

SZENT ISTVÁN EGYETEM

**BAZÍDIUMOS NAGYGOMBÁK
ANTIOXIDÁNS HATÁSÚ BIOAKTÍV ANYAGAI**

KRÜZSELYI DÁNIEL

GÖDÖLLŐ

2018

A doktori iskola megnevezése: Biológiai tudományi Doktori Iskola

Tudományága: Biológiai tudományok

Vezetője: **Dr. Nagy Zoltán**

Egyetemi tanár, DSc

SZIE, Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar

Növényteni és Ökofiziológiai Intézet

Témavezetője: **Prof. Dr. Vetter János**

Egyetemi tanár, DSc

Állatorvos tudományi Egyetem

Növényteni Tanszék

.....
Az iskolavezető jóváhagyása

.....
A témavezető jóváhagyása

TARTALOMJEGYZÉK

JELÖLÉSEK ÉS RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE	5
1. BEVEZETÉS	6
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	9
2.1. A gombák helye az élővilágban	9
2.2. A világ gombatermesztése	10
2.3. A gombák táplálkozásbiológiai jelentősége.....	12
2.4. Szabadgyökök és antioxidánsok.....	22
3. ANYAG ÉS MÓDSZER.....	32
3.1. A vizsgálatok helye és menete	32
3.2. A vizsgált gombák	32
3.3. A minta-előkészítés lépései: a begyűjtéstől a tárolásig	35
3.4. Extrakciós eljárások összehasonlítása	36
3.5. Vizsgálati módszerek.....	38
3.5.1. A gombaminták összfenoloid-tartalmának meghatározása	38
3.5.2. Az összflavonoid-tartalom mérési módszere	39
3.5.3. Az antioxidáns-aktivitás meghatározásának módszere	39
3.5.4. Tartósítási eljárások hatásának vizsgálata	41
3.5.5. Vékonyréteg kromatográfia	43
3.5.6. Szilárd fázisú extrakció (SPE)	45
3.5.7. HPLC-DAD-ESI-MS.....	46
3.5.8. Az izolált anyag pontos tömegének meghatározása ESI-TOF-MS technikával	47
3.5.9. Mágneses magrezonancia és cirkuláris dikroizmus spektroszkópia	48
3.6. Az értékelés matematika módszerei	49
4. EREDMÉNYEK	50
4.1. Az előkísérletek eredményei	50
4.1.1. A termőtest részek tömegarányai	50
4.1.2. Az extrakciós eljárások összehasonlítása	51
4.2. A gombák összfenoloid és összflavonoid-tartalma és antioxidáns aktivitása	53
4.2.1. A gombafajok összehasonlítása	53
4.2.2. A termesztett gombafajok törzseinek értékelése	58
4.2.3. A gombafajok termőtest részeinek összevetése	62
4.3. Hatásvizsgálatok eredményei.....	67
4.3.1. A tartósító eljárások hatása a gombák fenoloid-tartalmára.....	67

4.3.2.	A tartósító eljárások hatása a gombák flavonoid-tartalmára	69
4.3.3.	A tartósító eljárások hatása a gombák antioxidáns aktivitására	70
4.4.	Vékonyréteg kromatográfiás eredmények.....	72
4.4.1.	TLC-DPPH eredmények	72
4.4.2.	Származékképzéssel kapcsolatos eredmények	74
4.4.3.	Izolálás és SPE.....	75
4.5.	Nagyműszeres analitikai technikákkal elért eredmények	77
4.5.1.	Antioxidáns anyagok kimutatása DPPH–HPLC-DAD módszerrel.....	77
4.5.2.	Az aktív anyagok jellemzése HPLC-DAD-ESI-MS-el.....	82
4.5.3.	Az aktív komponensek mennyiségi összehasonlítása a különböző gombafajok és frakciók esetében	83
4.5.4.	Az ESI-TOF-MS eredmények	86
4.5.5.	Az NMR-vizsgálat és a CD spektroszkópia eredményei	87
4.6.	ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK	89
5.	KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK.....	90
6.	ÖSSZEFOGLALÁS.....	93
7.	SUMMARY	95
MELLÉKLETEK		97
1.	MELLÉKLET – IRODALOMJEGYZÉK	97
2.	MELLÉKLET – ÁBRAJEGYZÉK	111
3.	MELLÉKLET – TÁBLÁZATJEGYZÉK	114
4.	MELLÉKLET – A biológiai redox-homeosztázis részletének sematikus ábrája	115
5.	MELLÉKLET – Fenoloidok osztályzása (C-atom szám alapján)	116
6.	MELLÉKLET – Vékonyréteg kromatográfiás felvételek 254 és 366 nm-en.....	117
7.	MELLÉKLET – Derivatizálási eredmények	118
8.	MELLÉKLET – MS/MS fragmentációs eredmények	119
KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....		120

JELÖLÉSEK ÉS RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

- **ACN** – acetonitril
- **ANOVA** – varianciaanalízis
- **CD** - circular dichroism spectroscopy, cirkuláris dikroizmus spektroszkópia
- **DAD** – diódasoros detektor
- **DPPH** – 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil
- **ESI** – electrospray ionisation, elektropray ionizáció
- **EtAc** – etil-acetát
- **EtOH** – etanol
- **FAO** – Food and Agriculture Organization of the United Nations, Élelmezésügyi és Mezőgazdasági Világszervezet
- **g/ttkg** – gramm/testtömeg kilogramm
- **Hex** – n-hexán
- **HPLC** – high performance liquid chromatography, nagy hatékonyságú folyadékromatográfia
- **m/z** – tömeg/töltés
- **MeOH** – metanol
- **NMR** – nuclear magnetic Resonance, mágneses magrezonancia spektroszkópia
- **R_f** – retention factor, retenciós faktor
- **RNS** – reactiv nitrogen species, reaktív nitrogényökök
- **ROS** – reactive oxigen species, reaktív oxigényökök
- **rpm** – fordulat/perc
- **Rt** – retention time, retenciós idő
- **SPE** – solid phase extraction – szilárd fázisú extrakció
- **sz.a.** – szárazanyagtartalomra vetítve
- **TLC** – thin-layer chromatography, vékonyréteg kromatográfia
- **TOF-MS** – time of flight, repülési idő tömeganalizátor
- **Tol** – toluol
- **TPC** – total phenolic content, összfenoloid-tartalom
- **UV** – (ultraviolet) ultraibolya fénytartomány

A gombafajok megnevezésekor az *Index Fungorum* (CABI, 2017) oldal adatbázisában található ma érvényes fajneveket használtam fel. A disszertációban szereplő vegyületek szerkezeti képleteit a *Royal Society of Chemistry* által gondozott www.chemspider.com -ről töltöttem le. A külön nem jelölt szerzői fotók, saját felvételek.

1. BEVEZETÉS

A gombák, legyenek azok mikroszkópikusak vagy makroszkópikusak, a történelem során az ember életével teljesen összefonódtak. Már őseink is ismerték a termőtestes nagygombákat, melyek számos funkciót töltek be, gondoljunk csak a Hauslabjochi emberre vagy közismertebb nevén Ötzire, a jégemberre, akinél nyírfatapló gombát (*Piptoporus betulinus* (BULL.) P. Karst. 1881) és bükkfataplót (*Fomes fomentarius* (L.) Fr. 1849) találtak, melyeknek vagy gyógyászati, vagy tüzgyújtási célja lehetett (PEINTNER et al., 1998).

A gombákról szóló, körülbelül 2000 évvel ezelőttre tehető első írásos emlékek arról tanúskodnak, hogy nemcsak táplálkozási, hanem gyógyászati célokat is szolgáltak. Ezen szervezetek felhasználása (gyógyászati célra) kiemelkedő jelentőségű a tradicionális kínai orvoslásban. A gombákat elsősorban a vadon termő példányok gyűjtésével szerezték be (CHANG & MILES, 2008). A bizonyított gombatermesztés a XVI. századra keltezhető (kb.: 1650-re), helye: Franciaország. A termesztésbe vont első faj, a kétspórás csiperkegomba (*Agaricus bisporus* (J. E. LANGE) Imbach 1946) volt, amelyet a laskagomba (*Pleurotus ostreatus* (JACQ.) P. Kumm. 1871) követett. A csiperketermesztés mellett Ázsiában a shiitake (*Lentinula edodes* (BERK.) Pegler. 1976) extenzív termesztése indult el (PEGLER, 2003). A nagyüzemi termesztéssel párhuzamosan e gombák kutatásai is elindultak, mivel a kutatáshoz eddig nem állt rendelkezésre elegendő alapanyag, illetve elsősorban a mérgező gombák vizsgálatára helyezték a hangsúlyt. A kutatások gerincét a gazdasági érdekek – a gombák beltartalmi értékeinek megismerése, illetve a termesztés potenciáljának növelése – adták (CHEUNG, 2010).

Az ázsiai orvoslás módszereinek terjedésével viszont egy merőben új irány is meghatározta az akkori tudományos érdeklődést. Az 1930-as években a mikrobiológiai kutatásoknak is köszönhetően megindult az intenzív gombatermesztés, mivel ekkor már megteremthetőek voltak azok az elengedhetetlen feltételek (pl.: páratartalom szabályozás, nagy mennyiségű alapanyag), amelyek a minőségi és nagymennyiségű gombatermesztéshez szükségesek. Mindezek nyomán az orvosi kutatások a termőtestes nagygombák gyógyászati hatásaival is elkezdtek foglalkozni, elsősorban a keletről importált shiitake gombával (HOBBS, 2000).

Napjainkra a mikológiai biokémia egy teljesen új tudományterületté nőtte ki magát, közel 100 gombafaj vizsgálatával (FERREIRA et al., 2009). Általánosságban elmondható, hogy a vizsgálatok a termőtest (esetlegesen a kalap és tönk) kivonatainak hatásaira fókuszálnak. A XX. század végén a termesztés elterjedésével párhuzamosan a hifák szövetekével, a micéliummal is kísérletek kezdődtek. Ekkor kezdték el vizsgálni azokat az anyagokat, amelyek nem az önfenntartáshoz szükséges anyagcsere termékei, hanem más, időleges funkciókat segítenek.

Ilyenek például a kelátképző vegyületek (fémekkel komplexet alkotnak), a spóra csírázását, illetve a hifa növekedését serkentő anyagok vagy melyek bizonyos anyagszere szakaszokban a szubsztrát-felesleg továbbalakítását célozzák (GRIFFIN, 1994).

A vizsgálatok számos bioaktív anyagot mutattak ki a gombák esetében, melyek hatásai szerteágazóak, ilyenek többek között: az antioxidáns, az antibakteriális, az antivirális, a gyulladáscsökkentő, az immunstimuláns, a tumorgátló, a koleszterin-csökkentő és az egyéb specifikus hatások (WASSER, 2011). A terápiás célokat is szolgáló vegyületek általában kis molekulájú peptidok vagy makromolekulák (pl.: poliszacharidok). A gombákban kimutatott fenoloid és flavonoid származékok a prevencióban (az egészség megőrzésében, illetve a betegségek megelőzésében) játszhatnak szerepet. Ilyen vegyületeket mind a természetben, mind pedig a vadon termő fajokban kimutattak már (ALVAREZ-PARRILLA et al., 2007; GEÖSEL et al., 2009; LI et al., 2012).

Alapvető tendencia, hogy egyre több ilyen anyagot ismerünk meg az évek során. Az ázsiai országokban (döntően Kínában, Dél-Koreában és Japánban) élen járnak a gombák gyógyászati célú bioaktív anyagainak feltérképezésében. Jelenleg is egyre több olyan gombafajt (*Ganoderma lucidum* (CURTIS) P. Karst. 1881, *G. tsugae* MURRILL. 1902) természetben nagyüzemileg (nem étkezési célra), amelyek kivonata preventív vagy terápiás célokat szolgáló vegyületeket tartalmaz. A gombák másodlagos anyagszere-termékeit még mindig nem sikerült teljes mértékben feltárni, még egy adott faj esetében sem. A gombák hatóanyagait elemző kutatások mai irányzatai éppen ezeket az anyagokat célozzák meg.

A témának – tudományos érdekességei és sokszínűsége mellett – van egy másik fontos és nem elhanyagolható vonatkozása is. Egyes gombák ma már por, kapszula és tablettá formájában is elérhetőek, fogyaszthatóak. A kedvelt és így is fogyasztott gombák közé sorolható a pecsétviaszgomba (*Ganoderma lucidum*), a süngomba (*Hericium erinaceus* (BULL.) Pers. 1797) és a shiitake (*Lentinula edodes*). Az ilyen termékek minőségbiztosítását nem lehet kellőképpen megvalósítani, irányadó hatóanyag-tartalom értékek nélkül. A fogyasztók egyre inkább a természetes anyagokat keresik, mivel ezek a kivonatok, kapszulázott termékek és teák jelentős és jótékony egészségügyi hatásúak, viszont nincs komolyabb zavaró vagy káros mellékhatásuk.

Napjainkban a különleges gombák, illetve a felfedezett új vegyületek száma napról napra nő, a mikoterápia (a gombahatóanyagok gyógyászati felhasználása) egyre nagyobb teret kap, ami az internetnek, a globalizált kereskedelemnek és az egészséges életre való törekvésnek is köszönhető. A témakört érintő további kutatások hozzájárulhatnak a táplálkozásunkban egyre jelentősebb, manapság gyakran „super food”-nak említett gombák jobb megismeréséhez és tudatosabb hasznosításukhoz.

A doktori munka célkitűzései

A doktori munkám tárgyát az egyes gombák antioxidáns hatású anyagai és ezen anyagok össz mennyisége, illetve a termőtesten belüli eloszlásának megismerése képezi. A gombák antioxidáns vegyületei közül a fenoloidokat vizsgáltam behatóbban.

Céljaim egyike a gombákra vonatkozó, általánosan alkalmazható mintavételi és minta-előkészítési módszertan kidolgozása volt. A szakirodalomban leírt különféle extrakciós eljárások közötti különbségeket is vizsgáltam a mérhető paramétereken keresztül.

Az eddigi hagyományos tagolás (kalap-tönk) helyett, a gombakalapokat további morfológiai részeire osztottam fel, hiszen a kalap bőrre, húsrá és termőlemezekre bontható. A kalapbőr és a termőlemezek külön kezelése és vizsgálata várhatóan új hatóanyagok felfedezéséhez is vezethet. Az összfenoloid-tartalom mellett az összflavonoid-tartalmat, illetve az antioxidáns aktivitást (szabadgyök-kötőképesség révén) is mértem a gombák termőtesteiben és azok különböző részeiben egyaránt. Vizsgálataim célja volt még a teljes termőtestek és primordiumok közötti különbségek feltárása is.

A további kutatási célok között szerepelt ezen anyagok mennyiségének meghatározása különböző termesztett gombatorzsek esetében. A vizsgálatokhoz számos fajt és termesztett törzset sikerült beszereznem.

A különböző tárolási és tartósító módszerek hatását is vizsgáltam, mely az antioxidáns anyagok mennyiségének mérését jelentette, kiemelve az élelmiszeriparban gyakran alkalmazott eljárásokat: a különböző hőmérsékleten történő szárítást; a különböző időtartamú hűtve tárolást és fagyasztást; sós, ecetes és natúr konzerválást, illetve a mikrohullámú melegítést.

Terveim között szerepelt a kisműszeres mérések követő, vékonyréteg kromatográfias vizsgálatok elvégzése. Ezzel a módszerrel, az antioxidáns aktivitással rendelkező vegyületek feltérképezése volt a célom. Nagyműszeres analitikai mérések segítségével az antioxidánsok kimutatását, az aktív anyagok jellemzését és mennyiségi összehasonlítását is terveztem. Egyes aktív anyagok izolálását is megkíséreltem, melyhez szilárd fázisú extrakciós protokollt fejlesztettem, majd ezt követően különböző nagyműszeres vizsgálatok segítségével az adott vegyület szerkezetének meghatározására is sor került.

A kísérletek során mért adatok egységesítését és egy adatbázis létrehozását is célul tűztem ki, amely lehetővé teszi a gyűjtés, termesztés és felhasználás orientálását a legértékesebb fajok (fajták, hibridek) felé.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. A gombák helye az élővilágban

A gombák (*Fungi*) az élővilág jelentős méretű csoportját alkotják, a tudományosan leírt fajok száma csupán százezer körüli, a feltételezetten létező, de még nem ismert fajokkal együtt számukat egy-két milliósra becsülik (XU, 2016). A gombákat ma az alábbi négy különböző törzsbe soroljuk:

- *Zygomycota* (a járomspórás gombák),
- *Ascomycota* (a tömlősgombák),
- *Basidiomycota* (a bazídiumos gombák),
- *Deuteromycota* (a konídiumos gombák).

Ezekben a rendszertani egységekben számos morfológiai, ökológiai, fiziológiai különbségeket mutató csoport található meg (pl.: a penészgombák, az élesztők, a termőtestes nagygombák, a rozsdagombák és a taplógombák is (BLACKWELL et al., 2006). Sikeresen alkalmazkodtak a legszélsőségesebb környezeti körülményekhez is, egyes fajok a magas só koncentrációt (pl.: *Debaryomyces hansenii* (ZOPF) Lodder & Kreger-van Rij 1984) vagy a savas pH-t (pl.: *Hortaea acidophila*, M. Höfer & de Hoog 2004), sőt az etanol jelenlétét (pl.: *Saccharomyces* nemzetség) is elviselik (HÖLKER et al., 2004, GUNDE-CIMERMAN et al., 2009). Az erősen szennyezett területeken is képesek termőtestet fejleszteni (pl.: *Boletus* és *Russula* nemzetség fajai), mivel a nehézfémeket sokuk képes megkötni (WONDRATSCHEK et al., 1993).

A gombák valódi sejtmaggal rendelkező, eukarióta élőlények. Zöld színtesteket nem, viszont a növényekhez hasonlóan vakuólumokat fel lehet fedezni a sejtekben, másik „növényi” tulajdonságuk, hogy sejtfaluk is van.

A gombák heterotróf (kilotróf), kemoorganotróf táplálkozású, parazita, szaprobionta vagy szimbiotikus (mikorrhizás) életmódot folytató szervezetek. Aerob és fakultatív anaerob, sőt szigorúan anaerob (pl.: *Neocallimastix* nemzetség) fajokat is leírtak (ORPIN, 1975).

Sejtjeik fonalakat, az ún. hifákat alkotják, melyek szövedéke az ún. micélium, ezek egyes fajok (taxonok) esetében termőtestet is képeznek. A sejtfal jellemző alkotóeleme, a kitin (β -1,4-N-acetil-glükózamin polimer) és további poliszacharidok, mint pl. a glükánok (BARTNICKI-GARCIA, 1968). A hifák válaszfalai a szeptumok, melyeken pórusok helyezkednek el, ezek a képletek lehetnek egyszerűek, mint az *Ascomycetes*ekben, míg a *Basidiomycetes*ek esetében a pórusok összetettek és csőszerűek (ún.: dolipórusok). Megjegyzendő, hogy a bazídiumos nagygombák termőteste dikariotikus (két sejtmagvú) hifákból, micéliumokból áll (WESSELS, 1994).

A gombák szaporodása a legváltozatosabb, életciklusukban ivaros és ivartalan folyamatok egyaránt fellelhetőek, egyes csoportjainak szaporodási ciklusa (*Fungi Imperfecti* – *Deuteromycota*) napjainkban sem tisztázott, illetve csak részben ismert (KENDRICK, 1971). A bazídiumos nagygombák ivaros szaporodása (mely ciklust szomatogámiának nevezzük) primer hifákkal (spórákból kifejlődő hím és női jellegeket mutató hifa) valósul meg. A primer hifák összeolvadása során, sejtmagfúzióra nem kerül sor, ellenben a sejtplazma egyesül. Az összeolvadás végére két sejtmagvas sejtekből álló, ún. szekunder hifák figyelhetőek meg. A szekunder hifák szövődése a micélium (SZARVAS, 2002; 2003). A termőtest képződés folyamata során a micéliumok rendeződése után kialakulnak a primordiumok (termőtest kezdemények), majd a további fejlődés során létrejönnek a kifejlett termőtestek.

2.2. A világ gombatermesztése

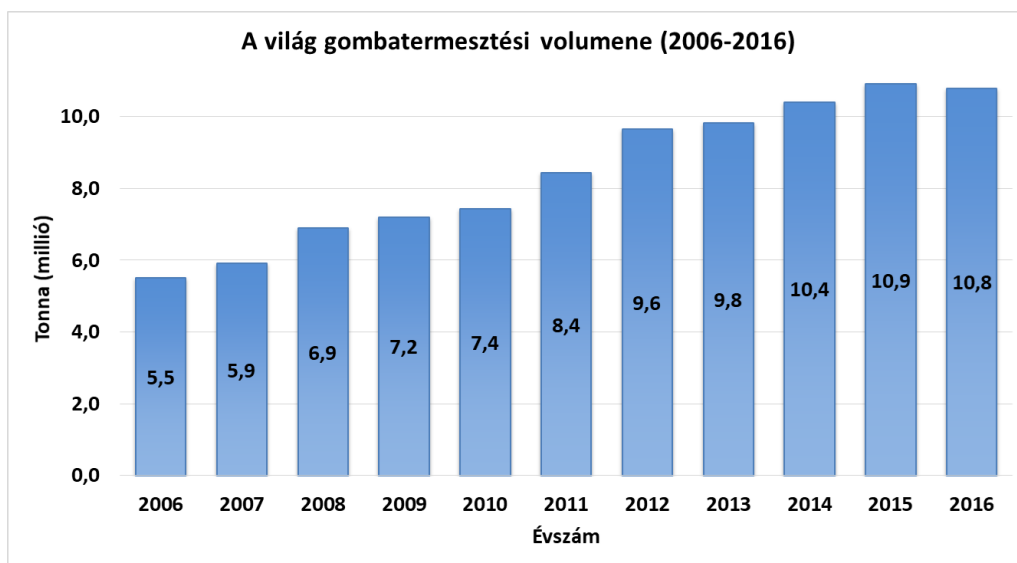
A gombatermesztés napjainkban az egyik legdinamikusabban fejlődő élelmiszertermelő ágazat a világon, melyhez az elmúlt években megfigyelhető fogyasztás növekedés is jelentősen hozzájárult, 1 kg/fő/év értékről, 4 kg/fő/év értékre nőtt a gombafogyasztás (ROYSE, 2014). A növekedéshez hozzájárult a vegán életmód térhódítása illetve, az egészséges és organikus ételek növekvő fogyasztása. (FRUITVEB, 2017) A világ gombatermesztése öt gombanemzetség köré szerveződik (%-os eloszlásban):

- 30% - *Agaricus* nemzetség (főként az *A. bisporus*, illetve az *A. blazei*),
- 27% - *Pleurotus* nemzetség (*P. citrinopileatus*, *P. djamor*, *P. eryngii*, *P. ostreatus hibridjei*),
- 17% - *Lentinula edodes*,
- 6% - *Auricularia* nemzetség,
- 5% - *Flammulina* nemzetség,
- 15% - egyéb gombafajok.

A legnagyobb gombatermesztő országok: Kína, az Egyesült Államok, Japán, Hollandia, Lengyelország, Spanyolország, Franciaország, Olaszország, Írország, Kanada és az Egyesült Királyság. A három legnagyobb termeszto ország közül, Kína kiemelkedő potenciájú, mivel a teljes mennyiség körülbelül 76%-át itt állítják elő. Összehasonlításképpen Magyarország a megtermelt mennyiségével (30-32.000 tonna), csak a világon termelt mennyiség 0,3 %-át teszi ki (FRUITVEB, 2017).

Ázsiában a legfontosabb termesztett fajok a laskagomba-félék, a shiitake, a júdásfülgomba és a téli fülőke, ezt követi a csiperketermesztés. Európában viszont még mindig a csiperkegomba (*Agaricus bisporus*) a piacvezető faj (ROYSE, 2014).

A FAO statisztikái alapján, a világon közel 11 millió tonna friss gombát termesztettek 2016-ban (**1. ábra**), a termesztés folyamatosan évi 8%-kal növekszik.



1. ábra – A világon termesztett gomba össz mennyisége (2006-2016)

(Forrás: <http://faostat3.fao.org>)

Az EU-ban az előállított gombamennyisége 1,119,600 tonna (2016-os adat), melynek nagy részét friss gombaként értékesítették (GEPC, 2016). Európában a piacvezető gombatermesztő, Lengyelország (a teljes mennyiség közel 26%-át állítják elő), mely Hollandiát utasította maga mögé az utóbbi években, ettől eltekintve Hollandia gombaipari szerepvállalása (a technológia és szaktudás tekintetében) vitathatatlan (GEÖSEL, 2018). A csiperke mellett egyre nagyobb az érdeklődés és a kereslet az egzotikus gombák (a különböző laskagomba-félék és a *Flammulina velutipes*) iránt is, jelenleg az egzotikus gombafajok aránya az európai piacon körülbelül 15-20% (FRUITVEB, 2017).

A gombák termesztése hazánkban két adott faj köré szerveződik, a teljes termelés 90-91%-át a csiperkegomba és annak változatai (fehér és barna), illetve a laskagombafajok (7-8%) adják. A fennmaradó 1-2%-ot az egyéb gombafajok (pl.: shiitake, pecsétviaszgomba) termesztése szolgáltatja. A megtermelt hazai gomba jelentős része (30-40%) exportra kerül a környező országokba (FRUITVEB, 2017).

A hazai fogyasztás az utóbbi időszakban jelentősen növekedett, de így is alacsonynak mondható (kb. 1,5 kg/fő/év). Az egzotikus gombák fogyasztása hazánkban is kezd elterjedni és a vadontermő gombák gyűjtése és fogyasztása is egyre népszerűbb (FRUITVEB, 2017).

2.3. A gombák táplálkozásbiológiai jelentősége

Az ember már ősidők óta foglalkozik a vadon termő gombák gyűjtésével és fogyasztásával. A termőtestes nagygombák egyes kultúrákban alapvető élelmiszerforrásnak tekinthetők (COOKE, 1977). A gombák fogyasztása, az első civilizációk kialakulása után háttérbe szorult, mivel a mezőgazdaság és az állattenyésztés adta táplálékforrás jelentős részét. A gombák, így csak gasztronómiai csemegéknek – főleg ízesítőként – számítottak az emberek hétköznapi étkezésében. Napjainkban már nem ez a helyzet – a gombatermesztés elterjedésével – napi étkezési cikként tekinthetünk a gombákra.

Az ehető gombák termőtestei legtöbbször átlagosan 90% vizet és 10%-nyi szárazanyagot (a vizsgálatokat általában porított gombával végzik) tartalmaznak (CRISAN & SANDS, 1978). A természetben élő sok tízezer nagygombafajnak csak töredékét használjuk fel emberi fogyasztásra. Ezt a számot még becsülni sem könnyű, de a nyugati világban 20-25 olyan gombafaj van, amely széles körben elfogadott és élelmiszerként is hasznosul (LINDEQUIST et al., 2005). A vadon termő gombák között számos fajt hasznosítanak, aromaanyagként porítva, ételek (főleg levesek) adalékaként felhasználva (CAGLARIRMAK, 2007).

Mindent egybevetve, a vadon termő gombák is egyre nagyobb szerepet játszanak a táplálkozásban, ez főleg a változatos ízük, illetve a szezonálisuk miatt következett be (MANZI et al., 1999; FRAATZ & ZORN, 2010). A táplálkozás egyre inkább tudatos tevékenységgé válik, így már nem mindegy mit, mikor és milyen mennyiségben fogyasztunk. Az íz, az illat és állag elsődlegesek a táplálkozásban, de emellett előtérbe kerültek a jótékony bioaktív hatású anyagok is (CAGLARIRMAK, 2007). A gombák kiváló táplálkozásbiológiai paraméterekkel rendelkeznek (alacsony zsír-, és Na-tartalom illetve, magas esszenciális aminosav, K-, P- és mikroelem-tartalom jellemzi őket), melyet a következő fejezetben bővebben kifejtek. A bazídiumos gombák (akár vadon termő, akár termesztett) tápanyagai, beleértve az antioxidánsokat is, teljes mértékben megfelelnek a modern táplálkozás követelményeiknek.

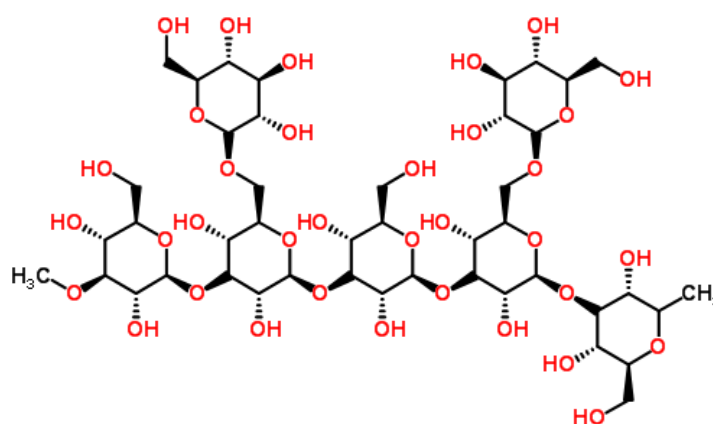
Egyes vizsgálatok szerint a gombaszárítmányból előállított étrend-kiegészítők fehérjealkotói hasonló minőségűek, mint a tiszta állati eredetűeké (GRUEN & WANG, 1982). A táplálék-kiegészítők napi szedése és a fogyasztók igényei miatt kialakult versenyből adódóan, a gomba alapú táplálék-kiegészítők vizsgálata és ellenőrzése elengedhetetlen lenne, ennek ellenére a standardizálási lehetőségek még kezdeti stádiumban vannak (WASSER, 2011). A következőkben ismertetett tényezők az élelmiszeripari felhasználást és az alacsony kalóriatartalmú étrendek kialakítását teszik lehetővé, amely a gombafogyasztást egyre népszerűbbé tette és teszi, erre a letermesztett gombamennyiség folyamatos növekedéséből is következtethetünk.

A bazídiumos gombák szénhidrát és rosttartalma

A vadon termő és termesztett bazídiumos gombák energiatartalma igen alacsony, de szárazanyagra vetített szénhidrát-tartalmuk nagyon jelentős, fajtól függően 16-75% között mozog (KALAC, 2009). A szénhidrát-tartalmat táplálkozásbiológiai szempontból több funkcionális részre oszthatjuk.

A D-glükóz mellett az oligoszacharidok és a poliszacharidok (~15-35%) jelentős mennyiségben vannak jelen (CHEUNG, 2013). A gombák számos speciális cukorszármazékot is tartalmaznak, többek között glikogént, cukoralkoholokat (SANMEE et al., 2003). A cukrok típusa és mennyisége is változó az egyes gombákban, pl.: a mannitolt és a trehalózt a legnagyobb mennyiségben a csíkos bocskorosgomba (*Volvariella volvacea* (BULL.) Singer 1951) és a kései laskagomba (*Pleurotus ostreatus*) tartalmazza (MAU et al., 1997).

A poliszacharidok emészthető és emészthetetlen rost formájában vannak jelen, a legfontosabb képviselői a glükánok és a kitin (MANZI et al., 2001). A kitin olyan nitrogéntartalmú poliszacharid, melynek alapegysége az N-acetil-D-glükózamin és amely β -1,4 kötésekkel egymáshoz kapcsolt homopolimer. Az *Oomycetes* osztályon kívül (melyek sejtfalának fő alkotója a cellulóz), valamennyi gombacsoport sejtfa tartalmaz kitint, ennek feladata a sejtfa szilárdítása és stabilizálása (BARTNICKI-GARCIA, 1968). A glükánok közül a legfontosabbak: a β -glükánok, a homo-, illetve a heteroglükánok (MANZI & PIZZOFERRATO, 2000). Kémiai szerkezetükben meghatározóak a β (1-3), β (1-4) és β (1-6) glikozidos kötések (**2. ábra**).



2. ábra – A lentinán (β -1,3-1,6-glükán) szerkezetének részlete

(Forrás: <http://www.chemspider.com>)

A gombákból származó poliszacharid frakciókkal számos bioaktivitást vizsgáló kutatás foglalkozik. Meghatározták egyes gombákban a poliszacharidok mennyiségét (VETTER, 2007; SIU et al., 2014), igazolták a májvédő (CHEN et al., 2011) és az antioxidáns (SHUANG et al., 2012) hatásukat.

A β -glükánokat bevonták a rákellenes kutatásokba is, sőt prebiotikus aktivitást is kimutattak a laskagombák esetében (SYNYTSYA et al., 2009). A gombák poliszacharidjainak kutatása egyre sokrétűbbé vált, mert az immunstimuláló és preventív hatásai mellett az egyes poliszacharidoknak az antioxidáns hatását is vizsgálni kezdték (KOZARSKI et al., 2011). Az aktivitásukat sokrétűen fejtik ki, mivel szabadgyökfogóként, kelátorként, lipidperoxidáció gátlóként és az antioxidáns enzimrendszer aktiválójaként is működhetnek (ZHANG et al., 2007).

A legjelentősebb poliszacharid frakciók a sejtfal glükánjai. A β -glükánok monomerjei közötti kötések és egyéb szerkezeti eltérések hatnak a különböző glükánok vízdoldékonyságára és biológiai aktivitásukra (VOLMAN et al., 2010). Az *Agaricus bisporus* agaritinje, a *Lentinula edodes* lentinánja, a bokrosomba (*Grifola frondosa* (DICKS.) Gray 1821) D-frakciója és a *Ganoderma lucidum* ganoderánja a legismertebbek és a feltárt szerkezetű gomba poliszacharidok száma napról-napra nő.

Fehérjék a bazídiumos gombákban

A fehérjék az emberi szervezet számára nélkülözhetetlen tápanyagok, mivel a test megfelelő működése és a felépítő folyamatok elképzelhetetlenek nélkülük. Egy átlagos felnőtt napi fehérjeigénye 0,8-2,2 g/ttkg között mozog.

A gombák kiváló fehérjeforrásnak számítanak aminosav összetételük alapján, a száraztömegük kb. 10-44%-át a fehérjék teszik ki. A fehérjetartalom meghatározásához általában a mérhető nitrogéntartalmat szorozzák meg egy klasszikus faktorról, ami egységesen 6,25 volt minden biológiai objektumra (KJELDAHL, 1883). A gombák esetében viszont kiderült, hogy ez a faktor nem alkalmazható, mivel a nem fehérje alkotó nitrogén mennyisége magasabb, mint a többi vizsgált szervezetben, így a 6,25-ös faktorról irreálisan magas nyersfehérje tartalom számítható. A magasabb nitrogén-tartalom a kitinből származik, így a nitrogén mennyiségéhez tartozó faktort arányosan 30 %-kal, 4,38-ra csökkentették (KURKELA et al., 1980; VETTER, 2010).

Az esszenciális aminosavak (az emberi szervezet számára: Phe, His, Ile, Leu, Lys, Met, Thr, Trp, Val) az összfehérje-tartalomra vonatkoztatva kiugróan magas arányban vannak jelen, annak közel 25-40%-át teszik ki (BANO et al., 1981; ALETOR, 1995). Természetesen tartalmazznak nem esszenciális aminosavakat (pl.: Gly, Arg, Pro, Ser) is, melyek szintén fontosak a növekedéshez és a regenerációhoz (LEÓN-GUZMANN et al., 1997).

FRIEDMAN (1996) kutatásai során a fehérjetartalom meghatározásának kérdéseit vizsgálta és a különböző fehérjeforrások összehasonlítását végezte el. A gombák fehérjetartalmát és összetételét, a növényi fehérjékhez képest jobbnak ítélte meg, emellett a gombák esszenciális aminosav összetétele az állati fehérjékhez közelít.

A fehérjetartalmat számos tényező befolyásolja a vadon termő gombák esetében:

- a termőhelyi sajátosságok,
- a termőtest fejlődési fázisa,
- a rendszertani hovatartozása,
- termesztett gombafaj esetében a törzs (WEAVER et al., 1977),
- a szubsztrátum típusa (BISARIA et al., 1987) és
- a tárolás körülményei is (HAMMOND, 1980).

A földalatti gombák (pl.: szarvasgombák) esetében kiugróan magas a lizin és a kéntartalmú aminosavak aránya (COLI et al., 1988). A gombák számos peptidet, fehérjét és fehérjeszármazékot tartalmaznak, azonosításuk és jellemzésük folyamatosan kutatások tárgya. Számos gombaszpecifikus (gombák által termelt) peptidet találtak, melyek erős antifungális (WANG & NG, 2004) és antibakteriális hatásúak (ERJAVEC et al., 2012).

A legtöbbet vizsgált gombafehérjék az ún. lektinek, vagyis a szénhidrátokhoz kapcsolódni képes fehérjék. Ezen vegyületek szerkezete és glikoziláltságuk foka igen különböző (NIKITINA et al., 2007). Élettani jellemzőik is igen változatosak. Gyógyászati jelentősége van még az előzőekben felsoroltakon kívül, az immunmoduláló fehérjéknek (FIP) is (EL ENSHASY & HATTI-KAUL, 2013).

A bazídiumos gombák zsírsavtartalma és egyéb zsírsav származékai

Zsírsavaknak hívjuk azokat a karbonsavakat, melyek hosszabb, nyílt láncú, el nem ágazó, telített vagy telítetlen alifás szénláncot tartalmaznak, melyek a növényi olajok és állati zsírok fő alkotóelemei (IUPAC, 1997). A zsírsavak általában kötött formában vannak jelen, mint például a foszfolipidek (foszforsav észterei) vagy a trigliceridek (a glicerin és különböző zsírsavak észterei). A zsírsavak a sejtmembránok legfontosabb alkotóelemei.

A zsírsavak vizsgálata, számos termőtestes nagygomba esetében is fontos a biokémiai, a taxonómiai és a táplálkozástudományi aspektusai miatt. A zsírsav-összetétel fontos határozóbélyege is lehet egy-egy gombafajnak (DIEZ & ALVAREZ, 2001). A gombák lipidjeinek feltérképezése és arányuk meghatározása számos tudományos munka témája, termesztett és vadon termő fajokat egyaránt vizsgálták (ABUGRI et al., 2012). A gombák száraztömegre vetített zsírsav-tartalma kifejezetten alacsony, 2-8% között változik (BARROS et al., 2007a).

A gombák sejtfalában és sejtjeiben találhatóak olyan zsírsavszármazékok, melyek a sejtmembránok építőkövei is. A kis mennyiségű zsírsav-frakció viszont igen diverz, mivel különböző zsírsavakat (jelentősebb mennyiségben: linolsav, palmitinsav és sztearinsav), emellett

számtalan zsírsav származékot (mono-, di- és trigliceridek, szterinek, szterin-észterek és foszfolipidek) tartalmaz (MANZI et al., 1999). A linolsav az összes zsírsav jelentős, közel 65-75%-át adja (LONGVAH & DEOSTHALE, 1998). A vadon termő gombákban kifejezetten magas a többszörösen telítetlen zsírsavak aránya, de linolénsavat nagyon kis mennyiségben mutattak ki különböző gombákban (YILMAZ et al., 2006).

A zsírsav szintézis biokémiai útvonalán képződnek azok a prekursorok, melyek végtermékeként a gombák jellegzetes aromaanyagait kapjuk, pl.: 1-oktén-3-olt, amelyet ún. „gomba alkoholként” definiál a szakirodalom (MAGA, 1981). Ezen komponensek aránya bizonyítottan csökken a tárolás, főzés és feldolgozás során (LEE et al., 2009). A zsírsav-összetételt a termesztés során is befolyásolhatjuk, mivel a termesztési hőmérséklet hatással van a különböző telített és telítetlen zsírsavak képződésére és arányára (PEDNEAULT et al., 2006). Emellett az adott gombafaj fejlődési fázisa során mérhető zsírsavarányok is igen változatosak, pl.: a tejelőgomba (*Lactarius spp.*) fajok fejlődése során a telített zsírsavak aránya erősen csökken, miközben az egyszeresen és többszörösen telítetlen zsírsavak aránya megnő (BARROS et al., 2007c).

Ásványi anyagok a bazídiumos gombákban

Az első ismert tudományos közlés ebben a témában 1907-re datálható, melyet ZELLNER közölt könyvében, ezt követően csak 1929-ben jelent meg a következő cikk, amely a tarka fenyőtinóru (*Suillus variegatus* (SW.) Richon & Roze 1888) nyomelem összetételével és a kiemelkedő Fe-tartalmával foglalkozott (FRIESE, 1929). A makrogombák ásványi összetételével az 1970-es évek második felében kezdtek el behatóbban foglalkozni, mivel a gombák ásványi anyagainak fiziológiájáról kevés ismeret állt rendelkezésre (DRBAL et al., 1975).

A gombák fémakkumulációja többlépcsős és sokrétű mechanizmus, a baktériumok antibiotikumokkal szembeni védekezéséhez hasonló. A nehézfém-megkötés a környezeti feltételekhez való adaptációnak fogható fel, mert genetikailag szabályozott, több enzim és fehérje részvételével létrejövő bioakkumulációs folyamat (GADD, 1993).

A nehézfém ionok megkötése fiziológiai szempontból kiemelt jelentőségű, mert a nehézfém ionok az enzimeket és egyéb fehérjéket nem specifikusan gátolják, így a micélium növekedés is gátlódna. A gombasejteken találhatóak úgynevezett fémkötő-receptorok, melyek aktiválásával különböző fémkötő fehérjék termelődése indukálódik. Ezek egy része a sejtfalhoz kötötten helyezkedik el (a fémionok egy része a sejtfalban raktározódik), a másik részük pedig az extracelluláris enzimmekkel együtt működik, mivel a nehézfém ionok a lebontóenzimek működését is gátolják. Az extracelluláris enzimszisztéma védelmét szolgálja továbbá a szerves savak termelése is (pl.: az oxálsav vagy citromsav), mert erős fémion-kötő tulajdonságaik vannak, de e mechanizmus fajfüggő (MEHARG, 2003).

Ha a nehézfém ionok bejutnak a sejtbe, a legegyszerűbb esetben efflux-pumpa segítségével kilökődnek a környezetbe (CLEMENS & SIMM, 2003). Ha ez nem történik meg, ún. fitokelatin kezd szintetizálódni (fitokelatin-szintáz segítségével), illetve a glutation (GSH) és a metallothioneinek is képesek a fémionok megkötésére. A megkötött fémionok a fitokelátor és glutation molekulákról a vakuólumba kerülnek és itt raktározódnak. Ezen folyamatok teszik lehetővé, hogy a termőtestek szerkezeti károsodás nélkül legyen képesek nehézfémeket felhalmozni (GADD & SAYER, 2000; SEREGIN & IVANOV, 2001; POCSI et al., 2004).

A termőtestes nagygombák jelentős mennyiségben tartalmaznak különféle mikro- és makroelemeket (átlagosan 60-120 mg/g), de a különböző elemek koncentrációja a termőtestekben fajspecifikus (**1. táblázat**). Az elemösszetétel függ továbbá a termőtest méretétől és korától, illetve az éghajlati viszonyoktól és a talaj elemösszetételétől is (DEMIRBAS, 2001).

1. táblázat – A gombák egyes makro és mikroelem-tartalma (µg/g sz.a.)

Vegyjele	Mennyiség (µg/g)	Jelentős mennyiséget tartalmazó gombafaj	Hivatkozás
Makroelemek			
Ca - kalcium	600 - 5000	<i>Ganoderma lucidum</i>	
K - kálium	4000 - 51.000	<i>Agaricus bisporus</i>	
Mg - magnézium	500 - 2000	<i>Pleurotus ostreatus</i>	KALAC, 2013; VETTER, 2010
Na - nátrium	100 - 500	<i>Agaricus bisporus</i>	
P - foszfor	5.0 - 10.0	<i>Lepista spp.</i>	
Mikroelemek			
Co - kobalt	0.1 - 3.0	<i>Agaricus arvensis</i>	GARCIA ET AL., 2013
Cr - króm	0.88 - 5.8	<i>Coprinus comatus</i>	
Cu - réz	10.0 - 70.0	<i>Macrolepiota procera</i>	
Fe - vas	30.0 - 150.0	<i>Suillus spp.</i>	FALANDYSZ & BOROVICKA, 2013
Mn - mangán	5.0 - 60.0	<i>Agaricus spp.</i>	
Se - szelén	0.01 - 20	<i>Agaricus bisporus</i>	REZANKA & SIGLER, 2008
Zn - cink	25 - 240	<i>Leccinum scabrum</i>	FALANDYSZ ET AL., 2007
Nehézfémek			
Al - alumínium	8.5 - 365.0	<i>Amanita rubescens</i>	RUDAWSKA & LESKI, 2005
As - arzén	0.26 - 15.9	<i>Thelephora terrestris</i>	SLEJKOVEC ET AL., 1997
Cd - kadmium	0.16 - 101.0	<i>Agaricus macrosporus</i>	COCCHI ET AL., 2006
Hg - higany	0.08 - 8.05	<i>Agaricus bitorquis</i>	
Ni - nikkell	1.0 - 15.0	<i>Laccaria amethystina</i>	KALAC, 2013
Pb - ólom	0.54 - 10.6	<i>Calvatia utriformis</i>	COCCHI ET AL., 2006

A jelentős fémakkumulációs képesség, a gombák különleges tulajdonsága, melynek hasznossága (fontos nyomelemek, pl.: Se, Cr, Fe) mellett a veszélyei (mérgező fémionok, pl.: Cd, Pb, Hg, As) is fennállnak (VETTER, 1994). A vadon termő gombafajok mikroelemtartalma általában magasabb a termesztettekénél, viszont számos és jelentős mennyiségű nehézfém is tartalmazhatnak (a nehézfémekkel szennyezett területeken gyűjtött termőtestekben ez általános) (KOJTA et al., 2012). Meglepő volt, mikor ZRODLOWSKI (1995) vizsgálatai során a nehézfém mennyiség csökkenéséről (közel 30-40%) számolt be a gombatermőtestek mosását és tisztítását követően.

A gombák kiemelkedő makroelem tartalmúak, jellemzően a kálium (K), a magnézium (Mg), a kalcium (Ca), a foszfor (P), illetve a réz (Cu), a vas (Fe), a cink (Zn) mikroelemek mennyisége jelentős, ezek adják a hamutartalom 65-70%-át vagy akár nagyobb részét is (MATTILA et al., 2001). A kálium tartalom kiemelkedik a csoportból, mivel a hamu 45%-át teszi ki. A nátrium és kalcium-tartalom közel azonos mennyiséget tesz ki a gombákban.

Egyes mikro- és nyomelemek (pl.: a szelén – Se; a vas – Fe, a réz – Cu) a gombákban nagyobb koncentrációban vannak jelen, mint a zöldségekben és gyümölcsökben. Kiemelkedő a mangán (Mn), a cink (Zn), a króm (Cr) és szelén (Se) tartalom, hiszen e nyomelemek rendkívül fontosak az emberi anyagcsere normális működéséhez. A napi ajánlott beviteli mennyiség mangánból 2-4 mg, cinkből 15 mg, krómból 200 µg és a szelénből 100 µg (RAYMAN, 2008). Megállapítható, hogy a rendszeres gombafogyasztással minden mikroelemet és nyomelemet biztosíthatunk a szervezet számára.

A bazídiumos gombák vitamin-tartalma

A kutatások alapján a gombákra vitaminforrásként is tekinthetünk, mert számos olyan vitamint tartalmaznak megfelelő mennyiségben (különösen B-vitaminokat), amelyeket külső forrásból kell bevinni az emberi szervezet számára (BREENE, 1990). A korábbi kutatások csak az egyes vitaminok jelenlétének kimutatására korlátozódtak, majd a technikai háttér fejlődésével a kis mennyiségben jelen lévő fontos vitaminok kvantitatív mérése is lehetővé vált.

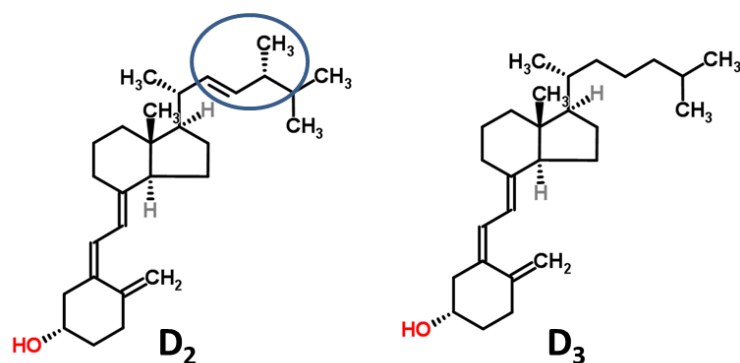
A vitaminok egyes képviselői antioxidánsok is, a C-vitamin a szabadgyökök lekötését végzi, az E-vitaminnak a lipidperoxidáció gátlásában van szerepe (CHEW, 1995; LIU et al., 2008). Az egyes vitaminok mennyisége a gombákban igen sok tényező függvénye: fajspecifikus és termőhelyi adottságok is erősen befolyásolják.

A gombák és a zöldségek között a csiperkének és a laskagombának a legkiemelkedőbb a riboflavin-tartalma (FURLANI & GODOY, 2008). A gombák legnagyobb mennyiségben B₂- és B₃-vitamint, illetve folsavat tartalmaznak, melyek mennyisége 1,8-5,1 mg/g (B₂); 31-65 mg/g (B₃) és 0,3-0,64 mg/g (folsav) között változik (MATTILA et al, 2001). A B₂-vitamin elsősorban a szénhidrátok energiává alakításában játszik jelentős szerepet, de hozzájárul a redox-homeosztázis fenntartásához is. A glutation redukció koenzimjeként fejt ki hatását, ezáltal a glutation-reduktáz aktivitását segíti; amennyiben riboflavin-hiány lép fel, a vörösvérsejtek antioxidáns védelme csökken (ASHOORI & SAEDISOMEOLIA, 2014).

Az egyik legtöbbet kutatott a vízőldékony C-vitamin, jelenlétét számos ehető gombafajban kimutatták. A vadon termő sárga rókgomba (*Cantharellus cibarius* Fr. 1821) közel 1 mg/g-ot tartalmaz (szárastömegre vetítve).

Egyes szakirodalmak ennél is magasabb értékeket említenek, de ezek különböző, nem ehető szaprotróf és mikorrhizás fajokra vonatkoznak (GRANGEIA et al., 2011). A gombák C vitamin-tartalma friss tömegre vetítve elenyészőnek mondható, átlagosan 16,5 µg/g-ot tartalmaznak (MATTILA et al., 2001). A zöldségfélékben ennek a sokszorosa található meg, a legkisebb C-vitamin mennyiséggel bíró zöldségek is bőven a dupláját tartalmazzák (pl.: a csicsóka 40 µg/g).

