

بررسی پروفایل اسیدهای آمینه و اسیدهای چرب موجود در قارچ خوراکی *Pleurotus ostreatus* در واکنش به عناصر روی و آهن

کامران صفوی^{۱*}، غلامرضا کاوسی^۲، علی نیازی^۳، مرتضی صفوی^۴

۱- دانشجوی دکتری بیوتکنولوژی کشاورزی، پژوهشکده بیوتکنولوژی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.

۲- دانشیار گروه بیوتکنولوژی، پژوهشکده بیوتکنولوژی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.

۳- استاد گروه بیوتکنولوژی، پژوهشکده بیوتکنولوژی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.

۴- دانشیار گروه تغذیه بالینی، دانشکده تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

(تاریخ دریافت: ۹۷/۰۳/۲۸ تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۲/۱۱)

چکیده

هدف از این تحقیق تعیین پروفایل اسیدهای چرب و اسیدهای آمینه موجود در قارچ *Pleurotus ostreatus* در مواجهه با عناصر روی و آهن می باشد. اثر سولفات روی، سولفات آهن، اکسید روی و اکسید آهن با غلظت ۸۰ میکرو مولار بر روی ترکیب اسید چرب و آمینواسید موجود در قارچ *P. ostreatus* مورد بررسی قرار گرفت. اسید آمینه کل با استفاده از آب: متانول: محلول اسید فرمیک استخراج شد و به وسیله کروماتوگرافی مایع- طیف سنجی جرمی متوالی (LC-MS/MS) مورد آنالیز قرار گرفت. اسید چرب با استفاده از استخراج لیپید و فرایند متیلاسیون با استفاده از متانول اسیدی: سالین نرمال: هگزان و کروماتوگرافی گازی- طیف سنجی جرمی (GC-MS) آنالیز شد. اسیدهای آمینه اصلی موجود در قارچ *P. ostreatus* عبارتند از آرژنین، گلوتامین، گلوتامیک، آلانین، سرین، آسپارتیک اسید، لیزین، ترئونین، هیستیدین، والین و پرولین. اکسید آهن باعث افزایش معنی دار میزان اسیدهای آمینه کل، ضروری و غیر ضروری شد. غالب ترین اسیدهای چرب موجود در قارچ *P. ostreatus* عبارتند از اسید لینولئیک، اسید پالمیتیک، اسید اولئیک، اسید استئاریک، اسید پتادکانوئیک و اسید هپتادکانوئیک. اکسید روی باعث افزایش معنی دار اسیدهای چرب تکی، امگا ۷ و امگا ۹ و کاهش معنی دار اسید چرب غیر اشباع پلی و امگا ۶ گردید. در مجموع بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش، آهن برای القای اسید آمینه پیشنهاد می شود در حالیکه روی برای تولید اسید چرب توصیه می گردد.

کلید واژگان: *Pleurotus ostreatus*، اسید آمینه ضروری، اسید چرب ضروری

* مسئول مکاتبات: ksafavi@khuif.ac.ir

۱- مقدمه

در سال‌های اخیر قارچ‌ها به دلیل بافت، مزه و کاربردهای تغذیه ای و پزشکی مورد توجه قرار گرفته‌اند. قارچ‌ها به عنوان غذای درمانی موثر در پیشگیری از بیماری‌هایی مانند فشار خون بالا، کلسترول بالا، تصلب شرایین، دیابت و سرطان شناخته شده‌اند. آن‌ها اثرات قوی کاهش کلسترول، کاهش گلوکز، ضد تومور، ضد ویروس، ضد لخته شدن خون و ایمن سازی از خود نشان داده‌اند. این ویژگی‌های زیستی و عملکردی عمدتاً ناشی از ترکیب شیمیایی قارچ‌ها می‌باشد. قارچ به عنوان یک منبع مفید کربوهیدرات، فیبر، پروتئین‌ها، اسید آمینه‌های ضروری و غیر ضروری، چربی، اسید چرب غیراشباع، اسید چرب ضروری، ویتامین‌ها، پیش ماده ویتامین ها و مواد معدنی و طیف وسیعی از متابولیت‌های ثانویه مانند اسید آلی، آلکالوئیدها، تریپنئیدها، استروئیدها و ترکیبات فنولی شناخته شده است [۱-۳].

اسیدهای آمینه نه تنها بلوک سازنده پروتئین هستند بلکه برای بیوسنتز سایر مولکول‌ها مانند هورمون‌ها، ویتامین‌ها، مولکول‌های سیگنال دهنده و تنظیم کننده رشد، مورد نیاز هستند. آن‌ها به هورمون‌ها و مولکول‌های سیگنال دهنده ای تبدیل می‌شوند که عملکرد ارگان‌های بسیاری را با قوی یا ضعیف کردن اثر تنظیمی هورمونی یا سیستم عصبی تحت تاثیر قرار می‌دهند. اسید آمینه ضروری نمی‌تواند به وسیله بدن انسان سنتز شود. اگر یکی از این اسید آمینه‌های ضروری از رژیم غذایی حذف شود، بدن نمی‌تواند پروتئین جدیدی برای جایگزینی پروتئینی که از دست رفته تولید کند، زیرا پروتئین نرمال به بیش از چندین عامل پاتولوژیک تبدیل می‌شود [۴ و ۵].

اسیدهای چرب به ویژه اسیدهای چرب غیراشباع و اسیدهای چرب ضروری به عنوان شاخص‌های اهداف دارویی، پزشکی و غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد. لینولنیک و لینولئیک اسید، اسیدهای چرب ضروری برای پستاندارانی هستند که نیاز به سنتز سایر اسیدهای چرب با چند پیوند غیر اشباع طی فرایندهای زیستی خود دارند. آن‌ها بلوک‌های سازنده غشاهای سلولی هستند، سد دفاعی را پشتیبانی می‌کنند و در متابولیسم کلسترول نیز مشارکت می‌کنند. علاوه بر این، نشان شده است که اسیدهای چرب ضروری قادر به کاهش نرخ تولید توده های سرطانی، پیشگیری از سرطان سینه، تنظیم فشار خون،

کاهش سطح کلسترول، بهبود دیابت و بهبود مقاومت ایمنی بدن علیه آنتی ژن می‌شود [۶ و ۷].

Pleurotus ostreatus یک منبع ارزشمند از کربوهیدرات، پروتئین گیاهی، اسید آمینه، فیبر، ویتامین‌ها و پیش ویتامین‌ها، مواد معدنی، اسید آلی، ترکیبات فنولی، فلاونوئید، سطوح کم چربی و اسیدهای چرب ضروری با کالری‌های پایین می‌باشد، بنابراین قارچی مناسب برای مصارف غذایی و دارویی محسوب می‌شود [۸ و ۹].

بر خلاف گیاهان، قارچ‌ها نیاز به زمین کشاورزی ندارند و پروفایل متابولیتی آن‌ها می‌تواند دستکاری شود و با تغییر شرایط رشد آن‌ها، به سادگی تغییر کند. در این مطالعه، هدف ما ارزیابی اثر سولفات روی، سولفات آهن، اکسید روی و اکسید آهن بر روی پروفیل اسید آمینه و اسیدهای چرب در *P. ostreatus* می‌باشد.

