

**UNIWERSYTET PRZYRODNICZY W LUBLINIE
WYDZIAŁ NAUK O ŻYWNOŚCI I BIOTECHNOLOGII**

Dyscyplina naukowa: technologia żywności i żywienia

mgr inż. Paulina Ewa Łysakowska

Rozprawa doktorska

**Wpływ częściowej substytucji mąki pszennej sproszkowanymi owocnikami
wybranych grzybów leczniczych na cechy technologiczne, właściwości
fizykochemiczne, potencjał antyoksydacyjny i jakość sensoryczną
pieczywa pszennego**

*Effect of partial substitution of wheat flour with powdered fruiting bodies of
selected medicinal mushrooms on technological properties, physicochemical
characteristics, antioxidant potential and sensory quality of wheat bread*

Rozprawa doktorska wykonana w Katedrze Inżynierii i Technologii Zbóż
Promotor: dr hab. inż. Aldona Sobota, prof. uczelni

Lublin, 2025

*Serdeczne podziękowania kieruję w stronę mojej Promotor,
dr hab. inż. Aldony Soboty, prof. uczelni,
za cierpliwość, mądrość i wszystkie wskazówki,
które prowadziły mnie przez tę drogę.
Dziękuję za wiarę w człowieka, a nie tylko w efekty pracy
– to właśnie ona dawała mi siłę w momentach,
gdy sama nie potrafiłam jej w sobie odnaleźć.*

*Dziękuję **Recenzentom** tej rozprawy
za czas i uwagę poświęcone mojej pracy.*

*Z wdzięcznością myślę o **dr Annie Wirkijowskiej**
– za to, że już w czasie studiów otworzyła
przede mną drzwi do świata nauki
i za pomoc, która towarzyszyła
mi na kolejnych etapach.*

*Dziękuję **mgr inż. Katarzynie Serewie**
– za gaszenie pożarów, których na tej drodze nie brakowało,
za rozmowy, które stawiały mnie do pionu, i za wsparcie,
które zawsze przychodziło w odpowiednim momencie.*

*Dziękuję **wszystkim Pracownikom**
Katedry Inżynierii i Technologii Zbóż
za to, że na każdym kroku mogłam czuć się częścią zespołu.
Za atmosferę, w której było miejsce na pytania,
na wsparcie i na zwykły ludzki uśmiech.
To właśnie dzięki Wam codzienność doktoratu była lżejsza
i dawała poczucie, że nie idę tą drogą sama.*

*Dziękuję mojej **Rodzinie** za to,
że była ze mną w każdej odsłonie tej drogi
– w momentach złości, zmęczenia i milczenia, ale też
w chwilach radości i małych zwycięstw.*

***Grzesiowi, Julce i Szymonowi** dziękuję za
wspólne przejście tej drogi, za wsparcie, rozmowy
i chwile, które dodawały mi siłę,
kiedy ich najbardziej potrzebowałam.*

*Dedykuję tę pracę wszystkim, którzy mnie wspierają,
oraz dziesięcioletniej mnie – nieświadomej jeszcze,
jak długą, trudną, ale i piękną drogę ma przed sobą.*

Paula

Oświadczenie promotora rozprawy doktorskiej

Oświadczam, że niniejsza rozprawa doktorska została przygotowana pod moim kierunkiem i stwierdzam, że spełnia ona warunki do przedstawienia jej w postępowaniu o nadanie stopnia naukowego.

Data...10.09.2025...

Podpis promotora...Sobota Holme...

Oświadczenie autora rozprawy doktorskiej

Świadoma odpowiedzialności prawnej oświadczam, że:

- niniejsza rozprawa doktorska została przygotowana przez mnie samodzielnie pod kierunkiem Promotora/~~Promotorów~~/~~Promotora-pomoenniego*~~ i nie zawiera treści uzyskanych w sposób niezgodny z obowiązującymi przepisami;
- przedstawiona rozprawa doktorska nie była wcześniej przedmiotem procedur związanych z uzyskaniem stopnia naukowego;
- niniejsza wersja rozprawy doktorskiej jest tożsama z załączoną na płycie CD wersją elektroniczną.

Data...10.09.2025r.....

Podpis autora...Pauline Lysakowska...

* niepotrzebne skreślić

Wykaz publikacji naukowych składających się na rozprawę doktorską

Rozprawa została opracowana jako spójny cykl publikacji naukowych. Praca otwierająca (P1) zawiera przegląd wiedzy o sześciu gatunkach grzybów leczniczych, wskazując trzy z największym potencjałem badawczym, które poddano dalszym analizom w publikacjach P2–P4. Część monograficzna przedstawia niepublikowane jeszcze wyniki badań własnych, które stanowią uzupełnienie podjętej tematyki badawczej.

Publikacja nr 1 (P1)

Łysakowska, P., Sobota, A., & Wirkijowska, A. (2023). Medicinal Mushrooms: Their Bio-active Components, Nutritional Value and Application in Functional Food Production- A Review. *Molecules*, 28(14), 5393.

Liczba punktów w roku publikacji: MNiSW= 140; IF = 4,2

Publikacja nr 2 (P2)

Łysakowska, P., Sobota, A., Wirkijowska, A., Zarzycki, P., & Blicharz-Kania, A. (2024). The Impact of *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst. Supplementation on the Technological, Chemical, and Quality Parameters of Wheat Bread. *Foods*, 13(19), 3101.

Liczba punktów w roku publikacji: MNiSW = 100; IF = 5,1

Publikacja nr 3 (P3)

Łysakowska, P., Sobota, A., Wirkijowska, A., Ivanišová, E. (2025). Lion's Mane (*Hericium erinaceus* (Bull.) Pers.) as a functional component for wheat bread production: influence on physicochemical, antioxidant, and sensory properties. *Int. Agrophys.*, 39(1), 13-28.

Liczba punktów w roku publikacji: MNiSW= 100; IF = 1,7

Publikacja nr 4 (P4)

Łysakowska, P., Sobota, A., Zarzycki, P. (2025). Evaluation of the Physicochemical, Antioxidant and Sensory Properties of Wheat Bread with Partial Substitution of Wheat Flour with *Cordyceps sinensis* Powder. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 75(2), 170-183.

Liczba punktów w roku publikacji: MNiSW = 100; IF = 2,3

Sumaryczna liczba punktów za publikacje stanowiące przedmiot rozprawy doktorskiej według komunikatu MNiSW obowiązującego w roku wydania pracy: 440, łączny Impact Factor (IF) (zgodnie z rokiem opublikowania): 13,3

Liczba cytowań według bazy Scopus: 133, bez autocytowań: 127 (z dnia 10.09.2025r.)

Spis treści

WYKAZ NAJWAŻNIEJSZYCH SKRÓTÓW I OZNACZEŃ	7
STRESZCZENIE	9
ABSTRACT	10
1. WPROWADZENIE TEORETYCZNE.....	11
1.1. GRZYBY LECZNICZE JAKO ŹRÓDŁO SKŁADNIKÓW BIOAKTYWNYCH	11
1.2. CHARAKTERYSTYKA WYBRANYCH GATUNKÓW GRZYBÓW LECZNICZYCH.....	13
1.2.1. <i>Ganoderma lucidum</i> (Curtis) P. Karst.	13
1.2.2. <i>Hericium erinaceus</i> (Bull.) Pers.....	14
1.2.3. <i>Ophiocordyceps sinensis</i> (Berk.) G.H. Sung, J.M. Sung, Hywel-Jones & Spatafora	16
1.2.4. Charakterystyka porównawcza wybranych grzybów leczniczych.....	17
1.3. PIECZYWO JAKO MATRYCA ŻYWNOŚCIOWA DO WPROWADZANIA KOMPONENTÓW FUNKcjONALNYCH	21
1.4. ZASTOSOWANIE GRZYBÓW LECZNICZYCH W MODYFIKACJI WŁAŚCIWOŚCI ŻYWIENIOWYCH PIECZYWA.....	22
2. HIPOTEZA I CEL BADAŃ.....	25
2.1. UZASADNIENIE PODJĘCIA BADAŃ I KONCEPCJA NAUKOWA	25
2.2. HIPOTEZA I CEL BADAŃ	26
2.3. ETAPY REALIZACJI BADAŃ I WERYFIKACJA HIPOTEZ BADAWCZYCH	27
3. MATERIAŁY I METODY.....	29
3.1. MODELE BADAWCZE I ZASTOSOWANE SUROWCE.....	29
3.2. METODY BADAWCZE	32
3.2.1. Produkcja pieczywa.....	32
3.2.2. Właściwości fizyczne i technologiczne.....	34
3.2.3. Skład chemiczny i wartość odżywcza	35
3.2.4. Zawartość wybranych elementów mineralnych, związków bioaktywnych i aktywność przeciwutleniająca	36
3.2.5. Strawność skrobi i białka	37
3.2.6. Ocena sensoryczna.....	38
3.2.7. Analiza statystyczna	38
4. OMÓWIENIE WYNIKÓW I DYKUSJA	39
4.1. ZASTOSOWANIE PROSZKU Z OWOCNIKA <i>GANODERMA LUCIDUM</i> (CURTIS) P. KARST. (REISHI) JAKO FUNKcjONALNEGO DODATKU DO PIECZYWA PSZENNEGO	39
4.1.1. Właściwości farinograficzne ciasta.....	39
4.1.2. Ocena cech jakościowych chleba.....	41
4.1.3. Parametry barwy chleba	43
4.1.4. Analiza profilu tekstury (TPA) chleba.....	46
4.1.5. Ocena sensoryczna chleba	49
4.1.6. Wartość odżywcza chleba wzbogaconego proszkiem z <i>G. lucidum</i>	50
4.1.7. Zawartość wybranych składników mineralnych	54
4.1.8. Zawartość polifenoli i aktywność antyoksydacyjna chleba z dodatkiem <i>G. lucidum</i>	56
Podsumowanie.....	57
4.2. ZASTOSOWANIE ZMIŁONEGO OWOCNIKA <i>HERICIUM ERINACEUS</i> (BULL.) PERS. (SOPLÓWKI JEŻOWATEJ) JAKO FUNKcjONALNEGO DODATKU DO PIECZYWA PSZENNEGO	58
4.2.1. Właściwości farinograficzne ciasta.....	58
4.2.2. Ocena cech jakościowych chleba.....	59
4.2.3. Parametry barwy chleba	62
4.2.4. Analiza profilu tekstury (TPA) chleba.....	64
4.2.5. Analiza sensoryczna pieczywa	66
4.2.6. Wartość odżywcza chleba.....	67
4.2.7. Zawartość wybranych składników mineralnych	70

4.2.8. Zawartość związków bioaktywnych i aktywność antyoksydacyjna chleba z dodatkiem <i>H. erinaceus</i>	73
Podsumowanie	74
4.3. ZASTOSOWANIE PROSZKU Z OWOCNIKA <i>OPHIACORDYCEPS SINENSIS</i> (BERK.) G.H. SUNG, J.M. SUNG, HYWEL-JONES & SPATAFORAK JAKO FUNKCJONALNEGO DODATKU DO PIECZYWA PSZENNEGO	76
4.3.1. Właściwości farinograficzne ciasta.....	76
4.3.2. Wartość odżywcza chleba wzbogaconego proszkiem z <i>O. sinensis</i>	78
4.3.3. Ocena cech jakościowych chleba.....	81
4.3.4. Parametry barwy chleba	84
4.3.5. Analiza profilu tekstury (TPA) chleba.....	86
4.3.6. Zawartość wybranych składników mineralnych w pieczywie	89
4.3.7. Zawartość związków polifenolowych oraz aktywność antyoksydacyjna pieczywa	92
4.3.8. Analiza sensoryczna pieczywa	94
Podsumowanie	95
4.4. WYNIKI BADAŃ STRAWNOŚCI <i>IN VITRO</i> SKROBI I BIAŁKA ORAZ WYBRANYCH WŁAŚCIWOŚCI FIZYCZNYCH PIECZYWA – BADANIA WŁASNE NIEPUBLIKOWANE.....	96
4.4.1. Wpływ substytucji mąki pszennej proszkami grzybowymi na wskaźnik rozpuszczalności wodnej oraz wskaźnik absorpcji wody surowców i pieczywa	97
4.4.2. Strawność białka (<i>in vitro</i>).....	99
4.4.3. Strawność skrobi (<i>in vitro</i>) i zawartość skrobi odpornej	103
4.4.4. Zawartość β -(1 $\rightarrow$ 3), (1 $\rightarrow$ 6)-glukanów	106
Podsumowanie	109
5. WNIOSKI	110
6. BIBLIOGRAFIA	114
SPIS TABEL	140
SPIS RYCIN.....	141
7. PUBLIKACJE SKŁADAJĄCE SIĘ NA ROZPRAWĘ DOKTORSKĄ (ZAŁĄCZNIKI)....	142
8. OŚWIADCZENIA	207
ANEKS – ŻYCIORYS NAUKOWY	216

Wykaz najważniejszych skrótów i oznaczeń

1. Substancje chemiczne i związki bioaktywne

- **ABTS** – 2,2'-azyno-bis(3-etylo-benzo-tiazo-lino-6-sulfonian)
- **DPPH** – 2,2-difenylo-1-pikrylohydrazyl (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*)
- **TFC** – *total flavonoid content* (zawartość flawonoidów ogółem)
- **TPC** – *total phenolic content* (zawartość polifenoli ogółem)

2. Parametry i właściwości technologiczne ciasta i pieczywa

- **DDT** – *dough development time* (czas rozwoju ciasta)
- **DS** – *degree of softening* (stopień rozmiękczenia ciasta)
- **FQN** – *farinograph quality number* (liczba jakości farinograficznej)
- **ST** – *stability* (stabilność ciasta)
- **TPA** – *texture profile analysis* (analiza profilu tekstury)
- **WA** – *water absorption* (wodochłonność)
- **WAI** – *water absorption index* (wskaźnik wodochłonności)
- **WSI** – *water solubility index* (wskaźnik rozpuszczalności suchej masy w wodzie)

3. Składniki odżywcze i frakcje błonnika

- **IDF** – *insoluble dietary fibre* (frakcja błonnika nierozpuszczalna)
- **SDF** – *soluble dietary fibre* (frakcja błonnika rozpuszczalna)
- **TDF** – *total dietary fibre* (błonnik ogółem)
- **s.m.** – sucha masa
- **m.m.** – masa mokra (oznaczenie stosowane przy podawaniu zawartości β -glukanów)

4. Rodzaje chleba zastosowane w badaniach

- **BC** – chleb z dodatkiem *Ophiocordyceps sinensis* (Berk.) G.H. Sung, J.M. Sung, Hywel-Jones & Spatafora
- **BR** – chleb z dodatkiem *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst.
- **BS** – chleb z dodatkiem *Hericium erinaceus* (Bull.) Pers.
- **CON** – chleb kontrolny (bez dodatków)

5. Gatunki grzybów wykorzystywanych jako dodatki

- ***G. lucidum* (GL)** – *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst.
- ***H. erinaceus* (HE)** – *Hericiium erinaceus* (Bull.) Pers.
- ***O. sinensis/C.sinensis* (OS)** – *Ophiocordyceps sinensis* (Berk.) G.H. Sung, J.M. Sung, Hywel-Jones & Spatafora; *Cordyceps sinensis*

6. Czynniki neurotroficzne i białka sygnałowe

- **BDNF** – *brain-derived neurotrophic factor* (czynnik neurotroficzny pochodzenia mózgowego)
- **CDNF** – *cerebral dopamine neurotrophic factor* (czynnik neurotroficzny pochodzenia komórkowego)
- **CREB** – *cAMP response element-binding protein* (białko wiążące element odpowiedzi na cAMP)
- **MANF** – *mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor* (czynnik neurotroficzny pochodzenia mezencefalicznego)
- **MAPK** – *mitogen-activated protein kinase* (kinaza białkowa aktywowana mitogenem)
- **NGF** – *nerve growth factor* (czynnik wzrostu nerwów)
- 7. Układ odpornościowy i neuroendokrynnny
- **HPA** – *hypothalamic–pituitary–adrenal axis* (oś podwzgórze–przysadka–nadnercza)
- **NK** – *natural killer cells* (komórki cytotoksyczne)

Streszczenie

W ostatnich latach obserwuje się rosnące zainteresowanie wykorzystaniem grzybów leczniczych jako naturalnych źródeł składników bioaktywnych w produkcji żywności funkcjonalnej. Celem niniejszej rozprawy doktorskiej była ocena wpływu częściowej substytucji mąki pszennej proszkami z owocników *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst. (*G. lucidum*), *Hericium erinaceus* (Bull.) Pers. (*H. erinaceus*) oraz *Ophiocordyceps sinensis* (Berk.) G.H. Sung, J.M. Sung, Hywel-Jones & Spatafora (*O. sinensis*, *C. sinensis*) na cechy technologiczne, właściwości fizykochemiczne, potencjał antyoksydacyjny i jakość sensoryczną pieczywa pszennego. Eksperyment przeprowadzono w trzech modelach badawczych, stosując czterostopniową substytucję mąki na poziomach 3%, 6%, 9% i 12% (w/w).

Proszki grzybowe charakteryzowały się większą zawartością błonnika pokarmowego, białka ogółem, składników mineralnych i tłuszczu w porównaniu do mąki pszennej typ 750 przy jednocześnie mniejszej zawartości węglowodanów przyswajalnych i niższej kaloryczności. Wszystkie trzy komponenty grzybowe wprowadzone do maki wpłynęły na zwiększenie jej wodochłonności (WA) i wydłużenie czasu rozwoju ciasta (DDT). *G. lucidum* i *H. erinaceus* pozytywnie oddziaływały na stabilność ciasta (ST), natomiast *O. sinensis* obniżał tę stabilność i jednocześnie zwiększał stopień rozmiękczenia (DS). Największy wskaźnik wodochłonności (WAI) odnotowano dla pieczywa z *G. lucidum* natomiast najwyższą rozpuszczalnością suchej masy (WSI) cechowało się pieczywo z dodatkiem *O. sinensis*. Wprowadzenie do pieczywa komponentów grzybowych przyczyniło się do zwiększenia wartości odżywczej. Znacząco wzrosła zawartość błonnika pokarmowego, białka ogółem, składników mineralnych (Fe, Mg, Zn, Se, Cu, Ca) oraz β -glukanów. Zmniejszeniu uległa strawność skrobi i białka. Aktywność antyoksydacyjna wzrosła we wszystkich wariantach pieczywa z udziałem komponentów grzybowych, a najwyższy potencjał przeciwutleniający, wynikający z największej koncentracji związków polifenolowych odnotowano dla próbek z *O. sinensis*. Analiza sensoryczna dowiodła, że wszystkie warianty pieczywa z udziałem komponentów grzybowych cechują się akceptowalną jakością sensoryczną, przy czym najwyższe noty ogólne uzyskały próbki chleba z 6–9% dodatkiem *O. sinensis*. Zmiany barwy (pociemnienie i przesunięcie w kierunku tonów ciepłych - żółto-czerwonych) oraz tekstury (zwiększona twardość i żujność) były zauważalne, lecz nie dyskwalifikowały pieczywa.

Uzyskane wyniki potwierdzają potencjał grzybów leczniczych jako źródła składników bioaktywnych oraz wskazują, że mogą one stanowić cenny komponent w projektowaniu pieczywa o podwyższonej wartości odżywczej i właściwościach prozdrowotnych.

Słowa kluczowe: grzyby lecznicze, pieczywo funkcjonalne, *Ganoderma lucidum*, *Hericium erinaceus*, *Ophiocordyceps sinensis*, β -glukany, właściwości przeciwutleniające, parametry farinograficzne

Abstract

In recent years, there has been a growing interest in the use of medicinal mushrooms as natural sources of bioactive compounds in the production of functional foods. The aim of this doctoral dissertation was to evaluate the impact of partial substitution of wheat flour with powders derived from fruiting bodies of *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst. (*G. lucidum*), *Hericium erinaceus* (Bull.) Pers. (*H. erinaceus*), and *Ophiocordyceps sinensis* (Berk.) G.H. Sung, J.M. Sung, Hywel-Jones & Spatafora (*O. sinensis*) on the technological, physicochemical, functional, and sensory properties of wheat bread. The experiment was conducted in three research models, applying a four-level substitution of flour at 3%, 6%, 9%, and 12% (w/w).

The mushroom powders were characterized by higher contents of dietary fibre, protein, minerals, and fat compared with type 750 wheat flour, while simultaneously containing lower levels of digestible carbohydrates and exhibiting reduced caloric value. All three mushroom components contributed to increased water absorption (WA) and prolonged dough development time (DDT). *G. lucidum* and *H. erinaceus* had a positive effect on dough stability (ST), whereas *O. sinensis* reduced stability while simultaneously increasing the degree of softening (DS). The highest water absorption index (WAI) was recorded for bread enriched with *G. lucidum*, while the greatest water solubility index (WSI) was observed in bread supplemented with *O. sinensis*. The incorporation of mushroom powders enhanced the nutritional value of the bread, with significant increases in dietary fibre, total protein, minerals (Fe, Mg, Zn, Se, Cu, Ca), and β -glucans. In contrast, starch and protein digestibility decreased. Antioxidant activity increased in all bread variants containing mushroom powders, with the highest antioxidant potential – associated with the greatest concentration of polyphenolic compounds – recorded for samples with *O. sinensis*. Sensory analysis confirmed the acceptability of bread at all substitution levels, with the highest overall scores obtained for loaves supplemented with 6–9% *O. sinensis*. Changes in colour (darkening and a shift towards warm yellow–red hues) and texture (increased hardness and chewiness) were observed, although these did not disqualify the products.