A gombák a B-vitamin család nagy mennyiségű tagjain kívül, jelentős koncentrációban tartalmaznak D- és E-vitamint. Mindkettő zsírban oldódó vitamin, így elsősorban a membránlipidek védelmét hivatott szolgálni. Az „E-vitamin” kifejezés nem fedi le kellőképpen ezt az anyagcsoportot, de gyakran használjuk a különböző tokoferolok és tokotrienolok leírására. Jellemzően kromángyűrűt és izoprén oldalláncokat tartalmaznak (KAMAL-ELDIN & APPELQVIST, 1996). Különböző gombákból (pl.: *Agaricus bisporus*, *Paxillus involutus* (BATSCH) Fr. 1838, *Pisolithus arhizus* (SCOP.) Rauschert 1959, *Boletus edulis* (BULL.) Fr. 1782, *Cantharellus cibarius*, *Marasmius oreades* (BOLTON) Fr. 1836) sikeresen izoláltak és kvantifikáltak különböző tokoferolokat (α -, β -, γ -, δ -), de jelenlegi ismereteink szerint e fajok tokotrienolokat nem tartalmaznak (BARROS et al., 2008a; 2008b, HELENO et al., 2010). A gombák átlagos tokorefol tartalma 0,002-2 µg/g között változik. A különböző tokoferolok aránya változó egyes nemzetségeken belül is, de általában az α - és γ -tokoferolok mennyisége nagyobb (GRANGEIA et al., 2011). Az ember számára az egyik legfontosabb vitamin, a D-vitamin (kolekalciferol, D₃), mely számos létfontosságú anyagcsereutat befolyásol, illetve a Ca-forgalmat is szabályozza (3. ábra). UV-sugárzás hatására termelődik 7-dehidrokoleszterin jelenlétében.



3. ábra – Az ergocalciferol (D₂-vitamin) és a kolekalciferol (D₃-vitamin) molekulák és szerkezetük különbsége (Forrás: <http://www.chemspider.com>)

A növények nem tartalmaznak D-vitamint, a legjobb forrása a halak, a máj és a gombák. A gombák az ergoszterolból szintetizálódó D₂-vitamint (ergocalciferol) tartalmazzák, melynek szintje UV-sugárzással – akár leszedés után is – növelhető. A vadon termő fajok átlagosan 3-7 mg-ot tartalmaznak száraztömeg grammonként (KALAC, 2009; SZABÓ et al., 2012).

A D₂-vitamin tartalom a gombákban számos tényező függvénye, meghatározó a faj és a fejlettség valamint az, hogy az adott gombafaj termesztett vagy vadon termő-e (MATTILA et al., 1994). A gombák D₂-tartalmát UV besugárzással nagymértékben lehet növelni, főleg, ha az adott gombafaj magas ergoszterol tartalmú (TEICHMANN et al., 2007). A D₂-vitamin a vas-ionnal katalizált lipidperoxidációtól védi a sejteket és kölcsönhatásban van a membránalkotó ergoszterolokkal és koleszterinnel (WISEMAN, 1993).

A bazídiomos gombák bioaktív anyagai

Az ázsiai kultúrában (pl.: Kína, Korea, Japán) kitüntetett helye van gombák termesztésének és fogyasztásának, ismerték és használták a különböző gombákat gyógyhatásaik miatt is. A gombák kettős célt szolgáltak, tápanyagaik révén értékes táplálékként fogyasztották, illetve gyógyhatású anyagaikat a gyógyászatban alkalmazták (CHANG, 1996). A gombák ilyen célú felhasználása egyedi volt a világon, manapság a tradicionális gyógyászat, a gyógynövények és gyógygombák felhasználása a reneszánszát éli (CHANG & MILES, 2008).

A *Basidiomycetes* osztályban számos olyan nagygombafaj található, melyeknek gyógyhatású komponensei ma is kutatások tárgya, pl.: a shiitake (*Lentinula edodes*) **lentinánja** vagy az ülő gyászos-csészegombából (*Pseudoplectania nigrella* (PERS.) Fuckel 1870) izolált **plectasin** (MYGIND et al., 2005; INA et al., 2013). A gombák hatalmas potenciálját éppen a másodlagos metabolittermelő képességük jelenti. Kutatások igazolták, hogy biokémiai úton főként ezek a szervezetek képesek ilyen speciális anyagok (**toxinok, antibiotikumok, kelátorok, stb.**) előállítására (KELLER et al., 2005).

A szekunder metabolitok termelése elsősorban kompetíciós előnyt jelent más mikroorganizmusokkal szemben, emellett olyan hasznos vegyületek, mint az antioxidánsok, a stressztűrést, illetve a nehézfémkelációt segíthetik. Számos biológiailag aktív komponens tartalmaznak a termőtestek, a tenyésztett micéliumok és a folyadékkultúrák tenyészetek egyaránt. A nagygombák micéliumai, folyadékkultúrában tenyésztve folyamatosan képesek szekunder metabolitok előállítására, melyek minőségét és típusát a körülmények változtatásával lehet beállítani, egyfajta bioreaktoros tenyésztés formájában (HATVANI, 2007).

Gyógyászati szempontból a legnagyobb érdeklődés a gombák különböző poliszacharid származékai iránt van, ezek hosszú láncú és nagy molekulatömegű **glükánok és konjugált származékaik**. Kifejezett és bizonyított immunmoduláló hatásúak, melyek számos immunhiányos állapot (pl.: diabétesz, allergia, asztma) esetében bizonyultak hatékonynak (SMITH et al., 2003; KIM et al., 2005; ROUPAS et al., 2012). WASSER 2002-ben publikált összefoglaló cikkében 182 nemzetségből származó 651 gombafaj poliszacharid frakciójára vonatkozó adatokat gyűjtötte össze.

A bemutatott fő irány mellett a gombákban található változatos szerkezetű egyéb szekunder metabolitok (többek között **kis molekulású aminosav származékok, fenoloidok, flavonoidok, szteroidok, triterpenoidok, poliketidek**) iránti érdeklődés is folyamatos, mivel számos közülük hasznos bioaktivitással rendelkező (DE SILVA et al., 2013). Ezen anyagok vizsgálata és hatásmechanizmusuk megismerése a jelen, de főként a jövő feladata.

Bazídiumos gombák gyógyhatású készítményei

Napjainkban a Föld lakosságának közel 80%-a használ valamilyen növényi alapanyagú gyógyszert vagy táplálékkiegészítőt az egészségének megőrzése érdekében (RAMARATHNAM et al., 1995). Az ilyen készítmények fogyasztása egyre növekvő piacot jelent, mind Európában, mind pedig az USA-ban (CHANG & MILES, 2008).

A gombákkal történő gyógykezelés (mikoterápia) viszonylag új jelenség a nyugati országokban, az korábban említett távol-keleti orvoslásban a gombák gyógyszerként történő hasznosítása mindennapos volt (LELLEY, 1999; VETTER, 2000). A növényi készítmények felfutását természetesen követte a gombákból készült gyógykészítmények használata is, mivel „egzotikus” mivoltuk és egyre könnyebb beszerezhetőségük vonzó volt a fogyasztók számára.

A gombakivonatok és porok alkalmazása évről évre növekvő tendenciát mutat, melyet az eladási statisztikák is megerősítenek, 1999-ben megközelítőleg 6 milliárd \$ volt a forgalom, mely 2010-re közel 2,5-szeresére nőtt (CHANG & WASSER, 2012). A gombák 700 fajáról bizonyosodott be, hogy gyógyhatású, emellett 20-25 nagygombafajról derült ki, hogy alkalmasak egyes betegségek kezelésére, sőt természetük is megoldott (WASSER, 2004; CHANG & WASSER, 2012). A szakirodalomban számos különböző bioaktív hatásról számoltak be, többek között:

- antibakteriális (HATVANI, 2007),
- antivirális (GREGORI et al., 2007),
- tumorgátló (ZHANG et al., 2007) és
- antioxidáns (LI et al., 2012) hatásokról.

A bioaktív hatások között kell említeni az ún. spóraallergiát is, mely leginkább a termesztett gombáknál fordulhat elő. Ez főként a *Pleurotus* fajok termesztését érintő probléma, bár más fajok esetében is leírták (pl.: *Agaricus bisporus*, *Lentinula edodes*), de a steril szubsztrátum nem okozott eddig ilyen tüneteket (TARVAINEN et al., 1991; CHANG & MILES, 2008). A *Basidiomycetes* osztály makroszkopikus tagjaiból még számos bioaktív anyagot lehet a jövőben is izolálni, mivel a feltételezhetően a létező makrogombafajoknak csupán kisebb részét ismerjük (HAWKSWORTH, 2001).

A gyógyhatás általában tapasztalati úton történő megismerése akár veszélyeket is rejthet, hiszen sok vegyület egyeseknél allergiás tüneteket okozhat, már akár 0,1 mg-os mennyiségben is. Ezért a gombák bioaktív anyagainak kutatása nem csak mikológiai, de egészségügyi szempontból is nagy jelentőségű (HEGDE et al., 2002) .

A tradicionális gyógyászatban leginkább használt gombanemzetségek: *Auricularia*, *Flammulina*, *Ganoderma*, *Grifola*, *Hericium*, *Lentinus (Lentinula)*, *Pleurotus*, *Trametes (Coriolus)*, *Schizophyllum* és *Tremella*. Számos ehető faj gyógyhatású, de sok gyógyhatású faj ehető (*Ganoderma spp.*, *Inonotus spp.*), így azok csak tea vagy por formájában fogyaszthatóak (MIZUNO, 1995).

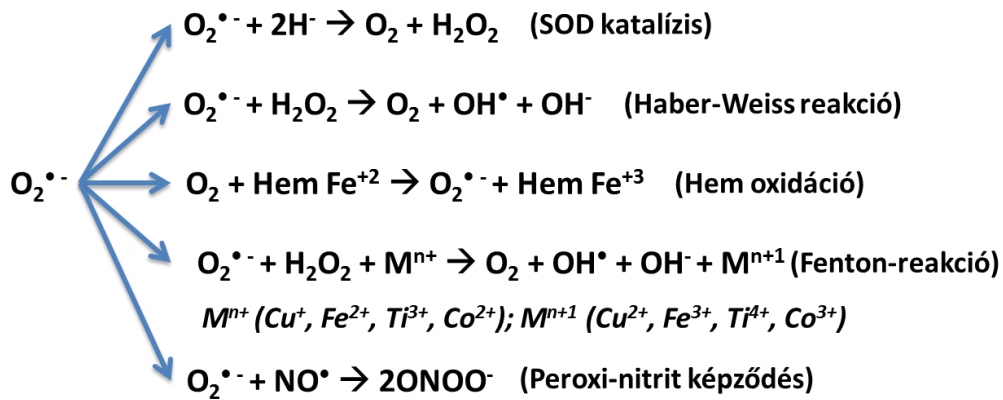
2.4.Szabadgyökök és antioxidánsok

Az oxidatív stressz és a szabadgyökök típusai

Az oxigén (O_2) minden aerob szervezet számára létszükséglet, az oxigén felhasználása és szerepe igen sokrétű, a baktériumoktól a növényeken át az emberig. Az O_2 -alapú élet a mozgatórugója a redox-homeosztázis (szabadgyök-antioxidáns egyensúly) kialakulásának (4. MELLÉKLET), mely az élő szervezeteket védi a szabadgyökök káros hatásaitól. A redox-homeosztázis, sok elemből felépülő, több anyagcsereutat érintő, külső forrásokból is származó, egymást kiegészítő és egyensúlyi állapotban tartó molekulák összessége.

Az oxigén számos biokémiai folyamat működésének kulcsa is. A fiziológias körülmények között keletkező szabadgyököket (más néven prooxidánsok) természetes enzimatis és nem enzimatis (környezetből felvett antioxidáns) vegyületek szabályozzák. A szabadgyökök olyan molekulák vagy molekularészletek, melyekben párosítatlan elektron vagy elektronok vannak, legfőbb jellegzetességük, hogy erős elektron akceptorok, ebből adódik a magas redoxpotenciáljuk. A szabadgyökök több külső, illetve fiziológias forrásokból keletkezhetnek (HALLIWELL ÉS GUTTERIDGE, 1984).

Az első csoportba tartoznak a mitokondriális légzési lánc végső oxigén redukciójából, peroxiszómákból, a citokróm P_{450} -ből és egyéb sejtkomponensek működése során képződő ún. *reaktív oxigényökök (ROS)*. A légzési láncban felhasznált O_2 1-4%-a alakul át ún. szuperoxid anionná ($O_2^{\cdot-}$), mely további útvonalakon, más szabadgyökök képződését is indukálhatja különböző reakciók során (VALKO et al., 2007). A szuperoxid anion lehetséges továbbalakulásait a 4. ábrán mutatom be.



4. ábra – A szuperoxid anion továbbalakulásai (Forrás: CANO-EUROPA et al., 2015)

A másik csoportba tartoznak a **RNS**-ek (*nitrogén eredetű szabadgyökök*), melyet az endoteliális nitrogén-monoxid szintáz (eNOS) termel (az érműködésben van jelentős szerepe). Az RNS termelést az eNOS enzim kofaktorának hiánya indukálja, mivel ilyenkor szuperoxid-aniont ($O_2^{\bullet -}$) termel. A nitrogén-monoxid képes reakcióba lépni a szuperoxid-gyökkel és peroxinitrit gyök ($ONOO^{\bullet -}$) képződik. A peroxinitrit is igen reakcióképes, ezáltal lipidperoxidációt, DNS mutációkat, fehérje szerkezeti változásokat indukálhat. Veszélyessége abban nyilvánul meg, hogy nagyobb koncentrációban nekrozist okoz (HUIE & PADMAJA, 1993).

A harmadik csoportot alkotják azok a molekulák, amelyeknek nincsen párosítatlan elektronjuk, de így is nagyon reaktívak. Ide tartoznak a hidrogén-peroxid, a különböző szerves-peroxidok, az ózon és a hipoklórsav is.

Az eddigiek alapján körvonalazódik, hogy a szervezet belső szabadgyökképződése és a külső forrásból (UV sugárzás, dohányfüst, kipufogógázok, xenobiotikumok, egyéb mérgező anyagok, stb.) származó szabadgyökök jelentősen terhelik a redox-homeosztázis fenntartó rendszerét (YOUNG & WOODSIDE, 2001).

A redox-homeosztázis oxidatív folyamatok felé való eltolódását hívjuk oxidatív stressznek, ekkor a védekező mechanizmusok nem képesek ellátni a védelmi funkcióikat (nem megfelelő táplálkozás – vitamin túladagolás, Met-, Cis-hiány) vagy nagyon nagymértékű a ROS és RNS termelődés (SIES, 1997). Ennek egyik következménye lehet az ún. lipidperoxidáció, melynek hatására a sejtek membránja kilyukadhat és ezzel párhuzamosan a láncreakciószerű folyamatok DNS mutációkhoz és fehérje károsodáshoz vezetnek. Mindezek végül a különböző ráktípusok, érrendszeri és idegrendszeri rendellenességek kialakulását segítik elő (FOYER & NOCTOR, 2005).

A szabadgyökök azonban nemcsak károsak, hanem hasznosak is, mivel számos fiziológiai folyamatot szabályoznak. Többek között a jelátviteli folyamatokat (BOYD & CADENAS, 2002), a sejtműködést (DRÖGE, 2002), a sejtosztódást (BURDO, 1996), az egyes gyulladásos folyamatokat (WARD et al., 1988), sőt a sejthalált (CHEN et al., 2007) is. A növények ún. oxidatív „robbanással” védik magukat a növényi patogénekkal szemben és az immunrendszerünk egyes sejtjei pedig szabadgyökök termelésével védekeznek a baktériumok és vírusok ellen (ROSEN et al., 1995).

A lipid peroxidáció

A fennálló fiziológias oxidatív stressz egyik lehetséges következménye a membránlipidek szabadgyökök általi károsítása, melyet lipidperoxidációnak nevezünk (emellett közvetlen DNS mutálódás és fehérje károsodás léphet fel, mely végül a szövet károsodásához vezet). A lipidperoxidáció azért fontos témakör, mivel normál fiziológias körülmények között is végbe megy, de igen lassú folyamatként (öregedés) (RIKANS & HORN BROOK, 1997). A szabadgyökök legkönnyebben a többszörösen telítetlen zsírsavakat képesek megtámadni, emellett a folyamat láncreakciószerű szabadgyök képződéssel is jár. A lipidperoxidáció három jól elkülöníthető szakaszból áll (HALLIWELL & CHIRICO, 1993).

Az első szakasz az **iniciáció**, amelyen a szabadgyökös támadást értjük, ahol a lipid molekulából lipidgyök képződik, ez történhet szabadgyökös reakcióval vagy átmeneti fémek (Cu, Fe) hatására is.

A második szakaszban (**propagáció**) a létrejövő lipidgyökök az oxigén molekulákkal lépnek kapcsolatba és lipid-peroxilgyökök keletkeznek, ami további gyökök képződését indukálja egy láncreakcióhoz hasonlóan.

A **termináció** szakaszában a lipid-peroxilgyök egy hidrogént von el a közeli molekulától és lipid-hidroperoxidok képződnek. Ezek a molekulák csak látszólagosan stabilak, bomlásuk során számos citotoxikus anyag képződik, pl.: aldehidek, 8-epiprosztaglandin, arachidonsav és különböző szénhidrogének.

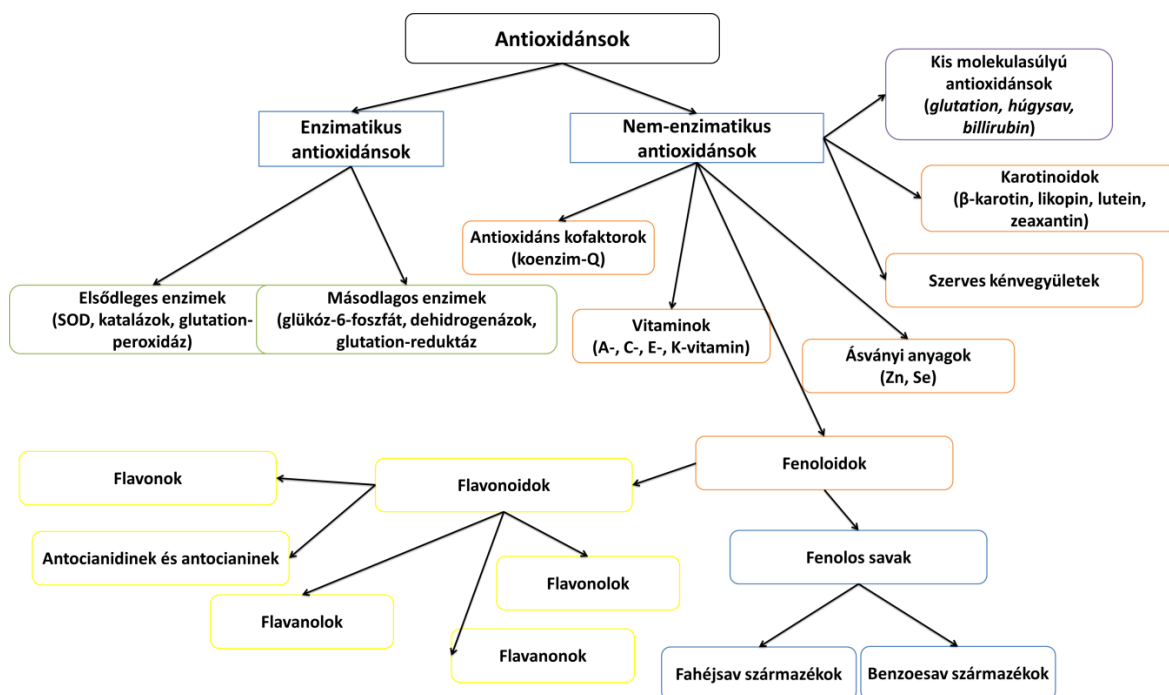
A lipidperoxidációt a táplálkozás befolyásolja leginkább, a bevitt antioxidánsok, vitaminok mind segítik a lipidperoxidáció megakadályozását, de ugyanúgy növelhetjük is a kockázatot az elenyésző fehérjebevitel (főleg a kén-tartalmú aminosavak hiánya), valamint a telítetlen zsírsavak túlzott aránya révén (YIN et al., 2011).

Antioxidánsok

HALLIWELL ÉS GUTTERIDGE (1995) megfogalmazása szerint, minden olyan anyag, amely a célmolekula oxidációját késlelteti, megakadályozza vagy a fellépő károsodást helyreállítja, antioxidánsnak tekinthető. A szabadgyökök okozta károsodásokkal szemben összetett, integrált védelmi rendszer alakult ki a szervezetben, mely biztosítja a biomolekulák védelmét. Ez teszi lehetővé, hogy a fiziológiásan szükséges szabadgyökös reakciók kontrollált körülmények között mehessenek végbe. Ennek egyik alapfeltétele a szövetek alacsony O_2 -tenziója (BENZIE, 2000). A védelmi rendszer három részből áll:

- az első, olyan antioxidánsokat jelent, melyek képesek megelőzni a szabadgyök képződést;
- a második csoport, olyan vegyületeket jelöl, melyek képesek a szabadgyököket lekötni, illetve a láncreakciókat megszakítani;
- a harmadik csoportba pedig azon vegyületek sorolhatóak, melyek a károsodott molekulákat képesek helyreállítani.

Az antioxidánsok számos szempont alapján csoportosíthatóak, mint például a polaritás (hidrofil-hidrofób), a forrás (endogén-exogén), a típus (enzimes-nem enzimes), stb. A csoportosítások részben átfedőek, így egy-egy antioxidáns vegyület több helyen is szerepelhet. Az általam is használt felosztásban (5. ábra) - a típus szerinti osztályzás - lehet legjobban bemutatni a védelmi rendszer legfontosabb tagjait.



5. ábra – Az antioxidánsok felosztása (Forrás: IANNITTI & PALMIER, 2009)

Az enzimatis antioxiidánsok a védelmi rendszerben az elsődleges (lánc-megszakító) és másodlagos (gyökfogy) antioxiidánsok kategóriájába tartoznak, a legfontosabb szerep rájuk hárul, mivel elsőként ők lépnek kapcsolatba a szabadgyökökkel. Ilyenek a glutation-peroxidáz (GPx), a kataláz (CAT), a szuperoxid-dizmutáz (SOD) a glutation-reduktáz, a glutation-S-transzferáz és a glükóz-6-foszfát-dehidrogenáz enzimek, melyek a NADPH regenerálásával tartják fenn a redox-homeosztázist (PANDOLFI et al., 1995; MATÉS, 2000). Ezen enzimek mindegyike a szuperoxid anion és az ebből származó toxikus intermedier termékek lekötését végzi. Az ehhez szükséges katalitikus aktivitásukat fém kofaktorok segítségével érik el. Ilyen kofaktorok a Cu, Fe, Mn, Se, Zn. Ebből adódik, hogy a nem megfelelő ásványi anyag ellátottság oxidatív stresszhez vezethet (ROBERTS et al., 2006). A glutation (tripeptid: Gly-Cis-Glu) is e rendszer fontos része, bár nem enzim, de a fent nevezett glutation-enzimek ezt a vegyületet redukálják. A glutationnak a legfontosabb szerepe a xenobiotikumok lebontásában van, a lipidperoxidációt közvetlenül képes megszakítani, emellett a xenobiotikumok megkötésével a májsejtekben csökkenti az oxidatív stressz faktorokat. A glutation C-vitamin segítségével képes lekötni a szabadgyököket is (ARMSTRONG, 1997). Az extracelluláris tér védelmét egyes fémkelátor fehérjék transzferrin, laktoferrin, hemopexin, haptoglobulin, cöruoplazmin, albumin, illetve az extracelluláris SOD látják el. A mitokondrium elsődleges védelmét a koenzim-Q és a liponsav biztosítja (SHAY et al., 2009).

A másodlagos antioxiidánsok közé számos exogén (külső forrásból származó) vegyület sorolhatunk. Ilyenek a vitaminok, a kéntartalmú aminosavak, a nyomelemek, a fenoloidok, a flavonoidok, a terpenoidok és a karotinoidok. A táplálékként szolgáló és egyéb felhasználású (tea, fűszer, stb.) növények és gombák tartalmaznak antioxiidáns hatású komponenseket (ASATIANI et al., 2010; KALYONCU et al., 2010).

Harmadlagos antioxiidánsoknak a javító mechanizmusokat végrehajtó, illetve az oxidatív károsodást szenvedett biomolekulákat eltávolító vegyületeket nevezzük. Ilyenek a proteolitikus és lipolitikus és a DNS-javító enzimek, illetve a metioninszulfoxid-reduktáz is (SIES, 1997). Az oxidatív károsodás mértékét jelentősen csökkenthetjük antioxiidáns hatású táplálék-kiegészítők fogyasztásával is. A gombákban található különböző anyagok, főleg fenolos vegyületek, tokoferolok, vitaminok és karotinoidok mind-mind segíthetnek az oxidatív stressz mérséklésében (ELMASTAS et al., 2007; BARROS et al., 2008d). A nem jól, vagy a nem megfelelő dózisban alkalmazott antioxiidánsokat tartalmazó táplálék-kiegészítők szedésénél is számolni kell a prooxidáció kialakulásával és károsító hatásával. A szervezetbe való túlzott bevitelük esetén az antioxiidánsok maguk is prooxidánsokká válhatnak és hasonlóan a szabadgyökökhöz a szervezet károsodásához vezethetnek (DECKER, 1997).

Fenoloidok és flavonoidok

A fenoloidok az egyik legnagyobb anyagtörzs a VÁGUJFALVI-féle biogenetikai rendszerben (1990). Számos növény tartalmaz különböző fenoloidokat vagy azok származékait. Ez az anyagtörzs igen változatos, mivel telítettségben, a fenolos hidroxil csoportok elhelyezkedésében és számában nagyon különböznek, emellett képesek polimerizálódni (polifenolok, cseranyagok, tanninok) is. A fenoloidok további csoportokra oszthatóak, a szénatomok száma, a hidroxilcsoportok száma, kémiai felépítésük (mono-, di-, oligo-, poli-) vagy a szénvázhoz csatlakozó szubsztituensek alapján, sőt biológiai aktivitás szerint is rendszerezhetőek (HAN et al., 2007). A szénatomok száma alapján 12 nagyobb csoportba sorolhatóak, melyek további anyagostályokat tartalmaznak (**5. MELLÉKLET**). A fenolos vegyületek különböző zöldségekben, gyümölcsökben és más élelmiszer forrásként hasznosuló növényi termékekben (pl.: teák, fűszerek, magvak, stb.) találhatóak. Számos ide tartozó vegyületnek kísérletesen igazolt bioaktív hatása van. Jelenlegi ismereteink szerint 8000 körül mozog a fenolos vegyületek száma, ebből megközelítőleg 4000 flavonoid (BRAVO, 1998). Antioxidáns hatásukat elsősorban a fenolos hidroxil csoport(ok)nak, illetve a gyűrűs szerkezetből adódó speciális kötés szerkezetüknek köszönhetik (RICE-EVANS ET AL., 1996). A polifenol-tartalom korrelál az antioxidáns aktivitással, ezt a növények esetében bizonyították (VELIOGLU ET AL., 1998). A fenoloidok felépítését erősen befolyásolja a keletkezésük helye. A természetes fenoloid vegyületek végtermékeként halmozódnak fel a sejtekben. A fenoloidok szintézise különböző anyagcsere-útvonalon valósulhat meg:

- a sikimisav (szukcinil-benzoát) anyagcsereúton, itt képződnek a fenilpropanoidok és származékaik (C₆-C₃);
- az acetát-malonát, más néven poliketid útvonalon, ahol a fenilpropanoid oldalláncok és különböző kinonok képződnek, többek között a flavonoidok (C₆-C₃-C₆)

A gombákban elsődlegesen a sikimisav útvonalon termelődnek a fenolos savak (és ezek származékaik), aromás aminosav prekursorokból (fenil-alanin, triptofán, tirozin). Megjegyzendő, hogy ez az anyagcsere-útvonal csak a növényekben, gombákban és egyes baktériumokban található meg, az állatokban és az emberben nem (RICE-EVANS ET AL., 1996). Az itt termelődő fenoloidok két csoportra, a fahéjsav-származékokra, illetve a benzoésav származékokra oszthatóak. A fenoloidok az egyik legérdekesebb csoport, már csak azért is, mert a legtöbb gombában találhatóak ilyen vegyületek (**2. táblázat**). A szakirodalomban számos cikk foglalkozik a fenoloidok és flavonoidok összmenyiségével és azok antioxidáns aktivitásával a különböző gombafajokban (JAYAKUMAR et al., 2011; HELENO et al., 2015).

Ezek a vegyületek kifejezetten erős gyökfogó aktivitásúak, emellett inhibitorok is a redox-homeosztázisban. VAZ et al., (2011) 17 gombafajt vizsgált, ebből 12 volt ehető faj, a vizsgálatok során négy fenolos sav (protokatechin, p-hidrobenzoesav, p-kumarin és fahéjsav) meglétét és mennyiségét mérték, a legnagyobb koncentrációban, a májgombában (*Fistulina hepatica* (SCHAEFF.) With. 1801).

Ezzel a cikkel párhuzamosan jelent meg másik figyelemreméltó munka, melyet PALACIOS et al. (2011) jegyezték, ahol nyolc különböző gombafajt vizsgáltak, hat vadon termő és két termesztett fajt. Az eredményekből kiindulva a sötét trombitagomba (*Craterellus cornucopioides* (L.) Pers. 1825) kiemelkedő mennyiségben tartalmazott myricetint, míg a *Cantharellus cibarius* számottevő kávéssavat és katechineket.

2. táblázat – A gombákban leírt egyes fenoloid vegyületek és mennyiségük (Forrás: KIM et al., 2008; FERREIRA et al., 2009)

Fenolos komponens	Mennyiség (µg/g)	Gombafajok
Benzoésav származékok		
Benzoésav	20 - 500	<i>Agaricus blazei, Sparassis crispa, Phellinus linteus</i>
Galluszsav	2 - 21	<i>Lactarius deliciosus, Pleurotus sajor-caju</i>
Gentizinsav	40 - 50	<i>Macrolepiota procera, Pleurotus spp.</i>
p-hidroxi-benzoésav	6 - 263	<i>Agaricus bisporus, Lentinula edodes</i>
Pirogallol	15 - 450	<i>A. bisporus, Flammulina velutipes, A. blazei</i>
Protokatechusav	14 - 96	<i>A. bisporus, L. edodes</i>
Vanillin	~ 5	<i>Ionotus obliquus</i>
Vanillinsav	5 - 10	<i>P. sajor-caju, Lactarius sangifluus</i>
Fahéjsav származékok		
Fahéjsav	1 - 5	<i>A. bisporus, L. edodes</i>
Ferulasav	10 - 20	<i>L. deliciosus, P. sajor-caju</i>
Homogentizinsav	16 - 51	<i>Pleurotus ostreatus, F. velutipes</i>
Kávéssav	10 - 20	<i>F. velutipes, P. linteus</i>
Rezveratrol	5 - 20	<i>S. crispa, I. obliquus</i>
Sziringsav	5 - 25	<i>Pleurotus djamor, P. sajor-caju</i>
Flavonoidok		
Katechin	5 - 20	<i>L. edodes, A. blazei</i>
Kaempferol	7 - 55	<i>S. crispa, Ganoderma lucidum</i>
Kvercetin	25 - 50	<i>F. velutipes, A. blazei</i>
Miricetin	20 - 30	<i>P. ostreatus, A. bisporus, A. blazei</i>
Naringin	10 - 40	<i>P. ostreatus, Pleurotus eryngii</i>

Az egyik legátfogóbb munka Kínából származik, mely során 43 ehető gombafajt vizsgáltak hét különböző antioxidáns aktivitást meghatározó módszerrel. Nagyműszeres vizsgálatok során tíz különböző fenoloid származékot mértek, többek között gentizinsavat, vanillinsavat és sziringsavat. A legnagyobb aktivitást a *Boletaceae* családba tartozó gombák mutatták, amellyel összhangban itt mérték a legtöbb fenoloidot is (ISLAM et al., 2016).

Megemlítendő még, FERREIRA et al., (2009) összefoglaló cikke, mely az 1980-as évektől kezdve mutatja be a gombákra vonatkozó antioxidáns kutatás eredményeit. Ezeknek a vegyületeknek elsődlegesen antioxidáns tulajdonságaik vannak, de emellett más bioaktivitást is leírtak, például bakteriosztatikus, rákellenes, gyulladáscsökkentő hatásokat is (CAROCHO & FERREIRA, 2013).

A sikimisav útvonalon termelődő fenil-propanoidokból az acetát-malonát anyagcsere úton kinonok képződnek, melyek összekapcsolódásából flavonoidok keletkeznek. Az utóbbi években olyan tudományos cikkek is megjelentek, melyek a gombák flavonoid tartalmát megkérdőjelezik (GIL-RAMIREZ et al., 2016). A szakirodalomban korábban is foglalkoztak ezzel a kérdéssel (MATTILA et al., 2001). Az előzőekben bemutatott szakirodalmi eredmények alapján véleményem szerint a gombák tartalmazznak flavonoidokat. Az, már egy másik kutatás tárgyát képezi, hogy ez a flavonoid mennyiség a gomba termőtestben termelődött-e vagy esetleg a növényi szubsztrátból származik.

A bazídiumos gombák, mint antioxidáns források

Az elmúlt 20 évben az időskori neurodegeneratív betegségekkel foglalkozó kutatások új irányvonal mentén haladnak. A kiindulás alapja az, hogy e betegségek kialakulását reaktív szabadgyökök indukálják (VAN HORSSEN et al., 2011). Ennek alapján keresnek a kutatók új, antioxidáns hatású vegyületeket, illetve vizsgálják az ismert antioxidánsok pontos hatásmechanizmusát (UTTARA et al., 2009). Számos természetes forrásból, főleg növényekből (fűszerek, gabonák, gyógynövények, gyümölcsök, olajos magvak, zöldségek, stb.) izoláltak sikerrel antioxidáns hatású anyagokat az elmúlt évszázadban (RAMARATHNAM et al., 1995). Az antioxidáns vegyületek kutatása a mikológia területén dolgozó kutatók figyelmét is felkeltette. Napjainkban számos publikáció foglalkozik a termesztett és vadon termő gombákból készített kivonatok antioxidáns hatásával, amelyet főleg „*in vitro*” vizsgálatokkal igazolnak (ELMASTAS et al., 2007). A gombakivonatokat különböző antioxidáns vegyületekkel hasonlítják össze, ezek lehetnek természetes (pl.: A-, C-, E-vitamin, galluszsav, stb.), illetve mesterséges antioxidánsok (butil-hidroxi-anizol - BHA vagy E320; butil-hidroxi-toluol – BHT vagy E321) is. A mesterséges antioxidánsokat főként az élelmiszeripar használja, mivel zsírban jól oldódnak és megakadályozzák az avasodás folyamatát. Egyes vizsgálatokban a gombakivonatok jobb kelátképző és antioxidáns hatásúak, mint a mesterséges ágensek (BAO et al., 2008). A vizsgálatok kiterjednek a kivonatok antioxidáns hatásáért felelős molekuláinak meghatározására is. Az antioxidáns aktivitás szempontjából a különböző fenoloid vegyületek (kiemelve a flavonoidokat), a poliszacharidok, egyes vitaminok, a karotinoidok, az ergotionein, illetve a szelén a legjelentősebbek.

Az **ergotionein** egy membrántranszportban jelentős, kéntartalmú aminosavakból (cisztein, metionin) és hisztidinből képződő tiolvegyület, mely főként a májban, a szemen és a vérben van jelen, de az emberi szervezet előállítani nem képes, így az csak a táplálékból biztosítható (GRÜNDEMANN, 2012). A biológiailag aktív L-ergotioneint a bazídiumos gombák számos képviselője termeli (GENGHOF, 1970). A szakirodalmi adatok alapján 0,07-5,0 mg/g (száraz tömegre vetítve) között változik a gombák ergotionein tartalma. A termesztett gombák közül a barna kalapú csiperkék nagyobb mennyiségben tartalmazzák, mint a fehér kalapú társaik. A shiitake, a laskagombák és a fodros káposzttagomba (*Sparassis crispa*) termőtesteiben több az ergotionein, mint a csiperkében, de e gombák között jelentős mennyiségi különbséget nem mutattak ki (DUBOST et al., 2006). Az ergotionein tartalmat befolyásolja a micélium kora, a hőmérséklet, a pH, a szén és a nitrogénforrás típusa (LIN et al., 2015). Egy frissebb kutatásban több gombafaj micéliumát és termőtesteit vizsgálták, az eredmények alapján a laskagombafélék tartalmazzák a legtöbb ergotioneint, míg a legkisebb mennyiséget a fafülgombák, a csiperkék és a taplófélék termelik (CHEN et al., 2012).

A természetben a színanyagok jelentős részét a karotinoidok adják, melyek az izoprénvázas vegyületek között az ún. tetraterpének csoportját képezik. Zsírban jól oldódó vegyületek, ebből adódóan a lipidperoxidációt képesek gátolni, mint láncmegszakító antioxidánsok. A reaktivitásukat elsősorban a tetraterpénben lévő szénlánc hossza és a kettős kötések száma határozza meg (BRITTON, 1995). A növényi eredetű élelmiszerekben tucatnyi karotinoid vagy karotinoid-származék található. A legjelentősebbek az α -karotin, a β -karotin, a β -kriptoxantin, a likopin és a lutein. Ezen vegyületek provitaminként is jelentősek, mivel az A-vitamin belőlük szintetizálódik. Az emberi szervezet a karotinoidokat sem képes szintetizálni (FIEDOR & BURDA, 2014). A gombák tetraterpén vegyületein elsősorban a **β -karotint**, a **likopint** és a **luteint** értjük, bár más karotin származékokat is meghatároztak gombákban. A gombatermőtestek karotinoidjainak feltérképezését CZECZUGA (1978a, 1978b, 1980) végezte el a 70-es évek végétől kezdve nemzetségről nemzetségre haladva, átfogó képet adva a gombák ilyen típusú vegyületeiről. Ezen anyagok meghatározásával és mennyiségével számos más kutatás is foglalkozik, ezekben a cikkekben többek között az összfenoloid és egyéb antioxidáns vegyületek mennyiségét is vizsgálják (BARROS et al., 2007e; RIBEIRO et al., 2011). Csak a gombákra jellemző karotin-származékok is előfordulnak, mint például a **xerulin**, a borostás gyökeresfülökében (*Xerula melanotricha* (DÖRFELT) 1979), vagy a **melanocrocín**, a változékony kocsonyáspöfetegben (*Melanogaster broomeanus* (BERK.) 1843) (KUHN et al., 1990; AULINGER et al., 2001).

A **szelén** (Se) rendszáma 34, nemfémes és az egyik bizonyítottan antioxidáns hatású elem, az emberi szervezetben a szelenoproteinek kofaktora (BIRNINGER et al., 2002).

A nagy mennyiségű szelén toxikus (LD₅₀: 37,3 mg/kg), de kis mennyiségben (mikroelemként, 13-20 mg-ot tartalmaz az emberi szervezet) szükséges a megfelelő működéséhez (DUMONT et al., 2006). Az enzimes védekező rendszer nem képzelhető el nélküle, mivel a glutation-peroxidáz (GPx) aktív centrumában helyezkedik el. A gombák számos vegyületbe képesek beépíteni a szelént, mint például a szelenometioninba, a szelenociszteinbe, a Se-metil-szelenociszteinbe, de előfordul szelenitként, illetve poliszacharidokhoz kötötten is (FALANDYSZ & BOROVICKA, 2013).

Az akkumuláció mechanizmusáról jelenleg még hiányosak az ismereteink, de az már tudható, hogy a termőhelyi sajátosságok (közéttípus, fémszennyezés, nehézfém-szennyezettség) erősen befolyásolják egy-egy elem feldúsulását a gombatermőtestekben (FALANDYSZ & BOROVICKA, 2013). A szelén vegyületek mennyisége leginkább a vadon termő gombafajokban kiemelkedő. A termesztett gombák szelén-tartalmát az elemmel dúsított tápanyagon való termesztéssel is lehet növelni, ezáltal kiküszöbölhető a nem kívánatos egyéb toxikus elemek (Cu, Hg, Pb, stb.) feldúsulása is (BHATIA et al., 2013).

Ma már számos módszer létezik a szelén meghatározáshoz (FALANDYSZ, 2013), illetve a különböző Se-módosulatok elválasztása és meghatározása is megoldott (DERNOVICS et al., 2002). A termesztett gombákban található Se-mennyiség (~1,5-2,2 µg/g a csiperkében és a laskagombában) elmarad a vadon termőkéhez képest (~2,3-48 µg/g fajtól függően). A legnagyobb mennyiségben a *Boletaceae* család tagjai képesek felhalmozni a szelént (COSTA-SILVA et al., 2011). A szelén-tartalom eloszlása nem egyenletes a gombatermőtestben, mert a kalap (~2,7 µg/g) több szelént tartalmaz, mint a tönk (~2,0 µg/g). Az egyes fajok fajtái között, mint például a csiperke esetében, nagy különbségek tapasztalhatóak, átlagosan: 0,71-5,63 µg/g száraz tömegre vetítve a szelén-tartalom (VETTER & LELLEY, 2004).

Összességében elmondható, hogy a vadon termő gombák jobban reprezentáltak az ilyen irányú vizsgálatokban, míg a termesztett fajok (fajtáinak, törzseinek) antioxidánsait összehasonlító tanulmányok száma csekély (KALYONCU et al., 2010). A hazai kutatások a gombák antioxidáns hatású anyagaival és beltartalmi értékeivel, kifejezetten egy-egy gombára vonatkozóan foglalkoznak, pl.: *Agaricus blazei* MURRILL 1945, *Pleurotus eryngii* (DC.) Qué. 1872 (GEÖSEL et al., 2009; GYÖRFI et al., 2013).

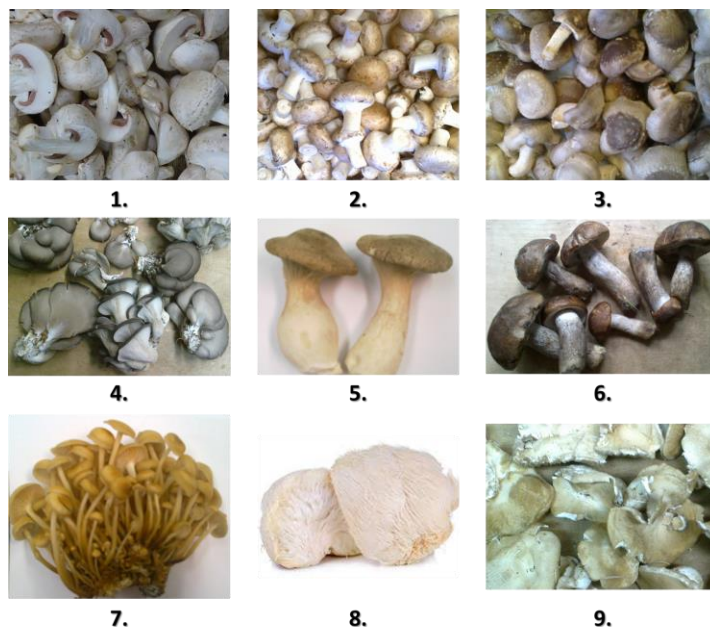
3. ANYAG ÉS MÓDSZER

3.1.A vizsgálatok helye és menete

A begyűjtött alapanyagot a jelenlegi ÁTE Növényteni Tanszékén válogattam, tisztítottam és szedtem részeire. A fagyasztási és liofilizálási munkafolyamatokat követő minta-előkészítésnek és a kisműszeres vizsgálatoknak is ez volt a helyszíne. A vékonyréteg kromatográfiás, microplate-es és nagyműszeres vizsgálatokat és az izolálás munkafázisait az MTA ATK Növényvédelmi Intézetében végeztem el. Az izolátum pontos tömegét az MTA TTK Szerves Kémiai Intézetében határoztuk meg. A cirkuláris dikroizmus spektroszkópiás (CD) méréseket az Anyag- és Környezetkémiai Intézetben bonyolítottuk le. A mágneses magrezonancia spektroszkópia (NMR) szerkezetvizsgálatokat a SOTE Farmakognózia Intézetében végeztük.

3.2.A vizsgált gombák

A vizsgálatokhoz több gombafajt (6. **ábra**) és a termesztett gombafajok számos törzsét sikerült beszerezni (3. **táblázat**). A termesztett gombák felülreprezentáltsága annak köszönhető, hogy a minta-előkészítésnél figyelembe vettem, hogy a mintákat morfológiai részeire szedjük, az általam vizsgált gomba termőtestek víztartalma átlagosan 90%-os, illetve, hogy az összes tervezett vizsgálat valamennyi faj és törzs esetében elvégezhető legyen.



6. ábra – A kísérletekben szereplő gombafajok; 1. – *Agaricus bisporus* (fehér),
2. – *Agaricus bisporus* (barna), 3. – *Lentinula edodes*, 4. – *Pleurotus ostreatus*, 5. – *Pleurotus eryngii*,
6. – *Leccinum duriusculum*, 7. – *Flammulina velutipes*, 8. – *Hericium erinaceus*,
9. – *Agrocybe cylindracea*

(A süngomba fotó forrása: <https://nutritionadvance.com/types-of-edible-mushrooms/>)

Az előbbi indokok miatt az adott törzsekből 2,5-3 kg friss gombára volt szükség, a vadon termő gombákból a *Leccinum duriusculum* fajból sikerült megfelelő mennyiségben gyűjteni, az *Agrocybe cylindracea*, a *Flammulina velutipes* és a *Pleurotus eryngii* fajok termőtestjeiből a begyűjtést követően álszövet oltással kinyert vegetatív micéliumból természetű le, hogy egyöntetű és megfelelő mennyiségű minta álljon rendelkezésre.

3. táblázat - A begyűjtött gombák törzsei, származásuk helye és a mintavétel ideje

Gombafaj	Mintavétel időpontja	Törzs	Mintavétel helye, termesztő
<i>Agaricus bisporus</i> (J.E. Lange) FEHÉR és BARNA	2012. VI. 13.	'A-15'	Budaörs
	2012. XII. 12.	'K-145'	Demjén (Korona Gomba)
	2013. X. 08.	'Lambert-901'	Buda (Fehér Mariann)
	2013. XII. 16.	'Amycell Delta', 'Amycell XXX', 'Lambert-927', 'Sylvan-512', 'Sylvan-737'	Budatétény (Fehér Mariann)
	2012. XII. 12.	'K-165'	Demjén (Korona Gomba)
	2013. XI. 29.	'Brown'	Budatétény (Fehér Mariann)
	2013. XII. 27.	'Broncho', 'Heirloum', 'Sylvan-800', 'Sylvan-856'	Budatétény (Fehér Mariann)
<i>Agrocybe cylindracea</i> (DC.) Maire	2012. XII. 21.	'AGRH'	Demjén (Szarvas József)
<i>Flammulina velutipes</i> (Curtis)	2012. VII. 20.	'FLV-1'	Demjén (Szarvas József)
<i>Hericium erinaceus</i> (Bull.)	2014. IV. 06.	termesztett	Buda (Geösel András)
<i>Leccinum duriusculum</i> (Schulzer ex Kalchbr.)	2013. VI. 06.	vadontermő	Monorierdő
<i>Lentinula edodes</i> (Berk.)	2012. XII. 21.	'KST-70'	Demjén (Korona Gomba)
	2013. II. 28.	'KST-67'	Demjén (Korona Gomba)
	2013. IX. 11.	'40-80'	Csörög (Fogarasi Antal)
<i>Pleurotus eryngii</i> (DC.) Quéél.	2012. VII. 20.	'P. e.'	Demjén (Szarvas József)
<i>Pleurotus ostreatus</i> (Jacq. et Fr.) Kummer	2012. X. 09.	'G24', 'LSZ', 'P80', 'BL'	Budapest, Kőbánya (Kelemen Levente)
	2012. X. 16.	'H1'	Budapest, Kőbánya (Kelemen Levente)
	2012. X. 24.	'357-213', 'BAK', '480', '1-0-30'	Budapest, Kőbánya (Kelemen Levente)
	2012. X. 27.	'ZN', 'VL-80'	Budapest, Kőbánya (Kelemen Levente)
	2012. X. 30.	'H7', 'HK-35', 'DSN'	Budapest, Kőbánya (Kelemen Levente)
	2012. XI. 07.	'Po462', '357-145'	Budapest, Kőbánya (Kelemen Levente)
	2014. III. 03.	'Spoppo' (spóramentes)	Buda (Fehér Mariann)

A csiperkefélék családjába tartozó gombák között találjuk a legnagyobb mennyiségben termesztett és fogyasztott gombát, a **kétspórás csiperkét** (*Agaricus bisporus*). Bioaktív vegyületeket, mint például fenoloidokat, flavonoidokat, aszkorbinsavat, béta-karotint és likopint is meghatároztak a csiperkében (BARROS et al., 2008c).

A **laskagomba hibridek** hazánkban és a világban is kiemelt jelentőségűek, az évi termésmennyisége alapján a második legnagyobb mennyiségben termesztett gombafaj. A hibridek pontos eredete nem mindig ismert, az egyszerűség kedvéért a disszertációban a termesztett laskagomba törzseket említésükkor mindig *Pleurotus ostreatus*-nak nevezem.

Magyarországon is komoly termesztési lehetőségek rejlenek az **ördögsekér laskagombában** (*Pleurotus eryngii* (DC.) Quél. 1872). Az elmúlt évtizedben fellendült a termesztése (mind külföldön, mind itthon), a fokozott fogyasztói igény miatt. A laskagombákra jellemző molekula a koleszterinszintet csökkentő lovasztatin (WASSER & RESHETNIKOV, 2002).

A világ harmadik legnagyobb mennyiségben termesztett gombafaja, a **shiitake** (*Lentinula edodes* (BERK.) Pegler. 1976). Az ázsiai orvoslás egyik legtöbb célra felhasznált, ill. az újvilági orvostudomány kutatott gombája. A tönk és a kalap ásványi anyag és aminosav-tartalma mennyiségileg eltér egymástól (VETTER et al., 2005).

Az egész északi féltekén elterjedt, de igazán Japánban van kultusza, az enokitake néven ismert **téli fülőkének** (*Flammulina velutipes* (CURTIS) Singer 1951) amelyet élelmiszerként és gyógygombaként tartanak számon. Az ázsiai országokban évi 100.000 tonna fülökét fogyasztanak el. A téli fülökét Európában főleg vadon gyűjtik, de termesztett változatához ma már itthon is hozzájuthatunk.

A **süngomba** (*Hericium erinaceus* (BULL.) Pers. 1797) egy ehető és gyógyászati célokra régóta használt gombafaj. Észak-Amerikában, Európában és Ázsiában is honos, főleg vegetáriánusok fogyasztják húspótlóként, mivel termőteste homogén és jól szeletelhető. Bizonyítottan koleszterinszint-csökkentő, illetve a különböző rákbetegségek ellen bizonyult hatásosnak (FRIEDMAN, 2015).

A nyárfákkal gyökérkapcsolatban álló (mikorrhizás), jellegtelen ízű, szürkülő húsú gomba, a **nyárfa érdestinóru** (*Leccinum duriusculum* (SCHULZER EX KALCHBR.) Singer 1947). Bioaktív anyagaiból a szakirodalomban csak egy cikkben, a karotinoidokról esik szó (CZECZUGA, 1978b).

