

SYLWIA SKĄPSKA, LUBOMIŁA OWCZAREK, URSZULA JASIŃSKA,
AURELIA HAŁASIŃSKA, JOANNA DANIELCZUK, BARBARA SOKOŁOWSKA

ZMIANY POJEMNOŚCI PRZECIWUTLENIAJĄCEJ GRZYBÓW JADALNYCH W PROCESIE KISZENIA

Streszczenie

Celem pracy było określenie zmian pojemności przeciwutleniającej oraz zawartości związków fenolowych w procesie kiszenia grzybów hodowlanych metodą fermentacji mlekowej, prowadzonej za pomocą kultury starterowej bakterii kwaszących (LAB). Materiał do badań stanowiły: pieczarka dwuzarodnikowa (*Agaricus bisporus*) i bocznik ostrygowaty (*Pleurotus ostreatus*). Blanszowane grzyby z dodatkiem soli, sacharozy i przypraw poddawano fermentacji, stosując kulturę starterową *Lactobacillus plantarum* KKP 384 w ilości 7 log jtk/g. W ciągu pierwszego tygodnia fermentacji prowadzonej w temperaturze pokojowej, w przypadku grzybów obu gatunków uzyskiwano produkt o pH poniżej 4,1 i liczebności LAB na poziomie 9 log jtk/g. Kiszzone grzyby umieszczano w chłodni w temperaturze 4 - 6 °C i przechowywano przez 7 tygodni lub pasteryzowano.

Zawartość fenoli ogółem, oznaczana metodą Folina-Ciocateu'a, wynosiła w pieczarkach 12,3 g/kg s.m., a w bocznikach 5, 8 g/kg s.m. (w przeliczeniu na kwas galusowy). Pojemność przeciwutleniająca, oznaczana z wykorzystaniem rodników ABTS*, wynosiła 60,5 i 35,9 μM Troloxu/g s.m., odpowiednio w pieczarkach i bocznikach. W wyniku blanszowania grzybów zawartość fenoli ogółem zmniejszyła się o 60 - 67 %, a pojemność przeciwutleniająca o 54 - 79 %. W trakcie fermentacji następowało dalsze obniżenie wartości tych parametrów, natomiast po 3 tygodniach przechowywania chłodniczego obserwowano tendencję wzrostową. Pojemność przeciwutleniająca kiszonych grzybów na koniec okresu przechowywania chłodniczego wynosiła 22,1 i 2,8 μM Troloxu/g s.m., odpowiednio w pieczarkach i bocznikach. Liczebność LAB w produktach wynosiła ok. 8 log jtk/g. Pasteryzowanie kiszonych grzybów nie obniżało pojemności przeciwutleniającej i zawartości fenoli w produktach. Pojemność przeciwutleniająca była silnie skorelowana z zawartością związków fenolowych ogółem ($R = 0,97, p \geq 0,01$).

Słowa kluczowe: : grzyby jadalne, pojemność przeciwutleniająca, fermentacja mlekowa

Wprowadzenie

Grzyby jadalne stanowią wartościowy składnik diety, ze względu na atrakcyjny smak, aromat i zawartość wielu cennych składników odżywczych, takich jak błonnik, sole mineralne i witaminy, przy stosunkowo niskiej kaloryczności [6, 11, 12, 17]. Jedną z istotnych pod względem żywieniowym cech wielu grzybów jest potencjał przeciwutleniający, związany przede wszystkim z zawartością związków fenolowych [5, 13, 14, 15]. W pieczarkach stwierdzano od 5 do 10,67 mg tych związków w 1 g s.m. [2, 5], w azjatyckich grzybach shiitake i tzw. straw mushrooms odpowiednio 6,6 mg/g s.m. i 17,0 mg/g s.m. [1], a w różnych gatunkach grzybów rosnących w Indiach od 2 do 37 mg/g s.m. [18] (w przeliczeniu na kwas galusowy). Większość publikacji na temat aktywności przeciwutleniającej grzybów pochodzi z dalekiego wschodu (Japonia, Korea, Chiny, Tajwan, Indie). Grzyby wszystkich badanych gatunków wykazywały zdolności przeciwutleniające bardzo zróżnicowane w zależności od gatunku [1, 9, 13, 14, 18, 21, 22].