۲- مواد و روشها

۲-۱- مواد

گلوکز (CID: 79025)، سولفات روی (CID: 24424)، سولفات آهن (CID: 24393)، اکسید روی (CID: 14806)، اکسید آهن (CID: 14833)، مونو پتاسیم فسفات (CID: 516951)، سولفات منیزیم (CID: 24083)، کلرید سدیم یا نمک طعام (CID: 5234)، دی متوکسی پروپان (CID: 6495)، متانول (CID: 887)، اسید سولفوریک (CID: 1118)، هگزان (CID: 8900) و اسید فرمیک

۲-۲- سویه قارچ و آماده سازی کشت بذر

قارچ خوراکی - درمانی *P. ostreatus* از مرکز تحقیقات قارچ آراین (تهران، ایران) تهیه شد. بذرها در ۲۰۰ میلی لیتر محیط کشت پایه (گلوکز ۵۰ گرم بر لیتر، عصاره مخمر ۱۰ گرم بر لیتر، کازئین هیدرولیز شده ۱۰ گرم بر لیتر، مونوپتاسیم فسفات یک گرم بر لیتر و $pH=6$) در ارلن مایر ۵۰۰ میلی لیتر در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد بر روی یک شیکر چرخشی با ۱۱۰ دور بر دقیقه به مدت ۷ روز رشد کردند. کشت بذر به دست آمده برای تلقیح مورد استفاده قرار گرفت [۱۰].

۲-۳- آماده سازی محیط کشت پایه مایع حاوی سولفات روی، سولفات آهن، اکسید روی و اکسید آهن

ترکیب محیط کشت پایه مایع برای کشت میسلیم، ملاس چغندر ۵۰ گرم بر لیتر (کارخانه قند، اصفهان، ایران)، آرد سویا پنج گرم بر لیتر (شرکت IPP، اصفهان، ایران)، منوفسفات پتاسیم یک گرم بر لیتر، سولفات منیزیم یک گرم بر لیتر (مرک آلمان) و آب مقطر یک لیتر با pH اولیه شش بود. محیط کشت مایع با ۸۰ میکرو مولار سولفات روی، سولفات آهن، اکسید روی و اکسید آهن غنی شد. همه محیط کشت مایع به وسیله اتوکلاو در ۱۲۱ درجه سانتیگراد به مدت ۲۰ دقیقه استریلیزه شد. بعد از سرد شدن، کشت در ظروف پلی پروپیلن حاوی ۹۵ میلی لیتر محیط کشت مایع انجام شد و با پنج میلی لیتر کشت بذر تلقیح شد [۱۱].

۲-۴- آنالیز بیوشیمیایی

میسلیم قارچ برداشت شد و با آب مقطر شسته شد و در دمای اتاق به مدت سه روز خشک گردید. میسلیم خشک شده (یک گرم) با استفاده از آسیاب به پودر نرم تبدیل شد و سپس در ۵۰ میلی لیتر آب مقطر حل شد. کل اسید آمینه به وسیله نین هیدرین با استفاده از گلیسین به عنوان استاندارد مورد آزمایش قرار گرفت. به طور خلاصه، ۲۰ میکرو لیتر از نمونه ها یا گلیسین (۱۰۰-۰ میکرو گرم) به یک میلی لیتر شناساگر نین هیدرین اضافه شد، سپس مخلوط در دمای محیط به مدت پنج دقیقه تکان داده شد. میزان جذب در ۵۹۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر خوانده شد [۱۲]. میزان چربی کل به وسیله معرف وانیلین-اسید فسفریک-اسید سولفوریک با استفاده از روغن کنجد (یک میلی گرم در میلی لیتر در اتانول) به عنوان استاندارد و جذب در ۵۳۰ نانومتر اندازه گیری شد. به طور خلاصه، ۱۰۰ میلی گرم پودر به دقت در ۵۰۰ میکرو لیتر اتانول معلق شد. یک میلی لیتر اسید سولفوریک غلیظ (۹۸ درصد) به نمونه ها اضافه شد و سپس در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ دقیقه حرارت داده شد. بعد از سرد شدن در دمای اتاق (۲۷-۲۵ درجه سانتیگراد)، یک میلی لیتر معرف وانیلین-اسید فسفریک (۰/۶ گرم وانیلین در ۱۰۰ میلی لیتر آب دیونیزه و ۴۰۰ میلی لیتر اسید فسفریک غلیظ) اضافه شد و نمونه به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد [۱۳]. میزان پروتئین

در نمونه های تیمار شده با امولسیون با استفاده از واکنشگر کوماسی بلو و روش برادفورد و استاندارد البومین سرم گاوی محاسبه شد. برای این کار ابتدا یک صدم گرم کوماسی بریلیانت بلو G250 در تاریکی و توسط همزن در پنج میلی لیتر اتانول ۹۵ درصد حل شد. در مرحله بعد ۱۰ میلی لیتر اسید فسفریک ۸۵ درصد در چند مرحله به آن اضافه و حجم نهایی با آب مقطر به ۱۰۰ میلی لیتر رسانده شد. معرف رنگی بلافاصله در شیشه های تیره ریخته و به یخچال منتقل شد. برای اندازه گیری پروتئین نمونه ۲۰ میکرو لیتر از عصاره استخراج شده با ۸۰ میکرو لیتر بافر استخراج در داخل لوله آزمایش ریخته و ۵ میلی لیتر معرف رنگی (محلول برادفورد) به آن اضافه شد و پس از ورتکس کردن جذب در ۵۹۵ نانومتر خوانده شد [۱۴].

۲-۵- پروفیل اسید آمینه با کروماتوگرافی مایع- طیف سنجی جرمی متوالی (LC-MS/MS)

دویست گرم پودر قارچ درمحلول آب: متانول: محلول اسید فرمیک حل شد. مخلوط به مدت ۳۰ دقیقه هم زده شد سپس در ۳۰۰۰ درج به مدت ۲۰ دقیقه برای حذف بقایای سلولی و فراهم سازی مایع رویی (شناور) سانتریفیوژ شدند. پروتئین مایع رویی (شناور) با متانول سرد و سانتریفیوژ در ۳۰۰۰ به مدت ۲۰ دقیقه رسوب کرد. محلول بالا برای آنالیز اسید آمینه مورد استفاده قرار گرفت. کروماتوگرافی مایع-طیف سنجی جرمی متوالی در آزمایشگاه فرزنانگان (شیراز، ایران) طبق روش استاندارد و دستورالعمل آزمایشگاه انجام شد [۱۵].

۲-۶- پروفیل اسیدهای چرب متیل استر با کروماتوگرافی گاز-طیف سنجی جرمی (GC-MS)

دویست میلی گرم پودر قارچ در لوله های آزمایش شیشه ای ریخته شد. سپس یک میلی لیتر متانول اسیدی (متانول: اسید سولفوریک در نسبت حجمی ۱۵/۸۵) به لوله های شیشه ای اضافه شد. لوله ها در دمای ۸۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱۲۰ دقیقه در حمام آب گرم متحرک قرار داده شدند. سپس، لوله ها در ورتکس قرار گرفتند تا زمانی که به دمای اتاق برسند. یک میلی لیتر نرمال سالین به لوله ها اضافه شد و به مدت ۵ دقیقه ورتکس گردید. پس از آن، یک میلی لیتر هگزان به لوله ها

اضافه شد و به مدت ۵ دقیقه ورتکس شد و سپس به مدت ۲۰ دقیقه در $g \ 3000$ سانتیفریوژ شد. فاز بالایی (فاز هگزان) استخراج شد و طبق دستورالعمل به ویالهای کروماتوگرافی گازی برای انجام کروماتوگرافی گازی-اسپکترومتری جرمی در آزمایشگاه مرکزی دانشگاه شیراز انتقال داده شد [۱۶].

