

Nutritivna vrijednost i antioksidacijska aktivnost jestivih samoniklih gljiva *Albatrellus pes-caprae* i *Armillaria mellea*

Sažetak

Ovo istraživanje namijenjeno je određivanju prosječnog kemijskog sastava, udjela bioaktivnih spojeva i antioksidacijske aktivnosti jestivih samoniklih gljiva *Albarellus per-caprae* i *Armillaria mellea*. Rezultati određivanja kemijskog sastava su pokazali da su gljive bogat izvor bjelančevina i ugljikohidrata te da imaju male količine masti, a dobar su izvor energije. Koncentracije pet bioaktivnih spojeva (askorbinska kiselina, β -karoten, likopen, ukupni fenoli i flavonoidi) određene su ekstrakcijom plodišta gljiva u vrućoj vodi i metanolu. Tri komplementarna kemijska ispitivanja; reducirajuća snaga, uklanjanje slobodnih radikala (DPPH) i sposobnost keliranja iona željeza korišteni su za određivanje antioksidacijskih svojstava ekstrakata. Najveće vrijednosti antioksidacijskog kapaciteta određene su u ekstraktima *A. mellea* s vrućom vodom (9,01 μ M TE/g s.tv. u reducirajućoj snazi, 65% u sposobnosti uklanjanja slobodnih radikala, i 85% u sposobnosti keliranja). Vrijednosti EC50 za tri različita ispitivanja antioksidanta bile su između 1,63 mg/mL i 6,86 mg/mL. Zbog ovih karakteristika, jestive samonikle gljive *A. per-caprae* i *A. mellea* mogu biti dio dobro uravnotežene prehrane i izvor bioaktivnih sastojaka.

Ključne riječi: *Albarellus per-caprae*, *Armillaria mellea*, nutritivna vrijednost, bioaktivni sastojci, antioksidacijska aktivnost

Uvod

Posljednjih se godina razvila višestruka otpornost patogenih mikroorganizama na lijekove zbog pretjerane upotrebe antibiotika. Takvo stanje je ponukalo znanstvenike da intenzivnije počnu istraživati nove bioaktivne supstancije iz kultiviranih i samoniklih jestivih gljiva (Turkoglu i sur., 2007). Gljive obiluju nutraceuticima koji su zaslužni za njihovu antioksidacijsku aktivnost. Osim farmakoloških značajki, gljive postaju sve važnije u našoj prehrani zbog svoje nutritivne vrijednosti, zahvaljujući visokom udjelu proteina i vlakana, te niskom udjelu masti i maloj energijskoj vrijednosti (Agahar-Murugkar i Subbulakshmi, 2005; Barros i sur., 2008a), no važno je istaknuti da nutritivne vrijednosti, odnosno kemijski sastav ovise o stadiju zrelosti gljiva i kulinarskoj obradi (Dikeman i sur., 2005). Istraživanja su pokazala da redovita konzumacija gljiva ili sastojaka izoliranih iz gljiva poboljšava zdravstveni status i zbog toga se gljive mogu smatrati funkcionalnom hranom (Chang i Buswell, 1996; Mau i sur., 2002a,b). Nakupljaju različite sekundarne metabolite, poput fenolnih spojeva, poliketida, terpena i steroida, koji im daju medicinsku i funkcionalnu vrijednost (Turkoglu i sur., 2007). Važno je napomenuti da nakupljanje i udjel ovih spojeva ovisi o načinu skladištenja, prerade i fazi zrelosti gljiva u vrijeme skupljanja (Barros i sur., 2007b).

Slobodni radikali nastaju i u normalnom i u patološkom staničnom metabolizmu, što pokazuje da je oksidacija nužna mnogim živim organizmima za proizvodnju energije potrebne za biološke procese. Slobodni radikali koji se oslobađaju tijekom oksidacijskog stresa izazivaju ozbiljna endogena oštećenja u biološkim sustavima (Cheung i sur., 2003). Ova su oštećenja često povezana s različitim degenerativnim bolestima i stanjima, kao što su karcinom, kardiovaskularne bolesti, pad imuno sustava, te čak i ubrzano starenje organizma (Kaur i Kapoor,

¹ izv. prof. dr. sc. Sunčica Beluhan, Katja Cukon, mag. ing. biotechn., red. prof. dr. sc. Mirela Ivančić Šantek, Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnoški fakultet, Pierottijeva 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (sunbel@pbf.hr)
Autor za korespondenciju: sunbel@pbf.hr

2001). Slobodni radikali su visoko reaktivne molekule koje u svojoj strukturi imaju ne sparene elektrone, a mogu nastati kao posljedica zračenja ili kao sporedni produkti metaboličkih procesa. Gotovo svi organizmi su zaštićeni od oštećenja koja izazivaju slobodni radikali pomoću oksidacijskih enzima, kao što su superoksid dismutaza i katalaza, te kemijskih spojeva, kao što su askorbinska kiselina, karotenoidi, α -tokoferol, polifenolni spojevi i glutation. No, ti su obrambeni sustavi često nedostadni za potpunu prevenciju oštećenja koju izazivaju slobodni radikali, što u konačnici rezultira raznim bolestima i ubrzanim starenjem stanica.

U ovom su radu proučavani kemijski sastav i antioksidacijska svojstva dvije samonikle gljive, maglena (*Albatrellus pes-caprae*) i puze (*Armillaria mellea*). Istraživanja su bila podijeljena i provedena u četiri faze kako bi se: 1) odredio prosječni kemijski sastav gljiva (udjel suhe tvari, proteina, ukupnih šećera, masti i pepela) te njihova energijska vrijednost, 2) usporedio prinos ekstrakta iz gljiva nakon ekstrakcije s dva ekstrakcijska sredstva; vrućom vodom i metanolom i 3) provela ekstrakcija bioaktivnih sastojaka (askorbinska kiselina, β -karoten, likopen, ukupni fenoli i flavonoidi), i 4) istražila antioksidacijska aktivnost gljiva spektrofotometrijskim metodama (redukcijska snaga, sposobnost uklanjanja slobodnih radikala, kapacitet vezanja iona željeza) i EC_{50} vrijednost uzoraka.

Materijali i metode

Uzorci gljiva

Uzorci samoniklih gljiva *A. pes-caprae* i *A. mellea* nabavljeni su na tržnici Dolac u Zagrebu u rujnu 2018. godine. Svježi uzorci su odmah izvagani, izrezani i stavljeni u suhi sterilizator (Instrumentaria, ST-05, 50-200 °C, Hrvatska) na sušenje 6 h pri 50 °C.

Kemijski sastav gljiva

Kemijski sastav gljiva određivan je mjerenjem suhe tvari, ukupnih proteina, ukupnih šećera, masti i pepela prema AOAC metodama (2012). Uzorci gljiva su nakon sušenja usitnjeni u tarioniku i kao takvi uporabljeni u svim određivanjima.

