

ОЦІНКА АНТИОКСИДАНТНОЇ АКТИВНОСТІ ДЕЯКИХ ДИКОРΟΣЛИХ МАКРОМІЦЕТІВ

Сирчин С.О., Гродзинська Г.А. Оцінка антиоксидантної активності деяких дикорослих макроміцетів. — Укр. ботан. журн. — 2015. — 72(3): 257–260.

Вивчені антиоксидантні властивості шести видів їстівних і лікарських дикорослих макроміцетів. Показано, що найвищий рівень антиоксидантної активності етанольних екстрактів сухої біомаси макроміцетів, визначеної за дифініл-пікрилгідрозилом (ДФПГ), спостерігався у *Boletus edulis* Bull. За рівнем антиоксидантної активності досліджені види грибів можна представити у вигляді такої послідовності: *Boletus edulis* → *Suillus luteus* → *B.badius* → *Armillariella mellea* → *Laetiporus sulphureus* → *Piptoporus betulinus*.

К л ю ч о в і с л о в а: лікарські гриби, антиоксидантна активність, дикорослі макроміцети

Вступ

Останніми роками зростає роль науки про лікарські гриби, основні концепції якої полягають у дослідженні та використанні широкого спектра різноманітних терапевтичних властивостей цінних їстівних і лікарських видів макроміцетів. Відомі антипухлинні, протидіабетичні, гепатопротекторні, антибактеріальні, антивірусні, імуномодулювальні, холестеринзнижувальні, протизапальні та багато інших, — усього близько 130 терапевтичних впливів метаболітів вищих грибів (Asatiani et al., 2010; Wasser, 2012). Серед цих ефектів особливо вирізняється антиоксидантна активність (АОА) низки сполук, які виробляються макроміцетами (Syrchin, 2012). Слід зазначити, що рівень антиоксидантної активності визначається комплексом специфічних метаболітів, насамперед органічних речовин фенольної природи, полікетидів, терпєнів, стероїдів, провітамінів і ферментів (Mau, 2002; Kalač, 2013).

Серед антиоксидантів саме поліфеноли набули особливої значущості у зв'язку з широким спектром їхньої біологічної дії. Це вловлювання (scavenging) вільних радикалів, модуляція активності ферментів шляхом хелатування металів та інгібування окиснення ліпідів (Selvi, Chinnaswamy, 2007). Скавенджінг, або здатність до поглинання вільних радикалів, є одним із механізмів інгібуван-

ня окиснення ліпідів і зазвичай використовується для оцінки антиоксидантної активності. Поліфеноли належать до складної групи сполук, що містять у своїй структурі ароматичне кільце з однією гідроксильною групою або більшою їх кількістю. З-поміж поліфенолів є як прості феноли (фенольні кислоти та їхні похідні), так і складні структури — флавоноїди або антоціани (Radzki et al., 2014). Попри велику кількість даних щодо антиоксидантної активності екстрактів грибної біомаси *in vitro*, практично відсутні відомості стосовно цієї активності безпосередньо в організмі людини. Сучасні дослідження показали, що фенольні сполуки грибного походження мають високий рівень біодоступності і здатні швидко метаболізуватися в організмі. Вживання грибів з великою концентрацією антиоксидантів фенольної природи зумовлює появу в плазмі крові біоактивних метаболітів, що, в свою чергу, підвищує її антиоксидантну активність (Heleno, 2015).

Останніми роками фахівці-мікологи велику увагу приділяють грибним полісахаридам, які також відзначаються виразною антиоксидантною дією. З'ясовано, що неочищена (stude) фракція полісахаридів має вищий рівень АОА, ніж очищена (Klaus et al., 2013).

Метою нашої роботи було вивчення антиоксидантної активності етанольних екстрактів низки їстівних і лікарських дикорослих видів грибів.

