



Záverečná karta projektu

Názov projektu

Evidenčné číslo projektu

APVV-19-0598

Protektívny účinok extraktu hľivy ustricovej (*Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm.) pri chronických neprenosných ochoreniach

Zodpovedný riešiteľ **MUDr. Peter Chlebo, PhD.**

Príjemca

Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Fakulta agrobiológie a potravinových zdrojov (Ústav výživy a genomiky a Výskumné centrum AgroBioTech Slovenskej poľnohospodárskej univerzity v Nitre).

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

Na riešení projektu sa nepodieľala žiadna zahraničná inštitúcia.

Udelené patenty/podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory, ktoré sú výsledkami projektu

V rámci výstupov projektu bol naplánovaný 1 úžitkový vzor v SR. Počas riešenia projektu bol podaný 1 úžitkový vzor s názvom „Sušienky s prídavkom selénom fortifikovanej hľivy ustricovej a aktívneho glukánu z hľivy a spôsob ich výroby“, registrovanej pod identifikačným číslom PUV 103-2024. Úžitkový vzor je v súčasnej dobe v hodnotiacom konaní na Úrade priemyselného vlastníctva Slovenskej republiky so sídlom v Banskej Bystrici. Uvedený plán bol naplnený. Príkladáme aj link k online prihláške úžitkového vzorku: <https://wbr.indprop.gov.sk/WebRegistre/UzitkovyVzor/Detail/103-2024?csrt=18143822565881178247>.

Najvýznamnejšie publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu – uveďte aj publikácie prijaté do tlače

V rámci projektu boli publikované viaceré významné publikácie. Ich zoznam je uvedený nižšie:

• Golian, M. – Hegedúsová, A. – Mezeyová, I. – Chlebová, Z. – Hegedús, O. – Urminská, D. – Vollmannová, A. – Chlebo, P. 2022. Accumulation of Selected Metal Elements in Fruiting Bodies of Oyster Mushroom. In Foods, 11(1), 76. Dostupné na: <https://www.mdpi.com/2304-8158/11/1/76>

Kategória výstupu: ADC – Vedecké práce v zahraničných karentovaných časopisoch

• Golian, M. – Chlebová, Z. – Žiarovská, J. – Benzová, L. – Urbanová, L. – Hovaňáková, L. – Chlebo, P. – Urminská, D. 2022. Analysis of Biochemical and Genetic Variability of *Pleurotus ostreatus* Based on the β -Glucans and CDDP Markers. In Journal of Fungi, 8(6), 563. Dostupné na: <https://www.mdpi.com/2309-608X/8/6/563>

Kategória výstupu: ADM – Vedecké práce v zahraničných časopisoch registrovaných v databázach Web of Science alebo Scopus

• Valková, V. - Ďuranová, H. - Falcimaigne-Cordin, A., Rossi, C. - Nadaud, F. - Nesterenko,

A. – Moncada, M. – Orel, M. – Ivanišová, E. – Chlebová, Z. – Gabríny, L. – Kačániová, M. 2022. Impact of Freeze-and Spray-Drying Microencapsulation Techniques on β -Glucan Powder Biological Activity: A Comparative Study. In *Foods*, 11(15), 2267. Dostupné na: <https://www.mdpi.com/2304-8158/11/15/2267>

Kategória výstupu: ADM – Vedecké práce v zahraničných časopisoch registrovaných v databázach Web of Science alebo Scopus

• Vadovičová, P. – Fatrcová-Šramková, K. 2022. Slovak adult population during the SARS-CoV-2 virus pandemic. In *Journal of Hygienic Engineering and Design*, vol. 38, s. 272-281, ISSN 1857-8489, 2022.