The results confirm the potential of medicinal mushrooms as sources of bioactive compounds and demonstrate their value as functional components in the formulation of bread with enhanced nutritional value and health-promoting properties.

Keywords: medicinal mushrooms, functional bread, *Ganoderma lucidum*, *Hericium erinaceus*, *Ophiocordyceps sinensis*, β -glucans, antioxidant properties, farinograph parameters

1. Wprowadzenie teoretyczne

1.1. Grzyby lecznicze jako źródło składników bioaktywnych

W obliczu narastających wyzwań zdrowotnych, takich jak globalny wzrost zachorowań na choroby cywilizacyjne (m.in. cukrzyca typu 2, choroby układu krążenia, otyłość, choroby nowotworowe), oraz postępujących zmian demograficznych w tym starzenia się społeczeństw, coraz większą uwagę poświęca się roli żywienia w zapobieganiu i łagodzeniu przebiegu chorób przewlekłych. W tym kontekście rośnie zainteresowanie żywnością funkcjonalną, która oprócz wartości odżywczej wykazuje udokumentowane działanie prozdrowotne, m.in. przeciwzapalne, antyoksydacyjne, immunomodulujące czy neuroprotekcyjne (Valverde i in., 2015; Kumar i in., 2021).

Do szczególnie obiecujących źródeł naturalnych składników bioaktywnych należą grzyby lecznicze, od tysięcy lat wykorzystywane w tradycyjnej medycynie azjatyckiej - zwłaszcza chińskiej, japońskiej i tybetańskiej. Współczesne badania naukowe potwierdzają ich wysoki potencjał biologiczny i terapeutyczny, wskazując na korzystne oddziaływanie wybranych gatunków tych grzybów na układ odpornościowy, nerwowy, sercowo-naczyniowy i metaboliczny (Feeney i in., 2014; Elkhateeb i in., 2019; Yu i in., 2023a; Yu i in., 2023b).

Grzyby lecznicze stanowią źródło licznych metabolitów wtórnych o szerokim spektrum aktywności farmakologicznej. Do najczęściej analizowanych związków należą:

- polisacharydy (głównie β -glukany): wykazujące silne działanie immunostymulujące i przeciwnowotworowe (Wani i in., 2021),
- triterpenoidy: o właściwościach hepatoprotekcyjnych, cytotoksycznych i przeciwzapalnych (Bishop i in., 2015; Joshi, 2023),
- fenole i związki aromatyczne, wykazujące właściwości antyoksydacyjne (Valverde i in., 2015; Das i in., 2021),
- ergosterol i jego pochodne: będące prekursorami witaminy D₂ (Feeney i in., 2014; Eliaś i in., 2024),
- witaminy z grupy B, witamina E oraz pierwiastki śladowe (m.in. selen, cynk, miedź) (Reguła i Siwulski, 2007).

Warto podkreślić, że skład chemiczny i profil metabolitów wtórnych mogą znacząco różnić się w zależności od gatunku, części grzyba (owocnik vs. grzybnia), metody uprawy oraz warunków przetwarzania np. suszenia czy ekstrakcji (Yu i in., 2023a; Yu i in., 2023b).

Z punktu widzenia technologii żywności i nutraceutyki istotną zaletą grzybów leczniczych jest ich wysoki profil bezpieczeństwa spożycia, znaczna biodostępność substancji aktywnych biologicznie oraz wszechstronność zastosowań. Można je wykorzystywać zarówno w formie świeżej lub suszonej, w postaci proszków, ekstraktów wodnych/alkoholowych czy kapsułek, jako dodatki do różnych produktów spożywczych np.: wypieków czy napojów (Friedman, 2015; Mathew i in., 2025; Mayirnao i in., 2025). Warto jednak podkreślić, że grzyby, podobnie jak owady, zawierają chitynę - polisacharyd strukturalny zaliczany do składników błonnika pokarmowego, który ze względu na swoją oporność na trawienie może ograniczać strawność białka i biodostępność niektórych składników mineralnych (Rodríguez-Rodríguez i in., 2022). Ponadto u osób z predyspozycjami alergicznymi opisywano możliwość wystąpienia reakcji związanych z obecnością chityny (Komi, 2018). Z tego względu stosowanie standaryzowanych surowców oraz odpowiednie dawkowanie stanowią podstawę bezpiecznego wykorzystania grzybów w produktach spożywczych.

W niniejszej rozprawie skupiono się na trzech szczególnie cenionych gatunkach grzybów leczniczych, które wykazują zarówno silne działanie biologiczne, jak i potencjał aplikacyjny w przemyśle spożywczym – zwłaszcza piekarskim:

- *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst. – lakownica lśniąca (Reishi),
- *Hericium erinaceus* (Bull.) Pers. – soplówka jeżowata (Lion's Mane),
- *Ophiocordyceps sinensis* (Berk.) G.H. Sung, J.M. Sung, Hywel-Jones & Spatafora – maczużnik chiński (*Cordyceps sinensis*)

Grzyby te stanowią bogate źródło substancji czynnych, których działanie zostało potwierdzone zarówno w badaniach *in vitro*, jak i *in vivo*. Ich wykorzystanie w żywności funkcjonalnej może stanowić realną alternatywę dla syntetycznych dodatków biologicznie czynnych. Ze względu na unikalny skład, szerokie spektrum działania oraz dobrą tolerancję przez organizm, uznawane są dziś za składniki przyszłości w kontekście rozwoju diety prewencyjnej i prozdrowotnej (Bhardwa i in., 2015; Abdelkader i in., 2024; Sarkar i in., 2025).

1.2. Charakterystyka wybranych gatunków grzybów leczniczych

1.2.1. *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst.

Ganoderma lucidum (Curtis) P. Karst. (*G. lucidum*) (ryc. 1a), powszechnie znany jako Reishi lub Lingzhi, to gatunek grzyba o bogatej historii zastosowania w medycynie tradycyjnej krajów Azji Wschodniej, szczególnie w Chinach i Japonii. Przez ponad dwa tysiące lat symbolizował długowieczność, witalność oraz zdrowie (Bishop i in., 2015; Hapuarachchi i in., 2018). Współczesne badania potwierdzają liczne właściwości prozdrowotne przypisywane temu grzybowi, czyniąc *G. lucidum* jednym z najlepiej poznanych i najczęściej stosowanych grzybów leczniczych na świecie (Sarkar i in., 2025).

Owocniki *G. lucidum* zawierają ponad 400 związków bioaktywnych, w tym polisacharydy (głównie β -(1 $\rightarrow$ 3),(1 $\rightarrow$ 6)-glukany), triterpenoidy (takie jak kwasy ganoderowe i lucydenowe), sterole (ergosterol, lanosterol), związki fenolowe, peptydy, białka oraz liczne makro- i mikroelementy (Cör i in., 2018; Kou i in., 2023; Karunarathna i in., 2024).

Szczególną rolę odgrywają nierozpuszczalne w wodzie β -(1 $\rightarrow$ 3),(1 $\rightarrow$ 6)-glukany, które wykazują silne działanie immunomodulujące, przeciwnowotworowe i przeciwutleniające (Smina i in., 2017; Kladar i in., 2016; Kou i in., 2023). Do kluczowych związków bioaktywnych należą również triterpenoidy, charakteryzujące się działaniem hepatoprotekcyjnym, antyproliferacyjnym i hipolipemicznym (Saltarelli i in., 2015; Lu i in., 2020). Obecne w tym gatunku grzyba związki fenolowe, m.in. kwas galusowy i kwas ferulowy, dodatkowo wzmacniają jego potencjał antyoksydacyjny (Ahmad i in., 2021; Kou i in., 2023).

Ekstrakty z *G. lucidum* wykazują także korzystny wpływ na gospodarkę węglowodanową i lipidową, co zostało potwierdzone w badaniach klinicznych z udziałem pacjentów z cukrzycą typu 2 (Lu i in., 2020; Zhang i in., 2024). Grzyb ten wykazuje również działanie adaptogenne, regulując oś podwzgórze–przysadka–nadnercza (HPA) i obniżając poziom kortyzolu, co może poprawiać zdolność organizmu do radzenia sobie ze stresem (Shevchuk i in., 2023).

Właściwości biologiczne *G. lucidum* zależą od warunków środowiskowych, etapu rozwoju owocników oraz zastosowanej metody ekstrakcji substancji bioaktywnych (Hapuarachchi i in., 2018; Saltarelli i in., 2015). Zastosowanie nowoczesnych technologii, takich jak ekstrakcja mikrofalowa czy enkapsulacja nanocząsteczkowa, pozwala zwiększyć stabilność i biodostępność związków biologicznie czynnych obecnych w tym grzybie (Kou i in., 2023; Qin i in., 2024).

W ostatnich latach rośnie zainteresowanie wpływem ekstraktów z *G. lucidum* na mikrobiotę jelitową, co może mieć istotne znaczenie w kontekście osi jelito–mózg i potencjalnego wpływu na zdrowie psychiczne oraz funkcje neurologiczne (Qin i in., 2024). Pod względem wartości odżywczej, suszone owocniki grzyba zawierają w 100 g 7,5–12,99 g białka, do 5,8 g tłuszczu, 43–82 g węglowodanów przyswajalnych oraz do 15 g błonnika pokarmowego (Chaturvedi i in., 2018; Parepalli i in., 2021; Dimopoulou i in., 2022). Niska wartość energetyczna, przy jednoczesnej wysokiej koncentracji substancji biologicznie czynnych, kwalifikuje *G. lucidum* jako przedstawiciela tzw. „żywności nowej generacji” (Kladar i in., 2016; Kou i in., 2023).

1.2.2. *Hericium erinaceus* (Bull.) Pers.

Hericium erinaceus (Bull.) Pers. (*H. erinaceus*) (ryc. 1b), znany również jako Lion's Mane, yamabushitake, hóutógū lub sopłówka jeżowata to jadalny grzyb należący do klasy Basidiomycota, odznaczający się szerokim spektrum aktywności biologicznej. Od wieków wykorzystywany jest w tradycyjnej medycynie chińskiej jako środek wspomagający zdrowie układu nerwowego i trawiennego (Blagodatski i in., 2018; Gong i in., 2020).

Dotychczasowe badania potwierdzają właściwości neuroprotektyjne, przeciwnowotworowe, przeciwutleniające, przeciwcukrzycowe oraz immunomodulujące *H. erinaceus*. Efekty te wynikają z obecności licznych metabolitów wtórnych i złożonego profilu chemicznego, obejmującego m.in. polisacharydy (w tym β -(1 $\rightarrow$ 3),(1 $\rightarrow$ 6)-D-glukany), związki fenolowe (np. kwas galusowy), sterole (ergosterol), wielonienasycone kwasy tłuszczowe, bioaktywne peptydy oraz glikoproteiny (Contato i Conte, 2025).

Zawartość β -glukanów w suchej masie grzyba może sięgać nawet 17,4%, co dodatkowo podkreśla potencjał immunostymulujący tego gatunku (Keerthana i in., 2025). Do najważniejszych związków bioaktywnych izolowanych z *H. erinaceus* należą erinacyny (A–K), syntetyzowane przez grzybnię, oraz hericenony (A–H), obecne w owocnikach. Wykazano, że związki te indukują syntezę czynnika wzrostu nerwów (NGF), który odgrywa kluczową rolę w regulacji neurogenezy, neuroplastyczności oraz ochronie komórek nerwowych (Mori i in., 2009; Nagano i in., 2010; Chong i in., 2020).

W konsekwencji, *H. erinaceus* budzi rosnące zainteresowanie jako potencjalny środek wspomagający leczenie chorób neurodegeneracyjnych, takich jak choroba Alzheimera czy Parkinsona. Związki te wykazują także zdolność do zmniejszania cytotoksyczności β -amyloidu ($A\beta$) oraz ochrony komórek nerwowych przed stresem oksydacyjnym i stresem siateczki śródplazmatycznej (Włodarczyk i in., 2020; Szućko-Kociuba i in., 2023).

Aktywność antyoksydacyjna *H. erinaceus* wynika z jego zdolności do eliminacji reaktywnych form tlenu (ROS) oraz indukcji endogennych enzymów antyoksydacyjnych, co stanowi istotny mechanizm ochrony komórek. Co ciekawe, poziom tej aktywności oraz zawartość substancji bioaktywnych zmieniają się w zależności od fazy rozwojowej grzyba – najwyższe wartości odnotowano w 21. dniu uprawy (Tachabenjarong i in., 2021).

Erinacyny oraz frakcje polisacharydowe wykazują również silne działanie przeciwnowotworowe, m.in. poprzez indukcję apoptozy komórek nowotworowych oraz aktywację odpowiedzi immunologicznej z udziałem naturalnych komórek cytotoksycznych (NK) i makrofagów (Banerjee i in., 2024). Właściwości przeciwcukrzycowe obejmują poprawę wrażliwości tkanek na insulinę, obniżenie stężenia glukozy i cholesterolu LDL, a także działanie hepatoprotekcyjne i przeciwzapalne (Lee i in., 2020).

Grzyb ten odznacza się również wysoką wartością odżywczą. Suszone owocniki *H. erinaceus* zawierają średnio 7,03% wody, 57,0% węglowodanów przyswajalnych, 22,3% białka, 3,5% tłuszczu, 3,3–7,8% błonnika pokarmowego oraz 7,1% popiołu (Chaturvedi i in., 2018; Dimopoulou i in., 2022). Tak zrównoważony skład chemiczny, w połączeniu z niską wartością energetyczną i wysoką koncentracją substancji biologicznie czynnych, czyni *H. erinaceus* doskonałym surowcem w produkcji w żywności funkcjonalnej.

Ze względu na wyjątkowe właściwości farmakologiczne oraz bogactwo bioaktywnych składników, *H. erinaceus* stanowi obecnie przedmiot intensywnych badań w kontekście jego wykorzystania w profilaktyce i terapii chorób przewlekłych, zwłaszcza

1.2.3. *Ophiocordyceps sinensis* (Berk.) G.H. Sung, J.M. Sung, Hywel-Jones & Spatafora

Ophiocordyceps sinensis (Berk.) G.H. Sung, J.M. Sung, Hywel-Jones & Spatafora (*O. sinensis*) (ryc. 1c), to pasożytniczy grzyb makroskopowy, znany również jako „zimowy robak”, „letnia trawa” czy „maczużnik chiński”. Występuje naturalnie w wysokogórskich rejonach Himalajów i Tybetu (Sharma i in., 2024). Od wieków zajmuje ważne miejsce w medycynie tradycyjnej Azji, gdzie był stosowany jako środek tonizujący, wzmacniający i wspierający długowieczność.

Grzyb ten cechuje się wysoką wartością odżywczą - w 100 g suchej masy zawiera 21,9–23,1 g białka, 24,2–49,3 g węglowodanów przyswajalnych, 5,5–8,2 g tłuszczu, 7,7 g błonnika pokarmowego oraz 13,3 g popiołu (Chaturvedi i in., 2018; Dimopoulou i in., 2022). Relatywnie wysoka zawartość białka, zbilansowany profil aminokwasów, wśród których dominują kwas glutaminowy, kwas asparaginowy, lizyna, arginina i histydyna, obecność wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, witamin z grupy B (B_1 , B_2 , B_{12}), witaminy E oraz szeregu niezbędnych pierwiastków śladowych dodatkowo podnoszą wartość funkcjonalną *O. sinensis* (Hsu i in., 2002; Sharma i in., 2024). Niska wartość energetyczna (50–70 kcal/100 g świeżej masy) oraz wysoka zawartość błonnika pokarmowego czynią ten gatunek grzyba odpowiednim składnikiem diety sprzyjającej utrzymaniu prawidłowej masy ciała oraz regulacji procesów metabolicznych (Liu i in., 2015; Jędrejko i in., 2024).

Pod względem farmakologicznym *O. sinensis* jest źródłem wielu związków bioaktywnych, takich jak: nukleozydy (m.in. kordycepina i adenozyna), polisacharydy (w tym β -(1 $\rightarrow$ 3),(1 $\rightarrow$ 6)-glukany), sterole (ergosterol) oraz flawonoidy, wykazujących szerokie spektrum działania biologicznego (Liu i in., 2015; Sharma i in., 2024). Szczególne znaczenie przypisuje się kordycepinie – nukleozydowi strukturalnie zbliżonemu do adenozyny – znanemu z właściwości przeciwzapalnych, immunomodulacyjnych, neuroprotekcyjnych i przeciwnowotworowych (Chen i in., 2013; Sharma i in., 2024).

Kordycepina działa poprzez modulację kluczowych szlaków sygnałowych, takich jak NF- κ B (jądrowy czynnik zwiększający transkrypcję łańcucha lekkiego κ w aktywowanych limfocytach B) oraz MAPK (kinaza białkowa aktywowana mitogenem), ograniczając aktywność procesów neurozapalnych, istotnych w patogenezie choroby Alzheimera i Parkinsona (Chen i in., 2013). Istotną rolę odgrywają również polisacharydy, które wykazują działanie neuroochronne i wspierające funkcje poznawcze (Zhang i in., 2024).

W badaniach na modelach zwierzęcych wykazano, że polisacharydy *O. sinensis* modulują skład mikrobioty jelitowej i wspierają odporność jelitową u myszy z uszkodzeniem przewodu pokarmowego wywołanym cyklofosfamidem, co może mieć znaczenie w kontekście regulacji osi jelito–mózg (Ying i in., 2020).

Dzięki połączeniu wysokiej wartości odżywczej i wielokierunkowego działania biologicznego, *O. sinensis* stanowi cenny składnik żywności funkcjonalnej oraz obiecujący surowiec w kontekście nowoczesnej fitomedycyny i nutraceutyki.



Rycina 1. Owocniki grzybów leczniczych wykorzystanych w badaniach: a.) *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst. (*G. lucidum*), b.) *Herichium erinaceus* (Bull.) Pers (*H. erinaceus*) oraz c.) *Ophiocordyceps sinensis* (Berk.) G.H. Sung, J.M. Sung, Hywel-Jones & Spatafora (*O. sinensis*).

Źródła fotografii: *G. lucidum* i *H. erinaceus* - <http://www.grzyby.pl>; *O. sinensis* - <http://www.planto.eu>.

1.2.4. Charakterystyka porównawcza wybranych grzybów leczniczych

W celu usystematyzowania informacji dotyczących trzech wcześniej opisanych gatunków grzybów leczniczych – *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst. (*G. lucidum*), *Herichium erinaceus* (Bull.) Pers. (*H. erinaceus*) oraz *Ophiocordyceps sinensis* (Berk.) G.H. Sung, J.M. Sung, Hywel-Jones & Spatafora (*O. sinensis*) – opracowano tabelę podsumowującą ich kluczowe właściwości biologiczne i aplikacyjne (tab. 1).

Zestawienie obejmuje najważniejsze cechy fitochemiczne i farmakologiczne analizowanych grzybów, w tym główne metabolity wtórne, dominujące związki bioaktywne, mechanizmy działania farmakologicznego, a także potencjał neuroprotektyny, przeciwnowotworowy oraz wpływ na mikrobiotę jelitową. W kontekście najnowszych badań uwzględniono również oddziaływanie ekstraktów grzybowych na oś jelito–mózg, w tym ich zdolność do modulowania kluczowych szlaków sygnałowych, takich jak:

- CREB/BDNF – szlak białka wiążącego element odpowiedzi na cAMP (CREB) oraz czynnika neurotroficznego pochodzenia mózgowego (BDNF),

- Nrf2 – czynnik jądrowy erytroidowy 2 typu 2,
- NF-κB – jądrowy czynnik kappa B,
- MAPK – kinaza białkowa aktywowana mitogenem.

Uwzględniono także wpływ na ekspresję neurotroficznych czynników wzrostu, takich jak:

- BDNF (czynnik neurotroficzny pochodzenia mózgowego),
- CDNF (czynnik neurotroficzny pochodzenia komórkowego),
- MANF (czynnik neurotroficzny pochodzenia mezencefalicznego).

Przedstawione zestawienie stanowi narzędzie umożliwiające porównawczą i syntetyczną analizę właściwości poszczególnych gatunków, ułatwiające ocenę ich potencjału terapeutycznego i żywieniowego – zwłaszcza w kontekście prewencji chorób cywilizacyjnych oraz wspomagania zdrowia psychoneurologicznego.