۳- یافته ها

۳-۱- ترکیب اسید آمینه

آنالیز بیوشیمیایی *P. ostreatus* کشت شده در ملاس چغندر و آرد سویا با استفاده از کروموزن نین هیدرین، محتوای اسیدآمینه آزاد کل به میزان 4450 میلی گرم در هر 100 گرم وزن خشک را تایید کرد. آنالیز بیوشیمیایی *P. ostreatus* کشت شده در ملاس چغندر و آرد سویا با استفاده از کوماسی بلو و روش برادفورد، محتوای پروتئین کل به میزان 20000 میلی گرم در هر 100 گرم وزن خشک را تایید کرد که این میزان در تیمارهای مختلف اختلاف معنی داری نداشت. میزان کل اسید آمینه آزاد *P. ostreatus* آنالیز شده به وسیله کروماتوگرافی مایع- طیف سنجی جرمی متوالی برابر 4850 میلی گرم در هر 100 گرم وزن خشک بود. تفاوت در میزان اسیدآمینه می تواند به تفاوت در حساسیت و دقت این روش ها ارتباط داشته باشد. ترکیب های اسید آمینه *P. ostreatus* و سایر میسلیم های رشد کرده تحت اثر یون های فلزی در جدول ۱ نشان داده شده است.

در این تحقیق تعیین 36 اسید آمینه آزاد به وسیله آنالیز آزمایشگاهی امکان پذیر شد. ترکیب های اسید آمینه کل *P. ostreatus* در حضور و عدم حضور یون های فلزی مشابه بود، در حالی که در درصد اسید آمینه ها به صورت منفرد یا تکی متفاوت بود. اکسید روی و اکسید آهن منجر به افزایش و سولفات روی و سولفات آهن منجر به کاهش کل محتوی اسید آمینه شد. Sun و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند که سطوح کل اسید آمینه های آزاد قارچ خوراکی وحشی بین 1460 تا 13100 میلی گرم در هر 100 گرم ماده خشک بود [۱۸]. همچنین Li و همکاران (۲۰۱۴) سطوح کل اسید آمینه های آزاد را 400 تا 2270 میلی گرم در هر 100 گرم ماده خشک

گزارش کرده بودند (۱۸). Manninen و همکاران (۲۰۱۸) میزان کل اسید آمینه آزاد را بین 1493 تا 2954 میلی گرم در هر 100 گرم ماده خشک گزارش کردند [۱۹]. Ribeiro و همکاران (۲۰۰۹) میزان اسیدهای آمینه کل آزاد در قارچ خوراکی وحشی را بین 153 تا 2267 میلی گرم در هر 100 گرم ماده خشک گزارش کردند [۲۰]. بر این اساس، محتوی اسید آمینه آزاد در گونه های قارچ به طور قابل توجهی متفاوت است. این تفاوت ها می تواند ناشی از منشا جغرافیایی متفاوت قارچ ها، شرایط رشد و تنوع روش های استخراج و کمی سازی اسید آمینه باشد.

اسید آمینه های اصلی *P. ostreatus* آرژنین (1057 میلی گرم در هر 100 گرم)، گلوتامین (981 میلی گرم در هر 100 گرم)، گلوتامیک اسید (538 میلی گرم در هر 100 گرم)، آلانین (333 میلی گرم در هر 100 گرم)، سرین (286 میلی گرم در هر 100 گرم)، اسید آسپارتیک (222 میلی گرم در هر 100 گرم)، لیزین (202 میلی گرم در هر 100 گرم)، ترئونین (147 میلی گرم در هر 100 گرم)، هیستیدین (120 میلی گرم در هر 100 گرم)، والین (114 میلی گرم در هر 100 گرم) و پرولین (100 میلی گرم در هر 100 گرم) بودند. از بین این تیمارها، اکسید آهن به طور قابل توجهی برخی اسیدهای آمینه آزاد در *P. ostreatus* شامل آلانین، آرژنین، آسپاراژین، بتا- آمینوبوتیریک، گاما- آمینوبوتیریک، گلوتامین، گلیسین، هیستیدین، لوسین، لیزین، فیل آلانین، سرین، تیروزین و والین را افزایش داد.

اسید آمینه های غیر ضروری (آسپارتیک، گلوتامیک، سرین، گلیسین، آلانین، پرولین، سیستین، آسپاراژین، گلوتامین، آرژنین، تیروزین) در *P. ostreatus* 3777 میلی گرم در هر 100 گرم ماده خشک بود. اسید آمینه های ضروری (هیستیدین، ایزولوسین، لوسین، لیزین، متیونین، فیل آلانین، ترئونین، تریپتوفان، والین) در *P. ostreatus* 773 میلی گرم در هر 100 گرم ماده خشک بود که قابل مقایسه با نتایج Sun و همکاران (۲۰۱۷)، Li و همکاران (۲۰۱۴) و Manninen و همکاران (۲۰۱۸) می باشد (۱۷-۱۹). اکسید آهن میزان اسیدهای آمینه ضروری و غیر ضروری را افزایش داد (شکل ۱).

Table 1 Amino acid composition (mg/100 g dried weight) of cultivated *P. ostreatus* in medium enriched by ZnSO₄, ZnO, FeSO₄ and Fe₂O₃.