Kategória výstupu: V3/ADM – Vedecké práce v zahraničných časopisoch registrovaných v databázach Web of Science alebo Scopus

• Ailer, Š. – Janás, M. – Chlebová, Z. – Mankovecký J. – Benešová, L. Influence of the method of concurrently sugar by yeast and bacterial malolactic fermentation technology on qualitative parameters of red wine from winegrowing region Slovakia.

o článok bol koncom augusta 2023 zaslaný do časopisu *International Journal of Agricultural Sustainability*, vydavateľstva Taylor, kde doteraz nebol ešte publikovaný, ale je akceptovaný a v súčasnosti je v recenznom posudzovaní

• Fialková, V. – Ďuranová, H. – Požgajová, M. – Chlebová, Z. 2023. Mushroom β -glucans as anticancer and therapeutic agents: a focus on their mechanism of action. In *Acta fytotechnica et zootechnica*, 26(4): 429-437, ISSN 1336-9245. DOI: <https://doi.org/10.15414/afz.2023.26.04.429-437>.

Kategória výstupu: V3; ADN – Vedecké práce v domácich časopisoch registrovaných v databázach Web of Science alebo SCOPUS

• Duranova, H. – Kuzelova, L. – Borotova, P. – Simora, V. – Fialkova, V. 2024. Human umbilical vein endothelial cells as a versatile cellular model system in diverse experimental paradigms: An ultrastructural perspective. In *Microscopy and Microanalysis*, 30 (3):419–439. <https://doi.org/10.1093/mam/ozae048>

Kategória výstupu: V3; ADC – Vedecké práce v zahraničných karentovaných časopisoch

• Chlebová, Z. – Chlebo, P. – Magula, D. – Vaverková, G. – Vinklerová, S. – Bihari, M. 2023. Stanovenie subfrakcií HDL a LDL cholesterolu ako ďalšie hodnotiace kritérium pri predikcii vzniku aterosklerózy: The determination of HDL and LDL cholesterol subfractions as another evaluation criterion in the prediction of the atherosclerosis. In *Laboratórna diagnostika*, 28 (2), pp. 113-120. ISSN 2729-9201. Dostupné na:

<https://zenodo.org/records/10514289>;

https://www.sskb.sk/2022/wp-content/uploads/2023/11/dg_2023_2_final3.pdf.

Kategória výstupu: V3; ADF – Vedecký výstup publikačnej činnosti z časopisu

• Chlebová, Z. – Golian, M. – Chlebo, P. – Štefániková, J. – Hovaňáková, L. – Valková, V. – Tirpáková, M. – Fialková, V. – Ďuranová, H. – Adamec, S. 2021. Hodnotenie obsahu celkového glukánu vo vybraných vzorkách hlivy ustricovitej (*Pleurotus ostreatus*). In *Výživa – človek – zdravie 2021*, 1. vyd., Nitra : Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, s. 125-131. ISBN 978-80-552-2412-1. Dostupné na:

<http://www.slpk.sk/eldo/2021/dl/9788055224121/9788055224121.pdf>

Kategória výstupu: AED – Vedecké práce v domácich recenzovaných vedeckých zborníkoch, monografiách

• Valková, V. – Ďuranová, H. – Ivanišová, E. – Kačániová, M. – Gabríny, L. 2021. Vývoj bezlepkových krekrov s obsahom hrachového izolátu a betaglukánu. In *Výživa – človek – zdravie 2021*, 1. vyd., Nitra : Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, s. 262-268. ISBN 978-80-552-2412-1. Dostupné na:

<http://www.slpk.sk/eldo/2021/dl/9788055224121/9788055224121.pdf>

Kategória výstupu: AED – Vedecké práce v domácich recenzovaných vedeckých zborníkoch, monografiách

• Lakatošová, J. – Joanidis, P. – Šnirc, M. – Golian, M. – Chlebová, Z. 2024. Aromatika húb nám povie viac, než si myslíme. In: Árvay, J., Lakatošová, J. (Eds.), e-publikácia *Zborník príspevkov Huby vieme čo jeme?* 2024. Nitra : SPU v Nitre, s. 77-87. ISBN: 978-80-552-2741-2. DOI: 10.15414/2024.9788055227412.