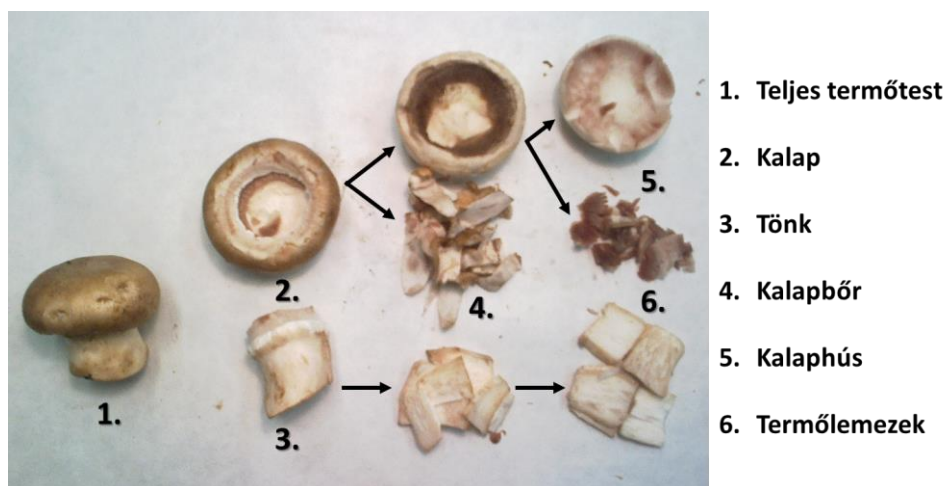
A Pioppino, az olasz konyha egyik kedvence, magyarul **déli tőkegomba** (*Agrocybe cylindracea* [syn. *Agrocybe aegerita* (Briganti) Singer]) (DC.) Maire 1938). Számos hatóanyagot tartalmaz, melyek szerkezetét is meghatározták, ilyen az antifungális hatású agrocybin (NGAI et al., 2005), emellett jelentős antioxidáns aktivitást mutattak ki a vizes és etanolos kivonatai esetén is (TSAI et al., 2007).

3.3.A minta-előkészítés lépései: a begyűjtéstől a tárolásig

A megfelelő előkészítés és kezelés segítségével könnyen összehasonlíthatók az adatok, így fontos, hogy a minták egyes feldolgozási lépései azonosak legyenek. Ilyenek a szedés/begyűjtés; lehetőség szerint egyszerre kell leszedni a megfelelő mennyiséget. Fontos továbbá a feldolgozás ütemezése és a feldolgozás során használt eszközök, a liofilizálás ütemezése és időtartama, az őrlés finomsága és a tárolási paraméterek is.

A kutatásom során többféle gombával volt lehetőségem dolgozni, így klasszikus pilotéciumos gombával (elkülönülő kalap és tönk), mint például az *Agaricus bisporus*, emellett pleurotoid pilotéciummal rendelkező *Pleurotus ostreatus*-szal, illetve speciális termőtestű gombával is, mint a *Hericium erinaceus*.

A hagyományos mikológiai metodika (kalap-tönk) (BARROS et al., 2007d; FERREIRA et al., 2007) helyett egy sokkal átfogóbb képet adó felosztást, az ún. „**frakcionálást**” alkalmaztam. A frakcionálás első lépéseként kitortem a tönköt, majd a kalapbőrt lehúztam szike segítségével, ezt követően pedig a termőlemezeket porkanállal kikapartam (**7. ábra**). Az egyes gombáknál különböző a frakciók eloszlása, mivel a kalap mérete és formája nagyon változatos, mely egyúttal fontos határozóbélyeg is. A frakcionálás követően 4 morfológiailag jól elkülöníthető részt kapunk, ezek a **kalapbőr, a kalaphús, a termőlemezek és a tönk**.



7. ábra – A frakcionálás menete

A frakcionálás segítségével a gomba termőtest egészéről nyerhetünk információkat, így a különböző morfológiai részek vizsgált anyagtartalmáról vonhatóak le következtetések. A frakcionálást követően a termőtestrészeket külön-külön lefagyasztottam (-18 °C). A különböző részeket a fagyasztás után liofilizáltuk. A gombák víztartalma jelentős, ezért szárítással a friss tömeg 85-90%-a eltávozik víz formájában, vagyis 100 g friss gombából körülbelül 15-10 g szárazanyag tömeget tudunk kinyerni.

Természetesen a frakcionált minták mellett szükség van egyöntetű, frakcionálatlan mintára (teljes termőtest és primordium) is. A különböző vizsgálati módszerekhez egységnyi, 1-1 g-nyi szárított gombaport kívántam felhasználni. Terveim között szerepelt 7 különböző vizsgálati módszer elvégzése. Az ismétléseket is figyelembe véve és 1 g mintamennyiséggel számolva ez fajonként (törzsenként) és frakciónként 21 g-nyi szárított mintát feltételez. A *Hericium erinaceus* esetében csak a termőtest egészét vizsgálhatom, illetve a primordiális állapot is nehezen meghatározható.

A kísérletekhez 3-szor vettem mintát, melyeket 3 technikai ismétléssel mértem le. A különböző frakciók szárazanyagtartalmát a leggyakrabban alkalmazott módszer segítségével határoztam meg a gombafajokból és törzsekből 3-3 termőtestet frakcionálás után 60 °C-on, szárítószekrényben, a tömegállandóság eléréséig szárítottam (WANG et al., 2010).

A minta-előkészítés lépései:

- **szedés/begyűjtés:** 2500 g-nyi mennyiségben (ebből ~250 g primordium)
- **frakcionálás:** kalapbőr, kalaphús, termőlemezek, tönk; 0,5 cm szélességű darabok, légmentesen lezárható zacskókba töltés, majd 24 órás fagyasztás -18 °C-on
- **liofilizálás:** *Scanvac* típusú liofilizálóval, 250 g anyag kb. 12-18 óra, -56-59 °C-on
- **örlés:** *OC 114 Labor MIM* típusú darálóval – lisztfinomságú szemcsék (0,2–0,02 mm)
- **tárolás:** + 5 °C-on, lezárt csavaros üvegekben, felirattal és nedvességmegkötő szilikagéllal

3.4.Extrakciós eljárások összehasonlítása

A mikológia szakirodalomban számos extrakciós eljárást alkalmaznak a kutatók, de az összehasonlító munkák száma csekély (VAMANU & NITA, 2013; HELENO et al., 2016). Az összfenoloid és antioxidáns tartalom meghatározásához, a legpontosabb adatok eléréséhez az extrakció típusa meghatározó, mert nem mindegy, hogy milyen mennyiségben sikerül kinyerni az anyagokat.

Az extrakciók közül először külön-külön vizsgáltam a metanolos és etanolos minták közötti különbségeket. A szakirodalomban fellelhető, a gombák esetében használt extrakciós módszereket hasonlítottam össze a saját extrakciós eljárással. Az összehasonlított módszereket és azok egyes paramétereit a **4. táblázatban** foglaltam össze.

A táblázatban olyan extrakciós eljárások szerepelnek, melyeket a lehetőségekhez mérten meg tudunk ismételni, de például a szakirodalmak között fellelhető MAZZUTTI et al. (2012) szuperkritikus fluid extrakciója nem került összevetésre a kísérlet során. A táblázatban számos vizes extrakciós eljárás is szerepel, amelyek nemcsak fenoloidokat vonnak ki.

4. táblázat – Az összehasonlított extrakciós eljárások

Extrakció típusa	Minta szükséglet	Oldószer	Időtartam	Végtérfogat	Szakirodalom
Hőkezelés I. (1)	10 g	meleg H ₂ O	9 óra	10 ml	TSAI ET AL. (2007)
Hőkezelés II. (2)	5 g	80% EtOH	3 óra	200 ml	DUBOST ET AL. (2007)
Mechanikai rázás (3)	5 g	MeOH	72 óra	15 ml	SARIKURKCU ET AL. (2008)
Mechanikai rázás hőkezeléssel (4)	1 g	MeOH	2 óra	10 ml	<i>Az általam használt eljárás</i>
Passzív extrakció + centrifuga (5)	10 g	hideg H ₂ O	24 óra	20 ml	LEE ET AL. (2009)
Ultrahang + centrifuga (6)	0,1 g	80% MeOH	50 perc	10 ml	ALVAREZ-PARILLA ET AL. (2007)
Vortex + centrifuga (7)	1 g	80% EtOH	1 óra	10 ml	HUNG & NHI (2012)

Az összehasonlító méréseket csiperke termőtest ('A-15'-ös törzs) mintáival végeztem. Az extrakciós eljárások összehasonlíthatósága érdekében egységnyi mintamennyiségből (1 g) indultam ki, amit egységnyi végtérfogatra (10 ml) állítottam be.

A saját fejlesztésű extrakció (módosított SARIKURKCU et al. 2008) lépései a következők:

1. A liofilizált és porított gombaanyagból (frakciók, termőtest, primordium) 1-1 g-ot veszünk ki, ezt 10 ml 96%-os MeOH-al elegyítjük;
2. 1 órán keresztül 60 °C-on rázatjuk, 175 rpm sebességgel (*Laberte Vibrotherm, LE-204/2*);
3. Büchner-tölcsérral és *Whatman No. 4*-es szűrőpapírral leszívjuk az extraktumot;
4. a visszamaradó anyagot ismét a lombikba helyezzük és megismételjük az eljárást;
5. a két extraktumot egyesítjük;
6. az extraktumot 10 ml-re bepároljuk, 45 °C hőfokú szárítószekrényben;
7. a különböző kromatográfias eljárások előtt a felhasznált mintákat 0,22 µm porúsátmérőjű teflon fecskendőszűrőn szűrtem.

Az extraktumok szárazanyagtartalmát is meghatároztam, ezt ellenőrzési céllal végeztem el, hogy kizárhassam a mennyiségbeli eltérésekből adódó hibákat. Ha egy-egy kivonatnak nagyobb a szárazanyagtartalma (koncentrációja), akkor joggal merül fel, hogy ez okozza-e a mért paraméterekben a különbségeket. A minták közül egy-egy sorozatból 1-1 ml-nyit Eppendorf-ba pipettáztam és beszárítottam, ezt mind a kisműszeres (szűrőpróbaszerűen), mind a kromatográfias minták (mindegyik minta) esetén elvégeztem.

3.5. Vizsgálati módszerek

A gombamintákat, egységes előkészítésüket és extrakciójukat követően különböző spektrofotometriás mérésekkel (96-lyukú microplates vagy küvettás) és analitikai módszerekkel vizsgáltam. A spektrofotometriás méréseket 3 mintavételezéssel és 3 technikai ismétléssel valósítottam meg. A nagyszámú minta összfenoloid-, összflavonoid-tartalmának és antioxidáns aktivitásának meghatározása után, szűkítettem a vizsgálandó törzsek körét, itt elsődlegesen az antioxidáns aktivitásbeli különbségek voltak irányadóak. Vékonyréteg kromatográfias vizsgálatokat végeztem a nagyobb antioxidáns aktivitású törzsekkel, ami főként az antioxidáns hatású alkotók elválasztását jelentette, ezt eluens fejlesztéssel értem el. Az optimális felbontás elérését követően, derivatizálási (származékképzési) módszerekkel határoztam meg az aktív komponensek anyagcsoportját. Az így nyert adatok figyelembevételével, izoláltam a rétegről és nagyműszeres analitikai technikákkal jellemeztem az antioxidáns hatásért felelős vegyületeket. Az izolálási protokoll részeként szilárd fázisú extrakcióval (SPE) csökkentettem a minták összetettségét, ezáltal az aktív komponenseket nagyobb koncentrációban lehet izolálni. Egyes gombatörzseket tartósítási vizsgálatokra is felhasználtam, főleg olyan törzseket választottam, amelyek felhasználása és termesztése általánosnak mondható a napi gombatermesztési gyakorlatban is. A választott törzsek az *Agaricus bisporus* 'K-145'-ös, a *Pleurotus ostreatus* 'P80'-as és a *Lentinula edodes* 'KST-67'-es. A vizsgálatok érintették a tárolás, szárítás, hűtés és más konzerválás lehetőségeit.

3.5.1. A gombaminták összfenoloid-tartalmának meghatározása

Az összfenoloid-tartalom (TPC) vizsgálatához egy olyan módszert választottam, amelyet a gombaminták esetében széleskörűen alkalmaznak. Az eredeti módszer SINGLETON & ROSSI (1965) nevéhez fűződik, a módszerhez szükséges anyagok: 10 V/V%-os Folin-Ciocalteau reagens, 7,5 m/m%-os Na₂CO₃ és kalibráló oldatként 0,1 mg/ml-es galluszsav.

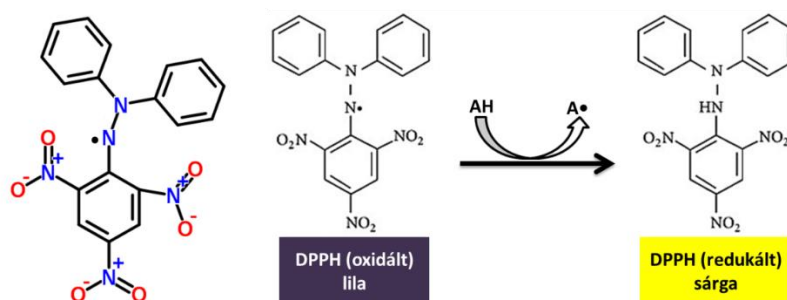
A reakcióelegy a következő: 1 ml MeOH-s gombamintához, 4 ml-nyi Folin-Ciocalteau reagenst adagoltam, majd 3 perc elteltével 5 ml Na₂CO₃-ot adtam az elegyhez. A reakcióelegyet letakartam és 30 percet inkubáltam szobahőmérsékleten, majd a színintenzitást spektrofotométerrel mértem 765 nm-en. A kalibrálást 20-150 µg-nyi mennyiségű galluszsavval végeztem 10 µg-os léptékkel. A mérést követően a galluszsav értékeket ábrázoltam és kalibrációs egyenest illesztettem az adatpontokra, a minták összfenoloid-tartalmát galluszsav ekvivalens értékben (mg GSE/g sz.a.) adtam meg.

3.5.2. Az összflavonoid-tartalom mérési módszere

A flavonoid-tartalom meghatározásához, GURSOY et al., (2009) cikkében fellelhető Dowd-módszert alkalmaztam, amely eredetileg egy francia nyelvű cikkben jelent meg először (ARVOUET-GRAND et al., 1994). Ez a spektrofotometriás módszer nagyon egyszerű, a minta 1 ml-hez hozzáadtam 1 ml MeOH-t és 2 ml AlCl_3 -ot (2 m/m%). 10 perc inkubálást követően 415 nm-en mértem az abszorbanciáját a mintáknak. A kalibráláshoz quercetin alkalmaztam 5-60 μg koncentrációkban. Az eredményeket a quercetin kalibráló görbe ábrázolását követően quercetin ekvivalens értékben (mg QE/g sz.a.) adtam meg.

3.5.3. Az antioxidáns-aktivitás meghatározásának módszere

Az antioxidánsok vizsgálatára ma már több mint 100 féle teszt alkalmazható, ezek nagy része kifejezetten egy-egy szabadgyóktípusról (pl.: szuperoxid, peroxil, peroxinitrit, H_2O_2 , stb.) adnak információkat, míg nem elhanyagolható azon tesztek száma sem, amelyek az gyökfogó antioxidáns kapacitást (antioxidáns aktivitás) hívatottak felmérni. Mindegyik tesztnek megvannak a maga erősségei és természetesen a gyengeségei is (CORNELLI, 2009). A vizsgálataim során DPPH alapú módszereket alkalmaztam (hagyományos spektrofotometriás, illetve TLC-DPPH és HPLC-DPPH formában). A **DPPH** vizsgálat a szabadgyökkötő-képességet hívatott mérni, azaz azt, hogy adott anyag milyen arányban képes megkötni a szabadgyököket. A vizsgálat az egyik legkorábbi antioxidáns mérési módszerek egyike, eredeti leírója BLOIS (1958). A reakció lényege, hogy a sötétlila színű mesterséges szabadgyökök (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil gyök) antioxidánsokkal reagálva elvesztik lila színüket és sárga színűvé (2,2-difenil-1-pikrilhidrazin) redukálódnak (**8. ábra**).



8. ábra – A DPPH szerkezete és lekötésének mechanizmusa

(Forrás: TEIXEIRA et al., 2013)

A módszer elterjedését a könnyű beszerezhetőség, az elhanyagolható bomlékonyság és visszafogott reakcióképesség segítette. A vizsgálat hátránya maga a mesterséges vegyület, mert ez biológiai rendszerekben nem fordul elő.

A DPPH gyök kémiai szerkezete is problémákat vet fel, mert a reaktív centrum nehezen hozzáférhető, így a nagyobb molekulák kevésbé képesek lekötni.

A spektrofotometriás mérés igen egyszerű, 1 mM-os DPPH oldatból 0,9 ml-t adunk a metanollal (3,1 ml) kevert minta 1 ml-éhez. A microplateben történő DPPH-s vizsgálatoknál az arány megmaradt, de a térfogat erősen lecsökkent, ebben az esetben 50 µl mintához 150 µl MeOH-t és 50 µl 1mM-os DPPH oldatot adtam. Mindkét esetben 517 nm-en mértem, a DPPH abszorbanciájának maximumán. Az eredményeket a szabadgyök lekötés %-ban adtam meg, az alábbi formula alapján:

$$\text{Gyökkötő képesség (\%)} = [(A_0 - A_1) / A_0] * 100$$

Az A_0 a kontroll minta (antioxidáns mentes) abszorbanciája, míg az A_1 az adott gombaminta abszorbanciája. A vizsgálataim során 96 lyukú microplaten EC_{50} -értékeket is mértem a nagyobb gátlást mutató minták esetében. Az EC_{50} érték megadja azt a koncentrációt, amely a maximális hatás 50%-át hozza létre. A reakcióelegyként az előbb leírtak szerint jártam el, de az egyes mintákból 8 tagú felező hígítást végeztem, illetve a vizsgálati hullámhossz módosult (540 nm-re), mivel a microplate olvasó (*Labsystems iEMS reader MF, MTX Lab Systems, Inc. FL, USA*) szűrőkkel van szerelve és nem monokromátorral. A microplate-es kísérleteket 3x ismétléssel végeztem, galluszsav standard (1 mg/ml) használata mellett. Ezen adatok alapján a különböző kivonatok hatáserősségét is feltérképezhetjük.

3.5.4. Tartósítási eljárások hatásának vizsgálata

A tartósító eljárások évszázadok óta segítik az emberiséget a „fölség” hosszantartó tárolásában és minőségének megőrzésében. Vizsgálataink a gombák tárolásának és tartósításának témakörébe tartozó eljárásokat ölelik fel és hasonlítják össze.

A friss gombafogyasztás mellett a szárítmányok és feldolgozott gombakészítmények is egyre nagyobb teret kapnak az emberek táplálkozásában. A feldolgozás mellett gazdasági és élelmiszerbiztonsági szempontok is szerepet kapnak (CHANG, 2006). A friss gombák tárolhatósága véges (7-10 nap), romlandó élelmiszernek számítanak, ez a gyors sejtlégzéssel magyarázható (ADAMISKI, 2004). Egyes gombák ma már a természetés térhódításával nem számítanak szezonális termékeknek, egész évben beszerezhetőek.

Az el nem adott vagy a minőségi követelményeknek nem megfelelő gomba termőtestek továbbhasznosítása (tartósítása) mellett a magas minőségű termőtestek hosszabb eltarthatósága is igényként merült fel (főleg a vendéglátóiparban). A gomba termesztését követően középhosszú és hosszú távú tartósítására alkalmasak a különböző kémiai eljárások (ecetes, natúr, sós, stb.) illetve, a hűtés, a fagyasztás és a szárítás (SZILI, 2008).

A szárított nagy tömegű, főleg a gyógygombákból származó gombaport kiválóan kapszulázható táplálék-kiegészítőként értékesítik. Az így előállított készítmények beltartalmi paramétereiről, elsődlegesen a fehérje-, a zsír-, a szénhidrát-, a vitamin-, és a nyomelem-tartalmairól számos kutatási eredmény látott napvilágot (MATTILA et al., 1999; BEECHER et al., 2001; JAWORSKA et al., 2011). A friss gombák konyhatechnikai elkészítése (pl.: sütés, főzés, gőzölés, stb.) során várható beltartalmi paraméter változásokról is vannak információink (MANZI et al., 2001, 2004; DIKEMAN et al., 2005).

A szekunder metabolitok mennyiségi dinamikájáról és az antioxidáns aktivitás változásáról a feldolgozást és tartósítást követően azonban csak kevés adat található (VALENTAO et al., 2005; BARROS et al., 2007b; PELLEGRINI et al., 2009). Az utóbbi években lassú növekedés észlelhető e kérdéskört (tartósítás – aktív anyagtartalom) érintő cikkek esetében (FERNANDES et al., 2013; JAFRI et al., 2013).

A tartósítási vizsgálatok során (**5. táblázat**) három gombatörzset vizsgáltunk behatóbban, az első hullámban szedett friss termőtesteket átlagosan 305 ± 10 g-nyi egységekre osztottuk (**9. ábra**). A kontroll mintát feldarabolás után fagyasztottuk, majd liofilizáltuk, amit a megfelelő variánsoknál a kezelést követően végeztünk el. A kezelésekhöz a termőtest mintákat 0,5 cm-es szeletekre vágtuk.



9. ábra – Laskagomba egységnyi mennyiségekre osztva

A hűtésre szánt mintákat zacskóba töltöttük és fagyasztottuk-hűtöttük. A szárítási vizsgálatok mintáit papírral bélelt tálcákon egy rétegben eloszlattuk. A kémiai tartósító eljárások között alkalmaztunk: **blansírozást** (forró vízbe dobjuk a szeleteket 5 percre, majd hideg vízben hűtjük), **sós** (az egységnyi gombához 54 g sót keverünk, 12 óra állást követően felöntjük 18%-os sós vízzel) és **ecetes** (12,5 ml 20%-os ecet, 40 g só 1 liter vízben oldva és forrón a blansírozott gombára öntjük) illetve, **natúr** (10 g só és 1 g citromsav 1 liter felöntőléhez) tartósítást is.

5. táblázat – Az alkalmazott tartósító eljárások típusai (Forrás: SZILI, 1998)

Kezelés	Típus	Időtartam	Hőmérséklet	Rövidítés
Hűtve tárolás	hűtés	3 nap	5 °C	hűtés (3n)
	hűtés	7 nap	5 °C	hűtés (10n)
	fagyasztás	3 hónap	-20 °C	F 3 hó
	fagyasztás	6 hónap	-20 °C	F 6 hó
Szárítás	szűrőpalcán szárított szobahőmérsékleten	48 óra	20-32 °C	szűrőp.
	szárítószeletrény	48 óra	24,5 °C	24,5 °C
	szárítószeletrény	48 óra	35 °C	35 °C
	szárítószeletrény	24 óra	60 °C	60 °C
	szárítószeletrény	24 óra	90 °C	90 °C
Kémiai kezelés	blansírozás	-	100 °C	blans.
	sós	-	100 °C	sós
	ecetes	-	100 °C	ecetes
	natúr	-	100 °C	natúr
Mikrohullámú kezelés	800 W	5 perc	-	mh 5'
	800 W	15 perc	-	mh 15'

A mikrohullámú sütő a mindennapok részévé vált, ezért vizsgáltam a gombák antioxidáns anyagaina gyakorolt hatásait. Az egységnyi friss gombamintákat behelyeztük a **mikrohullámú sütőbe**, a teljesítményt beállítottuk 800 W-ra és 2 különböző időtartamot (5 és 15 perc) alkalmazva kezeltük a mintákat. Az idő lejártá után kihűtöttük a gombaszeleteket és fagyasztást követően liofilizáltuk a mintákat. A tartósító eljárások során nyert minták összfenoloid-, összflavonoid-tartalmát és antioxidáns aktivitását mértük, a korábban leírt módszerek szerint.

3.5.5. Vékonyréteg kromatográfia

A vékonyréteg kromatográfiai kísérletek során a nagyobb antioxidáns aktivitású és fenoloid-flavonoid anyagokban gazdagabb mintákat vizsgáltam. A vékonyréteg kromatográfiai vizsgálatokat elsősorban az antioxidáns anyagok kimutatására (profilanalízis) használtam fel (SHERMA, 2000). Ez első sorban az újfajta fracionált felosztás különbségeinek feltárását célozta, de az adott aktív anyagok karakterizálását, illetve azok célzott izolálását is lehetővé tette.

Az egyes mintákból 10-10 µl-t vittem fel mikrofecskendő segítségével a rétegre (normál szemcsés szilikagél 60 F₂₅₄, 20 cm * 10 cm, 0,2 mm vastagság, Merck, Darmstadt, Németország). A mintafelviteli paraméterek: *mintafelviteli magasság - 8 mm, szél - 15 mm, mintasáv - 8 mm; köz - 5 mm, kifejlesztési magasság - 90 mm*. A rétegeket ikerkádban (CAMAG, Muttenz, Svájc) fejlesztettem ki. A vizsgálatok első lépése a mozgófázis fejlesztése volt, hogy az antioxidáns hatású anyagok megfelelő felbontású elválasztását megvalósítsam. Ehhez tiszta oldószereket, illetve különböző oldószerelegyeket használtam, melyeket a **6. táblázatban** tüntettem fel.

6. táblázat – A vékonyréteg kromatográfiai mozgófázis fejlesztése során kipróbált elegyek

Oldószer A	Oldószer B	Oldószer C	Arány (V/V)	Módosító vegyület (pl.: sav)
ACN	H ₂ O	-	70:30; 75:25; 80:20; 85:15; 90:10	ecetsav - 1, 3, 5 %
Hex	EtAc	-	60:40; 70:30	-
MeOH	Tol	-	70:30; 80:20; 90:10	-
MeOH	Tol	H ₂ O	50:40:10; 60:30:10; 70:20:10; 70:10:20; 80:10:10	ecetsav - 1, 5, 10 %
Tol	EtAc	-	50:50; 60:40; 70:30	-

Az antioxidáns hatású anyagok kimutatásához a kifejlesztett és megszáritott rétegeket 1 mM-os DPPH oldatba merítettem (TLC-DPPH). Az antioxidáns anyagok világos foltként jelennek meg a lilás háttérrel szemben. Ezzel a módszerrel ellenőriztem azt is, hogy sikerült-e elválasztani az aktív anyagokat.

A megfelelő felbontás elérését követően, az adott mozgófázissal a kiválasztott mintasorozatot párhuzamosan futtattam (egy futtatókádban két réteget). A kifejlesztés 15 percet vett igénybe, ezt követően hideg levegővel megszáritottam a rétegeket és 254 nm és 366 nm-es hullámhosszú fény alatt lefényképeztem. A rétegeket ezután DPPH oldatba merítettem és hagytam megszáradni, majd felülről alsó megvilágítású fotókat készítettem az előhívott rétegekről, így szemléltetve az adott gombafaj adott részeinek antioxidáns profilja közötti különbségeket.

A különböző gombafajok legtöbb illetve legnagyobb mennyiségben aktív anyagot tartalmazó frakcióival derivatizálási (származékképzési) vizsgálatokat végeztem, hogy az aktív komponensek anyagsoportját meghatározzam.

A derivatizálási vizsgálatok esetében is több párhuzamos futtatást végeztem, majd különböző reagenseket (**7. táblázat**) alkalmazva az aktív komponenseket jellemeztem. Az anyagcsoport meghatározásával, illetve a kromatográfiás tulajdonságok figyelembe vételével izolálni próbáltam az aktív anyago(ka)t.

7. táblázat – A származékképzési reakciókhoz felhasznált reagensek (Forrás: JORK et al., 1990)

Reagens	Elkészítés	Detektálási módszer	Kimutatott vegyületek
2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH)	19,7 mg DPPH + 50 ml MeOH	szárítást követően, látható fény	Antioxidáns hatású vegyületek
Aluminium-klorid	50 mg AlCl ₃ + 50 ml MeOH	90°C-ra hevítés, 366 nm	Flavonoidok
Anilin-reagens	20 ml 15 V/V% anilin + 50 ml 30 V/V% ortofoszforsav, oldószer: 1-butanol	125°C-ra hevítés, látható fény	Redukáló cukrok
Difenilamin-reagens	2 g difenilamin + 2 ml anilin + 80 ml aceton + 15 ml foszforsav	110°C-ra hevítés, látható fény	Glikozidok, glikolipidek
Fast Blue B	150 mg só 100 ml vízbe + 20 ml 0,1 M NaOH	szárítást követően, 254 nm	Fenolos vegyületek
Folin-Ciocalteu	Folin-Ciocalteu 10 V/V% és 7,5 m/m%-os Na ₂ CO ₃ , oldószer: H ₂ O	szárítást követően, látható fény	Fenolos vegyületek
Foszfomolibdénsav	250 mg foszfomolibdénsav + 50 ml EtOH	szárítást követően, 366 nm	Zsírsavak és zsírsav származékok
Vanillin-kénsav	200 mg vanillin + 50 ml EtOH + 1 ml cc. H ₂ SO ₄	110°C-ra hevítés, látható fény	Általános reagens
Ninhidrin	30 mg ninhidrin + 95 ml 2-propanol + 5 ml 96% ecetsav	110°C-ra hevítés, látható fény	Aminosavak, aminok, aminocukrok
NP-PEG	0,25 g NP só + 100 ml MeOH és 2,5 ml PEG + 250 ml MeOH	szárítást követően, 366 nm	Fenoloidok és lipidek
Primulin	5 mg só feloldva 100 ml aceton/víz 4:1-es elegyben	szárítást követően, 366 nm	Zsírsavak és zsírsav származékok
Rhodamin B	50 mg Rhodamin B só + 200 ml H ₂ O	szárítást követően, 366 nm	Fenoloidok és lipidek

Többféle stratégiát kipróbáltam, mind a rétegről való izolálást (analitikai és preparatív rétegről egyaránt), mind a szilárdfázisú extrakciót (solid phase extraction, SPE) is. Az analitikai rétegről való izolálás során az adott mintából a meghosszabbított minta felviteli sávra (a mi esetünkben – 170 mm), a sáv hossznövekedésével arányosan vittem fel nagyobb mennyiségű mintát (~105-110µl). A megfelelő mobilfázissal kifejlesztettem a réteget, majd szárítást követően egy kb. 1 cm-es sávot levágtam róla, amelyet 1 mM-os DPPH oldatba merítettem. Az aktív anyagok sávjait bejelöltem a teljes, tiszta (DPPH mentes) rétegen és rétegaparó segítségével az adott sáv(ka)t lekapartam, és a rajtuk lévő komponens(ek)e)t leoldottam (H₂O-t alkalmaztam). A kapott oldatot hidrofil teflon fecskendőszűrőn (*FilterBio® PTFE 13 mm átmérő, 0,22 µm pórusméret*) átszűrtem. Az így nyert mintát beszárítottam, majd visszaoldottam MeOH-ban és az aktivitását ellenőriztem TLC-DPPH módszerrel. Az izolálást elvégeztem analitikai (0,2 mm rétegvastagság) és preparatív célú (2 mm rétegvastagság) rétegen is. A preparatív rétegre 4-szeres mennyiségű, azaz 400 µl mintát vittem fel 17 cm-es sávban.

3.5.6. Szilárd fázisú extrakció (SPE)

Az SPE az egyik leggyakrabban alkalmazott minta előkészítési eljárás, mely az azonos karakterű anyagok dúsítására, a minta mátrixától való elválasztására szolgál. A művelet maga szilárd tölteten megy végbe, úgynevezett szilárd-folyadék extrakcióként; ehhez olyan töltetre (szorbensre) van szükség, mely jó hatásfokkal tartja vissza a vizsgálandó anyagokat, illetve a tisztítást (a nem kívánatos mátrix komponensek lemosása) követően azok könnyen leoldhatók. Az SPE-hez kereskedelmi forgalomban lévő oszlopot is kipróbáltam (Bakerbond SPE, SiOH, 60 Å, 3 ml – 470 mg, 7086-03, J. T. Baker Inc. USA), de végül saját készítésű oszlopokat használtam a végleges dúsításhoz. A különböző SPE-oszlopok paramétereit a **8. táblázatban** foglaltam össze.

8. táblázat – Az általam használt SPE-oszlopok

SPE-oszlop típusa	pórusméret	oszlop átmérő (mm)	töltet tömeg (mg)	oszlop magasság (mm)	rávihető szárazanyag (mg)	eluáló térfogat (ml)
J.T. Baker	60 Å	8	470	20	≈ 32	2
1. saját - méréshez	60 Å	17	2185	20	≈ 148	9
2. saját - becsült paraméterek alapján	60 Å	17	3055	33	≈ 208	13
3. saját - végleges	60 Å	17	7500	47	≈ 500	25

A saját készítésű oszlop esetében a minél nagyobb oszlopra vihető szárazanyag tartalom volt az irányadó, hogy nagy mennyiségben tudjam dúsítani az antioxidáns anyagokat. Az SPE oszlop kialakításához egy 25 ml-es fecskendő-t használtam, aminek az aljába egy üvegszál szűrőbetétet helyeztem. A töltet készítéshez 230-400 mesh szemcse méretű szilikagélt (*Fluka Analytical, Sigma-Aldrich*) alkalmaztam, amiből a kimérést követően kétszer desztillált vízzel szuszpenziót készítettem, amit a fecskendőbe öntöttem. Ülepedés után vákuummal kiszívtam a vizet a töltetszemcsék közül, így alakítva ki a végleges, buborékmentes töltetet. Az eluátumokat rotációs vákuumbepárlóval (*BÜCHI Rotavapor R-134, BÜCHI Labortechnik AG, Svájc*) szárítottam be, majd visszaoldottam MeOH-ba és ellenőriztem vékonyrétegen DPPH-s és vanillin-kénsavas előhívással.

Az általam kidolgozott SPE lépései (zárójelben a V/V arány):

1. szorbens mosás – ACN → MeOH → MeOH-H₂O elegy (50:50) → H₂O
2. szárítás
3. a mintát tartalmazó szilikagél rárétegzése a töltetre
(500 mg minta rászárítva 750 mg preparatív szilikagél porra)
4. mosás I. – Hex-EtAc (60:40)
5. mosás II. – ACN (100)
6. mosás III. – ACN-MeOH (80:20)
7. mosás IV. – ACN-MeOH (60:40)
8. eluálás I. – ACN-MeOH (40:60)
9. eluálás II. – ACN-MeOH (20:80)
10. eluálás II. – MeOH-H₂O (80:20)
11. mosás – H₂O 100%

3.5.7. HPLC-DAD-ESI-MS

A nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás (HPLC) elválasztáson alapuló analitikai eljárásokat négy különböző vizsgálatra használtam.

- Az első az antioxidáns anyagok kimutatása DPPH–HPLC-diódasoros detektor (DAD) módszerrel.
- A második az aktív anyagok jellemzése, kromatográfiás csúcsok tisztaságának vizsgálata HPLC-DAD-tömegspektrométer (MS) technikával.
- A harmadik eljárás az aktív anyagok izolálása az SPE eluátumokból.
- A negyedik pedig az aktív anyagok mennyiségi összehasonlítása a különböző gombafajok és frakciók esetében.

Mind a négy esetben ugyanazokat az elválasztási paramétereket és HPLC berendezést használtam. A méréseket egy Q-LC-MS (*Model LC-MS-2020, Shimadzu, Kyoto, Japán*) rendszerrel végeztem, mely bináris gradiens pumpával, termosztálható automata mintaadagolóval, oszlopfűtéssel, DAD és MS detektorral van ellátva. A tömegspektrometriás méréseket elektroporlasztásos ionizátorral (ESI) ellátott kvadrupól tömegspektrométerrel végeztem. Az antioxidáns anyagok elválasztását normál fázisú, szilika előtétoszloppal (8 mm x 4 mm) rendelkező szilika alapú Hypersil oszlopon (200 mm x 4 mm) valósítottam meg. Méréseként 5-10 µl mintát injektáltam. Mobilfázisként H₂O-t (A, 0,05% hangyasavat és 5% ACN-t tartalmazott) és ACN-t (B, 0,05% hangyasavat tartalmazott) használtam.

Az áramlási sebesség 1,5 ml/perc volt és az alábbi gradiens elúciót alkalmaztam: 0–17 perc, 95–5% B; 17–18 perc, 5% B; 18-23 perc, 95% B.

Az ESI ionizáció paraméterei:

- deszolvatációs hőmérséklet 250 °C; hőblokk hőmérséklet: 450 °C;
- szárító gáz (N_2) áramlás 15 l/perc; porlasztógáz (N_2) 1.5 l/perc;
- negatív és pozitív ionizációs mód,
- alkalmazott feszültség 4,5 kV.

A tömegspektrumot 100-1200 m/z tartományban rögzítettem. Az adatok gyűjtését és feldolgozását, többek között az aktív anyagok kimutatását, a retenciós idők összehasonlítását és a tömegspektrumok kiértékelését a *LabSolutions 5.72.-es (Shimadzu, Kyoto, Japán)* program segítségével végeztem el. A DPPH-HPLC-módszer során egy mintából két mintavételezés és futtatás történik. Az első futtatás során a metanollal 1:1 arányban hígított mintát analizáltam, míg a második futtatás előtt a mintához 2 mM-os metanos DPPH oldatot adtam 1:1 arányban, majd 30 percet követően mértem le. DPPH hatására az aktív anyagok UV és MS jeleinek intenzitása csökken, mivel egy részük reagál a szabadgyök molekulákkal. Az izolálást (on-line frakciószedés) akkor tudjuk végrehajtani, ha az adott aktív anyag elválasztása alapvonal, vagy közel alapvonal. Az aktív anyag dúsítását SPE segítségével valósítottam meg. Többszöri injektálás során az UV jel alapján (megfelelő retenciós idő és UV spektrum) az UV detektorból kilépő, aktív anyagot tartalmazó mozgó fázist összegyűjtöttem. Az összegyűjtött izolátum mennyisége kb. 36 ml volt, amit rotációs vákuumbepárló segítségével két lépésben szárítottam be. Az első lépésben kb. 10 ml-re redukáltam a térfogatát. Ezt használtam az izolátum aktivitás és tisztaság vizsgálatára, melyeket TLC-DPPH és HPLC-MS módszerekkel végeztem. A teljesen beszárított mintát vittem NMR-es szerkezet meghatározásra, melyet a SOTE Farmakognóziai Intézetében végeztek.

3.5.8. Az izolált anyag pontos tömegének meghatározása ESI-TOF-MS technikával

Az izolált anyag pontos tömegének ismerete szükséges az összegképlet meghatározásához. Az összegképlet és az NMR-spektroszkópiai vizsgálatok alapján meghatározható a pontos kémiai szerkezet. Az izolált mintát pozitív és negatív ESI ionizációval vizsgáltuk Waters Q-TOF Premier (Waters Corporation, Milford, MA, USA) tömegspektrométerrel (**10. ábra**). Az izolált anyagot (2,8 µg/ml) közvetlenül juttattuk a műszerbe, összesen kb. 300 µl mennyiségben, hogy minden ionizációs spektrumot fel tudjunk venni.

A mintáról különböző ütközési energiákon, ütközésaktivált bomlási (CID) spektrumokat vettünk fel argon ütközőgázt használva, és a keletkezett fragmensek pontos tömegét is meghatároztuk.



10. ábra – A pontos tömegméréshez alkalmazott ESI-TOF-MS műszer

A spektrumok értékelését követően, a kapott adatok alapján meghatároztuk a pontos tömeget, az összegképletet és a fragmensek alapján a szerkezeti tulajdonságokat is.

3.5.9. Mágneses magrezonancia és cirkuláris dikroizmus spektroszkópia

A mágneses magrezonancia spektroszkópia (NMR) a kémiai szerkezetvizsgálatok egyik alapvető eszköze. Ez a spektroszkópai eljárás, ma már széles körben alkalmazott technika a gyógyszeriparban. A mérés alapját az atommag spinek mágneses tulajdonsága adja, az erős elektromágneses térbe helyezett oldott vagy szilárd mintát vizsgálnak, az adott minta részecskéi az erős mágneses térben egy irányba rendeződnek, az adott részecske „irányba állása” energiátöbblettel jár. Az állandó mágneses térben a „relaxált” és a segédmágneses térrel való besugárzás hatására létrejövő állapotok közötti különbséget rádióhullám tartományban lehet észlelni. Az adott atommagra specifikus frekvenciát, amely csak a külső mágneses tértől és az atommag spinjétől függ, Larmor-frekvenciának hívjuk. A mérések alapján fontos szerkezeti információkat kaphatunk az adott vegyületről.

A fő nehézséget a megfelelő mennyiségű és tisztaságú anyag előállítása vagy természetes forrásból való kinyerése adja, mivel nagyobb mennyiségben (néhány mg) és nagy tisztasággal kell az adott vegyületet izolálni. Az NMR méréseket a Semmelweis Egyetem Gyógyszerésztudományi Karán található 600 MHz-es Varian DDR NMR spektrométerén (*Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA*) 5 mm IDPFG mérőfejjel végeztük.

A mintát deuterált metanolban oldottuk és 5 mm átmérőjű standard NMR csövekben mértük. Az adatgyűjtés *VnmrJ 3.2C* szoftverrel történt, a *ChemPack 5.1*-ben szereplő standard pulzusprogramok használatával. A tökegombából izolált vegyület teljes ^1H és ^{13}C jelhozzárendelését (teljes asszignáció esetén) egy- és kétdimenziós homo- és heteronukleáris kísérletek alapján végezte el (COSY, zTOCSY, NOESY, ^1H - ^{13}C gHSQCAD, ^1H - ^{13}C gHMBCAD ($^nJ_{\text{CH}} = 8 \text{ Hz}$)). A spektrumokat a deuterált oldószerben található részlegesen deuterált metanol (CD_2HOD) referenciajelre, ^1H esetén 3.31 ppm-re, ^{13}C esetén pedig 49,15 ppm-re referenciáltuk.

Az NMR vizsgálatokat kiegészítettük ún. cirkuláris dikroizmus spektroszkópiával (CD). A síkban polarizált fény (jobbra és balra cirkulárisan polarizált) a királis mintán áthaladva eltérő mértékben nyelődik el. E jelenség az alapja a CD spektroszkópiának. Adott molekulában lévő kromofór csoportok egymáshoz képesti térbeli elrendeződéséről, vagyis a térszerkezetről ad információt (JOHNSON, 1988). Ez azt hivatott szolgálni, hogy a végső különböző kémiai szerkezetek közül a megfelelő királítású szerkezetet tudjuk meghatározni, mivel erre az NMR-spektroszkópia nem alkalmas.

3.6. Az értékelés matematika módszerei

A kisműszeres mérések törzs és frakciósintű adatsorait (összfenoloid, összflavonoid, antioxidáns aktivitás), illetve a microplate-es antioxidáns aktivitás vizsgálatokból származó EC_{50} -es értékeket (a kiszámításához a <https://www.aatbio.com/tools/ec50-calculator/> web eszközt alkalmaztam), továbbá a nagyműszeres mérésekből származó csúcsterület adatokat (3 technikai és 3 biológiai ismétléssel) *Microsoft Excel 2010*-es kiadású szoftverében rendszereztük. A statisztikai elemzésekhez *Statistica 13.3-ás (TIBCO Software Inc. 2017)* programcsomagot használtunk. Az adatok feltételvizsgálatához normalitás tesztet (*Shapiro-Wilk teszt*) és varianciahomogenitás tesztet (*Levenne-teszt*) végeztünk. A kiértékeléshez 95%-os megbízhatósági szintet állítottunk be ($p \leq 0,05$). Az adatsorok különbségeinek értékeléséhez egyfaktoros varianciaanalízist (*ANOVA*) alkalmaztunk, majd a páronkénti összehasonlításokhoz *Tukey post-hoc* tesztet végeztük. Az antioxidáns aktivitás, illetve a fenoloid-flavonoid eredmények közötti összefüggések feltárása *Pearson-féle korrelációs együttható* figyelembevételével történt. A különböző termesztett fajok törzseit a vizsgált 3 paraméter statisztikai kvartilisei alapján (minőségi) csoportokba soroltam. Az adott paraméter kvartilis határai kaptak egy pontszámot (1-4 között), minél kisebb az érték, annál értékesebb az adott törzs az antioxidáns anyagtartalom szempontjából.

4. EREDMÉNYEK

4.1. Az előkísérletek eredményei

4.1.1. A termőtest részek tömegarányai

A szárazanyag-tartalom vizsgálathoz 3-3 termőtestet külön-külön szedtem részeire és mértem le frissen, illetve szárított állapotban, az adatok e mérések átlagai (9. táblázat). Az *Agaricus bisporus*, a *Lentinula edodes* és a *Pleurotus ostreatus* esetében a törzsek átlagai szerepelnek, míg a többi gombafaj esetében a gyűjtött mennyiségből véletlenszerűen kivett termőtestek átlagai láthatóak. A *Hericium erinaceus* esetében frakcionálásra nem kerülhetett sor a termőtestek szerkezete miatt, így e gombafaj nem szerepel a táblázatban.

9. táblázat – A vizsgált gombák frakciói és azok tömegarányai frissen és szárítva (fajonként)

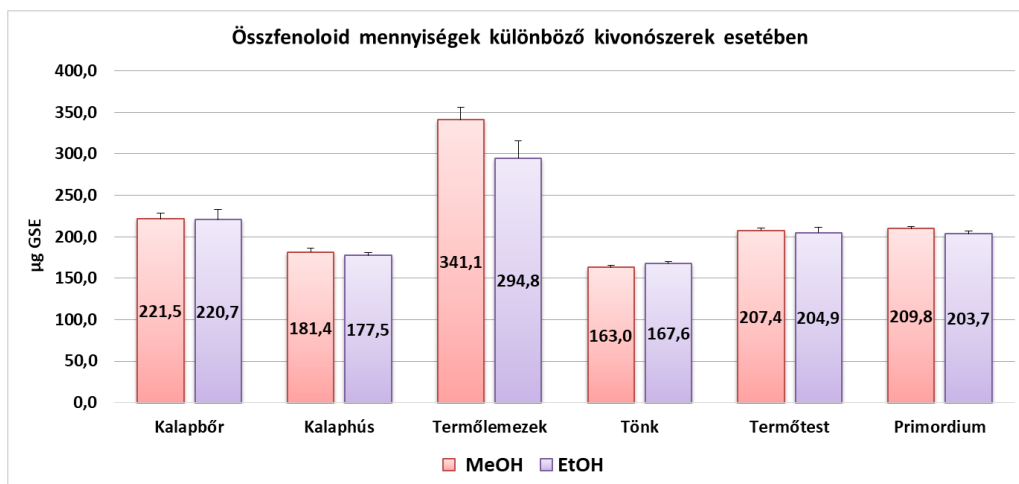
Frakciók	<u><i>Agaricus bisporus</i></u>				<u><i>Pleurotus ostreatus</i></u>			
	Frissen (g)	%*	Szárítva (g)	%*	Frissen (g)	%*	Szárítva (g)	%*
kalapbőr	2,29 ± 0,4	8,3 ± 0,7	0,32 ± 0,03	12,3 ± 0,7	3,12 ± 0,8	18,2 ± 3,3	0,27 ± 0,07	16,5 ± 3,0
kalaphús	11,42 ± 1,95	41,9 ± 6,9	0,92 ± 0,22	35,7 ± 7,4	3,93 ± 1,1	22,7 ± 3,5	0,37 ± 0,07	22,4 ± 2,2
termőlemez	3,6 ± 0,28	13,2 ± 0,2	0,35 ± 0,02	13,5 ± 0,9	5,86 ± 1,4	34,6 ± 8,3	0,59 ± 0,14	36,6 ± 8,9
tönk	10,04 ± 2,31	36,6 ± 6,4	0,99 ± 0,16	38,6 ± 6,5	4,17 ± 1,3	24,4 ± 6,3	0,4 ± 0,14	24,5 ± 7,1
termőtest	27,35 ± 2,6	-	2,57 ± 0,14	-	17,09 ± 2,4	-	1,64	-
Frakciók	<u><i>Lentinula edodes</i></u>				<u><i>Flammulina velutipes</i></u>			
	Frissen (g)	%*	Szárítva (g)	%*	Frissen (g)	%*	Szárítva (g)	%*
kalapbőr	2,70 ± 0,87	12,5 ± 3,9	0,31 ± 0,04	11,8 ± 0,7	0,34 ± 0,02	17,9 ± 0,6	0,04 ± 0,01	19,8 ± 2,3
kalaphús	8,32 ± 1,29	38,5 ± 6,0	1,05 ± 0,18	39,4 ± 3,9	0,32 ± 0,02	17,1 ± 0,3	0,03 ± 0,00	17,1 ± 1,3
termőlemez	3,04 ± 0,83	14,0 ± 3,7	0,3 ± 0,05	11,2 ± 1,3	0,95 ± 0,03	49,8 ± 0,9	0,08 ± 0,01	44,4 ± 1,4
tönk	7,55 ± 0,71	35,0 ± 3,7	0,99 ± 0,11	37,6 ± 5,8	0,29 ± 0,03	15,2 ± 0,9	0,03 ± 0,01	18,7 ± 1,7
termőtest	21,6 ± 0,23	-	2,66 ± 0,22	-	1,91 ± 0,09	-	0,19 ± 0,02	-
Frakciók	<u><i>Agrocybe cylindracea</i></u>				<u><i>Leccinum duriusculum</i></u>			
	Frissen (g)	%*	Szárítva (g)	%*	Frissen (g)	%*	Szárítva (g)	%*
kalapbőr	3,02 ± 0,47	9,2 ± 1,9	0,46 ± 0,07	9,8 ± 2,4	2,61 ± 0,58	10,1 ± 0,2	0,30 ± 0,10	12,7 ± 2,2
kalaphús	5,2 ± 0,76	16,4 ± 5,7	0,52 ± 0,05	11,5 ± 3,4	5,71 ± 1,12	22,2 ± 0,7	0,56 ± 0,06	24,1 ± 1,6
termőlemez	3,71 ± 0,95	11,7 ± 5,4	0,44 ± 0,09	9,8 ± 4,1	4,13 ± 0,77	16,1 ± 0,7	0,39 ± 0,10	16,6 ± 2,2
tönk	21,85 ± 9,67	62,7 ± 11,8	3,42 ± 1,47	68,8 ± 8,8	13,32 ± 3,22	51,5 ± 1,2	1,08 ± 0,14	46,6 ± 2,3
termőtest	33,79 ± 8,53	-	4,86 ± 1,41	-	25,78 ± 5,66	-	2,32 ± 0,38	-

*a teljes termőtesthez viszonyítva

A táblázatban jól látható, hogy egyes frakciók szárazanyag tartalma 8-9%-os, így e frakciók 10 szárított grammjához egyes esetekben 800-900 g-nyi friss termőtestre volt szükség. A meghatározott mennyiséget, a legkisebb kihozatali arányú frakcióhoz mértem, így minden kísérlethez minden frakcióból elegendő mennyiség állt rendelkezésre. A lehetőségekhez képest a következő minimális mennyiségeket gyűjtöttük be: 2000 g-nyi termőtest, a frakcionált gombaanyag (kalapbőr, kalap, termőlemezek, tönk) számára; ~250 g frakcionálatlan termőtest; ~250 g primordium.

4.1.2. Az extrakciós eljárások összehasonlítása

Először megvizsgáltam annak a lehetőségét, hogy mi történik, ha csak egy „univerzális” extraktumot használok a mérésekhez. Összehasonlítottam az etanolos és metanolos csiperke frakciókivonatokat összfenoloid-tartalom alapján (**11. ábra**).



11. ábra – A MeOH-s és EtOH-s kivonatból meghatározható összfenoloid-tartalom összehasonlítása

A **11. ábrán** jól látható, hogy a tönkön kívül mindegyik frakcióból valamivel több anyagot sikerült kinyernünk a metanolos kivonással, a termőlemez esetében a különbség +13 %-os. A saját módszer kidolgozását, ebből kifolyólag metanolos extrahálószer alkalmazásával végeztem. A metanolos extraktumok magasabb antioxidáns aktivitását más kutatók is alátámasztották (SMITH et al., 2015). A különböző extrakciós módszerek összehasonlítását (**4. táblázat**) az antioxidáns aktivitások alapján végeztem (**12. ábra**).