Tabela 1. Charakterystyka porównawcza wybranych gatunków grzybów leczniczych (*G. lucidum*, *H. erinaceus*, *O. sinensis*)

Kryterium	<i>G. lucidum</i> (lakownica lśniąca; Reishi)	<i>H. erinaceus</i> (soplówka jeżowata; Lion's Mane)	<i>O. sinensis</i> (<i>Cordyceps sinensis</i> ; maczużnik chiński)	Bibliografia
Główne metabolity wtórne	Polisacharydy, triterpenoidy, fenole, sterole	Polisacharydy, erinacyny, hericenony, sterole, fenole	Nukleozydy (kordycepina), polisacharydy, sterole, flawonoidy	Kladar i in., 2016; Cör i in., 2018
Dominujące związki bioaktywne	Polisacharydy, glikoproteiny (lektyny), fenole, steroidy, triterpenoidy, nukleotydy, kwasy tłuszczowe, witaminy, elementy mineralne, β -(1 $\rightarrow$ 3),(1 $\rightarrow$ 6)-glukany	Hericeryny, erinacyny, glikoproteiny, polisacharydy, β -(1 $\rightarrow$ 3),(1 $\rightarrow$ 6)-glukany, sterole, laktony, kwasy tłuszczowe, związki lotne (np. kwas heksadekanowy, kwas linolowy, fenyloacetaldehyd, benzaldehyd)	Kordycepina (3'-deoksyadenozyna, nukleozyd purynowy), kordymina (peptyd), adenozyna, kwas kordycepiny (D-mannitol), trehaloza, polisacharyd, β -(1 $\rightarrow$ 3),(1 $\rightarrow$ 6)-glukany, saponiny, wielonienasycone kwasy tłuszczowe, ergosterol, δ - tokoferol, kwas hydroksybenzoesowy	Saltarelli i in., 2015; Ahmad i in., 2021
Główne kierunki działania farmakologicznego	Immunomodelujące, przeciwnowotworowe, przeciwwirusowe (w tym HIV), przeciwbakteryjne, przeciwzapalne, działanie hipotensyjne, kardioprotekcyjne, nefroprotektoryjne, hepatoprotekcyjne, neurotoniczne, przeciwastmatyczne	Przeciwnowotworowe, antyoksydacyjne, przeciwstarzeniowe, immunomodelujące, neurotoniczne, przeciwastmatyczne, działanie hipoglikemiczne oraz hipocholesterolemiczne	Przeciwnowotworowe, hipoglikemiczne, hipocholesterolemiczne, przeciwzapalne, antyoksydacyjne, przeciwstarzeniowe, przeciwdrobnoustrojowe, przeciwdrgawkowe, ochronne na układ sercowo-naczyniowy (zmniejsza arytmie serca i przewlekłą niewydolność serca)	Kyanko i in., 2013; Lu i in., 2020; Zhang i in., 2024

Kryterium	<i>G. lucidum</i> (lakownica lśniąca; Reishi)	<i>H. erinaceus</i> (soplówka jeżowata; Lion's Mane)	<i>O. sinensis</i> (<i>Cordyceps sinensis</i> ; maczuźnik chiński)	Bibliografia
Potencjał neuroprotekc- cyjny	Pośredni (obniżenie korty- zolu, regulacja osi HPA)	Bardzo wysoki (indukcja NGF, neurogeneza, ochrona neuronów)	Wysoki (modulacja NF-κB, MAPK, ochrona przed stresem oksydacyjnym)	Shevchuk i in., 2023; Qin i in., 2024
Potencjał przeciwnowo- tworowy	Wysoki (działanie apoptozy oraz triterpenoidów)	Wysoki (apoptoza komórek nowo- tworowych, immunostymulacja)	Wysoki (działanie kordycepiny, aktywa- cja odporności)	Saltarelli i in., 2015; Lu i in., 2020
Wpływ na mikrobiotę jelitową	Związki bioaktywne (m.in. triterpenoidy, polisacharydy) modulują mikrobiotę; bezko- mórkowy supernatant wpływa na ekspresję czynni- ków neurotroficznych (BDNF, CDNF, MANF) i ak- tywność osi jelito–mózg	Obecne hericenony i erinacyny wy- kazują zdolność do wpływania na metabolizm mikrobioty; M-CFS aktywuje szlak CREB/BDNF oraz białka szoku cieplnego, wspierając potencjał neuroprotekcyny przez oś jelito–mózg	Wysoki (modulacja mikrobioty, odpor- ność jelitowa)	Qin i in., 2024; Koszła i in., 2025
Zastosowanie w żywności funkcjonalnej	Proszki, ekstrakty, kapsułki, dodatki do wypieków i napo- jów	Suplementy, napoje funkcjonalne, dodatki do żywności wspomagają- cej funkcje kognitywne	Kapsułki, ekstrakty, dodatek do żywności wspomagającej odchudzanie	Friedman, 2015; Mathew i in., 2025

NGF – czynnik wzrostu nerwów, Aβ – beta-amyloid, NK – naturalne komórki cytotoksyczne, NF-κB – jądrowy czynnik kappa B, MAPK – kinaza białkowa aktywowana mitogenem, HPA – oś podwzgórze–przysadka–nadnercza, BDNF – czynnik neurotroficzny pochodzenia mózgowego, CDNF – czynnik neurotroficzny pochodzenia komórkowego, MANF – czynnik neurotroficzny pochodzenia mezencefalicznego.

1.3. Pieczywo jako matryca żywnościowa do wprowadzania komponentów funkcjonalnych

Pieczywo jest jednym z podstawowych produktów żywnościowych w diecie. W Polsce, według danych Głównego Urzędu Statystycznego, w 2022 roku średnie miesięczne spożycie pieczywa wynosiło 2,5 kg na osobę, co przekłada się na około 30 kg rocznie. Produkt ten pozostaje najczęściej spożywanym wyrobem zbożowym w kraju. Ze względu na swoją wysoką popularność, akceptowalność sensoryczną oraz prosty skład surowcowy, chleb stanowi atrakcyjną matrycę do wzbogacania w składniki bioaktywne o działaniu prozdrowotnym (Poutanen i in., 2009; GUS, 2023; Corfield i in., 2025).

Najczęściej spożywanym rodzajem pieczywa jest chleb pszenny wytwarzany z rafinowanej mąki jasnej, który charakteryzuje się ograniczoną wartością odżywczą wynikającą z przewagi łatwo przyswajalnych węglowodanów oraz niskiej zawartości białka, błonnika pokarmowego, witamin z grupy B, witaminy E, składników mineralnych i innych związków bioaktywnych (Bredariol i in., 2020; Goel i in., 2021; Wirkijowska i in., 2023). Ponadto należy on do produktów o wysokim indeksie i ładunku glikemicznym, co wskazuje na jego potencjalną zdolność do szybkiego zwiększania stężenia glukozy we krwi po spożyciu (Naveed i in., 2024; Skřivan i in., 2024).

Dodatkowym ograniczeniem pieczywa, oprócz aspektów żywieniowych, są procesy czerstwienia oraz podatność na rozwój drobnoustrojów, co w efekcie skraca jego przydatność do spożycia (Diowksz i in., 2024). Z tego względu uzasadnione jest poszukiwanie komponentów wzbogacających, które zwiększą wartość odżywczą chleba i staną się źródłem błonnika pokarmowego oraz innych składników bioaktywnych o potwierdzonym korzystnym wpływie na zdrowie człowieka, a jednocześnie mogą przyczynić się do wydłużenia jego trwałości poprzez m.in. ograniczanie rozwoju pleśni i drożdży oraz spowalnianie procesu czerstwienia (Ahmad i in., 2021; Diowksz i in., 2024; Qin i in., 2024).

W kontekście żywności funkcjonalnej pieczywo może stanowić również dogodny nośnik składników takich jak błonnik pokarmowy, przeciwutleniacze, prebiotyki, bioaktywne peptydy, witaminy i składniki mineralne w formie naturalnej i łatwo przyswajalnej dla organizmu konsumenta (Falsafi i in., 2025). Dodatkowo, struktura ciasta chlebowego oparta głównie na skrobi i białkach glutenowych sprzyja inkorporacji dodatków w postaci sproszkowanej lub płynnej bez konieczności modyfikowania podstawowej technologii wypieku (Suchintita i in., 2023).

Istotnym argumentem przemawiającym za fortyfikacją pieczywa składnikami bioaktywnymi pochodzenia grzybowego (np. β -glukanami, triterpenoidami, hericenonami, kordycepiną) jest ich odporność na działanie wysokiej temperatury. W szczególności polisacharydy wykazują wysoką stabilność termiczną w zakresie temperatur typowych dla procesu wypieku, co pozwala na zachowanie ich aktywności biologicznej w gotowym produkcie (Yu i in., 2023b).

Wprowadzanie grzybów do produktów piekarskich wpisuje się również w aktualne trendy rynkowe, zakładające wykorzystanie naturalnych surowców o udokumentowanym działaniu funkcjonalnym. Zastosowanie proszków z owocników grzybów leczniczych umożliwia tworzenie pieczywa, które poza podstawową wartością odżywczą może wykazywać działanie wspierające odporność, przeciwzapalne czy neuroprotekcyjne (Friedman, 2015; Zhang i in., 2021). Co więcej, pieczywo wzbogacone w składniki pochodzenia grzybowego może być atrakcyjne dla konsumentów stosujących diety prewencyjne, wegetariańskie lub redukcyjne, ze względu na niską kaloryczność komponentów grzybowych oraz ich naturalne pochodzenie. Z punktu widzenia producenta, istotną zaletą jest fakt, że wzbogacenie pieczywa w surowce grzybowe nie wymaga specjalistycznego sprzętu, co czyni ten kierunek fortyfikacji zarówno innowacyjnym, jak i realnym do wdrożenia w warunkach przemysłowych.

1.4. Zastosowanie grzybów leczniczych w modyfikacji właściwości żywnościowych pieczywa

Grzyby takie jak *H. erinaceus*, *G. lucidum* oraz *O. sinensis* wykazują wielokierunkowe działanie biologiczne, potwierdzone licznymi badaniami przedklinicznymi i klinicznymi. Zawarte w nich substancje stanowią cenne źródło związków wspierających funkcje metaboliczne, odpornościowe i neuroprotekcyjne (Cha i in., 2024). Wśród nich szczególną rolę pełnią β -glukany – polisacharydy o złożonej strukturze, wykazujące właściwości immunomodulujące i prebiotyczne. Grzybowe glukany, zbudowane z reszt glukozy połączonych wiązaniami β -(1 $\rightarrow$ 3) z rozgałęzieniami β -(1 $\rightarrow$ 6), różnią się istotnie od glukanów zbożowych (np. z owsa czy jęczmienia) (tab. 2). W glukanach zbożowych występują wiązania β -(1 $\rightarrow$ 3)(1 $\rightarrow$ 4), a ich działanie opiera się głównie na mechanizmach fizykochemicznych (Seo i in., 2019; De Marco Castro i in., 2020; Timm i in., 2023a, 2023b).

Grzybowe β -glukany w porównaniu do zbożowych cechują się wyższym stopniem rozgałęzienia i większą masą cząsteczkową, co przekłada się na ich zdolność do bezpośredniego oddziaływania z receptorami układu odpornościowego (takimi jak Dectin-1 czy CR3),

a także silniejsze działanie przeciwnowotworowe i przeciwzapalne (Varnosfaderani i in., 2024). Ich aktywność biologiczna zależy w dużej mierze od źródła pochodzenia, sposobu przetworzenia biomasy oraz warunków technologicznych. Co istotne, β -(1 $\rightarrow$ 3),(1 $\rightarrow$ 6)-glukany mogą również modulować skład mikrobioty jelitowej oraz wspierać produkcję krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych (SCFA), takich jak maślan, octan i propionian. Związki te z kolei wywierają korzystny wpływ na barierę jelitową, metabolizm lipidów i glukozy oraz homeostazę immunologiczną (Campos-Perez i Martinez-Lopez, 2021; Tekin i Dincer, 2023).

Włączenie proszków grzybowych do receptur pieczywa może prowadzić do modyfikacji jego właściwości odżywczych i fizykochemicznych. Jednym z kluczowych mechanizmów jest obniżenie strawności białka i skrobi, wynikające z obecności frakcji błonnikowych ograniczających dostępność substratów dla enzymów trawiennych. Dodatki grzybowe mogą również wspierać proces retrogradacji skrobi oraz tworzenie struktur opóźniających jej hydrolizę enzymatyczną, co w konsekwencji prowadzi do zmniejszenia poposiłkowej odpowiedzi glikemicznej i insulinowej (Alvarez-Ramirez i in., 2018; Zhou i in., 2021a, 2023b; Ucar i Kizil, 2025).

Niestrawne frakcje polisacharydowe, takie jak chityna i β -(1 $\rightarrow$ 3),(1 $\rightarrow$ 6)-glukany, zaliczane są do nierozpuszczalnej frakcji błonnika pokarmowego, podlegają fermentacji w jelicie grubym z udziałem mikroorganizmów komensalnych. W wyniku tego procesu powstają SCFA, których obecność w świetle jelita wiąże się z szeregiem korzystnych efektów metabolicznych, takich jak: regulacja łaknienia, poprawa integralności bariery jelitowej, stymulacja różnicowania limfocytów T regulatorowych oraz redukcja stanu zapalnego (Campos-Perez i Martinez-Lopez, 2021; Tekin i in., 2023).

Integracja aktualnej wiedzy z zakresu biochemii grzybów i technologii zbóż umożliwia projektowanie pieczywa o wysokim potencjale funkcjonalnym. Zastosowanie biomasy grzybowej w wypiekach może stanowić wartościowy element strategii dietoprofilaktycznej, wspierającej zdrowie populacji w kontekście narastającej częstości występowania chorób metabolicznych.

Tabela 2. Charakterystyka porównawcza β -glukanów pochodzenia grzybowego i zbożowego (opracowanie własne na podstawie: Mirończuk-Chodakowska i in., 2021; Chioru i Chirsanova, 2023; Lante i Canazza, 2023)

Właściwość / Cecha	β -glukany pochodzenia grzybowego	β -glukany pochodzenia zbożowego
Budowa chemiczna	Polisacharydy zbudowane z monomerów glukozy połączonej wiązaniami β -(1 $\rightarrow$ 3), z rozgałęzieniami β -(1 $\rightarrow$ 6) glikozydowymi	Polisacharydy zbudowane z monomerów glukozy połączonej wiązaniami β -(1 $\rightarrow$ 3) i β -(1 $\rightarrow$ 4) glikozydowymi,
Stopień rozgałęzienia	Wysoki – kluczowy dla aktywności biologicznej	Niski
Masa cząsteczkowa	Wysoka (często >100 kDa)	Niska lub średnia (<100 kDa)
Rozpuszczalność	Ograniczona – dominują frakcje nierozpuszczalne	Dobrze rozpuszczalne w wodzie
Najczęstsze źródła	Obecne w ścianach komórkowych grzybów (np. rodzaju <i>Ganoderma</i> , <i>Hericium</i> , <i>Cordyceps</i>) oraz drożdży (np. <i>Saccharomyces cerevisiae</i>); zawartość i struktura zależne od gatunku i warunków środowiskowych	Najwyższe wartości w owsie i jęczmieniu (3–7% s.m.); w pszenicy i życie zawartość niska (<0,5%); w pozostałych zbożach (np. kukurydza, ryż) ilości śladowe
Właściwości Biologiczne	Immunomodulujące, przeciwnowotworowe, przeciwutleniające	Obniżające poziom glukozy i cholesterolu, prebiotyczne, przeciwnowotworowe
Główny mechanizm działania	Aktywacja receptorów odpornościowych (Dectin-1, CR3)	Modulacja wchłaniania składników pokarmowych
Wpływ na zdrowie człowieka	Wzmacnianie odporności, działanie przeciwnowotworowe	Wspomaganie kontroli glikemii i poziomu lipidów we krwi
Zastosowanie technologiczne	Suplementy diety, żywność funkcjonalna, nutraceutyki	Produkty zbożowe, dodatki błonnikowe, żywność dietetyczna, nutraceutyki
Stabilność termiczna	Wysoka stabilność podczas obróbki cieplnej	Umiarkowana podatność na degradację cieplną

2. Hipoteza i cel badań

2.1. Uzasadnienie podjęcia badań i koncepcja naukowa

Żywność funkcjonalna stanowi jeden z kluczowych kierunków rozwoju nowoczesnego przetwórstwa spożywczego. Współczesny konsument poszukuje produktów, które oprócz wartości odżywczej wykazują m.in. działanie prozdrowotne, wspierające odporność, funkcje neurokognitywne oraz metabolizm glukozy i lipidów. Równolegle obserwuje się wzrost zainteresowania bioaktywnym potencjałem grzybów leczniczych, takich jak *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst., *Hericium erinaceus* (Bull.) Pers. oraz *Ophiocordyceps sinensis* (Berk.) G.H. Sung, J.M. Sung, Hywel-Jones & Spatafora, znanych z zastosowań w tradycyjnej medycynie Dalekiego Wschodu. Dotychczas ich wykorzystanie ograniczało się głównie do spożycia w postaci suplementów diety lub surowców naturalnych.

Pomimo że grzyby lecznicze były już wykorzystywane jako dodatki do pieczywa, dotychczasowe badania miały zazwyczaj charakter cząstkowy i nie uwzględniały kompleksowej oceny ich wpływu na właściwości technologiczne, fizykochemiczne, potencjał antyoksydacyjny i jakość sensoryczną gotowego produktu, co stanowi przedmiot niniejszej rozprawy.

W kontekście obserwowanego w Polsce na przestrzeni ostatnich kilkudziesięciu lat spadku spożycia pieczywa (GUS, 2000-2024), w tym również pieczywa pszennego, jego wzbogacanie o składniki funkcjonalne może stanowić odpowiedź na zmieniające się potrzeby konsumentów.

Grzyby lecznicze są uznawane za źródło związków bioaktywnych, co predysponuje je do wykorzystania w projektowaniu żywności funkcjonalnej. Ich wprowadzenie do receptury pieczywa pszennego może przyczynić się do zwiększenia jego wartości odżywczej, nadania cech funkcjonalnych oraz podniesienia potencjału prozdrowotnego, a tym samym może przyczynić się do wzrostu zainteresowania produktami piekarniczymi – zwłaszcza wśród konsumentów poszukujących nowych wyrobów o udokumentowanym, korzystnym wpływie na zdrowie.

2.2. Hipoteza i cel badań

W związku z przedstawionym uzasadnieniem, sformułowano następującą **hipotezę główną**:

Częściowa substytucja mąki pszennej sproszkowanymi owocnikami z wybranych grzybów leczniczych (*Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst., *Hericium erinaceus* (Bull.) Pers. oraz *Ophiocordyceps sinensis* (Berk.) G.H. Sung, J.M. Sung, Hywel-Jones & Spatafora) ma wpływ na właściwości technologiczne, fizykochemiczne, potencjał antyoksydacyjny i jakość sensoryczną pieczywa pszennego.

W celu weryfikacji hipotezy głównej przyjęto następujące **hipotezy szczegółowe**:

H1: Proszki z grzybów leczniczych wykazują istotnie wyższą zawartość składników bioaktywnych w porównaniu z mąką pszenną, a ich właściwości fizykochemiczne predysponują je do zastosowania jako surowce funkcjonalne.

H2: Substytucja mąki pszennej sproszkowanymi grzybami leczniczymi wpływa na właściwości farinograficzne ciasta pszennego, modyfikując m.in. czas jego rozwoju, stabilność, stopień rozmiękczenia oraz wodochłonność.

H3: Zastąpienie części mąki pszennej proszkami grzybowymi determinuje skład chemiczny i właściwości funkcjonalne pieczywa, w tym wpływa na zawartość białka, błonnika pokarmowego, składników mineralnych, związków fenolowych oraz zwiększa potencjał antyoksydacyjny produktu.

H4: Wprowadzenie proszków grzybowych do receptury wpływa na właściwości fizyczne pieczywa (m.in. objętość właściwą, teksturę, barwę i rozpuszczalność suchej substancji w wodzie (WSI), wodochłonność produktu (WAI)) oraz jego jakość technologiczną i sensoryczną.

H5: Częściowa substytucja mąki pszennej proszkami z grzybów leczniczych modyfikuje profil strawności skrobi i białka w pieczywie.

Cel główny pracy

Głównym celem niniejszej pracy była ocena wpływu częściowej substytucji mąki pszennej sproszkowanymi owocnikami z wybranych grzybów leczniczych (*Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst.; *Hericium erinaceus* (Bull.) Pers.; *Ophiocordyceps sinensis* (Berk.) G.H. Sung, J.M. Sung, Hywel-Jones & Spatafora) na właściwości technologiczne, fizykochemiczne, potencjał antyoksydacyjny i jakość sensoryczną pieczywa pszennego.

Cele szczegółowe

C1: Przeprowadzenie analizy składu chemicznego ze szczególnym uwzględnieniem zawartości makro- i mikroelementów, β -(1 $\rightarrow$ 3),(1 $\rightarrow$ 6)-glukanów i związków polifenolowych oraz ocena właściwości przeciwutleniających proszków z grzybów leczniczych (*Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst.; *Hericium erinaceus* (Bull.) Pers.; *Ophiocordyceps sinensis* (Berk.) G.H. Sung, J.M. Sung, Hywel-Jones & Spatafora).

C2: Zbadanie wpływu dodatku proszków z grzybów leczniczych na parametry farinograficzne ciasta.

C3: Ocena parametrów technologicznych pieczywa w tym wydajności ciasta i pieczywa, straty piecowej całkowitej, objętości 100 g pieczywa.

C4: Ocena wpływu dodatku proszków z grzybów leczniczych na skład chemiczny otrzymanego pieczywa, obejmująca analizę zawartości wody, białka ogólnego, tłuszczu całkowitego, błonnika pokarmowego (TDF) w tym frakcji rozpuszczalnej (SDF) i nierozpuszczalnej (IDF), węglowodanów przyswajalnych, popiołu ogólnego oraz wybranych składników mineralnych.

C5: Oznaczenie poziomu wybranych związków bioaktywnych w pieczywie wzbogaconym w proszki grzybowe, ze szczególnym uwzględnieniem zawartości β -(1 $\rightarrow$ 3),(1 $\rightarrow$ 6)-glukanów, związków polifenolowych ogółem, flawonoidów i oznaczenie aktywności przeciwutleniającej tych produktów.

C6: Analiza wybranych parametrów fizycznych proszków grzybowych i pieczywa takich jak: wskaźnik rozpuszczalności suchej substancji w wodzie (WSI), wskaźnik absorpcji wody (WAI), tekstura (TPA), barwa miękiszu pieczywa.

C7: Ocena wpływu poziomu substytucji mąki pszennej proszkiem z grzybów leczniczych na jakość i akceptowalność sensoryczną pieczywa.

C8: Ocena strawności białka i skrobi w pieczywie metodami *in vitro*.