Suha tvar gljiva određivana je sušenjem gljiva do konstantne mase pri 105 °C/24 h. Nakon hlađenja u eksikatoru, uzorci su izvagani, te je izračunata suha tvar u svakom uzorku (Alvarez i Enriquez, 1988). Količina ukupnih proteina u uzorcima gljiva određivana je metodom po Kjeldahlu. Za izračunavanje količine ukupnih proteina u uzorcima gljiva, određeni udjel dušika je množen faktorom 4,38 (Leon-Guzman i sur., 1997). Količina masti u uzorcima gljiva određivana je po Soxhletu, a udjel pepela u uzorcima spaljivanjem u muflonskoj peći pri 550 °C tijekom 6 h. Udjel ukupnih šećera izračunat je prema jednadžbi (Barros i sur., 2007a):

$$\text{Ukupni šećeri (g)} = 100 - (\text{voda} - \text{proteini} - \text{masti} - \text{pepeo}) \quad (1)$$

Ukupna energijska vrijednost je izračunata prema jednadžbi:

$$\text{Energijska vrijednost (kJ)} = 17 \times (\text{g proteina} - \text{g šećera}) + 37 \times (\text{g masti}) \quad (2)$$

Ekstrakcija bioaktivnih sastojaka

1) Ekstrakcija vrućom vodom

1,5 g osušenih gljiva odvagano je s točnošću $\pm 0,1$ g i homogenizirano s 20 mL zagrijane demineralizirane vode (50 °C). Homogena smjesa ekstrahirana je 10 minuta pri temperaturi oko 90-95 °C uz povratno hladilo. Dobiveni ekstrakt je filtriran kroz filter papir, a zaostali talog ponovno je ekstrahirano s 20 mL demineralizirane vode uz povratno hladilo još 10 minuta. Dobiveni ekstrakti su spojeni u odmjerne tikvici od 50 mL i nadopunjeni vodom do oznake.

2) Ekstrakcija metanolom

1,5 g osušenih gljiva odvagano je s točnošću $\pm 0,1$ g i homogenizirano s 20 mL metanola (95%, 25 °C). Homogena smjesa ekstrahirana je 180 minuta pri 37 °C na magnetnoj mješalici (250 okr/min). Dobiveni ekstrakt je filtriran kroz filter papir, a zaostali talog ponovno je ekstrahiran s 20 mL metanola još 60 minuta. Dobiveni ekstrakti su spojeni u odmjernoj tikvici od 50 mL i nadopunjeni vodom do oznake.

Određivanje bioaktivnih sastojaka

Ukupni fenoli

Fenolni spojevi (flavonoidi) određivani su metodom prema Barros i sur. (2008a), uz manje modifikacije. U epruvetu je otpipetirano 1 mL ekstrakta i 1 mL Folin-Ciocalteu reagensa, nakon čega je smjesa homogenizirana na vibromikseru. Nakon 3 minute je reakcijskoj smjesi dodano 1 mL zasićene otopine Na_2CO_3 . Uzorak je stavljen na mračno mjesto 90 minuta, nakon čega je mjerena apsorbancija pri 725 nm (Unicam Helios λ , SAD). Na isti način je pripremljena i slijepa proba, ali je umjesto ekstrakta stavljena demineralizirana voda. Baždarni dijagram je izrađen s galnom kiselinom (0,01-0,4 mM; $R^2=0,9989$). Rezultati (mg GAE/g ekstrakta gljiva) su izračunati prema jednadžbi:

$$y = 2,8557 \cdot x - 0,0021 \quad (3)$$

Flavonoidi

Fenolni spojevi određivani su metodom prema Pereira i sur. (2012), uz manje modifikacije. 250 μL ekstrakta je pomiješano s 1,25 mL destilirane vode i 75 μL 5%-tne otopine NaNO_2 . Nakon 5 minuta, u reakcijsku smjesu je dodano 150 μL 10%-tne otopine $\text{AlCl}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ i promiješano na vibracijskoj mješalici. Nakon 6 minuta je dodano 500 μL 1M NaOH i 275 μL destilirane vode, te je reakcijska smjesa ponovno dobro promiješana na vibracijskoj mješalici. Intenzitet ružičaste boje je mjereno pri 510 nm (Unicam Helios ϵ , SAD). Baždarni dijagram je izrađen s (+)-katehinom (0,022-0,34 mM; $R^2=0,9998$). Rezultati (mg CE/g ekstrakta gljiva) su izračunati prema jednadžbi:

$$y = 0,9629 \cdot x - 0,0002 \quad (4)$$

Askorbinska kiselina

Askorbinska kiselina je određivana prema metodi Vaz i sur. (2011). 150 mg osušenih gljiva je ekstrahirano s 10 mL 1% (tež/vol) metafosforne kiseline tijekom 45 minuta na sobnoj temperaturi, uz stalno miješanje. Nakon toga su uzorci filtrirani kroz filter papir, a filtrati (1 mL) su pomiješani s 9 mL 2,6-dikloroindofenola. Uzorci su ostavljeni 30 minuta na sobnoj temperaturi, nakon čega im je mjerena apsorbancija na 515 nm. Koncentracija askorbinske kiseline je izračunata prema baždarnom pravcu dobivenom mjerenjem apsorbancije pripadajućih koncentracija L-askorbinske kiseline (0,50-2,01 $\mu\text{g}/\text{mL}$; $R^2 = 0,9969$). Rezultati (mg L-askorbinske kiseline/100 g s. tv.) su izračunati prema jednadžbi:

$$y = 3,4127 \cdot x - 0,0072 \quad (5)$$

β -karoten i likopen

β -karoten (provitamin A) i likopen su određivani prema metodi Barros i sur. (2008a). 100 mg osušenih gljiva je homogenizirano s 10 mL smjese otapala aceton-heksan (4:6), uz snažno miješanje na vibromikseru. Uzorci su filtrirani kroz filter papir, a nakon toga je filtratima mjerena apsorbancija na 453, 505 i 663 nm. Koncentracije β -karotena i likopena su izračunate prema jednadžbama:

$$\beta\text{-karoten (mg/100 mL)} = 0.216 \cdot A_{663} - 0.304 \cdot A_{505} + 0.452 \cdot A_{453} \quad (6)$$

$$\text{likopen (mg/100 mL)} = -0.0458 \cdot A_{663} + 0.372 \cdot A_{505} - 0.0806 \cdot A_{453} \quad (7)$$

Određivanje antioksidacijske aktivnosti

Reducirajuća snaga

Reducirajuća snaga je određivana prema metodi Gulčin i sur. (2003). Svaki od ekstrakata (0,1 – 7,0 mg/mL) je pomiješan s 2,5 mL 200 mM fosfatnog pufera (pH 6,6) i 2,5 mL kalijevog ferocijanida (10 mg/mL), te inkubiran pri 50 °C tijekom 20 minuta. Nakon toga je u uzorke dodano 2,5 mL trikloroctene kiseline (100 mg/mL) i centrifugirani su pri 200 g/10 minuta. Gornji sloj (5 mL) je pomiješan s 5 mL deionizirane vode i 1 mL željeznog klorida (1 mg/mL), te je izmjerena apsorbancija na 700 nm. Veća vrijednost apsorbancije ukazala je na veću reducirajuću snagu. EC_{50} vrijednosti (mg ekstrakta/mL) su koncentracije ekstrakta pri kojima je apsorbancija iznosila ½ vrijednosti apsorbancije izmjerene za reducirajuću snagu i dobivene su interpolacijom. Kao standard je uporabljen Trolox, a rezultati su izraženi kao μM Trolox ekvivalenata (TE)/g s. tv. ekstrakta.