12. ábra – A különböző extrakciós eljárások összehasonlítása antioxidáns aktivitás alapján

Az antioxidáns aktivitás mérése azért is célszerű, mert várhatóan korrelál az összfenoloid-tartalommal, így a magasabb antioxidáns tartalom magasabb fenoloid tartalommal párosulhat (VELIOGLU et al., 1998). A két vizes alapú extrakciós eljárással (1. és 5.) lényegesen kisebb antioxidáns aktivitást (~70 és 61%) mértem, míg a többi eljárás közel azonos, 90% körüli aktivitást eredményezett. Az általam használt eljárás (4.) nem maradt el egyik extrakciós eljárástól sem. Előnye viszont, hogy rövidebb időt vesz igénybe és nem kell felügyelni az extrakciót, mint például a vortexet és centrifugát használó extrakciós eljárásnál (7.). Kísérletesen igazoltuk, hogy a melegítve történő rázatással közel azonos mennyiségű bioaktív anyagmennyiség rövidebb idő alatt extrahálható (az antioxidáns – fenoloid korrelációból kiindulva), ami nagyszámú minta esetében, nem elhanyagolható szempont.

Az extraktumok szárazanyagtartalmának meghatározása, a mennyiségbeli eltérésekből adódó hibák kiküszöbölését szolgálta. A kisműszeres méréseknél ez gombafajtól függően $18,29 \pm 3,20$ és $28,2 \pm 1,03$ mg között változott, de adott törzs termőtestén belül az eloszlás egyenletesnek bizonyult. A kromatográfiai vizsgálatokhoz használt kivonatok szárazanyag tartalom értékei a **10. táblázat**ban láthatóak. Jól látható, hogy a termőtesten belül kiegyenlítettnek mondható a kivonható extraktum mennyisége. A *Flammulina velutipes* fajnál szembevetően a kiemelkedő extrakttartalom a többi gombafajhoz képest. A legkisebb mennyiségeket a fehér *Agaricus bisporus* esetén mértem.

10. táblázat – A kromatográfiai vizsgálatok kivonatainak szárazanyag-tartalmai (mg/ml)

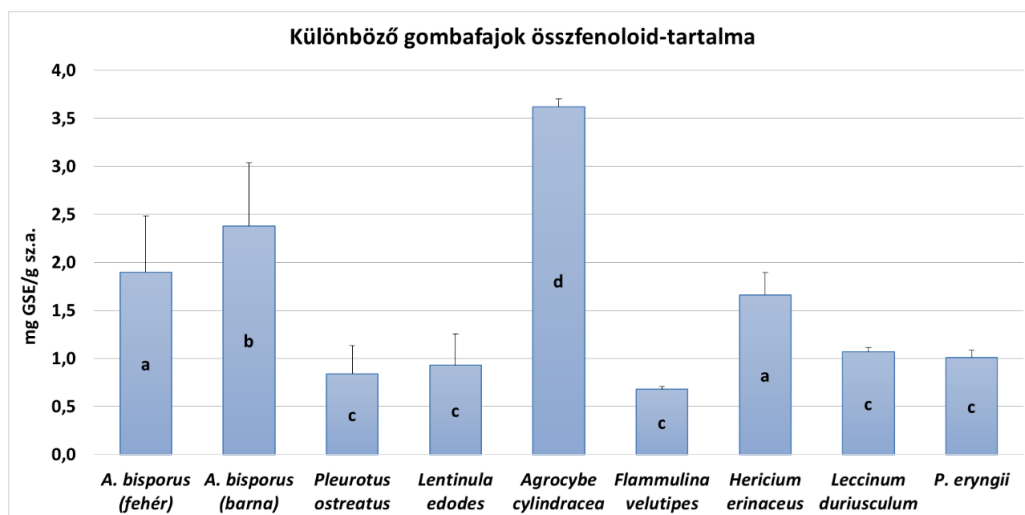
Frakció	A. <i>bisporus</i> (f)	A. <i>bisporus</i> (b)	P. <i>ostreatus</i>	<i>Lentinula</i> <i>edodes</i>	P. <i>eryngii</i>	<i>Agrocybe</i> <i>cylindracea</i>	<i>Flammulina</i> <i>velutipes</i>	<i>Leccinum</i> <i>duriusculum</i>	<i>Hericium</i> <i>erinaceus</i>
kalapbőr	14,1	14,4	15	30,3	21,6	24,9	20,3	22,8	-
kalaphús	14,4	16,4	20,5	29,3	24,6	22,7	31,5	24,9	-
termőlemezek	15,4	19,3	28,1	27,6	23,7	21,9	31,4	24,4	-
tönk	14,5	15,6	18,1	27,5	20,6	21	34,7	20,5	-
termőtest	18,7	15,4	20,7	27,2	26,2	21,9	32,2	22,5	32,8
primordium	17,5	17,9	20,2	23,6	18,9	26,5	27,1	18,4	-

A termőrészek közül a *Lentinula edodes* kalapbőréből és a *Flammulina velutipes* tönkjéből kiugróan tekinthető extraktot sikerült kinyerni. Összességében a minták extraktumai kiegyenlítettnek mondhatóak, így a vizsgált paraméterek különbségeit az extrakt mennyiségek különbségei alig magyarázhatják.

4.2.A gombák összfenoloid és összflavonoid-tartalma és antioxidáns aktivitása

4.2.1. A gombafajok összehasonlítása

A fajszintű összehasonlítást a teljes termőtestek mért értékei alapján végeztem el. A termesztett gombák esetében átlagoltam a különböző törzsek termőtest eredményeit. A mérési sorozatok minden csoportja (fenoloid, flavonoid, A%) normális-eloszlást mutatott, így ANOVA-teszt végezhető. A fenoloid-tartalomra vonatkozó ANOVA eredményei a **13. ábrán** láthatóak.



13. ábra – A vizsgált gombafajok összfenoloid-tartalmának átlaga (mg GSE/g sz.a.) és szórása

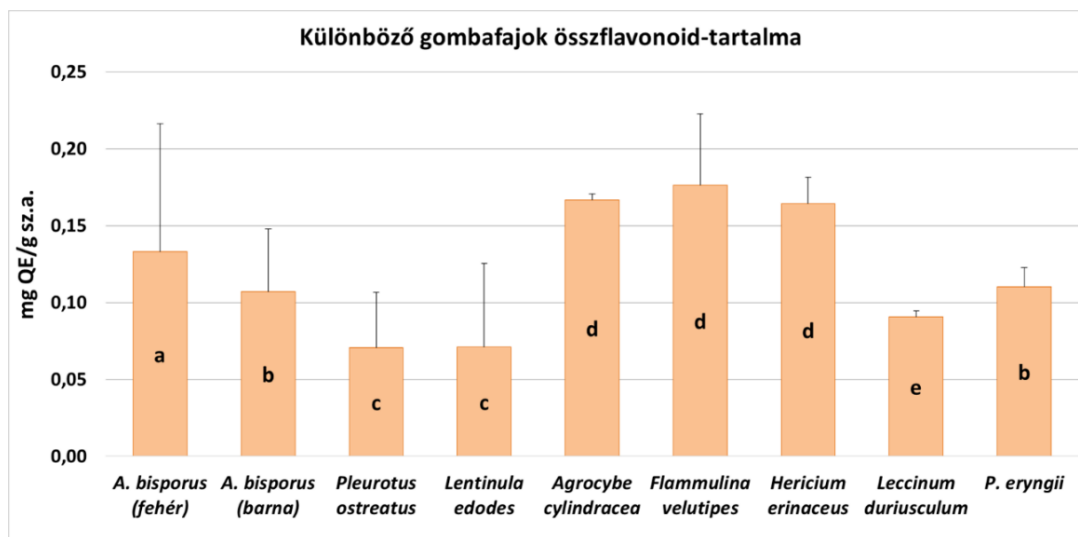
Az eltérő betűk szignifikáns különbségeket jelölnek a *Tukey post hoc* teszt alapján ($p \leq 0,05$)

A déli tőkegombában mértem a legmagasabb fenoloid szintet ($3,62 \pm 0,08$ mg GSE/g sz.a.), míg a legkisebb mennyiséget a téli fülökében mutattam ki ($0,68 \pm 0,03$ mg GSE/g sz.a.). A téli fülőke tartalmazta ellenben a legtöbb flavonoidot (**14. ábra**), s ez a színanyagával magyarázható.

A termesztett gombák közül a barna csiperke tartalmazott jelentős mennyiségű fenoloidot ($2,38 \pm 0,66$ mg GSE/g sz.a.), míg a késői laskagombában csupán a harmadát ($0,84 \pm 0,30$ mg GSE/g sz.a.) sikerült kimutatni. A barna csiperke és a déli tőkegomba minden vizsgált gombataxontól szignifikánsan különbözött, míg a fehér csiperke és a süngomba között nem volt ilyen eltérés. Érdekes módon a ligninbontó taxonok (*Lentinula edodes*, *Pleurotus* spp. és a *Flammulina velutipes*) fenoloid szintjei nem különböztek szignifikánsan.

A vadon termők közül a *Hericium erinaceus* magas fenoloid-tartalmú még ($1,66 \pm 0,23$ mg GSE/g sz.a.) az *Agrocybe* mellett. Az *Agaricus bisporus*-ra vonatkozó eredményeim, egybevágóak BARROS és munkatársai (2008c) hasonló vizsgálatának adataival. Egyéb vizsgálatok eredményeivel (melyek más előkészítési, kivonási vagy mérési protokollokat alkalmaztak) a mennyiségek nem összehasonlíthatóak, viszont az egyes fajok közötti arányok nagyon hasonlóak az általam mért arányokhoz (HUANG et al., 2006; FERREIRA et al., 2009; PALACIOS et al., 2011).

A flavonoid tartalom csak kb. 5-10 százalék a teljes fenoloid mennyiségnek (**14. ábra**). Ezt a fenoloid/flavonoid arányt más kutatások is megerősítették (JAYAKUMAR et al., 2009; PALACIOS et al., 2011), de természetesen itt is találhatóak ellentétes eredmények (BARROS et al., 2008c).



14. ábra – A vizsgált gombafajok összflavonoid-tartalmának átlaga (mg QE/g sz.a.) és szórása. Az eltérő betűk szignifikáns különbségeket jelölnek a *Tukey post hoc* teszt alapján ($p \leq 0,05$)

A shiitake-ban és a késői laskagombában nagyon kevés flavonoid van ($0,07 \pm 0,036$ mg QE/g sz.a.). Egyes vadon termő fajok (tőkegomba, téli fülőke és süngomba) flavonoid mennyisége kiemelkedő a többi fajhoz képest ($0,16$ - $0,18$ mg QE/g sz.a.). Az ördögszekér-laskagomba és a barna kalapú csiperke flavonoid tartalma megegyezik ($0,11 \pm 0,012$ és $0,11 \pm 0,041$ mg QE/g sz.a.), míg a nyárfa érdestinóru kevesebbet tartalmaz ($0,09 \pm 0,004$ mg QE/g sz.a.). Meglepő, hogy a fehér csiperke flavonoid értékei magasabbak, mint a barna csiperke esetében mért mennyiségek ($0,13 \pm 0,083$ mg QE/g sz.a.).

Az antioxidáns aktivitás szempontjából a vizsgált gombák a lekötött szabadgyök mennyisége alapján kiegyenlítették. A két végpontot a laskagombák képviselik, míg a késői laskagomba szabadgyök-kötőképessége gyengének mondható az eredmények tükrében, addig az ördögszekér-laskagomba képes a legnagyobb arányban lekötni a gyökmolekulákat. Ahhoz hogy átfogóbb képet kapjak az antioxidáns aktivitásról, EC_{50} értékeket is meghatároztam a microplate-es vizsgálatok során (**11. táblázat**). Több kutatás szól a *Pleurotus ostreatus* kiemelkedő antioxidáns aktivitásáról (YANG et al., 2002, ELMASTAS et al., 2007), amit azonban nem tarthatok megalapozottnak a 17 törzs adatait áttekintő vizsgálatom alapján. A *Pleurotus eryngii*-t érintő vizsgálatokkal viszont megegyező következtetésre jutottam, bár ezt fenntartással lehet kijelenteni, mivel csak egy törzset tudtam vizsgálni.

11. táblázat – A vizsgált gombafajok antioxidáns szabadgyök-kötőképessége és EC₅₀ értékei

Gombafaj	<i>A. bisporus</i> (fehér)	<i>A. bisporus</i> (barna)	<i>Pleurotus</i> <i>ostreatus</i>	<i>Lentinula</i> <i>edodes</i>	<i>Agrocybe</i> <i>cylindracea</i>
Szabadgyök-kötőképesség (%)	81,8 ± 7,36 ^a	80,8 ± 8,51 ^a	60,9 ± 18,43 ^b	86,4 ± 9,26 ^a	86,6 ± 0,33 ^a
EC ₅₀ érték (µg/ml)	144,7 ± 2,1	90,3 ± 0,06	256,6 ± 5,78	287,7 ± 3,9	69,2 ± 0,06

Gombafaj	<i>Flammulina</i> <i>velutipes</i>	<i>Hericium</i> <i>erinaceus</i>	<i>Leccinum</i> <i>duriusculum</i>	<i>Pleurotus</i> <i>eryngii</i>	Galluszsav (1 mg/ml)
Szabadgyök-kötőképesség (%)	86,92 ± 0,26 ^a	89,7 ± 0,21 ^a	90,4 ± 0,20 ^a	92,2 ± 0,13 ^a	88,0 ± 0,44 ^a
EC ₅₀ érték (µg/ml)	671,1 ± 24,9	429,8 ± 2,0	295,5 ± 2,8	344,9 ± 1,3	7,2 ± 0,8

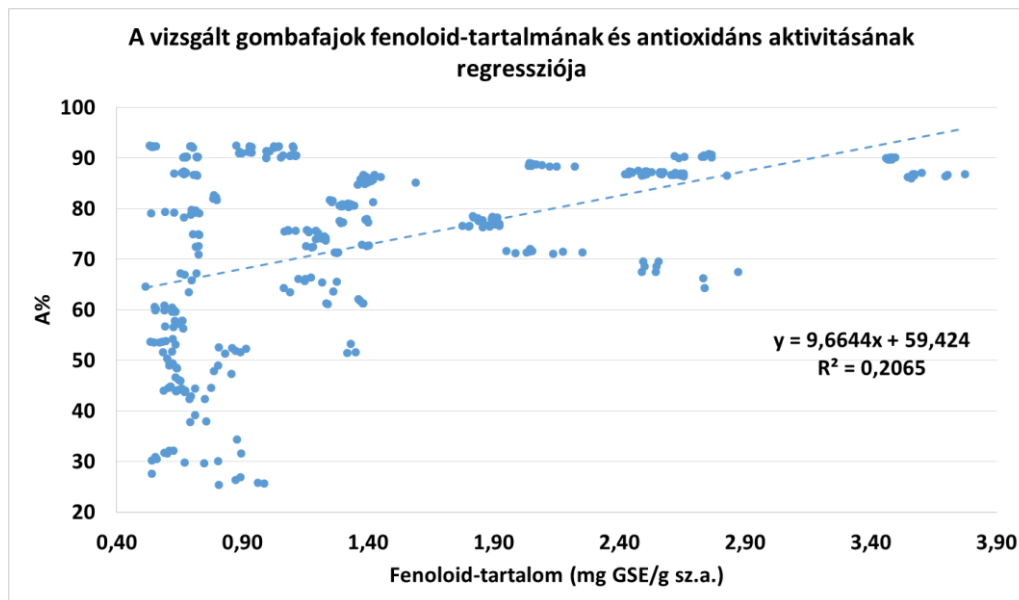
Az eltérő betűk szignifikáns különbségeket jelölnek a Tukey *post hoc* teszt alapján ($p \leq 0,05$)

Az EC₅₀ értékek alapján 3 különböző csoportot tudunk elkülöníteni, az egyik csoportba tartoznak a nagy hatáserősségű taxonok, ilyenek a csiperkék (mind a fehér, mind a barna) és a déli tőkegomba, itt vélhetően több meghatározó vegyület lehet jelen a mintákban. A barna csiperkének közel 50%-kal kisebb koncentrációban azonos a hatása, mint a fehér csiperkének. A déli tőkegomba kivonata pedig a legnagyobb aktivitású.

A következő csoportot azok a taxonok alkotják, melyek kivonatában valószínűleg egy meghatározó komponens antioxidáns hatású, de mennyisége limitált, ilyenek például jellegzetesen a ligninbontók (*L. edodes*, *Pleurotus* spp.) és a *Leccinum duriusculum*.

A harmadik csoportot pedig a kis hatású fajok kivonatai alkotják, mint a *Flammulina velutipes*, illetve a *Hericium erinaceus*. A *Flammulina velutipes* alacsony antioxidáns aktivitását más kutatások is alátámasztották (KARAMAN et al., 2009).

Statisztikailag értékeltem, hogy az egyes gombafajok esetében van-e összefüggés a mért fenoloid-szint, illetve az antioxidáns aktivitás között, mert korábbi szakirodalmi adatok igazolják a két érték (a fenoloid-szint és az antioxidáns aktivitás) korrelációját. Ezt mind a növényekben (VELIOGLU et al., 1998), mind pedig a gombák esetében is kimutatták (CHEUNG et al, 2003; VAMANU & NITA, 2013). A kérdés jelen adatbázisra vonatkozó statisztikai vizsgálatához az összes gombatorzs termőtestjére vonatkozó nagyszámú ($N=684$) fenoloid és antioxidáns aktivitás adatot használtam fel. Vizsgáltam az összes gomba adatait együtt, illetve gombafajonként is elvégeztem a *Pearson-féle* korrelációs vizsgálatot. A korreláció megléte esetén regresszió analízis segítségével határoztam meg a fennálló kapcsolat típusát. A szakirodalmi adatok alapján a két paraméter között egyszerű lineáris kapcsolat feltételezhető, így lineáris regressziót végeztem. Az összes gombafaj fenoloid és antioxidáns értékei között pozitív, de gyenge kapcsolatot találtam ($r=0,4489$, $r^2=0,2015$, $p=0,00001$), ennek okai feltételezhetően a gombafajok nagy különbségeiből adódhatnak (15. ábra).



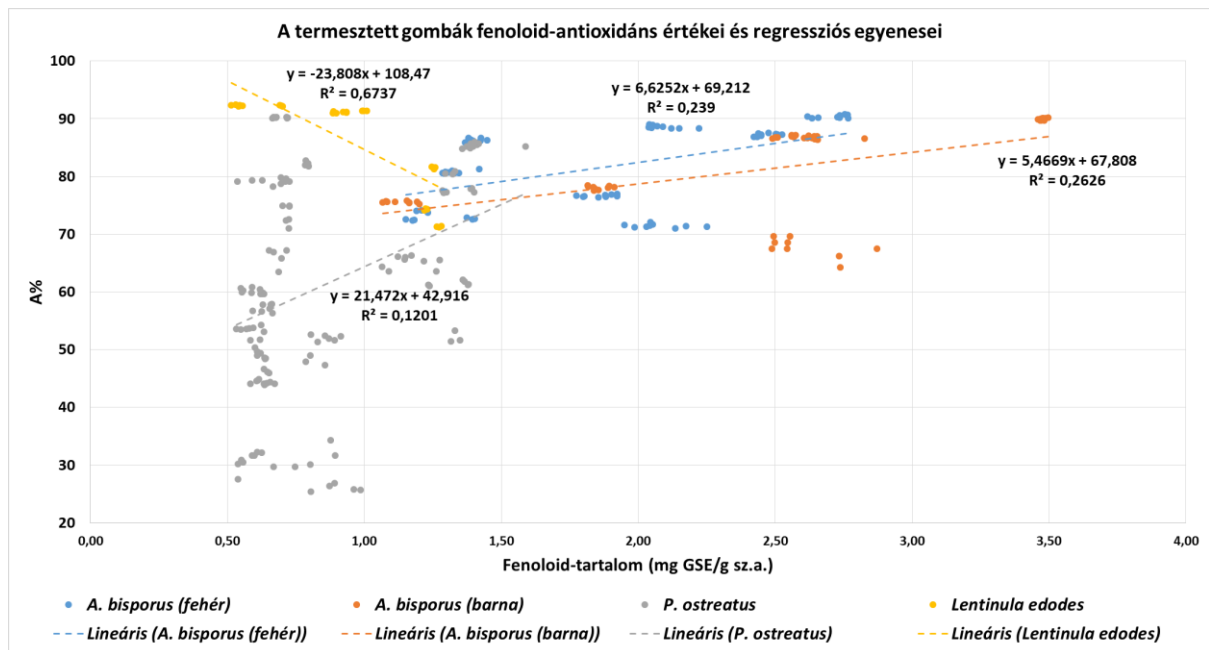
15. ábra – A vizsgált gombafajok fenoloid tartalmának és antioxidáns aktivitásának lineáris regressziója

Az ábra alapján elmondható, hogy a determináltsági koefficiens (r^2) igen alacsony, vagyis az adott fenoloid értékek csak 20%-ban magyarázzák az antioxidáns eredményeket. Általános következtetés tehát csak erős fenntartással fogalmazható meg. Mivel ezekből az adatokból nem lehetett teljes képet kapni, a gombafajokat külön-külön is vizsgáltam (12. táblázat).

12. táblázat – A gombafajok termőtestének fenoloid-antioxidáns értékeinek korrelációja

Gombafaj	<i>Agaricus bisporus</i> (fehér)	<i>Agaricus bisporus</i> (barna)	<i>Pleurotus ostreatus</i>
	Fenoloid	Fenoloid	Fenoloid
Antioxidáns	$r = 0,4889$ $p = 0,00$	$r = 0,5124$ $p = 0,000$	$r = 0,3466$ $p = 0,000$
Gombafaj	<i>Pleurotus eryngii</i>	<i>Lentinula edodes</i>	<i>Hericium erinaceus</i>
	Fenoloid	Fenoloid	Fenoloid
Antioxidáns	$r = -0,4826$ $p = 0,188$	$r = -0,8208$ $p = 0,000$	$r = 0,3086$ $p = 0,419$
Gombafaj	<i>Agrocybe cylindracea</i>	<i>Leccinum duriusculum</i>	<i>Flammulina velutipes</i>
	Fenoloid	Fenoloid	Fenoloid
Antioxidáns	$r = 0,2491$ $p = 0,518$	$r = 0,8222$ $p = 0,007$	$r = -0,6811$ $p = 0,043$

A gombafajok közül a termesztett fajok esetében (kivételem a *Lentinula edodes*) pozitív kapcsolatot találtam, de csak egy vadon termő faj (*Leccinum duriusculum*) esetében volt jelentős pozitív kapcsolat a fenoloid-tartalom és az antioxidáns aktivitás között. A többi vadon termő faj esetében nem volt minden esetben szignifikáns az eredmény. A termesztett gombák adataival regresszió analíziseket (16. ábra) végeztem.



16. ábra – A termesztett gombafajok fenoloid tartalmának és antioxidáns aktivitásának regressziós egyenesei

A regressziós egyenesekből látható, hogy a shiitake esetében a fenoloid-tartalom és az antioxidáns aktivitás kapcsolata fordított arányossággal jellemezhető.

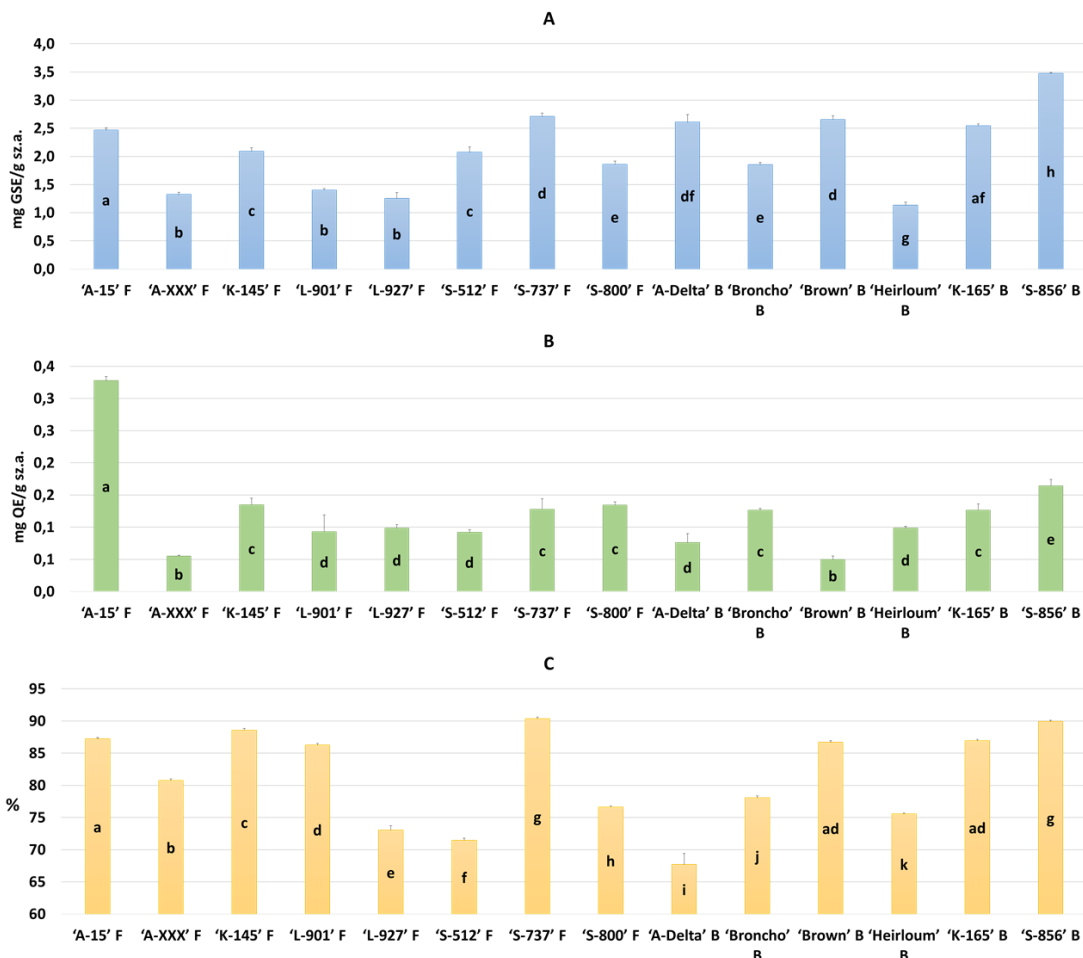
A két csiperke típus (fehér és barna) között nem látszik lényeges különbség, mindkét regressziós egyenes enyhe emelkedésű.

A laskagomba értékei alapján gyenge kölcsönhatást lehet látni, bár a regressziós egyenes meredeken emelkedő, de ez nem fedti a valóságot, mivel a determinációs koefficiens kifejezetten alacsony ($r^2 = 0,12$).

Ezekből a termőtest eredményekből kiindulva sem cáfolni, sem megerősíteni nem tudom DUBOST et al., 2007, illetve VAMANU & NITA, 2013 eredményeit, de kiegészíteni igen.

4.2.2. A termesztett gombafajok törzseinek értékelése

A termesztett gombafajok esetében 8 fehér csiperke, 6 barna csiperke (17. ábra), 17 laskagomba (18. ábra), illetve 3 shiitake (13. táblázat) gombatörzset hasonlítottam össze a fenoloid-flavonoid-antioxidáns paraméterek alapján.



17. ábra – A csiperketörzsek (fehér – „F” és barna – „B”) összfenoloid átlagai és szórása (mg GSE/g sz.a.) - A, összflavonoid átlaga és szórása (mg QE/g sz.a.) – B, az antioxidáns aktivitásaik átlaga és szórása %-ban – C.

Az eltérő betűk szignifikáns különbségeket jelölnek a *Tukey post hoc* teszt alapján ($p \leq 0,05$)

A csiperke törzsek esetében igen nagy változatosságot láthatunk, míg a flavonoid-tartalom alapján 4 szignifikánsan különböző csoportot tudunk megkülönböztetni a *Tukey post-hoc* test alapján (17. ábra, B). A fenoloid-tartalom és az antioxidáns aktivitás alapján 7, illetve 10 szignifikánsan különböző csoportot tudunk elkülöníteni (17. ábra, A és C). A fenoloid-tartalomban a csiperke törzsek között kiemelkedik a 'S-856'-os törzs ($3,47 \pm 0,01$ mg GSE/g sz.a.). Ezt követi egy jól meghatározható csoport (2,07-2,71 mg GSE/g sz.a. között), mely 3 barna ('A-Delta', 'Brown', 'K-165'), illetve 2 fehér törzset ('A-15', 'S-737') foglal magába.

Két fehér csiperke törzsből közel azonos mennyiséget sikerült kimutatni, ezek a 'S-512' és a 'K-145'. A többi törzs 2,0 mg GSE/g sz.a. fenoloid-tartalmú, a legkisebb mennyiséget a barna 'Heirloum'-ban mértem (1,13±0,05 mg GSE/g sz.a.). A flavonoid-tartalom alapján az egyik legkiemelkedőbb törzs az 'A-15' (0,33±0,01 mg QE/g sz.a.), a többi törzs ennek a mennyiségnek a felét, harmadát tartalmazza. Az antioxidáns aktivitás tekintetében a törzsek nagy szórást mutatnak, a minták 67-90% között képesek kötni a szabadgyök molekulákat.

A laskatörzsek mindhárom paraméter alapján gyengébb mennyiségi eredményeket produkáltak a csiperkéhez képest (**18. ábra**). A fenoloid és a flavonoid szintek szerint a laskatörzsek átlagosan a csiperke értékeinek felét érték el. Az általam mért fenoloid értékek dupláját (VIEIRA et al, 2013), sőt háromszorosát (DUBOST et al., 2007) is kimutatták már más törzsekből. Legkiemelkedőbb törzs az '1-0-30' mind a fenoloid- és flavonoid-tartalmak, mind pedig a szabadgyökkötő-képesség alapján.



18. ábra – A laskatörzsek átlagos összfenoloid-tartalma (mg GSE/g sz.a.) és szórásaik - **A**,
összflavonoid-tartalmuk átlaga és szórása (mg QE/g sz.a.) – **B**,
az antioxidáns aktivitásuk átlaga és szórása %-ban - **C**.

Az eltérő betűk szignifikáns különbségeket jelölnek a *Tukey post hoc* teszt alapján ($p \leq 0,05$)

A 17 törzs közül, még jelentős fenoloid-tartalmú a '357-213', a 'BAK', illetve a 'G24'. A laskatörzsek flavonoid-tartalma a '1-0-30'-as törzstől eltekintve elenyészőnek mondható, a legkisebb értékeket a '480'-as, a 'BL' és a 'Spoppo' adta. A laskák antioxidáns aktivitása nagyon szóródik, a legrosszabb ('BL') és a legjobb ('H1') paraméterű törzs között közel 62%-nyi a különbség.

A shiitake törzsek között jelentős különbségek fedezhetőek fel (**13. táblázat**), mind fenoloid, mind pedig flavonoid tartalomra vonatkozóan. A '40-80'-as törzs a dupláját tartalmazza a 'KST-67'-ben mérhető fenoloid tartalomnak. A 'KST-70' pedig a 'KST-67' értékéhez képest 50%-kal magasabb, míg a '40-80'-hoz képest 25%-kal alacsonyabb értéket mutat.

13. táblázat – A shiitake törzsek fenoloid-, flavonoid-tartalmai és az antioxidáns aktivitás értékei

Gombatörzs	Fenoloid (mg/g)	Flavonoid (mg/g)	Antioxidáns aktivitás (%)
'40-80'	1,25±0,02 ^a	0,026±0,002 ^a	75,7±4,6 ^a
'KST-67'	0,59±0,08 ^b	0,131±0,007 ^b	92,3±0,1 ^b
'KST-70'	0,94±0,05 ^c	0,055±0,099 ^c	91,2±0,2 ^b

Az eltérő betűk szignifikáns különbségeket jelölnek a *Tukey post hoc* teszt alapján ($p \leq 0,05$)

Flavonoidokból viszont a '40-80'-as törzs tartalmazza a legkisebb, míg a 'KST-67' a legnagyobb mennyiséget. A gyökkötő-képesség alapján a 'KST' jelzésű törzsek között nincs szignifikáns különbség, a '40-80'-as törzs extraktuma viszont közel 20%-kal kevesebb szabadgyök molekula megkötésére képes.

A matematikai módszerek fejezetben kitértem már arra, hogy az egyes fajokhoz tartozó törzseket osztályozva értékelem. Az osztályzás alapját az összes törzs vizsgált három paraméterének kvartilisei adják. Az adott paraméter kvartilisre adott pontszámítás szerint (1-kiemelkedő – 4 – alacsony), minél kisebb az adott törzs értéke annál értékesebb az adott törzs antioxidáns anyag tartalom szempontjából (ez azonban nem tükrözi a bioaktív anyagok teljes vertikumát, pl.: az antioxidáns hatású poliszacharidokat, vitaminokat). Természetesen ezek az értékek csak irányadóak, amennyiben a törzsek jellemzéséhez elfogadottá válnak az általam vizsgált paraméterek, jelentős bővüléssel kell számolni. A bővülés eredményeként az adott kategóriahatárok is változhatnak. Az általam használt kategóriahatárokat a **14. táblázat** tartalmazza.

14. táblázat – Az alkalmazott kategóriahatárok a különböző termesztett gombafajok esetében

Kategóriák	Fehér csiperke			Barna csiperke			Laskagomba		
	Fenoloid (mg/g)	Flavonoid (mg/g)	A%	Fenoloid (mg/g)	Flavonoid (mg/g)	A%	Fenoloid (mg/g)	Flavonoid (mg/g)	A%
kiemelkedő	2,33 <	0,139 <	87 <	2,65 <	0,130 <	86 <	0,91 <	0,084 <	77 <
magas	1,93-2,33	0,116-0,139	83-87	2,55-2,65	0,108-0,130	82-86	0,71-0,91	0,058-0,084	77-59
normál	1,38-1,93	0,091-0,116	75-83	1,84-2,55	0,075-0,108	75-82	0,62-0,71	0,048-0,058	46-59
alacsony	< 1,38	< 0,091	< 75	< 1,84	< 0,075	< 75	< 0,62	< 0,048	< 46

A különböző termesztett fajok törzseit (külön a barna és fehér csiperke) egy összefoglaló táblázatba gyűjtöttem össze (**15. táblázat**).

A shiitake gombák adatai nem kerültek a táblázatokba, mivel csupán három törzs adatai álltak rendelkezésre, ezért ezen adatok felhasználását a törzsminősítés szempontjából mellőztem.

15. táblázat – A csiperke (fehér és barna kalapú) és a laskagomba törzseinek minősítése a három vizsgált paraméter (összfenoloid-, összflavonoid-tartalmak és szabadgyök-kötőképesség) alapján

Fehér csiperke					Laskagomba				
Törzs	Fenoloid	Flavonoid	A%	Minőség	Törzs	Fenoloid	Flavonoid	A%	Minőség
'A-15'	2,47 ± 0,04	0,328 ± 0,006	87,2 ± 0,2	magas	'1-0-30'	1,41 ± 0,07	0,180 ± 0,009	85,3 ± 0,4	kiemelkedő
'S-737'	2,71 ± 0,06	0,128 ± 0,016	90,4 ± 0,3	magas	'G24'	1,33 ± 0,05	0,091 ± 0,002	78,5 ± 1,6	kiemelkedő
'K-145'	2,09 ± 0,06	0,135 ± 0,010	88,6 ± 0,2	magas	'357-213'	1,17 ± 0,07	0,064 ± 0,005	65,2 ± 1,1	magas
'S-800'	1,86 ± 0,06	0,134 ± 0,005	76,6 ± 0,2	normál	'P80'	0,77 ± 0,04	0,068 ± 0,008	79,7 ± 3,6	magas
'L-901'	1,4 ± 0,03	0,093 ± 0,026	86,3 ± 0,3	normál	'H1'	0,69 ± 0,02	0,072 ± 0,009	90,2 ± 0,1	magas
'S-512'	2,07 ± 0,1	0,092 ± 0,04	71,5 ± 0,3	normál	'LSZ'	0,85 ± 0,04	0,090 ± 0,004	50,7 ± 2,1	magas
'A-XXX'	1,32 ± 0,04	0,055 ± 0,001	80,8 ± 0,3	alacsony	'BL'	1,33 ± 0,06	0,054 ± 0,003	58,4 ± 4,7	normál
'L-927'	1,25 ± 0,1	0,099 ± 0,005	73,0 ± 0,7	alacsony	'HK-35'	0,59 ± 0,03	0,104 ± 0,005	59,8 ± 1,2	normál
Barna csiperke					'H7'	0,64 ± 0,02	0,068 ± 0,010	47,4 ± 2,4	normál
Törzs	Fenoloid	Flavonoid	A%	Minőség	'480'	0,66 ± 0,06	0,023 ± 0,006	79,2 ± 0,5	normál
'S-856'	3,48 ± 0,01	0,164 ± 0,010	89,9 ± 0,2	kiemelkedő	'ZN'	0,69 ± 0,03	0,050 ± 0,003	66,2 ± 5,6	normál
'Brown'	2,66 ± 0,07	0,050 ± 0,005	86,7 ± 0,2	magas	'Po462'	0,62 ± 0,06	0,080 ± 0,006	45,0 ± 1,0	normál
'K-165'	2,54 ± 0,03	0,127 ± 0,009	86,9 ± 0,2	magas	'BAK'	0,84 ± 0,13	0,039 ± 0,005	28,2 ± 3,1	alacsony
'Broncho'	1,86 ± 0,03	0,127 ± 0,003	78,1 ± 0,3	normál	'DSN'	0,61 ± 0,05	0,050 ± 0,003	57,6 ± 4,3	alacsony
'A-8'	2,61 ± 0,14	0,176 ± 0,014	67,7 ± 1,7	normál	'VL-80'	0,62 ± 0,08	0,053 ± 0,006	31,0 ± 0,9	alacsony
'Heirloum'	1,14 ± 0,05	0,099 ± 0,003	75,5 ± 0,2	alacsony	'Spooop'	0,72 ± 0,04	0,037 ± 0,002	41,7 ± 2,7	alacsony
					'357-145'	0,61 ± 0,02	0,046 ± 0,006	52,7 ± 2,2	alacsony

Az általam használt minősítő rendszer alapján a fehér csiperke törzsek között három magas minőségű ('A-15', 'S-737', 'K-145') törzs van, a barna csiperke törzsek között egy kiemelkedő ('S-856') és két magas minőségű ('Brown', 'K-165').

A laskagomba törzsek között két kiemelkedő ('1-0-30', 'G24') és négy magas minőségű ('357-213', 'P80', 'H1', 'LSZ') törzs található. Ez természetesen csak az általam vizsgált antioxidáns anyagtartalomra vonatkozatható.

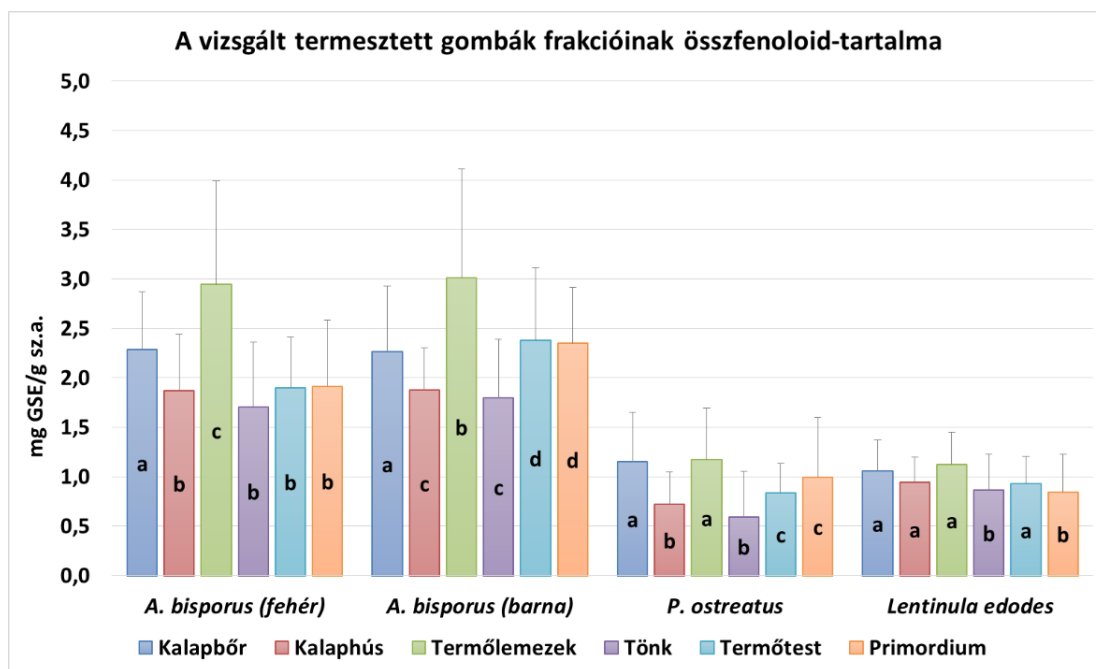
A jövőben elképzelhető, hogy további kémiai-biokémiai paraméterekkel kiegészítve (pl.: szénhidrát-, zsírsav-, fehérje-, vitamin-, ásványi anyag-tartalom) teljesen más sorrend alakuljon ki.

4.2.3. A gombafajok termőtest részeinek összevetése

A gombafajok és törzsek mellett a termőtest részeket is vizsgáltam külön-külön, így a frakcionált részek (kalapbőr-kalaphús-termőlemez-tönk) különbségeit, illetve a teljes termőtest fenoloid anyagtartalmának eloszlását is modellezni próbáltam.

Az eredmények nemzetközi adatokkal való összevetése jelenleg korlátozottan lehetséges (hiszen ilyen szakirodalmi adatok még nem állnak rendelkezésre), így itt csak a tönk-kalap felosztást végző munkák eredményeit vehettem alapul (FERREIRA et al., 2007).

A frakcionálás az „*Anyag és módszertan*” részben bemutatott módon ment végbe. A vizsgálatok során a frakciókon kívül a teljes termőtestet és a primordiumot is vizsgáltuk azonos módszertan szerint. A fenoloid értékek frakciók közötti eloszlását a természetű fajokban a **19. ábrán** mutatom be. A frakciók közül kiemelkedik a kalapbőr és a termőlemez, szignifikánsan magasabbak, mint a többi rész, illetve a teljes termőtest és a primordium. A fehér csiperke kalaphúsa, tönkje, termőteste és primordiuma között statisztikailag nincs különbség.



19. ábra – A vizsgált természetű gombák frakcióinak összfenoloid-tartalma
(átlag±szórás, mg GSE/g sz.a.)

Az eltérő betűk szignifikáns különbségeket jelölnek a *Tukey post hoc* teszt alapján ($p \leq 0,05$)

A barna csiperke esetében már más a helyzet, négy jól elkülöníthető részt különböztethetünk meg. A termőlemez és a kalapbőr ugyancsak sok fenoloidot tartalmaznak. A kalaphús és a tönk, illetve a termőtest és a primordium statisztikailag különböznek egymástól. A shiitake kalapja egyöntetűnek mondható a fenoloid szintek alapján, de a tönk és a primordium eltér a többi termőtest résztől.

A laskagomba termőtest részeinek fenoloidjai a fehér csiperke eloszlásához hasonlít, itt is kiemelkedik a kalapbőr és termőlemez, de statisztikailag nem különböznek. A kalaphús és a tönk, illetve a termőtest és a primordium statisztikailag azonos fenoloid-tartalmúak. A primordium és a termőtestek fenoloid koncentrációi közel azonosak, hasonló következtetésre jutottak más kutatók is (BARROS et al., 2007c; SOARES et al., 2009). A fejlődés során a micélium szövetekben végbemennek azok a folyamatok, melyek a bioaktív és egyéb primer anyagokat megfelelő mennyiségben felhalmozzák. A primordium képzés, illetve a „robbanásszerű” termőtestképződés, a víz és a már előre megtermelt anyagok beáramlásával lehet egyenértékű.

A termőtest részek különböző fenoloid tartalmainak oka, feltételezhetően a gombák élettanában keresendő, mivel a kalapbőr a környezettel érintkező legkülső burok. A termőlemezek elsődleges feladata pedig a spórák képzése, érlelése és tárolása. A termőtest kialakulása után igen gyorsan bomlásnak indul, ezért a termőlemezekben a fenoloid vegyületek védhetik a spórákat.

A termőtest részek friss tömegaránya (9. táblázat) és a fenoloid tartalmak (18. ábra) alapján egy súlyozott átlag kiszámítását is megkíséreltem. Ezzel kívántam bizonyítani, hogy a termőtest vizsgált paraméterei alapján becsülhető az adott termőtest rész hatóanyagtartalma a friss súlyarány függvényében (16. táblázat). Ezáltal a teljes termőtest egyes részeinek vizsgálatai előnyösebb hatóanyag kutatási objektumokat adhatnak, mivel e részekben koncentráltabban lehetnek jelen az egyes anyagok. A súlyozott átlag számításának módja:

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i p_i}{\sum_{i=1}^n p_i} = \frac{x_1 p_1 + x_2 p_2 + \dots + x_n p_n}{p_1 + p_2 + \dots + p_n} \text{ ahol, az „x” az érték, a „p” pedig a súly.}$$

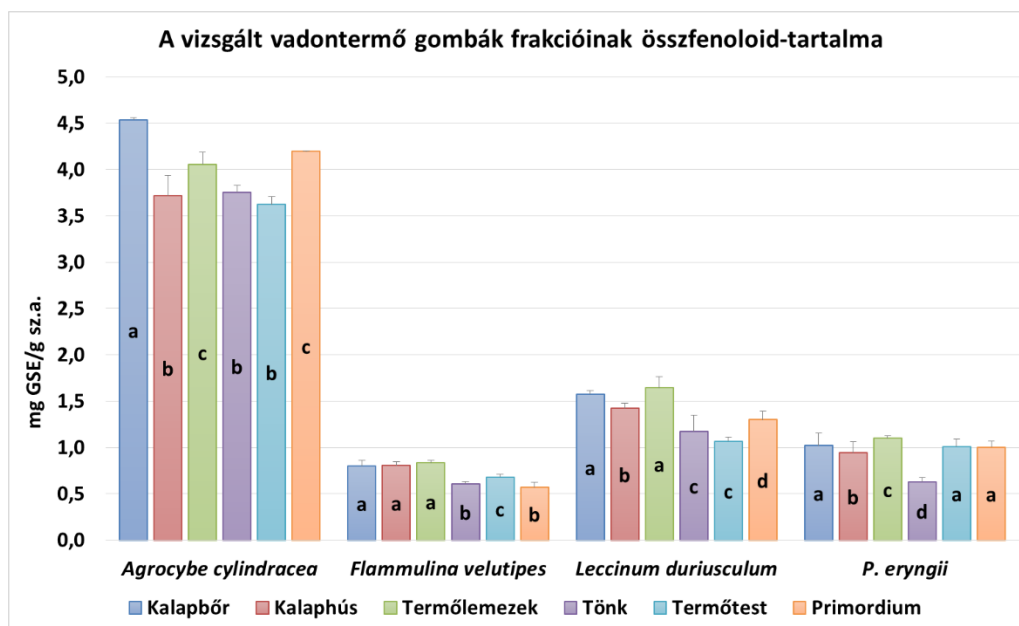
16. táblázat – A termesztett gombák súlyozott átlaga a termőtesthez viszonyítva

Termőtest rész	<i>Agaricus bisporus</i>		<i>Pleurotus ostreatus</i>		<i>Lentinula edodes</i>	
	Súlyarány (%)	Fenoloid érték (mg/g)	Súlyarány (%)	Fenoloid érték (mg/g)	Súlyarány (%)	Fenoloid érték (mg/g)
kalapbőr	8,3	2,28	18,2	1,15	12,5	1,06
kalaphús	41,9	1,87	22,7	0,72	38,5	0,94
termőlemez	13,2	2,94	34,6	1,17	14	1,13
tönk	36,6	1,71	24,4	0,59	35	0,87
Termőtest	becsült	mért	becsült	mért	becsült	mért
%-különbség	1,99	1,90	0,92	0,84	0,96	0,93
	4,46		9,15		2,94	

A mért és a súlyozott átlaggal számolt értékek között csupán 3-9%-nyi különbség adódott, ennek az lehet az oka, hogy a fenoloid értékeket a törzscsoport átlagok, tehát több törzs átlagolt fenoloid-tartalmai alapján számoltam. Ennek fényében a termőtest részek fenoloid mennyiségei a termőtest értékei alapján 5-10 %-os pontossággal becsülhetőek, a friss tömegarány figyelembevételével.

A vadon termő gombafajok termőtest részeinek vizsgálata is hasonló képet mutat, mint a termesztett fajok esetében (**20. ábra**). A déli tőkegomba kiemelkedik a többi gombafaj közül, ahogy az a **13. ábrán** is látszik. A tőkegomba kalapbőre tartalmazta a legnagyobb mennyiségben a fenoloidokat az összes vizsgált termőtest rész közül ($4,54 \pm 0,02$ mg GSE/g sz.a.). Statisztikailag is ez a termőtestrész emelkedik ki a többi közül, a kalaphús a tönkkel és a termőtesttel egyenértékű résznek tekinthető fenoloid-tartalom szempontjából.

A legérdekesebb a termőlemezek és a primordiumok között látható egyenlőség, bár ez is szignifikánsan nagyobb koncentrációkat jelent, mint a tönk vagy kalaphús értékei. A nyárfa érdestinóru fenoloid eloszlásban hasonló, mennyiségben viszont közel harmadát teszi ki a tőkegombáénak. A kalapbőr és termőlemezek magasabb értékei mellett a kalaphús is magas anyagtartalmú, valószínűsíthetően ez főként annak köszönhető, hogy eme gombafajnak a kalaphúsa kékülésre, szürkülésre hajlamos. A tönk a termőtesttel és primordiummal azonos mennyiségű fenoloid anyagot tartalmaz, de a primordium a kalaphússal is mutat hasonlóságot.



20. ábra – A vizsgált vadon termő gombák frakcióinak összfenoloid-tartalma (átlag±szórás, mg GSE/g sz.a.)