2.3. Etapy realizacji badań i weryfikacja hipotez badawczych

Rozprawę doktorską realizowano w oparciu o zaplanowany sekwencyjnie schemat badań. Uzyskane wyniki zaprezentowano w publikacjach naukowych składających się na rozprawę doktorską oraz w części monograficznej niniejszej pracy. Poniżej (tab. 3) przedstawiono kolejne etapy weryfikowania głównej hipotezy badawczej i hipotez szczegółowych. W tabeli zestawiono hipotezy badawcze ze szczegółowymi celami badań, etapami ich realizacji, zastosowanymi metodami weryfikacji oraz oczekiwanymi efektami, a także publikacjami, w których przedstawiono uzyskane wyniki.

Tabela 3. Powiązanie hipotez badawczych z celami szczegółowymi, etapami realizacji badań, zastosowanymi metodami, oczekiwanymi efektami oraz publikacjami naukowymi

Hipoteza / Cel	Etap badań	Metody / Zakres badań	Oczekiwany efekt	Publikacja / Źródło
H1 → C1	Etap 1: Charakterystyka proszków grzybowych (GL, HE, OS)	Analiza literatury; oznaczenie makro- i mikroelementów, β-glukanów, polifenoli, flawonoidów; ocena aktywności antyoksydacyjnej	Potwierdzenie wartości funkcjonalnej proszków grzybowych	P1-P4, badania własne niepublikowane (β-(1→3),(1→6)-glukany)
H2 → C2	Etap 2: Reologia ciasta z dodatkiem GL, HE, OS	Analiza farinograficzna (DDT, WA, ST, DS, FQN)	Określenie wpływu proszków grzybowych na parametry farinograficzne ciasta	P2-P4
H3 → C4-C5	Etap 3: Skład chemiczny i potencjał antyoksydacyjny pieczywa	Oznaczenie zawartości białka, tłuszczu, błonnika, popiołu, minerałów, β-glukanów; polifenoli i flawonoidów; ocena potencjału antyoksydacyjnego wobec DPPH i ABTS; obliczenie zawartości węglowodanów przyswajalnych i wartości energetycznej	Pieczywo o zwiększonej wartości odżywczej i potencjale antyoksydacyjnym	P2-P4, badania własne niepublikowane (β-(1→3),(1→6)-glukany)
H4 → C3; C6-C7	Etap 4: Właściwości fizyczne, technologiczne i sensoryczne pieczywa	Parametry technologiczne: wydajność ciasta i pieczywa, objętość, ubytek piecowy; parametry fizyczne: tekstura (TPA), barwa (CIE L*a*b*), wilgotność miękiszu, WSI, WAI; ocena sensoryczna	Pieczywo o zoptymalizowanych właściwościach fizycznych i technologicznych oraz jakości sensorycznej	P2-P4, badania własne niepublikowane (WSI, WAI)
H5 → C8	Etap 5: Strawność białka i skrobi w pieczywie	Analizy in vitro strawności białka i skrobi z wykorzystaniem modeli enzymatycznych	Pieczywo o profilu strawności obejmującym niższą strawność białka, wyższą zawartość skrobi opornej, oraz redukcję skrobi łatwo przyswajalnej	Badania własne, niepublikowane

GL – *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst., HE – *Hericium erinaceus* (Bull.) Pers., OS – *Ophiocordyceps sinensis* (Berk.) G.H. Sung, J.M. Sung, Hywel-Jones & Spatafora; DDT – czas rozwoju ciasta, WA – wodochłonność, ST – stabilność, DS – stopień rozmiękczenia, FQN – wskaźnik jakości farinograficznej; TPA – analiza profilu tekstury, WSI – wskaźnik rozpuszczalności suchej masy w wodzie, WAI – wskaźnik wodochłonności; DPPH, ABTS – testy aktywności przeciwutleniającej; P1-P4 – publikacje naukowe.

3. Materiały i metody

3.1. Modele badawcze i zastosowane surowce

Badania przedstawione w pracy doktorskiej zrealizowano w ramach trzech modeli badawczych oraz badań uzupełniających:

- **Model I** – wypiek i ocena pieczywa z dodatkiem proszku z *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst. (*G. lucidum*),
- **Model II** – wypiek i ocena pieczywa z dodatkiem proszku z *Hericium erinaceus* (Bull.) Pers. (*H. erinaceus*),
- **Model III** – wypiek i ocena pieczywa z dodatkiem proszku z *Ophiocordyceps sinensis* (Berk.) G.H. Sung, J.M. Sung, Hywel-Jones & Spatafora (*O. sinensis*).
- **Badania uzupełniające*** – analiza porównawcza pieczywa z dodatkiem proszków z trzech ww. grzybów leczniczych, obejmująca ocenę strawności białka i skrobi metodą *in vitro*, zawartości β -(1 $\rightarrow$ 3),(1 $\rightarrow$ 6)-glukanów oraz wartości wskaźników rozpuszczalności suchej masy (WSI) i wodochłonności (WAI) w pieczywie.

W modelach I-III zastosowano ten sam schemat doświadczalny oraz identyczne poziomy substytucji mąki pszennej proszkami z grzybów leczniczych (0, 3, 6, 9, 12%) oraz takie same procedury wypieku, co umożliwiło przeprowadzenie porównawczej analizy wpływu poszczególnych gatunków grzybów leczniczych na właściwości fizykochemiczne i cechy jakościowe pieczywa.

Surowce wykorzystane w badaniach przedstawiono na ryc. 2, a ich szczegółową charakterystykę podano w tab. 4.

* Badania nieopublikowane



Rycina 2. Surowce zastosowane w badaniach: a) mąka pszenna typ 750, b) proszek z *G. lucidum* (Reishi), c) proszek z *H. erinaceus* (Lion's Mane, sopłówka jeżowata), d) proszek z *O. sinensis* (maczuźnik chiński).

Tabela 4. Charakterystyka zastosowanych surowców w modelach badawczych I–IV

Surowiec	Producent / Dostawca	Parametry jakościowe	Modele badawcze	Warunki przechowywania	Informacje o jakości i certyfikatach
Mąka pszenna typ 750	Polskie Młyny (Warszawa, Polska)	popiół: 0,74% s.m, gluten mokry: 27,5%, indeks glutenu: 99,0, liczba opadania: 304 s, rozmiar cząstek: 0,12 mm	I, II, III, badania uzupełniające	Szczelne, ciemne pojemniki, temp. < 25 °C, RH: 60–65%	Producent dostarczył dokumentację potwierdzającą czystość mikrobiologiczną surowca (atest jakościowy zgodny z normami bezpieczeństwa żywności)
Proszek <i>Ganoderma lucidum</i>	NatVita (Mirków, Polska)	100% sproszkowany owocnik, bez dodatków	I, badania uzupełniające	Szczelne, ciemne pojemniki, temp. < 25 °C, RH: 60–65%	Produkt z certyfikatem rolnictwa ekologicznego UE; zgodnie z deklaracją producenta produkt przebadany laboratoryjnie pod kątem zanieczyszczeń chemicznych i biologicznych oraz zawartości metali ciężkich i drobnoustrojów
Proszek <i>Hericium erinaceus</i>	NatVita (Mirków, Polska)	100% sproszkowany owocnik, bez dodatków	II, badania uzupełniające	Szczelne, ciemne pojemniki, temp. < 25 °C, RH: 60–65%	Jak wyżej – certyfikat ekologiczny UE, produkt przebadany laboratoryjnie pod kątem zanieczyszczeń chemicznych i biologicznych oraz zawartości metali ciężkich i drobnoustrojów
Proszek <i>Cordyceps sinensis</i>	NatVita (Mirków, Polska)	100% sproszkowany owocnik, bez dodatków	III, badania uzupełniające	Szczelne, ciemne pojemniki, temp. < 25 °C, RH: 60–65%	Jak wyżej – certyfikat ekologiczny UE, produkt przebadany laboratoryjnie pod kątem zanieczyszczeń chemicznych i biologicznych oraz zawartości metali ciężkich i drobnoustrojów

3.2. Metody badawcze

Szczegółowe opisy zastosowanych metod badawczych zostały przedstawione w trzech publikacjach naukowych (P2-P4), które stanowią podstawę niniejszej rozprawy doktorskiej.

Poniżej przedstawiono syntetyczny zakres przeprowadzonych analiz, obejmujący zarówno badania opublikowane, jak i cztery dodatkowe oznaczenia (z gwiazdką „*”), które do czasu przygotowywania rozprawy nie zostały jeszcze opublikowane. Szczegółowa metodyka dla tych oznaczeń została opisana w treści pracy.

3.2.1. Produkcja pieczywa

W ramach trzech pierwszych modeli eksperymentalnych przygotowano próbki pieczywa, w którym jako substytuty mąki pszennej typ 750 zastosowano sproszkowane owocniki grzybów leczniczych w ilościach: 3%, 6%, 9% oraz 12% (w przeliczeniu na masę mąki).

Próbki pieczywa oznaczone zostały odpowiednio:

- BR3, BR6, BR9, BR12 – chleby z udziałem *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst., (*G. lucidum*),
- BS3, BS6, BS9, BS12 – chleby z udziałem *Hericium erinaceus* (Bull.) Pers., (*H. erinaceus*),
- BC3, BC6, BC9, BC12 – chleby z udziałem *Ophiocordyceps sinensis* (Berk.) G.H. Sung, J.M. Sung, Hywel-Jones & Spatafora (*O. sinensis*).

W ramach każdego modelu badawczego przygotowano również próbkę kontrolną (CON), tj. chleb wykonany w 100% z mąki pszennej typ 750 (bez dodatku proszków z grzybów leczniczych).

Proces technologiczny obejmował przygotowanie ciasta metodą jednofazową z przebicciem. Składniki recepturowe obejmowały:

- mąkę pszenną typ 750,
- proszek z owocników *G.lucidum*, lub *H. erinaceus* lub *O. sinensis*,
- sól – 1,5% (w przeliczeniu na masę mąki lub mieszanki mąki z proszkiem grzybowym),
- drożdże piekarskie świeże (*Saccharomyces cerevisiae*) – 3% (w przeliczeniu na masę mąki lub mieszanki mąki z proszkiem grzybowym),

- wodę – w ilości ustalonej indywidualnie dla każdej próbki na podstawie wodochłonności surowców oznaczonej farinograficznie (tab. 5).

Tabela 5. Wodochłonność mąki pszennej i jej mieszanek z proszkami grzybowymi

Poziom substytucji	CON	BR	BS	BC
	[%]			
0	57,9	–	–	–
3	–	59,6	59,6	58,0
6	–	60,8	61,0	58,3
9	–	61,9	63,1	58,9
12	–	63,3	66,6	59,6

CON – mieszanka kontrolna (mąka pszenna typ 750); BS, BR, BC – mieszanki (mąka pszenna typ 750) z substytucją mąki proszkami grzybowymi *G. lucidum*, *H. erinaceus*, *O. sinensis*.

Ciasto przygotowywano metodą jednofazową w miesiarce BEAR Varimixer Teddy 5 L (Varimixer A/S, Kopenhaga, Dania): składniki mieszano przez około 3 minuty na wolnych obrotach, następnie zwiększano prędkość mieszania, prowadząc proces w czasie zgodnym z wyznaczonym farinograficznie czasem rozwoju ciasta. Fermentację prowadzono przez 90 minut w warunkach kontrolowanych (temp. 30 °C, wilgotność względna (RH) 85%), z przebicciem ciasta po 60 min garowania w komorze garowniczej (Tefi Klima, pro 100, Debag, Bautzen, Niemcy). Ręcznie uformowane kęsy ciasta (3 w ramach każdej próbki) o masie ok. 190 g ± 10 g wypiekano w piecu piekarniczym z funkcją zaparowania (Helios, pro 100, Debag, Niemcy) w temperaturze 230 °C przez 30 minut. Po wypieku bochenki pozostawiano do wystudzenia (przez ok. 2 godz.), a następnie po zważeniu przechowywano w temperaturze pokojowej w plastikowych, zamkniętych pojemnikach (temp. ok. 20 °C). Badania parametrów technologicznych pieczywa, jakości sensorycznej, mikrostruktury, barwy, miękiszu oraz wilgotności miękiszu przeprowadzono po 24 godz. od wypieku.

Oznaczenia parametrów tekstury miękiszu wykonano 24 i 48 godzin po wypieku. W celu wykonania pozostałych badań właściwości fizykochemicznych, próbki pieczywa suszono w temp. pokojowej (20-25 °C) przez ok. 72 godziny, następnie rozdrabniano do uzyskania cząstek o średnicy <0,2 mm i przechowywano w suchym miejscu, w szczelnych, ciemnych pojemnikach do momentu wykonania analiz.

3.2.2. Właściwości fizyczne i technologiczne

- **Ocena farinograficzna ciasta** – wykonana zgodnie z normą AACC 54-21.01, obejmowała oznaczenie następujących parametrów farinograficznych ciasta: czasu rozwoju, stabilności, wodochłonności, stopnia rozmiękczenia oraz liczby jakości.
- **Wydajność ciasta i pieczywa** – wyliczana odpowiednio na podstawie stosunku masy uzyskanego ciasta lub pieczywa do masy użytych surowców (Wirkijowska i in., 2023).
- **Strata piecowa całkowita** – obliczana jako procentowa różnica masy ciasta przed wypiekiem i masy gotowego chleba po wystudzeniu (Wirkijowska i in., 2023).
- **Objętość właściwa chleba** – oznaczana metodą wypierania nasion prosa, zgodnie z normą AACC 10-05.01. Objętość bochenka wyliczano jako różnicę pomiędzy objętością nasion wypełniających naczynie pomiarowe przed i po umieszczeniu próbki. Wyniki przedstawiono jako objętość 100 g chleba, wyrażoną w cm^3 .
- **Porowatość miękiszu** - oceniono na podstawie analizy mikroskopowej miękiszu pieczywa, stosując powiększenie $\times 2000$. Do badań wykorzystano mikroskop cyfrowy VHX-7000N (Keyence, Osaka, Japonia). Analizując porowatość miękiszu uwzględniano wielkość, kształt, rozmieszczenie oraz jednorodność porów w przekroju miękiszu pieczywa.
- **Barwa skórki i miękiszu** – oceniana w systemie CIE $L^*a^*b^*$ z wykorzystaniem kolorymetru CR-5 (Konica Minolta, Sakai, Osaka, Japonia) (Wirkijowska i in., 2023). W modelu I analizowano parametry barwy (L^* , a^* , b^*), a także obliczono indeks bieli (WI), indeks żółtości (YI), indeks brązowienia (BI) oraz różnicę w barwie pomiędzy pieczywem zawierającym komponenty grzybowe a próbką kontrolną (ΔE). W modelu II zastosowano te same wskaźniki oraz dodatkowo wykonano analizę kolorystyczną z użyciem oprogramowania *Nix Colour Sensor*. W modelu III poza parametrami L^* , a^* , b^* i indeksem brązowienia, wyznaczono także: nasycenie barwy (C – chroma), kąt barwy (h° – hue angle), nasycenie (S – saturation) oraz różnice w barwie pomiędzy pieczywem zawierającym komponenty grzybowe a próbką kontrolną (ΔE).
- **Parametry tekstury miękiszu (TPA)** – analizowano zgodnie z procedurą AACC 16-50. Do badań pobierano próbki w kształcie prostopadłościanów o wymiarach $30 \times 30 \times 20$ mm, wycięte ze środkowej części bochenków po odrzuceniu skrajnych kromek. Oznaczenia wykonano w próbkach pieczywa uzyskanych w ramach modeli

I, II i III. Pomiary przeprowadzono na teksturometrze Zwick/Roell Z0.5 (BT1-FR0.5TN. D14, Ulm, Niemcy), stosując dwukrotny test ściskania próbek do 50% ich wysokości. Średnica przystawki (cylindrycznego tłoka) wynosiła 100 mm w modelach I i II oraz 50 mm w modelu III. Rejestrowane parametry to: twardość, sprężystość, kohezynność i żujność. Pomiary wykonano po 24 i 48 godzinach od wypieku.

- **Wskaźnik rozpuszczalności suchej masy w wodzie (WSI)* i wskaźnik wodochłonności (WAI)*** oznaczono zgodnie z metodą AACC 56.20, z modyfikacją dostosowaną do charakterystyki badanych próbek. Naważkę wysuszonego i rozdrobnionego pieczywa (2 g) zalewano 30 ml wody destylowanej (temp. 20 °C) w próbkach wirówkowych o poj. 50 ml i uwadniano przez 15 min mieszając trzykrotnie co 5 min. Następnie zawiesiny odwirowywano (15 min, 2200 × g). Z każdej próbki pobierano 10 ml supernatantu i suszono w temperaturze 105 °C do stałej masy. Na tej podstawie obliczano wartość WSI (% s.m.) jako stosunek masy suchej pozostałości po odparowaniu (W_{ds}) do suchej masy próbki ($W_{s.m.}$), według wzoru:

$$WSI = \frac{W_{ds}}{W_{s.m.}} \cdot 100\% \quad (1)$$

WAI obliczano jako stosunek masy żelu po odwirowaniu (W_g) do suchej masy próbki ($W_{s.m.}$):

$$WAI = \frac{W_g}{W_{sm}} \cdot 100\% \quad (2)$$

Analizy wykonano w trzech powtórzeniach dla każdej próbki. Wyniki wyrażono jako wartości średnie ± SD.

3.2.3. Skład chemiczny i wartość odżywcza

- **Wilgotność** – oznaczana zgodnie z normą AACC 44-15A,
- **Popiół ogółem** – oznaczany zgodnie z AACC 08-01,
- **Białko ogółem** – oznaczane metodą Kjeldahla, zgodnie z procedurą AACC 46-08 oraz ISO 20483, z wykorzystaniem aparatu Kjeltex™ 8400 (Foss, Hillerød, Dania),
- **Tłuszcz całkowity** – oznaczany po hydrolizie kwasowej próbki materiału z wykorzystaniem heksanu jako rozpuszczalnika, przy użyciu aparatu Soxtec™ 8000 (Foss, Hillerød, Dania),
- **Błonnik pokarmowy całkowity (TDF), rozpuszczalny (SDF) i nierozpuszczalny (IDF)** – oznaczany zgodnie z metodami AACC 32-05, 32-21 oraz AOAC 991.43 i 985.29,

* Badania nieopublikowane

- **Węglowodany przyswajalne** – wyliczono z różnicy: 100% – (białko + tłuszcz + popiół + błonnik całkowity + woda),
- **Wartość energetyczna** – obliczana z wykorzystaniem współczynników Atwatera.

3.2.4. Zawartość wybranych elementów mineralnych, związków bioaktywnych i aktywność przeciwutleniająca

- **Zawartość wybranych elementów mineralnych** – oznaczana metodami FAAS i ICP-MS po mikrofalowej mineralizacji próbki kwasem azotowym, z wykorzystaniem spektrometru absorpcyjnej spektrometrii atomowej (AAS) Varian SpectrAA 280FS (Varian, Mulgrave, VIC, Australia) oraz spektrometru mas (MS) Varian MS-820 (Varian, Palo Alto, CA, USA),
- **Ekstrakcja związków bioaktywnych** - prowadzona z użyciem 70% etanolu (v/v) w stosunku materiał: rozpuszczalnik 1:10 (m/v), w łaźni wodnej (temp. 40 °C) przez 10 godzin; ekstrakty następnie odwirowywano i filtrowano (Kozłowska i in., 2015),
- **Zawartość polifenoli ogółem** - oznaczana spektrofotometrycznie z zastosowaniem odczynnika Folina–Ciocalteu, przy użyciu spektrofotometru Thermo Spectronic Helios Epsilon (Thermo Electron, Waltham, MA, USA) (Singleton i Rossi, 1965).
- **Zawartość flawonoidów ogółem** - oznaczana metodą kolorymetryczną z zastosowaniem chlorku glinu (AlCl_3), z wykorzystaniem spektrofotometru Helios Epsilon (Quettier-Deleu i in., 2000).
- **Aktywność przeciwutleniająca** - oznaczana metodami spektrofotometrycznymi wobec DPPH i ABTS przy użyciu spektrofotometru Thermo Electron, Waltham, MA, USA (Antoniewska i in., 2018; Krawęcka i in., 2022).
- ***Zawartość β -glukanów pochodzenia grzybowego (β -(1 $\rightarrow$ 3),(1 $\rightarrow$ 4)-glukany)** - oznaczana z zastosowaniem zestawu Yeast and Mushroom β -Glucan Assay Kit (K-YBGL, Megazyme, Neogen Corporation, USA) według protokołu producenta (wersja 08/23). Oznaczenie polegało na analizie całkowitej zawartości glukanów (α - i β -glukanów) oraz osobno α -glukanów. Całkowitą zawartość glukanów oznaczano po kwasowej hydrolizie (12 M i 2 M H_2SO_4), a następnie hydrolizie enzymatycznej z udziałem exo-1,3- β -glukanazy i β -glukozydazy. Uwolnioną glukozę oznaczano kolorymetrycznie ($\lambda = 510 \text{ nm}$) z użyciem odczynnika GOPOD. Oznaczenie α -glukanów wykonano na osobnych próbkach (ekstrakcja 1,7 M NaOH, hydroliza enzymatyczna z amyloglukozydazą, inwertazą i trehalazą). Zawartość β -glukanów obliczano jako różnicę między całkowitą zawartością glukanów a zawartością

α -glukanów, z przeliczeniem wolnej glukozy na anhydroglukozę (162/180). Oznaczenia prowadzono w dwóch powtórzeniach, a ich poprawność weryfikowano na podstawie wyników uzyskanych dla próbki kontrolnej, dołączonej do zestawu.

