

Możliwości wykorzystania ekstraktów z boczniaka fermentowanego w fortyfikacji żywności

Possibilities of using fermented oyster mushroom extracts in food fortification

Tomasz Cebulak¹, Paweł Kielar², Barbara Krochmal-Marczak³, Izabela Betlej⁴

¹ Uniwersytet Rzeszowski, Instytut Technologii Żywności i Żywienia Człowieka, ul. Zelwerowicza 4, 35-601 Rzeszów

² Wojewódzki Inspektorat Weterynarii w Krośnie, ul. P. Ściegiennego 6A, 38-400 Krosno

³ Państwowa Akademia Nauk Stosowanych w Krośnie, Instytut Gospodarki, ul. Dmochowskiego 12, 38-400 Krosno

⁴ Instytut Nauk o Drewnie i Meblarstwie, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa

* email: tcebulak@ur.edu.pl

Słowa kluczowe: boczniaka ostrygowaty, boczniak królewski, boczniak cytrynowy, właściwości antyoksydacyjne, polifenole ogółem

Key words: oyster mushroom, king oyster mushroom, golden oyster mushroom, antioxidant properties, total polyphenols

Streszczenie

Przedmiotem prowadzonych badań była ocena aktywności antyoksydacyjnej oraz ogólnej zawartości polifenoli (TPC) owocników świeżych i fermentowanych trzech gatunków boczniaków: boczniaka ostrygowatego (*Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm.), boczniaka królewskiego (*Pleurotus eryngii*) oraz boczniaka cytrynowego (*Pleurotus citrinopileatus* (Singer)). Badany materiał pochodził z uprawy własnej, zlokalizowanej na terenie województwa podkarpackiego (49°36' N, 21°48' E). Zebrany i zabezpieczony w procesie liofilizacji materiał badawczy poddano ekstrakcji metanolowej wspomaganą ultradźwiękami, z różnym udziałem frakcji metanolowej (30%, 50% i 70%). Tak przygotowane ekstrakty poddano analizie aktywności antyoksydacyjnej z wykorzystaniem testów ABTS, DPPH i FRAP oraz oznaczeniu całkowitej zawartości polifenoli metodą Folina–Ciocalteu. Najwyższą aktywność antyoksydacyjną stwierdzono w ekstraktach z 70-procentowym metanolem. W wyniku przeprowadzonych badań ustalono, że proces kiszenia owocników boczniaka miał wpływ na kształtowanie się aktywności antyoksydacyjnej. Aktywność ta była uzależniona od zastosowanej mieszanki ekstrakcyjnej oraz metody pomiaru. Owocniki świeże wykazały wyższą aktywność antyoksydacyjną oznaczoną testem ABTS w porównaniu z owocnikami kiszonymi. Natomiast aktywność wobec rodnika DPPH była zróżnicowana w zależności od badanej matrycy. W przypadku kiszonych boczniaka cytrynowego i ostrygowatego zmierzone wartości były

wyższe niż w owocnikach świeżych. Zdolność redukcji jonów żelaza, oznaczona metodą FRAP, wykazała wyższą aktywność jedynie w przypadku owocników fermentowanego bocznika cytrynowego. Całkowita zawartość polifenoli, określona na podstawie odbarwiania odczynnika Folina–Ciocalteu, uzależniona była od gatunku i formy badanego materiału. Najwyższe zdolności odbarwiania zaobserwowano w przypadku owocników fermentowanego bocznika cytrynowego.

Summary

The subject of the study was the evaluation of antioxidant activity and total polyphenol content (TPC) in fresh and pickled fruiting bodies of three oyster mushroom species: oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm.), king oyster mushroom (*Pleurotus eryngii*), and golden oyster mushroom (*Pleurotus citrinopileatus* (Singer)). The studied material originated from a self-owned cultivation located in the Podkarpackie Voivodeship (50°82' N, 23°54' E). The collected material was preserved by freeze-drying and subsequently subjected to ultrasound-assisted methanolic extraction using different proportions of methanol (30%, 50%, and 70%). The prepared extracts were analyzed for antioxidant activity using ABTS, DPPH, and FRAP assays, and the total polyphenol content was determined using the Folin–Ciocalteu method. The highest antioxidant activity was measured in the 70% methanolic extracts. The results demonstrated that the pickling process influenced the antioxidant activity of the oyster mushroom fruiting bodies. Antioxidant activity depended on both the extraction solvent composition and the analytical method applied. Fresh mushrooms exhibited higher antioxidant activity as determined by the ABTS assay compared to pickled fruiting bodies. In contrast, DPPH radical scavenging activity varied depending on the tested matrix. In the case of pickled golden oyster and oyster mushrooms, the measured values were higher than those of the fresh fruiting bodies. The ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay showed higher activity only in the case of pickled golden oyster mushroom fruiting bodies. The total polyphenol content, determined by the decolorization of the Folin–Ciocalteu reagent, depended on both the species and the form of the tested material. The highest decolorization capacity was observed in pickled golden oyster mushroom fruiting bodies.

Wstęp

W ostatnich latach świadomość konsumentów na temat wpływu diety na zdrowie znacznie wzrosła. Przekłada się to na bardziej świadome wybory zakupowe, w tym wybór żywności fermentowanej, która wykazuje określone korzyści zdrowotne [1–3]. Do produkcji żywności fermentowanej wykorzystuje się szeroką gamę surowców pochodzenia zwierzęcego i roślinnego. Ze względu na rosnącą dostępność tego typu produktów, a tym samym zwiększone zainteresowanie konsumentów, prowadzone są intensywne badania nad tym asortymentem żywności [1, 4]. Wykazano, że

w fermentowanych produktach warzywnych, owocowych oraz mlecznych obecne są bakterie charakteryzujące się wysoką przeżywalnością w warunkach przewodu pokarmowego, a ich spożywanie wywiera korzystny wpływ na zdrowie [5–7]. Produkty fermentowane wykazują m.in. działanie przeciwnadciśnieniowe, przeciwnowotworowe, antyoksydacyjne oraz przeciwzapalne, a także korzystnie wpływają na funkcjonowanie układu pokarmowego [1].