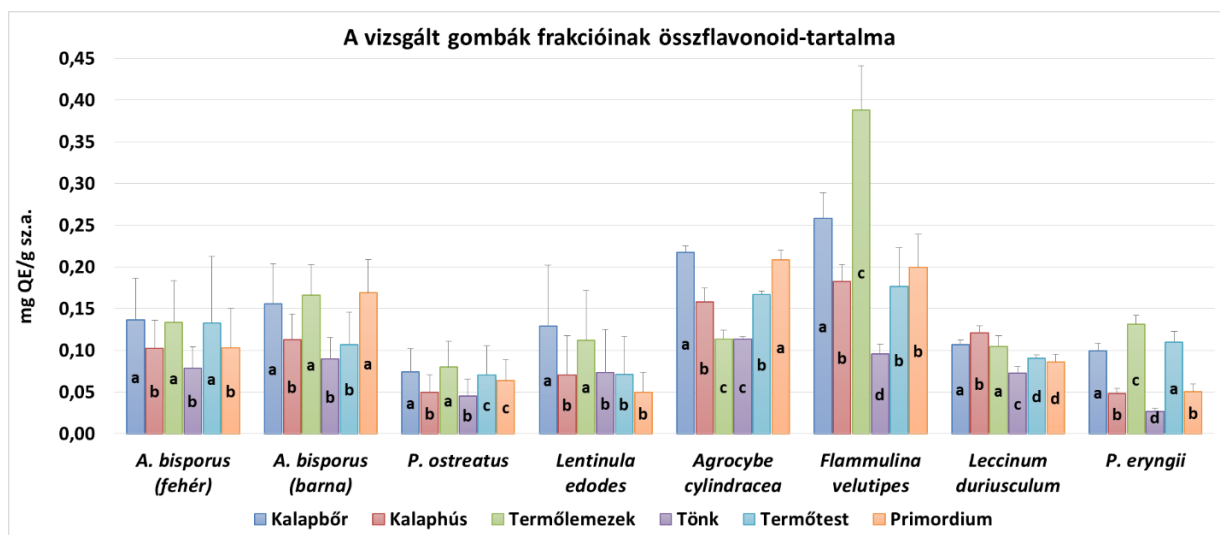
Az eltérő betűk szignifikáns különbségeket jelölnek a *Tukey post hoc* teszt alapján ($p \leq 0,05$)

Az ördögsekér-laskagomba erősen eltér a késői laskagombától, nem csak küllemre, hanem fenoloid-eloszlásban is. Az összes termőtest rész kiegyenlített fenoloid tartalmú, a tönk jelent kivételt, mely csak közel felét ($0,63 \pm 0,04$ mg GSE/g sz.a.) tartalmazza ezen anyagoknak. A kalapbőr és a kalaphús azonosnak tekinthető, emellett a termőlemezek a termőtesttel és a primordiumokkal egyenértékűek. A téli fülőke adta a legkisebb értékeket az összes vizsgált gombafaj közül, itt a kalap részei azonosnak tekinthetőek.

Meglepő módon a tönkje a primordiummal egyenértékű, a termőtest fenoloid szintje a tönk és a kalap részek értékei között található.

A termőtest részek flavonoid adatait a **21. ábra** tartalmazza. Ezek a fenoloidhoz hasonló mintázatot követnek, de vannak kiugró értékű fajok. A téli fülőke tartalmazza legnagyobb mennyiségben a flavonoidokat, ami élénk narancssárga színéből is adódhat. A termőlemezekben kiugróan sok flavonoid van ($0,39 \pm 0,06$ mg QE/g sz.a.), a többi gombafaj termőtest részeihez viszonyítva. Az ábrán jól látható, hogy a gombafajok között a fülőke kalapbőr frakciója eltér a legtöbb résztől, kivétel a magasabb anyagtartalmú termőlemezek.

Kivételek természetesen itt is akadnak, a tőkegomba termőlemez értéke például sokkal kisebb, mint a kalapbőr vagy akár a kalaphús flavonoid koncentrációi. A tönk flavonoid anyag tartalma minden vizsgált gombafaj esetében igen alacsony. A termőtest és a primordium értékei között eltérés figyelhető meg, a primordium valamivel (egyres fajok esetében kb. 10%-kal) több flavonoidot tartalmaz.



21. ábra – A vizsgált gombák frakcióinak összflavonoid-tartalma (átlag±szórás; mg QE/g sz.a.)

Az eltérő betűk szignifikáns különbségeket jelölnek a Tukey post hoc teszt alapján ($p \leq 0,05$)

Az antioxidáns aktivitás a különböző gombák kalap részei (kalapbőr-kalaphús-termőlemez) között kiegyenlítettnek mondható, de a kalaphús egyes taxonokban alacsonyabb értékű (pl.: fehér csiperke, késői laskagomba) (**17. táblázat**). A *Flammulina velutipes* kalaphúsának magasabb a szabadgyök-kötőképessége, mint a kalap többi részének, viszont a hatásere ssége elmarad tőlük. A termesztett taxonok között az *Agaricus* törzsek (fehér és barna egyaránt) egyes termőtest részei 80 %-os arányban képesek a szabadgyökök lekötésére, beleértve a tönk kivonatát is. Az EC_{50} értékek közül a fehér csiperke primordium kivonata a legkevésbé hatásos, szabadgyökkötő képessége a csiperke kalaphúsával egyenértékű.

A laskagombák között markáns különbség figyelhető meg, mert amíg a késői laskagomba egyes részei átlagosan 59,2±12,2 %-nyi molekula lekötésére képesek, addig az ördögsekér-laskagomba esetében ez az érték átlagosan 90,3±2,0 %.

17. táblázat – A vizsgált gombák frakcióinak antioxidáns aktivitása (átlag±szórás; %) és zárójelben a hozzájuk tartozó EC₅₀ értékek (µg/ml)

Gombafaj	<i>A. bisporus</i> (fehér)	<i>A. bisporus</i> (barna)	<i>Pleurotus</i> <i>ostreatus</i>	<i>Lentinula</i> <i>edodes</i>	<i>Pleurotus</i> <i>eryngii</i>	<i>Flammulina</i> <i>velutipes</i>	<i>Agrocybe</i> <i>cylindracea</i>	<i>Leccinum</i> <i>duriusculum</i>
kalapbőr	80,5 ± 12,4 ^a (74,5 ± 0,8)	82,0 ± 6,3 ^a (92,4 ± 1,3)	68,8 ± 16,2 ^a (293,9 ± 2,1)	90,65 ± 1,0 ^a (194,1 ± 2,7)	89,9 ± 0,3 ^a (263,5 ± 4,5)	87,5 ± 1,8 ^a (429,8 ± 8,9)	90,2 ± 0,2 ^a (104,5 ± 1,0)	91,8 ± 0,3 ^a (202,8 ± 2,0)
kalaphús	76,8 ± 13,5 ^a (94,5 ± 2,5)	80,1 ± 7,3 ^a (105,7 ± 2,9)	52,96 ± 22,5 ^b (355,03 ± 5,7)	86,9 ± 5,6 ^a (251,3 ± 0,1)	88,63 ± 0,3 ^b (208,8 ± 2,1)	90,3 ± 0,2 ^a (754,9 ± 7,8)	90,1 ± 0,2 ^a (100,6 ± 1,1)	90,5 ± 0,5 ^b (170,1 ± 0,01)
termőlemez	82,7 ± 5,3 ^b (80,6 ± 1,3)	81,2 ± 7,2 ^a (79,2 ± 0,9)	72,8 ± 15,7 ^a (440,5 ± 1,1)	91,4 ± 0,2 ^a (203,5 ± 3,4)	92,6 ± 0,2 ^c (427,5 ± 1,8)	89,8 ± 0,6 ^a (629,9 ± 1,2)	90,2 ± 0,2 ^a (91,9 ± 0,2)	90,7 ± 0,3 ^b (146,7 ± 1,2)
tönk	82,9 ± 7,1 ^c (85,1 ± 0,9)	83,35 ± 6,82 ^a (191,4 ± 4,5)	38,7 ± 18,9 ^c (431,7 ± 30,6)	78,5 ± 18,5 ^b (192,7 ± 1,8)	90,9 ± 0,8 ^d (524,4 ± 8,8)	82,9 ± 3,9 ^b (920,2 ± 9,2)	86,6 ± 0,2 ^b (61,7 ± 0,6)	89,1 ± 1,3 ^c (208,9 ± 4,4)
termőtest	81,8 ± 6,9 ^c (144,7 ± 2,1)	80,81 ± 7,9 ^a (90,3 ± 0,06)	60,9 ± 18,1 ^d (256,6 ± 5,8)	86,39 ± 8,1 ^a (287,7 ± 3,9)	92,23 ± 0,1 ^c (344,9 ± 1,3)	86,9 ± 0,3 ^a (671,1 ± 24,9)	86,6 ± 0,3 ^b (69,3 ± 0,1)	90,4 ± 0,2 ^b (295,5 ± 2,8)
primordium	76,1 ± 10,5 ^a (357,6 ± 6,9)	80,45 ± 8,6 ^a (122,1 ± 1,8)	61,2 ± 18,3 ^d (357,8 ± 13,0)	88,9 ± 2,5 ^a (351,5 ± 5,4)	87,5 ± 0,9 ^c (202,6 ± 0,7)	72,2 ± 7,1 ^c (647,3 ± 6,7)	88,1 ± 0,5 ^c (95,4 ± 0,3)	90,1 ± 0,4 ^b (158,7 ± 1,3)

Az oszlopokban az eltérő betűk szignifikáns különbségeket jelölnek a Tukey post hoc teszt alapján (p≤0,05)

A cellák színekódja - minél sötétebb adott cella annál nagyobb hatáserősséggel és antioxidáns aktivitással rendelkezik

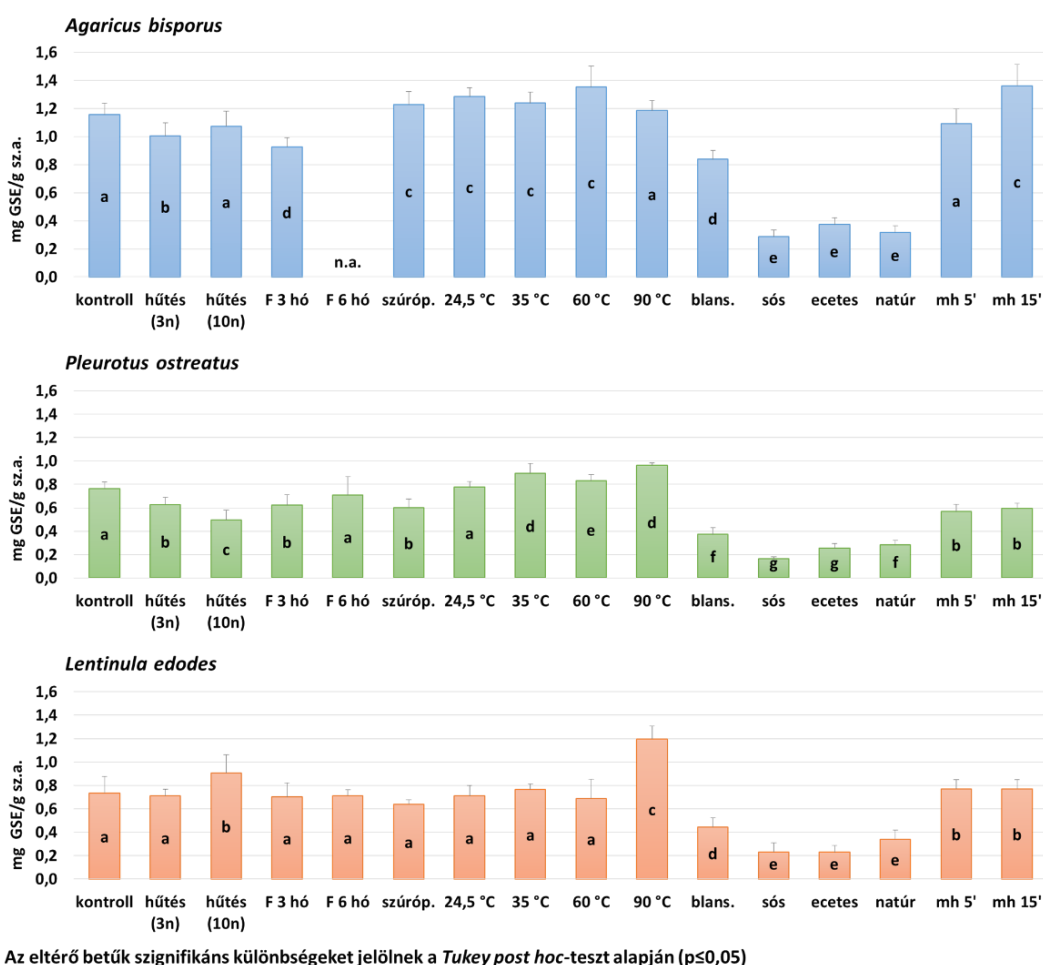
A shiitake részek között hasonló mintázatot láthatunk mind a szabadgyök-kötőképesség értékeiben, mint a fenoloid eredmények esetében. A legjobb gyökkötési értékeket a *Leccinum duriusculum* és *Pleurotus eryngii* különböző termőtest részei adták. A termesztett és vadon termő gombák között a vadon termők valamivel magasabb értékeket adtak, de antioxidáns szempontból, minden általam vizsgált faj magas antioxidáns aktivitást (75% felett) mutatott, kivételt képezett a késői laskagomba.

A termőtest részek közötti szabadgyökkötő-képesség erősségére nézve a következő sorrendet állíthatjuk fel: **termőlemez** > **kalapbőr** > **termőtest** > **primordium** > **tönk** > **kalaphús**. Ebben az összevetésben nem olyan koherens ez az összefüggés, mint a fenoloid vagy flavonoid tartalmak esetében. A vadon termő taxonok esetében antioxidáns aktivitás szempontjából a kalap különböző részei egységet alkotnak, amelyet a statisztikai értékelés is alátámasztott, a különbségeket az EC₅₀ értékek ismerete teszi teljessé. Hasonló a mintázat a különböző részek között, mint a fenoloid és flavonoid értékek esetében.

4.3. Hatásvizsgálatok eredményei

4.3.1. A tartósító eljárások hatása a gombák fenoloid-tartalmára

A tartósítási eljárások háromféleképpen képesek befolyásolni a bioaktív anyagok tartalmát, többek között a fenoloidok mennyiségét (**22. ábra**). Az első és legfontosabb, hogy az adott eljárás csökkentheti a bioaktív anyagok mennyiségét, mint pl. a kémiai tartósítási eljárások esetében (COSKUNER & ÖZDEMIR, 1997). A helytelen tárolás során is ez következik be, a magas víztartalom gyors romlékonysággal jár együtt (BEECHER et al., 2001; SINGH et al., 2010). A hűtési eljárások a magas víztartalom megőrzése mellett a bioaktív anyagok mérsékelt csökkenését eredményezhetik, ahogy az a **22. ábrán** jól látható a csiperke és a laskagomba esetében is.



22. ábra – A tartósító eljárások hatása a gombák összfenoloid-tartalmára (átlag±szórás; mg GSE/g sz.a.)

A fagyasztási eljárások már jóval komolyabb fiziológiás behatást eredményeznek, mivel itt leállnak az alapvető anyagcsere-folyamatok, így a bomlás gátolt, ezáltal csak minimális csökkenést vagy stagnáló értékeket vártam. Egyes szakirodalmi eredmények alapján a hosszabb fagyasztva tárolás nagyobb mértékű csökkenést idéz elő, főleg egyes vitaminok (B₁, B₂, C-vitamin) mennyiségében (JAWORSKA et al., 2008).

A szárítási módszerek esetében pedig a harmadik lehetőség léphet életbe, vagyis a bioaktív anyagok (főleg a stressz hatására aktiválódó enzimek) mennyisége akár még nőhet is (MANZI et al., 2004; KHAN et al., 2014). A fenoloid anyagok is képesek kisebb mértékben átalakulni, illetve a sikimisav-útvonal indukálódhat a bomlott anyagok mennyiségének csökkentése érdekében, vagyis a spórák védelmében a gombasejtek antioxidáns vegyületeket állíthatnak elő, a szárítás folyamata közben. Emellett az is előfordulhat, hogy adott fenolos karakterű vegyületek kezeléstől függetlenül antioxidáns hatásúak lehetnek, míg mások a kezelésre hatására hatástalanná válnak vagy akár aktiválódhatnak is (HALLIWELL et al., 1995).

A hőmérséklet emelkedésével a fenoloid anyagok mennyisége is nő, leginkább a 60-90 °C közötti szárítás esetében, kivételt képez az *Agaricus bisporus*, amelynél a 90°C fokon stagnáló értéket kaptunk (23. ábra). Ez főleg a laskagomba és shiitake esetében kiemelkedő. Ezt a jelenséget CHOI és munkatársai (2006) is leírták shiitake esetében, de ők még magasabb hőmérsékletet (100-120°C) alkalmaztak.

A blansírozás és a kémiai tartósítás nagyon erős csökkenést okoz, a blansírozás a forró vízzel egyszerűen kimossa az anyagokat a gombából. A kémiai tartósítás pedig fokozottabb kioldódást eredményez a gombaszletekből.

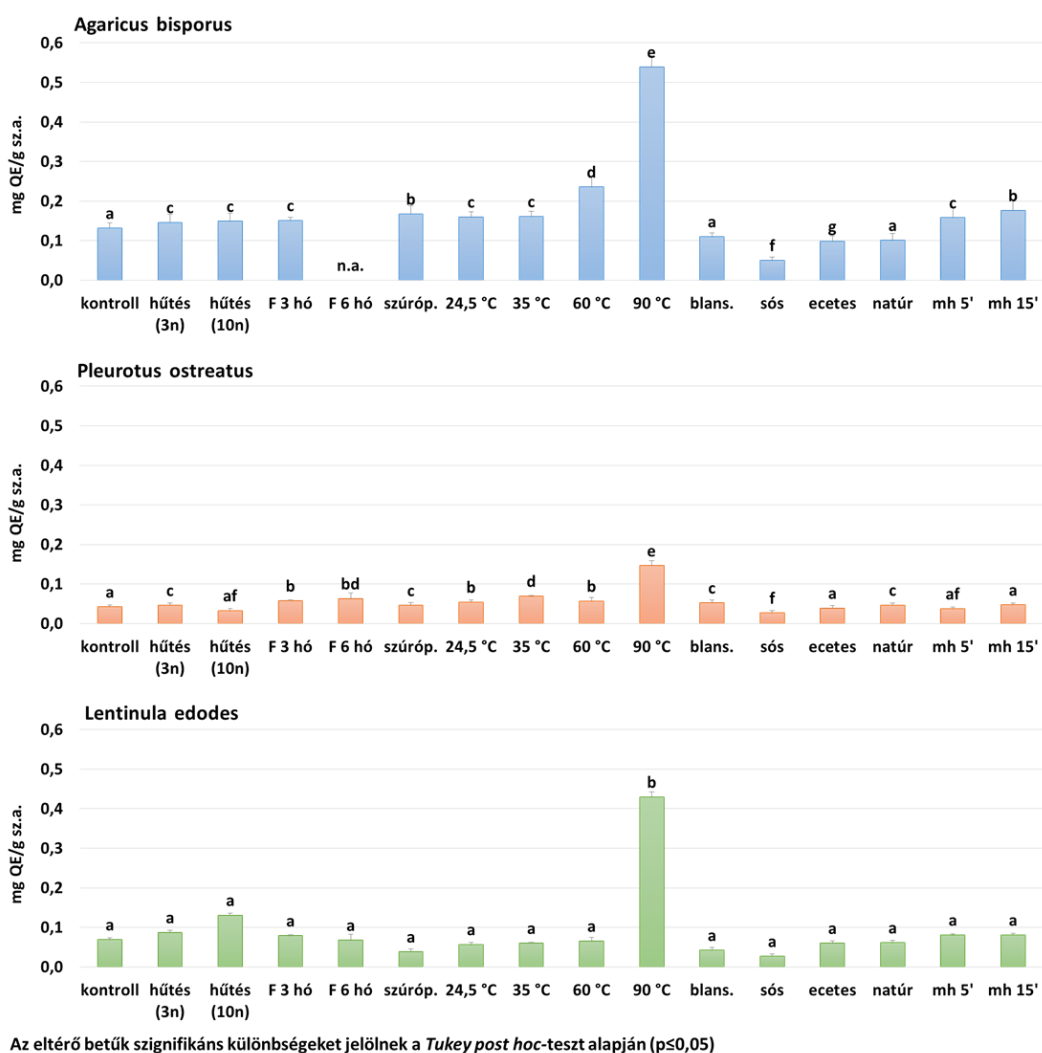


23. ábra – A csiperkegomba szeletek állapota, 60 °C-os szárítást, 5 perces mikrohullámú kezelést és blansírozást követően

A rövid idejű (~5 perc) mikrohullámú melegítés hatására kisebb csökkenés figyelhető meg (shiitake, laskagomba) vagy nem okoz különbséget a kontrollhoz képest (csiperke). A hosszabb időtartamú melegítés nyomán a csiperkében anyag átalakulás indukálódhatott, míg a shiitake és a laskagomba szeletek fenoloid-szintjeiben nem volt változás a rövid idejű mikrohullámú kezeléshez képest. A 15 perces mikrohullámú kezelés a gomba termőtest többi anyagára is hat, az aminosavak, szénhidrátok és egyes szerves savak mennyiségét növeli, az aromaanyagok mennyiségét viszont csökkenti (LI et al., 2011; PEI et al., 2014).

4.3.2. A tartósító eljárások hatása a gombák flavonoid-tartalmára

A flavonoidok kisebb mennyiségben vannak jelen, mint a többi fenoloid származék, így a kisebb változások nagyobb hangsúllyal jöhetnek számításba. Mindhárom gombafaj flavonoid mintázata más eloszlást mutat, mint a fenoloidok. A tapasztalható hő indukált változás (90 fokos szárítás) nem 45-50%-os, hanem négyszeres növekményt okoz mindhárom gombafaj esetében (24. ábra). A hűtés korai szakaszában némi növekedést lehet tapasztalni, ami a későbbiek során elbomlik, kivételt képez a shiitake, ahol tovább nőtt ez az érték. A fagyasztás hatása nehezen értelmezhető, mivel a flavonoidok szintje egyes fajok esetében némiképp növekedett.



24. ábra – A tartósító eljárások hatása a gombák összflavonoid-tartalmára (átlag±szórás; mg QE/g sz.a.)

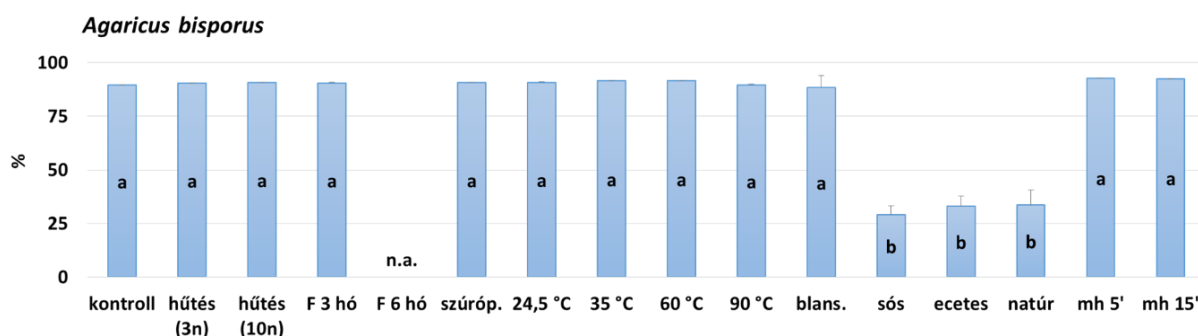
A szárítási módszerek változó mértékben befolyásolták a flavonoid tartalom értékeit. A laskagomba esetében lassú növekedés tapasztalható a hőmérséklet emelkedésével, ami hasonló a fenoloid-tartalom változásához. A 60 °C fokos szárítás során viszont az anyagok csökkenése tapasztalható. A 90 °C fokos szárítás hatására viszont a flavonoidok mennyisége is megemelkedik, ezt mind a három gombafaj esetében kimutattam és ezt tapasztaltam a fenoloid eredményekben is.

Az előzőekben említett cikkben, a flavonoid tartalom csökkenést mutatott, bár itt is a magasabb hőmérséklet okozhatta a csökkenést (CHOI et al., 2006).

A blansírozás a flavonoid anyagokra nincs olyan hatással, mint a többi fenolos vegyületre, ez alól egy kivételt találtam, a shiitake értékei csökkentek. A kémiai tartósítás változatos hatású, sós tartósításkor jelentős mértékben kioldódnak a flavonoidok, az ecetes tartósítás azonban nem változtatott a kontrollhoz képest.

4.3.3. A tartósító eljárások hatása a gombák antioxidáns aktivitására

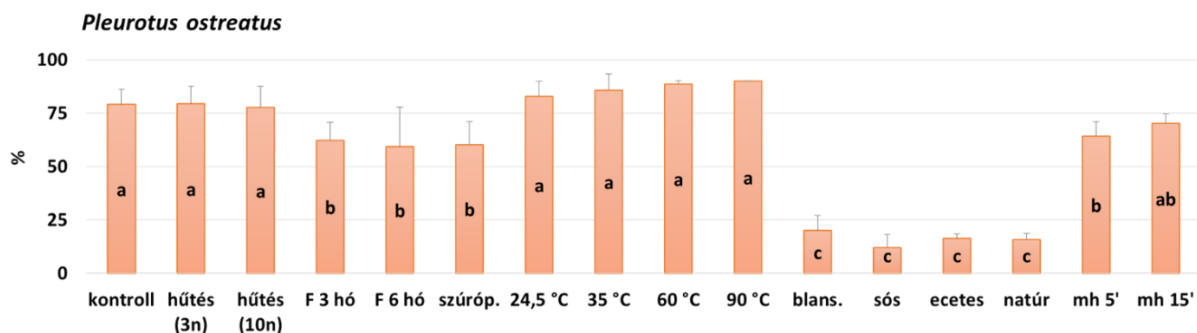
A csiperke esetében a hűtési-fagyasztási eljárásoknak nincs számottevő hatása az antioxidáns aktivitásra (**25. ábra**). A kontroll és az előbb említett eljárások átlagosan $90,2 \pm 0,5$ %-os értékeket értek el. A szárításnak nincs olyan kifejezett hatása, mint az egyes anyagcsoportok vizsgálatánál. Az emelkedő hőmérséklet csupán 1%-nyi növekedést okozott, sőt a 90 fokos szárításnak sincs számottevő hatása az antioxidáns aktivitásra, mivel az a kontrollal közel azonos (kontroll – $89,5 \pm 0,2\%$, 90°C – $89,6 \pm 0,5\%$).



Az eltérő betűk szignifikáns különbségeket jelölnek a Tukey post hoc-teszt alapján ($p \leq 0,05$)

25. ábra – A tartósító eljárások hatása a csiperke antioxidáns aktivitására (átlag±szórás; %)

A blansírozás alig befolyásolta az antioxidáns aktivitást ($88,43 \pm 5,5\%$), míg a kémiai tartósítási eljárások közel 65%-os csökkenést idéztek elő. A mikrohullámú kezelések időtartamtól függetlenül átlagosan 3%-nyi növekedést eredményeztek, ami azonban nem szignifikáns a kontrollhoz képest. A laskagomba antioxidáns aktivitás értékei már teljesen más mintázatot követnek az egyes kezelések hatására (**26. ábra**). A kontrollhoz ($79,1 \pm 7,0$ %) képest a hűtés és a fagyasztás időarányosan csökkenti az antioxidatív képességet. A 10 napos hűtés 3 %-os, míg a 6 hónapos fagyasztás 25 %-os csökkenést idéz elő.

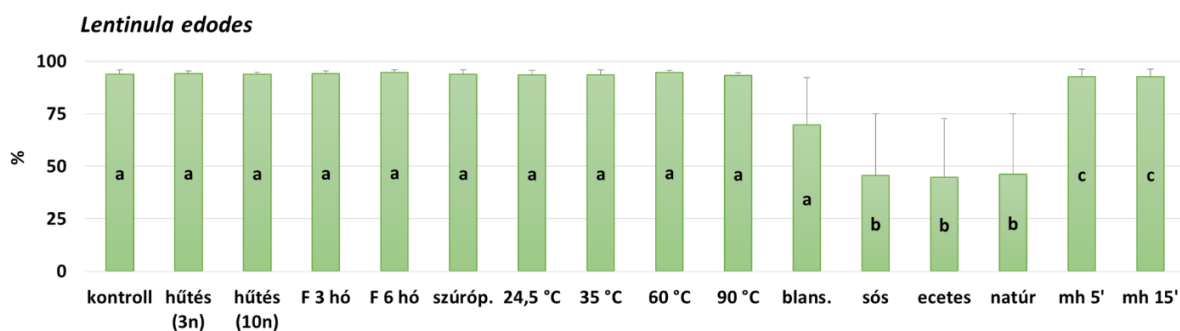


Az eltérő betűk szignifikáns különbségeket jelölnek a Tukey post hoc-teszt alapján ($p \leq 0,05$)

26. ábra – A tartósító eljárások hatása a laskagomba antioxidáns aktivitására (átlag±szórás; %)

A szárítási eljárások közül a szúrópálcán történő szárítás a laska antioxidáns aktivitását jelentősen csökkenti, míg a többi szárítási eljárás a kontrollhoz képest egyre növekvő aktivitást mutat, a legmagasabb pontot a 90°C-on történő szárítás során éri el ($90,0 \pm 0,2$ %). A laskagombára jelentős negatív hatást gyakorol a nedves hőkezelés és kémiai tartósítások mindegyike. A kémiai kezelések közül az ecetes tartósítás a legkíméletesebb az antioxidáns anyagok szempontjából, de ebben az esetben is közel 75%-os csökkenést mérhetünk. A mikrohullámú kezelés hatására a minták antioxidáns aktivitása csökkent és a rövidebb kezelés nagyobb csökkenést okozott, mint a hosszabb távú.

A shiitake gomba antioxidáns aktivitásai alig változtak (**27. ábra**). A shiitake jól viseli a hűtést, a fagyasztást, a szárítást és a mikrohullámú melegítést egyaránt. A előbbieken felsorolt eljárások a kontrollal együtt $93,9 \pm 0,5$ %-os értékeket adtak átlagosan.



Az eltérő betűk szignifikáns különbségeket jelölnek a Tukey post hoc-teszt alapján ($p \leq 0,05$)

27. ábra – A tartósító eljárások hatása a shiitake gomba antioxidáns aktivitására (átlag±szórás; %)

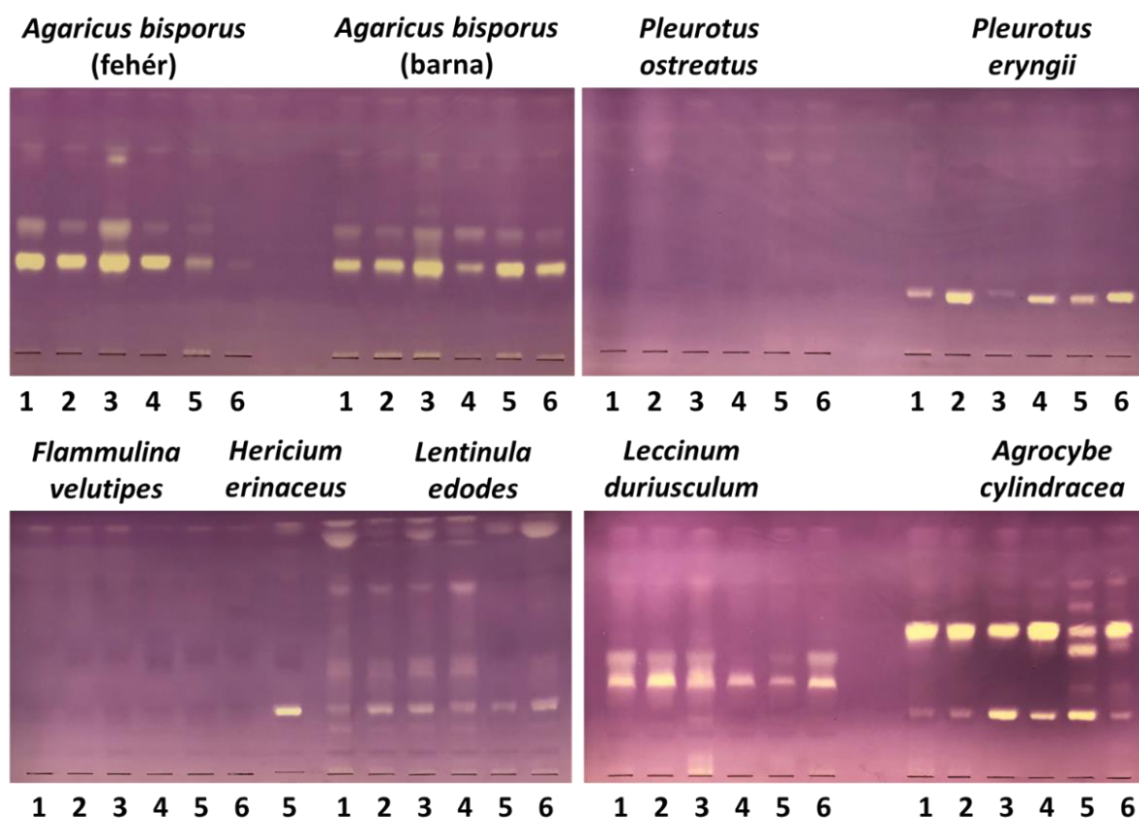
A blansírozásnak, illetve a kémiai kezeléseknek azonban jelentős antioxidáns aktivitás csökkentő hatása volt. A blansírozás 25 %-kal, míg a kémiai kezelések átlagosan 51 %-kal csökkentik a gomba antioxidáns aktivitását.

4.4. Vékonyréteg kromatográfiás eredmények

4.4.1. TLC-DPPH eredmények

A vékonyréteg kromatográfiás vizsgálatokat minden termesztett fajtából a legmagasabbra értékelt törzsekkel végeztem. Ezek az 'A-15'-ös fehér csiperke, az 'S-856'-os barna csiperke, az '1-0-30'-as laskagomba, illetve a 'KST-70'-es shiitake. A 'KST-70'-es törzs a fenoloid és antioxidáns aktivitás tekintetében jó eredményeket adott, míg a '40-80'-as alacsony antioxidáns értékeket produkált, a többi törzshöz képest. A vadon termők közül mindegyik fajt vizsgáltam.

A TLC-DPPH-s eredmények alapján szűkítettem tovább a nagyműszeres vizsgálatra alkalmas fajokat és termőtest részeket. A metanolos kivonatokban lévő antioxidáns anyagok elválasztására a legjobb felbontást az ACN-H₂O-CH₃COOH 75:25:3 (V/V) oldószer elegy adta (UV alatti képek a 6. MELLÉKLETben). A vizsgált gombafajok részeinek TLC-DPPH-val kapott antioxidáns profilja a 28. ábrán látható.



28. ábra – A vizsgált gombák vékonyréteg kromatográfiás antioxidáns profilanalízise (1-kalaphőr, 2-kalaphús, 3-termőlemezek, 4- tönk, 5-termőtest, 6-primordium)

A gombák közül két fajnak (*Pleurotus ostreatus* és *Flammulina velutipes*) nem volt kimutatható antioxidáns hatású komponense. Ez jelentheti, hogy az adott gombában az esetlegesen antioxidáns hatású vegyület(ek)nek a detektálhatósági küszöb alatt van a koncentrációja, vagy a rétegen ezek nem stabil(ak).

A csiperkegombáknak az antioxidáns profilja nagyon hasonló; minden termőtest rész hasonló antioxidáns mintázatot mutat mind a fehér, mind pedig a barna csiperke esetében. A különbséget ez esetben a foltok mérete (az antioxidáns hatás intenzitása) adja, ami által a TLC-DPPH módszer szemikvantitatív értékelésre alkalmas. Egyes kutatások eredményei alapján ez a módszer kvantitatív értékelésre is megfelelő (GU et al., 2014).

A csiperkékben két markáns antioxidáns vegyületet detektáltam, amelyeket a fehér csiperke esetében a kalapbőr (1), illetve a termőlemez (3), a barna csiperkénél viszont a termőlemez (3) mellett a termőtest (5) tartalmazza nagyobb mennyiségben.

A laskagombák közül az ördögsekér laskagombának van kimutatható antioxidáns vegyülete mindegyik termőtest részben; itt a kalaphús (2) illetve a primordium (6) tartalmaz nagyobb mennyiséget. Az ördögsekér laskagombában lévő vegyület viszont eltér a csiperkék antioxidáns vegyületeitől, mivel más retenciófaktor (R_f) értéknél látható.

Egy anyag kromatográfiás viselkedését az R_f értékkel lehet jellemezni. Az R_f a startponttól (a felvitel pontjától) a folt közepéig mért távolság és a startponttól az oldószerfrontig mért távolság hányadosa (MAGYAR-GYÓGYSZERKÖNYV, 2007). A csiperkéknek a két közös aktív foltjuk 0,33 és 0,48 R_f értéknél van, míg az ördögsekér-laskagombának 0,22 R_f értékű. A fehér csiperke termőlemezében még egy antioxidáns anyag fedezhető fel, melynek az R_f értéke 0,72.

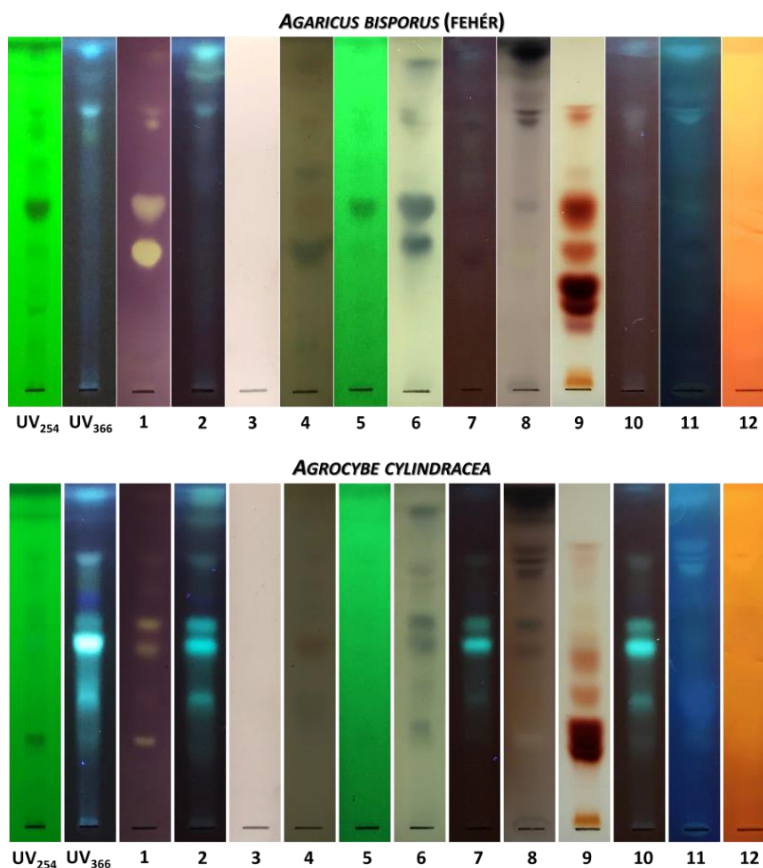
A shiitake kivonata antioxidáns szempontból igen komplex összetételű, mivel hat különböző, kis antioxidáns hatású zónát sikerült elválasztani. A többi gomba kivonatához képest, ahol egy-egy markáns antioxidáns zóna látható, itt sok „minor” komponens együttese lehet felelős az antioxidáns aktivitás kialakításáért. Az előző fejezetben tárgyalt – az antioxidáns aktivitás és a fenoloid koncentráció közötti – korrelációt figyelembe véve, itt nehezen meghatározható a „fő” antioxidáns vegyület. Egy-egy azonos R_f értékű ($R_f = 0,22$) antioxidáns hatású komponens a süngombában, illetve az ördögsekérlaskagombában is megtalálható.

A nyárfa érdestinórunak két aktív komponensét láthatjuk, melyek 0,36 és 0,45 R_f értéknél találhatók. A 0,45-ös R_f értékű vegyület a tönkben, illetve a termőtestben nem kimutatható. A déli tőkegomba mindegyik termőtest részében megtalálható két aktív zóna, egy kisebb intenzitású 0,24 R_f értéknél és egy kiemelkedő erősségű a 0,57 R_f -nél. Ezen kívül a termőtestben további antioxidáns zónák láthatóak, melyek közül a 0,5 R_f értékű a legintenzívebb.

4.4.2. Származékképzéssel kapcsolatos eredmények

A további vizsgálatokhoz a fehér csiperke termőlemezőnek, az ördögszekér-laskagomba primordiumának, a shiitake kalapbőrének, a nyárfa érdestinóru termőlemezőnek és a déli tőkegomba termőtestének kivonatát választottam az aktív anyagok jellemzésére, mivel a TLC-DPPH tesztek eredményei alapján ezek antioxidáns profilja a legváltozatosabb.

A következő lépésként derivatizálási (származékképzési) vizsgálatokat végeztem, mely során különböző reagenseket (7. táblázat) alkalmazva jellemeztem a vizsgált gombakivonatokban található aktív komponenseket (29. ábra, illetve a 7. MELLÉKLET).



29. ábra – A fehér *Agaricus bisporus* termőlemez és az *Agrocybe cylindracea* termőtest kivonatának származékképzési reakcióinak eredménye.

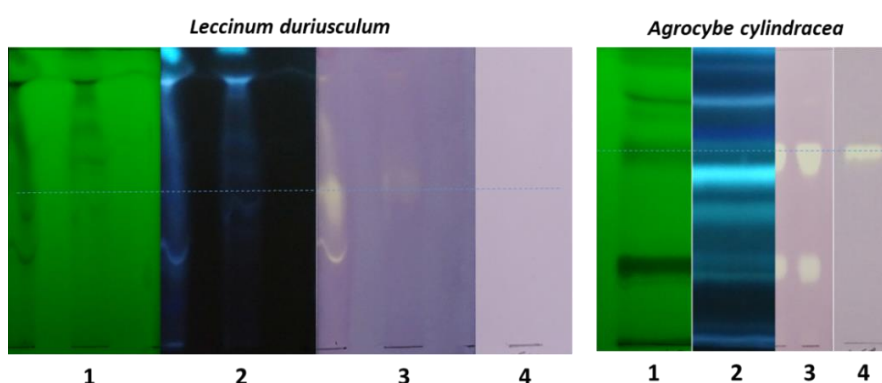
Jelmagyarázat: 1 – DPPH, 2 – AlCl_3 (366 nm), 3 – Anilin, 4 – Difenilamin, 5 – Fast Blue B (254 nm), 6 – Folin Ciocalteu, 7 – Foszfomolibdén, 8 – Vanillin-kénsav, 9 – Ninhidrin, 10 – NP-PEG, 11 – Primulin, 12 – Rhodamin B

A két bemutatott gombafaj különböző antioxidáns profilú, míg a csiperkében két meghatározó ($R_f = 0,33$ és $0,48$) antioxidáns anyagot láthatunk, addig a tőkegomba három különböző R_f értékű ($0,24$; $0,5$; $0,57$) antioxidáns anyagot tartalmaz. A tőkegomba egyik ($R_f = 0,24$), illetve a csiperke mindkét aktív anyaga ($R_f = 0,33$ és $0,48$) 254 nm-en UV-aktív. A déli tőkegomba másik két aktív anyaga viszont 366 nm-en mutat UV-aktivitást.

A különböző fenoloidok kimutatására alkalmas módszerek (5, 6, 12) eredményei alapján, az antioxidáns aktivitású anyagoknak fenolos karaktere van. A gyűrűs szerkezet meglétét a flavonoidok kimutatására szolgáló reakciók (2 és 10) is megerősítik. A ninhidrines kimutatási reakcióban (9) is aktivitást láthatunk a kivonatok összességében. A csiperkében az antioxidáns anyagok nagy valószínűséggel tartalmaznak amino-csoportot, míg a tőkegomba aktív anyagai nem. A glikozidok kimutatására szolgáló difenilamin-reakció a csiperke két, illetve a tőkegomba egyik anyagainál ($R_f=0,5$) is pozitív. A zsírsav reakciókban az aktív anyagok nem adtak pozitív eredményt (7 és 11). A derivatizálási módszerekkel elért eredmények alapján, az aktív vegyületeink nagy valószínűséggel fenolos jellegűek, melyek egyes esetekben glikolizáltak és/vagy amin-csoportot tartalmaznak. A többi gombafaj esetében is hasonló következtetést vonhatunk le.

4.4.3. Izolálás és SPE

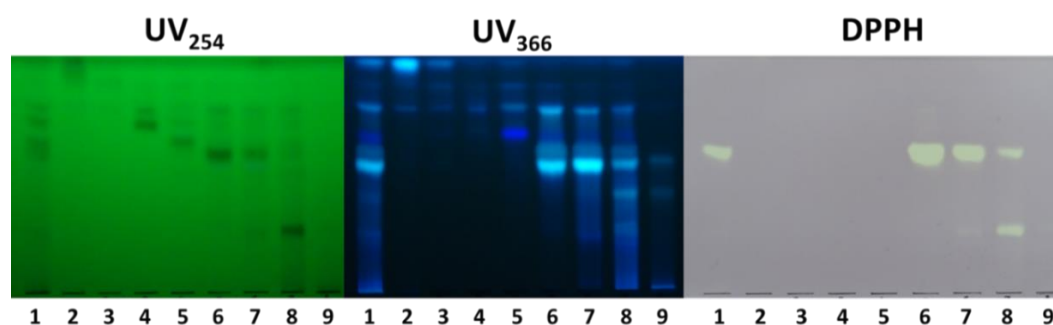
Az aktív komponensek azonosításához nagyműszeres vizsgálatokat terveztem HPLC-DAD-ESI-MS, illetve NMR technikák segítségével. Az utóbbihoz 1-2 mg-nyi tiszta anyagra volt szükség. A derivatizálási vizsgálatok alapján a fehér csiperke, az nyárfa érdestinóru és tőkegomba kivonataival foglalkoztam behatóbban. A vizsgálatokat azokkal a frakciókkal végeztem, amelyekben nagyobb volt a folt nagysága és kisebb mátrixot mutattak. Az izolálást elsődlegesen a vizsgált gombák termőlemezéből végeztem el, de egyes esetekben (*Agrocybe cylindracea*) a termőtest alkalmasságát is vizsgáltam. Az analitikai rétegen történő izolálást (30. ábra) követő visszakromatografálás során, azonban gyakran nem voltak aktívak az izolált anyagok, ami arra utalhat, hogy nem stabilak (pl.: a nyárfa érdestinóru esetében).



30. ábra – Az érdestinóru és a tőkegomba izolálási eredményei analitikai rétegen (1 – 254 nm; 2 – 366 nm; 3 – DPPH; 4 – a visszakromatografálás eredménye DPPH merítést követően)

Fentiek alapján preparatív réteget kezdtem el használni, sajnos azonban ennek kötőanyaga is leoldódott az aktív anyaggal, ami megzavarta a kromatográfiás kifejlesztés során a felviteli zóna nedvesedését és megváltoztatta az izolátumok kromatográfiás tulajdonságát.

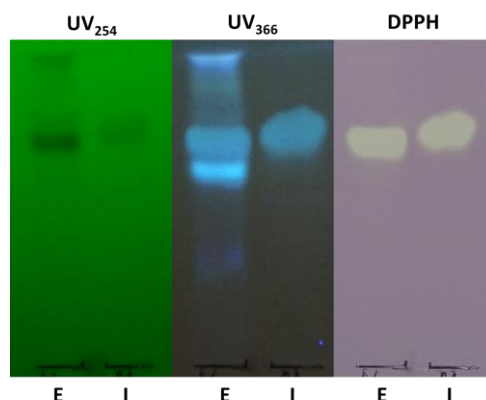
A következő kísérletem az izolálásra az ún. SPE-eljárás volt. A SPE eljárást a déli tőkegomba egyesített mintájával végeztem, mivel az egyes részek azonos aktív anyagokat tartalmaztak. Az egyesített mintához 4-4 ml-t pipettáztam össze a kalapbőr, kalaphús, a termőlemezek és a tönk kivonataiból. A SPE dúsítás/frakcionálás végeredményét a **31. ábrán** láthatják. Az antioxidáns hatású komponensek feldúsulása a 6-8. frakciókban látszik a legjobban, a zavaró anyagok mennyiségét sikeresen csökkentettem az eljárás segítségével. Azonos paraméterek mellett a csiperke egyesített mintájával (kalapbőr+kalaphús+termőlemez) is elvégeztem a SPE-eljárást. A 6-7. frakciókkal HPLC rendszerben effluens gyűjtést végeztem, az azt megelőző DPPH-HPLC-s futtatás alapján meghatározott retenciós időnél.



31. ábra – Az *Agrocybe cylindracea* minta (1) SPE-s frakcionálása szilikarétegen.

Az alkalmazott eluensek: **2** – Hex-EtAc (60:40); **3** – ACN (100%); **4** – ACN-MeOH (80:20); **5** – ACN-MeOH (60:40); **6**– ACN-MeOH (40:60); **7**– ACN-MeOH (20:80); **8**– MeOH-H₂O (80:20); **9** – H₂O (100%)

Az effluens gyűjtés során a detektor jele alapján gyűjtöttem az aktív komponens Eppendorfkba, mivel legalább 1,5 mg-nyi, nagy tisztaságú anyagra volt szükségem az NMR vizsgálathoz. Az összegyűjtött anyagot rotációs vákuumbepárló segítségével szárítottam be és így 2,3 mg mennyiségű anyagot sikerült izolálnom. Az izolátum ellenőrzését az eredeti mintával párhuzamosan TLC-DPPH módszerrel végeztem (**32. ábra**).



32. ábra – Az *Agrocybe cylindracea* SPE frakció (E) és az izolált komponens (I) TLC-DPPH ellenőrzése

4.5. Nagyműszeres analitikai technikákkal elért eredmények

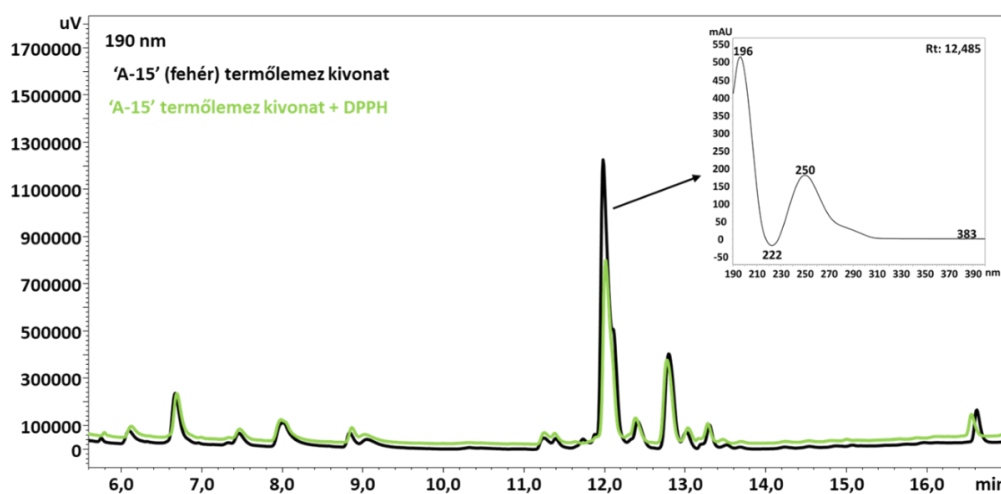
4.5.1. Antioxidáns anyagok kimutatása DPPH–HPLC-DAD módszerrel

A HPLC-DPPH vizsgálati módszert a gyógynövények antioxidáns anyagaira fejlesztették ki, az esetek többségében online DPPH oldat adagolásával, vagyis az eredeti minta detektálását követően egy külön pumpa segítségével DPPH-t adnak hozzá, majd egy másik detektor segítségével mérik a kevert mintát (KOLEVA et al., 2000).

A mintáimat ún. off-line DPPH-HPLC módszerrel vizsgáltam, vagyis injektálás előtt megfelelő arányban adagoltam a mintához a DPPH oldatot vagy a tiszta metanolt (kontroll) (RIETHMÜLLER et al., 2016). A DPPH-HPLC vizsgálatokat nem csak a kiválasztott mintákkal végeztem, hanem az összes vékonyréteg kromatográfiával vizsgált gombafajjal, illetve azok összes frakcióival. Az általam használt szilika töltetű oszlop holtideje (a retenció nélküli komponens retenciósideje) 1,5 perc. A mintákban lévő nem antioxidáns hatású anyagok egy részének nincs retenciója (holtidőhöz közel jelennek meg), így a hasznos időintervallum 4 perctől 18 percig tartott a 23 perces teljes futtatási időből (az utolsó 3 perc az oszlop kondicionálásához szükséges).