Amino acid	Control	ZnSO ₄	ZnO	FeSO ₄	Fe ₂ O ₃
Alanine	333.0±23.0 ^a	366.0±20.0 ^{ab}	337.0±18.0 ^a	371.0±21.0 ^{ab}	493.0±23.0 ^b
Allo-isoleucine	1.2±0.1 ^b	0.7±0.1 ^{ab}	0.3±0.02 ^a	0.6±0.03 ^{ab}	0.8±0.27 ^{ab}
Alpha-aminoadipic acid	8.3±0.3	8.5±0.4	10.3±0.45	6.4±0.38	11.0±3.2
Alpha-aminobutyric acid	1.8±0.1 ^a	4.2±0.2 ^c	2.6±0.12 ^{bc}	2.4±0.17 ^b	2.7±0.23 ^{bc}
Arginine	1057.0±51.0 ^a	1058.0±57.0 ^a	1227.0±66.0 ^a	1032.0±63.0 ^a	1772.0±56.0 ^b
Argininosuccinic acid	17.5±0.5	16.7±3.5	24.0±3.0	19.4±3.5	21.5±4.1
Asparagine	141.0±9.0 ^a	132.0±9.0 ^a	189.0±19.0 ^{ab}	128.5±17.6 ^a	230.0±25.0 ^b
Aspartic acid	222.0±12.0 ^{bc}	145.0±10.0 ^a	187.0±13.0 ^{ab}	188.0±15.0 ^{ab}	250.0±21.0 ^b
Beta-alanine	2.6±0.5	1.9±0.2	3.0±0.4	2.2±0.43	2.5±0.37
Beta-aminoisobutyric acid	97.6±7.6 ^{bc}	94.0±5.0 ^{bc}	66.0±4.0 ^a	76.9±6.8 ^b	139.0±9.5 ^c
Citrulline	1.9±0.9 ^a	20.0±1.0 ^c	8.8±2.6 ^{bc}	3.4±2.1 ^{ab}	8.7±2.7 ^{abc}
Cystathionine	38.8±7.8 ^a	36.0±7.0 ^a	71.6±5.3 ^{ab}	41.4±6.4 ^{ab}	73.6±7.3 ^b
Cystine	0.1±0.0 ^a	0.1±0.0 ^{ab}	0.4±0.13 ^{ab}	0.1±0.07 ^a	0.4±0.04 ^a
Gamma-aminobutyric acid	59.6±7.6 ^{bc}	58.0±3.0 ^{bc}	41.0±3.0 ^a	50.0±5.0 ^b	82.0±6.0 ^c
Glutamic acid	538.0±14.0 ^b	443.0±17.0 ^a	446.0±19.0 ^a	472.0±23.0 ^{ab}	503.0±31.0 ^{ab}
Glutamine	981.0±21.0 ^b	727.0±26.0 ^a	778.0±31.0 ^a	736.0±40.0 ^a	1187.0±54.0 ^c
Glycine	85.0±5.0 ^a	90.0±2.0 ^a	108.0±6.0 ^b	82.0±5.0 ^a	123.0±9.0 ^b
Glycylproline	2.5±0.4	2.6±0.3	2.9±0.7	2.9±0.6	4.0±0.5
Histidine	119.0±8.0 ^a	152.0±14.0 ^a	199.0±23.0 ^b	124.0±24.0 ^a	224.0±33.0 ^b
Homocitrulline	13.8±0.3	15.6±1.7	20.7±3.2	14.2±4.1	19.2±4.8
Homocystine	0.1±0.0	0.1±0.0	0.0±0.0	0.1±0.09	0.1±0.09
Hydroxylysine	0.3±0.0 ^b	0.4±0.0 ^c	1.7±0.1 ^e	0.1±0.03 ^a	1.2±0.03 ^d
Hydroxyproline	1.8±0.3 ^{ab}	1.3±0.1 ^a	1.3±0.14 ^a	1.5±0.11 ^{ab}	1.8±0.11 ^b
Isoleucine	54.0±4.0	53.7±3.8	58.3±4.6	56.8±5.2	75.3±5.2
Leucine	78.1±3.1 ^a	72.7±6.8 ^a	87.3±6.2 ^a	74.6±4.9 ^a	144.0±4.9 ^b
Lysine	202.0±26.0 ^{ab}	177.0±24.0 ^{ab}	281.6±33.2 ^{bc}	165.0±23.0 ^a	327.0±23.0 ^c
Methionine	14.1±0.6	12.0±1.0	16.8±5.7	14.0±4.0	23.0±4.0
Ornithine	53.3±3.3 ^a	54.7±2.6 ^a	94.0±14.0 ^b	59.0±11.0 ^{ab}	92.0±11.0 ^{ab}
Phenylalanine	43.6±2.6 ^a	59.7±1.3 ^a	83.0±11.0 ^b	49.0±8.0 ^a	119.0±8.0 ^c
Proline	100.0±4.0	91.4±4.1	89.0±9.0	97.0±15.0	132.0±15.0
Serine	286.0±13.0 ^{ab}	356.0±11.0 ^{ab}	348.0±36.0 ^{ab}	277.0±41.0 ^a	390.0±41.0 ^b
Sulfocysteine	0.0±0.0 ^a	0.2±0.02 ^b	0.0±0.0 ^a	0.2±0.05 ^b	0.2±0.05 ^b
Threonine	147.0±6.0	173.0±8.0	165.0±17.0	165.0±24.0	182.0±24.0
Tryptophan	0.1±0.01 ^b	0.2±0.02 ^c	0.7±0.3 ^c	0.0±0.0 ^a	0.8±0.0 ^c
Tyrosine	33.0±2.0 ^a	43.0±4.0 ^{ab}	63.0±3.0 ^b	44.0±6.0 ^{ab}	76.0±6.0 ^c
Valine	114.0±4.0 ^{ab}	102.0±6.0 ^a	112.0±8.0 ^{ab}	103.0±14.0 ^{ab}	139.0±14.0 ^b
Total amino acid (TAA)	4851.0±53.0 ^b	4570.0±50.0 ^a	5126.0±54.0 ^c	4461.0±76.0 ^a	6852.0±76.0 ^d
Essential amino acid (EAA)	773.0±63.0 ^a	803.0±17.0 ^a	1004.0±45.0 ^a	751.0±55.0 ^a	1234.0±55.0 ^b
Non-essential amino acid (NAA)	3777.0±71.0 ^{bc}	3452.0±93.0 ^{ab}	3774.0±63.0 ^{abc}	3429.0±89.0 ^a	5157.0±89.0 ^c
Flavor amino acid (FAA)	760.0±11.0 ^c	589.0±16.0 ^a	633.0±37.0 ^{ab}	660.0±32.0 ^{abc}	754.0±32.0 ^{bc}
Sweet amino acid (SAA)	805.0±21.0 ^a	904.0±31.0 ^{bc}	883.0±42.0 ^{abc}	828.0±42.0 ^{ab}	1137.0±42.0 ^c
Bitter amino acid (BAA)	1513.0±34.0 ^a	1553.0±94.0 ^a	1847.0±78.0 ^a	1498.0±83.0 ^a	2574.0±83.0 ^b
Hydrophobic amino acid (HAA)	926.0±25.0 ^a	923.0±60.0 ^a	1048.0±65.0 ^a	917.0±56.0 ^a	1429.0±56.0 ^b
Tasteless amino acid	235.0±17.0 ^a	220.0±13.0 ^a	345.0±56.0 ^{ab}	209.0±32.0 ^a	403.0±32.0 ^b
Aromatic amino acid (AAA)	76.2±5.0 ^a	102.7±9.2 ^{ab}	146.0±43.0 ^{ab}	93.4±19.3 ^{ab}	196.4±19.3 ^b

Amino acid profile was determined liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). The main amino acids were glutamine, arginine, alanine, glutamic acid, serine, aspartic acid, lysine, threonine, glycine and asparagine.

پروتئین جدیدی برای جایگزینی پروتئینی که از دست رفته تولید کند به همین جهت پروتئین طبیعی به بیش از چندین عامل پاتولوژیک تبدیل می‌شود [۴ و ۵].
P. ostreatus، ظاهر،

اسید آمینه ضروری نمی‌تواند به وسیله بدن انسان تولید شود و باید از طریق رژیم غذایی تامین شود. اگر یکی از این اسید آمینه‌های ضروری از رژیم غذایی حذف شود، بدن نمی‌تواند

لذت بخشی در تهیه بسیاری از غذاها دارند. مزیت اسید آمینه-های شبه مونوسدیم گلوتمات در بهبود سلامتی بر این دلالت دارد که این قارچ نه تنها می‌تواند به عنوان یک ماده غذایی خوراکی خوش طعم مورد استفاده قرار گیرد بلکه می‌تواند به عنوان یک غذای فراسودمند یا به عنوان ماده خام برای غذاهای فراسودمند مورد استفاده قرار گیرد [۲۵].

۲-۳- ترکیب اسید چرب

آنالیز بیوشیمیایی *P. ostreatus* کشت شده در ملاس چغندر و آرد سویا با استفاده از اسیدسولفوریک-وانیلین اسید فسفوریک (SPV) به عنوان کروموزن انجام شد و میزان اسید چرب کل در هر ۱۰۰ گرم وزن خشک برابر با ۵۶۶۰ میلی گرم بدست آمد. آنالیز آزمایشگاهی ما به وضوح نشان داد که سولفات روی و اکسید روی یا سولفات آهن و اکسید آهن اثرات معنی داری بر روی میزان اسید چرب کل نداشتند ولی آنالیز GC-MS نشان دهنده تفاوت‌های قابل توجه بین کمیت‌های ترکیب اسید چرب بود. Tan و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند که یون‌های فلزی مانند سولفات روی و کلرید آهن (III) میزان بیومس و چربی (لیپید) در جنس *Mortierella* را افزایش داده است [۲۵]. Sajbidor و همکاران (۱۹۹۲) اثرات غلظت‌های متفاوت یون‌های کلسیم، منیزیم، منگنز و آهن بر تولید چربی به وسیله *Mortierella* را مورد بررسی قرار دادند. بر اساس نتایج، همه یون‌های ذکر شده در بالا غیر از منگنز از تجمع چربی (لیپید) و تولید اسید آراشیدونیک جلوگیری کرد. علاوه بر این، آهن اثر بر روی *Mortierella* موجب بازدارندگی تولید اسید آراشیدونیک شد (۲۶). Hansson و Dostalek (۱۹۸۸) نشان دادند که مس و روی اثرات مثبتی روی تجمع چربی و تولید اسید گاما لینولنیک به وسیله *Mortierella* دارند [۲۷].