Uklanjanje slobodnih radikala DPPH metodom

Antioksidacijska aktivnost uzoraka određena je mjerenjem sposobnosti inhibicije slobodnog 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikala. Antioksidacijska sposobnost se mjeri u vidu otpuštanja vodik iz antioksidanta, odnosno sposobnosti vezanja radikala pri čemu se koristi stabilni DPPH radikal (Cheung i sur., 2003). Postotak inhibicije DPPH radikala uzoraka računat je prema jednadžbi:

$$\% \text{ inhibicije} = [1 - (A_{\text{uzorka}} - A_0)] \cdot 100 \quad (8)$$

A_{uzorka} – apsorbancija istraživanog uzorka na 517 nm

A_0 – apsorbancija slijepe probe na 517 nm

Sposobnost vezanja iona željeza

Sposobnost vezanja iona željeza određivana je prema metodi Soares i sur. (2009) uz male izmjene. Svaki od ekstrakata (0,1 – 7 mg/mL) je razrijeđen s 0,7 mL demineralizirane vode i pomiješan s 0,175 mL 0,5 mM željeznog klorida. Reakcija je pokrenuta dodatkom 0,175 mL 0,5 mM ferozina i izmjerena je početna vrijednost apsorbancije na 550 nm. Nakon inkubacije na sobnoj temperaturi (10 minuta), ponovno je izmjerena apsorbancija na 550 nm. Niža vrijednost apsorbancije ukazuje na veću sposobnost vezanja. Postotak vezanja ferozin- Fe^{2+} kompleksa izračunat je prema jednadžbi:

$$\text{Sposobnost keliranja (\%)} = [(A_0 - A_1)/A_0] \cdot 100 \quad (9)$$

A_0 – početna vrijednost apsorbancije na 550 nm

A_1 – vrijednost apsorbancije na 550 nm nakon 10 minuta inkubacije

Rezultati i rasprava

U ovom radu je određivan prosječan kemijski sastav i antioksidacijska aktivnost ekstrakata dvije samonikle jestive gljive *A. pes-caprae* i *A. mellea*. U vrijeme prikupljanja gljiva, vrijeme je bilo suho i stabilno, što je utjecalo na udjel suhe tvari, budući da je znano da udjel vlage u gljivama ovisi o vremenskim uvjetima koji su prethodili prikupljanju. Sva istraživanja su provedena na uzorcima plodišta *A. pes-caprae* i *A. mellea* (Slika 1).



Slika 1. Fotografije istraživanih vrsta gljiva: a) *A. pes-caprae*; b) *A. mellea*
Fig. 1. Photographs of investigated mushroom species: a) *A. pes-caprae*; b) *A. mellea*

Nutritivna vrijednost i kemijski sastav gljiva

Jedan od glavnih zahtjeva pri odabiru prehrambene namirnice je njezina nutritivna vrijednost. Kada se radi o samoniklim gljivama, nutritivni se sastojci izračunavaju u odnosu na suhu tvar, jer je poznato da gljive imaju visok udjel vode, posebice u kišnim dijelovima godine, koji utječu, ne samo na teksturu, nego i na relativno kratko vrijeme održavanja te namirnice (Kalač, 2009). Rezultati ovih istraživanja pokazali su da je manju prosječnu vrijednost udjela suhe tvari imala *A. pes-caprae* 8,21 %, dok je kod *A. mellea* izmjereno 11,29 % (Tablica 1). Prema nutritivnim kriterijima, plodišta gljiva su bogat izvor proteina i ugljikohidrata. Prema Colaku i sur. (2009), udjel proteina u samoniklim gljivama izravno je povezan s porodicom, odnosno određenom vrstom gljiva i njihovoj fazi zrelosti u vrijeme prikupljanja, te koncentraciji dušika u tlu na kojem su rasle. Ugljikohidrati predstavljaju sastojak koji je u najvećem udjelu zastupljen u gljivama. Gukoza, manitol i trehaloza su zastupljeni u najvećim koncentracijama. Udjel ugljikohidrata mijenja se ovisno o načinu skladištenja i obrade. Prema rezultatima istraživanja, udjel trehaloze i manitola se znatno smanjuje tijekom termičke obrade svježih plodišta gljiva, dok se sušenjem ili zamrzavanjem taj udjel tek neznatno smanjuje (Barros i sur., 2007a). Istraživanja u ovom radu su pokazala da je udjel proteina i ugljikohidrata u *A. pes-caprae* bio 4,43 % i 6,93, a u *A. mellea* 1,64 %, i 7,15 %. Spojevi koji čine ukupne masti mogu se podijeliti na slobodne masne kiseline, tri- di- i monogliceride, fosfolipide, te sterole. Gljive se mogu konzumirati kao namirnice s malim udjelom masti, kao što je izmjereno u pokusima. Udjel masti u *A. pes-caprae* bio je 0,23 %, a u *A. mellea* 0,18 %, što su najniže izmjerene vrijednosti u cijelom kemijskom sastavu istraživanih gljiva. Maseni udjel pepela u analiziranim gljivama bio je 0,51 % (*A. pes-caprae*) i 0,56 % (*A. mellea*). Prema Mattila i sur. (2001), glavni sastojci pepela su K i P (60 %), tako da se njihovim malim udjelom može objasniti mala koncentracija pepela u istraživanim gljivama, iako u ovom radu nisu određivani. U ovom su istraživanju određene niske energijske vrijednosti gljiva *A. pes-caprae* (201,62 kJ/100 g s.tv.) i *A. mellea* (200,09 kJ/100 g s.tv) (Tablica 1). Colak i sur. (2009) su odredili vrijednosti od 155 kJ/100 g s. tv. za *Amanita rubensces* i 259 kJ/100 g s. tv. za *Lepista nuda*, tako da se rezultati dobiveni u ovom radu mogu smatrati usporedivim jer je u drugom istraživanju određena puno manja energijska vrijednost (87,3 kJ/100 g s. tv. za *Lepista nuda*) (Barros i sur., 2007a). Energijska vrijednost ovisi o vlažnosti uzoraka i udjelu ugljikohidrata, najčešće manitola i hitina (nisu određivani), koji su djelomično probavljivi ili neprobavljivi (Kalač, 2009).

Tablica 1. Prosječni kemijski sastav (g/100 g) i energijska vrijednost (kJ/100 g) plodišta *A. pes-caprae* i *A. mellea*

Table 1. Proximate chemical composition (g/100 g) and energy value (kJ/100 g) of *A. pes-caprae* and *A. mellea* fruit bodies

Vrsta gljiva/ Mushroom species	Suha tvar (%)/Dry weight (%)	Proteini (g/100 g)/ Proteins (g/100 g)	Šećeri (g/100 g) /Sugars (g/100 g)	Masti (g/100 g) /Fat (g/100 g)	Pepeo (g/100 g) /Ash (g/100 g)	Energija (kJ/100 g) /Energy (g/100 g)
<i>A. pes-caprae</i>	8,21	4,43	6,93	0,23	0,51	201,62
<i>A. mellea</i>	11,29	3,64	7,15	0,18	0,56	200,09

Rezultati su izraženi na suhu tvar (s. tv.) / Results are expressed in a dry weight (d. w.) basis.