Kategória výstupu: O2; BEF – Odborný výstup publikačnej činnosti ako časť knižnej publikácie alebo zborníka

• Požgajová, M. – Kovár, M. – Navrátilová, A. 2022. Oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) ethanolic extract protects yeast cells from glucose stress. In *Book of Reviewed Abstracts*

from the 15th International Scientific Conference organized by the Faculty of Biotechnology and Food Sciences of the Slovak University of Agriculture in Nitra. 1. vyd. Nitra : Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, s. 62. ISBN 978-80-552-2517-3. Dostupné na: <http://www.slplk.sk/eldo/2022/dl/9788055225173/9788055225173.pdf>

Kategória výstupu: AFH – Abstrakty príspevkov z domácich konferencií

• Fialková, V. - Klongová, L. - Urbanová, L. - Farkasová, S. - Grabacka, M. - Capcarová, M. - Spevákova, I. 2023. Cornelian cherry extract-induced cell death by elevating the endoplasmic reticulum stress response in human colorectal adenocarcinoma cells. In Risk Factors of Food Chain. 1st. ed. 63 s. ISBN 978-963-623-071-5. Risk Factors of Food Chain. Gödöllő : MATE Szent István Campus, 2023, s. 33.

Kategória výstupu: AFG – Abstrakty príspevkov zo zahraničných konferencií

Uplatnenie výsledkov projektu

Výsledky projektu je možné uplatniť v niekoľkých oblastiach. Projekt svojím riešením prepojiť navzájom viacero vedecko-výskumných oblastí, čo umožňuje aplikáciu výsledkov projektu nielen vo výskumne, ale aj v praxi. V rámci projektu došlo k multidisciplinárnemu prepojeniu vedných oblastí – od pestovateľských procesov hľivy ustricovitej, determinácií obsahu β -glukánu v rôznych kmeňoch hľivy, experimentoch s bunkovými líniami a modelovými organizmami (kvasinkami), chemicko-analytickými stanoveniami nutričného zloženia hľivy, príprave extraktu z hľivy ustricovitej a jej použitiu pri vývoji nových pekárenských a pečivárenských produktov, vývoji nových receptúr potravín s obsahom hľivy ustricovitej a/alebo aktívneho glukánu až po realizáciu klinickej štúdie na overenie účinkov konzumácie extraktu hľivy ustricovitej u ľudí s diabetes mellitus II. typu.

V oblasti pestovania rôznych kmeňov hľivy ustricovitej za účelom selekcie optimálneho kmeňa projekt prispel k vývoju a optimalizácii pestovateľských podmienok pre hľivu ustricovitú. V rámci výskumu boli kultivované rôzne kmene hľivy ustricovitej na štandardných substrátoch ako aj na substrátoch obohatených o odpady z potravinárskeho priemyslu, čo umožnilo efektívne využitie týchto odpadových materiálov a zlepšenie kvality pestovaných plodníc. Bolo zistené, že určitá miera fortifikácie substrátov vedie k zvýšeniu obsahu β -glukánov a minerálnych látok v plodniciach hľivy ustricovitej, čo má pozitívny vplyv na nutričné a zdravotné hodnoty týchto húb. Výsledky analýzy bioaktívnych látok a minerálnych prvkov v hľive ustricovitej sú využiteľné pri výrobe funkčných potravín ako aj prevencii v predchádzaní eventuálneho rizika spojeného s kontamináciou vybranými ťažkými kovmi. Zvýšený obsah β -glukánov a minerálnych látok zvyšuje nutričnú hodnotu hľivy a môže prispieť k vývoju nových potravinárskych produktov s pridanou hodnotou. V pestovateľskej časti produkovaná biomasa z vybraných produkčných kmeňov (napr. kmeň 19) bola využitá ako východiskový materiál pre klinické štúdie. Tieto štúdie boli/sú zamerané na overenie zdravotných benefitov konzumácie hľivy ustricovitej, najmä v kontexte jej imunomodulačných a antioxidačných vlastností. V neposlednom rade riešenie projektu významne prispieva k udržateľnému rozvoju prostredníctvom využívania odpadových materiálov z potravinárskeho priemyslu a inváznych drevín ako súčasti substrátov pre pestovanie hľivy ustricovitej. Týmto spôsobom sa nielenže redukuje množstvo odpadu, ale zároveň sa zvyšuje ekonomická efektivita pestovania. Projekt poskytol množstvo dát a podkladov pre záverečné práce študentov na vysokých školách. Tieto práce prispeli k vzdelávaniu a rozvoju mladých vedcov v oblasti mykológie a produkčného záhradníctva, čím sa zvyšuje odborná úroveň a kapacita výskumu v tejto oblasti.