Obróbka technologiczna w różnym stopniu wpływa na zachowanie związków fenolowych i, pośrednio, na potencjał przeciwutleniający grzybów. Rozpuszczalne związki fenolowe są tracone w trakcie procesów wymagających kontaktu z wodą i roztworami wodnymi. Stwierdzono np. ok. 15 % straty rozpuszczalnych fenoli, głównie γ -L-glutaminylo-4-hydroksybenzenu i γ -L-glutaminylo-3,4-dihydrobenzenu w skórkach pieczarek w wyniku mycia [2]. W wyniku sterylizacji oraz blanszowania grzyby traciły dużą część swojej aktywności przeciwutleniającej, natomiast mrożenie powodowało w większości przypadków raczej nieznaczne jej obniżenie – od kilku do 34 % [4, 15].

Spośród tradycyjnych metod przetwarzania grzybów fermentacja mlekowa jest stosunkowo mało rozpowszechniona w Europie, chociaż w wielu regionach świata kiszone grzyby są znane i uznawane za przysmak. Zastosowanie fermentacji mlekowej do utrwalania grzybów pozwala na otrzymanie bezpiecznego, atrakcyjnego sensorycznie produktu, a obecność żywych komórek bakterii mlekowych (LAB) zwiększa ich wartość prozdrowotną.

W nowoczesnym przetwórstwie fermentacja spontaniczna zastępowana jest coraz częściej przez proces kontrolowany, w którym wykorzystywane są wyselekcjonowane szczepy LAB, zapewniające prawidłowy i powtarzalny przebieg procesu. Do fermentacji pieczarek i innych grzybów hodowlanych z powodzeniem stosowano kultury starterowe bakterii kwaszących, takich jak *Lactobacillus plantarum*, *L. bulgaricus*, *L. delbrueckii*, *Streptococcus lactis*, *Lactococcus lactis*, *Propionibacterium freudenreichii* [7, 8, 10].

Celem pracy było określenie wpływu kiszenia grzybów metodą kontrolowanej fermentacji mlekowej na zawartość związków fenolowych i pojemność przeciwutleniającą surowca.

Material i metody badań

Materiał do badań stanowiły pieczarki (*Agaricus bisporus*) i bocznik ostrygowaty (*Pleurotus ostreatus*) zakupione w handlu detalicznym. Jako kulturę starterową zastosowano szczep *Lactobacillus plantarum* KKP 384 z Kolekcji Kultur Drobnoustrojów Przemysłowych IBPRS. Materiały pomocnicze stanowiły: sól, cukier i przyprawy, zakupione w handlu detalicznym.

Oznaczanie pojemności przeciwutleniającej prowadzono metodą pomiaru zdolności wygaszania rodników ABTS⁺ [19]. Grzyby homogenizowano i wirowano przy 14 tys. obr./min przez 10 min. Zlewano supernatant, a osad ekstrahowano 75 % acetonem, który następnie usuwano za pomocą chloroformu. Oznaczenia wykonywano osobno w supernatancie i fazie wodnej z ekstrakcji osadu. Wyniki wyrażano w przeliczeniu na μM Troloxu – syntetycznego, rozpuszczalnego w wodzie analogu witaminy E. Zawartość związków fenolowych ogółem w przeliczeniu na kwas galusowy oznaczano z zastosowaniem odczynnika Folina-Ciocalteu'a [20]. Liczbę bakterii fermentacji mlekowej oznaczano metodą płytkową na agarze MRS [16].

Grzyby po umyciu i oczyszczeniu blanszowano we wrzącej wodzie przez 2 min (pieczarki) lub 4 min (boczniki) i układano warstwami w wiadrach polietylenowych, kolejne warstwy przesypując mieszaniną soli i sacharozy oraz przyprawami. Ilość soli i cukru wynosiła odpowiednio 2 i 1 % w stosunku do całkowitej masy grzybów. Grzyby pozostawiano na 3 godz. w celu wydzielenia soku, po czym dodawano roztwór zawierający 2 % soli i 1 % cukru, tak aby zostały całkowicie przykryte zalewą. Następnie wprowadzano szczepionkę bakterii kwaszących w ilości 7 log jtk/g i prowadzono fermentację w temperaturze 18 – 20 °C przez 7 dni. Produkt przechowywano w chłodni w temperaturze ok. 4 – 6 °C lub poddawano pasteryzacji w słoikach szklanych. Proces prowadzono równolegle w dwóch pojemnikach.