3.2.5. Strawność skrobi i białka

- ***Strawność skrobi i zawartość skrobi odpornej** - strawność skrobi oznaczano metodą enzymatyczną z wykorzystaniem zestawu Resistant Starch Assay Kit (K-RSTAR, Megazyme, Neogen Corporation, USA), zgodnie z zalecanym protokołem (wersja 08/23, AOAC 2002.02; AACC 32-40.01). Próbki (100 mg) poddawano inkubacji z pankreatyczną α -amylazą i amyloglukozydazą w temperaturze 37°C przez 16 godzin, co prowadziło do hydrolizy strawnej frakcji skrobi do glukozy. Następnie mieszaninę odwirowywano, a supernatant, zawierający rozpuszczoną skrobię strawną, zbierano do dalszego oznaczenia. Skrobię oporną oddzielano poprzez wytrącenie i kilkukrotne przemywanie 50% etanolem, po czym rozpuszczano ją w 2 M KOH, neutralizowano i poddawano całkowitej hydrolizie z użyciem amyloglukozydazy. Ilość uwolnionej glukozy oznaczano kolorymetrycznie za pomocą spektrofotometru (Spectrophotometer, Thermo Electron, Waltham, MA, USA) po reakcji z odczynnikiem GOPOD (glucose oxidase/peroxidase and 4-aminoantipyrine), mierząc absorbancję przy długości fali równej 510 nm. Zawartość całkowitej skrobi obliczano jako sumę skrobi strawnej oraz skrobi odpornej, każdorazowo przeliczonej z glukozy na anhydroglukozę (przelicznik 162/180). Strawność skrobi wyrażano jako stosunek strawnej skrobi do skrobi całkowitej według wzoru:

$$\text{Strawność skrobi (\%)} = \frac{\text{Skrobia strawna } (\frac{g}{100g \text{ s.m. próbki}})}{\text{Skrobia całkowita } (\frac{g}{100g \text{ s.m. próbki}})} \times 100\% \quad (3)$$

Oznaczenia prowadzono w dwóch powtórzeniach, a ich poprawność weryfikowano na podstawie wyników próbki kontrolnej, dołączonej do zestawu.

- ***Strawność białka (*)** - Strawność białka oznaczano metodą *in vitro* z wykorzystaniem enzymów pepsyny i pankreatyny, zgodnie z metodą opisaną przez Saunders i in. (1973). Do próbki dodawano wodę oraz pepsynę rozpuszczoną w 0,1 N HCl, a następnie inkubowano w temperaturze 37°C przez 3 godziny. Po zakończeniu tego etapu próbki neutralizowano, dodawano pankreatynę rozpuszczoną w buforze fosforanowym o pH 8 oraz azydek sodu (0,005 M), po czym prowadzono dalszą

* Badania nieopublikowane

inkubację w temperaturze 37°C przez 24 godziny. Po zakończeniu hydrolizy białek do mieszaniny dodawano 45% roztwór kwasu tróchlorooctowego (TCA) w celu strącenia białek, a następnie odwirowywano je stosując przeciążenia 5500 x g. Zawartość białka w supernatancie oznaczano metodą Kjeldahla zgodnie z normą ISO 20483. Strawność białka wyrażano jako procent białka strawionego względem całkowitej zawartości białka w próbce (% strawności białka). Całkowitą zawartość białka w badanych próbkach oznaczano zgodnie z metodą Kjeldahla według normy ISO 20483, wykorzystując aparat Kjeltec™ 8400 (Foss, Hillerød, Dania),

3.2.6. Ocena sensoryczna

Ocena sensoryczna pieczywa została przeprowadzona zgodnie z normami ISO 8586:2012 i ISO 8589:2007, z zachowaniem kontrolowanych warunków laboratoryjnych. Badanie zatwierdzono przez Komisję Bioetyczną Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie (uchwała nr UKE/09/2023). W ocenie pieczywa uzyskanego w ramach modeli doświadczeń: I, II i III wzięło udział odpowiednio 8, 11 i 9 przeszkolonych panelistów.

3.2.7. Analiza statystyczna

Dane uzyskane we wszystkich modelach badawczych poddano jednoczynnikowej analizie wariancji (ANOVA) z zastosowaniem testu Tukeya ($p \leq 0,05$) w celu określenia istotności różnic pomiędzy próbkami. Wyniki badań przedstawiono jako średnie z minimum 2 powtórzeń wraz z odchyleniem standardowym. Analizę statystyczną wyników wykonano z wykorzystaniem programu STATISTICA 13 (StatSoft, Kraków, Polska).

4. Omówienie wyników i dyskusja

4.1. Zastosowanie proszku z owocnika *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst. (Reishi) jako funkcjonalnego dodatku do pieczywa pszennego

Model badawczy I

Celem badań w modelu I była ocena wpływu wzrastającego poziomu substytucji (3, 6, 9, 12%) mąki proszkiem z *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst. (*G. lucidum*) na właściwości technologiczne, fizykochemiczne, potencjał antyoksydacyjny i jakość sensoryczną pieczywa pszennego.

4.1.1. Właściwości farinograficzne ciasta

G. lucidum (Reishi), to gatunek grzyba leczniczego, który w ostatnich latach zyskał dużą popularność jako składnik żywności funkcjonalnej. Owocniki *G. lucidum* są zasobne w związki bioaktywne w tym polisacharydy, triterpenoidy i białka, które mogą wpływać na właściwości reologiczne ciasta, m.in. poprzez oddziaływanie na sieć glutenową oraz zdolność wiązania wody (El Sheikha, 2022). W ramach analizy farinograficznej (tab. 6) oceniono wpływ częściowej substytucji mąki pszennej sproszkowanym owocnikiem *G. lucidum* (3–12%) na cztery kluczowe parametry farinograficzne ciasta: czas rozwoju (DDT), absorpcję wody (WA), stabilność ciasta (ST) oraz stopień zmiękczenia (DS). Próbkę ciasta zawierającą komponent grzybowy porównano z próbką kontrolną (tj. ciastem pszennym; próbka CON).

W próbkach zawierających 3–9% *G. lucidum* (BR3-BR9) stwierdzono istotne ($p \leq 0,05$) skrócenie czasu rozwoju ciasta w porównaniu z próbką CON, co sugeruje, że niskie poziomy substytucji mogą przyspieszać tworzenie struktury siatki glutenowej. Zgodnie z Wang i in. (2024), polisacharydy posiadają właściwości hydrofilowe i mogą zwiększać retencję wody w cieście wpływając tym samym na modyfikację sieci glutenowej, poprawę struktury oraz właściwości reologicznych ciasta. Obecność grup hydrofilowych (–OH w polisacharydach takich jak β -glukany i chityna; –COOH oraz –NH₂ w białkach i peptydach; –OH oraz –COOH w polifenolach) sprzyja intensywnej hydratacji protein, przyspieszając tworzenie stabilnej sieci białkowej. W próbce BR12 czas rozwoju ciasta wydłużył się ponad czterokrotnie względem czasu odnotowanego dla próbki CON. Może to świadczyć o utrudnionym tworzeniu wiązań sieci glutenowej wskutek blokowania miejsc aktywnych poprzez obecne w *G. lucidum* polisacharydy i triterpenoidy (Gentile, 2020).

Wzrost udziału *G. lucidum* w mieszance z mąką powodował istotne zwiększenie absorpcji wody (WA), która osiągnęła wartość maksymalną (63,3%) w próbce BR12.

Efekt ten można przypisać wysokiej higroskopijności polisacharydów oraz błonnika nierozpuszczalnego występującego w *G. lucidum* (Villares i in., 2012). Zwiększona retencja wody w cieście może pozytywnie wpływać na jakość pieczywa, zwiększając wilgotność miękiszu i wydłużając jego świeżość. Wraz ze zwiększeniem poziomu substytucji mąki proszkiem z *G. lucidum* zaobserwowano istotny ($p \leq 0,05$) wzrost stabilności ciasta (ST). Parametr ten wzrósł o ok. 216% (BR12) w porównaniu z próbką kontrolną. Wskazuje to na możliwość interakcji białek glutenowych z polisacharydami obecnymi w *G. lucidum*, w wyniku których wzmacnia się siatka glutenowa a ciasto staje się bardziej odporne na intensywne mieszanie. Jednocześnie stopień rozmiękczenia ciasta systematycznie malał wraz ze wzrostem poziomu substytucji mąki proszkiem z *G. lucidum*, osiągając minimum (1,0 FU) w próbce BR12 ($p \leq 0,05$). Sugeruje to, że w wyniku wprowadzenia komponentu grzybowego struktura ciasta wykazuje zmniejszoną podatność na degradację mechaniczną.

Kompleksy polisacharydowo-białkowe obecne w *G. lucidum* wpływają na właściwości reologiczne ciasta poprzez modulację hydratacji i stabilności sieci glutenowej (Gentile, 2020). Jednak zbyt duży dodatek komponentu grzybowego i obecność składników konkurujących o wodę z białkami glutenowymi może również przyczyniać się do niedostatecznego uwodnienia białek i opóźnienia ich sieciowania, co potwierdzają obserwacje Li i Etzel (2019).

Tabela 6. Parametry farinograficzne ciasta

Próbka	DDT (min)	WA (%)	ST (min)	DS (FU)	FQN (mm)
CON	02:30 ^b ± 0,12	57,9 ^a ± 0,30	06:03 ^a ± 0,20	55,0 ^c ± 2,4	71,0 ^a ± 5,2
BR3	01:32 ^a ± 0,08	59,6 ^{ab} ± 0,20	09:23 ^b ± 0,20	35,0 ^d ± 1,8	66,0 ^a ± 2,8
BR6	01:48 ^a ± 0,10	60,8 ^{ab} ± 0,20	14:37 ^c ± 0,40	23,0 ^c ± 2,1	146,0 ^b ± 3,2
BR9	01:52 ^a ± 0,08	61,9 ^{ab} ± 0,50	15:00 ^c ± 0,20	17,0 ^b ± 1,2	172,0 ^c ± 3,4
BR12	10:48 ^c ± 0,30	63,3 ^b ± 0,20	19:08 ^d ± 0,30	1,0 ^a ± 0,80	207,0 ^d ± 4,1

CON — próbka kontrolna (100% mąki pszennej); BR3, BR6, BR9, BR12 — próbki w których zastosowano odpowiednio: 3%, 6%, 9% i 12% poziom substytucji mąki sproszkowanym owocnikiem *G. lucidum*. Dane przedstawiono jako wartości średnie ($n = 3$) ± odchylenie standardowe. Wartości oznaczone różnymi literami w tej samej kolumnie różnią się istotnie statystycznie (test Tukeya; $p \leq 0,05$). Oceniane parametry: DDT — czas rozwoju ciasta; WA — absorpcja wody; ST — czas stabilności ciasta; DS — stopień rozmiękczenia ciasta; FQN — liczba jakości.

4.1.2. Ocena cech jakościowych chleba

Włączenie proszku z *G. lucidum* (Reishi) do receptury chleba pszennego prowadziło do istotnych modyfikacji jego cech fizycznych (tab. 7). Bioaktywne składniki *G. lucidum*, takie jak błonnik pokarmowy i polisacharydy, oddziaływały na reologię ciasta, zwiększając jego zdolność do zatrzymywania wody, a także wpływając na objętość wypieku oraz porowatość miękiszu. Wraz ze wzrostem udziału *G. lucidum* w recepturze zaobserwowano systematyczne zmniejszanie objętości właściwej pieczywa. Najwyższy, 12% poziom substytucji mąki pszennej tym komponentem grzybowym skutkował redukcją objętości o około 22% względem próbki kontrolnej. Zjawisko to można tłumaczyć mniejszą elastycznością siatki glutenowej, spowodowanej zwiększoną zawartością błonnika i polisacharydów, a tym samym mniejszą zdolnością matrycy białkowej do zatrzymywania gazów fermentacyjnych. Prawdopodobnie wynika to z obecności wysokocząsteczkowych składników *G. lucidum*, które ograniczają prawidłowe formowanie jednorodnej i sprężystej sieci białkowej (Liu i in., 2022). Jednocześnie większy udział *G. lucidum* w recepturze chleba wiązał się z niższymi stratami masy podczas wypieku i studzeniu. Strata piecowa całkowita w próbce BR12 była o około 16% mniejsza niż w przypadku pieczywa kontrolnego. Efekt ten można przypisać zwiększonej zdolności błonnika obecnego w komponencie grzybowym do wiązania wody, co ogranicza jej parowanie podczas obróbki cieplnej pieczywa (Al-Wraikat i in., 2024). Obserwacja ta potwierdza korzystny wpływ dodatku *G. lucidum* na zdolność wiązania wody w cieście. Podobne tendencje wykazano w badaniach dotyczących innych surowców funkcjonalnych. Zastosowanie polisacharydów pozyskiwanych z liści *Lycium barbarum* (kolcowój chiński) poprawiało właściwości strukturalne ciasta oraz jego akceptowalność sensoryczną, a wpływ ekstraktu na sieć glutenową zależał od jego formy - obserwowano zarówno jej osłabienie (ekstrakt surowy, zawierający związki o wysokiej masie cząsteczkowej), jak i wzmocnienie (ekstrakt modyfikowany, zawierający polisacharydy o obniżonej masie cząsteczkowej) (Al-Wraikat i in., 2024). Zbliżone efekty odnotowali również Guowei i in. (2019), badając wpływ fermentowanego ekstraktu z *G. lucidum* na właściwości chińskiego chleba parowanego. W tym przypadku obserwowano zwiększone pęcznienie skrobi oraz wzrost porowatości miękiszu, co autorzy wiązali z obecnością enzymów fermentacyjnych - amylaz, prowadzących do częściowej degradacji skrobi oraz modyfikacji sieci białkowej.

Zebrane wyniki wskazują, że polisacharydy obecne w *G. lucidum* wykazują zdolność do modulowania mikrostruktury pieczywa poprzez interakcje ze skrobią i glutenem. Może to prowadzić do zwiększonej retencji wody oraz opóźnienia procesu czerstwienia pieczywa.

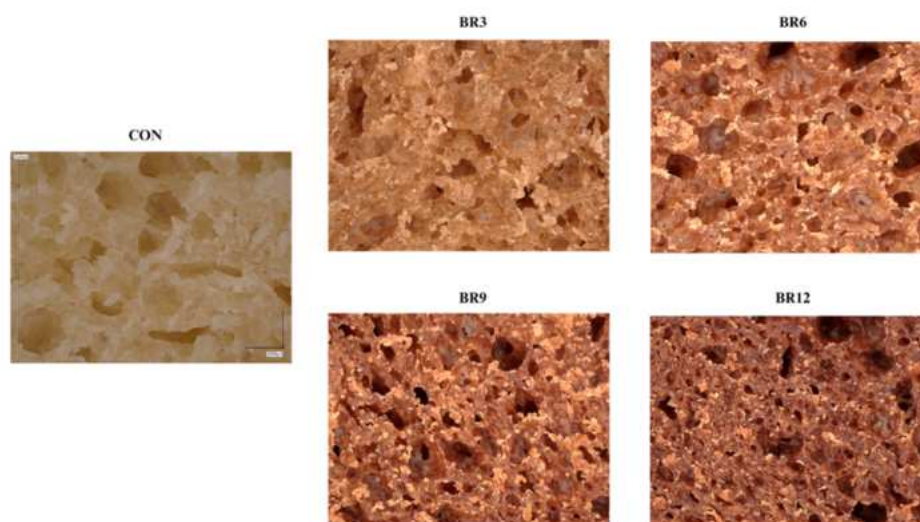
Jednocześnie nadmierny dodatek *G. lucidum* może zakłócać strukturę glutenową, powodując zwiększoną gęstość miększu i redukcję objętości bochenka (Guowei i in., 2019).

Mikroskopowa analiza przekroju miększu (ryc. 3) wykazała stopniowe pogarszanie się porowatości w miarę wzrostu udziału *G. lucidum* w pieczywie. W próbce kontrolnej widoczne były równomiernie rozmieszczone cienkościenne pory o dużej średnicy, natomiast w próbkach z 9–12% poziomem substytucji mąki pszennej proszkiem z *G. lucidum* pory stawały się mniejsze, mniej regularne i bardziej zwarte, a ich ścianki były grubsze. Obserwacje te mogą świadczyć o ograniczonym rozroście ciasta i pogorszeniu jego zdolności do zatrzymywania gazów fermentacyjnych.

Tabela 7. Właściwości technologiczne pieczywa

Próbka	Wydajność ciasta [%]	Wydajność pieczywa [%]	Strata piecowa całkowita [%]	Objętość 100 g pieczywa [cm ³]
CON	162,17 ^a ± 0,50	140,78 ^a ± 1,31	13,19 ^c ± 0,81	350,79 ^c ± 2,69
BR3	162,67 ^{ab} ± 0,20	143,07 ^b ± 0,20	12,05 ^c ± 0,30	337,27 ^d ± 2,10
BR6	162,83 ^{ab} ± 0,30	143,44 ^b ± 0,90	11,91 ^{abc} ± 0,70	329,35 ^c ± 2,20
BR9	163,50 ^b ± 0,30	146,48 ^c ± 0,40	10,28 ^{ab} ± 0,50	257,10 ^b ± 2,10
BR12	165,00 ^c ± 0,20	148,16 ^c ± 0,72	10,14 ^a ± 0,20	241,32 ^a ± 2,20

CON — próbka kontrolna (100% mąki pszennej); BR3, BR6, BR9, BR12 — próbki w których zastosowano odpowiednio: 3%, 6%, 9% i 12% poziom substytucji mąki sproszkowanym owocnikiem *G. lucidum*. Dane przedstawiono jako wartości średnie (n = 3) ± odchylenie standardowe. Wartości oznaczone różnymi literami w poszczególnych kolumnach różnią się statystycznie istotnie według testu Tukeya ($p \leq 0,05$).



Rycina 3. Porowatość miększu (powiększenie $\times 2000$) w przekroju poprzecznym pieczywa: kontrolnego (CON) oraz z dodatkiem sproszkowanego *G. lucidum* - odpowiednio próbki BR3, BR6, BR9 i BR12.

4.1.3. Parametry barwy chleba

Substytucja mąki pszennej proszkiem z *G. lucidum* istotnie ($p \leq 0,05$) wpłynęła na barwę pieczywa, co wynika głównie z obecności naturalnych pigmentów, takich jak melanina, karotenoidy (β -karoten i likopen) oraz liczne triterpenoidy zawarte w tym grzybie (Gharib i in., 2022; Park i in., 2024). Zawartość β -karotenu w *G. lucidum* wynosi ok. 3,63 mg/g, a likopenu ok. 0,224 mg/g, co przekłada się na intensywny pomarańczowo-czerwony odcień grzyba. Dotychczas zidentyfikowano ponad 300 związków triterpenowych w owocnikach *G. lucidum*, odpowiadających za jego ciemny lub czerwony kolor (Rajoriya i in., 2015; Khalilova i in., 2022; Sułkowska-Ziaja i in., 2023;). Barwa owocników Reishi może być dodatkowo modulowana przez warunki środowiskowe, takie jak światło i temperatura, co również wpływa na ekspresję barwników (Budipramana i in., 2023).

Wprowadzenie *G. lucidum* do receptury chleba powodowało istotne ($p \leq 0,05$) zmiany parametrów barwy miękiszu (tab. 8). Parametr L^* w próbce BR12 obniżył się o około 63% w porównaniu do próbki kontrolnej, co wskazuje na wyraźne przyciemnienie miękiszu w wyniku wprowadzenia do receptury pieczywa komponentu grzybowego. Wartość parametru a^* (BR12) wzrosła aż o ponad 1700% względem próbki kontrolnej, co świadczy o znacznym nasileniu odcienia czerwonego wraz ze wzrostem poziomu substytucji mąki pszennej proszkiem grzybowym. Z kolei parametr b^* przy mniejszych poziomach substytucji (3-6%) miał większą wartość w porównaniu do próbki CON, natomiast dalsze zwiększanie poziomu substytucji prowadziło do obniżenia wartości tego parametru. W konsekwencji wartość parametru b^* próbek pieczywa BR9 i BR12 nie różniła się znacząco od wartości odnotowanej dla próbki CON. W wyniku odnotowanych zmian wartości składowych barwy L^* , a^* , b^* odnotowano obniżenie wskaźnika bieli wraz z jednoczesnym wzrostem wskaźnika brązowienia i żółtości (tab. 8). Wartości parametru ΔE wzrastały o ponad 70% pomiędzy próbką BR3 a BR12, co potwierdza wyraźne różnice barwy pieczywa wraz ze wzrostem udziału sproszkowanego *G. lucidum* w recepturze.

Odnotowane instrumentalnie różnice w barwie pieczywa widoczne są także wizualnie na fotografii ukazującej miękisz pieczywa w przekroju (ryc. 4). Wraz ze wzrostem udziału *G. lucidum*, miękisz chleba stopniowo ciemniał. Próbka kontrolna charakteryzowała się jasnym, kremowym odcieniem typowym dla pieczywa pszennego, natomiast przy dodatkach 9% i 12% obserwowano intensywnie brązową barwę.

