مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

محتوای غذایی و معدنی قارچ *Inocutis levis* و فعالیت آنتی‌اکسیدانی میسلیوم تخمیرشده آن

محدثه مقدم[۱]، معصومه قبادنژاد[۲*]، مهدی مریدی فریمانی[۳*]

۱- دانشجوی دکتری، پژوهشکده زیست فناوری، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، تهران.

۲- دانشیار، پژوهشکده زیست فناوری، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، تهران.

۳- دانشیار، پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران.

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱٤۰۲/۱۰/۳

تاریخ پذیرش: ۱٤۰۳/۳/۱۲

کلمات کلیدی:

قارچ‌های پلی‌پور،

کشت میسلیوم،

آنتی اکسیدان،

ارزش غذایی

DOI:10.22034/FSCT.21.154.78.

* مسئول مکاتبات:

ghobadnejhad@gmail.com

mmfarimani@gmail.com

چکیده

قارچ پلی‌پور نارون با نام علمی *Inocutis levis* یک بازیدیومیست ماکروسکوپی متعلق به خانواده Hymenochaetaceae است. بسیاری از اعضای این خانواده به دلیل خواص دارویی و تغذیه‌ای مورد توجه محققان بوده‌اند. بررسی‌های اخیر، برخی خواص زیست‌فعال اندام بارده قارچ *I. levis* را نشان داده است. این تحقیق، برای اولین بار ویژگی‌های تغذیه‌ای و معدنی *Inocutis levis* و خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره میسلیومی این قارچ را بررسی می‌کند. ترکیبات غذایی طبق روش AOAC و محتوای معدنی با استفاده از ICP-MS تعیین شد. کشت میسلیومی ابتدا در محیط کشت PDA و سپس در PDB صورت گرفت. مقایسه خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های اندام بارده و میسلیوم *I. levis* با سنجش‌های ABTS و DPPH انجام شد. بر اساس نتایج، این قارچ دارای ۱٤.۲ درصد پروتئین، ۷۳.۷ درصد کربوهیدرات (شامل ۵۹.۷ درصد فیبر) و همچنین مقادیر قابل‌توجهی از عناصر معدنی (۱۱.٦ درصد) مانند پتاسیم، فسفر، منیزیم و آهن است. غلظت سرب و کادمیوم در *I. levis* در سطح ایمن است، اما مقادیر جیوه و آرسنیک بر اساس شاخص خطر سلامت (HRI) از سطح ایمن فراتر می‌رود. نتایج نشان میدهد اگرچه عصاره‌های اندام بارده *I. levis* قدرت بالاتری در مهار رادیکال‌های آزاد دارد، اما به دلیل بازده قابل‌توجه عصاره میسلیومی و همچنین سهولت کشت، می‌توان میسلیوم کشت‌شده این قارچ را به‌عنوان منبعی بالقوه از ترکیبات فعال زیستی در نظر گرفت. برای استفاده از این گونه قارچی در صنایع غذایی و دارویی بررسی دقیق‌تر ترکیبات این قارچ پیشنهاد می‌گردد.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-23]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.154.78]

۱-مقدمه

قارچ‌ها از دیرباز نه تنها به‌عنوان غذایی لذیذ بلکه به‌عنوان یک محصول طبیعی مغذی و دارویی در خدمت بشر بوده‌اند. قارچ‌های خوراکی به‌عنوان محصولات غذایی در سراسر جهان استفاده می‌شوند و اغلب یک جایگزین مناسب برای گوشت در نظر گرفته می‌شوند چراکه سرشار از پروتئین، فیبر خام، ویتامین، کربوهیدرات و مواد معدنی، اما محتوی چربی کم هستند [۱]. قارچ‌های منفذدار یا پلی پور گروهی از قارچ‌ها هستند که اندام‌های بارده ماکروسکوپی حاوی منافذ یا لوله‌هایی در قسمت زیرین تشکیل می‌دهند و یک گروه مورفولوژیکی متعلق به شاخه Basidiomycota هستند [۲]. این قارچ‌ها از دیرباز به روش‌های مختلفی به‌عنوان غذا، مکمل تغذیه‌ای، دمنوش، آتشزنه، دارو و غیره مورد استفاده جوامع بشری قرار گرفته‌اند [۳]. از قارچ‌های پلی پور شاخص و خوراکی با خاصیت دارویی می‌توان به گونه‌های گانودرما (*Ganoderma* spp.) و چاگا (*Inonotus obliquus*) اشاره کرد. گونه مورد مطالعه در این پژوهش قارچ پلی‌پور نارون با نام کامل علمی *Inocutis levis* (P. Karst.) Y.C. Dai، متعلق به خانواده Hymenochaetaceae است. چندین عضو از این خانواده، به‌ویژه گونه‌های متعلق به جنس‌های *Inonotus* و *Phellinus*، به دلیل خواص دارویی قابل‌توجه مورد مطالعه قرار گرفته‌اند و تعدادی از گونه‌ها در ژاپن، کره، چین و هند سابقه بسیار طولانی مصرف غذایی و دارویی دارند. جنس *Inonotus*، با بیش از ۱۰۰ گونه، پلی‌فیلتیک است و تجزیه و تحلیل‌های DNA منجر به تقسیم آن به تاکسون‌های همگن‌تر مانند *Inocutis* شده است [٤و٥]. گونه *Inocutis levis* از آسیای مرکزی تا شمال آفریقا پراکنش دارد [٦] و عمدتاً روی درختان مناطق شهری رشد می‌کند. *Inocutis levis* در ایران نیز پراکندگی خوبی دارد[۷].