Istotność różnic zawartości fenoli ogółem oraz pojemności przeciwutleniającej w grzybach na poszczególnych etapach procesu badano za pomocą jednoczynnikowej analizy wariancji, testem NIR Fischera (program Statistica 7.1 StatSoft).

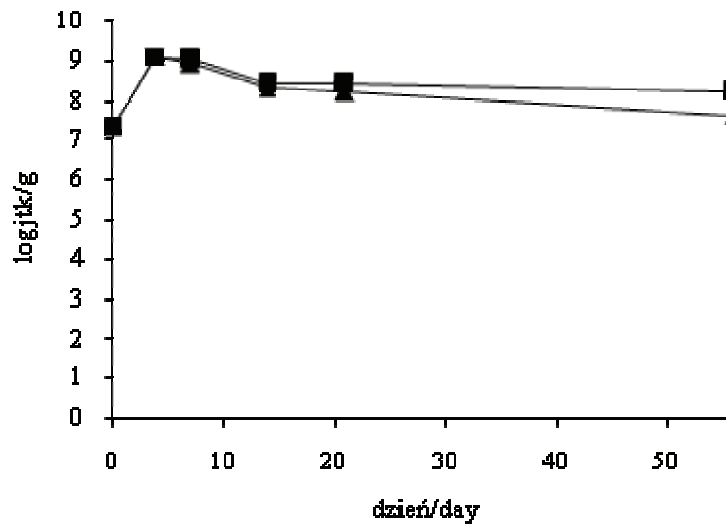
Wyniki i dyskusja

Liczba bakterii LAB (rys. 1) wprowadzona wraz ze szczepionką wynosiła 7,3 log jkt/g. Po 4 dniach liczba bakterii kwaszących wzrosła do ponad 9 log jkt/g, aby następnie zmniejszyć się w czasie przechowywania do ok. 8 log jtk/g.

W ciągu pierwszych 2 dni fermentacji pH grzybów osiągnęło stabilizującą wartość poniżej 4,2 i do końca okresu przechowywania pozostawało na poziomie 3,5 - 4,0 (rys. 2).

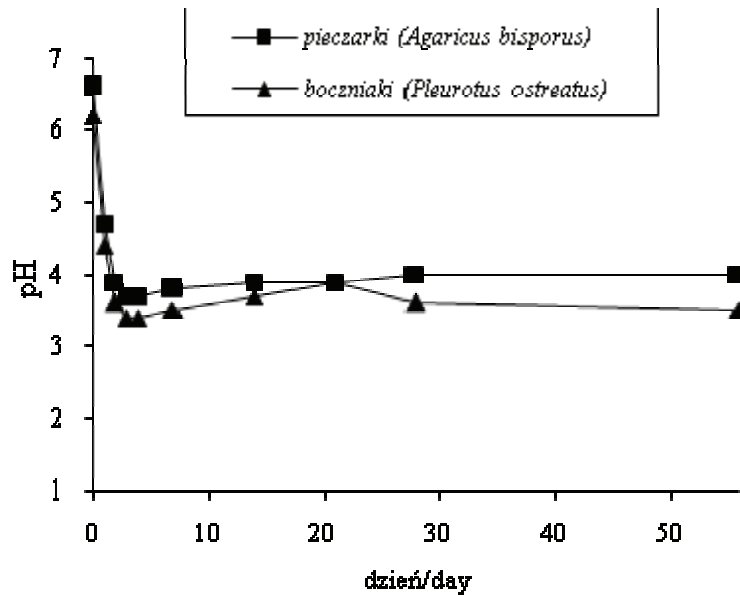
W trakcie procesów blanszowania, fermentacji, pasteryzowania i przechowywania chłodniczego następowały istotne zmiany zawartości suchej masy grzybów, wyni-

kające głównie z utraty wody i kurczenia się tkanek, dlatego wyniki oznaczeń zawartości fenoli ogółem i pojemności przeciwutleniającej podano w przeliczeniu zarówno na świeżą, jak i na suchą masę.



