

JANUSZ KALBARCZYK, WIOLETTA KOC, ANETA SŁAWIŃSKA, WOJCIECH RADZKI

Katedra Przetwórstwa Owoców i Warzyw
Akademia Rolnicza w Lublinie

EKSTRAKTY POZYSKIWANE Z OWOCNIKÓW GRZYBÓW JADALNYCH JAKO POTENCJALNY SKŁADNIK SOSÓW MIĘSNO-GRZYBOWYCH

Streszczenie. Przeprowadzone badania miały na celu oznaczenie zawartości związków fenolowych w owocnikach i ekstraktach z bocznika. Określono wpływ działania ekstraktów grzybowych na autooksydację oleju słonecznikowego w porównaniu z przeciwutleniaczami syntetycznymi takimi, jak BHA i α -tokoferol. Zbadano także jaki wpływ ma rodzaj zastosowanego rozpuszczalnika organicznego na efektywność ekstraktów grzybowych. Sprawdzone również czy blanszowanie oddziałuje na aktywność przeciwutleniającą związków fenolowych zawartych w owocnikach *Pleurotus ostreatus*.

Słowa kluczowe: *Basidiomycetes*, ekstrakty, naturalne antyutleniacze

Wstęp

W celu zapobiegania niszczącym reakcjom utleniającym są stosowane w procesie technologicznym przeciwutleniacze. W wielu ośrodkach badawczych na świecie zintensyfikowano badania dotyczące źródeł naturalnych przeciwutleniaczy, metod ich wyodrębniania i możliwości zastępowania antyoksydantów syntetycznych. Wiele substancji wykazujących aktywność przeciwutleniającą stwierdzono w roślinach. Również owocniki wielu nowych jadalnych gatunków grzybów wyższych charakteryzują się dużą zawartością związków fenolowych. W Japonii w 1993 roku przebadano aktywność przeciwutleniającą ekstraktów etanolowych ze 150 gatunków grzybów. Okazało się, że 1/3 badanych gatunków wykazywała znaczącą aktywność przeciwutleniającą. Największą aktywnością atyoksydacyjną charakteryzowały się gatunki *Boletaceae* i *Suillus* (KAŁUGA i IN. 1993).

W poszukiwaniu substancji aktywnych naturalnego pochodzenia przeprowadzono badania na owocnikach bocznika ostrygowatego (*Pleurotus ostreatus*) uprawianego w warunkach hodowli stałej na podłożu lignino-celulozowym.

Celem pracy było potwierdzenie obecności związków fenolowych w owocnikach i ekstraktach z bocznika oraz określenie wpływu działania ekstraktów grzybowych na autooksydację oleju słonecznikowego w porównaniu z przeciwutleniaczami syntetycznymi takimi, jak BHA i α -tokoferol. Porównano także efektywność ekstraktów grzybowych uzyskanych z użyciem różnych rozpuszczalników i zastosowaniem dodatku proszku grzybowego do oleju. Ponadto określono wpływ blanszowania na aktywność przeciwutleniającą związków fenolowych zawartych w owocnikach.

Materiały i metody

Wykorzystane do badań owocniki bocznika ostrygowatego zakupiono u producenta. Była to krajowa odmiana 107. Czyste kultury sprowadzono z wytwórni grzybni „Polmycel”. Bocznik był uprawiany na mieszance słomy pszennej i żytniej.

Przygotowanie próbki do oznaczeń

Pobrano 62,22 g świeżych owocników bocznika i 70,01 g poddanego blanszowaniu. Każdą odważkę zhomogenizowano z wodą destylowaną w proporcji 1 g owocników na 3 ml wody destylowanej. W celu uniknięcia ciemnienia użyto lodu do chłodzenia. Następnie próbę wirowano przez 5 min przy 3000 obrotów.

Oznaczanie suchej masy

Próby owocników blanszowanych i nieblanszowanych o masie ok. 1 g odważano na wadze analitycznej w wysuszonym i zważonym uprzednio naczynku wagowym. Następnie suszono w temperaturze 105°C w ciągu 3-5 h, po czym naczynko umieszczano w eksykatorze, studzono i ponownie ważono. Czynność suszenia powtarzano dopóty, dopóki dwa kolejne wyniki ważenia nie różniły się między sobą więcej niż 2 mg.

Zawartość suchej substancji obliczano z różnicy między ciężarem przed i po suszeniu oraz wyrażono w procentach według poniższego wzoru (PN-90/A-75101/03):

$$X = [(b - c)/(a - c)] 10,$$

gdzie:

- a* – masa naczynka z próbą przed suszeniem (g),
- b* – masa naczynka po suszeniu (g),
- c* – masa naczynka pustego (g).