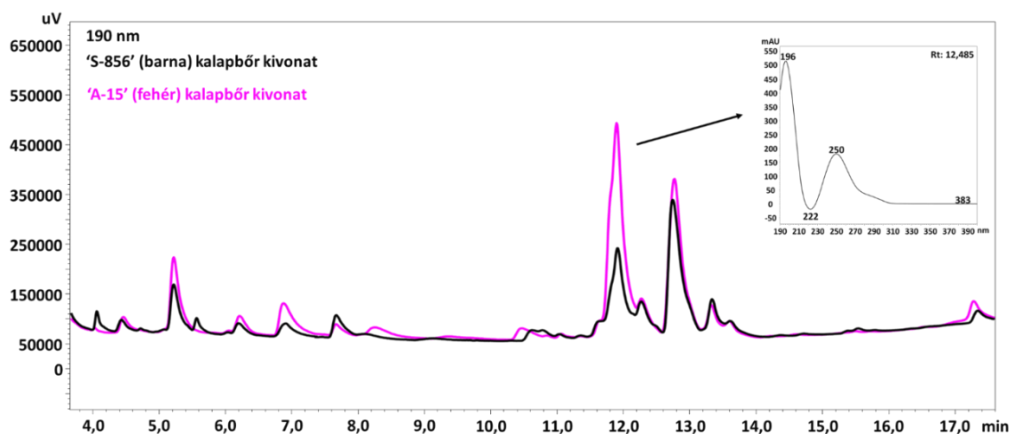
A szilikagél töltetű oszlopok sajátossága, hogy nagyon nehezen lehet reprodukálni a retenciósideket, vagyis a kromatogramokon viszonylag nagy szórást mutat egy adott anyag retenciósideje (MAJORS, 1980).

A nagyszámú eredmény közül itt csak az adott gombafaj legjellemzőbb frakcióit mutatom be ábrákon. Minden gombafaj esetében a legjellegzetesebb antioxidáns anyag legnagyobb UV elnyelésű hullámhosszán (abszorbancia maximum) ábrázolom a kromatogramokat. A fehér ('A-15') csiperke termőlemezeinek kromatogramja alapján (**33. ábra**), a vékonyréteg alkalmazása során levont következtetések helytállónak bizonyultak.



33. ábra – A fehér *Agaricus bisporus* termőlemezeinek DPPH-HPLC kromatogramja és az egyik aktív anyag (Rt= 12,485 perc) UV-spektruma

A barna csiperke esetében is hasonló DPPH-s csökkenést tapasztaltam a fehér csiperke azonos retenciójú csúcsainál. Az aktív anyagaik az UV spektrumuk alapján, 196 nm-es hullámhosszon adták a legnagyobb jelintenzitást. A barna és fehér csiperkében a réteghez hasonlóan két jellegzetes, antioxidáns hatású anyag mutatkozott (**Rt= 12,485**, illetve **13,480** percnél). Szembetűnő a két gomba közötti mennyiségbeli különbség azonos frakciók esetében, illetve a közel azonos koncentrációk mellett (szárazanyag-tartalom: fehér – 18,4 mg/ml, barna 19,3 mg/ml). Természetesen a két különböző kalapszínű csiperkénél a kalapbőr közötti különbséget is megvizsgáltam (**34. ábra**).

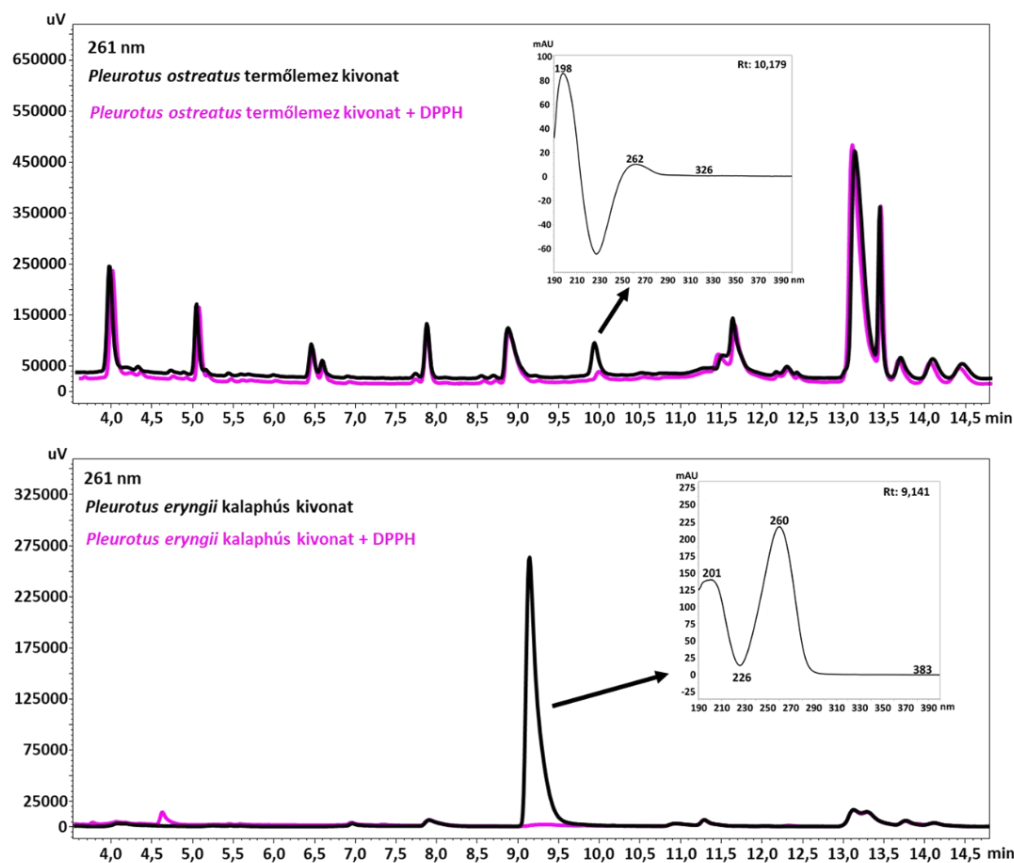


34. ábra – A két különböző kalapszínű *Agaricus bisporus* kalapbőrének HPLC kromatogramja és az egyik aktív anyag (**Rt= 12,485** perc) UV-spektruma

A két kalapbőr kivonatának HPLC mintázata között kiugró különbséget nem tapasztaltam, de két, kis mennyiségben jelenlévő csúcsot találtam (**Rt= 4,045** és **5,550** perc), melyek csak a barnában voltak jelen. Nem tartom valószínűnek, hogy ezek lennének a kalapbőr színéért felelős komponensek. Az antioxidáns csúcsok, melyek a **33. ábrán** láthatóak, a **34. ábrán** is jelen vannak. A kalapbőrrel végzett DPPH-HPLC vizsgálat megerősítette a termőlemez kapcsán elért eredményeket.

A *Pleurotus* fajok már egészen más anyagokat tartalmaztak. A vizsgálat értékelése során kiderült, hogy más hullámhosszon (261 nm) van az abszorbancia maximuma az aktív anyagainak. (**35. ábra**). A *P. ostreatus* termőlemezéből és a *P. eryngii* kalaphúsából készített kivonatok HPLC-s kromatogramjai nagyon különböznek egymástól. A *P. ostreatus* termőlemez számos anyagot tartalmaz, melyek közül egy volt antioxidáns hatású (**Rt= 10,179** perc). A *P. eryngii* kalaphús néhány kisebb csúcsintenzitású anyag mellett egy domináns antioxidáns hatású anyagot tartalmazott (**Rt= 9,141** perc).

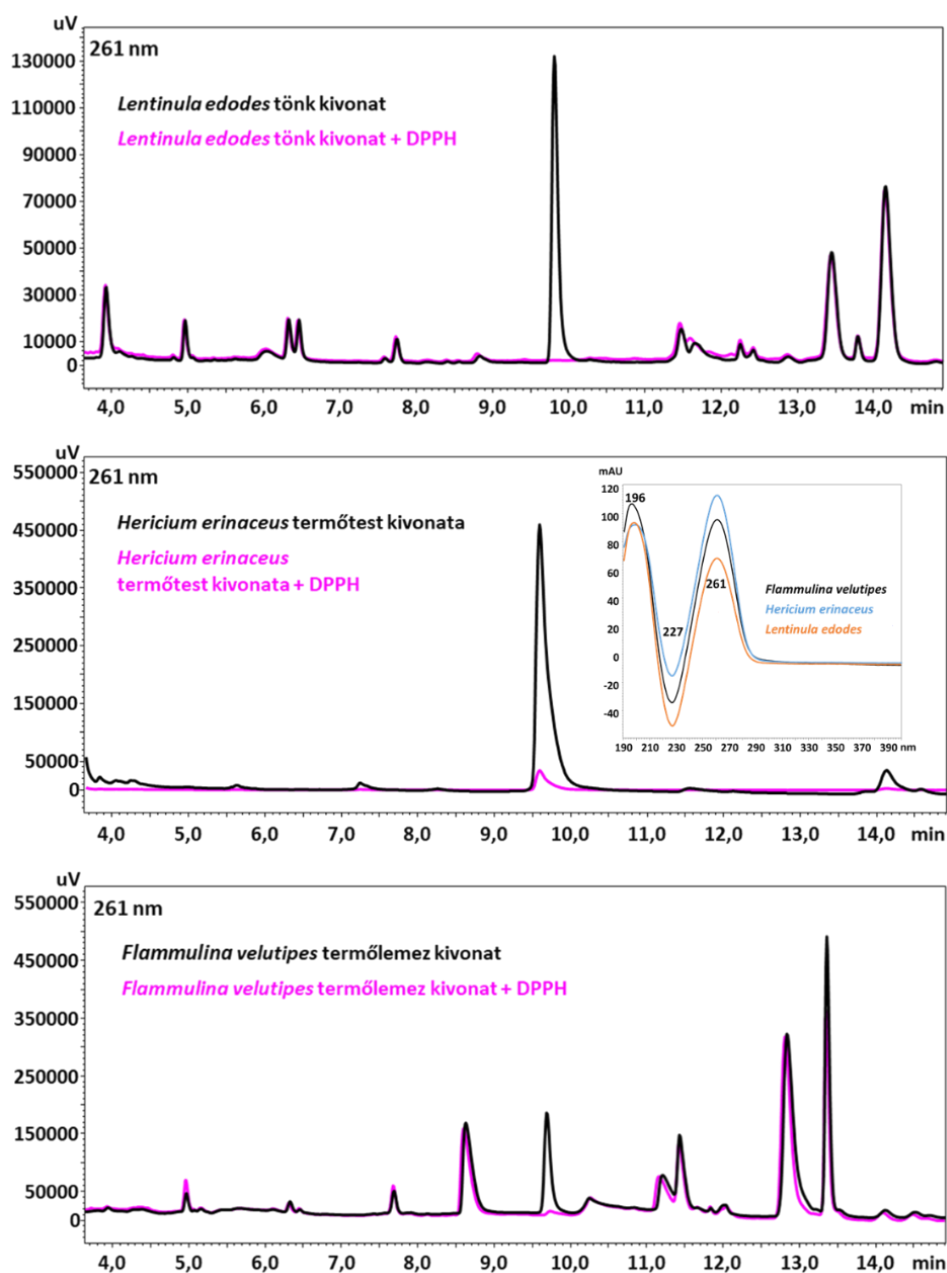
Fontos megjegyezni, hogy a két minta aktív anyagának ugyan más a retenciós ideje (a *P. ostreatus*-ban látható aktív anyag közel egy perccel később érkezik), de az UV maximumok (198 és 262 nm – *P. ostreatus*, illetve 201 és 260 nm – *P. eryngii*) és az MS spektrumuk alapján azonos vegyületekről lehet szó.



35. ábra – A *P. ostreatus* termőlemezének és a *P. eryngii* kalaphúsának HPLC kromatogramja és jellegzetes aktív anyagaik UV-spektruma

Az intenzitás alapján a *Pleurotus eryngii* aktív anyaga az, amelyet rétegen is láthattunk (**28. ábra**), ellenben *P. ostreatus* aktív vegyülete nagyon kis intenzitású. Látható, hogy mindkét fajban található antioxidáns vegyület, de a *P. eryngii* fajban ez sokkal nagyobb mennyiségben van jelen.

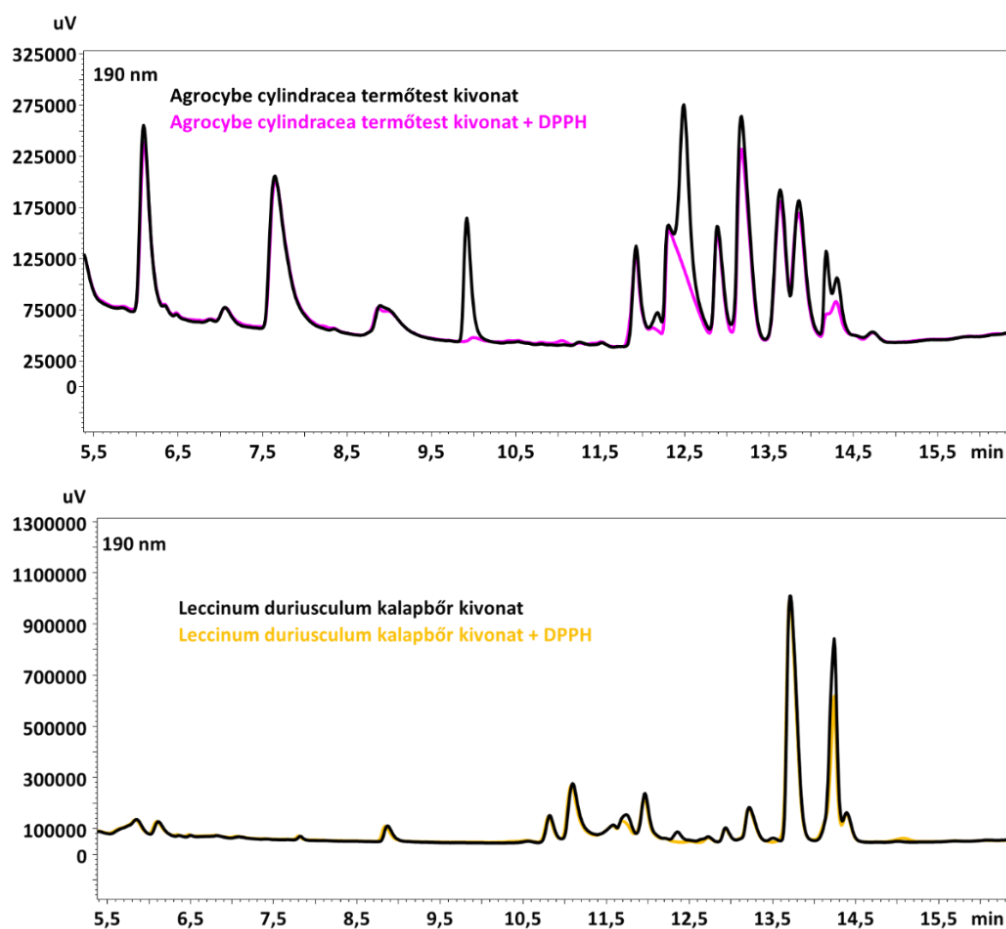
A téli fülőke, a süngomba és a shiitake eredményeit együtt szeretném bemutatni, mivel az UV és MS spektrumok alapján a fő aktív komponensük **Rt= 9,681** (*F. velutipes*); **9,171** (*H. erinaceus*) és **9,101** (*L. edodes*) percnél azonos (**36. ábra**) a laskagombákban talált vegyülettel.



36. ábra – A *Lentinula edodes* tönk, a *Hericium erinaceus* termőtest és a *Flammulina velutipes* termőlemez DPPH-HPLC kromatogramja és az aktív anyagaik UV spektrumai

A három vizsgált gombafaj többi részében is megtalálható ez a vegyület (UV és MS-spektrumok alapján), hasonló eloszlásban, mint a fenoloidok esetében. A süngomba termőtest kivonatában még egy aktív csúcsot láthatunk **14,141**-es retenciós idővel. A *Flammulina velutipes* eredményeit töményített mintával (az eredeti térfogat negyedére szárítva) értem el, mivel csak így tudtam detektálni az aktív anyagot.

A *Leccinum duriusculum* és az *Agrocybe cylindracea* extraktumaiban több, aktivitást mutató foltot sikerült detektálni a rétegen, ezen eredmények alapján a DPPH-HPLC módszer alkalmazásánál is több antioxidáns hatást mutató kromatográfias csúcsot vártam (**37. ábra**).



37. ábra – A *Leccinum duriusculum* kalapbőr és az *Agrocybe cylindracea* termőtest kivonatok DPPH-HPLC kromatogramja

A két vadon termő faj közül az *Agrocybe cylindracea* kivonatában ugyancsak megtalálható az a komponens, amely az előzőekben taglalt három gombafaj esetében is (**Rt= 9,921** perc). Emellett további öt csúcs volt aktív. Sajnálatosan az általam használt futtatási paraméterekkel nem sikerült teljes mértékben elválasztani az anyagokat, pl. legalább három anyagot láthatunk **Rt= 12,171; 12,332 és 12,493** percnél, melyek közül nem mind volt aktív. Minimálisan csökkent az intenzitása az **Rt= 13,181** percnél detektált vegyületnek. Ugyancsak páros csúcsalakot figyelhetünk meg a futtatás legvégén, de ebben az esetben mindkét csúcs aktivitást mutatott (**Rt= 14,189 és 14,321** percnél). A *Leccinum duriusculum* esetében két kisebb aktív csúcsot (**Rt= 11,740 és 12,362** percnél), illetve egy nagy aktív csúcsot (**Rt= 14,244** perc) figyelhetünk meg. A nagyobb csúcs közel azonos retenciót mutat az *Agrocybe cylindracea* mintában detektált csúccsal.

Eredményeim alapján a gombák vizsgálatára is hasznosnak tartom a DPPH-HPLC módszert, amellyel célirányosan lehet az antioxidáns aktivitású vegyületeket keresni, akár ismeretlen minta esetén is, természetesen megfelelő kromatográfias felbontás biztosítása mellett. Különböző gombafajokat már vizsgáltak on-line DPPH-HPLC módszerrel (JEON et al., 2009), illetve oszlop utáni (post-column) DPPH adagolással (ZDUNIC et al., 2011), de tudomásom szerint off-line módszert gombafrakciók esetében még senki sem alkalmazott. Elmondható, hogy az egyes gombáknál DPPH-HPLC-vel feltárt sajátosságok egybevágóak a vékonyréteg kromatográfias (TLC-DPPH) eredményekkel. A kromatogramok alapján a nemzetségeken belül nem található nagy különbség az antioxidáns profilok között, de a nemzetségek között már vannak ilyenek. Olyan vegyületet is kimutattam, amely az általam vizsgált gombafajok többségében megtalálható.

4.5.2. Az aktív anyagok jellemzése HPLC-DAD-ESI-MS-el

Az előzőekben leírtam a különböző gomba kivonatokból kimutatható antioxidáns vegyületeket. Ahhoz, hogy jellemezzük őket, több paraméterre van szükségünk. A DPPH-HPLC módszer alapján a különböző aktivitást mutató anyagoknak megismertük a retenciós idejét. E fejezetben a retenciós időkhöz tartozó m/z értékeket, illetve a tömegspektrumokat szeretném bemutatni. Ehhez tartoznak az általam izolált vegyületek m/z értékei is. A különböző gombafajok aktív komponenseit a **18. táblázat** tartalmazza.

18. táblázat – Az aktív komponensek kromatográfias értékei gombafajonként

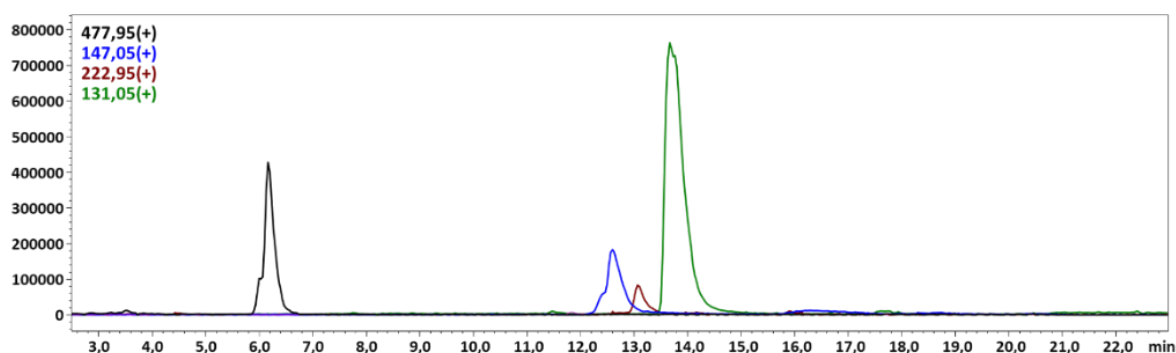
Gombafaj	Retenciós idő (perc)	m/z (-)	m/z (+)
	6,063	714,00	716,30
<i>Agaricus bisporus</i> (fehér és barna)	7,678	n.a.	783,40
	12,485	236,90	238,90
	13,480	157,00; 336,80	223,00
<i>Pleurotus eryngii</i>	9,141	227,95	
<i>Pleurotus ostreatus</i>	9,693	n.a.	
<i>Lentinula edodes</i>	9,101		229,95; 458,90
<i>Hericium erinaceus</i>	9,171	227,95; 456,85	
<i>Flammulina velutipes</i>	9,689		
	6,102	475,90; 476,95	477,95
	9,153	227,95; 456,85	229,95; 458,90
	12,493	244,9; 361,85	n.a.
<i>Agrocybe cylindracea</i>	13,181	145,00	147,05
	13,640	n.a.	222,95
	13,861	311,85	308,85
	14,189	335,80	131,05
	14,312	406,85	159,05
<i>Leccinum duriusculum</i>	11,740	357,80	n.a.
	14,244	195,90	197,95

A vizsgált paraméterek alapján a csiperkékben négy különböző antioxidáns vegyület található, míg a ligninbontó taxonokban egy meghatározó vegyület felelős az antioxidáns hatásért. A két másik vadon termő faj vegyületeinek mennyisége között jelentős különbség van.

Míg a *Leccinum duriusculum* két meghatározó anyagot tartalmaz, addig az *Agrocybe cylindracea* kivonatában nyolc antioxidáns vegyületet mutattam ki. Az „n.a.” jelölés azt mutatja, hogy a jellemző tömegspektrometriás jelet nem tudtam azonosítani az adott vegyület kis mennyisége vagy gyenge ionizálódása miatt.

4.5.3. Az aktív komponensek mennyiségi összehasonlítása a különböző gombafajok és frakciók esetében

A nagyműszeres vizsgálatokat a különböző frakciók mennyiségi különbségeinek feltárásával fejeztem be. A DPPH-HPLC módszer segítségével feltárt anyagok, illetve a hozzájuk tartozó m/z értékek ismeretében, a HPLC-MS-sel kapott szelektív ion kromatogramok kiértékelhetőek (**38. ábra**).



38. ábra – Az *Agrocybe cylindracea* termőlemez frakciójának szelektív ion kromatogramja

Az egyes kiválasztott, jelen esetben pozitív ionok intenzitásai láthatóak külön-külön színnel jelölve. A szelektív ion kromatogramok segítségével a csúcsterületek alapján mennyiségi különbségek megállapítására nyílik lehetőség a különböző gombarészek esetében (**19. táblázat**).

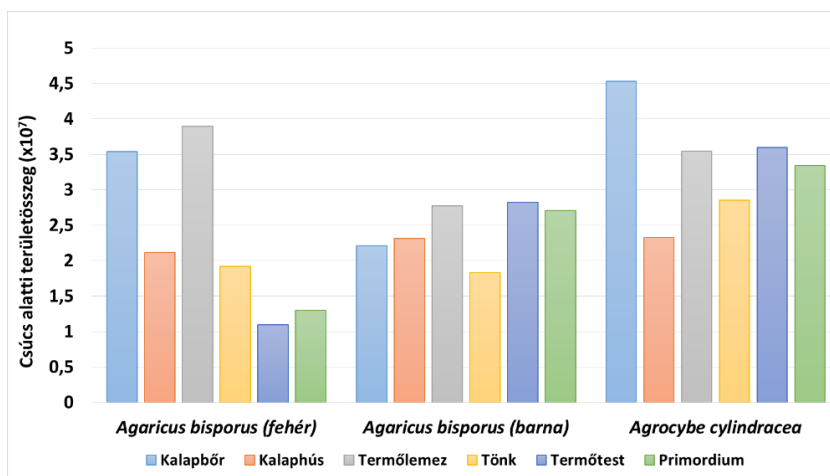
A táblázatban egy adott retenciós időnél csak a legnagyobb intenzitással rendelkező m/z értékkel kapott szelektív ion kromatogramok csúcsát integráltam ki. Általánosságban a pozitív ionok adják a nagyobb intenzitású csúcsokat. A detektált antioxidáns vegyületek nagyon változatosak.

19. táblázat – A DPPH-HPLC módszerrel megállapított aktív komponenseinek az m/z értékek alapján meghatározott csúcs alatti terület értékei gombafajonként a különböző frakciókban

Gombafaj	m/z	Kalapbőr	Kalaphús	Termőlemez	Tönk	Termőtest	Primordium
<i>Agaricus bisporus</i> (fehér)	716.3 (+)	9 902 485	6 468 120	7 800 532	8 152 001	5 072 168	5 895 394
	783.4 (+)	18 908 889	11 096 627	20 301 211	8 880 358	4 118 378	6 090 438
	238.9 (+)	5 102 171	1 902 896	9 910 933	904 290	712 680	332 524
	223.00 (+)	1 497 847	1 664 354	956 000	1 271 212	1 028 978	640 532
<i>Agaricus bisporus</i> (barna)	716.3 (+)	13 099 842	12 444 548	14 176 008	11 042 145	17 356 918	15 939 898
	783.4 (+)	6 643 532	8 901 408	9 885 686	3 642 064	8 603 682	9 771 844
	238.9 (+)	1 875 988	1 095 345	3 171 624	2 936 031	1 535 600	770 842
	223.00 (+)	499 652	695 172	496 054	706 437	763 330	608 580
<i>Pleurotus eryngii</i>		4 590 100	8 613 290	2 117 230	5 813 814	5 514 864	7 977 479
<i>Pleurotus ostreatus</i>		102 493	5 372	220 456	3 245	62 116	40 492
<i>Lentinula edodes</i>		2 740 427	4 333 052	3 973 294	3 174 536	4 899 098	3 090 778
<i>Flammulina velutipes</i>	229.95 (+)	n.a.	252 233	47 066	n.a.	18 902	57 544
<i>Hericium erinaceus</i>				n.a.		8 936 734	n.a.
<i>Agrocybe cylindracea</i>		1 995 018	2 084 843	6 289 186	4 196 315	6 314 010	1 638 198
<i>Agrocybe cylindracea</i>	477.95 (+)	1 658 894	1 616 135	5 850 804	4 425 843	7 116 962	2 929 350
	244.9(-)*	123 618	101 398	83 477	151 593	37 866	89 554
	147.05 (+)	2 905 664	2 393 344	3 667 508	3 322 710	3 823 812	3 912 328
	222.95 (+)	16 029 702	677 289	1 014 898	810 969	553 246	1 808 886
	311.85 (-)	1 424 481	1 059 734	719 030	694 986	776 280	1 372 566
	131.05 (+)	21 099 148	15 284 555	17 758 180	14 905 500	17 280 283	21 644 994
	406.85 (-)	59 702	33 528	54 388	32 684	36 114	43 888
<i>Leccinum duriusculum</i>	357.80 (-)	211 346	62 882	54 714	11 350	8 640	n.a.
	197.95 (+)	981 811	345 422	324 884	43 067	112 155	536 597

n.a. = nincs adat

Ha adott gombafajra vetítve összeadjuk az összes aktív csúcsához tartozó csúcs alatti területeket (összterület), akkor megállapíthatóvá válik, hogy a detektált anyagok összességében milyen eloszlásban vannak jelen a gombatermőtestben (**39. ábra**). A fehér csiperke és a déli tőkegomba frakcióinak összterület profilja nagyon hasonló a már tárgyalt fenoloid-tartalom mintázatához (**19. ábra**).



39. ábra – A fehér csiperke, a barna csiperke és a déli tőkegomba HPLC-MS-sel detektált antioxidáns csúcsainak területösszege termőtest részenként

A barna csiperke esetében az összterület mintázat hasonló, de a kalapbőr eredményei nem egyeznek a fenoloid vizsgálatokkal, így lehet, hogy az általam használt HPLC-s paraméterek nem kedveznek egyes anyagok retenciójának (fronttal futnak vagy nem eluálódnak). A déli tőkegomba adatainak kiértékelését követően is hasonló eloszlást figyeltem meg, mint a kisműszeres vizsgálatok esetében. A többi általam vizsgált gombafajnak kisebb összterületei vannak, illetve egyes taxonok esetében egy meghatározó csúcsot sikerült detektálnom, így azok ábrázolásától eltekintettem.

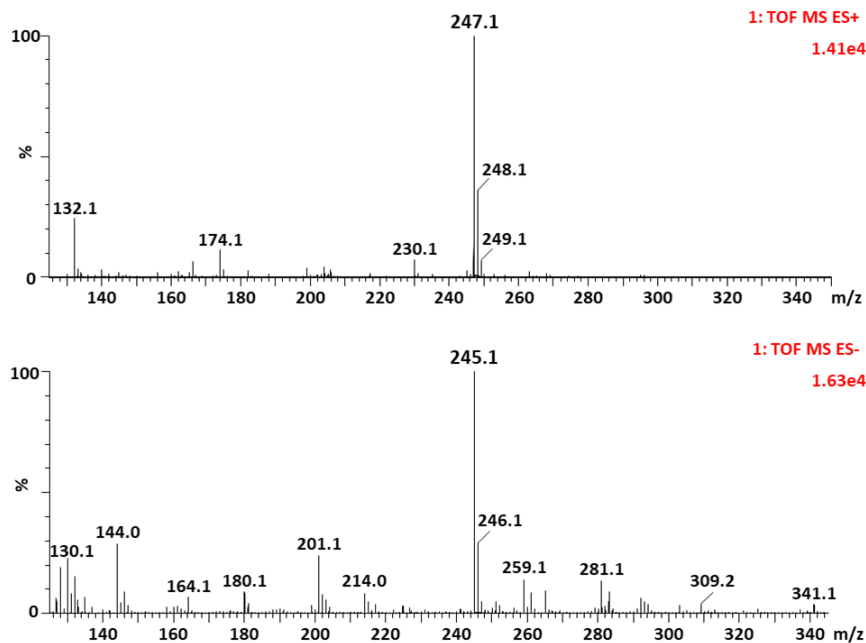
A **19. táblázat** jól mutatja, hogy a *Pleurotus* fajok között nagy különbség van az antioxidáns anyagok mennyisége és eloszlása szempontjából egyaránt. A *P. ostreatus* mintákkal szemben a *P. eryngii* sokkal több aktív anyagot tartalmaz és azok is jelentős mennyiségben, a kalaphúsban és a primordiumban detektálhatók. A *P. ostreatus* összterület profilja a fenoloid eloszlásához hasonló mintázatot követ: termőlemez> kalapbőr> termőtest> primordium> kalaphús> tönk. A *Lentinula edodes* termőtestén belül az összterület eloszlása teljesen más, mint a kisműszeres vizsgálatok esetében.

A vékonyréteg kromatográfiai eredményeket is figyelembe véve feltételezhető, hogy több aktív komponense is van, de ezek nagy része nem jól ionizálódik. A *Leccinum duriusculum* kalapbőrében kiemelkedő mennyiségben található a két detektált vegyület, de az egyik, a termőtest többi részében főleg a termőlemezekben és a kalaphúsban, illetve meglepő módon a primordiumban is jelentős mennyiségben van. Ehhez hasonló mintázatot mutat a kisműszeres mérések eredménye is (**19. és 20. ábrák**). A *Flammulina velutipes* ezekben a mérésekben ugyan nem a legkisebb értékeket adta, de a kalapbőr és tönk kivonatokból nem sikerült detektálni az aktív anyagot. A legnagyobb mennyiségben a kalaphús tartalmazta az aktív vegyületet.

Összefoglalva, a nagyműszeres mérési eredmények összevethetőek az általam végzett kisműszeres vizsgálatok eredményeivel. A több aktív komponenset tartalmazó gombafajok esetében a nagyműszeres eredmények megerősítik azt az eloszlási mintázatot, amelyet a kisműszeres vizsgálatok során feltártam. Azon gombafajoknál, ahol egy vegyületet sikerült detektálni, nagy valószínűséggel más anyagok is jelentősen befolyásolják az antioxidáns aktivitást, de ezen anyagokat nem sikerült kimutatni. Sajnálatosan az általam használt nagyműszeres méréseknek is megvannak a maga határai (kimutathatóság, ionizáció, stb.), így további vizsgálatok szükségesek a problémák kiküszöbölésére, illetve az eredmények finomítására.

4.5.4. Az ESI-TOF-MS eredmények

Az izolált anyag tömegét a pozitív és negatív módban felvett spektrumok alapján határoztuk meg. A minta főkomponense egy $M=246$ Da tömegű vegyület (**40. ábra**).



40. ábra – Az izolált anyag pozitív (felső) és negatív (alsó) módban felvett spektrumai

A pontos tömegmérés alapján a protonált molekulaion mért tömege: $[M+H]^+ = 247,1084$ Da; összegképlet $[M+H]^+ = C_{13}H_{15}N_2O_3^+$. Elméleti tömeg: $247,1083$ Da (*eltérés 0,4 ppm*).

Az ütközésaktivált (CID) bomlási spektrumokból a fragmentáció lépéseit és az egyes fragmensek pontos tömegét is meghatároztuk (**8. MELLÉKLET**). A spektrumok adatai alapján a következő fragmentációs lépések voltak megfigyelhetőek. A 247 m/z anyaiionból $[M+H]^+ = C_{13}H_{15}N_2O_3^+$, 8 eV ütközési energia hatására 230 m/z értékű ion képződött ($C_{13}H_{12}NO_3^+$), ami egy ammónia leszakadását jelzi. 10 eV ütközési energiával már egy C_2H_5N semleges csoport szakítható le az anyaiionról, amely során az m/z 204 értékű ($C_{11}H_{10}NO_3^+$) ion keletkezik.

Az ütközési energia további növelésével (12 eV) az anyaiionról egy $C_2H_3NO_2$ fragmens szakad el és az ütközés után visszamaradó fragmens ($C_{11}H_{12}NO^+$) 174 m/z értékű. A 204 m/z értékű fragmens tovább fragmentálható már 8 eV ütközési feszültséggel is, ezáltal egy C_2H_2O csoport szakítható le a fragmanesről, és végeredményben egy 162 m/z értékű iont kaptunk ($C_9H_8NO_2^+$).

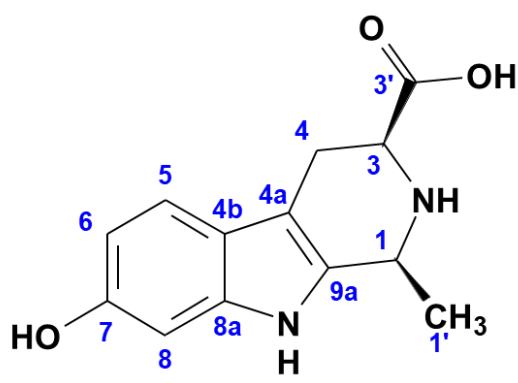
A negatív és pozitív tömegspektrumok, illetve a fragmentációs adatok alapján kikövetkeztethető szerkezeti tulajdonságok:

- A semleges molekulában (**M=246 Da**), összegképlet: **C₁₃H₁₄N₂O₃** a gyűrűk és kettős kötések együttes száma 8,
- indol-váz jelenléte valószínűsíthető,
- NH₂ csoport jelenléte valószínűsíthető,
- karbonil csoport jelenléte valószínűsíthető,
- még egy gyűrű vagy kettős kötés valószínűsíthető.

4.5.5. Az NMR-vizsgálat és a CD spektroszkópia eredményei

A **C₁₃H₁₄N₂O₃** összegképlet alapján az egyik legnagyobb kémiai adatbázisban (*Reaxys*, *new.reaxys.com*) 3117 különböző kémiai szerkezetet lehet elkülöníteni.

Az NMR vizsgálatok segítségével ezt a számot jelentősen lecsökkentettük, négyféle lehetséges szerkezetre (MeOH-ban oldott minta esetében). A pontosabb szerkezet meghatározáshoz, beszárítást követően a mintát DMSO-ban oldottuk és ezáltal két lehetséges szerkezetre sikerült leszűkíteni a lehetséges molekulák számát (**41. ábra**). Az 1'-vel jelölt metil-csoport pontos helyzetét a cirkuláris dikroizmus spektroszkópia eredménye alapján tudtuk véglegesíteni.



Sorszám	¹ H (δ, ppm)	¹³ C (δ, ppm)
1	4.65 (q, J = 7.0 Hz, 1H)	51.2
1'	1.71 (d, J = 6.7 Hz, 3H)	17.2
3	3.94 (dd, J = 12.1, 4.9 Hz, 1H)	59.7
3'	-	173.7
4	3.38 (dd, J = 15.6, 4.9 Hz, 1H) 2.98 (ddd, J = 15.6, 12.1, 2.5 Hz, 1H)	24.4
4a	-	107.7
4b	-	121.4
5	7.28 (d, J = 8.5 Hz, 1H)	119.6
6	6.62 (dd, J = 8.5, 2.1 Hz, 1H)	110.7
7	-	154.9
8	6.76 (d, J = 2.1 Hz, 1H)	97.8
8a	-	139.7
9a	-	129.6

41. ábra – Az *Agrocybe cylindracea*-ból izolált vegyület szerkezete, számozása és teljes ¹H és ¹³C NMR jelhozzárendelése deuterált metanolban, 600 MHz-en

Az izolált komponens, a *Brunnein-B* nevű vegyület diasztereomere. Diasztereomereknek nevezzük az egymással nem-tükörképi viszonyban álló, egymással fedésbe nem hozható molekulákat.

A *Brunnein-B* vegyületet a barna pókhálós gombában (*Cortinarius brunneus* (Pers.) Fr. 1838) fedezték fel és írták le először (TEICHERT et al., 2007). A *Brunnein-B* egy alkaloid vázas vegyület, mely citotoxikus hatását az előzőekben hivatkozott cikkben már igazolták.

Az általunk izolált anyag egy sárga kristályos vegyület, mely vízben és MeOH-ban jól oldódik, hőstabil és markáns antioxidáns hatást mutat. Az anyag antioxidáns aktivitását és EC₅₀ értékét vizsgáltam microplateben. A vegyület 91,86 %-os gyökkötőképességgel rendelkezik, melyhez 119,04 µg/ml-es EC₅₀ érték párosul. A vegyület szabadgyökkötőképesség értéke magasabb, mint bármelyik *Agrocybe* termőtest rész kivonatból mért érték. Az EC₅₀ értéke viszont elmarad azoktól.

4.6. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

I. A gombafajokra alkalmazható minta-előkészítési módszereket összehasonlítottam és a standardizálási lehetőségek egy részét feltártam. Új minta-előkészítési módszert vezettem be a pilotéciumos gombák esetében: **a frakcionálást**. A hagyományos metodika helyett a négy morfológiailag jól elkülöníthető termőtest részre helyeztem a hangsúlyt. A négy elkülönülő rész: **a kalapbőr, a kalaphús, a termőlemezek és a tönk**. A gomba termőtest részeinek és az egész termőtesthez viszonyított tömegarányuknak, illetve azok biokémiai jellegzetességeit meghatároztam. A különböző termőtest morfológiájú (agarikoid és pleurotoid pilotéciumos) gombafajoknak a fenoloid és flavonoid tartalmának eloszlását a termőtesten belül, illetve az antioxidáns aktivitásukat feltérképeztem.

II. A vizsgált természetű gombák törzseit vizsgáltam és hasonlítottam össze (fehér *A. bisporus* – nyolc törzs, barna *A. bisporus* – hat törzs, *P. ostreatus* – tizenhét törzs, *L. edodes* – három törzs) három biokémiai paraméter alapján, illetve kialakítottam **egy törzsmínősítő rendszert** (mely nem zárja ki a bővítési lehetőségeket), ami lehetővé teszi a gyűjtés, a termesztés és felhasználás orientálását az antioxidáns anyagok szempontjából legértékesebb törzsek felé.

III. A tartósító eljárások hatásait vizsgáltam három természetű gombafajnál az antioxidáns anyagok szempontjából. Az eredmények alapján, a csiperkegombát találtam a legellenállóbbnak a tartósító eljárásokkal szemben. A különböző eljárások közül **a legkíméletesebbnek a különböző szárító eljárások bizonyultak**, míg a legnagyobb csökkenést a kémiai tartósító módszerek okozták az antioxidáns anyagok mennyiségében az eredményeim alapján.

IV. Kidolgoztam egy a gombákra alkalmazható vékonyréteg kromatográfiás eljárást (eluens fejlesztéssel), illetve egy alkalmas **izolálási protokollt** szilárd fázisú extrakcióhoz. Meghatároztam a vizsgált gombafajok, illetve azok termőtest részeinek antioxidáns profilját.

V. Az eredetileg növényi mintákra kidolgozott DPPH-HPLC módszert alkalmaztam és optimalizáltam különböző gombamintákra. A vizsgált gombákban található aktív anyagok kromatográfiás jellemzőit meghatároztam és mennyiségi szempontból is összehasonlítottam.

VI. Első alkalommal kerültek leírásra a **nyárfa érdestinóru** (*Leccinum duriusculum*) fenoloid és flavonoid profilja, antioxidáns aktivitása, illetve a különböző termőtest részek EC₅₀ értékei. A **déli tőkegomba** (*Agrocybe cylindracea* syn. *Agrocybe aegerita*) egyik meghatározó antioxidáns vegyületét izoláltam és sikeresen meghatároztuk a kémiai szerkezetét. A vegyület összegképlete: **C₁₃H₁₄N₂O₃**, mely a *Brunnein-B* nevű vegyületnek a diasztereomere.

5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

A doktori munka fő célja volt az antioxidáns anyagok eloszlásának megismerése a termőtestekben.

A nagygombák termőtestének tradicionális felosztását (kalap-tönk) elhagytam (VETTER, 1994; FERREIRA et al., 2007; BARROS et al., 2007d), mivel a termőtest, négy, jól elkülöníthető részre bontható morfológiailag, attól függetlenül, hogy „csupán” gombafonalak szövődékeként definiált. A négy morfológiai rész a legtöbb bazídiumos (pilotécium típusú termőtestű) nagygombafajnál megtalálható, s ezek a kalapbőr, a kalaphús, a termőlemezek és a tönk (KALAC, 2009).

Vizsgáltam az összfenoloid, illetve az összflavonoid-tartalmakat, melyek napjainkban a mikrobiokémiai kutatások fő kérdései (FERREIRA et al., 2009; ASATIANI et al., 2010; SMITH et al., 2015). A fenoloid tartalommal szervesen kapcsolódó antioxidáns aktivitást is meghatároztam (szabadgyök-kötőképesség révén), illetve különböző analitikai módszerrel vizsgáltam a gombafajok és azok termőtest részeinek antioxidáns profilját (VELIOGLU et al., 1998; CHEUNG et al., 2003; VAMANU & NITA, 2013).

Céljaim egyike egy, általánosan használható minta-előkészítési módszertan kidolgozása volt.

A mikológiai szakirodalomban fellelhető minta-előkészítési és vizsgálati módszereket figyelembe véve próbáltam egységesíteni munkámat, hogy minél részletesebb és pontosabb képet adhassak a különböző gombafajok és a különböző termőtest részek antioxidáns hatású anyagairól. Számos, a szakirodalomban megtalálható extrakciós eljárást használtam és vizsgáltam különböző szempontok szerint. Vizsgálataim alapján, illetve más kutatók vizsgálatait is figyelembe véve, arra a következtetésre jutottam, hogy a metanolos extrakciós eljárások jelentősen több antioxidáns anyag kivonására alkalmasak, mint az egyéb oldószert alkalmazók (SMITH et al., 2015). Az általam használt eljárás (mechanikai rázás melegítéssel) alapanyag és időigénye kisebb, mint a legtöbb más extrakciós eljárásé.

Az egységnyi gombatermőtest frakciók fenoloid és flavonoid tartalmának, valamint antioxidáns aktivitásának feltérképezése.

Vizsgálataim alapján megállapítható, hogy a kalapbőr és a termőlemezek fenoloid-tartalmuk és antioxidáns aktivitásuk alapján a termőtest „leghasznosabb” részei. A kalaphús, megközelítőleg a tönkkel egyenértékű, de egyes taxonok (pl.: *Leccinum duriusculum*, *Lentinula edodes*) esetében a talált értékek nem elhanyagolhatók.

Egységnyi kalapbőr, illetve termőlemez, egyes esetekben kétszer akkora mennyiségben tartalmaz bioaktív vegyületeket, mint a termőtest többi része. Igazolást nyert, hogy a termőtest a hatóanyag-tartalom alapján egy súlyozott átlagot képvisel. Ezen felosztás révén a gombák hatóanyag-kutatási megközelítése is megváltozhat, mivel a gombák egyes részei nagyobb koncentrációban tartalmaznak bioaktív anyagokat. Ezáltal pedig könnyebben izolálhatóak, és kisebb friss mennyiségű mintából indulhatunk ki.

Vizgáltam a teljes termőtest és primordium közötti különbségeket.

A teljes termőtest vizsgálataival mellett primordiaimaikat is bevontam az értékelésbe. Az eredmények alapján a termőtest és a primordium – főként a természetett taxonok esetében – azonos fenoloid tartalmú, egységnyi mintát vizsgálva. Egyes vadon termő taxonok primordiaimái azonban magasabb fenoloid koncentrációjúak. A flavonoid eloszlás más mintázatot mutatott. Az antioxidáns aktivitás vizsgálataival kiegyenlített eredményeket hoztak, melyet más kutatások is megerősítettek (DIKEMAN et al., 2005; BARROS et al., 2007c; SOARES et al., 2009). A továbbiakban más antioxidáns módszerek és gombafajok bevonását is javaslom, melyek révén részletesebb és szélesebb képet kaphatunk a primordium és a termőtest biokémiai viszonyáról és fiziológiájáról.

Vékonyréteg kromatográfia és izolálás

A szakirodalomban található eluensek helyett (CAI et al., 2013), egy, ezektől eltérő eluent fejlesztettem ki (ACN-H₂O-CH₃COOH, 75:25:3), mely a metanolos kivonatok megfelelő felbontás melletti vizsgálatát, s az adott gombafaj antioxidáns profiljának elemzését teszi lehetővé. E vizsgálati eredmények nem találtak kiugró különbségeket (főleg minőségi tekintetben) a nemzetségeken belül az antioxidáns profilok között, a nemzetségek összehasonlításakor azonban jelentős minőségbeli különbségeket tártam fel. A gombafajok TLC-DPPH profilja alapján további vegyületek izolálhatók, illetve vizsgálhatók.

Az *Agrocybe cylindracea* kivonataival végeztem el a különböző izolálási és tisztítási lépéseket, melyekkel a kalapbőr, a kalaphús, a termőlemezek és a tönk egyesített extraktumából sikeresen izoláltam egy antioxidáns vegyületet, mely a *Brunnein-B* diasztereomerének bizonyult.

Nagyműszeres analitikai mérések és egy antioxidáns molekula meghatározása

Az eddig gyógynövényekre és élelmiszerekre alkalmazott off-line HPLC-DPPH módszert alkalmaztam munkám során, mellyel sikerült kiszűrni az egyes gombafajok jellemző antioxidáns vegyületeit (RIETHMÜLLER et al., 2016). A jellegzetes vegyületek mennyiségét (szemikvantitatívan) is meghatároztam a különböző termőtest részekben.

A csiperkék és a déli tőkegomba anyagait megközelítőleg sikerült feltérképezni, ezek az összfenoloid-vizsgálatok eredményeivel hasonló eloszlást mutattak. A többi vizsgált gomba esetében egy olyan vegyületet tudtam meghatározni, melynek mennyiségi eloszlása nem követi a fenoloidok eloszlását, így e taxonokban más, eddig nem kimutatott vegyületek is meghatározóak lehetnek.

Gombatörzsek vizsgálatai

A Magyarországon is jelentős három különböző termesztett gombafaj: a fehér és barna kalapú csiperke, a laskagomba és a shiitake különböző törzseit is vizsgáltam. A csiperketörzsek bizonyultak a legjobb antioxidáns hatású gombáknak, őket követték a shiitake törzsei, míg a laskagomba törzsek a leggyengébbek az antioxidáns hatás alapján. A törzseket összehasonlítottam és erre egy faj specifikus, minősítő rendszert alakítottam ki. A gombatörzsek ilyen vizsgálatai és rangsorolásuk a későbbiekben hasznos információt nyújthatnak a gomba nemesítéssel foglalkozó szakemberek számára is. Az eredmények alapján olyan adatbázist hoztam létre, mely a vadon termő gombák gyűjtőit, a gombatermesztőket-nemesítőket és a fogyasztókat is tájékoztathatják.

A tárolás és a tartósító módszerek hatásai

A gombakészítmények fogyasztása (legyen az szárított, konzervált vagy mélyfagyasztott formájú) világszerte emelkedik. Ebből kiindulva vizsgáltam a gombák antioxidáns paramétereinek alakulását, számos tartósítási forma (hűtés-fagyasztás-szárítás-kémiai tartósítások) alkalmazása nyomán. Az eredmények szerint a szárítási módszerek kímélik meg leginkább az antioxidáns anyagokat. A hűtés és fagyasztás számottevően nem vagy alig befolyásolják ezeket a paramétereket. A kémiai tartósítás minden általam kipróbált módszere azonban jelentősen csökkentette az antioxidáns vegyületek mennyiségeit és minőségét, amit más kutatások is alátámasztanak (FERNANDES et al., 2013; JAFRI et al., 2013). A kémiai tartósítási módszerek legkevésbé az *Agaricus bisporus* termőtesteit károsították.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

Az ehető gombák termesztése, fogyasztása és a gyógymomba készítmények használata az elmúlt 15-20 évben jelentősen megnövekedett (CHANG & MILES, 2008; CHANG & WASSER, 2012). A jelenség hátterében két igen fontos tényező áll, az egyik, hogy számos termőtestes gomba tartalmaz bioaktív molekulákat (DE SILVA et al., 2013; FRIEDMAN, 2015). A másik ok pedig, hogy az emberek jelentős hányada fogyaszt friss gombát vagy használ valamilyen gyógymombát (is) tartalmazó táplálék-kiegészítőt (ROYSE, 2014).