Za ekstrakciju malih molekula iz gljiva najčešće se kao ekstrakcijsko otapalo koristi metanol (Mau i sur., 2002a; Vaz i sur., 2011). Neka su istraživanja pokazala da različite bioaktivne molekule, posebice fenolni spojevi koje nalazimo u gljivama, pokazuju visoku polarnost (Jayakumar i sur., 2011; Wong i Chye, 2009). U ovom radu je ekstrakcija bioaktivnih sastojaka provedena s dva ekstrakcijska sredstva, vrućom vodom i metanolom, s ciljem dobivanja ekstrakata sa spojevima velike molekulske mase, kao što su polisaharidi i male molekulske mase, koji su većinom fenolni spojevi. Obje vrste spojeva imaju važnu ulogu u nutricionističkom i medicinskom statusu gljiva (Ferreira i sur., 2010). Prinos ekstrakata iz uzoraka ispitivanih gljiva prikazan je u Tablici 2. Kako se može uočiti, ekstrakcijom vrućom vodom i metanolom, i kod jedne i druge gljive, postignuti su podjednaki rezultati. Prinos ekstrakta je bio veći u vodenom ekstraktu *A. pes-caprae* (41,12 %), dok je u metanolnom ekstraktu određen dvostruko manji prinos (18,09 %). Slični odnos dobivenih rezultata uočen je i u ekstraktima *A. mellea*; u vodenom 39,66 %, te dva puta manji prinos u metanolnom ekstraktu (16,12 %). Dobiveni rezultati mogu se usporediti s rezultatima Tsai i sur. (2009) i Vaz i sur. (2011), koji su pripremali ekstrakte pet, odnosno četiri vrste samoniklih gljiva s vrućom vodom i etanolom, te su prema dobivenim prinosima zaključili da je ekstrakcija vrućom vodom učinkovitija od ekstrakcije etanolom. Primjena vruće vode za ekstrakciju topljivih sastojaka poslužila je za simulaciju dobivanja pripravaka koji se upotrebljavaju u kineskoj medicini i pripremljanja biljnih čajeva koji imaju ljekovita svojstva. U usporedbi s ekstrakcijom metanolom kao otapalom, dobivene informacije o uspješnosti ekstrakcije s vrućom vodom mogle bi biti vrijedne za pripremu ekstrakata koji se koriste u ljudskoj prehrani.

Tablica 2. Prinos ekstrakta plodišta *A. pes-caprae* i *A. mellea* nakon ekstrakcije vrućom vodom i metanolom

Table 2. Extraction yield of hot water and methanolic extracts from *A. pes-caprae* and *A. mellea* fruit bodies

Vrsta gljiva/Mushroom species	Prinos ekstrakta iz gljiva (g/100 g s. tv.)/ Mushroom extract yield (g/100 g dry matter)	
	Vruća voda/ Hot water	Metanol/ Methanol
<i>A. pes-caprae</i>	41,12	18,09
<i>A. mellea</i>	39,66	16,12

Rezultati su izraženi na suhu tvar ekstrakta (s. tv.) / Results are expressed in a dry extract weight (d. w.) basis.

Povrće, voće i gljive su bogati izvori bioaktivnih spojeva, kao što su vitamini A, C i E, karotenoidi, polifenolne supstancije i flavanoidi, koji štite od oštećenja slobodnim radikalima, te smanjuju rizik od kroničnih bolesti (Barros i sur., 2008b). U ovom radu jedan od ciljeva bio je ispitati udjel tih spojeva u istraženim gljivama, odnosno odrediti udjel askorbinske kiseline, β -karotena, α -tokoferola, ukupnih fenola i flavonoida, a rezultati su prikazani u Tablici 3. Kako se može vidjeti iz tablice, askorbinska kiselina je u malim koncentracijama određena u oba ekstrakta istraženih gljiva, pri čemu je u vodenim ekstraktima bila podjednaka (0,17 i 0,15 mg/g s. tv.). U metanolnim ekstraktima određena je tri puta veća koncentracija (0,66 i 0,41 mg/g s. tv.). U vodenom ekstraktu nije određen udjel β -karotena jer nije topljiv u vodi, no i u metanolnim ekstraktima je izmjeren u vrlo malim koncentracijama (0,04 i 0,07 mg/g s. tv.). Udjel likopena je također izmjeren u vrlo malim koncentracijama (od 0,01 do 0,05 mg/g). Ovi su rezultati usporedivi s rezultatima Barros i sur. (2007a) i Tsai i sur. (2009), koji su također u vodenim, etanolnim i metanolnim ekstraktima više vrsta samoniklih gljiva odredili vrlo male koncentracije β -karotena i likopena (od 0,01 do 0,05 mg/g s.tv.). Istraživanja su pokazala da je antioksidacijska aktivnost ekstrakata bilja i gljiva izravno povezana s udjelom fenolnih sastojaka i flavonoida (Caprioli i sur., 2019). Nekoliko autora je istraživalo korelaciju između polarnosti ekstrakcijskog otapala i udjela fenolnih spojeva u dobivenim ekstraktima gljiva (Cheung i sur., 2003; Puttaraju i sur., 2006). Iz Tablice 3 je vidljivo da je veći udjel fenolnih sastojaka određen u vodenim ekstraktima gljiva; *A. mellea* (32,86 %), *A. pes-caprae* (14,91 %), dok je u metanolnim ekstraktima izmjerena skoro tri puta manja vrijednost; *A. mellea* (12,61 %), *A. pes-caprae* (3,98 %). Udjel flavonoida je slijedio udjel ukupnih fenola, no u dvostruko manjim koncentracijama, u vodenim ekstraktima gljiva *A. mellea* (17,36 %), *A. pes-caprae* (7,82 %), dok je u metanolnim ekstraktima izmjerena dva i pol puta manja vrijednost; *A. mellea* (6,21 %), *A. pes-caprae* (2,11 %). Dobiveni rezultati su u suglasju s nekoliko provedenih istraživanja, no nijedno od tih istraživanja nije provedeno na vrsti gljive *A. pes-caprae*, nego na brojnim drugim vrstama samoniklih gljiva, među kojima je i *A. mellea* (Ouzouni i sur., 2009; Wong i Chye, 2009; Vaz i sur., 2011).

Tablica 3. Udjeli bioaktivnih sastojaka u ekstraktima plodišta *A. pes-caprae* i *A. mellea* fruit bodies
Table 3. Contents of bioactive compounds the *A. pes-caprae* i *A. mellea* extracts fruit bodies

Vrste gljiva/ Mushroom species	Udjel (mg/g) Content (mg/g)				
	Vruća voda/Hot water				
	^a Askorbinska kiselina/ ^a Ascorbic acid	^a β -karoten/ ^a β -carotene	^a Likopen/ ^a Lycopene	^b Ukupni fenoli/ ^b Total phenols	^c Flavonoidi/ ^c Flavonoids
<i>A. pes-caprae</i>	0,17	no ^d /nd ^d	0,05	14,91	17,82
<i>A. mellea</i>	0,15	no/nd	0,02	32,86	17,16
	Metanol/Methanol				
<i>A. pes-caprae</i>	0,66	0,04	0,02	3,98	2,11
<i>A. mellea</i>	0,41	0,07	0,01	12,61	6,21

^aRezultati su izraženi na suhu tvar gljiva (s. tv.)/^aResults are expressed in a mushrooms dry weight (d. w.) basis.