Jednym z takich surowców, które można poddać procesom fermentacji, są grzyby, w tym boczniaki, stanowiące obecnie popularny i cenny surowiec spożywczy [7]. Charakteryzują się one pożądanymi walorami smakowymi oraz dużą odpornością na zmiany warunków przechowywania. Są również chętnie skupywane i przetwarzane [8]. W handlu najczęściej są dostępne w postaci świeżej. W rozporządzeniu Ministra Zdrowia z dnia 3 listopada 2022 r. podano klasyfikację grzybów dopuszczonych do obrotu lub produkcji przetworów grzybowych oraz innych środków spożywczych [9]. Rozporządzenie to zawiera wykaz grzybów, który w zakresie dotyczącym boczniaków wyróżnia: boczniaka cytrynowego – *Pleurotus citrinopileatus* (Singer), boczniaka florydzkiego – *Pleurotus florida* (Singer), boczniaka łyżkowatego – *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quél., boczniaka królewskiego – *Pleurotus eryngii* (DC.) Quél., pochodzącego wyłącznie z uprawy lub spoza terytorium Rzeczypospolitej Polskiej, boczniaka ostrygowatego – *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm., oraz boczniaka różowego – *Pleurotus djamor* (Rumph. ex Fr.) Boedijn. W warunkach środkowo-europejskich gatunek ten spotykany jest na martwych pniach, kłodach i karpach drzew liściastych. Może być uprawiany na różnych substratach wytworzonych z lignocelulozowych odpadów [8].

Owocniki boczniaka występują często w postaci grup składających się z kilkunastu większych i mniejszych okazów, wyrastających ze wspólnej podstawy lub ułożonych dachówkowato, jeden nad drugim [10]. Owocniki tych grzybów są źródłem łatwo przyswajalnego białka, kwasu foliowego, aminokwasów, witamin z grupy B oraz soli mineralnych. Według badań Villas-Bôas i wsp. [11], Szcześniaka i wsp. [12] oraz Singha i wsp. [13], owocniki tego gatunku zawierają lowastatynę, która obniża poziom cholesterolu we krwi. Zawierają również pleuran – substancję o działaniu immunostymulującym i przeciwnowotworowym [7, 10, 14–15]. Według Singha i wsp. [13] boczniak charakteryzuje się cennym składem mineralnym ze względu na zawartość licznych makroelementów, np. magnezu, wapnia, potasu, sodu i fosforu. Obok nich występują również mikroelementy, m.in.: żelazo (Fe), miedź (Cu), cynk (Zn) oraz mangan (Mn). Substancje mineralne występują w grzybach w różnych ilościach – więcej ich stwierdzono w kapeluszu niż w trzonie, a ich zawartość zależy również od średnicy kapelusza, wieku grzyba, jego gatunku, a także podłoża [13]. Boczniaki są tradycyjnie stosowane w medycynie ludowej krajów słowiańskich i azjatyckich, zwłaszcza w tradycyjnej medycynie chińskiej.

Według współczesnych badań naukowych zawierają one liczne metabolity wtórne o potencjale leczniczym [7, 16–20]. Związki te były izolowane zarówno z owocników grzybów, jak i z grzybni. Wiele z tych substancji bioaktywnych wykazuje właściwości antybakteryjne, przeciwutleniające i przeciwzapalne, a także działanie przeciwnowotworowe, przeciwcukrzycowe i przeciwmiażdżycowe [20–21]. Substancje pozyskiwane z grzybów mają również zdolność obniżania poziomu cholesterolu i triacylogliceroli we krwi, normalizowania ciśnienia oraz działania ochronnego na wątrobę. Obecnie grzyby uznawane są za żywność funkcjonalną. Pozytywny wpływ na zdrowie uzyskuje się poprzez bezpośrednie spożywanie owocników lub stosowanie suplementów diety w postaci preparatów zawierających ekstrakty grzybowe [22].

Materiał i metody badań

Przedmiotem badań były owocniki trzech gatunków grzybów: bocznika ostrygowatego (*Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm.), bocznika królewskiego (*Pleurotus eryngii*) oraz bocznika cytrynowego (*Pleurotus citrinopileatus* (Singer)), pochodzące z uprawy własnej zlokalizowanej, na terenie województwa podkarpackiego (49°36' N, 21°48' E).

Przygotowanie eksperymentu badawczego

Gotowe podłoża do uprawy bocznika ostrygowatego, bocznika królewskiego oraz bocznika cytrynowego zakupiono w wyspecjalizowanym sklepie detalicznym. Przerośnięte grzybnią baloty umieszczono w pomieszczeniu o temperaturze 16°C i wilgotności 85%. W początkowej fazie uprawy wzrost grzybni odbywał się w całkowitej ciemności, następnie, po pojawieniu się w otworach balotu pierwszych zawiązków grzybów, zapewniono im dostęp do światła przez 12 h na dobę. Pierwsze owocniki zebrano po 10 dniach od zakupu podłoża.

Owocniki podzielono na dwie grupy, przy czym pierwsza grupa została przeznaczona do suszenia liofilizacyjnego, a po procesie liofilizacji umieszczona w zamrażarce w temperaturze –24°C. Druga grupa została poddana fermentacji mlekowej przy użyciu szczepów bakterii probiotycznych. Do procesu fermentacji zastosowano mieszanekę kultur bakterii kwasu mlekowego, obejmującą następujące szczepy: *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* (NCFM®), *Lactobacillus paracasei* (Lpc-37), *Bifidobacterium lactis* (Bi-07), *Bifidobacterium lactis* (Bl-04), *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium infantis*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus pentosus* oraz *Lactobacillus plantarum*. Wymienione bakterie wykorzystano w formie gotowej zakwaski fermentacyjnej. Proces fermentacji prowadzono równolegle w trzech powtórzeniach.

W celu przeprowadzenia procesu fermentacji zważono po 500 g owocników z każdego gatunku grzyba, a następnie układano je warstwami w szklanym słoju

o pojemności 1 l. Każdą warstwę owocników przesypywano mieszaniną soli i sacharozy w ilości odpowiednio 2% i 1% w stosunku do całkowitej masy grzybów. Następnie dodano szczepionkę bakterii kwasu mlekowego w ilości 2 g i prowadzono fermentację w temperaturze 18–20°C przez 21 dni. Po tym czasie owocniki wyjęto z zalewy, zamrożono i poddano procesowi liofilizacji w liofilizatorze (ZIRBUS Technology GmbH, Niemcy). Po liofilizacji materiał przechowywano w zamrażarce w temperaturze –24°C do czasu przeprowadzania badań.

Przygotowanie ekstraktów

Zabezpieczony materiał badawczy w postaci liofilizowanych owocników, zarówno świeżych, jak i fermentowanych, przygotowano do analiz poprzez zmielenie 20 g materiału w młynku nożowym (Grindomix GM 200, Niemcy), a następnie odważono po 1 g w trzech powtórzeniach dla każdej metody ekstrakcji. Zastosowano łącznie cztery sposoby ekstrakcji: w 30%, 50% i 70% roztworze metanolu oraz ekstrakcję wodną w temperaturze 40°C. Odważone liofilizowane owocniki boczniaków zalewano odpowiednimi mieszaninami ekstrakcyjnymi w stosunku (g/V) 1:10. Proces ekstrakcji prowadzono z wykorzystaniem ultradźwięków w łaźni ultradźwiękowej (POLSONIC, SONIC-10) przez 30 minut. Następnie mieszaninę ekstrakcyjną poddano wirowaniu w wirówce Eppendorf 5430 przy prędkości 7000 obr./min przez 10 minut. Po wirowaniu zdekantowano frakcję rozpuszczoną i przefiltrowano ją przez filtr strzykawkowy o wielkości porów 0,45. Tak przygotowany materiał przelano do fiolek o pojemności 2 ml, z których pobierano próbki do analiz potencjału antyoksydacyjnego.