Rys. 1. Zmiany liczby bakterii kwaszacych w czasie fermentacji grzybów.

Fig. 1. Changes in the lactic acid bacteria count during mushroom fermentation.



Rys. 2. Zmiany pH w czasie fermentacji grzybów.

Fig. 2. Changes in pH during mushroom fermentation.

Zawartość fenoli ogółem w surowych grzybach wynosiła: 12335,1 mg/kg s.m. i 5842,1 mg/kg s.m., a pojemność przeciwutleniająca 60,46 i 35,86 μM Troloxu/g s.m., odpowiednio w przypadku pieczarek i boczniaków (tab. 1). Wartości te są zbliżone do uzyskanych przez Dubosta i wsp. [5], którzy w pieczarkach stwierdzili od 8 do 10,65 g/kg s.m., a w boczniakach tylko 4,27 g/kg s.m. fenoli ogółem. Hydrofilowa zdolność absorpcji rodników tlenowych (ORAC) badana przez tych autorów była również istotnie wyższa w pieczarkach niż w boczniakach.

W wyniku blanszowania zawartość fenoli uległa zmniejszeniu od 60 % (pieczarki) do 67 % (boczniaki), czemu towarzyszył spadek pojemności przeciwutleniającej odpowiednio o 54 i 79 %. Równie drastyczne (o 54 %) obniżenie zdolności wygaszania rodników ABTS zaobserwowano w wyniku blanszowania kapeluszy pieczarek w wodzie o temp. 92 °C [4] oraz w wyniku sterylizacji różnych gatunków grzybów (o 23 do 72 %) [15]. Wydaje się być to związane przede wszystkim z wymywaniem przez gorącą wodę związków fenolowych i innych rozpuszczalnych w wodzie przeciwutleniaczy z tkanek grzybów oraz z aktywnością oksydazy polifenolowej, która może powodować utlenianie niektórych związków redukujących [4].

W trakcie tygodniowego procesu fermentacji następował istotny ubytek zawartości fenoli i pojemności przeciwutleniającej w przeliczeniu na suchą masę grzybów. W ciągu pierwszych dwóch tygodni przechowywania chłodniczego zawartość fenoli ulegała dalszemu zmniejszeniu, a pojemność przeciwutleniająca nie ulegała zmianie. Po 3 tygodniach przechowywania oba te parametry zaczęły wykazywać tendencję wzrostową, aby po 7 tygodniach osiągnąć wartość równą lub wyższą niż na początku. Początkowe zmniejszenie zawartości fenoli i pojemności przeciwutleniającej w wyniku fermentacji można tłumaczyć migracją składników przeciwutleniających z tkanek grzybów do zalewy. Wzrost tych parametrów obserwowany w trakcie dalszego przechowywania może być wynikiem następujących w środowisku kwaśnym procesów hydrolizy i uwalniania składników fenolowych. Uwalnianie fenoli, związanych ze ścianami komórkowymi w postaci estrów i glikozydów, może następować również w wyniku działania enzymów bakteryjnych [3]. Pojemność przeciwutleniająca kiszonych grzybów na koniec okresu przechowywania chłodniczego wynosiła 22,06 i 2,79 μM Troloxu/g s.m., a zawartość fenoli ogółem 3789,0 i 1230,2 mg/kg s.m., odpowiednio w pieczarkach i boczniakach. Końcowa pojemność przeciwutleniająca kiszonych boczniaków była ok. 10-krotnie niższa niż pieczarek.

Pasteryzacja nie powodowała istotnego obniżenia zawartości fenoli ogółem ani pojemności przeciwutleniającej w kiszonych pieczarkach i boczniakach.

Pojemność przeciwutleniająca w badanych próbkach grzybów była silnie skorelowana z zawartością związków fenolowych ogółem ($R = 0,97$; $p \leq 0,01$).