در این رابطه، گزارش‌های متعددی در منابع علمی در مورد اثرات تحریک کننده یون‌های فلزی بر تولید بیومس یا چربی در قارچ وجود دارد. این تفاوت را می‌توان به گونه‌های قارچ، ترکیب محیط پایه، شرایط تلقیح، نوع نمک‌های یون فلزی ربط داد (به عنوان مثال؛ سولفات روی، اکسید روی، کلرید آهن (II)، کلرید آهن (III)، سولفات آهن، اکسید آهن (II) و اکسید آهن (III)).

آنالیز کروماتوگرافی گازی- طیف سنجی جرمی *P. ostreatus* اجزای مختلف در قارچ شامل اسیدهای چرب

با سطح بالای اسید آمینه آزاد و اسید آمینه‌های ضروری می‌تواند یک انتخاب مناسب برای فراهم سازی اسید آمینه ضروری باشد.

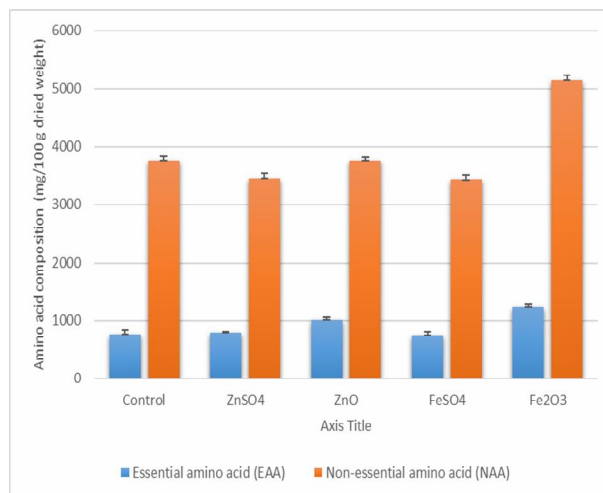


Fig 1 Variation of essential and non-essential amino acid of cultivated *P. ostreatus* in medium enriched by ZnSO₄, ZnO, FeSO₄ and Fe₂O₃. Statistical difference for each treatment ($P < 0.05$)

اسید آمینه‌های شبه مونوسدیم گلوتمات (اسید گلوتمامیک (۵۳۸ میلی گرم در هر ۱۰۰ گرم) و اسید آسپارتیک (۲۲۲ میلی گرم در هر گرم) در *P. ostreatus* ۷۶۰ میلی گرم در هر ۱۰۰ گرم وزن خشک بودند در حالی که هم روی و هم آهن اثر قابل توجهی بر روی میزان این اسیدهای آمینه نداشتند. اسید آمینه‌های شبه مونوسدیم گلوتمات در *P. ostreatus* به وسیله Beluhan و Ranogajec (۲۰۱۱) ۴۱۲۶ میلی گرم در هر گرم گزارش شد [۲۱]. اسید آمینه‌های شبه مونوسدیم گلوتمات در *P. ostreatus* و *P. ferulae* توسط Tsai و همکاران (۲۰۰۹) به ترتیب ۲۱۴ میلی گرم در هر گرم و ۱۷۶ میلی گرم در هر گرم گزارش گردید [۲۲]. اسید آمینه‌های شبه مونوسدیم گلوتمات در *P. ostreatus* و *P. cystidiosus* به ترتیب ۸۴ میلی گرم در هر گرم و ۱۲۱ میلی گرم در هر گرم به وسیله Yang و همکاران (۲۰۰۱) گزارش شد [۲۳]. میزان کل اسید آمینه‌های شبه مونوسدیم گلوتمات در قارچ‌های خوراکی بین ۵۰ تا ۴۵۸۵ میلی گرم در هر گرم متغیر است آنگونه که به وسیله Zhang و همکاران (۲۰۱۳) بررسی شده است (۲۴). در نتایج آزمایش ما و مطالعات قبلی، اسید گلوتمامیک تشکیل دهنده اصلی اسید آمینه‌های شبه مونوسدیم گلوتمات بود. اسید آمینه‌های شبه مونوسدیم گلوتمات بوی

منجر به کاهش متابولیت ثانویه *P. ostreatus* شد در حالی که سولفات آهن و سولفات روی اثر معنی داری را نشان نداد (جدول ۲).

غالبترین اسید چرب در *P. ostreatus* اسید لینولئیک (۴۴/۷ درصد)، اسید پالمیتیک (۸/۶ درصد)، اسید اولئیک (۸/۵ درصد)، اسید استئاریک (۲/۹ درصد)، اسید پنتادکانوئیک (۲/۶ درصد) و اسید هپتادکانوئیک (۲/۳ درصد) بودند (جدول ۲).

(۷۳ درصد)، آلکان (۸ درصد) و متابولیت های ثانویه (۱۹ درصد) شامل لیمونن، اسید های آلی و ترکیبات فنولی را نشان داد. سولفات آهن، سولفات روی، اکسید روی و اکسید آهن (III) اثر معنی داری روی میزان مجموع اسید چرب نداشتند. اکسید روی و سولفات آهن (III) به طور معنی داری میزان آلکان *P. ostreatus* را افزایش داد. اکسید آهن (III) به طور معنی داری منجر به افزایش و اکسید روی به طور معنی داری

Table 2 Fatty acid composition (percent of total fatty acid) of cultivated *P. ostreatus* in medium enriched by ZnSO₄, ZnO, FeSO₄ and Fe₂O₃.