Oznaczanie właściwości antyoksydacyjnych metodą DPPH

Zdolność badanych próbek do zmiatania stabilnego wolnego rodnika 1,1-difenylo-2-pikrylohydrozylowego DPPH, (DPPH, Sigma Aldrich Co., St. Louis, MO, USA) oznaczano według metody Brand-Williams i wsp. [23]. Zasada metody opiera się na kolorymetrycznym oznaczeniu stopnia redukcji rodnika 1,1-difenylo-2-pikrylohydrozylowego DPPH.

Przygotowanie próby ślepej: Do kuwet spektrofotometrycznych odmierzone 0,5 ml metanolu oraz 2 ml roztworu DPPH o początkowej absorbancji 0,9 przy $\lambda = 517$ nm., po czym zawartość kuwet wymieszano i po 10 minutach wykonano pomiar na spektrofotometrze Thermo Evolution 300. Przygotowane próbki odpowiednio rozcieńczono, a następnie odmierzone po 0,5 ml do kuwet spektrofotometrycznych i dodano 2 ml roztworu DPPH. Zawartość kuwet wymieszano, a po upływie 10 minut wykonano pomiar stężenia DPPH przy długości fali $\lambda = 517$ nm, wobec 96% metanolu. Krzywą wzorcową wykreślono w zakresie od 0,1 do 100 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ roztworu troloxu (Sigma-Aldrich, Co., St. Louis, MO, USA) w etanolu. Wyniki wyrażono jako mg TE/100 g s.m.

Aktywność zmiatania rodnika ABTS

Aktywność zmiatania rodnika ABTS oznaczono metodą Re i wsp. [24]. Aktywność obliczono z użyciem troloxu (0–140 μM), a wyniki wyrażono jako μM równoważnika troloxu na gram suchej masy ($\mu\text{M troloxu}\cdot\text{g}^{-1}\text{ DW}$). Wykonanie oznaczenia: Przygotowano roztwór ABTS. Po wytworzeniu rodników roztwór rozcieńczano wodą do uzyskania absorbancji na poziomie 700 nm przy długości fali $\lambda = 734\text{ nm}$. Pomiaru dokonano na spektrofotometrze Thermo Evolution 300. Następnie do kuwet spektrofotometrycznych odmierzone 3 ml roztworu ABTS i dodano 0,03 ml rozcieńczonych próbek. Tak przygotowany roztwór wymieszano i inkubowano w ciemności przez 6 minut. Po tym czasie dokonano pomiaru absorbancji przy długości fali $\lambda = 734\text{ nm}$ wobec wody destylowanej. Wynik wyrażono jako mg TE/100 g s.m.

Oznaczanie właściwości antyoksydacyjnych metodą FRAP

Test FRAP przeprowadzono zgodnie z metodą opisaną w pracy Benzie i Strain [25]. Zasada metody polega na redukcji związku TPTZ (kompleks żelazowo-2,4,6-tri- (2-pirydylo)-s-triazyny) pod wpływem przeciwutleniacza do intensywnie niebieskiego produktu o maksimum absorbancji przy długości fali 595 nm.

Przygotowanie odczynnika FRAP: Odczynnik przygotowano poprzez zmieszanie buforu octanowego (300 mM, pH 3,6), 10 mM TPTZ ($M = 312,33$) w 40 mM HCl oraz 20 mM $\text{FeCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ($M = 270,3$) w stosunku 10:1:1 (v/v/v).

Wykonanie oznaczenia: Do próbek o objętości 0,5 ml, dodano 3 ml roztworu odczynnika FRAP, dokładnie wymieszano i pozostawiono w ciemności w temperaturze 37°C przez 10 minut. Po tym czasie mierzono absorbancję roztworu przy długości fali $\lambda = 593\text{ nm}$ wobec wody destylowanej, z wykorzystaniem spektrofotometru Thermo Evolution 300 przy długości fali 700 nm. Wynik wyrażono jako mg TE/100 g s.m.

Oznaczanie zawartości polifenoli ogółem metodą Folina-Ciocalteu

Oznaczanie całkowitej zawartości związków polifenolowych przeprowadzono metodą z wykorzystaniem odczynnika Folina-Ciocalteu zgodnie z procedurą opisaną przez Singleton i Rossi [26] (z modyfikacją własną). Zasada metody opiera się na kolorymetrycznym oznaczeniu niebieskoszarego kompleksu powstającego w wyniku reakcji związków fenolowych z odczynnikiem Folina-Ciocalteu. Zawartość związków polifenolowych określano na podstawie krzywej wzorcowej sporządzonej dla troloxu. Wykonanie oznaczenia: do kuwet spektrofotometrycznych pobierano 0,1 ml próbki, następnie dodawano 2,0 ml wody destylowanej, 0,2 ml odczynnika Folina-Ciocalteu oraz 1,0 ml 20% (w/v) roztworu węgla sodu. Zawartość dokładnie mieszano, po czym próbki inkubowano w ciemności przez 60 minut. Absorbancję mierzono przy długości fali $\lambda = 765\text{ nm}$ z użyciem spektrofotometru Thermo Evolution 300. Wynik wyrażono jako mg TE/100 g s.m.

Analiza statystyczna

Wyniki przedstawiono jako średnią z trzech niezależnych pomiarów. Wszystkie analizy wykonano w programie Statistica v. 13.3 (StatSoft, Kraków, Polska). Istotność średnich zbadano za pomocą testu *post hoc* Duncana, stanowiącego element jednokierunkowej analizy wariancji (ANOVA). Różnice $p < 0,05$ uznano za statystycznie istotne.

Wyniki badań i dyskusja

Ekstrakty metanolowe owocników świeżych i fermentowanych bocznika ostrygowatego, cytrynowego oraz królewskiego przebadano pod kątem aktywności antyoksydacyjnej z wykorzystaniem czterech testów: FRAP, ABTS, DPPH oraz Folina–Ciocalteu (TPC).