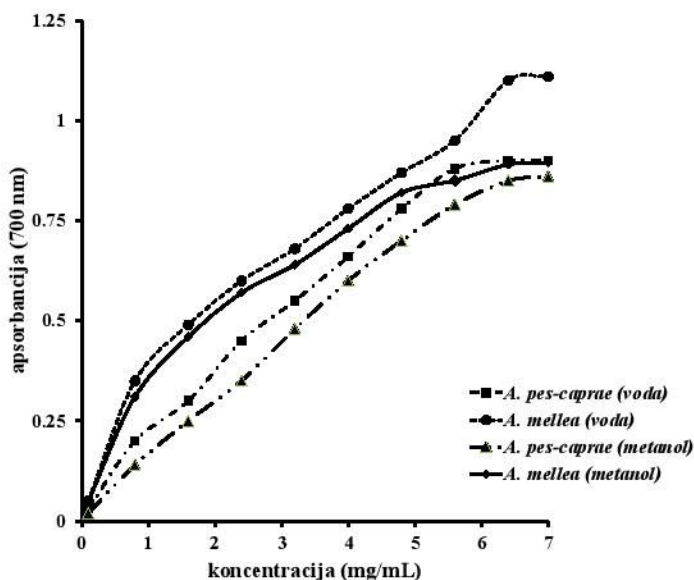
^bRezultati su izraženi kao ekvivalent GAE po g ekstrakta (mg GAE/g)/^bResults are expressed as GAE equivalent in a g of extract (mg GAE/g) basis.

^cRezultati su izraženi kao ekvivalent katehina po g ekstrakta (mg CE/g)/^cResults are expressed as catechin equivalent in a g of extract (mg CE/g) basis.

^dno = nije određeno

^dnd = not detected

Sposobnost ekstrakta gljiva da doniraju elektrone može se evaluirati određivanjem reducirajuće snage. U prisustvu antioksidanta, kompleks Fe^{3+} -fericijanid se reducira do Fe^{2+} i mjeri apsorbancija na 700 nm, pri čemu veća vrijednost apsorbancije ukazuje na veću reducirajuću snagu (Puttaraju i sur., 2006). Sposobnost ekstrakata ispitivanih gljiva da reduciraju Fe^{3+} do Fe^{2+} pri različitim koncentracijama ekstrakta je prikazana na Grafikonu 1. Ekstrakti plodišta gljiva *A. pes-caprae* i *A. mellea* pokazali su različiti kapacitet redukcije, no općenito, ta je sposobnost linearno rasla s povećanjem koncentracije ekstrakta. Od svih uzoraka, vodeni ekstrakt *A. mellea* pokazao je najveći kapacitet za redukciju jer je od koncentracije 0,1 mg/mL do 2,4 mg/mL, vrijednost izmjerene apsorbancije porasla s 0,051 na 0,605, a pri koncentraciji od 6,4 mg/mL je izmjerena vrijednost bila 1,09 i nakon te vrijednosti se nije mijenjala. Pri istim koncentracijama, u metanolnom ekstraktu *A. mellea* izmjerena je apsorbancija od 0,047 i 0,569, a najveća apsorbancija, 0,895 je izmjerena pri 7 mg/mL ekstrakta. I u vodenim i u metanolnim ekstraktima plodišta gljive *A. pes-caprae* također je primijećeno linearno povećanje apsorbancije. U vodenom ekstraktu pri koncentracijama od 0,1 mg/mL do 2,4 mg/L vrijednosti A_{700} su se kretale od 0,029 do 0,451, dok je najveća izmjerena, također pri 7 mg/mL bila 0,859. U metanolnom ekstraktu, pri istim koncentracijama, izmjerene A_{700} vrijednosti bile su 0,021 i 0,352, a pri 7 mg/mL izmjerena vrijednost bila 0,859. Kako se može uočiti iz Grafikona 1, svi ekstrakti plodišta gljiva su pokazali izvrsnu reducirajuću snagu. Dobiveni rezultati mogu se usporediti s rezultatima Sarikurkcju i sur. (2008) koji su istraživali reducirajuću snagu metanolnih ekstrakata četiri vrste samoniklih gljiva i pri koncentraciji od 2 mg/mL izmjerili vrijednosti A_{700} u uzorcima od 0,284 do 0,574. Bolji rezultati u ovom istraživanju postignuti su u usporedbi s rezultatima Huang (2000), koji je, istražujući reducirajuću snagu medicinske gljive *Antrodia camphorata*, izmjerio A_{700} vrijednost vodenog ekstrakta 0,96-0,97 pri 10 mg/mL i zaključio da ta gljiva ima izvrsnu antioksidacijsku aktivnost.



Grafikon 1. Reducirajuća snaga vodenih i metanolnih ekstrakata plodišta *A. pes-caprae* i *A. mellea*

Graph. 1. Reducing power of the *A. pes-caprae* and *A. mellea* fruit bodies water and methanolic extracts

Smatra se da je reducirajuća snaga gljiva rezultat sposobnosti doniranja atoma vodika (Jayakumar i sur., 2011). Prema tome, *A. mellea* ima veći udjel reducensa koji mogu djelovati na slobodne radikale, stabilizirati ih i zaustaviti njihove lančane reakcije. Ukupna reducirajuća snaga izražena kao $\mu\text{g TE/g s.tv.}$ prikazana je u Tablici 4. Sukladno izmjerenim vrijednostima $A_{700\text{nm}}$ prikazanim u Grafikonu 2, u tablici je vidljivo da veću redukciju snagu ima *A. mellea*, i u vodenom i u metanolnom ekstraktu.

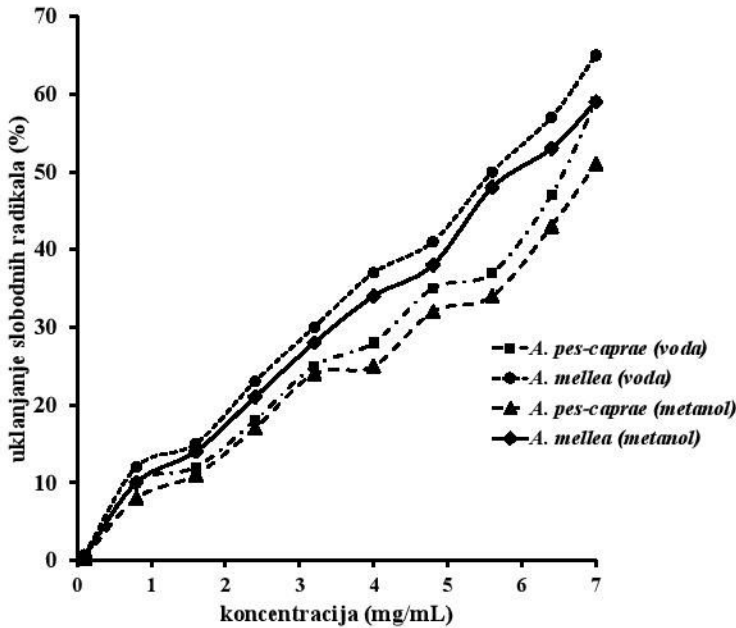
Tablica 4. Ukupna reducirajuća snaga ekstrakata plodišta *A. pes-caprae* i *A. mellea*
Table 4. Total reducing power of extracts from *A. pes-caprae* i *A. mellea* fruit bodies

Vrsta gljiva/ Mushroom species	Ukupna reducirajuća snaga ($\mu\text{g TE/g s. tv.}$) Total reducing power/ ($\mu\text{g TE/g d.w.}$)	
	Vruća voda/Hot water	Metanol/Methanol
<i>A. pes-caprae</i>	7,25 ^b	7,05 ^b
<i>A. mellea</i>	9,01 ^b	8,62 ^b

Prema reducirajućoj snazi, gljive su podijeljene u podgrupe: a-vrlo visoka = 10; b-visoka = 5-10; c-srednja = 2.5-5; d-niska < 2.5 $\mu\text{g TE (Trolox)/g s. tv.}$

Reducing power of mushrooms was grouped as: a-very high = 10; b-high = 5-10; c-medium = 2.5-5; d-low < 2.5 $\mu\text{g TE (Trolox)/g d.w.}$