در سال ۲۰۰۵، وینوگرادوف و همکاران، ساختار یک پلی‌ساکارید جداشده از *I. levis* را شناسایی کردند [۸]. در سال ۲۰۱۷، احسانی‌فرد و همکاران دریافتند که عصاره آبی *I. levis* باعث افزایش مقاومت به انسولین و تحمل گلوکز در موش‌های صحرایی ویستار تغذیه شده با ساکارز می‌شود [۷]؛ آنها هم‌چنین در سال ۲۰۱۹، نشان دادند که در موش‌های تیمار شده با عصاره آبی *I. levis*، سطح تری-گلیسیرید در سرم خون کاهش یافت و علاوه بر این، عصاره آبی این قارچ باعث کاهش انفیلتراسیون لوکوسیتی در بافت کبد شد[۹]. در سال ۲۰۲۰ و ۲۰۲۳، چهارمیری و همکاران به تجزیه و تحلیل تعدادی از ترکیبات فنلی این گونه پرداختند و ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی، ضد باکتریایی و عدم سمیت سلولی را در اندام بارده قارچ *I. levis* نشان دادند [۱۰ و ۳۱]. اخیرا طی پژوهش‌های انجام شده نویسندگان این مقاله، وجود اسیدهای چرب اولئیک اسید، استئاریک اسید ، لینولئیک اسید، و هیدروکسی اکتادکادینوئیک اسید و ترکیبات استروئیدی نظیر ارگوسترول، ارگوسترول پروکسید، سرویسترول، و دمتیلین سیسترول A3 در قارچ *I. levis* مشخص شده است.

علی رغم وجود شواهد مبتنی بر جنبه های دارویی و ترکیبات زیست فعال در قارچ *Inocutis levis*، جنبه های تغذیه ای این قارچ هنوز نامشخص است. در پژوهش حاضر برای اولین بار به بررسی ویژگی‌های غذایی و معدنی *I. levis* می-پردازیم. علاوه بر این، با مقایسه خاصیت آنتی‌اکسیدانی اندام بارده و میسلیوم، امکان بهینه سازی و بهره گیری موثرتر از خواص زیستی این قارچ ماکروسکوپی فراهم خواهد آمد. لذا این تحقیق بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی میسلیوم قارچ را نیز هدف‌گذاری نموده است.

۲-مواد و روش‌ها

۲-۱- نمونه قارچی

نمونه‌های قارچی *Inocutis levis* از درختان مناطق شهری در تهران در سال ۱۴۰۰ جمع‌آوری شد. شناسایی نمونه و بررسی ویژگی‌های میکروسکوپی و ماکروسکوپی آن توسط قبادنژاد انجام شد[۱۱]. پس از تهیه کشت میسلیومی، نمونه-

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-23]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.154.78]

های خشک قارچ در هرباریوم سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران با نمایه بین‌المللی ICH نگه‌داری شد.

۲-۲- استخراج DNA و شناسایی

به‌منظور تایید هویت میسلیوم قارچی، DNA ژنومی آن با کمک کیت استخراج شد و ناحیه مارکر ITS [۱۲] با جفت پرایمر ITS1F و ITS4 تکثیر شد [۱۳]. پس از تکثیر (ترموسایکلر Thermo Hybaid) و الکتروفورز افقی، توالی‌یابی نمونه از طریق شرکت پیشگام انجام شد. در نهایت، تایید توالی و شناسایی نمونه با مقایسه با توالی‌های پایگاه BLAST NCBI انجام شد. جدایه قارچی با شماره دسترسی IRAN 4562C در کلکسیون ملی قارچ‌های زنده ایران با نمایه بین‌المللی IRAN، و توالی بدست آمده با شماره OR978377 در بانک ژن (GenBank) ثبت شد.

۲-۳- کشت میسلیوم

کشت *Inocutis levis* بر روی محیط کشت PDA (Potato Dextrose Agar) انجام شد و سپس به محیط مایع PDB (Potato Dextrose Broth) منتقل شد. پس از انکوباسیون کشت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ روز بر روی یک شیکر دوار (۲۰۰ دور در دقیقه) زیست‌توده میسلیومی به دست آمد. به‌منظور جلوگیری از رشد باکتری‌ها از آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین با غلظت نهایی ۱۰ میلی‌گرم/لیتر در محیط کشت استفاده شد.

۲-٤- بررسی ترکیب مواد مغذی

تجزیه و تحلیل میزان رطوبت، پروتئین و چربی خام، فیبر، خاکستر و محتوای کربوهیدرات بر اساس روش AOAC[1] (1995) انجام شد[۱٤]. میزان رطوبت با حرارت دادن نمونه در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد تا رسیدن به وزن ثابت تعیین شد. مقدار پروتئین خام با روش کجدال و میزان چربی کل به کمک استخراج‌کننده سوکسله و با استفاده از اتر نفتی به‌عنوان حلال برآورد شد. پس از چربی‌زدایی، از اسیدسولفوریک غلیظ و هیدروکسید سدیم برای تخمین فیبر خام استفاده شد. برای تعیین میزان خاکستر، نمونه در کوره‌ای با دمای ۶۰۰±۱۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. از فرمول‌های زیر برای محاسبه کربوهیدرات کل و انرژی استفاده شد [۱۵]:

درصد کربوهیدرات کل = ۱۰۰ – درصد (رطوبت + پروتئین + چربی + خاکستر)

انرژی (کیلوکالری) = ٤ × (گرم پروتئین + گرم کربوهیدرات) + ۹ × گرم چربی

۲-۵- بررسی محتوای معدنی

میزان عناصر سدیم (Na)، پتاسیم (K)، آهن (Fe)، کلسیم (Ca)، فسفر (P)، منیزیم (Mg)، منگنز (Mn)، مس (Cu)، روی (Zn)، کروم (Cr)، مولیبدن (Mo)، سلنیوم (Se)، سرب (Pb)، کادمیوم (Cd)، آرسنیک (As) و جیوه (Hg) در *I. levis* با طیف‌سنج جرمی پلاسمای جفت‌شده القایی[2] (Agilent Technologies Inc. - 7500 ICP-MS, USA) آنالیز شد. به‌منظور آماده‌سازی نمونه، ۵ میلی‌لیتر HNO_3 به ۰.۱ گرم پودر قارچ اضافه شد. با حرارت دادن غیرمستقیم، نمونه به‌طور کامل در اسید حل شد و محلول صاف‌شده با آب خالص به حجم ۱۵ میلی‌لیتر رسید و فاکتور رقت در نتیجه نهایی لحاظ شد. اندازه‌گیری ICP-MS با استفاده از شرایط دستگاهی به شرح زیر انجام شد: توان مولد فرکانس رادیویی[3] ۱۲۰۰ وات با فرکانس رزونانس ۲٤ مگاهرتز، آرگون به‌عنوان نبولایزر و گاز کمکی با سرعت جریان ۰.۸ لیتر بر دقیقه، سرعت جریان پلاسمای آرگون ۱۲.۲ لیتر بر دقیقه، ۲٦۰ ثانیه زمان جذب نمونه، آشکارساز حالت‌جامد CCDو یک محفظه اسپری Lichte اصلاح‌شده سیکلانی. استانداردهای داخلی IV-STOCK-8 و IV-STOCK-24 (مرک، آلمان) برای کالیبراسیون و کنترل کیفیت استفاده شدند. برای محاسبه میزان دریافت روزانه (DI[4]) فلزات