Oblasť výskumu s bukovými líniami a kvasinkami: výsledky získané počas doby riešenia projektu pomohli objasniť benefičné účinky testovaného extraktu hľivy ustricovitej v stimulovaných hyperglykemických podmienkach na úrovni bunkovej fyziológie a iných molekulárnych zmien, zahŕňajúc zmeny na úrovni génových expresií. Získané výsledky sú prínosom pre lepšie porozumenie biologických vlastností vyselektovaného kmeňa hlúbika hľivy ustricovitej aplikovaného v klinických štúdiách. Na základe výsledkov získaných z našej štúdie môžeme predpokladať, že extrakt hľivy ustricovitej dokáže v bunke znížiť stres spôsobený glukózovou nerovnováhou.

Oblasť výskumu projektu zameranej na chemicko-analytické štúdie nutričnej hodnoty priniesol optimalizáciu predprípravy vzoriek a vybraných metodík pre chemicko-analytické štúdie. Boli zároveň vykonané chemicko-analytické štúdie vo vzorkách hľivy ustricovitej, konkrétne sa jednalo o stanovenie prvkov vybraných prvkov a bioaktívnych látok ako sú vitamín C, metylestery mastných kyselín, aromatické zlúčeniny a vybrané polyfenolické

látky. V rámci projektu bola riešená i úloha zavedenia novej metodiky stanovenia vitamínov skupiny B pomocou HPLC-DAD/FLD, ktoré neboli doteraz ukončené.

V rámci projektu bolo v oblasti výskumu vývoja receptúr pre sušienky a chlieb, vývoj a optimalizácie receptúr pekárenských výrobkov s prídavkom extraktu z hlivy ustricovitej vyvíjaná receptúra pre pekárske výrobky (chlieb a pečivo), experimentálne boli overované výšky prídavkov extraktu hlivy ustricovej a ich vplyv na základné technologické parametre a reologické parametre pekárenských múk s ich prídavkom. Vplyv extraktu hlivy na technologické vlastnosti procesných medziproduktov, predovšetkým schopnosť viazať vodu, bol významný, a toto zistenie je dôležité z hľadiska konkrétnych technologických krokov. Boli dané odporúčania na kvantitatívnu výšku prídavku a zrealizované senzorické hodnotenia experimentálnych produktov. Taktiež boli zrealizované a vyhodnotené modelové pokusy trvanlivých produktov určených na pohotovostnú konzumáciu (na zahnanie hladu a doplnenie sacharidovej zložky vhodné pre konzumentov s diabetom) s veľmi perspektívnymi výsledkami. Okrem vyššie spomínaných vedecko-výskumných aktivít boli experimentálne overené kvantitatívne prídavky extraktu hlivy ustricovitej do kompozitných múk určených na produkciu suchárov, ktoré je možné považovať za strategické potraviny s dlhou trvanlivosťou a nízkou hmotnosťou. Okrem vyššie spomínaných produktov s prídavkom β -glukánu boli v priebehu projektu vyvíjané aj iné potraviny s pridanou hodnotou, napr. gumové medvedíky s obsahom β -glukánu, čipsy s prídavkom β -glukánu alebo sirupy s prídavkom hlivy a/alebo β -glukánu. Na záver je možné skonštatovať, že extrakt z hlivy ustricovitej ako zdroja biologicky cenných účinkov pre organizmus je možné zapracovať do potravín na báze cereálií (základných potravín) v nutrične významných množstvách. Z technologického hľadiska je nevyhnutné zohľadniť vplyv extraktu z hlivy ustricovitej na procesné medziprodukty a upraviť/optimalizovať jednotlivé kroky bežných rámcových technologických postupov výroby potravinárskych produktov. Aplikáciu extraktu z hlivy ustricovitej vidíme ako veľmi perspektívnu.