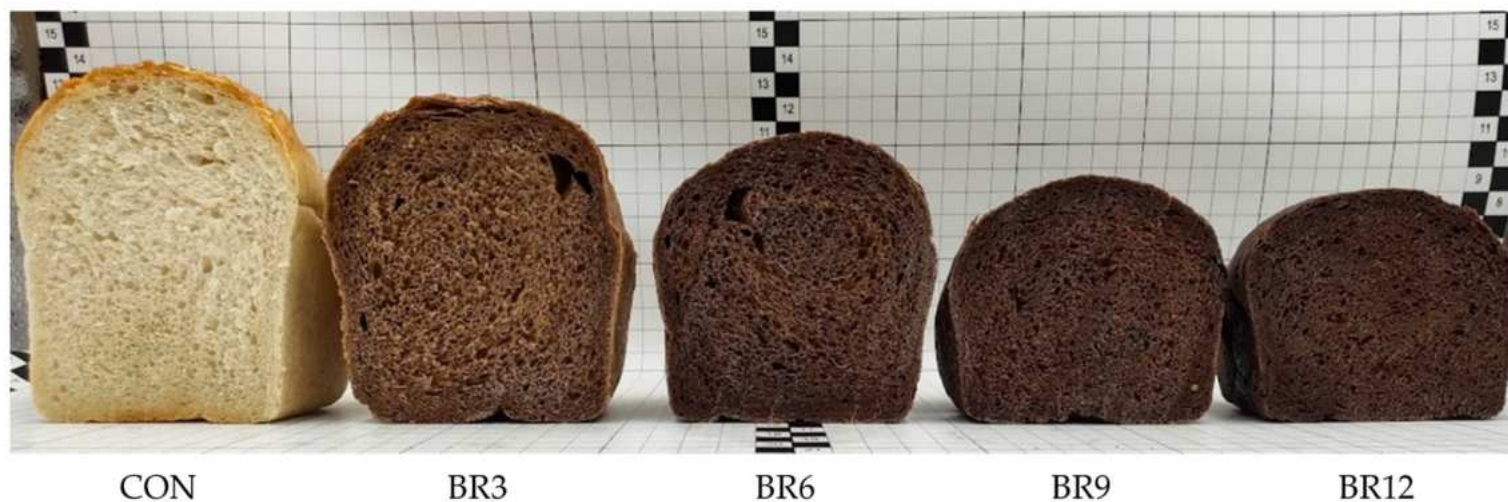
Podobne efekty opisano w badaniach nad chlebem wzbogaconym w korzeń mniszka lekarskiego (*Taraxacum officinale*), gdzie również obserwowano ciemnienie miękiszu,

wzrost nasycenia czerwieni oraz mniej intensywną barwę żółtą wraz ze wzrostem dodatku (Cacak-Pietrzak i in., 2021). Inla i in. (2023) wskazali, że wyższe temperatury mogą dodatkowo modyfikować intensywność koloru poprzez zmniejszenie wartości parametru L^* oraz zmianę parametrów a^* i b^* .

Tabela 8. Parametry barwy miękiszu chleba

Próbka	L*	a*	b*	Wskaźnik brązowienia	Wskaźnik żółtości	Wskaźnik bieli	ΔE^*
CON	61,49 ^c ± 0,58	0,51 ^a ± 0,37	12,27 ^a ± 0,46	22,11 ^a ± 0,98	28,50 ^a ± 1,08	59,58 ^c ± 0,55	—
BR3	39,63 ^b ± 3,50	7,87 ^b ± 1,8	17,67 ^b ± 0,9	43,30 ^b ± 1,3	63,70 ^b ± 1,3	36,61 ^b ± 1,0	22,61 ^a ± 1,1
BR6	30,61 ^{ab} ± 1,70	8,00 ^b ± 0,9	15,71 ^b ± 0,8	46,13 ^c ± 1,2	73,32 ^c ± 1,2	28,41 ^a ± 1,1	30,86 ^b ± 1,2
BR9	25,89 ^a ± 1,80	9,09 ^b ± 1,7	13,28 ^a ± 0,8	47,20 ^c ± 1,4	73,28 ^c ± 1,4	24,16 ^a ± 1,3	35,55 ^c ± 1,3
BR12	22,60 ^a ± 1,60	9,29 ^b ± 1,2	10,54 ^a ± 0,7	46,46 ^c ± 1,3	66,63 ^{bc} ± 1,5	21,34 ^a ± 1,4	38,84 ^d ± 1,1

CON – próbka kontrolna (chleb z 100% mąki pszennej); BR3, BR6, BR9, BR12 — próbki, w których zastosowano odpowiednio: 3%, 6%, 9% i 12% poziom substytucji mąki sproszkowanym owocnikiem *G. lucidum*. Dane przedstawiono jako średnią (n = 10) ± odchylenie standardowe. Średnie oznaczone różnymi literami w kolumnach różnią się istotnie statystycznie (test Tukeya, $p \leq 0,05$).



Rycina 4. Przekrój poprzeczny chleba pszennego (CON) i chleba BR3, BR6, BR9, BR12, w którym zastosowano odpowiednio: 3%, 6%, 9% i 12% poziom substytucji mąki sproszkowanym owocnikiem *G. lucidum*.

4.1.4. Analiza profilu tekstury (TPA) chleba

Analiza tekstury pieczywa stanowi istotny element oceny jego jakości, bezpośrednio wpływający na akceptację konsumencką oraz trwałość przechowalniczą produktu (Aleixandre i in., 2021). Zastąpienie mąki pszennej proszkiem z owocników *G. lucidum* wywołało istotne zmiany parametrów teksturalnych miękisz, takich jak twardość, sprężystość, żujność oraz spójność (kohezyjność) (tab. 9). Największe zmiany zaobserwowano w twardości miękisz, która rosła proporcjonalnie do poziomu substytucji. W próbce BR6, po 48 godzinach przechowywania, wartość tego parametru wzrosła o około 68% w porównaniu do wartości zarejestrowanej po 24 godzinach. Najwyższą twardość odnotowano w próbce BR12, przy czym nie stwierdzono istotnych różnic w twardości miękisz tego pieczywa przechowywanego przez 24 i 48 godzin, co może świadczyć o mniejszej podatności na czerstwienie produktów, w których zastosowano najwyższy 12% poziom substytucji mąki pszennej proszkiem z *G. lucidum*. Zjawisko to można tłumaczyć interakcjami pomiędzy związkami bioaktywnymi obecnymi w *G. lucidum* a białkami glutenowymi, prowadzącymi do zagęszczenia sieci białkowej, zmniejszenia porowatości, a tym samym ograniczenia utraty wody w trakcie przechowywania pieczywa (Lu i in., 2018; Ulziijargal i in., 2013). Sprężystość miękisz pozostała stosunkowo stabilna we wszystkich próbkach – nie odnotowano statystycznie istotnych różnic między pomiarami po 24 i 48 godzinach ($p \geq 0,05$). Wskazuje to, że elastyczność chleba nie uległa znaczącym zmianom w analizowanym okresie, niezależnie od poziomu substytucji mąki proszkiem z *G. lucidum*. Z kolei wartości żujności wzrastały wraz z poziomem substytucji. Może to sugerować, że zwiększona twardość miękisz powoduje większy opór w trakcie żucia, wpływając na percepcję struktury pieczywa. Spójność miękisz malała w funkcji wzrastającego udziału komponentu grzybowego w pieczywie. Największą redukcję spójności (o ok. 40% w stosunku do CON) zaobserwowano w próbce BR9. Efekt ten może być związany z obecnością nierozpuszczalnych frakcji błonnika pokarmowego w *G. lucidum*, które zakłócają tworzenie jednorodnej matrycy białkowej. Podobne wyniki opisano w badaniach dotyczących dodatku proszków z pieczarek (*Agaricus bisporus*), twardziaka jadalnego (*Lentinula edodes*) oraz borowika szlachetnego (*Boletus edulis*) (Lu i in., 2018). Wszystkie ww. komponenty grzybowe wprowadzone do receptury pieczywa pszennego powodowały wzrost twardości i obniżenie sprężystości oraz objętości bochenków pieczywa (Lu i in., 2018). Natomiast, zastosowanie owocników takich gatunków jak *Antrodia camphorata* (grzyb porastający drewno kamforowca), *Agaricus blazei* (pieczarka brazylijska), i *Phellinus linteus* (czyreń dębowy) skutkowało redukcją twardości

i poprawą sprężystości miękiszu chleba, co może wynikać z różnic w składzie oraz mechanizmach działania związków bioaktywnych występujących w poszczególnych gatunkach grzybów (Ulziijargal i in., 2013).

Tabela 9. Analiza profilu tekstury (TPA) pieczywa

Próbka	Twardość miękiszu [N]		Sprężystość		Żujność [N]		Spójność		Twardość skórki [N]	
	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
CON	2,15 ^{aA} ± 0,25	2,26 ^{aA} ± 0,53	0,95 ^{cA} ± 0,05	0,96 ^{dA} ± 0,04	1,39 ^{aA} ± 0,10	1,36 ^{aA} ± 0,19	0,69 ^{cA} ± 0,03	0,64 ^{cA} ± 0,06	19,24 ^{bB} ± 1,53	15,64 ^{abA} ± 1,23
BR3	4,39 ^{bA} ± 0,25	4,70 ^{bA} ± 0,49	0,92 ^{bcA} ± 0,04	0,86 ^{cdA} ± 0,04	2,45 ^{bA} ± 0,22	2,29 ^{bA} ± 0,24	0,61 ^{bA} ± 0,03	0,56 ^{bA} ± 0,02	18,94 ^{bB} ± 1,10	14,98 ^{aA} ± 0,98
BR6	7,70 ^{cA} ± 0,93	12,90 ^{cB} ± 0,77	0,90 ^{abcA} ± 0,03	0,88 ^{bA} ± 0,03	3,99 ^{cA} ± 0,48	5,20 ^{cB} ± 0,37	0,58 ^{bB} ± 0,04	0,46 ^{aA} ± 0,01	18,18 ^{abA} ± 1,13	17,88 ^{bA} ± 1,64
BR9	22,03 ^{dB} ± 1,28	20,18 ^{dA} ± 1,84	0,88 ^{abA} ± 0,02	0,86 ^{cdA} ± 0,03	8,59 ^{dA} ± 0,5	7,54 ^{dA} ± 0,61	0,45 ^{aA} ± 0,02	0,44 ^{aA} ± 0,03	18,48 ^{abA} ± 1,28	17,68 ^{bA} ± 1,62
BR12	31,23 ^{eA} ± 2,38	30,38 ^{eA} ± 2,27	0,85 ^{aA} ± 0,03	0,82 ^{aA} ± 0,02	12,11 ^{eA} ± 0,65	11,66 ^{eA} ± 0,81	0,46 ^{aA} ± 0,02	0,47 ^{aA} ± 0,02	16,54 ^{aA} ± 0,97	18,12 ^{bB} ± 1,27

CON – próbka kontrolna (100% mąki pszennej) BR3, BR6, BR9, BR12 — próbki pieczywa, w których zastosowano odpowiednio: 3%, 6%, 9% i 12% poziom substytucji mąki sproszkowanym owocnikiem *G. lucidum*. Dane przedstawiono jako wartości średnie (n = 7) ± odchylenie standardowe. Różne małe litery (a–e) w kolumnach oraz różne wielkie litery (A, B) w wierszach oznaczają istotne statystycznie różnice (test Tukeya, $p \leq 0,05$).

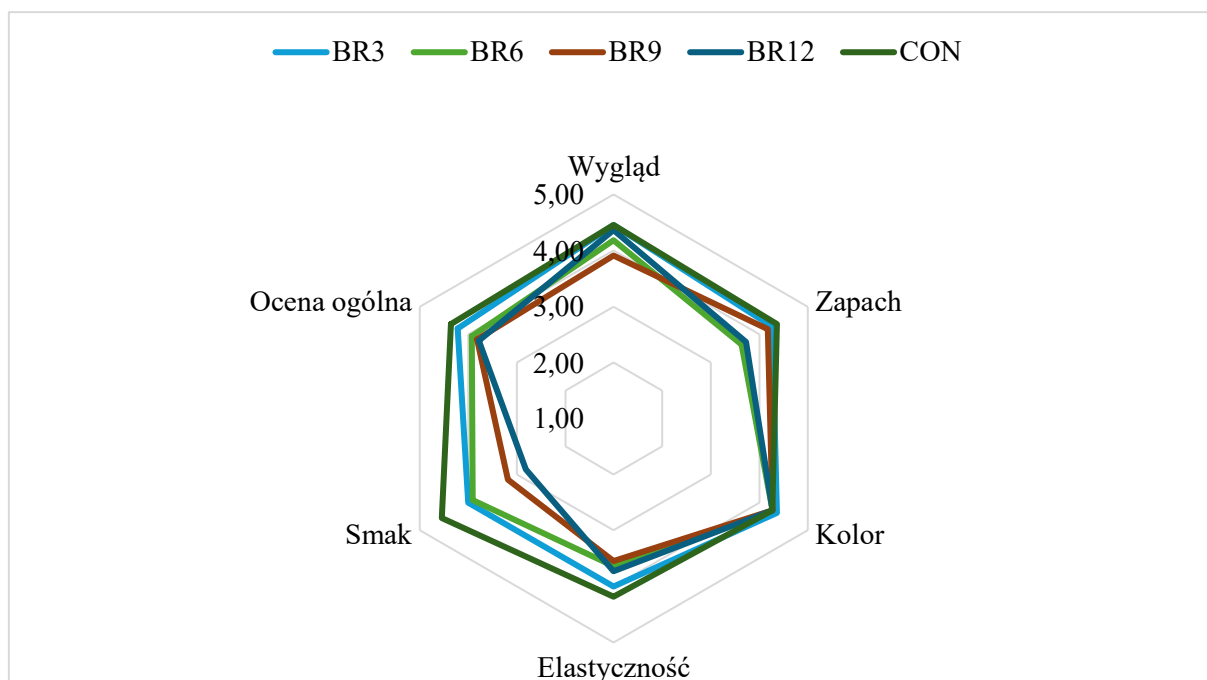
4.1.5. Ocena sensoryczna chleba

Ocena sensoryczna stanowi istotne narzędzie w doskonaleniu jakości pieczywa, umożliwiając kompleksową analizę percepcji konsumenckiej w zakresie takich atrybutów jak wygląd, aromat, smak, tekstura oraz ogólna akceptowalność produktu (Mollakhalili-Meybodi i in., 2023). W kontekście stosowania innowacyjnych składników w technologii żywności, takich jak grzyby lecznicze, analiza sensoryczna odgrywa kluczową rolę w ocenie potencjału rynkowego nowo opracowanych produktów.

W niniejszym badaniu wykazano, że substytucja mąki pszennej proszkiem z *G. lucidum* w ilości 3–6% nie wpłynęła negatywnie na cechy sensoryczne chleba - wygląd, aromat, smak i elastyczność miększu były oceniane na poziomie porównywalnym z próbką kontrolną (ryc. 5). Natomiast przy zawartości 9–12% proszku z *G. lucidum* zaobserwowano istotne pogorszenie ocen zapachu i smaku ($p \leq 0,05$), co może wynikać z intensywnego, charakterystycznego aromatu i smaku tego grzyba, znacząco ograniczającego akceptowalność konsumencką pieczywa BR9 i BR12

Podobne wnioski przedstawili Gaglio i in. (2019). Autorzy, analizując pieczywo z dodatkiem proszku z *Pleurotus eryngii* (bocznika mikołajkowego), stwierdzili że zastosowany komponent grzybowy zwiększa intensywność koloru skórki i miększu oraz negatywnie wpływa na smak i zapach, przy jednoczesnym pogorszeniu porowatości i elastyczności miększu. Niemniej jednak ogólna akceptowalność chleba z udziałem do 10% *P. eryngii* pozostawała na zadowalającym poziomie. Zbliżone rezultaty uzyskali Liu i in. (2022a), badając wpływ dodatku proszków z *Pleurotus eryngii* (bocznik mikołajkowy) i *Cantharellus cibarius* (kurka) na jakość chleba pszennego. Wzbogacenie pieczywa tymi dodatkami poprawiało jego wartość odżywczą, lecz prowadziło do pogorszenia wybranych cech sensorycznych, w tym aromatu. Z kolei analiza sensoryczna pieczywa bezglutenowego wzbogaconego proszkiem z *Inonotus obliquus* (błyskoporka podkorowego) wykazała najwyższą akceptowalność sensoryczną pieczywa, w którym dodatek komponentu grzybowego nie przekroczył 10%. Wyższe poziomy dodatku (15–20%) skutkowały istotnym obniżeniem ocen sensorycznych, szczególnie w zakresie smaku, tekstury i ogólnej akceptowalności, co przypisano intensywnemu smakowi i bardzo ciemnej barwie miększu (Kobus i in., 2024). Wyniki te wskazują, że wybrane gatunki grzybów, w tym *G. lucidum*, posiadają znaczący potencjał jako dodatki funkcjonalne do pieczywa. Przy umiarkowanych poziomach substytucji mąki pszennej nie powodują one istotnego pogorszenia cech sensorycznych, a jednocześnie wzbogacają produkt w bioaktywne związki o prozdrowotnym działaniu.

Kluczowe pozostaje jednak precyzyjne dobranie poziomu dodatku, by zachować równowagę pomiędzy wartością odżywczą a oczekiwaniami konsumentkimi.



Rycina 5. Wyniki oceny sensorycznej pieczywa pszennego oraz z udziałem proszku z owocników *G. lucidum*. CON – próbka kontrolna; BR3, BR6, BR9, BR12 — próbki, w których zastosowano odpowiednio: 3%, 6%, 9% i 12% poziom substytucji mąki sproszkowanym owocnikiem *G. lucidum*. Dane przedstawiono jako wartości średnie ($n = 8$).

4.1.6. Wartość odżywcza chleba wzbogaconego proszkiem z *G. lucidum*

Skład surowców oraz chleba wzbogaconego proszkiem z *G. lucidum* został przedstawiony w tab. 10. Zastąpienie mąki sproszkowanym owocnikiem *G. lucidum* w ilości 3–12% wpłynęło istotnie ($p \leq 0,05$) na zawartość wybranych składników chemicznych, w tym popiołu, białka ogólnego (BR6-BR12), błonnika pokarmowego (TDF, IDF) oraz węglowodanów przyswajalnych w pieczywie. Mąka pszenna typ 750, będąca najpopularniejszą mąką chlebową, charakteryzowała się stosunkowo niewielką zawartością białka (13,12% s.m.) oraz dużym udziałem węglowodanów przyswajalnych (71,04% s.m.), które stanowią główne źródło energii w pieczywie pszennym. Zawartość błonnika całkowitego w mące wynosiła zaledwie 5,3% s.m.

Zastosowany proszek z *G. lucidum* charakteryzował się znacznie większą zawartością błonnika pokarmowego (72,80% s.m.), w tym przede wszystkim był zasobny we frakcję nierozpuszczalną (68,22% s.m.). Włączenie go do receptury pieczywa skutkowało wzrostem zawartości błonnika w gotowym produkcie. Przy najwyższym poziomie substytucji mąki proszkiem z *G. lucidum* (próbka BR12) zawartość TDF kształtowała się na poziomie 17,08% s.m. i była prawie 2,5-krotnie większa w porównaniu z próbką CON. Zarówno wzrost

zawartości frakcji nierozpuszczalnej, jak i rozpuszczalnej błonnika ma istotne znaczenie z żywieniowego punktu widzenia. Odpowiednia podaż błonnika pokarmowego w diecie reguluje pracę przewodu pokarmowego oraz redukuje ryzyko rozwoju chorób dietozależnych, takich jak cukrzyca typu 2, miażdżyca czy otyłość (He i in., 2022; Kobus i in., 2024). Frakcja nierozpuszczalna poprawia perystaltykę jelit, zwiększa uczucie sytości i zapobiega zaparciom, natomiast frakcja rozpuszczalna przyczynia się do obniżenia stężenia cholesterolu, wspomagając zdrowie układu sercowo-naczyniowego (Waddell i Orfila, 2022). Zawartość białka w proszku z *G. lucidum* była o ok. 18% większa niż w mące pszennej, co przełożyło się na zwiększoną zawartość białka w pieczywie. W próbce BR12 poziom białka ogólnego był o 31,8% większy niż w chlebie kontrolnym. Ponadto, aminogram białka obecnego w *G. lucidum*, dowodzi o jego zasobności w kwas glutaminowy (1133,20 mg/100 g), asparaginowy (916,47 mg/100 g) i leucynę (718,36 mg/100 g), co może zwiększać podaż tych aminokwasów w diecie, szczególnie istotną w przypadku stosowania diet roślinnych (El Sheikha, 2022; Tian i in., 2024). Dotychczasowa literatura nie dostarcza danych dotyczących strawności białka obecnego w *G. lucidum*, jednak badania nad innymi gatunkami wskazują, że białka grzybowe mogą charakteryzować się niższą strawnością i ograniczoną biodostępnością, co wiąże się m.in. z obecnością polisacharydów ściany komórkowej utrudniających działanie enzymów proteolitycznych (Schimbator i in., 2020; Guo i in., 2025). Dla porównania, strawność białek w mące pszennej oceniana metodą *in vitro* wynosi 86,5–92,3%, a frakcji glutenowej 90,6–94,6% (Ma i in., 2021). W niniejszej rozprawie przeprowadzono dalszą weryfikację tej hipotezy w warunkach modelowych, obejmującą ocenę strawności białka w surowcach oraz pieczywie wzbogaconym proszkami grzybowymi, a uzyskane wyniki przedstawiono w części monograficznej niniejszej rozprawy.