[1] The Association of Official Agricultural Chemists
[2] Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometer
[3] Radio frequency generator power
[4] Daily intake

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-23]
[DOI: 10.22034/FSCT.21.154.78]

سنگین و شاخص خطر سلامت (HRI[5]) آن‌ها، از فرمول‌های زیر استفاده شد [۱۶،۱۷و۱۸] :

دریافت روزانه (DI) = میانگین غلظت عنصر سمی در قارچ (mg/kg وزن خشک) × مصرف روزانه قارچ (g/day) / میانگین وزن بدن (kg)

شاخص خطر سلامت (HRI) = دریافت روزانه (DI) / دوز مرجع خوراکی (RfD_o)

در مطالعه ما، میانگین وزن بدن یک فرد ۷۰ کیلوگرم و میزان مصرف روزانه قارچ به‌طور متوسط ۳۰ گرم قارچ خشک در نظر گرفته شده است. میزان مرجع خوراکی، نشان‌دهنده میزان قرار گرفتن در معرض آلاینده‌های دهانی در طول زندگی است و برای عناصر Cd، Hg، As و Pb به ترتیب ۰.۵، ۰.۳، ۰.۳ و ٤ میکروگرم بر کیلوگرم در روز است [۱۶،۱۷و۱۸].

۲-٦- عصاره‌گیری

اندام بارده و میسلیوم خشک‌شده قارچ بوسیله آسیاب برقی (AIDISH, Iran) پودر شد. عصاره‌گیری با حلال‌های متانول ۸۰ درصد و استون خالص به روش خیساندن انجام شد. بدین‌ترتیب که مخلوط ۱۰ گرم پودر قارچ در ۱۰۰ میلی‌لیتر حلال تهیه و عصاره‌گیری به مدت ۲٤ ساعت در دمای اتاق و به کمک شیکر (Kuhner SW) با سرعت ۲۰۰ دور در دقیقه انجام شد. عصاره حاصل با کاغذ صافی واتمن صاف و در دمای ٤۵ درجه سانتی‌گراد با دستگاه روتاری (APV Anhydro) خشک و حلال آن تبخیر شد. عصاره‌گیری دو بار دیگر بر روی پودر قارچ باقیمانده تکرار شد و بازده تولید عصاره‌ها از رابطه زیر به دست آمد:

درصد بازده = مقدار عصاره برحسب گرم / مقدار پودر قارچ برحسب گرم × ۱۰۰

۲-۷- بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی

به‌منظور بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های اندام بارده و میسلیوم *I. levis*، آزمون‌های ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) و DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) انجام شد. در روش ABTS، ابتدا محلول ABTS (۷ میلی مولار) در ۲.٤۵ میلی مولار پتاسیم پرسولفات ($K_2S_2O_8$) تهیه شد. مخلوط حاصل به مدت ۱٦ ساعت در دمای اتاق و در تاریکی قرار گرفت. سپس محلول حاصل با PBS (Phosphate-buffered saline) مخلوط شد و جذب آن در طول‌موج ۷۳٤ نانومتر به ۰.۷۰۲±۰.۷ رسید [۱۹]. ۲۰ میکرولیتر از عصاره‌های قارچی با غلظت‌های نهایی (۰.۱، ۰.۵، ۱.۰، ۱.۵ و ۳.۰ میلی‌گرم/میلی‌لیتر) با ۹۸۰ میکرولیتر محلول ABTS مخلوط شدند و پس از ٦ دقیقه جذب نمونه‌ها در ۷۳٤ نانومتر خوانده شد. از محلول PBS به عنوان نمونه کنترل استفاده شد. در روش DPPH، مقدار ۷.۸۸ میلی‌گرم پودر DPPH در ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول خالص حل شد. ۱۰ میکرولیتر از عصاره‌های قارچ با غلظت‌های نهایی ۰.۵، ۱.۰، ۲.۵، ۵.۰ و ۱۰.۰ میلی‌گرم/میلی‌لیتر با ۱۹۰ میکرولیتر محلول DPPH مخلوط شد و پس از ۳۰ دقیقه جذب آن‌ها در طول‌موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد[۲۰و۲۱]. از متانول به عنوان نمونه کنترل استفاده شد. در هر دو روش، درصد مهار رادیکال با معادله زیر محاسبه شد. هم‌چنین، IC_{50} (غلظتی از نمونه که توانایی مهار ۵۰ درصد رادیکال را دارد) با استفاده از رگرسیون خطی به دست آمد. [ترولوکس (trolox) به‌عنوان کنترل مثبت در غلظت‌های ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵ و ۳۰ میکروگرم/میلی‌لیتر استفاده شد و نمودار درصد مهار نسبت به غلظت برای آن رسم گردید.]

