. Pollut*. 2015; 204: 298 – 305.

Severoglu Z., Sumer S., Yalcin B., Leblebici Z., Aksoy A. Trace metal levels in edible wild fungi. *Int. J. Environ. Sci. Technol*. 2013; 10: 295 – 304.

Skoog, Douglas A., Donald M. West, F. James Holler a Stanley R. Crouch. *Analytická chemie*. Překlad: Nesměrák K., Červený V., Křížek T., Nováková E. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2019. ISBN 978-80-7592-043-0.

Sun L., Chang W., Bao C., Zhuang Y. Metal contents, bioaccumulation, and health risk assessment in wild edible *Boletaceae* mushrooms. *J. Food Sci.* 2017; 82: 1500 – 1508.

Svoboda L., Chrastný V. Levels of eight trace elements in edible mushrooms from a rural area. *Food Addit. Contam.* 2008; 25: 51 – 58.

Svoboda L., Kalač P. Contamination of two edible *Agaricus* spp. mushrooms growing in a town with cadmium, lead, and mercury. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 2003; 71: 123 – 130.

Svoboda L., Zimmermannová K., Kalač P. Concentrations of mercury, cadmium, lead and copper in fruiting bodies of edible mushrooms in an emission area of a copper smelter and a mercury smelter. *Sci. Total Environ.* 2000; 246: 61 – 67.

Stilinovic N., Capo I., Vukmirovic S., Raskovic A., Tomas A., Popovic M., Sabo A. Chemical composition, nutritional profile and in vivo antioxidant properties of the cultivated mushroom *Coprinus comatus*. *R. Soc. Open Sci.* 2020; 7.

Šíma J., Vondruška J., Svoboda L., Šeda M., Rokos L. The accumulation of risk and essential elements in edible mushrooms *Chlorophyllum rhacodes*, *Suillus grevillei*, *Imleria badia*, and *Xerocomellus chrysenteron* growing in the Czech Republic. *Chem. Biodivers.* 2019; 16: 1 – 11.

Šišák L. The importance of mushroom picking as compared to forest berries in the Czech Republic. *Mykologický Sborník.* 2007; 84: 78 – 83.

Stijve T. Selenium content of mushrooms. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 1977; 164: 201 – 203.

Tel-Çayan G., Öztürk M., Duru M. E., Yabanli M., Türkoğlu A. Content of minerals and trace elements determined by ICP-MS in eleven mushrooms species from Anatolia, Turkey. *Chiang Mai J. Sci.* 2017; 44: 939 – 945.

Vieira P. A. F., Gontijo D. C., Vieira B. C., Fontes E. A. F., de Assunção L. S., Leite J. P. V., Oliveira M. G. A., Kasuya M. C. M. Antioxidant activities, total phenolic and metal contents in *Pleurotus ostreatus* mushrooms enriched with iron, zinc or lithium. *LWT – Food Sci. Technol.* 2013; 54: 421 – 425.

Wang C., Hou Y. Determination of trace elements in three mushroom samples of basidiomycetes from shandong, China. *Biol Trace Elem Res.* 2011; 142: 843 – 847.

Yamac M., Zeytinoglu M., Kanbak G., Bayramoglu G., Senturk H. Hypoglycemic effect of crude exopolysaccharides produced by *Cerrena Unicolor*, *Coprinus Comatus*, and *Lenzites Betulina* isolates in streptozotocin-induced diabetic rats. *Pharm. Biol.* 2009; 47: 168 – 174.

Zavastin D. E., Biliută G., Dodi G., Macsim A. M., Lisa G., Gherman S. P., Breabăn I. G., Miron A., Coseri S. Metal content and crude polysaccharide characterization of selected mushrooms growing in Romania. *J. Food Compos. Anal.* 2018; 67: 149 – 158.

Zhu F. M., Du B., Bian Z. X., Xu B. J. Beta-glucans from edible and medicinal mushrooms: Characteristic, physicochemical and biological activities. *J. Food Compos. Anal.* 2015; 41: 165 – 173.

8. Publikační výstupy

Publikace v časopisech s impaktním faktorem přímo související s disertační prací

Vondruška J., Šíma J., Kobera M., Šeda M., Svoboda L. Determination of Detrimental and Essential Elements in Medicinal Mushrooms *Tylophilus felleus*, *Auricularia auricula-judae*, and *Pleurotus ostreatus* (Agaricomycetes). *Int. J. Med. Mushrooms*. 2022; 24: 85 – 95.

Vondruška J., Šíma J., Kobera M., Rokos L., Šeda M., Svoboda L. Detrimental and essential elements in fruiting bodies of wild-growing fungi *Coprinus comatus*, *Flammulina velutipes*, and *Armillaria ostoyae*. *J. Environ. Sci. Health Part B*. 2022; 57: 243 – 251.

Publikace v časopisech s impaktním faktorem nepřímo související s disertační prací

Šíma, J., Vondruška, J., Svoboda, L., Šeda, M., Rokos, L. The accumulation of risk and essential elements in edible mushrooms *Chlorophyllum rhacodes*, *Suillus grevillei*, *Imleria badia*, and *Xerocomellus chrysenteron* growing in the Czech Republic. *Chem. Biodiversity*. 2019; 16: 1 – 11.

Šíma, J., Kobera, M., Šeda, M., Rokos, L., Vondruška, J., Krejsa, J., Svoboda, L., The three-year monitoring of 18 elements in five edible mushroom species collected from an old orchard. *J. Environ. Sci. Health Part B*. 2020; 55: 319 – 328.

Publikace nesouvisející s disertační prací v databázi Scopus

Šeda, M., Šíma, J., Volavka, T., Vondruška, J. Contamination of soils with Cu, Na and Hg due to the highway and railway transport. *Eurasian J. Soil Sci*. 2017; 6: 59 – 64.

Přednáška na konferenci

Vondruška J. Těžké kovy v jedlých houbách. 2019. Společenství praxe – platforma pro rozvoj klíčových kompetencí Eduforum, reg. č. CZ.02.3.68/0.0/0.0/16_011/0000659, 2017 – 2019, OP VVV EU, MŠMT.