A kutatás főbb célkitűzései voltak, többek között:

- egy, a gombákra általánosan alkalmazható mintavételi és előkészítési módszer kidolgozása;
- a hagyományos felosztás (kalap-tönk) helyett egy részletgazdagabb módszer bevezetése; (kalapbőr-kalaphús-termőlemezek-tönk) és e tagolás súlyviszonyainak megismerése,
- a különböző gombafajok, gombatörzsek és gombarészek biokémiai potenciáljának feltérképezése három mért paraméter alapján;
- a tartósító módszerek hatásának mérése a különböző gombafajok vizsgált paramétereire
- különböző kromatográfiai vizsgálatok elvégzése: profilanalízis, az antioxidáns anyagok kromatográfiai paramétereinek meghatározása és izolálási protokoll kidolgozása.

A kísérletek során nyolc különböző gombafajt (ebből négy termesztett) és 34 gomba törzset, illetve ezek különböző részeit vizsgáltam. A vizsgálatok az összfenoloid és az összflavonoid tartalomra, illetve az antioxidáns aktivitásra (szabadgyök-kötőképesség) irányultak. Emellett különböző analitikai módszerek segítségével (VRK, HPLC-MS, NMR) pontosabb képet kaptunk az antioxidáns hatású anyagokról. A nemzetközi vizsgálatok a kalap és a tönk összehasonlító vizsgálataiban során markáns különbségeket tártak fel (RIBEIRO et al., 2008).

A spektrofotometriás eredmények alapján a termőtest legértékesebb részei a kalapbőr és a termőlemezek, melyek a termőtest tömegének frissen 15-20 %-át, szárított állapotban 20-30 %-át teszik ki. A gombákban található vegyületek könnyebben izolálhatókká válhatnak, mivel az egyes termőtest részek nagyobb koncentrációban tartalmazhatják ezeket, mint például a fehér *Agaricus bisporus* fenoloid tartalom aránya a termőtest és azok alkotói között (**termőtest – kalapbőr – kalaphús – termőlemez – tönk → 1:1,2:1:1,6:0,9**).

A termőtestek és a primordiumok fenoloid-tartalma között nem volt számottevő különbség (pl.: fehér *A. bisporus* – 1,90 és 1,91 mg GSE/g sz.a.; barna *A. bisporus* – 2,38 és 2,35 mg GSE/g sz.a., illetve a *P. eryngii* – 1,01 és 1,00 mg GSE/g sz.a.).

Igazolódott, hogy a termőtest antioxidáns tartalma alkotórészei súlyozott átlagának felel meg. A vizsgált gombák mindegyikének sikerült meghatározni az antioxidáns profilját: a termőtesthez viszonyítva változatos a termőtest részek antioxidáns összetétele - leginkább mennyiségileg, de egyes fajoknál minőségileg is. A gombafajokból egy olyan közös vegyületet sikerült kimutatni, mely öt gombafajban is megtalálható, sőt két gombafajban meghatározó.

Nagyműszeres analitikai vizsgálatok segítségével meghatároztuk a déli tőkegomba egyik antioxidáns vegyületét, ami a *Brunnein-B* vegyület diasztereomere, melynek tömege **M=246 Da**, összegképlete: **C₁₃H₁₄N₂O₃**.

A termesztett gombatörzsek vizsgálatai alapján sikerült egy, az antioxidáns hatás szempontjából kialakított minősítő rendszert kidolgozni, illetve a 34 törzs adatait (a vizsgált paraméterek alapján, a termőtest részek adataival együtt) tartalmazó adatbázist létrehozni. Az általam létrehozott és használt minősítő rendszer szerint a fehér csiperke törzsek közül a legjobb törzsnek az 'A-15'-ös, míg a leggyengébbnek az 'L-927'-es törzs bizonyult. A barna csiperkék közül egy kiemelkedő törzset találtam ('S-856'-os törzs), a leggyengébb pedig a 'Heirloum' volt. A laskatörzsek két végpontját az '1-0-30' és a '357-145'-ös törzsek képviselik. Az említett törzsmínősítő rendszer eredményei a jövőben a nemesítő munka során is hasznosak lehetnek.

A különböző tartósító eljárások vizsgálata alapján a legcélszerűbb tartósítási módszer (antioxidáns szempontból) a 60-90 °C közötti szárítás. A hőmérséklet emelkedésével a fenoloid anyagok mennyisége is nő, kivételt jelent az *Agaricus bisporus*. A flavonoidok mennyisége a magas hőmérséklet hatására – jellemzően 90 °C-on – közel négyszeresére nő, mindhárom gombafajnál. A hűtési és fagyasztási eljárások – a laskagombán kívül – nem befolyásolják az antioxidáns aktivitást, a fenoloid és flavonoid anyagokat azonban - fajtól és időtartamtól függően - egyes esetekben csökkentik. A különböző kémiai tartósítások ugyanakkor jelentősen csökkentették a gombák minden vizsgált paraméterét. Hasonló következtetéseket vontak le egyébként más kutatók is (CHOI et al., 2006; BARROS et al., 2007b; JAFRI et al., 2013).

Érdekes kérdés lehet a jövőben, hogy az egyes termőtest részekben milyen eloszlásban találhatóak más bioaktivitású (pl.: antibakteriális, antivirális, stb.) vegyületek. A jelen eredmények egy, a továbbiakban finomodó kutatási irányvonalat képviselnek, mely reményeim szerint bővülni fog, mind a fajokat, mind pedig a biokémiai paramétereket tekintve.

7. SUMMARY

The cultivation and consumption of edible mushrooms, as well as application of medicinal mushrooms, have increased significantly in the last 15-20 years (CHANG & MILES, 2008; CHANG & WASSER, 2012). There are two important factors behind this phenomenon. Firstly, many representatives of the mushrooms possess useful biological activities (DE SILVA et al., 2013; FRIEDMAN, 2015). Secondly, a significant proportion of people consume fresh mushrooms or use mushroom containing food supplements (ROYSE, 2014).

The main objectives of this study are:

- to develop a method for sampling and preparation which is generally suitable for fungi;
- to introduce more detailed fractionation (cap skin – cap meat – gills – stipe) of mushroom fruiting bodies instead of the classical fractions (cap and stipe) and to study of their weight relations;
- to evaluate the biochemical potential of different fungal species, fungal strains and fungal parts, based on three measured parameters;
- to measure the effect of conservation methods on the examined parameters of different fungal species,
- to perform various chromatographic tests: profile analysis, determination of chromatographic parameters of antioxidant components and development of isolation protocol for mushrooms' antioxidant substances.

During the investigations I examined eight different fungal species (four of which are cultivated) and 34 fungal strains, as well as their different parts. The studies focused on total phenol and flavonoid contents and antioxidant (free radical scavenging) activity. Antioxidant compounds of fungi were further investigated using various analytical methods (TLC – thin-layer chromatography, HPLC-MS – high performance liquid chromatography, NMR – nuclear magnetic resonance spectroscopy). Spectrophotometric results established that the most valuable parts of the fruiting body are the cap skin and the gills, constituting 15-20% of its fresh and 20-30% of its dry weight. The compounds found in fungi can be more easily isolated as some parts of fruiting bodies may contain them in higher concentrations, for example the ratios for the white *A. bisporus* phenolic content to the fruiting body and it's parts (**fruiting body – cap skin – cap meat – gills – stipe → 1:1,2:1:1,6:0,9**).

There was no difference in the phenol content between the fruiting bodies and the primordia (e.g. white *A. bisporus* – 1,90 and 1,91 mg GAE/g, brown *A. bisporus* – 2,38 and 2,35 mg GAE/g, *P. eryngii* – 1,01 and 1,00 mg GAE/g). It has been verified that the antioxidant content of the fruiting body is equivalent to the weighted average of its different parts. The antioxidant compositions were determined for all the examined mushrooms: the individual parts of fruiting bodies have different antioxidant composition - mostly quantitatively, but in some species also qualitatively, too. One common compound has been detected, which is found in five mushroom species, moreover, it is a determinative one in two species.

One of the antioxidant compounds of *Agrocybe cylindracea* was determined by instrumental analysis (HPLC, TOF-MS, NMR, CD) as diastereomer of *Brunnein-B* (**M=246 Da**), **C₁₃H₁₄N₂O₃**.

A qualification system was developed for antioxidant effects, based on the results of the cultivated mushroom strains and a database was set up with data of 34 macrofungal strains (based on examined parameters of the fruiting body and its parts). Data and results of the mentioned qualification system will also be useful for breeding work of mushrooms.

The best preservation methods (for antioxidants) were the drying between 60-90 °C. The amount of phenolic materials increased for increasing drying temperatures, except for *A. bisporus*. The flavonoid contents increased fourfold at higher temperatures (typically 90 °C) for all examined mushrooms. Cooling and freezing processes did not affect antioxidant activity (except *P. ostreatus*), while the different chemical preservations decreased drastically all examined parameters of the mushrooms (CHOI et al., 2006; BARROS et al., 2007b; JAFRI et al., 2013).

An interesting question for the future is the distribution of other bioactive compounds (e.g. antibacterial, antiviral, etc.) in the fruiting bodies. The present published results represent a research orientation and I hope it will be refined and expanded both in terms of species and of biochemical parameters.

MELLÉKLETEK

1. MELLÉKLET – IRODALOMJEGYZÉK

- ABUGRI, D. A.; MCELHENNEY, W. H.; WILLIAN, K. R. (2012) Comparison of transesterification methods for fatty acid analysis in higher fungi: application to mushrooms. *Food Anal. Method.* 5: 1159–1166. p.
- ADAMISKI, F. (2004) Mushrooms. In: GROSS, K. C.; WANG, C. Y. (Ed.) *The Commercial Storage of Fruits, Vegetables, and Florist and Nursery Stocks*. Agriculture Handbook 66. Beltsville, MD: USDA-AMS.
- ALETOR, V. A. (1995) Compositional studies on edible tropical species of mushrooms. *Food Chem.* 54: 265-268. p.
- ALVAREZ-PARRILLA E. DE LA ROSA L. A.; MARTÍNEZ, N. R.; GONZÁLEZ AGUILAR, G. A. (2007) Total phenols and antioxidant activity of commercial and wild mushrooms from Chihuahua, Mexico. *Cienc. Tecnol. Aliment.* 5 (5) 329-334. p.
- ARMSTRONG, R. N. (1997) Structure, Catalytic Mechanism, and Evolution of the Glutathione Transferases. *Chem. Res. Toxicol.* 10 (1) 2–18.
- ARVOUET-GRAND, A.; VENNAT, B.; POURRAT, A.; LEGRET, P. (1994) . Standardization of a propolis extract and identification of the main constituents. *J. Pharm. de Belgique.* 49: 462-468. p.
- ASATIANI, M. D.; ELISASHVILI, V.; SONGULASHVILI, G.; REZNICK, A. Z.; WASSER, S.P. (2010) Higher *Basidiomycetes* Mushrooms as a source of antioxidants. In: RAI, M.; KÖVICS, G. (Ed.) *Progress in Mycology*. Springer, Dordrecht. 311-326. p.
- ASHOORI, M.; SAEDISOMEOLIA, A. (2014). Riboflavin (vitamin B₂) and oxidative stress: A review. *Brit. J. Nutr.* 111 (11) 1985-1991. p.
- AULINGER K. BESL H. SPITELLER P. SPITELLER M. STEGLICH W. (2001): Melanocrocine, a polyene pigment from *Melanogaster broomeianus* (*Basidiomycetes*). *Z. Naturforsch.* 56C: 495–498. p.
- BANO, Z.; BHAGYA, S.; SRINIVASAN, K. S. (1981). Essential amino acid composition and proximate analysis of mushroom, *Pleurotus florida*. *Mush. News Lett. Trop.* 1 (3) 6-10. p.
- BAO, H. N. D.; USHIO, H.; OHSHIMA, T. (2008) Antioxidative activity and antidiscoloration efficacy of ergothioneine in mushroom (*Flammulina velutipes*) extract added to beef and fish meats. *J. Agric. Food Chem.* 56: 10032–10040. p.
- BARROS, L.; BAPTISTA, P.; CORREIA, D. M.; CASAL, S.; OLIVEIRA, B.; FERREIRA, I. C. F. R. (2007a) Fatty Acid and Sugar Compositions, and Nutritional Value of Five Wild Edible Mushrooms from Northeast Portugal. *Food Chem.* 105: 140–145. p.
- BARROS, L.; BAPTISTA, P.; CORREIA, D. M.; MORAIS, J. S.; FERREIRA, I. C. F. R. (2007b) Effects of conservation treatment and cooking on the chemical composition and antioxidant activity of Portuguese wild edible mushrooms. *J. Agr. Food Chem.* 55: 4781–4788. p.
- BARROS, L.; BAPTISTA, P.; ESTEVINHO, L.M.; FERREIRA, I. C. F. R. (2007c) Effect of Fruiting Body Maturity Stage on Chemical Composition and Antimicrobial Activity of *Lactarius sp.* Mushrooms. *J. Agric. Food Chem.* 55: 8766–8771. p.
- BARROS, L.; CALHELHA, R. C.; VAZ, J. A.; FERREIRA, I. C. F. R.; BAPTISTA, P.; ESTEVINHO, L. M. (2007d) Antimicrobial activity and bioactive compounds of Portuguese wild edible mushrooms methanolic extracts. *Euro. Food Res. Technol.* 225: 151–6. p.

- BARROS, L.; FERREIRA, M.J.; QUEIROS, B.; FERREIRA, I. C. F. R.; BAPTISTA, P. (2007e) Total phenols, beta-carotene and lycopene in Portuguese wild edible mushrooms and their antioxidant activities. *Food Chem.* 103: 413-419. p.
- BARROS, L.; CORREIA, D.M.; FERREIRA, I. C. F. R.; BAPTISTA, P.; BUELGA, C. S. (2008a) Optimization of the determination of tocopherols in *Agaricus sp.* edible mushrooms by a normal phase liquid chromatographic method *Food Chem.* 110: 1046-1050. p.
- BARROS, L.; CRUZ, T.; BAPTISTA, P.; ESTEVINHO, L. M.; FERREIRA, I. C. F. R. (2008b) Wild and commercial mushrooms as source of nutrients and nutraceuticals. *Food Chem. Toxicol.* 46: 2742-2747. p.
- BARROS, L.; FALCAO, S.; BAPTISTA, P.; FREIRE, C.; VILAS-BOAS, M.; FERREIRA, I. C. F. R. (2008c) Antioxidant activity of *Agaricus spp.* mushrooms by chemical, biochemical and electrochemical assays. *Food Chem.* 111: 61–66. p.
- BARROS, L.; VENTURINI, B. A.; BAPTISTA, P.; ESTEVINHO, L. M.; FERREIRA, I. C. F. R. (2008d). Chemical composition and biological properties of Portuguese wild mushrooms: A comprehensive study. *J. Agric. Food Chem.* 56 (10) 3856-62. p.
- BARTNICKI-GARCIA, S. (1968) Cell Wall Chemistry, Morphogenesis, and Taxonomy of Fungi. *Annu. Rev. Microbiol.* 22: 87-108. p.
- BEECHER, T. M.; MAGAN, N.; BURTON, K. S. (2001) Water potentials and soluble carbohydrate concentrations in tissues of freshly harvested and stored mushrooms (*Agaricus bisporus*). *Postharvest Biol. Tec.* 22: 121–131. p.
- BENZIE, I. F. F. (2000) Evolution of antioxidant defence mechanisms. *Eur. J. Nutr.* 39: 53–61. p.
- BHATIA, P.; AURELI, F.; D'AMATO, M.; PRAKASH, R.; CAMEOTRA, S. S.; NAGARAJA, T. P.; CUBADDA, F. (2013) Selenium bioaccessibility and speciation in biofortified *Pleurotus* mushrooms grown on selenium-rich agricultural residues. *Food Chem.* 140: 225–230. p.
- BIRNINGER, M.; PILAWA, S.; FLOHÉ, L. (2002). Trends in selenium biochemistry. *Nat. Prod. Rep.* 19 (6) 693–718. p.
- BISARIA, R.; MADAN, M.; BISARIA, V. S.; MUKHOPADHYAY, S. N. (1987) Amino Acid Composition of the Mushroom, *Pleurotus sajor-caju*, Cultivated on Different Agroresidues. *Biol. Waste.* 20: 251-259. p.
- BLACKWELL, M.; HIBBETT, D. S.; TAYLOR, J. W.; SPATAFORA, J. W. (2006) Research coordination networks: A phylogeny for kingdom *Fungi* (Deep Hypha). *Mycologia.* 98: 829 – 837. p.
- BLOIS, M. S. (1958) Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature.* 181: 1199-1200. p.
- BOYD, C. S.; CADENAS, E. (2002) Nitric oxide and cell signaling pathways in mitochondrial-dependent apoptosis. *Biol. Chem.* 383: 411-423. p.
- BRAVO, L. (1998) Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. *Nutr. Rev.* 56 (11) 317–33. p.
- BREENE, W. M. (1990) Nutritional and medicinal value of specially mushrooms. *J. Food Prot.* 53, 883-894. p.
- BRITTON, G. (1995) Structure and properties of carotenoids in relation to function. *Faseb J.* 9: 1551–1558. p.
- BURDO, R. H. (1996) Control of cell proliferation by reactive oxygen species *Biochem. Soc. Trans.* 24: 1028-1032. p.
- CAGLARIRMAK, N. (2007) The nutrients of exotic mushroom (*Lentinula edodes* and *Pleurotus species*) and an estimated approach to the volatile compounds. *Food Chem.* 105: 1188–1194. p.
- CAI, H.; LIU, X.; CHEN, Z.; LIAO, S.; ZOU, Y. (2013) Isolation, purification and identification of nine chemical compounds from *Flammulina velutipes* fruiting bodies. *Food Chem.* 141 (3) 2873-2879. p.

- CANO-EUROPA, E.; BLAS-VALDIVIA, V.; FRANCO-COLIN, M.; ORTIZ-BUTRON, R. (2015) Regulation of the Redox Environment. 3-15. p. In: Gowder, S. J. T. (Ed.) *Basic Principles and Clinical Significance of Oxidative Stress*. InTech, Rijeka.
- CAROCHO, M.; FERREIRA, I. C. F. R. (2013). The Role of Phenolic Compounds in the Fight against Cancer – A Review. *Anti-Cancer Agent. Me.* 13: 1236- 1258. p.
- CHANG, R. (1996) Functional properties of edible mushrooms. *Nutr. Rev.* 54 (11) 91-93. p.
- CHANG, S.-T. (2006) The World Mushroom Industry: Trends and Technological Development. *Int. J. Med. Mush.* 8 (4) 297-314. p.
- CHANG, S.-T.; MILES, P. G. (2008) Mushrooms: Cultivation, Nutritional Value, Medicinal Effect, and Environmental Impact, *CRC Press, Boca Raton, Fla, USA.* 39-46. p.; 203-218. p.
- CHANG, S.; WASSER, S. P. (2012). The role of culinary-medicinal mushrooms on human welfare with a pyramid model for human health. *Int. J. Med. Mush.* 14: 95-134. p.
- CHEN, Y.; McMILLAN-WARD, E.; KONG, J.; ISRAELS, S. J.; GIBSON, S.B. (2007) Mitochondrial electron-transport-chain inhibitors of complexes I and II induce autophagic cell death mediated by reactive oxygen species. *J. Cell Sci.* 120: 4155-4166. p.
- CHEN, J.; MAO, D.; YONG, Y.; LI, J.; WEI, H.; LU, L. (2011) Hepatoprotective and hypolipidemic effects of water-soluble polysaccharidic extract of *Pleurotus eryngii*. *Food Chem.* 130: 687–694. p.
- CHEN, S.-Y.; HO, K.-J.; HSIEH, Y.-J.; WANG, L.-T.; MAU, J.-L. (2012) Contents of lovastatin, γ -aminobutyric acid and ergothioneine in mushroom fruiting bodies and mycelia. *Food Sci. Biotechnol.* 47: 274-278. p.
- CHEUNG, L. M.; CHEUNG, P. C. K.; OOI, V. E. C. (2003) Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. *Food Chem.* 81: 249–255. p.
- CHEUNG, P. C. K. (2010) The nutritional and health benefits of mushrooms. *Nutr. Bull.* 35: 292–299. p.
- CHEUNG, P. C. K. (2013) Mini-review on edible mushrooms as source of dietary fiber: Preparation and health benefits. *Food Sci. Hum. Well.* 2: 162–166. p.
- CHEW, B.P. (1995) Antioxidant vitamins affect food animal immunity and health. *J. Nutr.* 125: 1804-1808. p.
- CHOI, Y.; LEE, S. M.; CHUN, J.; LEE, H. B.; LEE, J. (2006) Influence of heat treatment on the antioxidant activities and polyphenolic compounds of Shiitake (*Lentinus edodes*) mushroom. *Food Chem.* 99: 381–387. p.
- CLEMENS, S.; SIMM, C. (2003) *Schizosaccharomyces pombe* as a model for metal homeostasis in plant cells: the phytochelatin-dependent pathway is the main cadmium detoxification mechanism. *New Phytol.* 159: 323-330. p.
- COCCHI, L.; VESCOVI, L.; PETRINI, L. E.; PETRINI, O. (2006) Heavy metal sin edible mushrooms in Italy. *Food Chem.* 98: 277–284. p.
- COLI, R.; COLI, A. M.; GRANETTI, B.; DAMIANI, P. (1988) Chemical composition and nutritive value of black truffles (*Tuber melanosporum*) and of white truffles (*Tuber magnatum*) picked in Umbria. *Proceedings, 2nd International Congress on Truffles; University of Spoleto: Spoleto, Italy.* 511-516. p.
- COOKE, R. C. (1977). Fungi, Man, and his Environment. *Largman, London, New York.* 144. p.
- CORNELLI, U. (2009) Antioxidant use in nutraceuticals. *Clin. Dermatol.* 27 (2) 175-194. p.
- COSKUNER, Y.; ÖZDEMİR, Y. (1997) Effects of canning processes on the elements content of cultivated mushrooms (*Agaricus bisporus*). *Food Chem.* 60 (4) 559-562. p.

- COSTA-SILVA, F.; MARQUES, G.; MATOS, C. C.; BARROS, I. R. N. A.; NUNES, F. M. (2011) Selenium contents of Portuguese commercial and wild edible mushrooms. *Food Chem.* 126: 91–96. p.
- CRISAN, E. W.; SANDS, A. (1978). A Nutritional value. 172-189. p. In: CHANG, S.T. HAYES, W. A. (Eds.). *The biology and cultivation of edible mushrooms.* Academic press, New York.
- CZECZUGA, B. (1978a) Investigations on carotenoids in fungi IV. Members of the *Boletus* genus. *Qual. Plant.* 28 (1) 37-43. p.
- CZECZUGA, B. (1978b) Investigations on carotenoids in fungi. V. Representatives of the *Leccinum* genus. *Qual. Plant.* 28 (3) 197-201. p.
- CZECZUGA, B. (1980) Investigations on carotenoids in fungi. IX. *Dacrymycetaceae.* *Acta Mycol.* 16 (1) 115-120. p.
- DE SILVA, D. D.; RAPIOR, S.; SUDARMAN, E.; STADLER, M.; XU, J.; ALIAS, S. A.; HYDE, K. D. (2013) Bioactive metabolites from macrofungi: Ethnopharmacology, biological activities and chemistry. *Fungal Divers.* 62: 1–40. p.
- DECKER, A. E. (1997) Phenolics: Prooxidants or Antioxidants? *Nutr. Rev.* 55 (11) 396-398. p.
- DEMIRBAS, A. (2001) Heavy metal bioaccumulation by mushrooms from artificially fortified soils. *Food Chem.* 74: 293–301. p.
- DERNOVICS, M.; STEFANKA, ZS.; FODOR, P. (2002) Improving selenium extraction by sequential enzymatic processes for Se-speciation of selenium-enriched *Agaricus bisporus*. *Anal. Bioanal. Chem.* 372 (3) 473-480. p.
- DIEZ, V. A.; ALVAREZ, A. (2001). Compositional and nutritional studies on two wild edible mushrooms from northwest Spain. *Food Chem.* 75: 417–422. p.
- DIKEMAN, C. L.; BAUER, L. L.; FLICKINGER, E. A.; FAHEY, G. C. (2005) Effects of stage of maturity and cooking on the chemical composition of select mushroom varieties. *J. Agric. Food Chem.* 53: 1130-1138. p.
- DRBAL, K.; KALAC, P.; SEFLOVA, A.; SEFL, J. (1975) Iron and manganese content in some edible macrofungi. *Czech Mycol.* 29: 110–114. p.
- DRÖGE, W. (2002) Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. *Physio. Rev.* 82 (1) 47-95. p.
- DUBOST, N. J.; BEELMAN, R. B.; PETERSON, D.; ROYSE, J. D. (2006) Identification and Quantification of Ergothioneine in Cultivated Mushrooms by LC-MS. *Int. J. Med. Mush.* 8 (3) 215-222. p.
- DUBOST, N.; OU, B.; BEELMAN, R. (2007). Quantification of polyphenols and ergothioneine in cultivated mushroom and correlation to total antioxidant capacity. *Food Chem.* 105: 727-735. p.
- DUMONT, E. VANHAECKE, F.; CORNELIS, R. (2006) Selenium speciation from food source to metabolites: a critical review. *Anal. Bioanal. Chem.* 385: 1304–1323. p.
- EL ENSHASY, H. A.; HATTI-KAUL, R. (2013) Mushroom immunomodulators: unique molecules with unlimited applications. *Trends in Biotechnology*, 31 (12) 668-677. p.
- ELMASTAS, M.; ISILDAK, O.; TURKEKUL, I.; TEMUR, N. (2007) Determination of antioxidant activity and antioxidant compounds in wild edible mushrooms. *J. Food Comp. Anal.* 20: 337-345. p.
- ERJAVEC, J.; KOS, J.; RAVNIKAR, M.; DREO, T.; SABOTIC, J. (2012) Proteins of higher fungi – from forest to application. *Trends Biotechnol.* 30 (5) 259-273. p.
- FALANDYSZ, J.; KUNITO, T.; KUBOTA, R.; BIELAWSKI, L.; MAZUR, A. (2007) Selected elements in brown birch scaber stalk *Leccinum scabrum*. *J. Environ. Sci. Health A.* 42: 2081-2088. p.

- FALANDYSZ, J. (2013) Review: On published data and methods for selenium in mushrooms. *Food Chem.* 138: 242–250. p.
- FALANDYSZ, J.; BOROVICKA, B. (2013) Macro and trace mineral constituents and radionuclides in mushrooms: Health benefits and risks. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 97: 477–501. p.
- FERNANDES, A.; BARROS, L.; BARREIRA, J. C. M.; ANTONIO, A. L.; OLIVEIRA, M. B. P. P.; MARTINS, A.; FERREIRA, I. C. F. R. (2013) Effects of different processing technologies on chemical and antioxidant parameters of *Macrolepiota procera* wild mushroom. *LWT – Food Sci. Tech.* 54 (2) 493–499. p.
- FERREIRA, I. C. F. R.; BAPTISTA, P.; VILAS-BOAS, M.; BARROS, L. (2007) Free-radical scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms from northeast Portugal: individual cap and stipe activity. *Food Chem.* 100: 1511–1516. p.
- FERREIRA, I. C. F. R.; BARROS, L.; ABREU, R. M. V. (2009) Antioxidants in wild mushrooms. *Curr. Med. Chem.* 16, 1543–1560.
- FIEDOR, J.; BURDA, K. (2014) Potential Role of Carotenoids as Antioxidants in Human Health and Disease. *Nutrients.* 6 (2) 466–488. p.
- FOYER, C. H.; NOCTOR, G. (2005) Redox homeostasis and antioxidant signaling: a metabolic interface between stress perception and physiological responses. *Plant Cell.* 17: 1866–1875. p.
- FRAATZ, M. A.; ZORN, H. (2010) Fungal Flavours. 249–268. p. In: HOFRICHTER M. (Ed.) *Industrial Applications, The Mycota. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.*
- FRIEDMAN, M. (1996). Nutritional value of proteins from different food sources - A review. *J. Agric. Food Chem.* 44: 6–29. p.
- FRIEDMAN, M. (2015) Chemistry, nutrition, and health-promoting properties of *Hericium erinaceus* (Lion's mane) mushroom fruiting bodies and mycelia and their bioactive compounds. *J. Agric. Food Chem.* 63: 7108–7123. p.
- FRIESE, W. (1929) Mineral composition of macrofungi. *Z. Unters. Lebensm.* 57: 604–613. p.
- FRUITVEB (2017) A zöldség és gyümölcs ágazat helyzete Magyarországon. *Magyar Zöldség-Gyümölcs Szakmaközi Szervezet kiadványa, Budapest.* 16–17. p.
- FURLANI, R. P. Z.; GODOY, H. T. (2008) Vitamins B₁ and B₂ contents in cultivated mushrooms. *Food Chem.* 106: 816–819. p.
- GADD, G. M. (1993) Interactions of fungi with toxic metals. *New Phytol.* 124: 25–60. p.
- GADD, G. M.; SAYER, G. M. (2000) Fungal Transformations of Metals and Metalloids. 237–256. p. In: LOVLEY D. R. (ed) *Environmental Microbe-Metal Interactions. American Society of Microbiology, Washington.*
- GARCIA, M. A.; ALONSO, J.; MELGAR, M. J. (2013) Bioconcentration of chromium in edible mushrooms: Influence of environmental and genetic factors. *Food Chem. Toxicol.* 58: 249–254. p.
- GENGHOF, D. S. (1970) Biosynthesis of ergothioneine and hercynine by fungi and *Actinomycetales*. *J Bacteriol.* 103: 475–478. p.
- GEŐSEL, A.; STEFANOVITSNÉ BÁNYAI, É.; GYÖRFI, J. (2009) *Agaricus subrufescens* (Peck) törzsek antioxidáns kapacitásának és összes polifenoltartalmának összehasonlítása. *Kertgazdaság* 41 (4) 12–16. p.
- GEŐSEL, A. (2018) Mennyi az annyi? – gombatermesztésről számokban. *Agrofórum - a növénytermesztők és növényvédők havilapja* 29 (1): 26–28. p.
- GEPC - EUROPEAN MUSHROOM GROWERS GROUP (2016) <http://www.infochampi.eu/> - Keresőprogram: Google Search. Kulcsszavak: *european mushroom growers* Lekérdezés időpontja: 2018.05.27.

- GIL-RAMÍREZ, A.; PAVO-CABALLERO, C.; BAEZA, E.; BAENAS, N.; GARCIA-VIGUERA, C.; MARÍN, F. R.; SOLER-RIVAS, C. (2016) Mushrooms do not contain flavonoids. *J. Funct. Food.* 25: 1-13. p.
- GRANGEIA, C.; HELENO, S.A.; BARROS, L.; MARTINS, A.; FERREIRA, I.C.F.R. (2011) Effects of trophism on nutritional and nutraceutical potential of wild edible mushrooms. *Food Res. Int.* 44, 1029–1035. p.
- GREGORI, A.; SVAGELJ, M.; POHLEVEN, J. (2007). Cultivation techniques and medicinal properties of *Pleurotus spp.* *Food Technol. Biotechnol.* 45: 238-249. p.
- GRIFFIN, D. H. (1994) Secondary (special) metabolites. 256-259. p. In: *Fungal physiology.* Wiley & Sons, Inc. New York.
- GRUEN, E. H.; WANG, M. W. (1982) Distribution of cellular amino acids, protein and total organic nitrogen during fruit body development in *Flammulina velutipes*. *Can. J. Biol.* 60 (8): 1330-1341. p.
- GRÜNDEMANN, D. (2012) The ergothioneine transporter controls and indicates ergothioneine activity - A review. *Prev. Med.* 54: S71-S74. p.
- GU, L.; ZHENG, S.; WU, T.; CHOU, G.; WANG, Z. (2014) High-performance thin-layer chromatographic-bioautographic method for the simultaneous determination of magnolol and honokiol in *Magnoliae officinalis* cortex. *J Planar Chromatogr.—Mod. TLC.* 27: 5–10. p.
- GUNDE-CIMERMAN, N.; RAMOS, J.; PLEMENITAS, A. (2009) Halotolerant and halophilic fungi. *Mycol. Res.* 113 (11) 1231–1241. p.
- GURSOY, N.; SARIKURKCU, C.; CENGİZ, M.; SOLAK, M. H. (2009) Antioxidant activities, metal contents, total phenolics and flavonoids of seven *Morchella* species *Food Chem. Tox.* 47 (9) 2381-2388. p.
- GYÓRFI, J.; GEÖSEL, A.; KISS, M.; NEMES, K.; CSÓKA, M.; KORÁNY, K. (2013) Gas chromatography–mass spectrometry confirmation of the sensory scent features of the most commonly consumed *Agaricus bisporus* and *Agaricus subrufescens* exhibiting anticancerous traits. *J. Med. Food.* 16 (2) 167–175. p.
- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. (1984) Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem. J.* 219 (1) 1–14. p.
- HALLIWELL, B.; CHIRICO, S. (1993) Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *Am. J. Clin. Nutr.* 57 (5) 715S-724S. p.
- HALLIWELL, B.; AESCHBACH, R.; LOLIGER, J.; ARUOMA, O. I. (1995) The characterization of antioxidants. *Food Chem. Toxicol.* 33: 601-617. p.
- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. (1995) The definition and measurement of antioxidants in biological systems. *Free Radic. Biol. Med.* 18:125–126. p.
- HAMMOND, J. B. W. (1980) The composition of fresh and stored oyster mushrooms (*Pleurotus ostreatus*). *Phytochem.* 19: 2565-2568. p.
- HAN, X.; SHEN, T.; LOU, H. (2007) Dietary Polyphenols and Their Biological Significance. *Int. J. Mol. Sci.* 8 (9) 950-988. p.
- HARBORNE, J. B. (1980) Plant phenolics. 329–395. p. In: BELL, E. A.; CHARLWOOD, B. V. (eds.) *Encyclopedia of Plant Physiology.* Berlin Heidelberg. New York: Springer-Verlag.
- HATVANI, N. (2007) Antibacterial effect of the culture fluid of *Lentinus edodes* mycelium grown in submerged liquid culture. *Int. J. Antimicrob. Ag.* 17 (1) 71-74. p.
- HAWKSWORTH, D. L. (2001). Mushrooms: the extent of the unexplored potential. *Int. J. Med. Mush.* 3: 333-337. p.

- HEGDE, V. L.; DAS, J. R.; VENKATESH, Y. P. (2002) Anaphylaxis caused by the ingestion of cultivated mushroom (*Agaricus bisporus*): Identification of allergen as mannitol. *Allergol. Int.* 51: 121–9. p.
- HELENO, S. A.; BARROS, L.; SOUSA, M. J.; MARTINS, A.; FERREIRA, I. C. F. R. (2010) Tocopherols composition of Portuguese wild mushrooms with antioxidant capacity. *Food Chem.* 119: 1443-1450. p.
- HELENO, S. A.; FERREIRA, R. C.; ANTONIO, A. L.; QUEIROZ, M.-J. R. P.; BARROS, L.; FERREIRA, I. C. F. R. (2015) Nutritional value, bioactive compounds and antioxidant properties of three edible mushrooms from Poland. *Food Biosci.* 10: 26-41. p.
- HELENO, S. A.; DIAZ, P.; PRIETO, M. A.; BARROS, L.; RODRIGUES, A.; BARREIRO, M. F. (2016) Optimization of ultrasound-assisted extraction to obtain mycosterols from *Agaricus bisporus* L. by response surface methodology and comparison with conventional Soxhlet extraction. *Food Chem.* 197: 1054–1063. p.
- HOBBS, C. L. (2000) Medicinal value of *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. (*Agaricomycetidae*): A literature review. *Int. J. Med. Mush.* 2: 287-302. p.
- HÖLKER, U.; BEND, J.; PRACT, R.; TETSCH, L.; MÜLLER, T.; HOFER, M.; DE HOOG, G.S. (2004) *Hortaea acidophila*, a new acid-tolerant black yeast from lignite. *Van Leeuw. J. Microb.* 86: 287–294. p.
- HUANG, S.-J.; TSAI, S.-Y.; MAU, J.-L. (2006) Antioxidant properties of methanolic extracts from *Agrocybe cylindracea*. *LWT Food Sci. Technol.* 39: 378–386. p.
- HUIE, R. E.; PADMAJA, S. (1993) The reaction of NO and superoxide. *Free Radic. Res. Commun.* 18: 195-199. p.
- HUNG, P. V.; NHI, N. N. Y. (2012) Nutritional composition and antioxidant capacity of several edible mushrooms grown in the Southern Vietnam. *Int. Food Res. J.* 19 (2) 611–615. p.
- IANNITTI, T.; PALMIER, B. (2009) Antioxidant therapy effectiveness: an up to date. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 13: 245–278. p.
- INA, K.; KATAOKA, T.; ANDO, T. (2013) The use of lentinan for treating gastric cancer. *Anti-Cancer Ag. Med. Chem.* 13: 681–688. p.
- INDEX FUNGORUM. – <http://www.indexfungorum.org>.
- ISLAM, T.; YU, X. M.; XU, B. J. (2016) Phenolic profiles, antioxidant capacities and metal chelating ability of edible mushrooms commonly consumed in China. *LWT Food Sci. Technol.* 72: 423–431. p.
- IUPAC. COMPENDIUM OF CHEMICAL TERMINOLOGY (2nd ed.) McNaught, A. D.; Wilkinson A. (Ed.) (1997) Blackwell Scientific Publications, Oxford. ISBN 0-9678550-9-8.
- JAFRI, M.; JHA, A.; BUNKAR, D. S.; RAM, R. C. (2013) Quality retention of oyster mushrooms (*Pleurotus florida*) by a combination of chemical treatments and modified atmosphere packaging. *Postharvest Biol. Tech.* 76: 112-118. p.
- JAWORSKA, G.; BERNAS, E.; CICHON, Z.; POSSINGER, P. (2008) Establishing the optimal period of storage for frozen *Agaricus bisporus*, depending on the preliminary processing applied. *Int. J. Refrig.* 31 (6) 1042-1050. p.
- JAWORSKA, G.; BERNAS, E.; MICKOWSKA, B. (2011) Effect of production process on the amino acid content of frozen and canned *Pleurotus ostreatus* mushrooms. *Food Chem.* 125: 936–943. p.
- JAYAKUMAR, T.; THOMAS, P. A.; GERALDINE, P. (2009) In-vitro antioxidant activities of an ethanolic extract of the oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus*. *Innov. Food Sci. Emerg.* 10: 228-234. p.
- 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 Res. Int.* 44: 851–861. p.

- JEON, Y. E.; LEE, Y. S.; LIM, S. S.; KIM, S. J.; JUNG, S. H.; BAE, Y. S.; YI, J. S.; KANG, I. J. (2009) Evaluation of the antioxidant activity of the fruiting body of *Phellinus linteus* using the on-line HPLC-DPPH method. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* 52: 472–479. p.
- JOHNSON, W. C. (1988) Secondary structure of proteins through circular dichroism spectroscopy. *Ann. Rev. Biophys. Biophys. Chem.* 17: 145-156. p.
- JORK, H.; FUNK, W.; FISCHER, W.; WIMMER, H. (1990) *Thin-layer Chromatography: Reagents and Detection Methods*. Vol. 1a, VCH, New York, 147-150, 179-188, 288-293, 376-379, 401-403. p.
- KALAC, P. (2009) Chemical composition and nutritional value of European species of wild growing mushrooms: a review. *Food Chem* 113: 9-16. p.
- KALAC, P. (2013) A review of chemical composition and nutritional value of wild-growing and cultivated mushrooms. *J. Sci. Food Agric.* 93: 209-218. p.
- KALYONCU, F.; OSKAY, M.; KAYALAR, H. (2010) Antioxidant activity of the mycelium of 21 wild mushroom species. *Mycology*. 1 (3) 195–199. p.
- KAMAL-ELDIN, A.; APPELQVIST, L. (1996). The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. *Lipids*. 31: 671–70. p.
- KARAMAN, M. A.; MIMICA-DUKIC, N. M.; MATAVULY, N. M. (2009) Lignicolous fungi from northern Serbia as natural sources of antioxidants. *Cent. Eur. J. Biol.* 4 (3) 387-396. p.
- KELLER, N. P.; TURNER, G.; BENNETT, J. W. (2005). Fungal secondary metabolism—from biochemistry to genomics. *Nat. Rev. Microbio.* 3 (12) 937–947. p.
- KENDRICK, B. (1971) *Taxonomy of Fungi Imperfecti*. Toronto, Univ. Press.; London, Oxford Univ. Press. 309 p.
- KHAN, Z. U.; AISIKAER, G.; KHAN, R. U.; BU, J.; JIANG, Z.; NI, Z.; YING, T. (2014) Effects of composite chemical pretreatment on maintaining quality in button mushrooms (*Agaricus bisporus*) during postharvest storage. *Postharvest Biol. Tech.* 95: 36-41. p.
- KIM, Y. W.; KIM, K. H.; CHOI, H. J.; LEE, D. S. (2005) Anti-diabetic activity of β -glucans and their enzymatically hydrolyzed oligosaccharides from *Agaricus blazei*. *Biotech. Lett.* 27: 483-487. p.
- KIM, M. Y.; SEGUIN, P.; AHN, J. K.; KIM, J. J.; CHUN, S. C.; KIM, E. H.; SEO, S. H.; KANG, E. Y.; KIM, S. L.; PARK, Y. J.; RO, H. M.; CHUNG, I. M. (2008) Phenolic compound concentration and antioxidant activities of edible and medicinal mushrooms from Korea. *J. Agric. Food Chem.* 56: 7265-7270. p.
- KJELDAHL, J. (1883) Neue Methode zur Bestimmung des Stickstoffs in organischen Körpern (New method for the determination of nitrogen in organic substances). *Z. Anal. Chem. Freseniu.* 22 (1) 366-383. p.
- KOJTA, A. K.; JARZYNSKA, G.; FALANDYSZ, J. (2012) Mineral composition and heavy metal accumulation capacity of Bay Bolete (*Xerocomus badius*) fruiting bodies collected near a former gold and copper mining area. *J. Geochem. Explor.* 121: 76–82. p.
- KOLEVA, I. I.; NIEDERLANDER, H. A. G.; VAN BEEK, T. A. (2000) An online HPLC method for detection of radical scavenging compounds in complex mixtures. *Anal. Chem.* 72: 2323-2328. p.
- KOZARSKI, M.; KLAUS, A.; NIKSIC, M.; JAKOVLJEVIC, D.; HELSPER, J.P.F.G.; VAN GRIENSVEN, L.J.L.D. (2011) Antioxidative and immunomodulating activities of polysaccharide extracts of the medicinal mushrooms *Agaricus bisporus*, *Agaricus brasiliensis*, *Ganoderma lucidum* and *Phellinus linteus*. *Food Chem.* 129: 1667–1675. p.

- KUHNT, D.; ANKE, T.; BESL, H.; BROSS, M.; HERRMANN, R.; MOCEK, U.; STEFFAN, B.; STEGLICH, W. (1990): Antibiotics from *Basidiomycetes*. XXXVII. New inhibitors of cholesterol biosynthesis from cultures of *Xerula melanotricha* (DÖRFELT). *J. Antibiot.* 43: 1413–1420. p.
- KURKELA, R.; KOIVURINTA, J.; KUUSINEN, R. (1980) Non-protein nitrogen compounds in the higher fungi--a review. *Food Chem.* 5: 109-130. p.
- LEE, Y.-L.; JIAN, S.-Y.; MAU, J.-L. (2009). Composition and non-volatile taste components of *Hypsizigus marmoreus*. *Lebensm-Wiss. Tech.* 42: 594–598. p.
- LELLEY, J. (1999) *A gombák gyógyító ereje: Mikoterápia az egészség szolgálatában*. Budapest, Mezőgazda Kiadó. 156. p.
- LEÓN-GUZMANN, M. F.; SILVA, I.; LÓPEZ, M. G. (1997) Proximate chemical, composition, free amino acid contents, and free fatty acid contents of some wild edible mushrooms from Querétaro, México. *J. Agric. Food Chem.* 45: 4329-4332. p.
- LI, H.; PARK, S.; MOON, B.; YOO, Y.-B.; LEE, Y.-W.; LEE, C. (2012) Targeted phenolic analysis in *Hericium erinaceum* and its antioxidant activities. *Food Sci. Biotechnol.* 21 (3) 881-888. p.
- LI, Q.; ZHANG, H. H.; CLAVER, I. P.; ZHU, K. X.; PENG, W.; ZHOU, H. M. (2011) Effect of different cooking methods on the flavour constituents of mushroom (*Agaricus bisporus* (Lange) Sing) soup. *Int. J. Food Sci. Tech.* 46: 1100-1108. p.
- LIN, S. Y.; CHIEN, S. C.; WANG, S. Y.; MAU, J. L. (2015) Submerged cultivation of mycelium with high ergothioneine content from the culinary-medicinal golden oyster mushroom, *Pleurotus citrinopileatus* (higher *Basidiomycetes*). *Int. J. Med. Mush.* 17: 749–61. p.
- LINDEQUIST, U.; NIEDERMEYER, T. H. J.; JULICH, W.-D. (2005) The pharmacological potential of mushrooms. *eCAM.* 2: 285-299. p.
- LIU, D.; SHI, J.; IBARRA, A. C.; KAKUDA, Y.; XUE, S. J. (2008) The scavenging capacity and synergistic effects of lycopene, vitamin E, vitamin C, and b-carotene mixtures on the DPPH free radical. *LWT Food Sci. Technol.* 41: 1344 – 1349. p.
- LONGVAH, T.; DEOSTHALE, Y. G. (1998) Compositional and nutritional studies on edible wild mushroom from Northeast India. *Food Chem.* 63 (3) 331-334. p.
- MAGA, J. A. (1981) Mushroom flavor. *J. Agric. Food Chem.* 29 (1) 1–4. p.
- MAGYAR-GYÓGYSZERKÖNYV (PH. HG) (2007) Vékonyréteg-kromatográfia 43-45. p. In: *VIII. Magyar Gyógyszerkönyv*. 8. kiadás, Medicina Kiadó, Budapest.
- MAJORS, E. R. (1980) Recent Advances in HPLC Packings and Columns. *J. Chroma. Sci.* 18 (10) 488–511. p.
- MANZI, P.; GAMBELLI, L.; MARCONI, S.; VIVANTI, V.; PIZZOFRERATO, L. (1999) Nutrients in edible mushrooms: an inter-species comparative study. *Food Chem.* 65: 477-482. p.
- MANZI, P.; PIZZOFRERATO, L. (2000): Beta-glucans in edible mushrooms. *Food Chem.* 68 315-318. p.
- MANZI, P.; AGUZZI, A.; PIZZOFRERATO, L. (2001) Nutritional value of mushrooms widely consumed in Italy. *Food Chem.* 73: 321-325. p.
- MANZI, P.; MARCONI, S.; AGUZZI, A.; PIZZOFRERATO, L. (2004) Commercial mushrooms: nutritional quality and effect of cooking. *Food Chem.* 84 (2) 201-206. p.
- MATÉS, J. M. (2000) Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology.* 153 (1-3) 83-104.

- MATTILA, P. K.; PIIRONEN, V. I.; UUSI, R.; KOIVISTOINEN, P. E. (1994). Vitamin D contents in edible mushrooms. *J. Agr. Food Chem.* 42: 2449-2453. p.
- MATTILA, P.; RONKAINEN, R.; LEHIKONEN, K.; PIIRONEN, V. (1999) Effect of household cooking on the vitamin D content in fish, eggs and wild mushrooms. *J. Food Compos. Anal.* 12 (3) 153-160. p.
- MATTILA, P.; KONKO, K.; EUROLA, M.; PIHLAWA, J. M.; ASTOLA, J.; LIETANIEMI, V.; KUMPULAINEN, J.; VALTONEN, M.; PIIRONEN, V. (2001) Contents of vitamins, mineral elements, and some phenolic compounds in cultivated mushrooms. *J. Agric. Food Chem.* 49: 2343-2348. p.
- MAU, J.-L.; CHYAU, C.-C.; LI, J.-Y.; TSENG, Y.-H. (1997) Flavor compounds in straw mushrooms *Volvariella volvacea* harvested at different stages of maturity. *J. Agric. Food Chem.* 45: 4726–4729. p.
- MAZZUTTI, S.; FERREIRA, S. R. S.; RIEHL, C. A. S.; SMANIA JR. A.; SMANIA, F. A.; MARTÍNEZ, J. (2012) Supercritical fluid extraction of *Agaricus brasiliensis*: antioxidant and antimicrobial activities. *J. Supercrit. Fluids*, 70: 48-56. p.
- MEHARG, A. A. (2003) The mechanistic basis of interactions between mycorrhizal associations and toxic metal cations. *Mycol. Res.* 107: 1253–1265. p.
- MIZUNO, T. (1995) Bioactive biomolecules of mushrooms: food functions and medicinal effects of mushroom fungi. *Food Rev. Int.* 11: 7–21. p.
- MYGIND, P. H.; FISCHER, R. L.; SCHNORR, K. M. et al., (2005) Plectasin is a peptide antibiotic with therapeutic potential from a saprophytic fungus. *Nature.* 437: 975–980. p.
- NGAI, P. H. K.; ZHAO, Z.; NG, T. B. (2005) Agrocybin, an antifungal peptide from the edible mushroom *Agrocybe cylindracea*. *Peptides.* 26: 191-196. p.
- NIKITINA, V. E.; TSIVILEVA, O. M.; PANKRATOV, A. N.; BYCHKOV, N. A. (2007) *Lentinula edodes* biotechnology — from lentinan to lectins. *Food Technol. Biotechnol.* 45: 230–237. p.
- ORPIN, C. G. (1975) Studies on the Rumen Flagellate *Neocallimastix frontalis*. *J. Gen. Microbiol.* 91: 249-262. p.
- PACKER, L.; TRITSCHLER, H. J.; WESSEL, K. (1997) Neuroprotection by the metabolic antioxidant alpha-lipoic acid. *Free Radic. Biol. Med.* 22 (1-2) 359-78. p.
- PALACIOS, I.; LOZANO, M.; MORO, C.; D'ARRIGO, M.; ROSTAGNO, M. A. MARTÍNEZ, J. A.; GARCÍA-LAFUENTE, GUILLAMÓN, E.; VILLARES, A. (2011) Antioxidant properties of phenolic compounds occurring in edible mushrooms. *Food Chem.* 128: 674-678. p.
- PANDOLFI, P. P.; SONATI, F.; RIVI, R.; MASON, P.; GROSVELD, F.; LUZZATTO, L. (1995) Targeted disruption of the housekeeping gene encoding glucose 6-phosphate dehydrogenase (G6PD): G6PD is dispensable for pentose synthesis but essential for defense against oxidative stress. *EMBO J.* 14: 5209-5215. p.
- PEDNEAULT, K.; ANGERS, P.; GOSSELIN, A.; TWEDDELL, J. R. (2006) Fatty acid composition of lipids from mushrooms belonging to the family *Boletaceae*. *Mycol. Res.* 110: 1179-1183. p.
- PEGLER, D. N. (2003) Useful fungi of the world: the shiitake, shimeji, enoki-take and nameko mushrooms. *Mycologist.* 17 (1) 3-5. p.
- PEI, F.; SHI, Y.; GAO, X. Y.; WU, F. N.; MARIGA, A. M.; YANG, W. J.; ZHAO, L. Y.; AN, X. X.; XIN, Z. H.; YANG, F. M.; HU, Q. H. (2014) Changes in non-volatile taste components of button mushroom (*Agaricus bisporus*) during different stages of freeze drying and freeze drying combined with microwave vacuum drying. *Food Chem.* 165 (24) 547-554. p.
- PEINTNER, U.; PÖDER, R.; PÜMPEL, T. (1998) The iceman's fungi. *Mycol. Res.* 102 (10) 1153-1162. p.