Fatty acid	Control	ZnSO ₄	ZnO	FeSO ₄	Fe ₂ O ₃
Decane (C10H22)	5.54±1.10 ^a	5.95±1.10 ^a	10.02±1.10 ^b	9.30±1.10 ^{ab}	6.85±1.10 ^{ab}
Dodecane (C12H26)	1.65±0.51	1.74±0.04	2.45±0.08	3.00±1.00	2.27±1.00
Tetradecane (C14H30)	0.71±0.04 ^a	0.70±0.05 ^a	0.90±0.06 ^{ab}	1.32±0.09 ^c	1.00±0.04 ^b
Dodecanoic acid (C12:0)	1.00±0.05	1.00±0.02	1.00±0.03	1.00±0.03	1.85±0.03
Tridecanoic acid (C13:0)	0.01±0.00	0.01±0.00	0.01±0.00	0.01±0.00	0.01±0.0
Tetradecanoic acid (C14:0)	0.20±0.03 ^a	0.15±0.06 ^a	1.50±0.04 ^b	3.60±0.07 ^c	0.50±0.07 ^a
9-Tetradecenoic acid (C14:1n5)	0.02±0.01	0.02±0.01	0.02±0.01	0.02±0.01	0.02±0.01
Pentadecanoic acid (C15:0)	2.60±0.06 ^a	4.19±1.20 ^b	1.23±1.20 ^a	5.42±1.0 ^b	0.96±1.00 ^a
Hexadecanoic acid (C16:0)	8.60±1.40	7.55±3.10	12.40±2.80	9.60±2.10	9.93±2.10
9-Hexadecenoic acid (C16:1n7)	1.28±0.07 ^a	1.20±0.06 ^a	4.00±1.70 ^b	1.60±0.05 ^b	3.25±0.05 ^b
7,10-Hexadecadienoic acid (C16:2n6)	0.03±0.01	0.03±0.01	0.03±0.01	0.03±0.01	0.03±0.01
7,10,13-Hexadecatrienoic acid (C16:3n3)	0.04±0.01	0.04±0.01	0.04±0.02	0.04±0.01	0.04±0.01
Heptadecanoic acid (C17:0)	2.26±0.08 ^c	2.80±0.07 ^d	0.60±0.03 ^b	2.95±0.0 ^c	0.35±0.05 ^a
Octadecanoic acid (C18:0)	2.90±0.02 ^c	1.79±0.05 ^a	1.95±0.05 ^a	1.85±0.07 ^a	2.40±0.07 ^b
9-Octadecenoic acid (C18:1n9 Trans)	0.04±0.01	0.04±0.01	0.04±0.01	0.04±0.01	0.04±0.01
9-Octadecenoic acid (C18:1n9 Cis) ۱۶	8.50±0.2 ^b	7.35±0.30 ^a	14.45±0.2 ^c	8.85±0.2 ^b	8.85±0.3 ^b
10,13-Octadecadienoic acid (C18:2n5)	0.02±0.01	0.02±0.01	0.02±0.01	0.02±0.01	0.02±0.01
9,12-Octadecadienoic acid (C18:2n6 Trans)	0.03±0.01	0.03±0.01	0.03±0.01	0.03±0.01	0.03±0.01
9,12-Octadecadienoic acid (C18:2n6 Cis)	44.70±5.30 ^b	44.65±5.60 ^b	25.00±4.60 ^a	37.90±4.00 ^{ab}	35.85±4.00 ^{ab}
9,12,15-Octadecatrienoic acid (C18:3n3)	0.03±0.01	0.03±0.01	0.03±0.01	0.03±0.01	0.03±0.01
6,9,12-Octadecatrienoic acid (C18:3n6)	0.20±0.00 ^a	0.45±0.01 ^c	0.37±0.01 ^b	1.20±0.01 ^d	0.35±0.01 ^b
Docosanoic acid (C22:0)	0.40±0.01 ^c	0.35±0.02 ^b	0.10±0.03 ^a	0.20±0.01 ^a	0.08±0.01 ^a
Total lipid	72.86±7.30	71.70±8.30	62.81±7.30	74.39±7.00	64.58±7.00
Total alkane	7.90±0.55 ^a	8.39±0.72 ^a	13.36±0.50 ^b	13.62±0.65 ^b	10.11±0.36 ^{ab}
Other	19.24±5.20	19.92±3.32	12.00±2.70	23.83±3.20	25.32±3.20
Saturated fatty acid (SFA)	17.77±1.1 ^{ab}	17.69±0.72 ^{ab}	17.29±0.70 ^{ab}	21.03±1.00 ^b	15.57±0.80 ^a
Unsaturated fatty acid (UFA)	54.89±2.10 ^c	53.86±1.70 ^{bc}	44.03±1.5 ^a	49.76±2.0 ^{abc}	48.51±1.20 ^{ab}
Monounsaturated fatty acid (MUFA)	9.84±0.40 ^{ab}	8.61±0.65 ^a	18.51±0.75 ^c	10.51±0.84 ^{ab}	12.16±0.52 ^b
Polyunsaturated fatty acid (PUFA)	45.05±7.60 ^b	45.25±5.43 ^b	25.52±4.60 ^a	39.25±5.00 ^{ab}	36.35±5.00 ^{ab}
Omega-3 fatty	0.07±0.01	0.07±0.01	0.07±0.01	0.07±0.02	0.07±0.02
Omega-5 fatty	0.02±0.01	0.02±0.01	0.02±0.01	0.02±0.01	0.02±0.01
Omega-6 fatty	44.96±6.25 ^b	45.16±3.04 ^b	25.43±4.20 ^a	39.16±4.50 ^{ab}	36.26±4.50 ^{ab}
Omega-7 fatty	1.28±0.04 ^a	1.20±0.04 ^a	4.00±0.05 ^d	1.60±0.02 ^b	3.25±0.02 ^c
Omega-9 fatty	8.54±0.46 ^a	7.39±0.30 ^a	14.49±0.5 ^b	8.89±0.5 ^{ab}	8.89±0.6 ^{ab}

Fatty acid profile was determined gas chromatography- mass spectrometry (LC-MS/MS). The most prominent fatty acids are linoleic acid > palmitic acid > oleic acid.

Yilmaz و همکاران (۲۰۰۶) گزارش کردند که ترکیب اصلی اسید چرب *P. ostreatus* اسید لینولئیک (۴۴ درصد)، اسید اولئیک (۲۰ درصد)، اسید پالمیتیک (۱۲ درصد) و اسید استئاریک (۵ درصد) می باشد (۲۸). Abugri و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند که ترکیب اصلی اسید چرب *P. ostreatus* اسید لینولئیک (۱۶۶۳ میلی گرم بر گرم)، اسید اولئیک (۳۲۳ میلی گرم بر گرم)، اسید پالمیتیک (۳۱۰ میلی گرم بر گرم) و اسید استئاریک (۳۹ میلی گرم بر گرم) بوده است (۲۹). Pedneault و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند که ترکیب اصلی اسید چرب *P. ostreatus* اسید لینولئیک (۷۹ درصد)، اسید پالمیتیک (۱۱ درصد) و اسید اولئیک (۵/۶ درصد) می باشد (۳۰). Ergonul و همکاران (۲۰۱۳) گزارش دادند که ترکیب اصلی اسید چرب *P. ostreatus* اسید لینولئیک (۶۵/۳ درصد)، اسید پالمیتیک (۱۲/۴ درصد)، اسید اولئیک (۱۰/۴ درصد) و اسید استئاریک (۳/۷ درصد) می باشد (۳۱). بر اساس مطالعات ذکر شده در بالا، نسبت اسیدهای چرب غیراشباع در *P. ostreatus* بیشتر از اسیدهای چرب اشباع بودند که با داده های ما هماهنگ می باشد.

اسید لینولئیک (C18:2n6) به عنوان یک اسید چرب امگا ۶، پیش ماده ۱-ا-وکتن-۳-ال (1-octen-3-ol) است که به عنوان الکل قارچ شناخته می شود. ترکیبات آروماتیک که در بیشتر قارچ ها وجود دارد و عامل ایجاد مزه در قارچ است از ۱-ا-وکتن-۳-ال منشأ می گیرد (۳۲). اسید پالمیتیک (16:0) معمول ترین چربی اشباع شده در غذای انسان است. این اسید چرب اشباع پیش ماده اسیدهای چرب بلند مانند اسید اولئیک (18:1) می باشد (۳۳). اسید اولئیک (C18:1n9) یک ترکیب زیست فعال است که سطح کلسترول را کاهش می دهد. این اسید چرب یک ماده اولیه مناسب برای آنزیم کبد به نام آسیل کوآ کلسترول آسیل ترانسفراز (ACAT) می باشد. آنزیم ACAT یک اسید چرب (مانند اسید اولئیک) را از کوآنزیم A به گروه هیدروکسیل کلسترول انتقال می دهد و آن را به استر کلسترول (شکل آب گریز کلسترول) تبدیل می کند (۳۴). اسید استئاریک (C18:0) در مقایسه با اسیدهای چرب اشباع افزایش دهنده کلسترول، لیوپروتئین با چگالی پایین را کاهش می دهد در حالی که لیوپروتئین با چگالی پایین را در مقایسه با اسیدهای چرب غیراشباع افزایش می دهد (۳۵). اسید پنتادکانوئیک (15:0) جز اسیدهای چرب اشباع فرد کربن