Oznaczanie poziomu substancji fenolowych metodą DASA

Do 1 ml badanej próby dodano 0,1 ml 1-procentowego roztworu sulfamilamidu w 10-procentowym HCl oraz 5-procentowym NaNO₂. Po dokładnym wymieszaniu dodawano 1 ml 20-procentowego NaCO₃ i mierzono absorbancję wobec próby kontrolnej przy długości fali 500 nm. Odczynniki: 1-procentowy roztwór sulfamilamidu w 10-procentowym HCl, 5-procentowy roztwór NaNO₂, 20-procentowy roztwór bezwodnego NaCO₃.

Oznaczanie zawartości cukrów metodą Samogyi-Nelsona (SIN i LEVISON 1950)

Do oznaczenia zawartości cukrów redukujących przeprowadzono klarowanie badanego roztworu płynem Carreza w celu usunięcia substancji białkowych i pektyn.

Przygotowanie ekstraktów (AMAROWICZ i IN. 1995)

Każdą porcję sproszkowanych suszonych świeżych i blanszowanych owocników odważono po 35 g, wymieszano z 300 ml rozpuszczalnika, wstawiono do łaźni wodnej i ekstrahowano w temperaturze 80°C przez 15 min. Następnie studzono i wirowano przez 10 min/3000 obrotów. Powstały osad ponownie wymieszano z 300 ml rozpuszczalnika, powtarzając ekstrakcję i wirowanie. Ekstrakt poddano destylacji w celu odparowania rozpuszczalnika na wyparce próżniowej obrotowej w temperaturze 45°C. Powstały roztwór ekstraktu poddano liofilizacji. Odczynniki: 80-procentowy etanol, 80-procentowy aceton, 80-procentowy metanol.

Ocena własności przeciwutleniających ekstraktów na podstawie testu suszarkowego

Do oczyszczonego z tokoferoli oleju (5 g) dodawano ekstrakty o stężeniu 0,1%. Naważki rozpuszczano w 0,5 ml 80-procentowego metanolu. Do badań wykorzystano test suszarkowy, stosując temperaturę 60°C przez okres 7 dni. Dla porównania aktywności przeciwutleniającej ekstraktów wykonano próby kontrolne bez dodatku przeciwutleniaczy oraz z dodatkiem BHA o stężeniu 0,02% i α -tokoferolu o stężeniu 0,01%.

Oznaczenie przeprowadzono początkowo w odstępach 8-godzinnych, a następnie w odstępach dobowych. Pobierano po 0,5 g oleju z każdej próby i oznaczano zawartość nadtlenków normatywną metodą miareczkową. Miarą stabilności oleju (tzw. długość okresu indukcyjnego procesów autooksydacji) był czas, po którego upływie zawartość nadtlenków osiągnęła poziom 25 milirównoważników tlenu w 1000 g.

Odczynniki: BHA, α -tokoferol, oczyszczony olej, metanol 80-procentowy.

Usuwanie tokoferoli z oleju słonecznikowego

Do usunięcia tokoferoli z oleju słonecznikowego użyto chromatografii absorpcyjnej. Tlenek glinu Al_2O_3 suszono w 100°C przez 24 h i po wystudzeniu w eksyktorze pakowano do kolumny chromatograficznej (50 g). Do kolumny nalano 70 ml oleju słonecznikowego rafinowanego i przeciągano kolumnę z użyciem próżni. Otrzymano bezbarwny olej pozbawiony tokoferoli. Odczynniki: Al_2O_3 , olej słonecznikowy.

Oznaczanie liczby nadtlenkowej (AOCS 1989)

Odważano 0,5 g oleju do kolbki, dodawano 10 ml mieszanki kwas octowy-chloroform (3:2 v/v). Po wymieszaniu dodawano roztwór KJ w ilości 0,5 ml. Po upływie 1 min i dokładnym wymieszaniu dodawano 10 ml wody destylowanej. Roztwór miareczkowano 0,01 N $Na_2S_2O_3$ do prawie całkowitego zaniku barwy żółtej. Następnie dodawano wskaźnik skrobiowy w ilości 0,5 ml i kontynuowano miareczkowanie aż do zaniku niebieskiej barwy.