Otrzymane wyniki przedstawiono w tabelach 1–4. Całkowita zawartość związków redukujących i przeciwutleniających w analizowanych próbkach wskazała na istotne różnice pomiędzy badanymi próbkami. W ekstraktach ze świeżych owocników boczników najwyższe wartości w testach antyoksydacyjnych odnotowano dla bocznika cytrynowego, natomiast najniższe dla bocznika królewskiego. Wartości badanej cechy w ekstraktach ze świeżych boczników w teście ABTS kształtowały się następująco: bocznik cytrynowy > bocznik królewski > bocznik ostrygowaty. Nieco inaczej wyniki badań kształtowały się w teście DPPH, w którym najwyższymi właściwościami antyoksydacyjnymi charakteryzowały się ekstrakty z bocznika ostrygowatego (tab. 1–2).

Tabela 1. Właściwości antyoksydacyjne ekstraktów owocników boczników świeżych i fermentowanych wyrażone testem ABTS (mg TE/100 g s.m.)

Rodzaj	ABTS 50	ABTS 30	ABTS 70	ABTS W
BC	41,00 ± 0,09 ^b	34,85 ± 0,80 ^c	49,20 ± 0,11 ^a	31,57 ± 0,07 ^d
BCF	22,42 ± 0,09 ^b	18,83 ± 0,08 ^c	29,59 ± 0,12 ^a	17,04 ± 0,07 ^d
BK	39,69 ± 0,09 ^b	33,34 ± 0,70 ^c	50,01 ± 0,11 ^a	29,77 ± 0,07 ^d
BKF	5,85 ± 0,06 ^b	4,80 ± 0,05 ^{c^d}	8,07 ± 0,08 ^a	4,27 ± 0,04 ^{d^c}
BO	34,50 ± 0,12 ^b	29,67 ± 0,10 ^c	40,02 ± 0,14 ^a	27,95 ± 0,10 ^d
BOK	8,05 ± 0,03 ^b	7,09 ± 0,03 ^c	9,75 ± 0,04 ^a	6,44 ± 0,02 ^d

BC – bocznik cytrynowy, BCF – bocznik cytrynowy fermentowany, BK – bocznik królewski, BKF – bocznik królewski fermentowany, BO – bocznik ostrygowaty, BOK – bocznik ostrygowaty fermentowany. DPPH 50 – 50% roztwór metanolu, DPPH 30 – 30% roztwór metanolu, DPPH 70 – 70% roztwór metanolu, DPPH W – woda destylowana.

Literki przy wartościach oznaczają statystycznie istotne różnice między średnimi, testowane analizą ANOVA z testem *post hoc* Scheffego.

Źródło: badania własne.

Tabela 2. Właściwości antyoksydacyjne ekstraktów owocników boczniaków świeżych i fermentowanych wyrażone testem DPPH (mg TE/100 g s.m.)

Rodzaj	DPPH 50	DPPH 30	DPPH 70	DPPH W
BC	0,489 ± 0,02 ^a	0,450 ± 0,01 ^b	0,435 ± 0,01 ^c	0,413 ± 0,03 ^d
BCF	1,881 ± 0,12 ^a	1,677 ± 0,09 ^b	1,602 ± 0,04 ^{cd}	1,575 ± 0,04 ^{dc}
BK	0,933 ± 0,08 ^a	0,821 ± 0,07 ^b	0,784 ± 0,03 ^{cd}	0,758 ± 0,01 ^{dc}
BKF	0,250 ± 0,03 ^a	0,215 ± 0,03 ^{bc}	0,208 ± 0,01 ^{cb}	0,185 ± 0,03 ^d
BO	1,543 ± 0,02 ^a	1,358 ± 0,02 ^b	1,296 ± 0,03 ^c	1,218 ± 0,04 ^d
BOK	2,255 ± 0,02 ^a	2,052 ± 0,02 ^b	1,939 ± 0,02 ^c	1,866 ± 0,11 ^d

BC – boczniak cytrynowy, BCF – boczniak cytrynowy fermentowany, BK – boczniak królewski, BKF – boczniak królewski fermentowany, BO – boczniak ostrygowaty, BOK – boczniak ostrygowaty fermentowany. DPPH 50 – 50% roztwór metanolu, DPPH 30 – 30% roztwór metanolu, DPPH 70 – 70% roztwór metanolu, DPPH W – woda destylowana.

Literki przy wartościach oznaczają statystycznie istotne różnice między średnimi, testowane analizą ANOVA z testem *post hoc* Scheffego.

Źródło: badania własne.

Podobne rezultaty uzyskali Arbaayah i wsp. [16], u których największą zdolność do redukcji wolnego rodnika stwierdzono również w próbkach z ekstraktów z *P. ostreatus*. Odmienne kształtowały się natomiast właściwości antyoksydacyjne w ekstraktach z kiszonych grzybów. W badaniach własnych różnice w uzyskanych wynikach zależały również od zastosowanego testu. W teście ABTS wartości właściwości antyoksydacyjnych kiszzonek były znacznie niższe niż w próbkach z grzybów suszonych. Rezultaty badań uzyskane przez Aguirre-Garcia i wsp. [27] wskazywały na podobną tendencję, w której fermentowanie grzybów wpłynęło na obniżenie właściwości antyoksydacyjnych badanych próbek.

W badaniach własnych w teście ABTS (tab. 1) zmierzone wartości fermentowanych grzybów kształtowały się następująco: cytrynowy > ostrygowaty > królewski. Natomiast w teście DPPH najwyższą aktywność antyoksydacyjną oznaczono w ekstrakcie z boczniaka ostrygowatego (2,225 mg TE/100 g s.m.), a najniższą w próbkach boczniaka królewskiego (0,185 mg TE/100 g s.m.) (tab. 2). Z kolei badania Kumla i wsp. [3] wykazały niewielkie różnice we właściwościach antyoksydacyjnych pomiędzy próbkami świeżych grzybów a próbkami grzybów kiszonych. Różnice w aktywności antyoksydacyjnej owocników świeżych i fermentowanych mogą wynikać z odmiennie prowadzonych procesów kiszenia.

W literaturze przedmiotu stosunkowo niewiele jest informacji na temat właściwości antyoksydacyjnych grzybów kiszonych [3]. Według badań Gupty i wsp. [19] boczniaki stają się atrakcyjną żywnością funkcjonalną na całym świecie ze względu na swoje właściwości odżywcze i lecznicze.

Tabela 3. Właściwości antyoksydacyjne ekstraktów owocników boczników świeżych i fermentowanych wyrażone testem FRAP (mg TE/100 g s.m.)