Таблиця 1. Місця і дати збору зразків дикорослих макроміцетів

Вид гриба	Місце збору, рік	Кількість плодових тіл у пробі
<i>Boletus edulis</i>	Житомирська обл., смт Народичі, лісництво «Древлянське», 2013 р.	4
<i>B. badius</i>	Житомирська обл., смт Народичі, лісництво «Древлянське», 2013 р.	5
<i>Suillus luteus</i>	Київська обл., Іванківський р-н, околиці м. Іванків, 2014 р.	5
<i>Armillariella mellea</i>	Київська обл., Іванківський р-н, околиці м. Іванків, 2014 р.	14
<i>Laetiporus sulphureus</i>	м. Київ, ППСМ «Феофанія», 2014 р.	2
<i>Piptoporus betulinus</i>	Київська обл., Іванківський р-н, околиці м. Іванків, 2014 р.	3

Матеріали та методи досліджень

В експериментах ми використовували етанольні екстракти сухої біомаси 6 видів цінних їстівних і лікарських дикорослих макроміцетів — *Boletus edulis* Bull., *B. badius* (Fr.) Kühn., *Suillus luteus* (L.) Roussel., *Armillariella mellea* (Vahl.) P. Karst., *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill і *Piptoporus betulinus* (Bull.) P. Karst., зібраних у Київській і Житомирській областях упродовж 2013—2014 рр. (табл. 1).

Етанольні екстракти отримували з попередньо висушених і подрібнених середніх проб плодових тіл за методикою С. Хатуа зі співавторами (Khatua et al., 2013). Для визначення АОА за ступенем поглинання вільних радикалів використовували методу ДФПГ (2,2-дифеніл-1-пікрилгідрозил)-аналізу з певними нашими модифікаціями (Shimada et al., 1992). Поглинання ДФПГ вимірювали в триразовій повторюваності на спектрофотометрі СФ-1 за 517 нм. Реакційна суміш містила 4 мл екстракту міцелію з концентрацією 10 мг/мл, 1 мл етанольного розчину з 1 мМ ДФПГ-радикала з кінцевою концентрацією 0,2 мМ. Суміш інтенсивно збовтували й інкубували впродовж 30 хв у темряві за +20 °С. АОА встановлювали за ступенем інгібування ДФПГ-радикала (у відсотках), за зміною оптичної щільності досліджуваних зразків. Як контроль застосовували 5% аскорбінову кислоту. Антиоксидантну активність екстрактів визначали за формулою:

$$\text{АОА, \%} = [(\Delta A_{517} \text{ контролю} - \Delta A_{517} \text{ зразка}) / \Delta A_{517} \text{ зразка}] \times 100,$$

де ΔA_{517} — поглинання за довжини хвилі 517 нм.

Крім того, встановлювали величину EC_{50} (у мг сухої біомаси на 1 мл розчинника), яка відповідає загальній кількості антиоксиданту, що необхідна для зниження загальної кількості ДФПГ-вільних радикалів на 50%. Величину EC_{50} знаходили за допомогою лінійної інтерполяції за графіком співвідношення АОА до концентрації етанольних екстрактів (у діапазоні значень 10, 15, 20 мг/мл). Ре-

зультати отримували вимірюванням трьох значень зі стандартним відхиленням. Статистичний аналіз даних проводили за комп'ютерною програмою MiniTab 16.

Результати досліджень та їх обговорення

Використання різноманітних методів виділення (екстракції) зумовлює переважаючий вихід метаболітів різної хімічної природи. Відомо, що екстракція розчинниками, такими як метиловий та етиловий спирти, етилацетат, є одним з найпоширеніших методів виділення антиоксидантних речовин із грибного міцелію.