- PELLEGRINI, N.; MIGLIO, C.; DEL RIO, D.; SALVATORE, S.; SERAFINI, M.; BRIGHENTI, F. (2009) Effect of domestic cooking methods on the total antioxidant capacity of vegetables. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 60 (S2) 12-22. p.
- POCSI, I.; PRADE, R. A.; PENNINGCK, M. J. (2004) Glutathione, altruistic metabolite in fungi. *Adv. Microb. Physiol.* 49: 1–76. p.
- RAMARATHNAM, N.; OSAWA, T.; OCHI, H.; KAWAKISHI, S. (1995) The contribution of plant food antioxidants to human health. *Trends Food Sci. Tech.* 6: 75-82. p.
- RAYMAN, M. P. (2008) Food-chain selenium and human health: emphasis on intake. *Brit. J. Nutr.* 100: 254–268. p.
- REZANKA, T.; SIGLER, K. (2008) Biologically active compounds of semi-metals. *Phytochemistry* 69: 585–606. p.
- RIBEIRO, B.; LOPES, R.; ANDRADE, P. B.; SEABRA, R. M.; GONÇALVES, R. F.; BAPTISTA, P.; QUELHAS, I.; VALENTÃO, P. (2008) Comparative study of phytochemicals and antioxidant potential of wild edible mushroom caps and stipes. *Food Chem.*, 110: 47-56. p.
- RIBEIRO, B.; GUEDES DE PINHO, P.; ANDRADE, P. B.; OLIVEIRA, C.; FERREIRA, A. C. S.; BAPTISTA, P.; VELENTAO, P. (2011). Do bioactive carotenoids contributes to the color of edible mushrooms?. *Open Chem. Biomed. Method. J.* 4: 14-18. p.
- RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. (1996). Structure – Antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Rad. Biol. Med.* 20, 933-956. p.
- RIETHMÜLLER, E.; KÖNCZÖL, A.; SZAKÁL, D.; VÉGH, K.; BALOGH, G. T.; KÉRY, A. (2016) HPLC-DPPH screening method for evaluation of antioxidant compounds in *Corylus* species. *Nat. Prod. Commun.* 11: 641-644. p.
- RIKANS, L. E.; HORN BROOK, K. R. (1997) Lipid peroxidation, antioxidant protection and aging. *Biochim. Biophys. Acta.* 1362 (2-3) 116-127. p.
- ROBERTS, C. K.; BARNARD, J.; SINDHU, R. K.; JURCZAK, M.; EHDAIE, A.; VAZIRI, N. D. (2006) Oxidative stress and dysregulation of NAD(P)H oxidase and antioxidant enzymes in diet-induced metabolic syndrome. *Metabol.* 55 (7) 928-934. p.
- ROSEN, G. M.; POU, S.; RAMOS, C. L.; COHEN, M. S.; BRITIGAN, B. E. (1995) Free radicals and phagocytic cells. *Faseb J.* 9:200-9.
- ROUPAS, P.; KEOGH, J.; NOAKES, M.; MARGETTS, C.; TAYLOR, P. (2012) The role of edible mushrooms in health: evaluation of the evidence. *J. Funct. Foods.* 4: 687–709. p.
- ROYSE, D. J. (2014). Global perspective on the high five: *Agaricus, Pleurotus, Lentinula, Auricularia & Flammulina*. In: *Proceedings of the 8th International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products. New Delhi, India.* 1-6. p.
- RUDAWSKA, M.; LESKI, T. (2005) Macro- and microelement contents in fruiting bodies of wild mushrooms from the Notecka forest in west-central Poland. *Food Chem.* 92: 499-506. p.
- SANMEE, R.; DELL, B.; LUMYONG, P. IZUMORI, K.; LUMYONG, S. (2003) Nutritive value of popular wild edible mushrooms from northern Thailand. *Food Chem.* 82: 527–532. p.
- SARIKURKCU, C.; TEPE, B.; YAMAC, M. (2008) Evaluation of the antioxidant activity of four edible mushrooms from the Central Anatolia, Eskisehir - Turkey: *Lactarius deterrimus, Suillus collitinus, Boletus edulis, Xerocomus chrysenteron*. *Biores. Technol.* 99 (14) 6651-5. p.
- SEREGIN, I. V.; IVANOV, V. B. (2001) Physiological Aspects of Cadmium. *Microbiol. Soc. Yeast Res.* 2: 295-305. p.
- SHAY, K. P.; MOREAU, R. F.; SMITH, E. J.; SMITH, A. R.; HAGEN, T. M. (2009) Alpha-lipoic acid as a dietary supplement: molecular mechanisms and therapeutic potential. *Biochim. Biophys. Acta.* 1790 (10) 1149–1160. p.

- SHERMA, J. (2000) Thin-layer chromatography in food and agricultural analysis. *J. Chromatogr. A.* 880: 129-147. p.
- SHUANG, S.; DING, S.; FAN, L. (2012) Antioxidant activities of five polysaccharides from *Inonotus obliquus*. *Int. J. Biol. Macromol.* 50: 1183– 1187. p.
- SIES, H. (1997) Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Expl. Physiol.* 82: 291–295. p.
- SINGH, P.; LANGOWSKI, H.-C.; WANIB, A. A.; SAENGERLAUB, S. (2010). Recent advances in extending the shelf life of fresh *Agaricus* mushrooms: A review. *J. Sci. Food Agric.* 90: 1393–1402. p.
- SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. (1965): Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Viticul.* 16: 144-158. p.
- SIU, K.; CHEN, X.; WU, J.-Y. (2014) Constituents actually responsible for the antioxidant activities of crude polysaccharides isolated from mushrooms. *J. Func. Foods.* 11: 548–556. p.
- SLEJKOVEC, Z.; BYRNE, A. R.; STIJE, T.; GOESSLER, W.; IRGOLIC, K. J. (1997) Arsenic compounds in higher fungi. *Appl. Organomet. Chem.* 11: 673– 682. p.
- SMITH, J. E.; SULLIVAN, R.; ROWAN, N. J. (2003) The role of polysaccharides derived from medicinal mushrooms in cancer treatment programs: current perspectives (review). *Int. J. Med. Mush.* 5: 217–234. p.
- SMITH, H.; DOYLE, S.; MURPHY, R. (2015) Filamentous fungi as a source of natural antioxidants. *Food Chem.* 185: 389-397. p.
- SOARES, A. A.; DE SOUZA, C. G. M.; DANIEL, F. M.; FERRARI, G. P.; DA COSTA, S. M. G.; PERALTA, R. M. (2009) Antioxidant activity and total phenolic content of *Agaricus brasiliensis* (*Agaricus blazei* Murril) in two stages of maturity. *Food Chem.* 112: 775-781. p.
- SYNYTSYA, A.; MICKOVA, K.; JABLONSKY, I.; SPEVACEK, J.; ERBAN, V.; KOVARIKOVA, E.; COPIKOVA, J. (2009) Glucans from fruit bodies of cultivated mushrooms *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii*: Structure and potential prebiotic activity. *Carbohydr. Polym.* 76: 548–556. p.
- SZABÓ, A.; GYEPES, A.; NAGY, A.; ABRANKÓ, L.; GYÓRFI, J. (2012). The effect of UVB radiation on the vitamin D₂ content of white and cream type button mushrooms (*Agaricus bisporus* (LANGE/IMBACH) and oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus* (JACQ.) P. KUMM). *Acta Aliment.* 41: 119-123. p.
- SZARVAS, J. (2002): A bazídiomos nagygombák szaporodása, életciklusa I. *Magyar Gombahíradó (MGOSZ Lapja)*. 10 (36) 12-14. p.
- SZARVAS, J. (2003) A bazídiomos nagygombák szaporodása, életciklusa II. (*Agaricus bisporus*). *Magyar Gombahíradó (MGOSZ Lapja)*. 11 (37) 16–18. p.
- SZILI, I. (1998) A gombák felhasználása. 216-222. P. In: Gombatermesztés. Budapest. Mezőgazda Kiadó.
- SZILI, I. (2008) Gombatermesztők könyve. Budapest. Mezőgazda Kiadó. 152-176. p.
- TARVAINEN, K.; SALONEN, J. P.; KANERVA, L.; ESTLANDER, T.; KESKINEN, H.; RANTANEN, T. (1991) Allergy and toxicodermia from shiitake mushrooms. *J. Am. Acad. Dermatol.* 24 (1) 64-66. p.
- TEICHERT, A.; SCHMIDT, J.; PORZEL, A.; ARNOLD, N.; WESSJOHANN, L. (2007) Brunneins A–C, β -Carboline Alkaloids from *Cortinarius brunneus*. *J. Nat. Prod.* 70: 1529–1531. p.
- TEICHMANN, A.; DUTTA, P. C.; STAFFAS, A.; JAGERSTAD, M. (2007) Sterol and vitamin D₂ concentrations in cultivated and wild grown mushrooms: effect of UV radiation. *LWT Food Sci. Tech.* 40: 815–822. p.
- TEIXEIRA, J.; GASPAR, A.; GARRIDO, E. M.; GARRIDO, J.; BORGES, F. (2013) Hydroxycinnamic acid antioxidants: an electrochemical overview. *Biomed. Res. Int.* Article ID 251754, 11. p. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/251754>

- TSAI, S.-Y.; TSAI, H.-L.; MAU, J.-L. (2007) Antioxidant properties of *Agaricus blazei*, *Agrocybe cylindracea* and *Boletus edulis*. *LWT – Food Sci. Tech.* 40: 1392-1402. p.
- UTTARA, B.; SINGH, A. V.; ZAMBONI, P.; MAHAJAN, R. T. (2009) Oxidative stress and neurodegenerative diseases: a review of upstream and downstream antioxidant therapeutic options. *Curr. Neuropharmacol.* 7 (1) 65–74. p.
- VÁGUJFALVI D. (1990) Gyógynövények hatóanyagai. 18-37. p. In: HORNOK, L. (szerk.) *Gyógynövények termesztése és feldolgozása*. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest.
- VALENTAO, P.; ANDRADE, P. B.; RANGEL, J.; RIBEIRO, B.; SILVA, B. M.; BAPTISTA, P.; SEABRA, R. M. (2005) Effect of the conservation procedure on the contents of phenolic compounds and organic acids in Chanterelle (*Cantharellus cibarius*) mushroom. *J. Agric. Food Chem.* 53: 4925-4931. p.
- VALKO, M.; LEIBFRITZ, D.; MONCOL, J.; CRONIN, M. T.; MAZUR, M.; TELSER, J. (2007) Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 7 (39) 44–84. p.
- VAMANU, E.; NITA, S. (2013) Antioxidant capacity and the correlation with major phenolic compounds, anthocyanin, and tocopherol content in various extracts from the wild edible *Boletus edulis* mushroom. *Bio. Med. Res. Int.* ID: 313905. Epub. DOI: 10.1155/2013/313905
- VAN HORSSSEN, J.; WITTE, M. E.; SCHREIBELT, G.; DE VRIES, H. E. (2011) Radical changes in multiple sclerosis pathogenesis. *Biochim. Biophys. Acta.* 1812: 141–150. p.
- VAZ, J. A.; BARROS, L.; MARTINS, A.; MORAIS, J. S.; VASCONCELOS, M. H.; FERREIRA, I. C. F. R. (2011) Phenolic profile of seventeen Portuguese wild mushrooms. *LWT- Food Sci. Techn.* 44: 343-346. p.
- VELIOGLU, Y. S.; MAZZA, G.; GAO, L.; OOMAH, B. D. (1998) Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *J. Agric. Food Chem.* 46 (10) 4113-4117. p.
- VETTER, J. (1994) Mineral elements in the important cultivated mushrooms *Agaricus bisporus* and *Pleurotus ostreatus*. *Food Chem.* 50 (3) 277-279. p.
- VETTER, J. (2000) Mikoterápia - a gyógyászat új lehetősége? *Gyógyszerészet* 44: 464-469. p.
- VETTER, J.; LELLEY, J. (2004) Selenium level of the cultivated mushroom *Agaricus bisporus*. *Acta Aliment.* 33 (3) 297-301. p.
- VETTER, J.; HAJDÚ, CS.; GYÖRFI, J.; MASZLAVÉR, P. (2005) Mineral composition of the cultivated mushrooms *Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus* and *Lentinula edodes*. *Acta. Ali.* 34 (4) 441-451. p.
- VETTER, J. (2007) Chitin content of cultivated mushrooms *Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus* and *Lentinula edodes*. *Food Chem.* 102: 6-9. p.
- VETTER, J. (2010) A gombák táplálkozási értékei. 48-63. p. In: Györfi, J. (szerk): *Gombabiológia, gombatermesztés*. Mezőgazda Kiadó, Budapest.
- VIEIRA, F. P. A.; GONTIJO, D. C.; VIEIRA, B. C.; FONTES, E. A. F.; DE ASSUNÇÃO, L. S.; LEITE, J. P. V.; OLIVEIRA, M. G. A.; KASUYA, M. C. M. (2013) Antioxidant activities, total phenolics and metal contents in *Pleurotus ostreatus* mushrooms enriched with iron, zinc or lithium. *LWT Food Sci. Technol.* 54: 421–425. p.
- VOLMAN, J. J. J. P.; HELSPER, S.; WEI, J. J.; BAARS, L. J.; VAN GRIENSVEN, A. S.; SONNENBERG, R. P.; MENSINK, J. (2010) Effects of mushroom-derived beta-glucan-rich polysaccharide extracts on nitric oxide production by bone marrow-derived macrophages and nuclear factor-kappa-B transactivation in Caco-2 reporter cells: Can effects be explained by structure? *Mol. Nutr. Food Res.* 54: 268-276. p.
- WANG, H. X.; NG, T. B. (2004) Eryngin, a novel antifungal peptide from fruiting bodies of the edible mushrooms *Pleurotus eryngii*. *Peptides.* 25 (1) 1-5. p.

- WANG, Q.; LI, B. B.; LI, H.; HAN, J. R. (2010) Yield, dry matter and polysaccharides content of the mushroom *Agaricus blazei* produced on asparagus straw substrate. *Sci. Hortic.* 125: 16–18. p.
- WARD, P. A.; WARREN, J. S.; JOHNSON, K. J. (1988) Oxygen radicals, inflammation, and tissue injury. *Free Rad. Biol. Med.* 5 (5–6) 403-408. p.
- WASSER, S. P. (2002) Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 60: 258-274. p.
- WASSER S. P.; RESHETNIKOV, S. V. (2002) Process for producing, methods and compositions of cholesterol lowering agents from higher *Basidiomycetes* mushrooms. US Patent. 6, 372 462B2.
- WASSER, S. P. (2004). Dietary supplements from culinary-medicinal mushrooms: A variety of regulations and safety concerns for the 21th Century. *Int. J. Med. Mush.* 6: 231-248. p.
- WASSER, P. S. (2011) Current findings, future trends, and unsolved problems in studies of medicinal mushrooms. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 89: 1323–1332. p.
- WEAVER, K. C.; KROGER, M.; KNEEBONE, L. R. (1977). Comparative protein studies on nine strains of *Agaricus bisporus* (LANGE) J. Food Sci. 42: 364-366. p.
- WESSELS, J. G. H. (1994) Development of Fruit Bodies in *Homobasidiomycetes*. 351-366. p. In: Growth, differentiation and sexuality. *The Mycota. Springer Berlin Heidelberg*.
- WISEMAN, H. (1993) Vitamin D is a membrane antioxidant ability to inhibit iron-dependent lipid peroxidation in liposomes compared to cholesterol, ergosterol and tamoxifen and relevance to anticancer action. *FEBS Lett.* 326: 285–288. p.
- WONDRATSCHEK, I.; RÖDER, U. (1993). Monitoring of heavy metals in soils by higher fungi. 365-378. p. In: MARKERT B. (Ed.) *Plants as biomonitors: Indicators for Heavy Metals in the Terrestrial Environment*.
- XU, J. (2016) Fungal DNA barcoding. *Genome* 59 (11): 913-932. p.
- YANG, J. H.; LIN, H. C.; MAU, J. L. (2002) Antioxidant properties of several commercial mushrooms. *Food Chem.* 77: 229-235. p.
- YILMAZ, N.; SOLMAZ, M.; TÜRKEKUL, I.; ELMASTAS, M. (2006) Fatty acid composition in some wild edible mushrooms growing in the middle Black Sea region of Turkey. *Food Chem.* 99: 168–174. p.
- YIN, H.; XU, L.; PORTER, N. A. (2011) Free radical lipid peroxidation: mechanisms and analysis. *Chem. Rev.* 111 (10) 5944–5972. p.
- YOUNG, I. S.; WOODSIDE, J. V. (2001) Antioxidants in health and disease. *Clin. Pathol.* 54: 176–186. p.
- ZDUNIC, G.; GOĐEVAC, D.; ŠAVIKIN, K.; NOVAKOVIC, M.; MILOSAVLJEVIC, S.; PETROVIC, S. (2011) Isolation and identification of phenolic compounds from *Hypericum richeri* Vill. and their antioxidant capacity. *Nat. Prod. Res.* 25: 175-187. p.
- ZELLNER, J. (1907) Chemistry of macrofungi. *Verlag von Wilhelm Engelmann.* 257. p.
- ZHANG, M.; CUI, S. W.; CHEUNG, P. C. K.; WANG, Q. (2007) Antitumor polysaccharides from mushrooms: a review on their isolation process, structural characteristics and antitumor activity. *Trends Food Sci. Technol.* 18: 4–19. p.
- ZRODLOWSKI, Z. (1995). The influence of washing and peeling of mushrooms *Agaricus bisporus* on the level of heavy metal contaminations. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 4: 23-33. p.

2. MELLÉKLET – ÁBRAJEGYZÉK

1. **ábra** – A világon termesztett gomba összmennyisége (2006-2016) (Forrás: <http://faostat3.fao.org>)
2. **ábra** – A lentinán (β -1,3-1,6-glükán) szerkezetének részlete (Forrás: <http://www.chemspider.com>)
3. **ábra** – Az ergocalciferol (D₂-vitamin) és a kolekalciferol (D₃-vitamin) molekulák és szerkezetük különbsége (Forrás: <http://www.chemspider.com>)
4. **ábra** – A szuperoxid anion továbbalakulásai (Forrás: CANO-EUROPA et al., 2015)
5. **ábra** – Az antioxidánsok felosztása (Forrás: IANNITTI & PALMIER, 2009)
6. **ábra** – A kísérletekben szereplő gombafajok; 1. – *Agaricus bisporus* (fehér), 2. – *Agaricus bisporus* (barna), 3. – *Lentinula edodes*, 4. – *Pleurotus ostreatus*, 5. – *Pleurotus eryngii*, 6. – *Leccinum duriusculum*, 7. – *Flammulina velutipes*, 8. – *Hericium erinaceus*, 9. – *Agrocybe cylindracea* (A süngomba fotó forrása: <https://nutritionadvance.com/types-of-edible-mushrooms/>)
7. **ábra** – A frakcionálás menete
8. **ábra** – A DPPH szerkezete és lekötésének mechanizmusa (Forrás: TEIXEIRA et al., 2013)
9. **ábra** – Laskagomba egységnyi mennyiségekre osztva
10. **ábra** – A pontos tömegméréshez alkalmazott ESI-TOF-MS műszer
11. **ábra** – A MeOH-s és EtOH-s kivonatból meghatározható összfenoloid-tartalom összehasonlítása
12. **ábra** – A különböző extrakciós eljárások összehasonlítása antioxidáns aktivitás alapján
13. **ábra** – A vizsgált gombafajok összfenoloid-tartalmának átlaga (mg GSE/g sz.a.) és szórása
Az eltérő betűk szignifikáns különbségeket jelölnek a *Tukey post hoc* teszt alapján ($p \leq 0,05$)
14. **ábra** – A vizsgált gombafajok összflavonoid-tartalmának átlaga (mg QE/g sz.a.) és szórása
Az eltérő betűk szignifikáns különbségeket jelölnek a *Tukey post hoc* teszt alapján ($p \leq 0,05$)
15. **ábra** – A vizsgált gombafajok fenoloid tartalmának és antioxidáns aktivitásának lineáris regressziója
16. **ábra** – A termesztett gombafajok fenoloid tartalmának és antioxidáns aktivitásának regressziós egyenesei
17. **ábra** – A csiperketörzsek (fehér – „F” és barna – „B”) összfenoloid átlagai és szórása (mg GSE/g sz.a.) - A, összflavonoid átlaga és szórása (mg QE/g sz.a.) – B, az antioxidáns aktivitásaik átlaga és szórása %-ban – C. Az eltérő betűk szignifikáns különbségeket jelölnek a *Tukey post hoc* teszt alapján ($p \leq 0,05$)
18. **ábra** – A laskatörzsek átlagos összfenoloid-tartalma (mg GSE/g sz.a.) és szórásaik - A, összflavonoid-tartalmuk átlaga és szórása (mg QE/g sz.a.) – B, az antioxidáns aktivitásuk átlaga és szórása %-ban - C. Az eltérő betűk szignifikáns különbségeket jelölnek a *Tukey post hoc* teszt alapján ($p \leq 0,05$)

- 19. ábra** – A vizsgált természetű gombák frakcióinak összfenoloid-tartalma (átlag±szórás, mg GSE/g sz.a.) Az eltérő betűk szignifikáns különbségeket jelölnek a *Tukey post hoc* teszt alapján ($p \leq 0,05$)
- 20. ábra** – A vizsgált vadon termő gombák frakcióinak összfenoloid-tartalma (átlag±szórás, mg GSE/g sz.a.) Az eltérő betűk szignifikáns különbségeket jelölnek a *Tukey post hoc* teszt alapján ($p \leq 0,05$)
- 21. ábra** – A vizsgált gombák frakcióinak összflavonoid-tartalma (átlag±szórás; mg QE/g sz.a.) Az eltérő betűk szignifikáns különbségeket jelölnek a *Tukey post hoc* teszt alapján ($p \leq 0,05$)
- 22. ábra** – A tartósító eljárások hatása a gombák összfenoloid-tartalmára (átlag±szórás; mg GSE/g sz.a.)
- 23. ábra** – A csiperkegomba szeletek állapota, 60 °C-os szárítást, 5 perces mikrohullámú kezelést és blansírozást követően
- 24. ábra** – A tartósító eljárások hatása a gombák összflavonoid-tartalmára (átlag±szórás; mg QE/g sz.a.)
- 25. ábra** – A tartósító eljárások hatása a csiperke antioxidáns aktivitására (átlag±szórás; %)
- 26. ábra** – A tartósító eljárások hatása a laskagomba antioxidáns aktivitására (átlag±szórás; %)
- 27. ábra** – A tartósító eljárások hatása a shiitake gomba antioxidáns aktivitására (átlag±szórás; %)
- 28. ábra** – A vizsgált gombák vékonyréteg kromatográfiás antioxidáns profilanalízise (1-kalaphús, 2-kalaphús, 3-termőlemezek, 4- tönk, 5-termőtest, 6-primordium)
- 29. ábra** – A fehér *Agaricus bisporus* termőlemez és az *Agrocybe cylindracea* termőtest kivonatának származékképzési reakcióinak eredménye. **Jelmagyarázat:** 1 – DPPH, 2 – AlCl_3 (366 nm), 3 – Anilin, 4 – Difenilamin, 5 – Fast Blue B (254 nm), 6 – Folin Ciocalteu, 7 – Foszfomolibdén, 8 – Vanillin-kénsav, 9 – Ninhidrin, 10 – NP-PEG, 11 – Primulin, 12 – Rhodamin B
- 30. ábra** – Az érdestinóru és a tőkegomba izolálási eredményei analitikai rétegen (1 – 254 nm; 2 – 366 nm; 3 – DPPH; 4 – a visszakromatográfálás eredménye DPPH merítést követően)
- 31. ábra** – Az *Agrocybe cylindracea* minta (**1**) SPE-s frakcionálása szilikarétegen. Az alkalmazott eluensek: **2** – Hex-EtAc (60:40); **3** – ACN (100%); **4** – ACN-MeOH (80:20); **5** – ACN-MeOH (60:40); **6** – ACN-MeOH (40:60); **7** – ACN-MeOH (20:80); **8** – MeOH-H₂O (80:20); **9** – H₂O (100%)
- 32. ábra** – Az *Agrocybe cylindracea* SPE frakció (**E**) és az izolált komponens (**I**) TLC-DPPH ellenőrzése
- 33. ábra** – A fehér *Agaricus bisporus* termőlemezeinek DPPH-HPLC kromatogramja és az egyik aktív anyag (**Rt= 12,485** perc) UV-spektruma
- 34. ábra** – A két különböző kalapszínű *Agaricus bisporus* kalaphőrének HPLC kromatogramja és az egyik aktív anyag (**Rt= 12,485** perc) UV-spektruma
- 35. ábra** – A *P. ostreatus* termőlemezeinek és a *P. eryngii* kalaphúsának HPLC kromatogramja és jellegzetes aktív anyagaik UV-spektruma

36. ábra – A *Lentinula edodes* tönk, a *Hericium erinaceus* termőtest és a *Flammulina velutipes* termőlemez DPPH-HPLC kromatogramja és az aktív anyagaik UV spektrumai

37. ábra – A *Leccinum duriusculum* kalapbőr és az *Agrocybe cylindracea* termőtest kivonatok DPPH-HPLC kromatogramja

38. ábra – Az *Agrocybe cylindracea* termőlemez frakciójának szelektív ion kromatogramja

39. ábra – A fehér csiperke, a barna csiperke és a déli tőkegomba HPLC-MS-sel detektált antioxidáns csúcsainak területösszege termőtest részenként

40. ábra – Az izolált anyag pozitív (felső) és negatív (alsó) módban felvett spektrumai

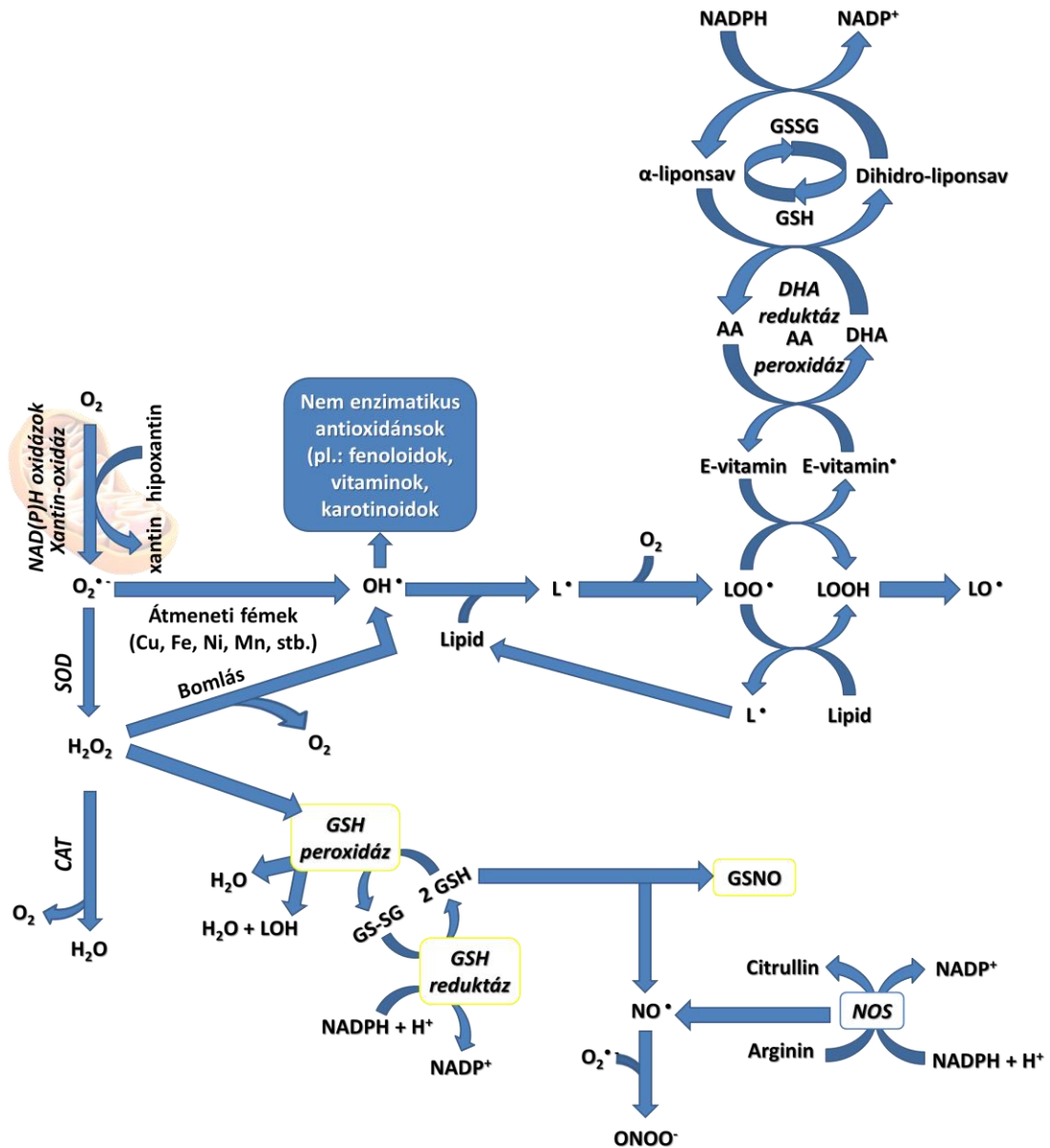
41. ábra – Az *Agrocybe cylindracea*-ból izolált vegyület szerkezete, számozása és teljes ^1H és ^{13}C NMR jelhozrendelése deuterált metanolban, 600 MHz-en

3. MELLÉKLET – TÁBLÁZATJEGYZÉK

1. táblázat – A gombák egyes makro és mikroelem-tartalma ($\mu\text{g/g}$ sz.a.)
2. táblázat – A gombákban leírt egyes fenoloid vegyületek és mennyiségük
(Forrás: KIM et al., 2008; FERREIRA et al., 2009)
3. táblázat - A begyűjtött gombák törzsei, származásuk helye és a mintavétel ideje
4. táblázat – Az összehasonlított extrakciós eljárások
5. táblázat – Az alkalmazott tartósító eljárások típusai (Forrás: SZILI, 1998)
6. táblázat – A vékonyréteg kromatográfias mozgófázis fejlesztése során kipróbált elegyek
7. táblázat – A származékképzési reakciókhoz felhasznált reagensek (Forrás: JORK et al., 1990)
8. táblázat – Az általam használt SPE-oszlopok
9. táblázat – A vizsgált gombák frakciói és azok tömegarányai frissen és szárítva (fajonként)
10. táblázat – A kromatográfias vizsgálatok kivonatainak szárazanyag-tartalmai (mg/ml)
11. táblázat – A vizsgált gombafajok antioxidáns szabadgyök-kötőképessége és EC_{50} értékei
12. táblázat – A gombafajok termőtestének fenoloid-antioxidáns értékeinek korrelációja
13. táblázat – A shiitake törzsek fenoloid-, flavonoid-tartalmai és az antioxidáns aktivitás értékei
14. táblázat – Az alkalmazott kategóriahatárok a különböző termesztett gombafajok esetében
15. táblázat – A csiperke és a laskagomba törzseinek minősítése a három vizsgált paraméter (összfenoloid-, összflavonoid-tartalmak és szabadgyök-kötőképesség) alapján
16. táblázat – A termesztett gombák súlyozott átlaga a termőtesthez viszonyítva
17. táblázat – A vizsgált gombák frakcióinak antioxidáns aktivitása (átlag \pm szórás; %) és zárójelben a hozzájuk tartozó EC_{50} értékek ($\mu\text{g/ml}$)
18. táblázat – Az aktív komponensek kromatográfias értékei gombafajonként
19. táblázat – A DPPH-HPLC módszerrel megállapított aktív komponenseinek az m/z értékek alapján meghatározott csúcs alatti terület értékei gombafajonként a különböző frakciókban

4. MELLÉKLET – A biológiai redox-homeosztázis részletének sematikus ábrája

(Forrás: PACKER et al., 1997; FERREIRA et al., 2009)



Jelmagyarázat:

(O₂) – molekuláris oxigén

(O₂^{•-}) – szuperoxid-anion

(H₂O₂) – hidrogén-peroxid

(HO[•]) – hidroxilgyök

(HO⁻) – hidroxid-ion

(LH) – membránlipidek

(L[•]) – lipidgyök

(LOO[•]) – peroxilcsoport

(LOOH) – hidroperoxi-lipid

(LO[•]) – lipid-alkoxilgyök

(NO) – nitrogén-monoxid

(LOH) – alkoholok

(GSH) – glutation

(GSSG) – glutation-diszulfid

(GSNO) – S-nitrozoglutation

(SOD) – szuperoxid-dizmutáz

(CAT) – kataláz

(NOS) – nitrogén-oxid szintáz

(AA) – aszkorbát

(DHA) - dehidroaszkorbát

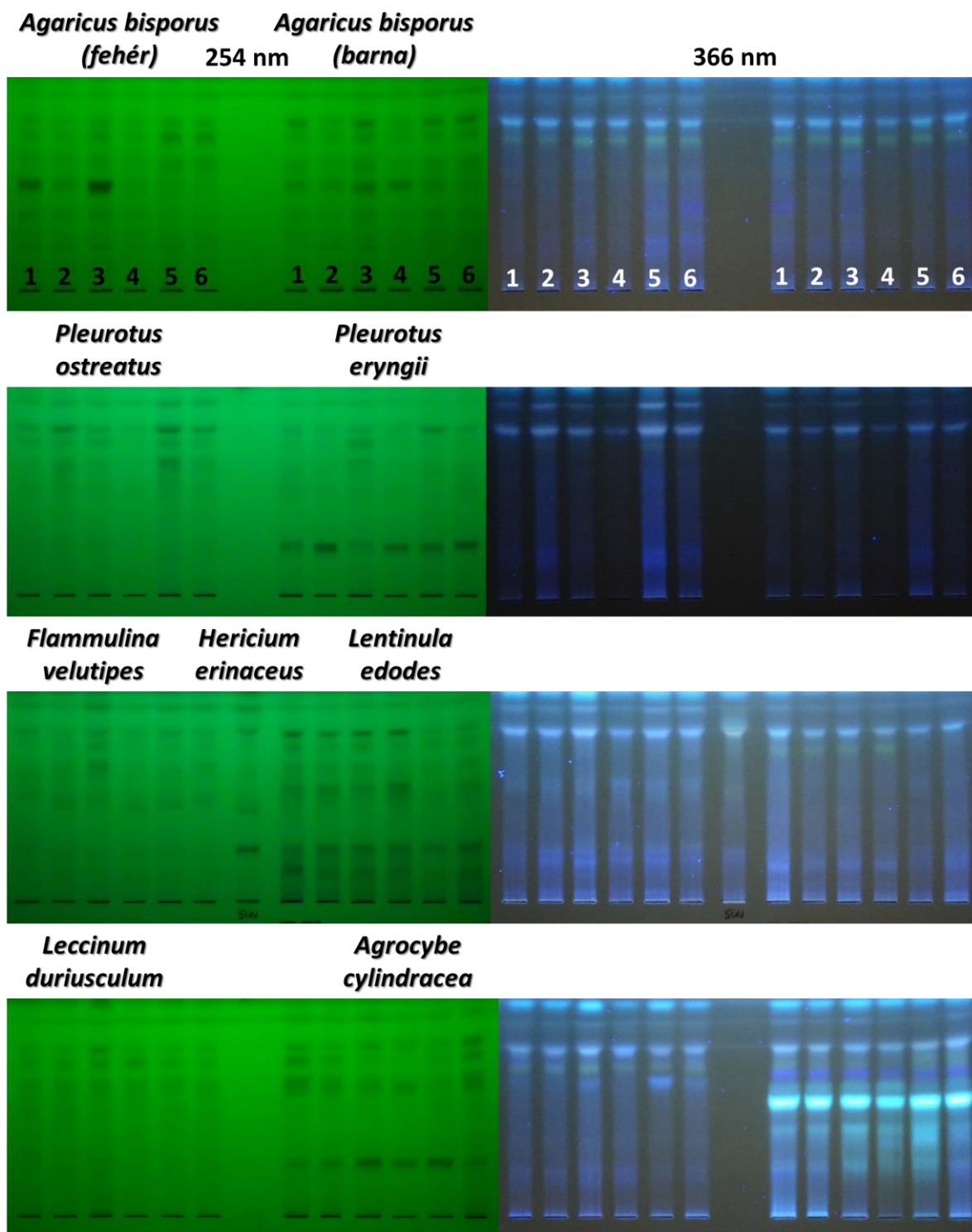
5. MELLÉKLET – Fenoloidok osztályozása (C-atom szám alapján)

(Forrás: HARBORNE, 1980)

Szénatomok száma a molekulában	Alapváz	Fenolgyűrűk száma	Anyagosztály	Példa
6	C ₆	1	Egyszerű fenolok, Benzokinonok	Rezorcín, Hidrokinon, Krezol
7	C ₆ -C ₁	1	Fenolos savak, Fenolos aldehidek	Galluszsav, Szalicilsav, Vanillin
8	C ₆ -C ₂	1	Acetofenonok, Tirozin származékok, Fenilacetátok	Homogentizinsav, Hidroxifenilacetát, Camylofin
9	C ₆ -C ₃	1	Hidroxifahéjsavak, Fenilpropanoidok, Kumarinok, Izokumarinok, Krománok	Fahéjsav, Kávésav, Klorogénsav, Kumarin, Ferulasav, Eugenol, Szafrol, Miriszticin, Warfarin, Eszkuletin, Szkolopetin, Thunberginol, Eukrifin
10	C ₆ -C ₄	1	Naftokinonok	Nigrosporin B, Plumbagin, Alkanin
13	C ₆ -C ₁ -C ₆	2	Xantonooidok	Gambogin, Izomorellin, Mangiferin
14	C ₆ -C ₂ -C ₆	2	Sztilbénék, Antrakinonok	Pinoszilvin, Rezveratrol, Piceid, Hypericin, Fagopyrin
15	C ₆ -C ₃ -C ₆	2	Kalkonok, Flavonoidok, Izoflavonoidok, Neoflavonoidok	Nortofagin, Luteolin, Quercetin, Miricetin, Hesperidin, Taxifolin, Catechin, Teaflavin, Malvidin, Petunidin
16	C ₆ -C ₄ -C ₆	2	Halogénezett fenolos vegyületek	Kaviol A, Kopol
18	(C ₆ -C ₃) ₂	2	Lignánok	Enterodiol, Pinorezinol, Szezamin
30	(C ₆ -C ₃ -C ₆) ₂	4	Biflavonoidok	Ginkgetin, Moghatin, Lofiron L, Sulcaton A
polimerek (30 C-nél több)	(C ₆ -C ₃) _n (C ₆) _n (C ₆ -C ₃ -C ₆) _n	n > 12	Ligninek, Catechol melaninok, Flavolánok, Polifenolos fehérjék, Polifenolok	Procyanidin, Leukoantocianidin, Leucofisetinidin, Levodopa, Ellagttanninok, Gallotanninok

6. MELLÉKLET – Vékonyréteg kromatográfiás felvételek 254 és 366 nm-en

A különböző gombafajok termőtest részeiről



Jelmagyarázat:

1- kalapbőr

2 – kalaphús

3 – termőlemezek

4 – tönk

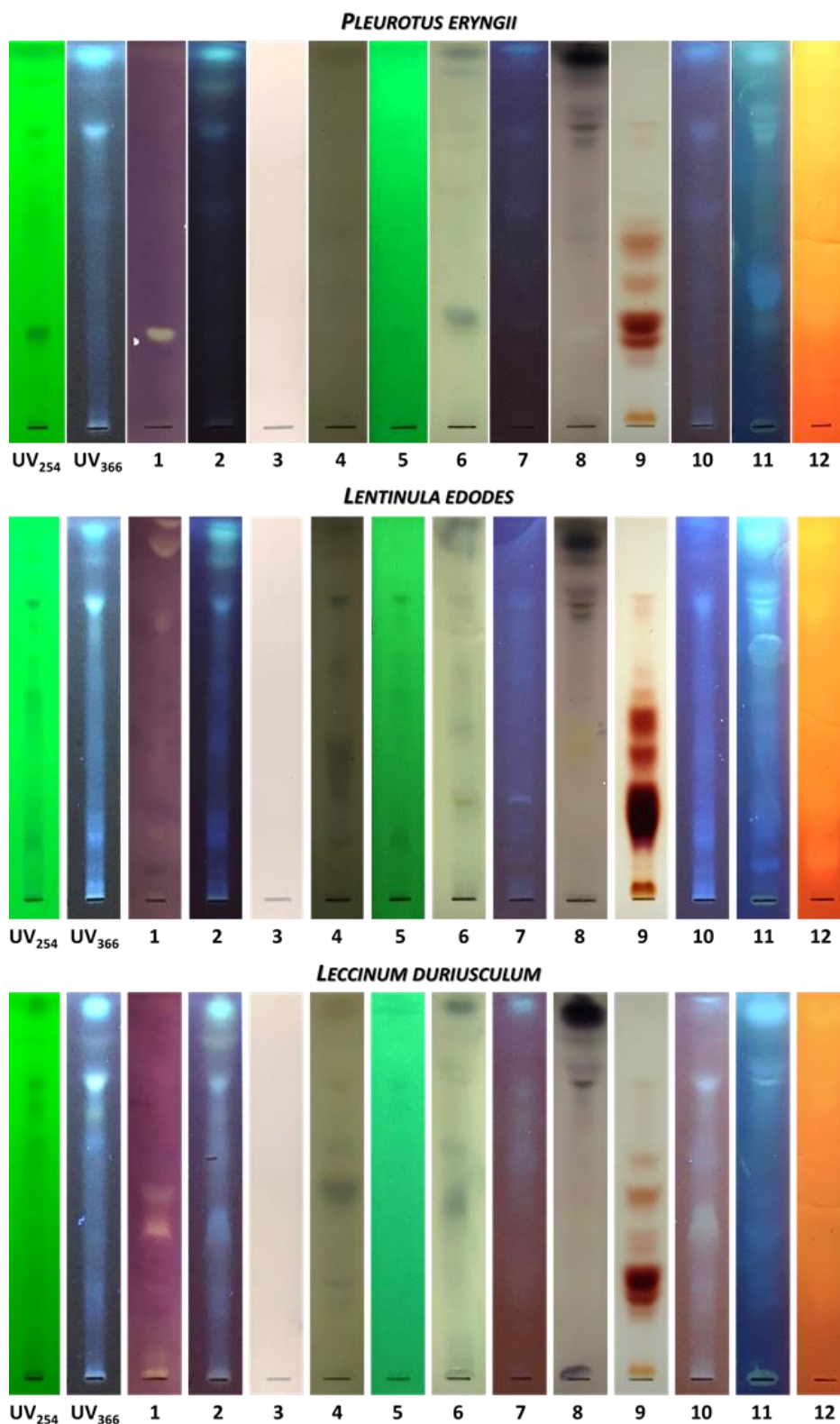
5 – termőtest

6 – primordium

7. MELLÉKLET – Derivatizálási eredmények

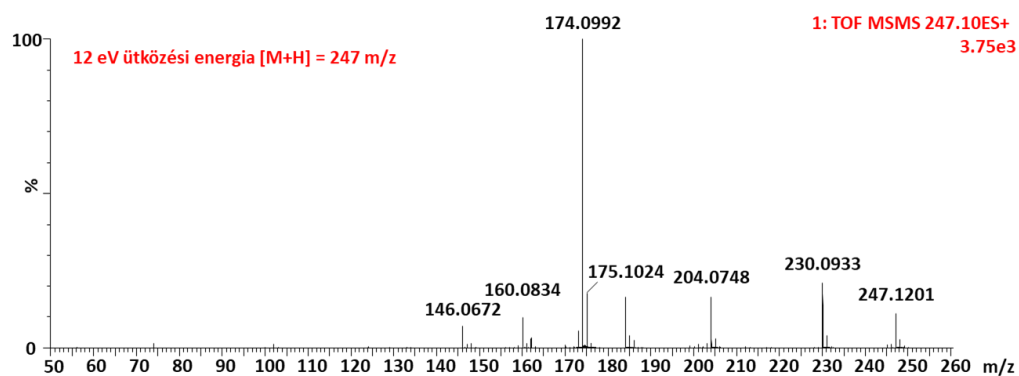
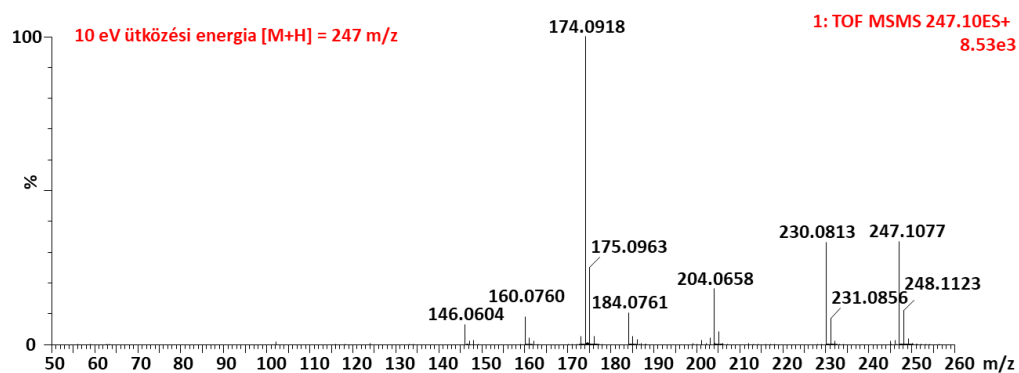
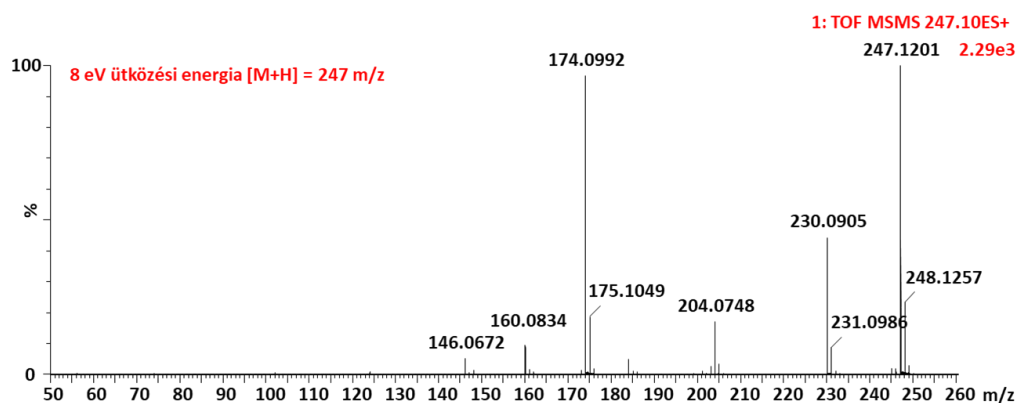
(*Pleurotus eryngii* primordium, *Lentinula edodes* kalapbőr és *Leccinum duriusculum* termőlemez)

Jelmagyarázat: 1 – DPPH, 2 – AlCl₃ (366 nm), 3 – Anilin, 4 – Difenilamin, 5 – Fast Blue B (254 nm), 6 – Folin-Ciocalteu, 7 – Foszfomolibdén, 8 – Vanillin-kénsav, 9 – Ninhidrin, 10 – NP-PEG, 11 – Primulin, 12 – Rhodamin B

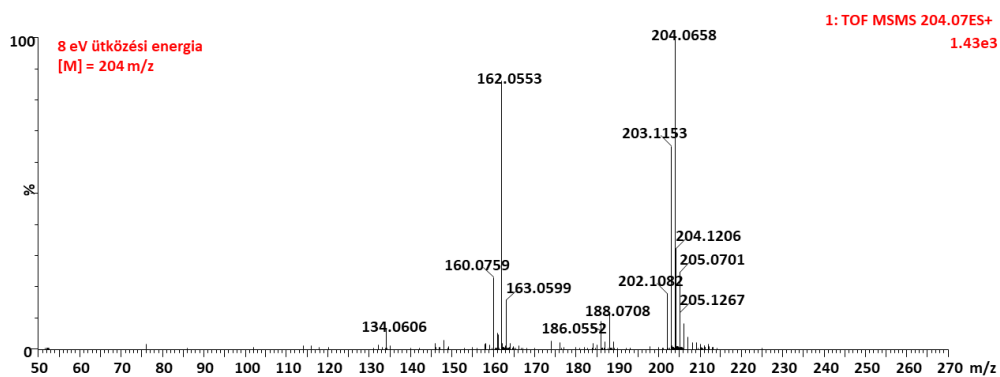


8. MELLÉKLET – MS/MS fragmentációs eredmények

A 247-es ion [M+H] ütközésaktivált bomlási (CID) spektruma különböző ütközési energia hatására



A 204-es ion [M] ütközésaktivált bomlási (CID) spektruma 8 eV ütközési energia hatására



KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ez a disszertáció nem jöhetett volna létre, ha nem lett volna mellettem számtalan kiváló szakember, gombatermesztő és barát, akik segítettek az elmúlt 7 évben, hogy formát öltjön a sok gondolat és hipotézis.

Először is megragadnám az alkalmat, hogy szüleimnek – Krüzselyi Attila és Papp Ilona – megköszönjem a sok támogató gondolatot és gondoskodást, mellyel segítettek a felsőfokú tanulmányaim sikeres befejezéséig és nem zárkoztak el attól az ötletemtől sem, hogy kutassak.

Szeretnék hálás köszönetet mondani mentoromnak és témavezetőmnek Vetter Jánosnak, aki megmutatta, hogy a sok nehézség ellenére is lehet, sőt kell áldozatokat hozni és kitartani egy hipotézis mellett. Soha sem fogom tudni igazán meghálálni, a sok útbaigazítást és beszélgetést, ami a tudomány számos aspektusát foglalta magába.

Másik mentorom Móricz Ágnes, aki a szerény analitikai kémia tudásomat fejlesztette és a meglátásaival elévülhetetlen érdemeket szerzett a disszertációm sikeres megírásában. Itt szeretném megemlíteni még Ott Pétert is, aki bevezetett a kutatás módszertan és cikkírás rejtelmeibe.

Szeretném külön kiemelni a SOTE Farmakognóziái Intézet és az MTA TTK munkatársait, akik rengeteg segítséget nyújtottak az analitikai mérésekben és azok értékelésében: Alberti-Dér Ágnes, Béni Szabolcs, Darcsi András, Riethmüller Eszter (SOTE), illetve Drahos László, Gömöri Ágnes és Zsila Ferenc (MTA TTK).

Szeretném megemlíteni azon szakemberek neveit akik, a gombatermesztésre nem munkaként, hanem hivatásként tekintenek. Ebből adódóan számos törzset rendelkezésemre bocsátottak, hogy e dolgozat elkészülhessen. Többek között: Fehér Marianna, Fogarasi Antal és Fogarasi Rozália, Hajdú Csaba, Kelemen Levente és Kelemen Ibolya, Somosné Nagy Adrienn, Szarka János és Szarvas József.

A disszertációm megalkotásában több kedves kollégám, hol szakmai, hol műszeres segítséggel támogatott. Természetesen a lista nem lehet teljes sosem, mert annyi apró dolog van, ami hozzájárul egy ilyen munka elkészítéséhez. Köszönöm mindenkinek, aki segítette a munkámat, de nem került bele a név szerinti felsorolásba.