Rodzaj	FRAP 50	FRAP 30	FRAP 70	FRAP W
BC	2,409 ± 0,02 ^b	2,216 ± 0,12 ^c	2,771 ± 0,04 ^a	2,120 ± 0,11 ^d
BCF	9,863 ± 0,02 ^b	8,877 ± 0,20 ^{cd}	11,441 ± 0,26 ^a	8,482 ± 0,02 ^d
BK	2,186 ± 0,01 ^b	1,989 ± 0,09 ^c	2,580 ± 0,12 ^a	1,968 ± 0,09 ^d
BKF	2,224 ± 0,02 ^b	1,980 ± 0,02 ^c	2,603 ± 0,24 ^a	1,891 ± 0,01 ^d
BO	3,384 ± 0,04 ^b	3,045 ± 0,06 ^{cd}	3,959 ± 0,08 ^a	2,944 ± 0,03 ^{dc}
BOK	2,180 ± 0,06 ^b	2,006 ± 0,06 ^c	2,529 ± 0,07 ^a	1,918 ± 0,06 ^d

BC – bocznik cytrynowy, BCF – bocznik cytrynowy fermentowany, BK – bocznik królewski, BKF – bocznik królewski fermentowany, BO – bocznik ostrygowaty, BOK – bocznik ostrygowaty fermentowany. DPPH 50 – 50% roztwór metanolu, DPPH 30 – 30% roztwór metanolu, DPPH 70 – 70% roztwór metanolu, DPPH W – woda destylowana.

Literki przy wartościach oznaczają statystycznie istotne różnice między średnimi, testowane analizą ANOVA z testem *post hoc* Scheffego.

Źródło: badania własne.

Tabela 4. Właściwości antyoksydacyjne ekstraktów owocników boczników świeżych i kiszonych wyrażone testem Folin–Ciocalteu (mg TE/100 g s.m.)

Rodzaj	FOLIN 50	FOLIN 30	FOLIN 70	FOLIN W
Bocznik cytrynowy	4,25 ^{2,3,4,5,6}	3,99 ^{2,3,4,5,6}	4,84 ^{2,3,4,5,6}	3,82 ^{2,3,4,5,6}
Bocznik cytrynowy kiszony	9,15 ^{1,3,4,5,6}	8,42 ^{1,3,4,5,6}	11,07 ^{1,3,4,5,6}	8,05 ^{1,3,4,5,6}
Bocznik królewski	3,71 ^{1,2,4,5,6}	3,34 ^{1,2,4,5,6}	4,35 ^{1,2,4,5,6}	3,19 ^{1,2,4,5,6}
Bocznik królewski kiszony	2,7 ^{1,2,3,5,6}	2,59 ^{1,2,3,5,6}	3,29 ^{1,2,3,5,6}	2,37 ^{1,2,3,5,6}
Bocznik ostrygowaty	3,93 ^{1,2,3,4,6}	3,62 ^{1,2,3,4,6}	4,41 ^{1,2,3,4,6}	3,42 ^{1,2,3,4,6}
Bocznik ostrygowaty kiszony	4,96 ^{1,2,3,4,5}	4,66 ^{1,2,3,4,5}	5,75 ^{1,2,3,4,5}	4,41 ^{1,2,3,4,5}

FOLIN 50 – 50% roztwór metanolu, FOLIN 30 – 30% roztwór metanolu, FOLIN 70 – 70% roztwór metanolu, FOLIN W – woda destylowana.

Cyfry przy wartościach oznaczają statystycznie istotne różnice między średnimi, testowane analizą ANOVA z testem *post hoc* Scheffego.

Źródło: badania własne.

Przeprowadzona analiza korelacji pomiędzy wynikami testów ABTS, DPPH, oznaczeniem polifenoli ogółem oraz FRAP wykazała następujące zależności. Pośród testów ABTS i DPPH stwierdzono słabą ujemną korelację ($r = -0,217$),

co wskazuje na niewielkie, odwrotne powiązanie pomiędzy tymi dwoma pomiarami aktywności antyoksydacyjnej. Wyniki testu ABTS wykazały bardzo słabą do umiarkowanej korelację z testem polifenoli ogółem ($r \approx -0,048$) oraz testem FRAP ($r \approx -0,033$), co sugeruje minimalny lub brak związku pomiędzy analizowanymi parametrami. Między testem DPPH a zawartością polifenoli ogółem stwierdzono silną dodatnią korelację ($r \approx 0,608$), wskazującą na istotne powiązanie pomiędzy aktywnością antyoksydacyjną oznaczoną metodą DPPH a poziomem związków redukujących w analizowanych próbkach. Bardzo silną dodatnią korelację ($r \approx 0,939$) odnotowano pomiędzy oznaczeniem polifenoli ogółem a testem FRAP, co sugeruje, że obie metody oceniają zbliżone właściwości antyoksydacyjne próbek (tab. 5).

Tabela 5. Współczynniki korelacji pomiędzy testami ABTS, DPPH, zawartością polifenoli ogółem oraz FRAP

Zmienna	ABTS	DPPH	FOLIN	FRAP
ABTS	1	-0,217	-0,048	-0,032
DPPH	-0,21	1	0,608	0,430
POLIFENOLE OGÓŁEM	-0,048	0,608	1	0,938
FRAP	-0,032	0,430	0,938	1

Źródło: badania własne.

Redukcja rodnika ABTS dla ekstraktów z owocników badanych boczniaków zależała od zastosowanej mieszaniny ekstrakcyjnej, a także od gatunku i formy owocników (świeżych lub fermentowanych).

Najwyższe poziomy redukcji rodnika ABTS zaobserwowano w przypadku ekstrakcji 70% roztworem metanolu (tab. 1). Ekstrakty te zarówno z materiału świeżego, jak i fermentowanego wykazywały największą zdolność do redukcji rodnika ABTS wobec Troloxu (TE). Dla oceny efektywności reakcji jako poziom odniesienia przyjęto ekstrakty 50%. W przypadku ekstraktu z boczniaka cytrynowego poziom redukcji rodnika ABTS w ekstrakcie 70% był o 20% wyższy niż w ekstrakcie 50%, natomiast w ekstraktach 30% oraz wodnym odpowiednio niższy o 15% i 23%. Podobną zależność odnotowano dla boczniaka cytrynowego fermentowanego, jednak w tym przypadku wyjściowy poziom redukcji rodnika ABTS wynosił 22,42 mg TE/100 g s.m., wobec 41 mg TE/100 g s.m. dla świeżych owocników boczniaka cytrynowego.

W przypadku świeżego boczniaka królewskiego najwyższą aktywność wykazał ekstrakt 70% roztworu metanolu (50,01 mg TE/100 g s.m.) co stanowi wzrost o około 26% względem ekstraktu 50% (39,69 mg TE/100 g s.m.) Ekstrakt wodny

osiągnął wartość 29,77 mgTE/100 g s.m., co oznacza spadek o około 40% w porównaniu z ekstraktem 70%. Dla formy fermentowanej tego samego gatunku aktywność ogólna była niższa, przy czym ekstrakt 70% (8,07 mg TE/100 g s.m.) pozostawał najskuteczniejszy. Ekstrakt 50% osiągnął 5,85 mg TE/100 g s.m., a ekstrakt wodny jedynie 4,27 mg TE/100 g s.m. Mimo zachowania tej samej tendencji co w formie świeżej, skala aktywności była znacząco niższa (tab. 1).