۱۰۰ × جذب کنترل / (جذب کنترل − جذب نمونه) = درصد مهار رادیکال

۳-نتایج و بحث

۳-۱- ترکیب مواد مغذی

نتایج تجزیه تقریبی (proximate analysis) برای قارچ *I. levis* نشان می‌دهد که این قارچ حاوی ۹۰ درصد رطوبت، ۱٤.۲ درصد پروتئین، ۰.۵ درصد چربی، ۱۱.٦ درصد

[5] Health risk index

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-23]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.154.78]

خاکستر، ۷۳.۷ درصد کربوهیدرات (شامل ۵۹.۷ درصد فیبر) و حدود ۳۵٦ کیلوکالری انرژی در هر ۱۰۰ گرم نمونه خشک است. با توجه به نتایج (شکل ۱)، فیبر (۵۹.۷٪) بیشترین محتوای مواد مغذی این قارچ را تشکیل می‌دهد. در قارچ‌ها، محتوای کل کربوهیدرات شامل کربوهیدرات‌های قابل‌هضم و غیرقابل‌هضم است. کربوهیدرات‌های غیرقابل‌هضم شامل بتا گلوکان‌ها، مانان‌ها و پلی ساکاریدهای غیر نشاسته‌ای هستند که فیبرهای سودمند برای رژیم غذایی محسوب می‌شوند[۲۲]. در سال ۲۰۱۹، Ulziijargal و همکاران، ترکیب تغذیه‌ای اندام بارده و میسلیوم گونه‌های مختلف قارچی شامل گونه *Inonotus obliquus* را بررسی کردند. این گونه در اندام بارده خود حاوی ۱.۵٪ پروتئین، ۲.۳٪ چربی، ۸.۳٦٪ خاکستر و ۸۷.۷٪ کربوهیدرات شامل ۳٤.۵ درصد فیبر در وزن خشک بود [۲۳]. ترکیب مواد مغذی در میسلیوم *I. obliquus* به‌صورت ۲۵٪ پروتئین، ۵.۷٪ چربی، ۳.۳٪ خاکستر و ٦۵.٤٪ کربوهیدرات (شامل ٤ درصد فیبر) بود. ازآنجایی‌که پژوهش‌های چندانی در مورد جنس *Inocutis* خصوصاً در زمینه غذایی صورت نگرفته است، نمی‌توان به‌طور مؤثری محتوای غذایی گونه *Inocutis levis* را با همتایان خود مقایسه کرد. ولی در مقایسه با گونه *I. obliquus*، اندام بارده *I. levis* به طور قابل‌ملاحظه‌ای پروتئین و فیبر بیشتری دارد. اندام بارده قارچ *I. levis* اگرچه به دلیل بافت سخت، غیرقابل‌خوردن است اما این مطالعه، بررسی بیشتر پلی‌ساکاریدهای آن را به‌عنوان افزودنی یا مکمل غذایی پیشنهاد می‌کند. برای مثال، اخیرا ژو و همکاران، از یک پلی‌ساکارید جدید استخراج‌شده از *I. obliquus* در ماست تخمیرشده استفاده کردند و نشان دادند که این پلی‌ساکارید به دلیل مزایای سلامتی، کاربرد بالقوه‌ای به‌عنوان یک افزودنی غذایی طبیعی در توسعه ماست دارد[۲٤]. همچنین پژوهش حاضر، بررسی بیشتر قارچ *I. levis* را برای تولید محصولات غذایی جدید پیشنهاد می‌کند. برای مثال، پایه‌های (stipe) اندام بارده قارچ شیتاکه (*Lentinula edodes*) معمولاً به دلیل بافت سخت آن دور انداخته می‌شوند؛ بااین‌حال، لین و همکاران در سال ۲۰۱۰ پیشنهاد کردند که این پایه‌ها می‌توانند به‌عنوان یک منبع نیتروژن جایگزین در تخمیر الکلی استفاده شوند، زیرا دارای محتوای پروتئین بالایی هستند [۲۵]. در سال ۲۰۰۹، گونه *Ganoderma lucidum* توسط یانگ و همکاران برای تخمیر شیر سویا مورداستفاده قرار گرفت و شیر سویا پس از تخمیر توسط این قارچ مقبولیت بهتر و افزایش خواص سلامتی را نشان داد [۲٦و۲۷].

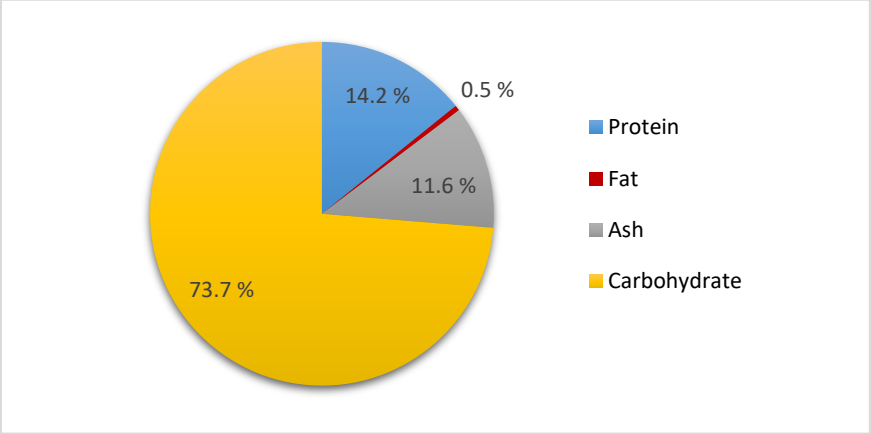

Fig. 1. Nutritional composition in *Inocutis levis* (100 g dry wight).

۲-۳- محتوای معدنی

غلظت عناصر معدنی در اندام بارده *I. levis* در جداول ۱ و ۲ نشان داده شده است. بر اساس نتایج، ترتیب محتویات معدنی بصورت K > P > Mg > Zn > Na > Ca > Fe > Cu

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-23]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.154.78]