Jedna od najčešće korištenih metoda određivanja antioksidacijske aktivnosti uzoraka je metoda uklanjanja DPPH slobodnih radikala koja se temelji na redukciji metanolne DPPH otopine u prisutnosti sastojka koji donira vodik (antioksidanta). Rezultirajuće obezbojenje reakcijske smjese zbog apsorpcije vodika iz antioksidanta je stehiometrijska reakcija i rezultat je stupnja redukcije. Preostali DPPH, izmjeren nakon nekog vremena, korespondira obrnuto razmjerno sa sposobnosti uklanjanja radikala prisutnih u antioksidantu (Mau i sur., 2005; Lee i sur., 2007). Uklanjanje slobodnih radikala poznati je mehanizam kojim antioksidanti inhibiraju lipidnu oksidaciju. Metodom uklanjanja DPPH slobodnih radikala može se u kratkom vremenu procijeniti antioksidacijska aktivnost specifičnog sastojka ili ekstrakta (Oyetayo, 2009). Istraživanja su provedena s ekstraktima u koncentracijama od 0,1 do 7 mg/mL. Kao što se moglo i očekivati, najmanje uklanjanje slobodnih DPPH radikala u svim ekstraktima izmjereno je pri koncentraciji od 0,1 mg/mL (od 0,3 % do 0,7 %), a najveće kod najveće koncentracije, 7 mg/mL (od 51 % do 65 %). Pri tome je uočeno linearno povećanje sposobnosti uklanjanja DPPH radikala od najniže do najviše koncentracije (Grafikon 2). Vodeni ekstrakti plodišta *A. pes-caprae* i *A. mellea* pokazali su veću sposobnost uklanjanja slobodnih radikala od metanolnih ekstrakata. Pri koncentraciji od 7 mg/mL, u vodenim ekstraktima je postignuto uklanjanje od 59 % (*A. pes-caprae*) i 65 % (*A. mellea*). U metanolnim ekstraktima je, pri istoj koncentraciji postignuto uklanjanje od 51 % (*A. pes-caprae*) i 59 % (*A. mellea*). Bolja sposobnost uklanjanja DPPH slobodnih radikala određena je u vodenim ekstraktima u kojima je izmjerena visoka koncentracija ukupnih fenola (Tablica 3). Prema literaturnim navodima, a i rezultatima dobivenim ovim istraživanjem, i vodeni i metanolni ekstrakti sadrže biološki aktivne sastojke, koji posjeduju visoki kapacitet za doniranje vodika i uklanjanje slobodnih DPPH radikala, što ukazuje na njihovu antioksidacijsku aktivnost (Cheung i sur., 2003; Tsai i sur., 2009; Oyetayo, 2009).

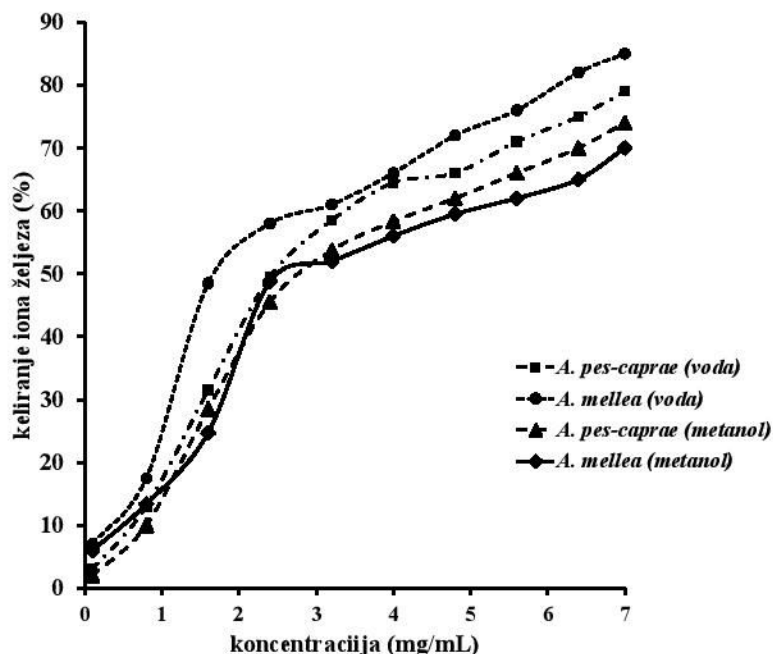


Grafikon 2. Uspješnost uklanjanja DPPH radikala vodenih i metanolnih ekstrakata plodišta *A. pes-caprae* i *A. mellea*

Graph. 2. Scavenging effects of the *A. pes-caprae* and *A. mellea* fruit bodies water and methanolic extracts on DPPH radicals

Raspon i sposobnost keliranja Fe^{2+} iona značajno varira među različitim vrstama gljiva. Željezo stimulira lipidnu peroksidaciju putem Fentonove reakcije i ubrzava peroksidaciju razgradnjom lipidnih hidroperoksida do peroksila i alkoksil radikala, koji mogu izazvati lančanu reakciju lipidne peroksidacije (Wang i Chye, 2009). Provedenim određivanjima sposobnosti keliranja Fe^{2+} iona, uočeno je da je ta sposobnost rasla s porastom koncentracije ekstrakta (Grafikon 3). Kao što se moglo i očekivati, najmanja sposobnost keliranja u svim ekstraktima izmjerena je pri najnižoj koncentraciji (0,1 mg/mL; od 2 % do 7 %), a najveće kod najveće koncentracije, 7 mg/mL (od 70 % do 85 %). Pri tome je uočeno eksponencijalno povećanje sposobnosti keliranja Fe^{2+} iona od 0,1 mg/mL do 2,4 mg/mL, nakon čega je uslijedio linearni porast vrijednosti. Vodeni ekstrakti plodišta *A. pes-caprae* i *A. mellea* pokazali su veću sposobnost uklanjanja slobodnih radikala od metanolnih ekstrakata. Pri koncentraciji od 7 mg/mL, u vodenim ekstraktima je postignuto uklanjanje od 79 % (*A. pes-caprae*) i 85 % (*A. mellea*). U metanolnim ekstraktima je, pri istoj koncentraciji postignuto uklanjanje od 74 % (*A. pes-caprae*) i 70 % (*A. mellea*).

Mora se istaknuti da za antioksidacijsku aktivnost ekstrakata gljiva nisu odgovorni samo fenolni spojevi. Nekoliko vrsta organskih kiselina su također reaktivne u različitim antioksidacijskim metodama, posebice kod metode istraživanja sposobnosti keliranja iona željeza (Valentão i sur., 2005).



Grafikon 3. Keliranje Fe^{2+} iona u vodenim i metanolnim ekstraktima plodišta *A. pes-caprae* i *A. mellea*

Graph. 3. Chelating effects of the *A. pes-caprae* and *A. mellea* fruit bodies water and methanolic extracts

Različiti antioksidacijski sastojci mogu djelovati *in vivo* putem različitih mehanizama, tako da se ne može tvrditi da se samo jednom metodom može u potpunosti evaluirati ukupni antioksidacijski kapacitet istraživanih uzoraka (Tsai i sur., 2007). Zbog tog su razloga u ovom radu korištena tri komplementarna test-sustava za ocjenu antioksidacijske aktivnosti ekstrakata gljiva. U ovom je radu antioksidacijska aktivnost ekstrakata gljiva provedena određivanjem reducirajuće snage i sposobnosti uklanjanja DPPH slobodnih radikala, te keliranja Fe^{2+} iona. Normalizirani rezultati istraživanja antioksidacijskih aktivnosti različitim metodama, izraženi kao EC_{50} su prikazani u Tablici 5. Vidljivo je da su vodeni ekstrakti gljiva *A. pes-caprae* i *A. mellea* pokazali bolju antioksidacijsku aktivnost od metanolnih ekstrakata, jer su, kod svih metoda, postignute niže EC_{50} vrijednosti. Činjenica da su vodeni ekstrakti pokazali bolju antioksidacijsku aktivnost od metanolnih može se objasniti značajno većom koncentracijom fenolnih spojeva, nego što je izmjerena u metanolnim ekstraktima (Tablica 2).