Dla świeżego boczniaka ostrygowatego najwyższą aktywność wykazał ekstrakt 70% (40,02 mg TE/100 g s.m.), co oznacza wzrost o około 16% względem ekstraktu 50% (34,50 mg TE/100 g s.m.). Ekstrakt wodny osiągnął 27,95 mg TE/100 g s.m., co stanowi spadek o około 30%. W formie fermentowanej zaobserwowano podobną tendencję: najwyższy wynik uzyskał ekstrakt 70% (9,75 mg TE/100 g s.m.), natomiast najniższą aktywność wykazał ekstrakt wodny (6,44 mg TE/100 g s.m.).

W przypadku ekstraktów 50% roztworem metanolu wykazano, że świeży boczniak cytrynowy charakteryzował się największą zdolnością redukcji rodnika ABTS w porównaniu z boczniakiem królewskim oraz boczniakiem ostrygowatym w tej samej formie. Spośród owocników fermentowanych najwyższą aktywność wykazywał boczniak cytrynowy, natomiast najniższą – boczniak królewski.

Zdolność ekstraktów z owocników boczniaków do neutralizacji rodnika DPPH istotnie zależała od składu mieszaniny ekstrakcyjnej, a także od rodzaju i formy badanego materiału – świeżego lub fermentowanego. W większości przypadków najwyższy poziom redukcji rodnika DPPH obserwowano dla ekstraktów uzyskanych przy użyciu 50% roztworu metanolu, choć zakres zmian pomiędzy poszczególnymi ekstraktami był bardziej zróżnicowany niż w przypadku testu ABTS. W 50% ekstrakcie świeżego boczniaka cytrynowego oznaczono stosunkowo niską aktywność DPPH wynoszącą 0,489 mg TE/100 g s.m.. Uzyskany wynik w porównaniu z ekstraktem o tym samym stężeniu metanolu stanowił 32% aktywności antyoksydacyjnej boczniaka ostrygowatego (1,544 mg TE/100 g s.m.) oraz 60% aktywności antyoksydacyjnej boczniaka królewskiego (0,93 mg/100 g s.m. TE). W przypadku ekstraktów z owocników boczniaka fermentowanego aktywność antyoksydacyjna była zdecydowanie wyższa niż w ekstraktach z owocników boczniaka liofilizowanego. W tym przypadku najwyższą aktywnością antyoksydacyjną wykazały się fermentowane owocniki boczniaka ostrygowatego, gdzie zmierzona aktywność antyoksydacyjna wobec rodnika DPPH wyniosła 2,26 mg TE/100 g s.m., co stanowiło 146% wyniku owocników świeżych.

Zastosowanie innych stężeń mieszanin ekstrakcyjnych wiązało się ze zmiennością uzyskanych wyników. Wykorzystanie mieszanin 30%, 70% oraz wody skutkowało znacznie niższym poziomem neutralizacji rodnika DPPH, zarówno w przypadku owocników świeżych, jak i fermentowanych. Zakres zmian mieścił się w granicach 83–92% wartości uzyskanej dla 50% mieszaniny ekstrakcyjnej (tab. 2).

Aktywność przeciwutleniająca oznaczona metodą FRAP dla ekstraktów z owocników badanych boczniaków zależała od zastosowanej mieszaniny ekstrakcyjnej oraz od gatunku i formy owocników (świeżych lub fermentowanych). Najwyższy poziom aktywności FRAP zaobserwowano w przypadku ekstrakcji 70% roztworem metanolu. Ekstrakty te – zarówno z materiału świeżego, jak i fermentowanego – wykazywały najwyższą zdolność do redukcji jonów żelaza.

Dla oceny efektywności reakcji jako poziom odniesienia przyjęto ekstrakty 50%. W przypadku ekstraktu z boczniaka cytrynowego poziom FRAP w ekstrakcie 70% był o 15% wyższy niż w ekstrakcie 50%, natomiast w ekstraktach 30% oraz wodnym – odpowiednio niższy o 8% i 12%. Podobną zależność odnotowano dla boczniaka cytrynowego fermentowanego, choć w tym przypadku wyjściowy poziom FRAP wynosił 9,86 mg TE/100 g s.m., wobec 2,41 jednostek dla świeżych owocników boczniaka cytrynowego. W przypadku świeżego boczniaka królewskiego najwyższą aktywność wykazał ekstrakt 70% roztworem metanolu (2,60 mg TE/100 g s.m.), co stanowi wzrost o około 17% względem ekstraktu 50% (2,22 mg TE/100 g s.m.) (tab. 3). Ekstrakt wodny osiągnął wartość 1,89 mg TE/100 g s.m., co oznacza spadek o około 27% względem ekstraktu 70%. Dla formy fermentowanej tego samego gatunku aktywność ogólna była niższa, przy czym ekstrakt 70% (2,58 mg TE/100 g s.m.) pozostawał najskuteczniejszy. Ekstrakt 50% dał wynik 2,19 mg TE/100 g s.m., a ekstrakt wodny – 1,97 mg TE/100 g s.m. (tab. 3). Mimo zachowania tej samej tendencji co w formie świeżej, skala aktywności była nieco niższa.

Dla świeżego boczniaka ostrygowatego najwyższą aktywność wykazał ekstrakt 70% (3,96 mg TE/100 g s.m.), co oznacza wzrost o około 17% względem ekstraktu 50% (3,38 mg TE/100 g s.m.). Ekstrakt wodny osiągnął wartość 2,94 mg TE/100 g s.m., co stanowi spadek o około 26%. W przypadku formy fermentowanej zaobserwowano podobną tendencję: najwyższy wynik uzyskał ekstrakt 70% (2,53 mg TE/100 g s.m.), natomiast najniższą aktywność wykazał ekstrakt wodny (1,92 mg TE/100 g s.m.). W przypadku ekstraktów 50% roztworem metanolu wykazano, że świeży boczniak ostrygowaty miał największą zdolność redukcji jonów żelaza względem boczniaka cytrynowego oraz boczniaka królewskiego w tej samej formie. Natomiast spośród fermentowanych owocników boczniak cytrynowy wykazywał najwyższą aktywność, a boczniak królewski – najniższą zdolność do redukcji jonów żelaza. W przypadku świeżych owocników boczniaka cytrynowego, ekstrakt 70% wykazał o 14% wyższą zawartość związków fenolowych w porównaniu z ekstraktem 50% (4,84 vs. 4,25). Ekstrakt 30% dał wynik niższy o 6%, natomiast ekstrakt wodny – o 10%. Z kolei fermentowana forma tego samego gatunku cechowała się znacznie wyższą zawartością fenoli, przy czym ekstrakt 70% osiągnął wartość 11,07 mg TE/100 g s.m., co stanowiło wzrost o 21% względem ekstraktu referencyjnego (9,15 mg TE/100 g s.m.). Ekstrakt wodny dał wynik 8,05 mg TE/100 g s.m. czyli o 12% niższy. Dla świeżego boczniaka królewskiego zawartość fenoli ogółem w ekstrakcie 70% wynosiła