Mn > Se > Cr > Mo> و ترتیب فلزات سنگین به‌صورت As > Hg > Cd ≥ Pb است. پتاسیم فراوان‌ترین عنصر و سدیم پنجمین عنصر است. بنابراین نسبت Na/K کمتر از ۰.۰٦٤ است. طبق توصیه‌های سازمان بهداشت جهانی WHO، مصرف سدیم نباید از ۲۰۰۰ میلی‌گرم در روز و دریافت پتاسیم نباید از ۳۵۱۰ میلی‌گرم در روز تجاوز کند و در نتیجه نسبت Na/K ≤1.0 برای سلامت قلب و عروق بهینه است [۲۸]. محتوای معدنی *I. levis* با فرض اینکه هر فرد روزانه ۳۰ گرم قارچ خشک مصرف کند، در مقایسه با مقادیر روزانه (DVs[6]) گزارش‌شده توسط FDA در مارس ۲۰۲۰ در جدول ۱ نشان داده شده است. با توجه به نتایج، *I. levis* می‌تواند منبع خوبی از مواد معدنی بویژه پتاسیم، فسفر و منیزیوم باشد. مقادیر روزانه بروز شده از FDA برای Cu و Crدر مقایسه با مقادیر اولیه کاهش یافته‌اند. اگر مقادیر مس و کروم در قارچ را با مقادیر اولیه (به ترتیب ۲.۰۰ و ۰.۱۲ میلی‌گرم) مقایسه کنیم، مصرف روزانه ۳۰ گرم قارچ خشک *I. levis* برای انسان بی‌ضرر خواهد بود، اما با توجه به مقادیر بروز شده، هر دو محتوای مس و کروم از حد توصیه‌شده فراتر خواهند رفت. همچنین محتوای روی و سلنیوم موجود در ۳۰ گرم قارچ خشک *I. levis* به‌طور قابل‌توجهی بیشتر از مقدار روزانه توصیه شده توسط FDA (مقادیر اولیه و بروز شده) است.

در این تحقیق به‌منظور ارزیابی فلزات سنگین در قارچ، شاخص خطر سلامت (HRI) محاسبه شد (جدول ۲). به‌صورت کلی، HRI بالاتر از ۱، برای هر فلز در غذا نشان می‌دهد که جمعیت مصرف‌کننده با خطر سلامتی مواجه است[۲۹]. مقادیر جدول ۲ نشان می‌دهد که غلظت سرب و کادمیوم در قارچ مورد بررسی در سطح ایمن است، اما برای As و Hg مقدار HRI از سطح ایمن فراتر می‌رود، به این معنی که غلظت این عناصر در *I. levis* نیاز به نظارت دارد. به‌طور کلی، تجمع زیستی فلزات سنگین توسط قارچ فرآیندی پیچیده و تحت تأثیر عوامل متنوع محیطی است و گونه‌های مختلف نیز بر اساس نیازهای فیزیولوژیکی خود رفتار متفاوتی دارند[۱۵]. از آنجا که در پژوهش حاضر، قارچ از درختان در محیط شهری اطراف شهر تهران جمع‌آوری‌شده است، بررسی میزان As و Hg در هوای محیط اطراف محل رویش قارچ یا حتی بستر رویشی آن برای درک جامع‌تر در مورد تجمع زیستی آرسنیک و جیوه در *I. levis* ضروری به نظر می‌رسد. اخیراً، علاقه عمومی رو به رشدی به برداشت قارچ‌های خوراکی وحشی از محیط‌های شهری و حومه شهری وجود دارد. بااین‌حال، چندین مطالعه نشان داده‌اند که قارچ‌ها می‌توانند مقادیر بالایی از فلزات سنگین یا عناصر بالقوه مضر (PHEs[7]) را به‌ویژه زمانی که از مناطق آلوده و صنعتی جمع‌آوری می‌شوند، در خود جای دهند [۳۰]. بنابراین، مصرف آن‌ها می‌تواند برای انسان خطرناک باشد و مصرف مستقیم قارچ برداشت شده از مناطق شهری نیاز به بررسی‌های عمیق‌تری دارد.

Table 1. Mineral contents in *Inocutis levis* (mg/kg dry weight).

Elements	Concentration in *Inocutis levis*	FDA DVs (mg)	*Inocutis levis* DVs (for 30 g of dw)
Na	645.61	2300	19.36
K	>10000	4700	>300
Fe	112.55	18.0	3.37
Ca	521.12	1300	15.63
P	4628.25	1250	138.84
Mg	3025.90	420	90.77
Mn	27.92	2.3	0.83
Cu	51.60	0.9	1.54
Zn	857.78	11	25.73

[6] Daily values

[7] Potentially harmful elements

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-23]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.154.78]

Cr	3.90	0.03	0.11
Mo	1.31	0.045	0.03
Se	9.73	0.055	0.29

FDA DVs, daily values reported by Food and Drug Administration.

Table 2. Heavy metal contents in *Inocutis levis* (mg/kg dry weight).

Elements	**Concentration in *Inocutis levis***	**Daily Intake (DI)**	**Health Risk Index (HRI)**
Pb	<0.1	<0.04	<0.01
Cd	<0.1	<0.04	<0.08
As	2.41	1.03	3.43
Hg	1.85	0.79	2.63

۳-۳- بازده عصاره گیری

مقادیر بازده عصاره‌گیری از اندام بارده و میسلیوم *Inocutis levis* در شکل ۲ نشان داده شده است. به صورت کلی مقدار عصاره بدست آمده با حلال متانول ۸۰ درصد، بیشتر از حلال استون است. نکته قابل توجه این است که بازده عصاره گیری با متانول ۸۰ درصد از میسلیوم *I. levis* دو برابر بازده عصاره‌گیری از اندام بارده آن است (به ترتیب ۵۰.۲ و ۲٤.۲ درصد). اما بازده عصاره‌گیری با حلال استون تفاوت چندانی در میسلیوم و اندام بارده ندارد (به ترتیب ۳.۵ و ٤.۸ درصد).

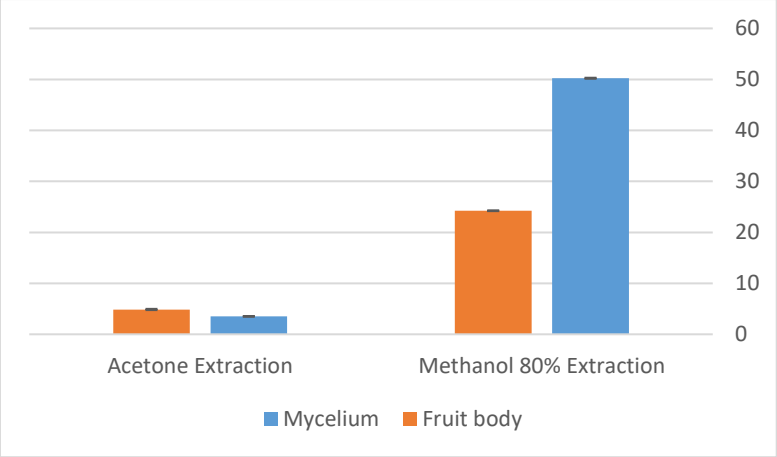

Fig. 2. Comparison of extraction yields in fruiting body and mycelia of *Inocutis levis*.