Tablica 5. EC₅₀ vrijednosti antioksidacijske aktivnosti ekstrakata plodišta *A. pes-caprae* i *A. mellea* vrućom vodom i metanolom

Table 5. EC₅₀ values of antioxidant activities for hot water and methanolic extracts of *A. pes-caprae* i *A. mellea* fruit bodies

Vrsta gljiva/ Mushroom	EC ₅₀ vrijednost ^a (mg/mL)/EC ₅₀ value ^a (mg/mL)		
	Reducirajuća snaga/ Reducing power	Uklanjanje DPPH radikala/ DPPH radical scavenging	Sposobnost keliranja iona željeza/Chelating ability of ferrous ions
Vruća voda/Hot water			
<i>A. pes-caprae</i>	2,67	6,81	2,42
<i>A. mellea</i>	1,63	5,6	1,65
Metanol/Methanol			
<i>A. pes-caprae</i>	3,33	6,86	2,98
<i>A. mellea</i>	1,74	6,04	2,46

^aEC₅₀ vrijednost: koncentracija pri kojoj je izmjerena apsorbancija za reducirajuću snagu bila 0,5, a uklanjanje DPPH radikala i sposobnost keliranja iona željeza su iznosile 50% izmjerene vrijednosti. EC₅₀ vrijednosti su dobivene interpolacijom rezultata linearnom regresijom.

^aEC₅₀ value: the effective concentration at which the absorbance was 0.5 for reducing capability, DPPH radicals were scavenged by 50%, ferrous ions were chelated by 50%. EC₅₀ values were obtained by interpolation from linear regression analysis.

Zaključak

Prema dobivenim rezultatima, vodeni i metanolni ekstrakti plodišta gljiva *A. pes-caprae* i *A. mellea* sadrže vrlo korisne fitokemikalije, kao što su fenolni spojevi, askorbinska kiselina i karotenoidi. Kombinacija njihovih bioaktivnih spojeva i poželjnog kemijskog sastava (visokog udjela proteina i ugljikohidrata, te niskog udjela masti), čini ove istraživane vrste gljiva nutritivno vrijednim namirnicama. Također su, prema određivanjima reducirajuće snage, uklanjanja DPPH slobodnih radikala i keliranja iona željeza, ekstrakti pokazali vrlo dobru antioksidacijsku aktivnost. Vodeni su se ekstrakti, prema svim dobivenim rezultatima, pokazali učinkovitiji od metanolnih ekstrakata. Rezultati su pokazali da su ekstrakti istraživanih gljiva potencijalni izvori prirodnih antioksidanta, te da konzumacijom gljiva možemo doprinijeti zaštiti zdravlja organizma protiv oksidacijskih oštećenja. Uz dokazanu antioksidacijsku aktivnost, ekstrakti plodišta gljiva *A. pes-caprae* i *A. mellea* imali su izvrstan kemijski sastav, odnosno visoku nutritivnu vrijednost, te se mogu preporučiti kao sastojci funkcionalne hrane. Ovo istraživanje doprinosi ne samo boljem poznavanju nutritivne vrijednosti gljiva, nego i njihovoj sveobuhvatnoj valorizaciji.

Literatura

- Agrahar-Murugkar, D., Subbulakshmi, G. (2005) Nutritional value of edible wild mushrooms collected from the Khasi hills of Meghalaya. *Food Chemistry* 89, 599–603. DOI: 10.1016/j.foodchem.2004.03.042
- Alvarez, R., Enriquez, A. (1988) Nucleic acid reduction in yeast. *Applied Microbiology and Biotechnology* 29, 208–210.
- AOAC (2012) Official methods of analysis of AOAC International (19. izd.). Gaithersburg, MD, USA: AOAC International
- Barros, L., Baptista, P., Correia, D. M., Casal, S., Oliveira, B., Ferreira, I. C. F. R. (2007a) Fatty acid and sugar composition, and nutritional value of five wild edible mushrooms from Northeast Portugal. *Food Chemistry*, 105, 140–145. DOI: 10.1016/j.foodchem.2007.03.052
- Barros, L., Baptista, P., Estevinho, L. M., Ferreira, I. C. F. R. (2007b) Effect of fruiting body maturity stage on chemical composition and antimicrobial activity of *Lactarius* sp. mushrooms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 8766–8771. DOI: 10.1021/jf071435