Wartość nadtlenkowa (milirównoważniki nadtlenku/1000 g próby):

$$(S - B) \cdot N \cdot 1000/\text{masa},$$

gdzie:

- B – ml $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ zużytego do miareczkowania próby ślepej,
 S – ml $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ zużytego do miareczkowania próby badanej,
 N – normalność roztworu $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$.

Badanym próbom nadano następujące nazwy:

- SE – zliofilizowany ekstrakt etanolowy z nieblanszowanych owocników,
 BE – zliofilizowany ekstrakt etanolowy z blanszowanych owocników,
 SM – zliofilizowany ekstrakt metanolowy z nieblanszowanych owocników,
 BM – zliofilizowany ekstrakt metanolowy z blanszowanych owocników,
 SA – zliofilizowany ekstrakt acetonowy z nieblanszowanych owocników,
 BA – zliofilizowany ekstrakt acetonowy z blanszowanych owocników,
 K – kontrola.

Wyniki

Największą zawartością cukrów ogółem charakteryzuje się próba BE (zliofilizowany ekstrakt etanolowy z blanszowanych owocników) – 5940 mg%, natomiast zawartość najmniejszą wykazuje próba BM (zliofilizowany ekstrakt metanolowy z blanszowanych owocników) o wartości 1070 mg%.

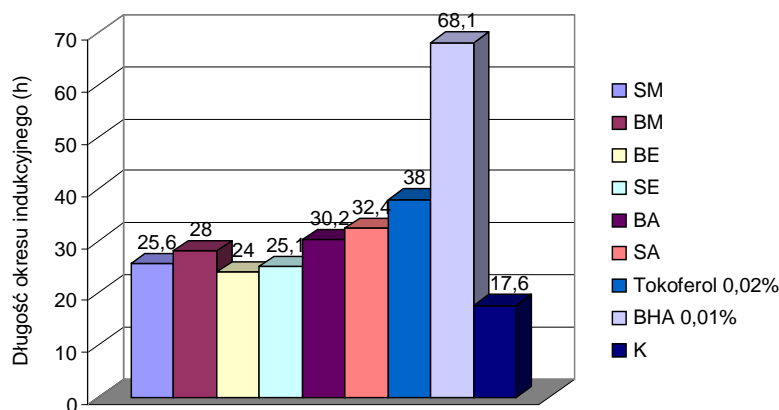
Stwierdzono, że największą zawartością związków fenolowych (500 mg%) wyróżnia się próba SA (zliofilizowany ekstrakt acetonowy z nieblanszowanych owocników), a najmniejszą próba BA (zliofilizowany ekstrakt acetonowy z blanszowanych owocników) – 190 mg%. Zawartość związków w ekstraktach z owocników nieblanszowanych jest znacznie większa niż w ekstraktach z owocników blanszowanych. Jedynie ekstrakty etanolowe nie wykazywały znacznych różnic.

Tabela 1. Zawartość związków fenolowych i cukrów w ekstraktach *Pleurotus ostreatus*
 Tabel 1. Content of phenolic compounds and sugars in extracts of *Pleurotus ostreatus*

Rodzaj próbki	Cukry (mg%)		Fenole (mg%)
	redukujące	ogółem	DASA
SE	1 620	3 610	440
BE	1 820	5 940	480
SM	1 890	3 690	430
BM	1 070	2 630	320
SA	2 140	3 800	500
BA	1 230	4 740	190

Tabela 2. Długość okresów indukcyjnych procesu autooksydacji oleju słonecznikowego z dodatkiem ekstraktów z owocników *P. ostreatus* w porównaniu z próbkami z BHA i α -tokoferolem
 Tabel 2. Length inductive time of sunflower oil outooxidation processes with addition extracts from fruitbodies *P. ostreatus* in comparison to the samples with BHA and α -tokoferol

Rodzaj próbki	Długość okresu indukcyjnego (h)
SM	25,6
BM	28,0
BE	24,0
SE	25,1
BA	30,2
SA	32,4
Tokoferol 0,02%	38,0
BHA 0,01%	68,1
K	17,6



Rys. 1. Długość okresów indukcyjnych procesu autooksydacji oleju słonecznikowego z dodatkiem ekstraktów z owocników *P. ostreatus* w porównaniu z próbkami z BHA i α -tokoferolem

Fig. 1. Length inductive time of sunflower oil outooxidation processes with addition extracts from fruitbodies *P. ostreatus* in comparison to the samples with BHA and α -tokoferol