4,35 mg TE/100 g s.m. co oznaczało wzrost o 17% względem ekstraktu 50% Fermentowana forma tego samego gatunku również wykazywała największą skuteczność w przypadku ekstraktu 70% (3,30), co stanowiło wzrost o 18% względem ekstraktu 50% (2,79 mg TE/100 g s.m.).

Z kolei ekstrakt wodny osiągnął wartość 2,38 mg TE/100 g s.m., co oznaczało spadek o 15%. Bocznik ostrygowaty w formie świeżej wykazywał najwyższą zawartość związków fenolowych w ekstrakcie 70% (4,41 mg TE/100 g s.m.), co przekładało się na wzrost o 12% względem ekstraktu 50% (3,94 mg TE/100 g s.m.) (tab. 4).

Najniższą aktywność odnotowano dla ekstraktu wodnego – wynik 3,43 mg TE/100 g s.m., czyli o 13% mniej. W przypadku fermentowanego bocznika ostrygowatego ekstrakt 70% uzyskał wartość 5,76 mg TE/100 g s.m., co oznaczało wzrost o 16% w porównaniu z ekstraktem 50% (4,96 mg TE/100 g s.m.). Ekstrakt wodny dał wynik 4,42 mg TE/100 g s.m., czyli o 11% niższy. W analizie porównawczej ekstraktów 50% najwyższy poziom związków fenolowych stwierdzono w fermentowanym boczniku cytrynowym (9,15 mg TE/100 g s.m.), natomiast najniższy – w fermentowanym boczniku królewskim (2,79 mg TE/100 g s.m.) (tab. 4). Wśród form świeżych najwyższą zawartość fenoli ogółem wykazywał bocznik cytrynowy, natomiast najniższą – bocznik królewski. Najwyższą aktywność przeciwrodnikową w teście ABTS wykazały ekstrakty 70% roztworem metanolu dla wszystkich świeżych form boczników. Przykładowo, w przypadku świeżego bocznika królewskiego odnotowano wartość 50,01 mg TE/100 g s.m., natomiast dla bocznika cytrynowego – 49,20 mg TE/100 g s.m. Ekstrakty wodne cechowały się najniższą aktywnością, np. 29,77 mg s.m. TE/100 g s.m. dla bocznika królewskiego.

Wyniki te są zgodne z doniesieniami Yim i in., którzy wskazali, że rozpuszczalniki o wyższej zawartości alkoholu, zwłaszcza 70% metanol, skuteczniej ekstrahują związki fenolowe odpowiedzialne za aktywność antyoksydacyjną [28]. W teście DPPH zaobserwowano wyraźnie odmienny profil aktywności. Największą aktywność wykazały fermentowane formy bocznika ostrygowatego i cytrynowego – np. 50% ekstrakt metanolowy z bocznika ostrygowatego fermentowanego osiągnął wartość 2,255 mg TE/100 g s.m., co jest wartością wyższą niż w przypadku form świeżych. Jest to zgodne z doniesieniami literaturowymi wskazującymi, że fermentacja może zwiększać rozpuszczalność lub biodostępność niektórych związków fenolowych [29]. W teście FRAP formy kiszone wykazywały wyraźnie wyższą aktywność antyoksydacyjną niż świeże. Przykładowo, w przypadku fermentowanego bocznika cytrynowego – ekstrakt 70%: 11,442 mg TE/100 g s.m., wobec 2,771 mg TE/100 g s.m. dla tej samej formy świeżej. Podobne różnice zaobserwowano u innych gatunków grzybów [30]. W oznaczeniu metodą Folina–Ciocalteu, podobnie jak w teście FRAP, formy fermentowane charakteryzowały się wyższą zawartością związków fenolowych.

Wnioski

1. Proces fermentacji owocników, w porównaniu z owocnikami świeżymi, wpływał na kształtowanie się aktywności antyoksydacyjnej boczniaka cytrynowego, ostrygowatego i królewskiego.
2. Aktywność antyoksydacyjna owocników badanych boczniaków była uzależniona od zastosowanej mieszaniny ekstrakcyjnej oraz metody pomiaru.
3. Aktywność antyoksydacyjna oznaczona testem ABTS była wyższa w przypadku materiału świeżego.
4. Aktywność wobec rodnika DPPH była zróżnicowana w zależności od badanej matrycy. W przypadku fermentowanych owocników boczniaka cytrynowego i ostrygowatego uzyskane wartości były wyższe niż w owocnikach świeżych.
5. Zdolność redukcji jonów żelaza, oznaczona metodą FRAP, wykazała wyższą aktywność jedynie w przypadku fermentowanych owocników boczniaka cytrynowego.
6. Całkowita zawartość polifenoli, oznaczona metodą Folina–Ciocalteu, była uzależniona od gatunku oraz formy badanego materiału. Najwyższe zdolności odbarwiania odczynnika zaobserwowano w przypadku fermentowanych owocników boczniaka cytrynowego.
7. Najwyższe aktywności antyoksydacyjne odnotowano w ekstraktach 70% roztworem metanolu.

Literatura

- [1] Karwowska K. K., Kaczmarczyk D., Role and importance of fermented products in the diet, *Medycyna Ogólna Nauki Zdrowie*, 2023, 29(2), s. 79–88.
- [2] Knez E., Kadac-Czapska K., Grembecka M., Effect of fermentation on the nutritional quality of the selected vegetables and legumes and their health effects, 2023, 13(30), s. 1–24.
- [3] Kumla J., Suwannarach N., Tanruean K., Lumyong S., Comparative evaluation of chemical composition, phenolic compounds, and antioxidant and antimicrobial activities of tropical black bolete mushroom using different preservation methods, *Foods*, 2021, 10, s. 781.
- [4] Marco M. L., Heeney D., Binda S., Cifelli C. J., Cotter P.D., Foligné B., Gänzle M., Kort R., Pasin G., Pihlanto A., Smid E. J., Hutkins R., Health benefits of fermented foods: microbiota and beyond, *Current Opinion in Biotechnology*, 2017, 44, s. 94–102.
- [5] Wajs J., Stobiecka M., Wpływ mlecznych produktów fermentowanych na zdrowie człowieka. [w:] *Zdrowie i style życia. Determinanty długości życia*, (red.) W. Nowak, K. Szalonki, red. Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, 2020, s. 133–152.