Ми використовували етиловий спирт, з огляду на те, що В. Віейра зі співавторами (Vieira et al., 2012) повідомляють про достатньо високу екстракційну здатність цього розчинника. Зокрема, в публікації Д.С. Стойковича зі співавторами (Stojković et al., 2014) показано, що етанольні екстракти таких видів, як *Agaricus bisporus* і *A. brasiliensis*, мали вищі показники АОА за визначенням ДФПГ-радикала, ніж метанольні. За літературними даними, лікарські види *L. sulphureus* і *Hypsizygos marmoreus* (Peck) H.E. Bigelow демонстрували вищу АОА за умов етанольного екстрагування, ніж з використанням інших розчинників (Lee et al., 2007; Lung, Huang, 2013).

На сучасному етапі поширеним експрес-методом є оцінювання АОА як конкретних сполук, так і комплексних, не ідентифікованих за складом екстрактів і за скавенджінгом (уловлюванням) вільних радикалів. Антиоксидантна активність безпосередньо пов'язана зі здатністю донувати (віддавати) атом водню, отож екстракти містять редуценти, що реагують із вільними радикалами, стабілізують їх і зупиняють негативні для організму окиснювальні реакції. Скавенджінгову активність визначають за ДФПГ, стабільним вільним радикалом з характерним піком поглинання. Оскільки антиоксиданти слугують донорами протонів для вільних радикалів, поглинання ДФПГ під

Таблиця 2. Антиоксидантна активність дикорослих їстівних і лікарських макроміцетів

Вид гриба	Антиоксидантна активність, %	EC ₅₀
<i>Boletus edulis</i>	30,61±0,62	20,26±1,13
<i>Suillus luteus</i>	27,89±0,57	23,21±0,56
<i>Boletus badius</i>	21,92±0,55	24,71±0,74
<i>Armillariella mellea</i>	14,96±0,42	34,99±0,53
<i>Laetiporus sulphureus</i>	12,08±0,60	42,20±0,80
<i>Piptoporus betulinus</i>	11,19±0,73	48,04±0,75

дією антиоксидантів має знижуватися. При цьому ступінь зменшення абсорбції є мірою акцептування (вловлювання) радикалів, що відображає рівень АОА.

Отримані дані свідчать про те, що досліджені види мають достатньо високий рівень АОА стосовно ДФПГ-радикала (табл. 2).

Окрім величини активності щодо ДФПГ-радикала, АОА представляли у вигляді значень EC₅₀. Нижчі значення EC₅₀ свідчать про вищу здатність екстрактів уловлювати ДФПГ-радикали. Таким чином, етанольні екстракти болетальних видів (*B. edulis*, *S. luteus* і *B. badius*), відомих цінних їстівних грибів, мали максимальні (серед досліджених зразків) рівні АОА. Це підтверджує їхню додаткову цінність як корисного додатку до раціону здорового харчування. Отримані дані добре узгоджуються з відомостями, наведеними у публікації А. Келеша зі співавторами (Keleş et al., 2011). Згідно з ними болетальні види *B. edulis*, *B. erythropus* var. *erythropus* Pers. і *S. luteus* (окрім *Leccinum scabrum*) виявляли найвищу скавенджингову активність серед 24 досліджених дикорослих їстівних грибів. Лігнотрофи *A. mellea*, *L. sulphureus* і *P. betulinus* мали дещо нижчу антиоксидантну активність (табл. 2).

М.І. Ланг зі співавторами повідомляють, що АОА *L. sulphureus* переважно обумовлена саме концентраціями в міцелії фенольних сполук і флавоноїдів (Lung et al., 2013). Водночас фенольні речовини є вторинними метаболітами, їхня кількість чималою мірою визначається умовами зростання. Автори повідомляють про суттєві варіації в якісному та кількісному складі речовин-антиоксидантів фенольної природи залежно від місць їхнього збору, умов зростання та віку плодових тіл (Ferreira et al., 2009; Khatua et al., 2013). Аналіз літературних та отриманих нами даних свідчить, що дикорослі макроміцети демонструють вищий рівень АОА, ніж культивовані (Yamanaka et al., 2014). Вочевидь, можна припустити, що дикорослі макроміцети мають доступніший спектр речовин фенольної при-

роди в ґрунтах і деревних субстратах, аніж культивовані, які в процесі вирощування лімітовані певним складом попередньо підготовлених живильних середовищ.