Jak wynika z tabeli 2 oraz z rysunku 1 wszystkie zastosowane rodzaje prób wpływają na wydłużenie okresów indukcyjnych procesu autooksydacji oleju słonecznikowego w stosunku do kontroli. Najskuteczniejsze okazały się acetonowe ekstrakty z surowych i blanszowanych owocników bocznika (32,4 h i 30,2 h odpowiednio). Po zastosowaniu metanolu jako rozpuszczalnika większą aktywność przeciwutleniającą wykazał ekstrakt z owocników blanszowanych (28 h) w porównaniu z ekstraktem z owocników suro-

wych (25,6 h). Stosując etanol jako rozpuszczalnik, nie zauważono znaczących różnic pomiędzy ekstraktami z owocników blanszowanych i surowych. Żaden z zastosowanych ekstraktów nie hamował procesu autooksydacji oleju w takim stopniu, jak BHA w stężeniu 0,01% (68,1 h).

Wnioski

1. Wykazano obecność związków fenolowych w owocnikach *Pleurotus ostreatus*.
2. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono nieco większą zawartość związków fenolowych w ekstraktach z owocników surowych, stosując aceton i metanol jako rozpuszczalnik. Po zastosowaniu etanolu jako rozpuszczalnika do ekstrakcji nie zaobserwowano istotnych różnic w zawartości związków fenolowych.
3. Największą zawartość fenoli uzyskano w ekstrakcie z surowych owocników *P. ostreatus*, używając acetonu przy ekstrakcji (500 mg%).
4. Wszystkie zastosowane rodzaje ekstraktów powodują wydłużenie okresów indukcyjnych procesu autooksydacji oleju słonecznikowego w stosunku do kontroli. Najskuteczniejsze okazały się acetonowe ekstrakty z surowych i blanszowanych owocników bocznika (32,4 h i 30,2 h odpowiednio).
5. Żaden z zastosowanych ekstraktów nie hamował procesu autooksydacji oleju w takim stopniu, jak BHA w stężeniu 0,01% (68,1 h).
6. Zastosowane syntetyczne przeciwutleniacze: BHA (0,01%) i α -tokoferol (0,02%) okazały się skuteczniejszymi antyutleniaczami od ekstraktów z *Pleurotus ostreatus* w stężeniu 0,1%.

Literatura

- AOCS. Official Methods and Recommended Practices. 1989. Ed. D. Firestone. AOCS Press, Illinois.
- AMAROWICZ R., PISKUŁA M., HONKE J., RUDNICKA B., TROSYŃSKA A., KOZŁOWSKA H., 1995. Extraction of phenolics compounds from seeds (*Lens culinaris*) various solvents. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 4, 45: 53-62.
- KALUGA A., AOYAGI Y., SUGAHARA T., 1993. Antioxidative activity of several mushroom extracts. *J. Jap Soc. Food Sci. Tech.* 40, 1: 56-63.
- SIN R.E., LEVISON H.S., 1950. The biological degradation of soluble cellulose derivatives and its relationship to the mechanism of cellulose hydrolysis. *J. Bacteriol.* 59: 458.

THE EXTRACTS FROM MUSHROOM FRUCTIFICATIONS AS A POTENTIAL COMPOUND MEAT-MUSHROOM SOUCES

Summary. The aim of this work to determine the phenol compounds amount in the *Pleurotus ostreatus* fructifications and extracts. It was determined also effect of mushrooms extract addition on the sunflower oil autooxidation in comparison with synthetic antioxidants: BHA I α -tokoferol.

Kalbarczyk J., Koc W., Sławińska A., Radzki W., 2007. Ekstrakty pozyskiwane z owocników grzybów jadalnych jako potencjalny składnik sosów mięsno-grzybowych. *Nauka Przyr. Technol.* 1, 4, #52.

It was studied also influence of organic solvent on the efficiency mushroom extracts. It was determined effect of blanching on the antioxidant activity of phenol compounds contained in *Pleurotus ostreatus*.

Key words: *Basidimycetes*, extracts, natural antioxidants

Adres do korespondencji – Corresponding address:

Janusz Kalbarczyk, Katedra Przetwórstwa Owoców i Warzyw, Akademia Rolnicza w Lublinie, ul. Skromna 8, 20-704 Lublin, Poland.

Zaakceptowano do druku – Accepted for print: 31.10.2007

Do cytowania – For citation: Kalbarczyk J., Koc W., Sławińska A., Radzki W., 2007. Ekstrakty pozyskiwane z owocników grzybów jadalnych jako potencjalny składnik sosów mięsno-grzybowych. Nauka Przyr. Technol. 1, 4, #52.