٤-۳- خاصیت آنتی‌اکسیدانی

نتایج بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی *I. levis* در جدول ۳ نشان داده‌شده است. به‌صورت کلی عصاره‌های متانولی (۸۰٪) نسبت به استونی خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری داشتند (مقادیر IC_{50} به ترتیب برابر با ۰.۳ و ۰.۸ میلی‌گرم/میلی‌لیتر با سنجش ABTS). بالاترین مهار رادیکال آزاد مربوط به عصاره متانولی (۸۰٪) اندام بارده بود. در هر دو روش ABTS و DPPH، عصاره‌های متانولی و استونی اندام

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-23]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.154.78]

بارده، IC_{50} کمتر و درنتیجه خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری نسبت به عصاره‌های میسلیومی دارند. چهارمیری و همکاران، IC_{50} معادل ۰.۳۵ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر را برای عصاره استونی اندام بارده *I. levis* و IC_{50} برابر با ۰.۵۵ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر را برای عصاره متانولی (۱۰۰٪) آن به روش DPPH گزارش کردند[۳۱].

مطالعه حاضر برای اولین بار به بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی میسلیوم *Inocutis levis* پرداخته است. اگرچه عصاره‌های اندام بارده *I. levis* قدرت بالاتری در مهار رادیکال‌های آزاد داشتند، اما به دلیل بازده بالاتر عصاره میسلیومی، می‌توان آن را منبع قوی مواد فعال زیستی با خواص آنتی‌اکسیدانی نیز در نظر گرفت. در منابع مختلف مشاهده می‌شود که علاوه بر اندام بارده، میسلیوم کشت شده قارچ نیز به‌عنوان منابع بالقوه ترکیبات فعال زیستی مورد بررسی قرار گرفته است. بطور مثال آنجلینی و همکاران (۲۰۱۹)، در مطالعه‌ای، مهار رادیکال‌های آزاد توسط عصاره متانولی قارچ *Inonotus hispidus* را با سنجش DPPH بررسی کردند و درصد مهار، برابر با حدود ۱۷.۲ و ۲۲.۱ درصد فعالیت ترولوکس را به ترتیب در اندام بارده و میسلیوم آن نشان دادند[۳۲]. میسلیوم‌های کشت‌شده در حال تبدیل‌شدن به یک جایگزین امیدوارکننده به‌عنوان منبع ترکیبات زیست فعال قارچی هستند که از دلایل آن می‌توان به زمان انکوباسیون کوتاه‌تر و شرایط کشت آسان‌تر (فضای موردنیاز کمتر، احتمال آلودگی کم و تولید بیشتر زیست‌توده) در مقایسه با اندام بارده اشاره کرد [۳۳].

Table 3. Antioxidant properties in fruiting body and mycelia of *Inocutis levis* expressed as IC_{50} values (mg/ml).

Antioxidant activity of *Inocutis levis*	Acetone extract of mycelium	Acetone extract of fruiting body	Methanol extract of mycelium	Methanol extract of fruiting body
ABTS assay	4 ± 0.01	1.57 ± 0.01	0.86 ± 0.002	0.32 ± 0.001
DPPH assay	11.21 ± 0.02	7.6 ± 0.03	7.3 ± 0.01	1.09 ± 0.003

٤- نتیجه گیری

بکارگیری منابع طبیعی نظیر گیاهان وحشی برای مصارف تغذیه ای مستلزم بررسی ترکیبات شیمیایی و خواص مختلف زیستی آنهاست[۳٦-۳٤]. پژوهش حاضر ویژگی‌های تغذیه-ای و معدنی قارچ بومی ماکروسکوپی *Inocutis levis* را بررسی نمود. با توجه به نتایج، این قارچ حاوی ١٤.٢ درصد پروتئین، ۰.۵ درصد چربی، ١١.٦ درصد خاکستر، ٧٣.٧ درصد کربوهیدرات (شامل ۵۹.۷ درصد فیبر) است. درنتیجه، فیبر (۵۹.۷٪) بیشترین محتوای مواد مغذی این قارچ را تشکیل می‌دهد. همچنین *I. levis* محتوی خاکستر بالایی است که مربوط به حضور بالای عناصر ماکرو و میکرو مانند پتاسیم، فسفر، منیزیوم و آهن است. تمام مواد معدنی بررسی شده در این مطالعه در سطوح ایمن قرار داشتند، به‌جز روی، سلنیوم، جیوه و آرسنیک، که بیشتر از مقادیر توصیه‌شده بودند و ممکن است برای انسان خطرآفرین باشند. بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی *I. levis* نشان داد که بالاترین مهار رادیکال آزاد مربوط به عصاره متانولی (۸۰٪) اندام بارده بود. به‌صورت کلی، عصاره‌های اندام بارده *I. levis* قدرت بالاتری در مهار رادیکال‌های آزاد داشتند، اما به دلیل بازده بالاتر عصاره متانولی میسلیوم، می‌توان آن را منبع بالقوه مواد فعال زیستی با خواص آنتی‌اکسیدانی نیز در نظر گرفت. بازده

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-23]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.154.78]

عصاره گیری متانولی میسلیوم ۵۰.۲ درصد بود، به این معنا که بیش از نیمی از میسلیوم این قارچ را ترکیبات مختلفی تشکیل می‌دهند که می‌توانند خواص زیستی مختلف، مانند آنتی‌اکسیدان داشته باشند. بنابراین مطالعه حاضر، بررسی بیشتر ترکیبات زیست فعال و ارزش غذایی میسلیوم *I. levis* را پیشنهاد می‌کند.