- Barros, L., Venturini, B. A., Baptista, P., Estevinho, L. E., Ferreira, I. C. F. R. (2008a) Chemical composition and biological properties of Portuguese wild mushrooms: a comprehensive study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 3856–3862. DOI: 10.1021/jf8003114
- Barros, L., Cruz, T., Baptista, P., Estevinho, L. E., Ferreira, I. C. F. R. (2008b) Wild and commercial mushrooms as source of nutrients and nutraceuticals. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 2742–2747. DOI: 10.1021/jfct.2008.04.030
- Bobek, P., Galbavy, S. (1999) Hypocholesterolemic and antiatherogenic effect of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) in rabbit. *Nahrung*, 43, 339–342.
- Caprioli, G., Lupidi, G., Maggi, F. (2019) Comparison of chemical composition and antioxidant activities of two Winter savory subspecies (*Satureja montana* subsp. *variegata* and *Satureja montana* subsp. *montana*) cultivated in Northern Italy. *Natural Product Research*, 33, 3143–3147. DOI: 10.1080/14786419.2018.1516661
- Chang, S. T., Buswell, J. A. (1996) Mushroom Nutraceuticals. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 12, 473–476.
- Cheung, L. M., Cheung, P. C. K., Ooi V. E. C. (2003) Antioxidant activity and total phenolic of edible mushroom extracts. *Food Chemistry*, 81, 249–255. DOI: 10.1016/S0308-8146(2)00419-3
- Colak, A., Faiz, Ö., Sesli, E. (2009) Nutritional composition of some wild edible mushrooms. *Turkish Journal of Biochemistry*, 34, 25–31.
- Dikeman, C. L., Bauer, L. L., Flickinger, E. A., Fahey, G. C. Jr. (2005) Effects of stage of maturity and cooking on the chemical composition of selected mushroom varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53, 1130–1138. DOI: 10.1021/jf.0485411
- Ferreira, I.C.F.R., Vaz, J.A., Vasconcelos, M. H. Martins, A. (2010) Compounds from wild mushrooms with antitumor potential. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 10, 424–436. DOI: 10.1080/13652020.2010.500003
- Gulçin, Y., Buyukokuroglu, M. E., Oktay, M., Kufrevioglu, O. Y. (2003) Antioxidant and analgesic activities of terpentine of *Pinus nigra*. *Journal of Ethnopharmacology*, 86, 51–58. DOI: 10.1016/S0378-8741(03)00036-9
- Huang, L.-C. (2006) Antioxidant properties of methanolic extracts from *Agrocybe cylindracea*. *LWT*, 39, 378–386. DOI: 10.1016/j.lwt.2005.02.012
- Jayakumar, T., Thomas, P. A., Sheu, J. R., Geraldine, P. (2011) *In-vitro* and *in-vivo* antioxidant effects of the oyster mushroom *Pleurotus ostreatus*. *Food Research International*, 44, 851–861. DOI: 10.1016/j.foodres.2011.03.015
- Kalač, P. (2009) Chemical composition and nutritive value of European species of wild growing mushrooms: A review. *Food Chemistry*, 113, 9–16. DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.07.077
- Kaur, C., Kapoor, H. C. (2001) Antioxidant in fruit and vegetables—the milleniums health. *International Journal of Food Science and Technology*, 36, 703–725. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2001.00513.x
- Lee, Y.-L., Jian, S.-Y., Lian, P.-Y., Mau, J.-L. (2008) Antioxidant properties of extract from a white mutant of the mushroom *Hypsizygis marmoratus*. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21, 116–124. DOI: 10.1016/j.jfca.2007.09.005
- Léon-Guzmán, M. F., Silva, I., López, M. G. (1997) Proximate chemical composition, free amino acid contents, and free fatty acids contents of some wild edible mushrooms from Queretaro, México. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 533–539.
- Mattila, P. K., Konko, M., Euroala, J., Pihlava, J., Astola, L., Vahteristo, V., Hietaniemi, J., Kumpulainen, N., Valtonen, V., Piironen, V. (2001) Contents of vitamins, mineral elements and some phenolic compounds in the cultivated mushrooms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 2343–2348. DOI: 10.1021/jf001525d
- Mau, J.-L., Lin, H.-C., Chen, C.-C. (2002a) Antioxidant properties of several medicinal mushrooms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 6072–6077. DOI: 10.1021/jf0201273
- Mau, J.-L., Lin, H.-C., Song, S.-F. (2002b) Antioxidant properties of several specialty mushrooms. *Food Research International*, 35, 519–526. DOI: 10.1016/S0963-9969(1)00150-8
- Mau, J.-L., Tsai, S.-Y., Tseng, Y.-H., Huang, S.-J. (2005) Antioxidant properties of hot water extracts from *Ganoderma tsugae* Murrill. *LWT*, 38, 589–597. DOI: 10.1016/j.lwt.2005.02.012
- Ouzouni, P. K., Petridis, D., Koller, W.-D., Riganakos, K. A. (2009) Nutritional value and metal content of wild edible mushrooms collected from West Macedonia and Epirus, Greece. *Food Chemistry*, 115, 1575–1580. DOI: 10.1016/j.foodchem.2009.02.014
- Oyetayo, V. O. (2009) Free radical scavenging and antimicrobial properties of extracts of wild mushrooms. *Brazilian Journal of Microbiology*, 40, 380–386. DOI: 10.1590/S1517-838220090002000031
- Pereira E., Barros L., Martins A., Ferreira I.C.F.R. (2012) Towards chemical and nutrition of Portuguese wild edible mushrooms in different habitats. *Food Chemistry*, 130 (2), 394–403. DOI: 10.1016/j.foodchem.2011.07.057:
- Puttaraju, N. G., Venkateshaiah, S. U., Dharmcoth, S. M., Urs, S. M., Somasundaram, R. (2006) Antioxidant activity of indigenous edible mushrooms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 9764–9772. DOI: 10.1021/jf0615707
- Sarikurkcü, C., Tepe, B., Yamac, M. (2008) Evaluation of the antioxidant activity of four edible mushrooms from the Central Anatolia, Eskisehir – Turkey: *Lactarius deterrimus*, *Suillus collinitus*, *Boletus edulis*, *Xerocomus Chrysenteron*. *Bioresource Technology*, 99, 6651–6655. DOI: 10.1016/j.biortech.2007.11.062
- Soares, A. A., Souza, C. G. M., Daniel, F. M., Ferrari, G. P., Costa, S. M. G., Peralta, R. M. (2009) Antioxidant activity and phenolic content of *Agaricus brasiliensis* (*Agaricus blazei* Murrill) in two stages of maturity. *Food Chemistry*, 112, 775–781. DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.05.117
- Valentão, P., Lopes, G., Valente, M., Barbosa, P., Andrade, P., Silva, B., Baptista, P., Seabra, R. (2005) Quantitation of Nine Organic Acids in Wild Mushrooms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 3626–3630. DOI: 10.1021/jf040465z
- Vaz, J. A., Barros, L., Martins, A., Santos-Buelga, C., Vasconcelos, M. H., Ferreira, J. C. F. R. (2011) Chemical composition of wild edible mushrooms and antioxidant properties of water soluble polysaccharidic and ethanolic fractions. *Food Chemistry*, 126, 610–616. DOI: 10.1016/j.foodchem.2010.11.063
- Tsai, S.-Y., Tsai, H.-L., Mau, J.-L. (2007) Antioxidant properties of *Agaricus blazei*, *Agrocybe cylindracea*, and *Boletus edulis*. *LWT – Food Science and Technology*, 40, 1392–1402. DOI: 10.1016/j.lwt.2006.10.001
- Tsai, S.-Y., Huang, S.-J., Lo, S.-J., Wu, T.-P., Lian, P.-Y., Mau, J.-L. (2009) Flavour components and antioxidant properties of several cultivated mushrooms. *Food Chemistry*, 113, 578–584. DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.08.034

Turkoglu, A., Duru, M.E., Mercan, N., Kivrak, I., Gezer, K. (2007) Antioxidant and antimicrobial activities of *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill. *Food Chemistry*, 101, 267–273. DOI: 10.1016/j.foodchem.2006.01.025

Wong, J.Y., Chye, F.Y. (2009) Abtioxidant properties of selected tropical wild edible mushrooms. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22(4), 269–277. DOI: 10.1016/j.jfca.2008.11.021

Prispjelo/Received: 11.9.2020.

Prihvaćeno/Accepted: 29.10.2020.

Original scientific paper

Nutritive value and antioxidant activity of wild edible mushrooms *Albarellus per-caprae* and *Armillaria mellea*

Abstract

This study is designed for the determination of proximate chemical composition, contents of bioactive compounds, and antioxidant activity of wild edible mushrooms *Albarellus per-caprae* and *Armillaria mellea*. The obtained results of chemical composition revealed that the mushrooms were rich source of proteins and carbohydrates, low in fat content, and provides a good source of energy. Concentrations of five bioactive compounds (ascorbic acid, β -carotene, lykopen, total phenols, and flavonoids) are determined in hot water and methanolic extracts of mushrooms fruit bodies. Three complementary chemical assays: reducing power, free radical scavenging (DPPH), and chelating ability for ferrous ions were used to screen the antioxidant properties of extracts. The highest antioxidant capacity values were found for hot water extracts of *A. mellea* (9.01 μ M TE/g d.w. in reducing power, 65% in scavenging ability, and 85% in chelating ability). EC50 values for three different antioxidant assays were between 1.63 mg/mL to 6.86 mg/mL. Due to these characteristics, wild edible mushrooms *A. per-caprae* and *A. mellea* could be used in well-balanced diets and as a source of bioactive compounds.

Keywords: *Albarellus per-caprae*, *Armillaria mellea*, Nutritive value, Bioactive compounds, Antioxidant activity