Zawartość węglowodanów przyswajalnych w próbce z 12% udziałem *G. lucidum* (BR12) była niższa o około 27% względem pieczywa kontrolnego (CON). Obniżenie udziału łatwo przyswajalnych węglowodanów, przy równoczesnym zwiększeniu zawartości błonnika, może przynieść korzyści osobom z zaburzeniami metabolicznymi, w tym insulinoopornością i cukrzycą typu 2 (Chawananasest i in., 2022). Modyfikacja ta przyczynia się również do obniżenia indeksu glikemicznego pieczywa, wspierając stabilizację glikemii poposiłkowej (Ni i in., 2022). Wraz ze wzrostem udziału proszku z *G. lucidum* w pieczywie obserwowano również obniżenie wartości energetycznej chleba - w przypadku próbki BR12 redukcja kaloryczności wyniosła 19,33% względem próbki CON. Podobne tendencje zaobserwowano w badaniach nad wykorzystaniem proszków z grzybów jadalnych, takich jak *Agaricus bisporus* (pieczarka dwuzarodnikowa), *Lentinula edodes*

(twardziak jadalny) czy *Boletus edulis* (borowik szlachetny) do fortyfikacji pieczywa. Dodatki te, zwiększając zawartość białka i błonnika pokarmowego w produkcie przy równoczesnym ograniczeniu zawartości skrobi, korzystnie wpływały na wartość odżywczą i ograniczały kaloryczność pieczywa. Redukcja zawartości skrobi przy równoczesnym zwiększeniu zawartości błonnika pokarmowego dodatkowo wspomagała obniżenie przewidywanego indeksu i ładunku glikemicznego produktów piekarskich (Lu i in., 2018; Krawęcka i in., 2021).

Tabela 10. Skład chemiczny surowców i pieczywa

Próbka	Wilgotność	Popiół	Białko	Tłuszcz	TDF	IDF	SDF	Węglowodany przyswajalne (CHO)	Wartość energetyczna
	%				% s.m.				kcal/100 g
Mąka pszenna typ 750	9,4 ^A ±0,1	0,69 ^A ±0,01	13,12 ^A ±0,04	0,45 ^A ± 0,03	5,30 ^A ±0,13	2,4 ^A ±0,1	2,9 ^A ±0,2	71,04 ^B ±0,03	351,30 ^B ±0,11
Proszek <i>G. lucidum</i>	2,46 ^B ±0,14	3,90 ^B ±0,20	15,49 ^B ±0,10	0,99 ^B ±0,05	72,80 ^B ±0,40	68,22 ^B ±0,51	4,58 ^B ±0,03	11,38 ^A ±0,04	233,93 ^A ±0,1
CON	41,46 ^a ±0,71	2,20 ^a ±0,01	10,83 ^a ±0,04	1,23 ^a ±0,03	7,21 ^a ±0,19	4,26 ^a ±0,17	2,95 ^a ±0,02	78,52 ^c ±0,42	224,16 ^d ±0,17
BR3	44,18 ^{ab} ±0,23	2,22 ^b ±0,02	11,30 ^a ±0,02	1,25 ^a ±0,12	10,13 ^b ±0,86	7,70 ^b ±0,93	2,43 ^a ±0,07	67,49 ^d ±0,3	193,51 ^c ±0,2
BR6	46,59 ^b ±0,30	2,31 ^b ±0,02	13,03 ^b ±0,02	1,25 ^a ±0,09	12,73 ^{bc} ±1,35	10,07 ^b ±1,32	2,66 ^b ±0,03	63,21 ^c ±0,24	182,48 ^b ±0,5
BR9	45,17 ^c ±0,2	2,35 ^c ±0,05	13,37 ^b ±0,05	1,25 ^a ±0,1	14,49 ^c ±0,02	11,81 ^b ±0,03	2,68 ^b ±0,01	61,07 ^b ±0,2	185,32 ^{ab} ±0,1
BR12	45,52 ^c ±0,15	2,40 ^d ±0,02	14,27 ^c ±0,1	1,25 ^a ±0,07	17,08 ^d ±0,16	14,37 ^c ±0,11	2,71 ^c ±0,04	57,38 ^a ±0,22	180,88 ^a ± 0,3

CON – próbka kontrolna (100% mąki pszennej), BR3, BR6, BR9, BR12 — próbki, w których zastosowano odpowiednio: 3%, 6%, 9% i 12% poziom substytucji mąki sproszkowanym owocnikiem *G. lucidum*; CHO – przyswajalne węglowodany (obliczone z różnicy); TDF – całkowita zawartość błonnika pokarmowego (total dietary fibre), IDF – frakcja nierozpuszczalna błonnika pokarmowego (insoluble dietary fibre), SDF – frakcja rozpuszczalna błonnika pokarmowego (soluble dietary fibre), wartość średnia (n = 3) ± odchylenie standardowe (SD). Różne litery (a–e) dla pieczywa oraz (A, B) dla surowców w kolumnach wskazują na statystycznie istotne różnice (test Tukeya, $p \leq 0,05$), odpowiednio w próbkach surowców i chleba, test Tukeya ($p \leq 0,05$). Składniki odżywcze podano w przeliczeniu na suchą masę pieczywa, natomiast wartość energetyczną obliczono dla pieczywa świeżego.

4.1.7. Zawartość wybranych składników mineralnych

Zastosowanie proszku z owocników *G. lucidum* w formulacji pieczywa istotnie wpłynęło ($p \leq 0,05$) na profil zawartości wybranych makro- i mikroelementów (tab. 11). W szczególności odnotowano wyraźny wzrost zawartości wapnia, żelaza, manganu oraz miedzi, co wynika z wysokiej koncentracji tych pierwiastków w proszku *G. lucidum*. W porównaniu do mąki pszennej typu 750, *G. lucidum* zawiera odpowiednio więcej wapnia (o 268%), żelaza (620%), manganu (864%) i miedzi (368%), co przełożyło się na istotne zwiększenie poziomów tych elementów mineralnych w pieczywie wzbogaconym, szczególnie w próbce BR12. Podobne wyniki uzyskali Lu i in. (2021), którzy wykazali, że dodatek proszku z *Boletus edulis* (borowik szlachetny) do pieczywa prowadził do wzrostu zawartości wapnia, magnezu i żelaza.

Wzbogacenie pieczywa w *G. lucidum* może być szczególnie korzystne ze względu na zwiększoną zawartość wapnia, istotnego w profilaktyce osteoporozy, chorób zwyrodnieniowych stawów oraz w okresach zwiększonego zapotrzebowania na ten pierwiastek (menopauza, intensywny wzrost, wzmożona aktywność fizyczna) (Światowy Kongres na temat Osteoporozy, 2023). Wysoka zawartość żelaza i manganu w proszku z *G. lucidum* – odpowiednio 18,0 mg/100 g i 7,95 mg/100 g – miała również przełożenie na wzrost zawartości tych pierwiastków w pieczywie. W próbce BR12 zawartość żelaza była o około 32% większa niż w chlebie kontrolnym, co może zwiększać podaż tego pierwiastka w diecie, szczególnie istotną w przypadku kobiet, dzieci i osób starszych w kontekście zapobiegania niedokrwistości (Man i in., 2021). Żelazo pełni kluczową rolę w transporcie tlenu oraz utrzymaniu prawidłowej funkcji poznawczej i odpornościowej. Z kolei zawartość manganu w próbce BR12 wzrosła aż o 61,9% względem próbki kontrolnej. Pierwiastek ten bierze udział w wielu szlakach metabolicznych, wspiera układ kostny oraz chroni komórki przed stresem oksydacyjnym (Martins i in., 2020). Jego zwiększona zawartość w pieczywie może wspierać metabolizm kości i przeciwdziałać zaburzeniom ich mineralizacji. Z kolei niższa zawartość fosforu i potasu w proszku *G. lucidum* względem mąki pszennej skutkowała obniżeniem zawartości tych pierwiastków w pieczywie fortyfikowanym.

Tabela 11. Zawartość wybranych składników mineralnych w surowcach i pieczywie

Próbka	Makroelementy			Mikroelementy				Metale ciężkie	
	P	Ca	K	Fe	Cu	Mn	Se	*Pb	*Cd
Zawartość [mg/100 g]									
Mąka pszenna typ 750	131 ^B ±0,1	22,8 ^A ±0,1	171,0 ^B ± 0,5	2,50 ^A ±0,08	0,16 ^A ±0,02	0,825 ^A ±0,07	0,0112 ^A ±0,0003	ND	ND
Proszek <i>G. lucidum</i>	93 ^A ±0,2	84,0 ^B ±0,2	133 ^A ± 11	18,0 ^B ±0,12	0,75 ^B ±0,5	7,95 ^B ±0,18	0,0132 ^A ±0,0005	ND	ND
Zawartość [mg/100 g]									
CON	89,4 ^b ±0,1	11,60 ^a ±0,1	121 ^b ±6	1,36 ^b ±0,05	0,175 ^a ±0,07	0,483 ^b ±0,07	0,0081 ^c ±0,0001	ND	ND
BR3	61,0 ^a ±0,1	14,14 ^b ±0,1	81,29 ^a ±0,5	1,10 ^a ±0,06	0,200 ^{ab} ±0,10	0,455 ^a ±0,02	0,0053 ^b ±0,0002	ND	ND
BR6	61,0 ^a ±0,1	15,93 ^c ±0,1	80,6 ^a ±0,2	1,38 ^b ±0,08	0,210 ^{abc} ±0,10	0,582 ^c ±0,05	0,0063 ^a ±0,0002	ND	ND
BR9	61,0 ^a ±0,1	17,44 ^d ±0,1	79,5 ^a ±0,7	1,55 ^c ±0,04	0,228 ^{bc} ±0,20	0,691 ^d ±0,02	0,0065 ^a ±0,0003	ND	ND
BR12	61,0 ^a ±0,1	19,44 ^e ±0,1	79,66 ^a ±0,6	1,8 ^d ±0,02	0,246 ^c ±0,10	0,782 ^e ±0,03	0,0070 ^a ±0,0004	ND	ND
RDA/AI [mg/day]	700	800	2000	14	1	2	0,055	0,428	0,06
% RDA/AI [%]									
CON	12,74	1,45	6,05	9,71	17,5	24,15	14,72	-	-
BR3	8,71	1,77	4,06	7,86	20	22,75	9,7	-	-
BR6	8,71	1,99	4,03	9,86	21	29,1	11,5	-	-
BR9	8,71	2,18	3,98	11,07	22,8	34,55	11,9	-	-
B12	8,71	2,43	3,98	12,86	24,6	39,1	12,72	-	-

RDA – zalecane dzienne spożycie; AI – wystarczające spożycie; *dopuszczalna dzienna dawka (WHO); CON – próbka kontrolna (chleb pszenny); BR3, BR6, BR9, BR12 — próbki pieczywa, w których zastosowano odpowiednio: 3%, 6%, 9% i 12% poziom substytucji mąki sproszkowanym owocnikiem *G. lucidum*. Dane przedstawiono jako średnie (n = 3) ± odchylenie standardowe. Średnie wartości w tej samej kolumnie (surowiec lub próbka) oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie (test Tukeya; $p \leq 0,05$). Zawartość elementów mineralnych podano w przeliczeniu na suchą masę w przypadku surowców oraz w przeliczeniu na masę świeżą w przypadku pieczywa.

4.1.8. Zawartość polifenoli i aktywność antyoksydacyjna chleba z dodatkiem *G. lucidum*

Polifenole odgrywają kluczową rolę w mechanizmach antyoksydacyjnych, przyczyniając się do neutralizacji wolnych rodników i utrzymania równowagi redoks – istotnego czynnika ochrony komórek przed stresem oksydacyjnym (Krawęcka i in., 2022). Mechanizm ten jest podstawowy dla zachowania integralności struktur komórkowych oraz homeostazy organizmu.

Wyniki przedstawione w tabeli 12 potwierdzają, że proszek z owocników *G. lucidum* charakteryzuje się wyższą zawartością flawonoidów (1,06 mg QE/g s.m.) i polifenoli (12,70 mg GAE/g s.m.) w porównaniu z mąką pszenną typ 750, w której nie wykryto flawonoidów, a zawartość polifenoli wyniosła jedynie 0,13 mg GAE/g s.m. Proszek *G. lucidum* wykazał również bardzo wysoką aktywność antyoksydacyjną – 98,5% w teście ABTS oraz 98,88% w teście DPPH, co potwierdza jego silne właściwości przeciwutleniające.

Wzbogacenie receptury chleba pszennego proszkiem z *G. lucidum* skutkowało istotnym wzrostem zawartości związków polifenolowych. Przykładowo, zawartość flawonoidów w próbce BR12 osiągnęła wartość 0,21 mg QE/g s.m., a polifenoli 1,90 mg GAE/g s.m., co stanowi ponad czterokrotny wzrost w stosunku do chleba kontrolnego. Równolegle zaobserwowano wzrost aktywności antyoksydacyjnej – z poziomu 30,12% do 79,12% w przypadku ABTS oraz z 28,10% do 62,21% w przypadku DPPH.

Podobne zależności odnotowano w pieczywie bezglutenowym z dodatkiem proszku z *Inonotus obliquus* (chaga), gdzie wyższe poziomy dodatku (do 20%) skutkowały wzrostem stężenia flawonoidów, polifenoli i zdolności do redukcji wolnych rodników (Kobus i in., 2024).

Tabela 12. Zawartość polifenoli i aktywność antyoksydacyjna surowców i chleba

Próbka	Flawonoidy (mg QE/ g s.m.)	Polifenole (mg GAE/g s.m.)	Zdolność zmiatania wolnych rodników ABTS (%)	Zdolność zmiatania wolnych rodników DPPH (%)
Mąka pszenna typ 750	ND	0,13 ^A ±0,03	30,32 ^A ±0,9	45,02 ^A ±0,8
Proszek <i>G. lucidum</i>	1,06 ± 0,05	12,70 ^B ±0,1	98,5 ^B ±1,1	98,88 ^B ±2,1
CON	ND	0,46 ^a ±0,02	30,12 ^a ±0,8	42,84 ^a ±0,3
BR3	0,02 ^a ± 0,02	1,00 ^{bc} ±0,08	42,51 ^b ±0,12	53,12 ^b ±0,8
BR6	0,03 ^a ± 0,01	1,10 ^c ±0,05	54,38 ^c ±0,42	56,42 ^c ±1,1
BR9	0,10 ^b ± 0,01	1,26 ^c ±0,02	61,91 ^d ±0,5	59,90 ^d ±0,2
BR12	0,21 ^b ± 0,02	1,90 ^d ±0,1	79,12 ^e ±1,0	62,21 ^e ±0,3

CON– próbka kontrolna (chleb pszenny); BR3, BR6, BR9, BR12 — próbki, w których zastosowano odpowiednio: 3%, 6%, 9% i 12% poziom substytucji mąki sproszkowanym owocnikiem *G. lucidum*. Dane przedstawiono jako średnie (n = 3) ± odchylenie standardowe. Średnie wartości w tej samej kolumnie (surowiec (duże litery) lub próbki pieczywa (małe litery)) oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie (test Tukeya; $p \leq 0,05$).

Podsumowanie

Badania nad możliwością wprowadzenia do receptury chleba pszennego proszku z *G. lucidum* wykazały, że jego zastosowanie istotnie ($p \leq 0,05$) wpływa na właściwości farinograficzne ciasta oraz cechy fizykochemiczne i wartość odżywczą pieczywa. Częściowa substytucja mąki pszennej proszkiem z *G. lucidum* prowadziła do zwiększenia absorpcji wody w cieście i wydłużenia czasu jego stabilności. Wprowadzenie wysokobłonnikowego komponentu grzybowego mogło mieć wpływ na dezintegrację struktury siatki glutenowej i zmniejszenie jej elastyczności co przełożyło się na mniejszą objętość właściwą chleba. Efekt ten należy wiązać z ograniczoną zdolnością do zatrzymywania gazów fermentacyjnych w cieście, spowodowaną obecnością błonnika pokarmowego i polisacharydów. Niemniej jednak, zwiększona wilgotność pieczywa może zmniejszyć jego podatność na czerstwienie. Wprowadzenie proszku z *G. lucidum* do receptury pieczywa wpłynęło również na znaczną poprawę jego wartości odżywczej. Odnotowano m.in. wzrost zawartości błonnika pokarmowego, białka, składników mineralnych (wapnia, żelaza, manganu), a także związków polifenolowych. Znacząco zwiększył się również potencjał antyoksydacyjny pieczywa. Pomimo korzyści wynikających z wprowadzenia do receptury pieczywa komponentu grzybowego, zaleca się stosowanie poziomu substytucji nie przekraczającego 6%. Większy udział *G. lucidum* w pieczywie generuje gorsze właściwości sensoryczne chleba w tym szczególnie negatywnie wpływa na smak, zapach oraz elastyczność miękiszu.

4.2. Zastosowanie zmielonego owocnika *Hericium erinaceus* (Bull.) Pers. (soplówki jeżowatej) jako funkcjonalnego dodatku do pieczywa pszennego

Model badawczy II

Celem badań w modelu II była ocena wpływu wzrastającego poziomu substytucji (3, 6, 9, 12%) mąki pszennej proszkiem z *Hericium erinaceus* (Bull.) Pers. (*H. erinaceus*) na właściwości technologiczne, fizykochemiczne, potencjał antyoksydacyjny i jakość sensoryczną pieczywa pszennego.

4.2.1. Właściwości farinograficzne ciasta

H. erinaceus jest jadalnym grzybem o udokumentowanych właściwościach prozdrowotnych, którego bioaktywne składniki mogą modyfikować cechy reologiczne ciasta. Analiza farinograficzna ciasta pszennego z dodatkiem proszku z owocnika *H. erinaceus* wykazała istotny wpływ tego komponentu m.in. na wodochłonność mąki (WA), czas rozwoju ciasta (DDT) oraz jego stabilność (ST) (tab. 13). Częściowa substytucja mąki pszennej proszkiem grzybowym wywarła istotny wpływ na wartości parametrów farinograficznych (ST, DS, FQN) już przy 3% udziale dodatku, a intensywność wpływu wzrastała wraz ze zwiększaniem poziomu substytucji ($p \leq 0,05$).

Zaobserwowany wzrost wodochłonności mąki może być związany ze zwiększoną zawartością błonnika pokarmowego, zwłaszcza frakcji nierozpuszczalnej, obecnej w owocniku *H. erinaceus*. Liczne grupy hydroksylowe w cząsteczkach błonnika pokarmowego umożliwiają tworzenie wiązań wodorowych z wodą, co sprzyja jej wiązaniu przez komponenty grzybowe. Wyniki te są zgodne z obserwacjami Wu i in. (2016), którzy wykazali podobny efekt stosując grzyb *Sparassis crispa* (siedzuń sosnowy) w produkcji pieczywa pszennego. Również Nie i in. (2019) potwierdzili, że dodatki grzybowe bogate w błonnik, takie jak *Flammulina velutipes* (płomiennica zimowa), zwiększają absorpcję wody dzięki zdolności do jej zatrzymywania przez strukturalne składniki ścian komórek grzyba.

Poza zwiększoną absorpcją wody, zaobserwowano także wydłużenie czasu rozwoju ciasta i wzrost jego stabilności. W przypadku próbki zawierającej 3% udział *H. erinaceus*, czas stabilności wydłużył się o 75% względem próbki kontrolnej, co sugeruje pozytywny wpływ grzyba na odporność ciasta na obróbkę mechaniczną. Efekt ten może być wynikiem oddziaływania związków fenolowych z białkami glutenowymi, co prowadzi do wzmocnienia struktury siatki glutenowej. Welc-Stanowska i in. (2023) wykazali, że obecność kwasów fenolowych może poprawiać konsystencję ciasta poprzez tworzenie dodatkowych wiązań wodorowych z białkami. Z kolei Teterycz i Sobota (2023) podkreślają, że istotną rolę

w kształtowaniu reologii ciasta mogą odgrywać składniki mineralne. Wzrost zawartości jonów magnezu, sodu czy potasu może sprzyjać tworzeniu wiązań między polipeptydami, zwiększając odporność ciasta na mieszanie i ograniczając jego rozmiękczenie.

H. erinaceus wpływa korzystnie na właściwości reologiczne ciasta, zwiększając liczbę farinograficzną (FQN), wydłużając czas rozwoju i poprawiając jego stabilność. Warto jednak zaznaczyć, że poprawa reologii ciasta nie zawsze przekłada się na jakość gotowego produktu. Obserwowana redukcja objętości właściwej pieczywa (tab. 14) oraz wzrost twardości miękiszu (tab. 16) mogą wynikać z nadmiernego usztywnienia struktury ciasta, ograniczającego jego elastyczność i zdolność do zatrzymywania gazów fermentacyjnych. Może to niekorzystnie wpływać na porowatość miękiszu (ryc. 6) i akceptowalność sensoryczną pieczywa.

Tabela 13. Parametry farinograficzne ciasta

Próbka	WA (%)	DDT (min)	ST (min)	DS [FU]	FQN (mm)
CON	57,9 ^a ± 1,07	2,3 ^a ± 0,12	6,05 ^a ± 0,15	55 ^d ± 0,9	71 ^a ± 1,16
BS3	59,6 ^{ab} ± 1,10	2,6 ^a ± 0,15	10,6 ^c ± 0,25	27 ^c ± 0,44	107 ^b ± 1,75
BS6	61 ^{ab} ± 1,12	2,12 ^a ± 0,3	9,65 ^b ± 0,23	28 ^c ± 0,46	102 ^b ± 1,67
BS9	63,1 ^{bc} ± 1,16	7,08 ^b ± 0,12	10,47 ^c ± 0,25	17 ^b ± 0,28	119 ^c ± 1,94
BS12	66,6 ^c ± 1,23	8,08 ^c ± 0,13	9,67 ^b ± 0,23	14 ^a ± 0,23	114 ^c ± 1,86

CON — próbka kontrolna (100% mąki pszennej); BS3, BS6, BS9, BS12 — próbki, w których zastosowano odpowiednio: 3%, 6%, 9% i 12% poziom substitucji mąki sproszkowanym owocnikiem *H. erinaceus* (soplówka jeżowata). Dane przedstawiono jako średnią ($n = 3$) ± odchylenie standardowe. Wartości oznaczone różnymi literami w tej samej kolumnie różnią się istotnie statystycznie (test Tukeya; $p \leq 0,05$). Oceniane parametry: WA – wodochłonność mąki; DDT – czas rozwoju ciasta; ST – czas stabilności ciasta; DS – stopień rozmiękczenia ciasta; FQN – liczba jakości.