Wnioski

1. Pieczarki i boczniaki wykazywały właściwości przeciwutleniające, przy czym zawartość związków fenolowych ogółem i pojemność przeciwutleniająca były wyższe w pieczarkach niż w boczniakach.
2. Kiszenie blanszowanych grzybów z wykorzystaniem szczepionki *Lactobacillus plantarum*, umożliwiło w ciągu 1 tygodnia fermentacji uzyskanie produktu o pH poniżej 4,1, trwałego w trakcie 7 tygodni chłodniczego przechowywania.
3. Największe straty związków fenolowych i pojemności przeciwutleniającej następowały na etapie blanszowania grzybów. W trakcie procesu fermentacji parametry te początkowo ulegały niewielkiemu zmniejszeniu, a po 3 tygodniach chłodniczego przechowywania wykazywały tendencję wzrostową.
4. Pasteryzacja kiszonych grzybów nie wpłynęła na zmniejszenie zawartości związków fenolowych i pojemności przeciwutleniającej.
5. Stwierdzono silną korelację pomiędzy pojemnością przeciwutleniającą a zawartością fenoli ogółem w badanych próbkach grzybów.

Praca była prezentowana podczas VI Konferencji Naukowej nt. „Nowoczesne metody analityczne w zapewnieniu jakości i bezpieczeństwa żywności”, Warszawa, 6 - 7 grudnia 2007 r.

Literatura

- [1] Cheung L.M., Cheung P.C.K., Ooi V.E.C.: Antioxidant activity and total phenolics of edible mushrooms extracts. *Food Chem.*, 2003, **81**, 249-255.
- [2] Choi W.S., Sapers G.M.: Effects of washing on polyphenols and polyphenol oxidase in commercial mushrooms (*Agaricus bisporus*). *Agric. Food Chem.*, 1994, **42 (10)**, 2286-2290.
- [3] Ciska E., Karamač M., Kosińska A.: Antioxidant activity of extracts of white cabbage and sauerkraut. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2005, **14/55 (4)**, 367-373.
- [4] Devece C., Rodriguez-Lopez J.N., Fenoll L.G., Tudela J., Catala J.M., de los Reyes E., Garcia-Canovas F.: Enzyme inactivation analysis for industrial blanching applications: Comparison of microwave, conventional, and combination heat treatments on mushroom polyphenoloxidase activity. *J. Agric. Food Chem.*, 1999, **47 (11)**, 4506-4511.
- [5] Dubost N.J., Ou B., Beelman R.B.: Quantification of polyphenols and ergothioneine in cultivated mushrooms and correlation to total antioxidant capacity. *Food Chem.*, 2007, **105**, 727-735.
- [6] Gawęcki J., Hryniewiecki L.: *Żywność człowieka. Podstawy nauki o żywieniu*. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 2003.
- [7] Jabłońska-Ryś E., Kalbarczyk J., Sztaba A.: Zastosowanie kultur starterowych bakterii mlekowych i propionowych w procesie kwaszenia owocników pieczarki. Doniesienie na V Konferencję PTTŻ nt. „Jakość i bezpieczeństwo żywności”, Białobrzegi nad Zalewem Zegrzyńskim, 17-18 listopada 2005.
- [8] Joshi V.K., Kaur M., Thakur N.S.: Lactic acid fermentation of mushrooms (*Agaricus bisporus*) for preservation and preparation of sauce. *Acta Aliment.*, 1996, **25 (1)**, 1-11.
- [9] Kasuga A., Aoyagi Y., Sugahara T.: Antioxidant activity of fungus *Suillus bovinus* (L: Fr) O. Kontze. *J. Food Sci.*, 1995, **60 (5)**, 1113-1115.