غالب ترین اسید چرب در *P. ostreatus* غنی شده با سولفات روی، اسید لینولئیک (۴۴/۷ درصد)، اسید پالمیتیک (۷/۵ درصد)، اسید اولئیک (۷/۳۵ درصد)، اسید پنتادکانوئیک (۴/۲ درصد)، اسید هپتادکانوئیک (۲/۸ درصد) و اسید استئاریک (۱/۸ درصد) بودند (جدول ۲). غالب ترین اسید چرب در *P. ostreatus* غنی شده با اکسید روی، اسید لینولئیک (۲۵ درصد)، اسید اولئیک (۱۴/۴۵ درصد)، اسید پالمیتیک (۱۲/۴ درصد)، اسید پالمیتولئیک (۳/۹۵ درصد) و اسید استئاریک (۲ درصد) بودند (جدول ۲). غالب ترین اسید چرب در *P. ostreatus* غنی شده با سولفات آهن، اسید لینولئیک (۳۸ درصد)، اسید پالمیتیک (۹/۶ درصد)، اسید اولئیک (۸/۸۵ درصد)، اسید پنتادکانوئیک (۵/۴ درصد)، اسید میریستیک (۳/۶ درصد)، اسید هپتادکانوئیک (۲/۹۵ درصد) و اسید استئاریک (۱/۸۵ درصد) بود (جدول ۲). غالب ترین اسید چرب در *P. ostreatus* غنی شده با اکسید آهن (III)، اسید لینولئیک (۳۵/۸۵ درصد)، اسید پالمیتیک (۹/۹۳ درصد)، اسید اولئیک (۸/۸۵ درصد)، اسید پالمیتولئیک (۳/۲۵ درصد) و اسید استئاریک (۲/۴ درصد) بود (جدول ۲). اکسید روی باعث افزایش معنی دار اسیدهای چرب تکی، امگا ۷ و امگا ۹ و کاهش معنی دار اسید چرب غیر اشباع پلی و امگا ۶ گردید (شکل ۲).

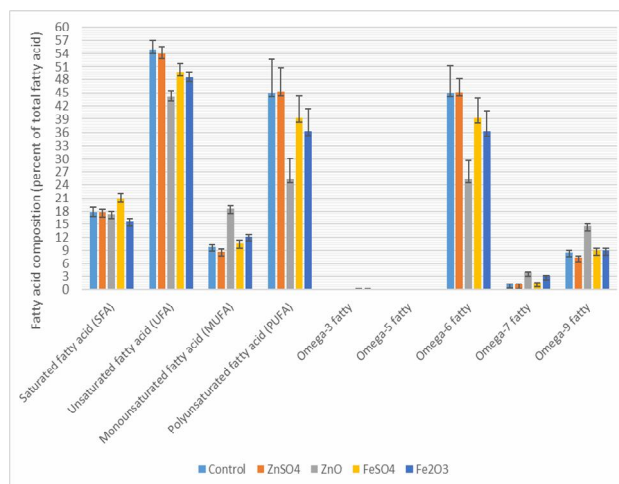


Fig 2 Variation of saturated, unsaturated, monounsaturated, polyunsaturated, omega-3, omega-5, omega-6, omega-7, omega-9 fatty acids of cultivated *P. ostreatus* in medium enriched by ZnSO₄, ZnO, FeSO₄ and Fe₂O₃. Statistical difference for each treatment (P<0.05)

- sapidus as novel protein sources in a vegan boiled sausage analog system: functionality and sensory tests in comparison to commercial proteins and meat sausages. *European Food Research and Technology*.;244(5):913-924.
- [3] Zhang L, Li CG, Liang H, Reddy N. 2017. Bioactive Mushroom Polysaccharides: Immunocuticals to Anticancer Agents. *Journal of Nutraceuticals and Food Science*.;2(2)1-2.
- [4] Xia Z, Cholewa J, Zhao Y, Shang H-Y, Yang Y-Q, Araújo Pessôa K, et al. 2017. Targeting inflammation and downstream protein metabolism in sarcopenia: a brief updated description of concurrent exercise and leucine-based multimodal intervention. *Frontiers in physiology*.;8:1-7
- [5] Cholewa JM, Dardevet D, Lima-Soares F, de Araújo Pessôa K, Oliveira PH, dos Santos Pinho JR, et al. 2017. Dietary proteins and amino acids in the control of the muscle mass during immobilization and aging: role of the MPS response. *Amino acids*.;49(5):811-820.
- [6] Zárate R, el Jaber-Vazdekis N, Tejera N, Pérez JA, Rodríguez C. 2017. Significance of long chain polyunsaturated fatty acids in human health. *Clinical and translational medicine*.;6(1):25-32.
- [7] Freitas HR, Isaac AR, Malcher-Lopes R, Diaz BL, Trevenzoli IH, De Melo Reis RA. 2017. Polyunsaturated fatty acids and endocannabinoids in health and disease. *Nutritional neuroscience*.;1-20.
- [8] Liu H, Xu J, Li X, Zhang Y, Yin A, Wang J, et al. 2015. Effects of microelemental fertilizers on yields, mineral element levels and nutritional compositions of the artificially cultivated *Morchella conica*. *Scientia Horticulturae*.;189:86-93.
- [9] Poniedziałek B, Mleczek M, Niedzielski P, Siwulski M, Gąsecka M, Kozak L, et al. 2017. Bio-enriched *Pleurotus* mushrooms for deficiency control and improved antioxidative protection of human platelets? *European Food Research and Technology*.;243(12):2187-2198.
- [10] Turło J, Gutkowska B, Herold F, Klimaszewska M, Suchocki P. 2010. Optimization of selenium-enriched mycelium of *Lentinula edodes* (Berk.) pegler as a food supplement. *Food Biotechnology*.;24(2):180-196.
- می‌باشد. نشان داده شده است که مصرف غذاهای غنی از اسیدهای چرب اشباع فرد کربن مانند چربی‌های لبنی می‌تواند خطر ابتلا به بیماری‌های متابولیکی را کاهش دهد [۳۶]. بر این اساس، عملکرد زیستی عصاره اسید چرب *P. ostreatus* بر روی فعالیت‌های ذکر شده در بالا را باید مورد بررسی قرار داد.
- ### ۴- نتیجه گیری
- نتایج حاصل از این تحقیق به وضوح نشان داد که غالب‌ترین آمینواسیدهای *P. ostreatus* آرژنین، گلوتامین، گلوتامیک اسید، آلانین، سرین، اسید آسپارتیک، لیزین، ترئونین، هیستیدین، والین و پرولین بودند. این قارچ می‌تواند به عنوان یک منبع مفید و غذایی اسید آمینه‌های ضروری، غیر ضروری و شبه مونوسدیم گلوتامات مورد استفاده قرار گیرد. اکسید روی به میزان کم و اکسید آهن به میزان زیاد منجر به افزایش قابل توجهی در میزان اسید آمینه ضروری و غیر ضروری *P. ostreatus* شد. غالب‌ترین اسیدهای چرب در *P. ostreatus* لینولئیک اسید، پالمیتیک اسید، اولئیک اسید و استئاریک اسید بودند. این قارچ همچنین می‌تواند به عنوان یک منبع خوراکی از اسیدهای چرب غیراشباع پلی و اسید چرب امگا ۶ مدنظر قرار گیرد. اکسید روی باعث افزایش معنی دار اسیدهای چرب تکی، امگا ۷ و امگا ۹ و کاهش معنی دار اسید چرب غیر اشباع پلی و امگا ۶ گردید. نتایج ما به وضوح اثرات متفاوت سولفات آهن (II)، سولفات روی، اکسید روی و اکسید آهن (III) بر روی میزان آمینواسید آزاد و میزان اسید چرب قارچ را آشکار ساخت که می‌تواند به دلیل اثر فعالیت متفاوت کوفاکتور روی و آهن بر روی مسیرهای بیوشیمیایی برای سنتز آمینواسید و اسید چرب باشد. در مجموع بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش، آهن برای القای اسید آمینه پیشنهاد می‌شود در حالیکه روی برای تولید اسید چرب توصیه می‌گردد.
- ### ۵- منابع
- [1] Roncero-Ramos I, Delgado-Andrade C. 2017. The beneficial role of edible mushrooms in human health. *Current Opinion in Food Science*.;14:122-128.
- [2] Stephan A, Ahlborn J, Zajul M, Zorn H. 2018. Edible mushroom mycelia of *Pleurotus*