۵- تقدیر و تشکر

مقاله حاضر با حمایت بنیاد ملی علم ایران Iran National Science Foundation (شماره ٤٠٠٠٦٥٥) تهیه شده است. از گرنت پیشین International Association for Plant Taxonomy قدردانی میشود.

٦- منابع

[1] Thakur, M. (2020). Advances in mushroom production: Key to food, nutritional and employment security: A review. *Indian Phytopathology*, *73*, 377-395 .

[2] Runnel, K., Miettinen, O., & Lõhmus, A. (2021). Polypore fungi as a flagship group to indicate changes in biodiversity–a test case from Estonia. *IMA fungus*, *12*, 1-31 .

[3] Grienke, U., Zöll, M., Peintner, U., & Rollinger, J. M. (2014). European medicinal polypores–A modern view on traditional uses. *Journal of Ethnopharmacology*, *154*(3), 564-583.

[4] Wagner, T., & Fischer, M. (2002). Proceedings towards a natural classification of the worldwide taxa *Phellinus* s.l. and *Inonotus* s.l., and phylogenetic relationships of allied genera. *Mycologia*, *94*(6), 998-1016 .

[5] Larsson, K.-H., Parmasto, E., Fischer, M., Langer, E., Nakasone, K. K., & Redhead, S. A. (2006). Hymenochaetales: a molecular phylogeny for the hymenochaetoid clade. *Mycologia*, *98*(6), 926-936.

[6] Wu, F., Zhou, L.-W., Vlasák ,J., & Dai, Y.-C. (2022). Global diversity and systematics of Hymenochaetaceae with poroid hymenophore. *Fungal diversity*, *113*(1), 1-192 .

[7] Ehsanifard, Z., Mir-Mohammadrezaei, F., Safarzadeh, A., & Ghobad-Nejhad, M. (2017). Aqueous extract of *Inocutis levis* improves insulin resistance and glucose tolerance in high sucrose–fed Wistar rats. *Journal of Herbmed Pharmacology*, *6*(4), 160-164 .

[8] Vinogradov, E., & Wasser, S. P. (2005). The structure of a polysaccharide isolated from Inonotus levis P. Karst. mushroom (Heterobasidiomycetes) .*Carbohydrate Research*, *340*(18), 2821-2825 .

[9] Ehsanifard, Z., Mir Mohammadrezaei, F., Ghobad-Nejhad, M., & Safarzade, A. (2019). The effect of aqueous extract of *Inocutis levis* on liver histopathology and hypertriglyceridemia in high sucrose-fed Wistar rats. *Journal of Medicinal Plants*, *18*(70), 181-187 .

[10] Chaharmiri Dokhaharani, S., Ghobad-Nejhad, M., Moghimi, H., Farazmand, A., & Rahmani, H. (2020). Investigating antibacterial and antioxidant activity of *Inocutis levis* extracts and evaluating its phenolic compounds. *Biological Journal of Microorganisms*, *9*(35), 1-16 .

[11] Ghobad-Nejhad, M., & Kotiranta, H. (2008). The genus *Inonotus* sensu lato in Iran, with keys to *Inocutis* and *Mensularia* worldwide. *Annales Botanici Fennici*, 45(6), 465-476.

[12] Stielow, J. B., Levesque, C. A., Seifert, K. A., Meyer, W., Irinyi, L., Smits, D., . . . Chaduli, D. (2015). One fungus, which genes? Development and assessment of universal primers for potential secondary fungal DNA barcodes. *Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, *35*(1), 242-263 .

[13] Ghobad-Nejhad, M., Asgari, B., & Chaharmiri Dokhaharani, S. (2017). Notes on some endophytic fungi isolated from *Quercus brantii* in Dena, Kohgiluyeh and Boyer-Ahmad province. *Mycologia Iranica*, *4*(1), 1-12.

[14] Cunniff, P. Association of Official Analytical Chemists (1995) Official methods of analysis of AOAC international. *Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists* .

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-23]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.154.78]

[15] Moghaddam, M., Ghobad-Nejhad, M., Stegemann, T., Çiçek, S. S., Zidorn, C., & Javanmard, M. (2023). Nutritional composition and odor-Contributing volatile compounds of the edible mushroom *Cantharellus alborufescens*. *Molecules, 28*(22), 7516 .

[16] Liu, S., Fu, Y., Shi, M., Wang, H., & Guo, J. (2021). Pollution level and risk assessment of lead, cadmium, mercury, and arsenic in edible mushrooms from Jilin Province, China. *Journal of Food Science, 86*(8), 3374-3383 .

[17] Širić, I., Kumar, P., Eid, E. M., Bachheti, A ,. Kos, I., Bedeković, D., . . . Humar, M. (2022). Occurrence and health risk assessment of Ccadmium cccumulation in three *Tricholoma* mushroom species collected from wild habitats of central and coastal Croatia. *Journal of Fungi, 8*(7), 685 .

[18] Nag, R., & Cummins, E. (2022). Human health risk assessment of lead (Pb) through the environmental-food pathway. *Science of the Total Environment, 810*, 151168 .

[19] Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine, 26*(9-10), 1231-1237 .

[20] Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol, 26*(2), 211-219 .

[21] Xu, B. J., & Chang, S. (2007). A comparative study on phenolic profiles and antioxidant activities of legumes as affected by extraction solvents. *Journal of Food Science, 72*(2), S159-S166 .

[22] Cheung, P. C. (2010). The nutritional and health benefits of mushrooms. *Nutrition Bulletin, 35*(4), 292-299 .

[23] Ulziijargal, E., & Mau, J.-L. (2011). Nutrient compositions of culinary-medicinal mushroom fruiting bodies and mycelia. *International Journal of Medicinal Mushrooms, 13.*

[24] Xue, Y.-T., Ren, G.-Q., Liu, Y.-X., Jiang, X.-Y., Zhang, C.-Y., & Wang, Q. (2023). Fermentation process optimization and efficacy evaluation of functional yoghurt supplemented with *Inonotus obliquus* polysaccharide. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 1-13 .