Vyvrcholením riešenia projektu bola realizácia klinickej štúdie, ktorá mala charakter dvojito zaslepanej placebom kontrolovanej prospektívnej pilotnej štúdie, ktorá overila účinky konzumácie hlivy ustricovitej u pacientov s diabetes mellitus 2. typu. Analýzou výsledkov štúdie sa zistilo, že konzumácia hlivy ustricovitej vykazovala tendenciu znižovania a úpravy biochemických parametrov. Hlavnými pozitívnymi zisteniami štúdie bolo to, že po konzumácii extraktu hlivy ustricovitej došlo k zníženiu hladiny glykémie na lačno, v druhom odbere sledovanej skupiny voči prvému odberu, ale zároveň i voči skupine s placebom, i keď výsledky neboli štatisticky významné. Štatisticky významné bolo zníženie hladiny inzulínu ($p < 0,05$), ďalej štatisticky významné bolo i zníženie hladiny glykovaného hemoglobínu ($p < 0,05$). Tieto výsledky potvrdzujú účinnosť hlivy ustricovitej pri kontrole glykémie, zlepšenia inzulínovej rezistencie a účinnosti liečby. Posledným významným benefitom štúdie bolo štatisticky významné zvýšenie hladín železa ($p < 0,05$).

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v slovenskom jazyku (max. 20 riadkov)

Všetky hlavné ciele projektu sme splnili bez výnimky. Všetky výsledky podľa cieľov boli publikované alebo sú v príprave publikovania. Riešenie projektu APVV-19-0598 „Protektívny účinok extraktu hlivy ustricovej (*Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm.) pri chronických neprenosných ochoreniach“ bolo rozdelené do niekoľkých etáp. Najprv sme sa snažili nájsť najvhodnejší kmeň hlivy ustricovitej najmä s ohľadom na obsah bioaktívnych látok (hlavne β -glukánov, minerálnych látok a FAME), potom sme sledovali vplyv zloženia pestovateľského substrátu na obsah účinných látok vo vybranom kmeni hlivy ustricovitej a nakoniec sme z vybraného a rozpestovaného kmeňa hlivy ustricovitej vyrobili extrakty, účinky ktorých sme potom sledovali v ďalších etapách projektu. V rámci projektu prebehla kultivácia rôznych kmeňov hlivy ustricovitej na štandardných a fortifikovaných substrátoch, vrátane využitia odpadových materiálov z potravinárskeho priemyslu, čo umožnilo efektívne využitie týchto materiálov a zlepšenie kvality pestovaných plodníc. Zistenie, že určitá fortifikácia substrátov vedie k zvýšeniu obsahu β -glukánov a minerálnych látok v plodniciach, čo má pozitívny vplyv na nutričné a zdravotné hodnoty húb. Zvýšený obsah β -glukánov a minerálnych látok zvyšuje nutričnú hodnotu hlivy a môže prispieť k vývoju nových potravinárskych produktov s pridanou hodnotou. Počas plnenia cieľov projektu sa nám podarilo vyhodnotiť bunkovú viabilitu a cytotoxický potenciál testovaných koncentrácií extraktu hlivy ustricovitej v stimulovaných hyperglykemických podmienkach. Okrem toho bol