22. Tsai S-Y, Huang S-J, Lo S-H, Wu T-P, Lian P-Y, Mau J-L. 2009. Flavour components and antioxidant properties of several cultivated mushrooms. *Food Chemistry*.;113(2):578-584.
- [23] Yang J-H, Lin H-C, Mau J-L. 2001. Non-volatile taste components of several commercial mushrooms. *Food chemistry*.;72(4):465-471.
- [24] Zhang Y, Venkitasamy C, Pan Z, Wang W. 2013. Recent developments on umami ingredients of edible mushrooms—A review. *Trends in food science & technology*.;33(2):78-92.
- [25] Tan L, Zhuo R, Li S, Ma F, Zhang X. 2017. Differential expression of desaturase genes and changes in fatty acid composition of *Mortierella* sp. AGED in response to environmental factors. *Journal of the Science of Food and Agriculture*.;97(6):1876-1884.
- [26] Sajbidor J, Kozelouhov'a D, Cert'ik M. 1992. Influence of some metal ions on the lipid content and arachidonic acid production by *Mortierella* sp. *Folia Microbiologica*.;37(6):404-406.
- [27] Hansson L, Dostálek M. 1988. Effect of culture conditions on mycelial growth and production of γ -linolenic acid by the fungus *Mortierella ramanniana*. *Applied Microbiology and Biotechnology*.;28(3):240-246.
- [28] Yilmaz N, Solmaz M, Türkekul İ, Elmastaş M. 2006. Fatty acid composition in some wild edible mushrooms growing in the middle Black Sea region of Turkey. *Food Chemistry*.;99(1):168-174.
- [29] Abugri D, McElhenney W, Willian K. 2016. Fatty acid profiling in selected cultivated edible and wild medicinal mushrooms in the Southern United States. *J Exp Food Chem*.;2:1-7.
- [30] Pedneault K, Angers P, Avis TJ, Gosselin A, Tweddell RJ. 2007. Fatty acid profiles of polar and non-polar lipids of *Pleurotus ostreatus* and *P. cornucopiae* var. 'citrinopileatus' grown at different temperatures. *mycological research*.;111(10):1228-1234.
- [31] Gunc Ergonul P, Akata I, Kalyoncu F, Ergönül B. 2013. Fatty acid compositions of six wild edible mushroom species. *The Scientific World Journal*.;2013:1-4
- [32] Pickens CA, Pereira MdFA, Fenton JJ. 2017. Long-chain ω -6 plasma phospholipid polyunsaturated fatty acids and association with colon adenomas in adult men: a cross-
- [11] Poursaeid N, Azadbakht A, Balali GR. 2015. Improvement of Zinc Bioaccumulation and Biomass Yield in the Mycelia and Fruiting Bodies of *Pleurotus florida* Cultured on Liquid Media. *Applied biochemistry and biotechnology*.;175(7):3387-3396.
- [12] Friedman M. 2004. Applications of the ninhydrin reaction for analysis of amino acids, peptides, and proteins to agricultural and biomedical sciences. *Journal of agricultural and food chemistry*.;52(3):385-406.
- [13] Mishra SK, Suh WI, Farooq W, Moon M, Shrivastav A, Park MS, et al. 2014. Rapid quantification of microalgal lipids in aqueous medium by a simple colorimetric method. *Bioresource technology*.;155:330-333.
- [14] Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*.;72, 248-254.
- [15] Le A, Ng A, Kwan T, Cusmano-Ozog K, Cowan TM. 2014. A rapid, sensitive method for quantitative analysis of underivatized amino acids by liquid chromatography–tandem mass spectrometry (LC–MS/MS). *Journal of Chromatography B*.;944:166-174.
- [16] Woldegiorgis AZ, Abate D, Haki GD, Ziegler GR, Harvatine KJ. 2015. Fatty acid profile of wild and cultivated edible mushrooms collected from Ethiopia. *Journal of Nutrition and Food Sciences*.;5(3):1-5.
- [17] Sun L, Liu Q, Bao C, Fan J. 2017. Comparison of free total amino acid compositions and their functional classifications in 13 wild edible mushrooms. *Molecules*.; 22(3):350.
- [18] Li W, Gu Z, Yang Y, Zhou S, Liu Y, Zhang J. 2014. Non-volatile taste components of several cultivated mushrooms. *Food chemistry*.;143:427-431.
- [19] Manninen H, Rotola-Pukkila M, Aisala H, Hopia A, Laaksonen T. 2018. Free amino acids and 5'-nucleotides in Finnish forest mushrooms. *Food chemistry*.;247:23-28.
- [20] Ribeiro B, de Pinho PG, Andrade PB, Baptista P, Valentão P. 2009. Fatty acid composition of wild edible mushrooms species: A comparative study. *Microchemical Journal*.;93(1):29-35.
- [21] Beluhan S, Ranogajec A. 2011. Chemical composition and non-volatile components of Croatian wild edible mushrooms. *Food chemistry*.;124(3):1076-1082.

- primary rat hepatocytes. *Lipids in health and disease*.;10(1):81-90
- [35] Mensink RP. 2005. Effects of stearic acid on plasma lipid and lipoproteins in humans. *Lipids*.;40(12):1201-1205.
- [36] Kim K-B, Nam YA, Kim HS, Hayes AW, Lee B-M. 2014. α -Linolenic acid: nutraceutical, pharmacological and toxicological evaluation. *Food and chemical toxicology*.;70:163-178.
- sectional study. *European Journal of Cancer Prevention*.;26(6):497-505.
- [33] Ohlsson L. 2010. Dairy products and plasma cholesterol levels. *Food & nutrition research*.;54(1):5124-5128
- [34] Zhang Y, Dong L, Yang X, Shi H, Zhang L. 2011. α -Linolenic acid prevents endoplasmic reticulum stress-mediated apoptosis of stearic acid lipotoxicity on

Evaluation of *Pleurotus ostreatus* fatty acid and amino acid profile in response to zinc and iron

Safavi, K.^{1*}, Kavoosi, Gh.², Niazi, A.³, Safavi, M.⁴

1. PhD student, Institute of Biotechnology, Shiraz University, Shiraz, Iran.

2. Associate Professor, Institute of Biotechnology, Shiraz University, Shiraz, Iran.

3. Professor, Institute of Biotechnology, Shiraz University, Shiraz, Iran.

4. Associate Professor, School of Nutrition, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

(Received: 2018/06/19 Accepted: 2019/03/02)

The aim of this study was to determine the content of fatty acids and amino acids profile in response to zinc and iron element in *Pleurotus ostreatus*. The influence of ZnSO₄, FeSO₄, ZnO and Fe₂O₃ at 80 µM on amino acid and fatty acid composition of *P. ostreatus* was investigated. Total amino acid was extracted using water: methanol: formic acid extraction solution and analyzed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). Fatty acid was extracted by lipid extraction and methylation procedure using acidic methanol: normal saline: hexane solution followed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The main amino acids of *P. ostreatus* were arginine, glutamine, glutamic acid, alanine, serine, aspartic acid, lysine, threonine, histidine, valine and proline. Fe₂O₃ strongly lead a significant increase in essential and non-essential amino acids content of *P. ostreatus*. The most prominent fatty acids in *P. ostreatus* were linoleic acid, palmitic acid, oleic acid, stearic acid, pentadecanoic acid and heptadecanoic acid. ZnO strongly lead a significant increase in monounsaturated fatty acid (MUFA), omega-7 and omega-9 and significant decrease in polyunsaturated fatty acid (PUFA) and omega-6 fatty acids content of *P. ostreatus*. Iron is recommended for induction amino acid while zinc recommended for fatty acid production.

Keywords: *Pleurotus ostreatus*, Essential fatty acid, Essential amino acid

*Corresponding Author E-Mail Address: ksafavi@khuif.ac.ir