- [10] Kuy Kim B., Gab-Gyun S., Jae Young C., Beong Sam J., Dong Won B.: Method for preparing lactic acid fermented solution of mushrooms and lactic acid fermented solution of mushrooms produced thereby. Patent US 6 841 180 B2, 2005.
- [11] Manzi P., Gambelli L., Marconi S., Vivanti V., Pizzoferrato L.: Nutrients in edible mushrooms: an inter-species comparative study. *Food Chem.*, 1999, **65** (4), 477-482.
- [12] Matilla P., Könkö K., Euroola M., Pihlava J.M., Astola J., Vahteristo L., Hietaniemi V., Kumpulainen J., Valtonen M., Piironen V.: Contents of vitamins, mineral elements, and some phenolic compounds in cultivated mushrooms. *J. Agric. Food Chem.*, 2001, **49** (5), 2343-2348.
- [13] Mau J.-L., Chao G.-R., Wu K.-T.: Antioxidant properties of methanolic extracts from several ear mushrooms. *J. Agric. Food Chem.*, 2001, **49** (11), 5461-5467.
- [14] Mau J.-L., Lin H.-C., Chen C.-C.: Antioxidant properties of several medicinal mushrooms. *J. Agric. Food Chem.*, 2002, **50** (21), 6072-6077.
- [15] Murcia M. A., Martinez-Tome M., Jimenez A. M., Vera A. M., Honrubia M., Parras P.: Antioxidant activity of edible fungi (truffles and mushrooms): losses during industrial processing. *J. Food Protec.*, 2002, **65** (10), 1614-1622.
- [16] PN-ISO 15214:2002. Oznaczanie liczby mezofilnych bakterii fermentacji mlekowej metodą płytkową w 30 °C.
- [17] Podbielkowski Z.: *Rośliny użytkowe*. WSiP, Warszawa 1992.
- [18] Puttaraju N.G., Venkateshaiah S.U., Dharmesh S.M., Urs S.M.N., Somasundaram R.: Antioxidant activity of Indigenous edible mushrooms. *J. Agric. Food Chem.*, 2006, **54** (26), 9764-9772.
- [19] 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 Biol. Medic.*, 1999, **26**, 9/10, 1231-1237.
- [20] Singleton V.L., Rossi J.A.: Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Amer. J. Enol. Viticult.*, 1965, **16**, 144-158.
- [21] Yen G.-C., Wu J.-Y.: Antioxidant and radical scavenging properties of extracts from *Ganoderma tsugae*. *Food Chem.*, 1998, **65**, 375-379.
- [22] Zhang Y., Mills G.L., Nair M.G.: Cyclooxygenase inhibitory and antioxidant compound from the mycelia of the edible mushrooms *Grifola frondosa*. *J. Agric. Food Chem.*, 2002, **50** (26), 7581-7585.

CHANGES IN THE ANTIOXIDANT CAPACITY OF EDIBLE MUSHROOMS DURING LACTIC ACID FERMENTATION

S u m m a r y

The objective of the study was to determine changes in the antioxidant capacity and polyphenol content occurring during the processing of cultivated mushrooms by lactic acid fermentation carried out using a starter culture of lactic acid bacteria (LAB). The investigation material consisted of mushrooms: *Agaricus bisporus* and *Pleurotus ostreatus*. The mushrooms blanched with the addition of salt, sucrose and spices were fermented using *Lactobacillus plantarum* KKP 384 as a starter culture applied in the dose of 7 log cfu/g. As for the two mushroom species investigated, a product was obtained during the first week of fermentation at a room temperature, which had a pH value below 4.1, and a LAB count at a level of 9 cfu/g. The fermented mushrooms were placed in a cold room at 4 - 6 °C, there, they were stored for 7 weeks or they were pasteurized.

The total polyphenol content, determined using a Folin-Ciocateu method, was 12.3 g/kg d.m. as for *Agaricus bisporus*, and 5.8 g/kg d.m. as for *Pleurotus ostreatus* (expressed as gallic acid). The antioxidant

capacity values determined using ABTS* radicals were: 60.5 and 35.9 μM of Trolox/g d.m. as for *Agaricus bisporus* and *Pleurotus ostreatus*, respectively. The process of blanching the mushrooms caused the total polyphenols to decrease by 60 - 67 %, and the antioxidant capacity to decrease by 54 - 79 % . Those parameters continued to decrease during the ongoing fermentation process, however, after three weeks of cold storage, an increasing tendency was found. The antioxidant capacity values of fermented mushrooms at the end of cold storage were 22.1 and 2.8 μM of Trolox/g d.m. as for *Agaricus bisporus* and *Pleurotus ostreatus*, respectively. The LAB count in the products was ca. 8 log cfu/g. The pasteurization process of the fermented mushrooms did not decrease the antioxidant capacity level nor the polyphenol content in the samples. The antioxidant capacity was strongly correlated with the total polyphenol content ($R = 0.97$, $p \geq 0.01$).

Key words: edible mushrooms, antioxidant capacity, lactic acid fermentation ☒