- [6] Di Renzo T., Reale A., Nazzaro S., Marena P., Rahim M. H. A., Mohd Zaini N. A., Daud N. A., Wan-Mohtar W., Performance of mushrooms in fermented beverages: A narrative review, *Beverages*, 2025, 11, s. 19.
- [7] Piska K., Sułkowska-Ziaja K., Muszyńska B., Edible mushroom *Pleurotus ostreatus* (oyster mushroom) – its dietary significance and biological activity, *Acta Scientiarum Polonorum, Hortorum Cultus*, 2017, 16(1), s. 151–161.
- [8] Kondratowicz-Pietruszka E., Krochmal-Marczak B., Cebulak T., Piądlowska K., Vambol V., Betlej I., Zawartość wybranych metali w owocnikach bocznika ostrygowatego (*Pleurotus ostreatus*), *Herbalism*, 2024, 10, (1) s. 29–39.
- [9] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 3 listopada 2022 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie grzybów dopuszczonych do obrotu lub produkcji przetworów grzybowych, środków spożywczych zawierających grzyby oraz uprawnień klasyfikatora grzybów i grzyboznawcy Dz.U. 2022 poz. 2365.
- [10] Augustín J., Jaworska G., Dandár A., Cejpek K., Bocznik ostrygowaty (*Pleurotus ostreatus*) jako źródło β -D-glukanów, *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, 6(55), s. 170–176.
- [11] Villas-Bôas S. G., Esposito E., Mitchell D. A., Microbial conversion of lignocellulosic residues for production of animal feeds, *Animal Feed Science Technology*, 2002, 98, s. 1–12.
- [12] Szcześniak M., Grimling B., Meler J., Cynk – pierwiastek zdrowia, *Farmacja Polska*, 2014, 70(7), s. 363–366.
- [13] Singh A., Research P. D., Singh I. S., Pradesh U., Singh S., Nutritional and health importance of fresh and dehydrated oyster mushroom (*Pleurotus florida*), *Current Research in Food Science*, 2021, 2, s. 10–14.
- [14] Zhu F. B., Du Z.-X., Xu B., Beta-glukany z grzybów jadalnych i leczniczych: Charakterystyka, aktywności fizykochemiczne i biologiczne, *Journal of Food Composition and Analysis*, 2015, 41, 165e173.
- [15] Younis A. M., Wu F. S., El Shikh H. H., Antimicrobial activity of extracts of the oyster culinary medicinal mushroom *Pleurotus ostreatus* (higher basidiomycetes) and identification of a new antimicrobial compound, *International Journal Medicine. Mushrooms*, 2015, 17, s. 579–590.
- [16] Arbaayah H. H., Umi Kalsom Y., Antioxidant properties in the oyster mushroom (*Pleurotus spp.*) and split gill mushroom (*Schizophyllum commune*) ethanolic extracts, *Mycosphere*, 2013, 4(4), s. 661–673.
- [17] Arora S., Tandon S., Mushroom extracts induce human colon cancer cell (COLO-205) death by triggering the mitochondrial apoptosis pathway and G0/G1-phase cell cycle arrest, *Archives Iranian Medicine*, 2015, 18, s. 284–295.
- [18] Chen H., Li S., Polysaccharides from medicinal mushrooms and their antitumor activities, [w:] *Polysaccharides: Bioactivity and Biotechnology*, (red.) K. G. Ramawat., J. M. Mérillon, Springer International Publishing, Cham 2015, s. 1893–1910.

- [19] Gupta K. K., Agarwal S., Kushwaha A., Maurya S., Chaturvedi V. K., Pathak R. K., Verma V., Singh M. P., Oyster mushroom: A rich source of antioxidants, [w:] Incredible world of biotechnology, (red.) M. P. Singh, A. Kumar V, Verma, New York 2017, s. 41–57.
- [20] Farag M. A., Kamal N., Hamezah H. S., Saleh M. J., Mediani A., Baky A. M., The role of microorganisms and microbial enzymes in commercial fermented mushroom production: A comprehensive review of their action mechanisms, quality attributes and health benefits, *Food Production Process and Nutrition*, 2025, 7(8), s. 1–13.
- [21] Krakowska A., Zięba P., Włodarczyk A., Kała K., Sułkowska-Ziaja K., Bernaś E., Sękara A., Ostachowicz B., Muszyńska B., Selected edible medicinal mushrooms from *Pleurotus* genus as an answer for human civilization diseases, *Food Chemistry*, 2020, 327, 127084.
- [22] Siwulski M., Sobieralski K., Sas-Golak I., Wartość odżywcza i prozdrowotna grzybów, *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2014, 1(92), s. 16–28.
- [23] Brand-Williams W., Cuvelier M., Berset C., Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity, *LW – Food Science and Technology*, 2015, 28(1), s. 25–30.
- [24] Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C., Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, *Free Radical Biology and Medicine*, 1999, 26(9–10), s. 1231–1237.
- [25] Benzie I. F. F., Strain J. J., The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay, *Analytical Biochemistry*, 1996, 239(1), s. 70–76.
- [26] Singleton V. L., Rossi J. A., Colorimetry of total phenolics with phosphotungstic-phosphotungstic acid reagents, *American Journal Enology Viticulture*, 1965, 16, s. 144–158.
- [27] Aguirre-Garcia Y. L., Chye FY., Tan CT., Ng T.C., Ho C.W., Lactic acid fermentation in the food industry and bio-preservation of food, *Fermentation*, 2024, 10(3), 168.
- [28] Yim H. S., Chye FY., Tan CT., Ng T.C., Ho C.W., Antioxidant activities and total phenolic content of aqueous extract of *Pleurotus ostreatus* (cultivated oyster mushroom), *Malysian Journal Nutrition*, 2010, 16(2), s. 281–291.
- [29] Sawada Y. Sato T., Fukushi R., Kohari Y., Takahashi Y., Tomii S., Yang L., Yamagishi T., Arai H., Fermentation of soybeans with *Pleurotus cornucopiae* and *Pleurotus ostreatus* increases isoflavone aglycones, total polyphenol content and antioxidant activity, *Mycoscience*, 2023, 64(6), s. 156–165.
- [30] He M., Peng Q., Xu X., Shi B., Qiao Y., Antioxidant capacities and non-volatile metabolites changes after solid-state fermentation of soybean using oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) mycelium, *Frontiers in Nutrition*, 2024, 11, 1509341.