vyhodnotený protektívny potenciál extraktu hľivy ustricovitej na úrovni transkriptomiky a boli detegované zmeny expresií viacerých génov zapojených do rôznych biologických dráh a procesov. Počas riešenia projektu bol hodnotený vplyv hypo- a hyperglykemických podmienok kultivácie na rast, metabolickú aktivitu, tvorbu ROS a MDA eukaryotického modelového organizmu *Schizosaccharomyces pombe* a vplyv etanolového extraktu hľivy ustricovitej na dané testované parametre. Zistili sme, že pridaním etanolového extraktu hľivy ustricovitej do kultivačného média sa životné funkcie buniek *S. pombe* vystavené hypo- a hyperglykemickému stresu v značnej miere zlepšili. Uskutočnili sa optimalizácie predprípravy vzoriek hľivy ustricovitej pre zvolené chromatografické metodiky ako aj optimalizácie samotných metodík. V rámci projektu bola riešená aj problematika vývoja nových potravín s pridanou hodnotou, ktoré by mohli byť v budúcnosti prakticky využívané a priemyselne vyrábané. Experimentálne boli overované, zrealizované a vyhodnotené modelové pokusy trvanlivých produktov určených na pohotovostnú konzumáciu (na zahnanie hladu a doplnenie sacharidovej zložky vhodné pre konzumentov s diabetom) s veľmi perspektívnymi výsledkami. V rámci výstupov projektu bol podaný 1 úžitkový vzor v SR. Záverom riešenia projektu bola zrealizovaná klinická štúdia, ktorej najhlavnejšími výsledkami boli zistenia, že konzumácia sušeného extraktu hľivy ustricovitej štatisticky významne zvyšovala hladinu Fe, znižuje hladinu glukózy nalačno, štatisticky významne znižuje hladinu inzulínu a glykovaného hemoglobínu, čo umožňuje lepšiu kontrolu glykémie, inzulínovej rezistencie a účinnosť liečby.

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v anglickom jazyku (max. 20 riadkov)

We have met all the aims set without exception. All results according to the aims of the project have been published or are in preparation for publication. The solution to the project APVV-19-0598 "The protective effect of *Pleurotus ostreatus* (Jacq., P. Kumm.) in chronic non-communicable diseases" was divided into several stages. First, we tried to find the most suitable strain of oyster mushroom, especially with regard to the content of the bioactive substances (mainly β -glucans, minerals and FAME), then we monitored the influence of the composition of the growing substrate on the content of the active substances in the selected strain of oyster mushroom, and finally, from the selected and the cultivated strain of oyster mushroom we produced extracts, the effects of which we then monitored in the next stages of the project. Within the project, it took place cultivation of various oyster mushroom strains on standard and fortified substrates, including the use of waste materials from the food industry, allowed for the effective utilization of these materials and improved the quality of the cultivated fruiting bodies. It was found that certain substrate fortification leads to an increase in the content of beta-glucans and mineral elements in the fruiting bodies, which has a positive impact on the nutritional and health values of the mushrooms. Increased content of β -glucans and mineral elements enhances the nutritional value of the oyster mushrooms and can contribute to the development of new food products with added value. While fulfilling the goals of the project, we evaluated the cell viability and cytotoxic potential of the tested concentrations of the oyster mushroom extract under stimulated hyperglycemic conditions. Additionally, we assessed the protective potential of the oyster mushroom extract at the transcriptomic level, detecting changes in the expression of several genes involved in various biological pathways and processes. During the implementation of the project, the influence of hypo- and hyperglycemic cultivation conditions on the growth, metabolic activity, ROS and MDA formation of the eukaryotic model organism *Schizosaccharomyces pombe* and the influence of the ethanol extract of the oyster mushroom on the given tested parameters were evaluated. We found out that the vital functions of *S. pombe* cells exposed to the hypo- and hyperglycemic stress were significantly improved by adding ethanol extract of oyster mushroom to the culture medium. Optimizations of pre-preparation of oyster mushroom samples for selected chromatographic methodologies as well as optimization of the methodologies themselves were carried out. As part of the project, the issue of developing new foods with added value that could be practically used and industrially produced in the future was solved. Experimentally, model trials of durable products intended for the emergency consumption (to ward off hunger and to supplement the carbohydrate component suitable for consumers with diabetes) were verified, implemented and evaluated with the very promising results. As part of the project's outputs, 1 utility model was filed in the Slovak Republic. The conclusion of the solution of the

project, a clinical study was implemented, the main results of which were the findings that the consumption of the dried oyster mushroom extract statistically significantly increased the level of Fe, reduced the level of fasting glucose, statistically significantly reduced the level of insulin and glycated hemoglobin, which allows a better control of glycemia, insulin resistance and the effectiveness of the treatment.