За літературними даними відомо, що деякі найпоширеніші штучні антиоксиданти, які застосовуються в харчовій промисловості, можуть спричинити канцерогенний вплив (Liu et al., 2013). Тому їстівні гриби є надзвичайно важливим продуцентом природних антиоксидантних речовин, отже, важливим потенційним об'єктом для біотехнологічних розробок.

Висновки

1. За рівнем антиоксидантної активності досліджені види дикорослих лікарських грибів можна представити у вигляді такої послідовності: *Boletus edulis* → *Suillus luteus* → *B. badius* → *Armillariella mellea* → *Laetiporus sulphureus* → *Piptoporus betulinus*.
2. Етанольні екстракти болетальних видів (*B. edulis*, *S. luteus* і *B. badius*), відомих цінних їстівних і лікарських грибів, мали максимальні (серед досліджених зразків) рівні АОА, що свідчить про їхню цінність як джерела природних антиоксидантів у раціоні здорового харчування.
3. Лікарські та їстівні макроміцети, як джерело нового покоління природних антиоксидантів, є перспективним об'єктом біотехнологічних розробок.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Asatiani M.D., Elisashvili V., Songulashvili G., Reznick A.Z., Wasser S.P. Higher basidiomycetes mushrooms as a source of antioxidants // Progress in Mycology / Eds M. Rai, G. Kövics. — Springer, 2010. — P. 311–326.
- Ferreira I.C.F.R., Barros L., Abreu R.M.V. Antioxidant in wild mushrooms // Current Medical Chemistry. — 2009. — 16(12). — P. 1543–1560.
- Kalač P. A review of chemical composition and nutritional value of wild-growing and cultivated mushroom // J. Sci Food Agric. — 2013. — 93. — P. 209–218.
- Keleş A., Koca I., Gençcelep H. Antioxidant Properties of Wild Edible Mushrooms // J. Food Process Technol. — 2011. — 2(6). — 6 p. doi: 10.4172/2157-7110.1000130
- Khatua S., Paul S., Acharya K. Mushroom as the potential source of new generation of antioxidant: A review // Research J. Pharmacy and Technology. — 2013. — 6(5). — P. 496–505.
- Klaus A., Kozarski M., Niksic M., Jakovljevic D., Todorovic N., Stefanoska I., Van Griensven L.J. The edible mushroom *Laetiporus sulphureus* as potential