[25] Lin, P.-H., Huang, S.-Y., Mau, J.-L., Liou, B.-K., & Fang, T. J. (2010). A novel alcoholic beverage developed from shiitake stipe extract and cane sugar with various *Saccharomyces* strains. *LWT-Food Science and Technology, 43*(6), 971-976 .

[26] Moon, B & ,Lo, Y. (2014). Conventional and novel applications of edible mushrooms in today's food industry. *Journal of Food Processing and Preservation, 38*(5), 2146-2153 .

[27] Yang, H., & Zhang, L. (2009). Changes in some components of soymilk during fermentation with the basidiomycete *Ganoderma lucidum*. *Food Chemistry, 112*(1), 1-5 .

[28] Vulin, M., Magušić, L., Metzger, A.-M., Muller, A., Drenjančević, I., Jukić, I., . . . Davidović Cvetko, E. (2022). Sodium-to-potassium ratio as an indicator of diet quality in healthy pregnant women. *Nutrients, 14*(23), 5052 .

[29] Khani, R., Moudi, M., & Khojeh, V. (2017). Contamination level, distribution and health risk assessment of heavy and toxic metallic and metalloid elements in a cultivated mushroom *Pleurotus florida* (Mont.) singer. *Environmental Science and Pollution Research, 24*, 4699-4708 .

[30] Kokkoris, V., Massas, I., Polemis, E., Koutrotsios, G., & Zervakis, G. I. (2019). Accumulation of heavy metals by wild edible mushrooms with respect to soil substrates in the Athens metropolitan area (Greece). *Science of the Total Environment, 685*, 280-296 .

[31] Chaharmiri-Dokhaharani, S., Ghobad-Nejhad, M., Moghimi, H., Norouzi, H., & Moghaddam, M. (2023). Bioactivity and chemical profiling of medicinal fungi *Inonotus cuticularis* and *Inocutis levis* (Hymenochaetaceae) using chromatography and mass spectrometry. *Journal of Medicinal Plants and By-product* . doi: 10.22034/JMPB.2023.128804.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-23]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.154.78]

[32] Angelini, P., Girometta, C., Tirillini, B., Moretti, S., Covino, S., Cipriani, M., . . . Savino, E. (2019). A comparative study of the antimicrobial and antioxidant activities of *Inonotus hispidus* fruit and their mycelia extracts. *International Journal of Food Properties, 22*(1), 768-783 .

[33] Souilem, F., Fernandes, Â., Calhelha, R. C., Barreira, J. C., Barros, L., Skhiri, F., . . . Ferreira, I. C. (2017). Wild mushrooms and their mycelia as sources of bioactive compounds: Antioxidant, anti-inflammatory and cytotoxic properties. *Food Chemistry, 230*, 40-48 .

[34] Tanavar, H., Barzegar, H., Alizadeh Behbahani, B., & Mehrnia, M. A. (2021). Investigation of the chemical properties of *Mentha pulegium* essential oil and its application in *Ocimum basilicum* seed mucilage edible coating for extending the quality and shelf life of veal stored in refrigerator (4 C). *Food Science & Nutrition*, *9*(10), 5600-5615.

[35] Yeganegi, M., Yazdi, F. T., Mortazavi, S. A., Asili, J., Behbahani, B. A., & Beigbabaei, A. (2018). *Equisetum telmateia* extracts: Chemical compositions, antioxidant activity and antimicrobial effect on the growth of some pathogenic strain causing poisoning and infection. *Microbial Pathogenesis*, *116*, 62-67.

[36] Noshad, M., Alizadeh Behbahani, B., Jooyandeh, H., Rahmati-Joneidabad, M., Hemmati Kaykha, M. E., & Ghodsi Sheikhjan, M. (2021). Utilization of *Plantago major* seed mucilage containing *Citrus limon* essential oil as an edible coating to improve shelf-life of buffalo meat under refrigeration conditions. *Food Science & Nutrition*, *9*(3), 1625-1639.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-23]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.154.78]

Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Nutritional and mineral contents of *Inocutis levis* and antioxidant activity of its fermented mycelia

Mohaddeseh Moghaddam[1], Masoomeh Ghobad-Nejhad[2*], Mahdi Moridi Farimani[3*]

1,2- Department of Biotechnology, Iranian Research Organization for Science and Technology (IROST), Tehran 3353136846, Iran.

3-Department of Phytochemistry, Medicinal Plants and Drug Research Institute, Shahid Beheshti University, Tehran 198396411, Iran.

ARTICLE INFO

Article History:
Received: 2023/12/24
Accepted:2024/6/1

Keywords:

polypore fungi,

mycelium cultivation,

antioxidant,

nutritional value.

DOI: 10.22034/FSCT.21.154.78.

*Corresponding Author E-ghobadnejhad@gmail.com

mmfarimani@gmail.com

ABSTRACT

The Elm polypore mushroom *Inocutis levis* is a macroscopic basidiomycete belonging to the Hymenochaetaceae family. Many members of this family have been of interest to researchers due to their medicinal and nutritional properties. Recent investigations have shown some bioactive properties of the fruiting body of *I. levis*. In this research, the nutritional and mineral composition of *I. levis* and the antioxidant activity of its mycelial extract have been investigated for the first time. Nutritional composition was determined according to AOAC method and mineral content was determined using ICP-MS. Mycelium cultivation was performed in PDA and then in PDB medium. Antioxidant activity of the fruiting body and mycelial extracts was evaluated via ABTS and DPPH assays. According to the results, *Inocutis levis* contains 14.2% protein, 73.7% carbohydrates (including 59.7% fiber), and a significant amount of minerals (11.6%) including potassium, phosphorus, magnesium, and iron. The concentration of lead and cadmium in *I. levis* is at the safe level, but the Health Risk Index (HRI) values of mercury and arsenic exceed the safe level. Although *I. levis* fruiting body extracts had a higher free radicals inhibitor activity, due to the significant yield of the mycelium extract and also the ease of cultivation, the cultured mycelium of this mushroom can be considered as a potential source of bioactive compounds. To apply this mushroom in food and pharmaceutical industries, a deeper investigation of the compounds of *I. levis* is suggested.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-23]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.154.78]