- source of natural antioxidants // *Int. J. Food Sci. Nutr.*— 2013.— **64**(5). — P. 599—610.
- Liu J., Jia L., Kan J., Jin C-H. *In vitro* and *in vivo* antioxidant activity of ethanolic extract of white button mushroom (*Agaricus bisporus*) // *Food Chem. Toxicol.* — 2013. — **51**. — P. 310—316.
- Lung M.Y., Huang W.Z. Antioxidant potential and antioxidant compounds of extracts from the medicinal sulphur polypore, *Laetiporus sulphureus* (Higher Basidiomycetes) in submerged cultures // *Int. J. Med. Mushrooms.* — 2013. — **15**(6). — P. 569—582.
- Mau J.L., Lin H.C., Chen C.C. Antioxidant properties of several medicinal mushrooms // *J. Agr. Food Chem.* — 2002. — **50**(21). — P. 6072—6077.
- Radzki W., Sławińska A., Jabłońska-Ryś E., Gustaw W. Antioxidant capacity and polyphenolic content of dried wild edible mushrooms from Poland // *Int. J. Med. Mushrooms.* — 2014.— **16**(1). — P. 65—75.
- Shimada K., Fujikawa K., Yahara K., Nakamura T. Antioxidative properties of xanthone on the autooxidation of soybean in cyclodextrin emulsion // *J. Agr. Food Chem.*— 1992.— **40**. — P. 945—948.
- Selvi S., Chinnaswamy P. *In vitro* Antioxidant and Antilipidperoxidative potential of *Pleurotus florida* // *Anc. Sci. Life.*— 2007. — **26**(4). — P. 11—17.
- Stojković D., Reis F.S., Glamočlija J., Ćirić A., Barros L., Van Griensven L.J., Ferreira I.C., Soković M. Cultivated strains of *Agaricus bisporus* and *A. brasiliensis*: chemical characterization and evaluation of antioxidant and antimicrobial properties for the final healthy product—natural preservatives in yoghurt // *Food & Function.*— 2014. — **5**(7).— P. 1602—1612.
- Syrchin S.A., 2012. — Makromitsety: lekarstvennye svoystva i biologicheskie osobennosti. — Kiev. — P. 140—149 [Сырчин С.А. Антиоксидантная активность макромицетов // Макромицеты: лекарственные свойства и биологические особенности. — Киев, 2012. — С. 140—149].
- Vieira V., Marques A., Barros L., Barreira J.C.M., Ferreira I.C.F.R. Insights in the antioxidant synergistic effects of combined edible mushrooms: phenolic and polysaccharidic extracts of *Boletus edulis* and *Marasmius oreades* // *J. Food and Nutr. Res.* — 2012. — **51**(2). — P. 109—116.
- Wasser S.P., 2012. — Kiev. — Makromitsety: lekarstvennye svoystva i biologicheskie osobennosti. — P. 5—45 [Васер С.П. Лекарственные шляпочные грибы: история, современное состояние, тенденции и нерешенные проблемы в их изучении // Макромицеты: лекарственные свойства и биологические особенности. — Киев, 2012. — С. 5—45].
- Сырчин С.А.¹, Гродзинская А.А.²
Оценка антиоксидантной активности некоторых дикорастущих макромицетов. — *Укр. ботан. журн.* — 2015. — **72**(3): 257—260.
- ¹ Інститут мікробіології та вірусології імені Д.К. Заболотного НАН України, г. Київ
² Інститут ботаніки імені Н.Г. Холодного НАН України, г. Київ
- Изучены антиоксидантные свойства шести видов съедобных и лекарственных дикорастущих макромицетов. Показано, что наивысший уровень антиоксидантной активности этанольных экстрактов сухой биомассы макромицетов, определенной по дифинил-пикригидразилу (ДФПГ), наблюдался у *Boletus edulis* Bull. По уровню антиоксидантной активности исследованные виды грибов можно представить в виде последовательности: *Boletus edulis* → *Suillus luteus* → *B.badius* → *Armillariella mellea* → *Laetiporus sulphureus* → *Piptoporus betulinus*.
- Ключевые слова:* лекарственные грибы, антиоксидантная активность, дикорастущие макромицеты.
- Syrchin S.A.¹, Grodzinskaya A.A.²
Evaluation of antioxidant activity of some wild macromycetes. — *Ukr. bot. J.* — 2015. — **72**(3): 257—260.
- ¹ D.K. Zabolotny Institute of Microbiology and Virology of National Academy of Science of Ukraine, Kyiv
² M.G. Kholodny Institute of Botany of National Academy of Science of Ukraine, Kyiv
- Antioxidant properties of 6 species of edible and medicinal wild macromycetes were studied. The highest antioxidant activity of ethanol extracts of dry macromycetes biomass determined with 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical found in King bolete (*Boletus edulis* Bull.). In terms of antioxidant activity, studied mushroom species can be represented as a sequence: *Boletus edulis* → *Suillus luteus* → *B.badius* → *Armillariella mellea* → *Laetiporus sulphureus* → *Piptoporus betulinus*.
- Key words:* medicinal mushrooms, antioxidant activity, wild macromycetes.

Рекомендує до друку
 І.О. Дудка

Надійшла 05.05.2015 р.