4.2.2. Ocena cech jakościowych chleba

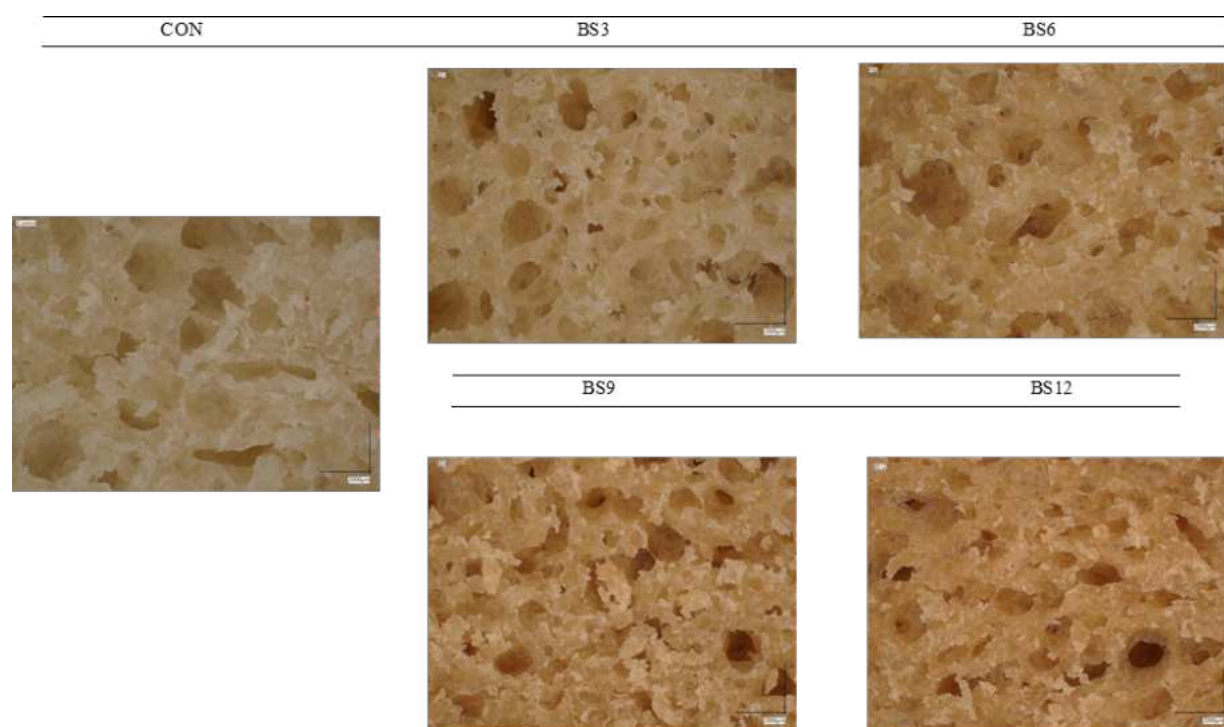
Wyniki oceny parametrów technologicznych pieczywa pszennego, takich jak wydajność ciasta i pieczywa, strata piecowa całkowita oraz objętość właściwa pieczywa, przedstawiono w tab. 14. Zastosowanie w recepturze pieczywa proszku z *H. erinaceus* w ilości do 12% istotnie ($p \leq 0,05$) wpłynęło na przebieg procesu technologicznego oraz właściwości fizyczne końcowego produktu. Wzrost udziału komponentu grzybowego powodował statystycznie istotne zwiększenie ($p \leq 0,05$) zarówno wydajności ciasta (o ok. 5 p. p.), jak i wydajności gotowego chleba (o ok. 9 p. p.), co może wskazywać na korzystny wpływ dodatku na efektywność procesu produkcji pieczywa. Jednocześnie odnotowano obniżenie strat wypiekowych, co z technologicznego punktu widzenia jest zjawiskiem pożądanym, ponieważ zwiększa rentowność produkcji. Negatywnym skutkiem wzbogacania pieczywa proszkiem z *H. erinaceus* była natomiast istotna redukcja objętości właściwej chleba ($p \leq 0,05$), widoczna już przy 6% udziale grzyba. Zaobserwowane zmiany są zgodne z wynikami badań

Lu i in. (2016), w których dodatki proszku z *Agaricus bisporus* (pieczarka dwuzarodnikowa) i *Lentinula edodes* (twardziak jadalny) również prowadziły do redukcji objętości chleba wraz ze wzrostem poziomu substytucji. Podobny trend odnotowali także Skendi i in. (2010) oraz Yuan i in. (2017), którzy dodatkowo zauważyli, że dodatki komponentów grzybowych mogą osłabiać strukturę sieci glutenowej, co negatywnie wpływa na retencję gazów fermentacyjnych i objętość końcowego produktu. Wysoka zawartość błonnika pokarmowego w *H. erinaceus*, przy jednoczesnym braku białek glutenowych, może niekorzystnie wpływać na elastyczność ciasta i jego zdolność do zatrzymywania gazów fermentacyjnych. Chociaż wzbogacone ciasto cechowało się większą odpornością na działanie sił mechanicznych podczas miesienia i obróbki wstępnej, co potwierdzają dane zaprezentowane w tab. 13, struktura siatki glutenowej, dezintegrowana obecnością komponentów wysokobłonnikowych wykazywała obniżoną zdolność do retencji gazów, zwłaszcza dwutlenku węgla powstającego w czasie fermentacji. Może to prowadzić do zmniejszenia objętości właściwej pieczywa oraz pogorszenia porowatości miękiszu. Modyfikacja receptury ciasta, obejmująca nie tylko częściową substytucję mąki pszennej *H. erinaceus*, lecz także zmiany wielkości dodatku wody, wynikające ze zwiększonej wodorochłonności mieszanki surowców sypkich, mogła również wpływać niekorzystnie na przebieg fermentacji, prowadząc do obniżenia intensywności produkcji gazów fermentacyjnych przez drożdże. W konsekwencji pieczywo zawierające dodatek proszku z *H. erinaceus* odznaczało się niższą objętością i słabszą porowatością w porównaniu do tradycyjnego chleba pszennego (próbka CON), co widoczne jest również na rycinie 7. Podobne wnioski sformułowali Yuan i in. (2017), którzy badali chleb wzbogacony *Auricularia auricula-judae* (uszak bżowy). Autorzy również odnotowali wyraźne pogorszenie objętości i struktury miękiszu pieczywa z dodatkiem komponentu grzybowego.

Tabela 14. Właściwości technologiczne pieczywa

Próbka	Wydajność ciasta [%]	Wydajność pieczywa [%]	Strata piecowa całkowita [%]	Objętość 100 g pieczywa [cm ³]
CON	162,17 ^a ± 0,5	140,78 ^a ± 1,31	13,19 ^b ± 0,81	350,79 ^d ± 2,69
BS3	162,67 ^{ab} ± 0,3	141,65 ^a ± 0,6	12,92 ^{ab} ± 0,37	345,55 ^{cd} ± 2,33
BS6	164,17 ^{ab} ± 0,4	143,69 ^a ± 1,33	12,47 ^{ab} ± 0,81	341,08 ^c ± 2,41
BS9	166,17 ^{ab} ± 0,3	147,52 ^b ± 1,33	11,09 ^a ± 0,8	329,98 ^b ± 2,35
BS12	167,50 ^b ± 0,3	149,83 ^b ± 0,61	10,30 ^a ± 0,36	321,84 ^a ± 2,05

CON – próbka kontrolna (100% mąki pszennej); BS3, BS6, BS9, BS12 — próbki pieczywa, w których zastosowano odpowiednio: 3%, 6%, 9% i 12% poziom substytucji mąki sproszkowanym owocnikiem *H. erinaceus* (soplówki jeżowatej). Dane przedstawiono jako średnią (n = 3) ± odchylenie standardowe. Średnie oznaczone różnymi literami w kolumnie różnią się istotnie statystycznie (test Tukeya; $p \leq 0,05$).



Rycina 6. Porowatość miękiszu (powiększenie $\times 2000$) w przekroju poprzecznym pieczywa: kontrolnego (CON) oraz z dodatkiem sproszkowanego *H. erinaceus* (soplówki jeżowatej) na poziomach 3, 6, 9 i 12% – odpowiednio próbki BS3, BS6, BS9 i BS12.

4.2.3. Parametry barwy chleba

W przeprowadzonym badaniu oceniono wpływ wprowadzenia do receptury pieczywa proszku z *H. erinaceus* na barwę miękiszu (tab. 15). Próbką odniesienia była próbka CON. Już przy 6% udziale komponentu grzybowego zaobserwowano statystycznie istotną redukcję jasności miękiszu ($p \leq 0,05$). Wartość parametru L^* zmniejszyła się o 5,72% w porównaniu z próbką kontrolną. Równocześnie stwierdzono wyraźne przesunięcie barwy w kierunku czerwonej (a^*) o 620% oraz w kierunku żółtej (b^*) o 87,2%, w porównaniu do CON.

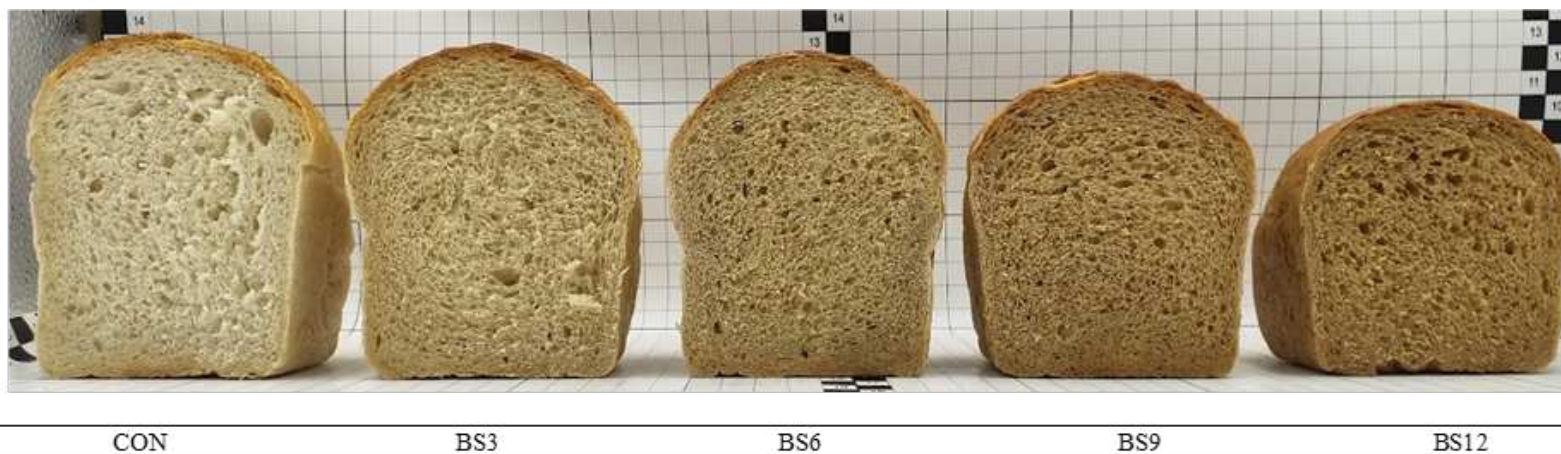
W konsekwencji wskaźnik brązowienia w pieczywie BS6 wzrósł o 145,5%, a wskaźnik żółtości o około 101%, co wiązało się z równoczesną redukcją wskaźnika bieli. Już przy najniższym poziomie dodatku (3%) całkowita różnica barwy (ΔE) przekroczyła wartość progową 3 i wynosiła 6,07. Zgodnie z kryteriami Pathare i in. (2013), świadczy to o wyraźnie zauważalnej gołym okiem zmianie barwy w stosunku do próbki kontrolnej. Choć świeży owocnik *H. erinaceus* jest naturalnie biały, to w wyniku procesów suszenia i rozdrabniania jego barwa ulega zmianie w kierunku odcieni żółtych i brązowych. Jak zauważył Kim (2020), zjawisko to może być efektem przemian chemicznych wywołanych temperaturą, w tym reakcji Maillarda prowadzących do powstawania melanoidyn – związków o barwie od brązowej do niemal czarnej i nie do końca musi wynikać z obecności naturalnych barwników w owocnikach grzyba. Analogiczne zmiany opisał Losoya-Sifuentes i in. (2021), wskazując, że dodatek proszku z *Pleurotus ostreatus* (bocznik ostrygowaty) również powodował obniżenie wartości L^* oraz wzrost wartości a^* i b^* . Tłumaczono to ciemniejszą barwą proszku w porównaniu do mąki pszennej oraz intensyfikacją reakcji Maillarda podczas wypieku. Z kolei Jia i in. (2023) zauważyli, że barwa miękiszu chleba zależy głównie od koloru zastosowanych surowców, ponieważ wewnątrz bochenka panują niższe temperatury i mniejsza jest intensywność odparowywania wody, co ogranicza intensywność reakcji Maillarda i karmelizację cukrów.

Warto podkreślić, że *H. erinaceus*, podobnie jak wiele innych grzybów, zawiera związki będące substratami reakcji Maillarda - m.in. cukry redukujące oraz aminokwasy zasadowe, w tym lizynę (Shah Bacha i in., 2018; Yang i in., 2022). Ich obecność nie tylko sprzyja procesom brązowienia, ale także wpływa na powstawanie charakterystycznych związków aromatycznych i smakowych, co może mieć istotne znaczenie w aspekcie jakości sensorycznej gotowego produktu.

Tabela 15. Parametry barwy miękkiszu chleba

Próbka	Odczyt barwy za pomocą pro- gramu Nix Co- lor Sensor	L*	a*	b*	Indeks brązowienia	Indeks żółtości	Indeks bieli	ΔE^*
CON		61,49 ^c ± 0,58	0,51 ^a ± 0,37	12,27 ^a ± 0,46	22,11 ^a ± 0,98	28,50 ^a ± 1,08	59,58 ^c ± 0,55	-
BS3		60,17 ^{bc} ± 1,07	1,84 ^b ± 0,12	17,96 ^b ± 1,81	36,53 ^b ± 1,51	42,66 ^b ± 1,41	56,26 ^c ± 1,07	06,07 ^a ± 0,57
BS6		57,97 ^b ± 1,2	3,67 ^c ± 0,23	22,97 ^{cd} ± 1,62	54,28 ^c ± 1,8	57,26 ^c ± 2,1	51,88 ^b ± 5,39	13,13 ^b ± 1,86
BS9		57,07 ^b ± 1,91	5,29 ^d ± 0,46	24,96 ^c ± 0,92	62,23 ^d ± 3,5	62,52 ^d ± 2,44	50,03 ^b ± 1,55	14,45 ^b ± 1,03
BS12		53,43 ^a ± 1,35	7,17 ^e ± 0,28	27,14 ^d ± 1,02	77,61 ^e ± 2,05	72,58 ^e ± 1,34	45,61 ^a ± 0,97	18,28 ^c ± 0,56

CON – próbka kontrolna (chleb z 100% mąki pszennej); BS3, BS6, BS9, BS12 — próbki, w których zastosowano odpowiednio: 3%, 6%, 9% i 12% poziom substytucji mąki sproszkowanym owocnikiem *H. erinaceus* (sopłówki jeżowatej). Parametry barwy obejmują: L* – jasność, a* – barwa czerwono-zielona, b* – barwa niebiesko-żółta. Dane przedstawiono jako średnią (n = 10) ± odchylenie standardowe. Wartości średnie dla tego samego parametru oznaczone różnymi literami różnią się istotnie statystycznie (test Tukeya; $p \leq 0,05$).



Rycina 7. Przekrój poprzeczny chleba pszennego (CON) oraz pieczywa, w którym zastosowano częściową substytucję mąki pszennej (3, 6, 9 i 12%) owocnikiem z *H. erinaceus* (sopłówki jeżowatej), oznaczone odpowiednio BS3, BS6, BS9 i BS12.

4.2.4. Analiza profilu tekstury (TPA) chleba

Wyniki analizy parametrów tekstury, przedstawione w tabeli 16, wskazują, że obecność proszku z *H. erinaceus* w recepturze pieczywa miała istotny wpływ na teksturę zarówno skórki, jak i miękiszu. Zwiększenie udziału *H. erinaceus* w pieczywie wiązało się z obniżeniem twardości skórki badanej po 24 i 48 godzinach od wypieku. Po 48 godzinach przechowywania twardość skórki zmniejszyła się we wszystkich próbkach, jednak w przypadku próbki BS12 odnotowane zmiany w analizowanym parametrze twardości skórki nie różniły się statystycznie. Zjawisko to można tłumaczyć kierunkową migracją wilgoci z warstwy miękiszu do warstwy skórki podczas przechowywania (Mironeasa i in., 2018). W przypadku twardości miękiszu zaobserwowano odwrotny trend - twardość wzrastała wraz ze zwiększaniem poziomu substytucji mąki pszennej proszkiem z *H. erinaceus* oraz czasem przechowywania pieczywa. Podobne wyniki uzyskali Sulieman i in. (2018) w odniesieniu do chleba wzbogacanego proszkiem z *Agaricus bisporus* (pieczarka dwuzarodnikowa). Zwiększenie twardości może wynikać z zaburzeń tworzenia się sieci glutenowej pod wpływem komponentów grzybowych (Steffolani i in., 2014; Liu i in., 2022b). Sprężystość miękiszu malała wraz ze wzrostem zawartości *H. erinaceus* w pieczywie. Jednak różnice statystycznie istotne ($p \leq 0,05$) zaobserwowano dopiero przy 12% poziomie substytucji. Po 48 godzinach przechowywania w większości wariantów pieczywa odnotowano obniżenie parametru sprężystości. Odnotowana tendencja dotyczy wariantów pieczywa z udziałem komponentu grzybowego i jest zgodna z wynikami uzyskanymi przez Ulziijargala i in. (2013).

Dodatek 3% proszku z *H. erinaceus* nie wpłynął istotnie na spójność (kohezję) świeżego miękiszu, jednak po 48 godzinach przechowywania odnotowano jej obniżenie we wszystkich próbkach zawierających *H. erinaceus*, a szczególnie w pieczywie z 3-9% udziałem proszku grzybowego. Zjawisko to można wiązać z naturalnym procesem czerstwienia chleba (Esteller i in., 2004). Wartości parametru żujności pozostawały względnie stabilne do 3% poziomu substytucji mąki pszennej komponentem grzybowym, natomiast przy wyższych udziałach *H. erinaceus* odnotowano tendencję wzrostową, co może świadczyć o pogorszeniu właściwości teksturalnych pieczywa. Zależność tę potwierdzają również wcześniejsze badania innych autorów, dotyczące wpływu dodatku różnorodnych surowców wysokobłonnikowych do pieczywa (Sulieman i in., 2018; Wirkijowska i in., 2023).

Tabela 16. Analiza profilu tekstury (TPA) pieczywa

Próbka	Twardość skórki [N]		Twardość miękiszu [N]		Sprężystość		Żujność [N]		Spójność	
	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
CON	19,24 ^{cdB} ± 1,53	15,64 ^{bA} ± 1,23	2,15 ^{aA} ± 0,25	2,26 ^{aA} ± 0,53	0,95 ^{bA} ± 0,05	0,96 ^{dA} ± 0,04	1,39 ^{eA} ± 0,10	1,36 ^{eA} ± 0,19	0,69 ^{aA} ± 0,03	0,64 ^{abA} ± 0,06
BS3	19,94 ^{dB} ± 0,74	14,26 ^{abA} ± 1,54	2,33 ^{abA} ± 0,33	3,00 ^{aA} ± 0,37	0,93 ^{bB} ± 0,03	0,90 ^{cA} ± 0,05	1,47 ^{deA} ± 0,19	1,58 ^{deA} ± 0,10	0,68 ^{aB} ± 0,02	0,60 ^{bcdA} ± 0,02
BS6	18,90 ^{cdB} ± 1,61	13,48 ^{aA} ± 1,23	3,11 ^{bA} ± 0,16	4,65 ^{bB} ± 0,44	0,94 ^{bB} ± 0,03	0,87 ^{bcA} ± 0,02	1,85 ^{cdA} ± 0,15	2,18 ^{cB} ± 0,12	0,63 ^{abcB} ± 0,04	0,54 ^{defA} ± 0,03
BS9	16,72 ^{bcB} ± 1,77	13,32 ^{aA} ± 1,40	4,82 ^{cA} ± 0,49	4,85 ^{bA} ± 0,45	0,91 ^{bB} ± 0,05	0,84 ^{abA} ± 0,01	2,64 ^{bB} ± 0,27	2,09 ^{cA} ± 0,20	0,60 ^{bcdB} ± 0,01	0,51 ^{fAA} ± 0,03
BS12	14,88 ^{abA} ± 0,68	14,74 ^{abA} ± 1,88	7,97 ^{dA} ± 1,01	8,05 ^{cA} ± 0,78	0,82 ^{aA} ± 0,02	0,81 ^{aA} ± 0,03	3,67 ^{aA} ± 0,36	3,45 ^{aA} ± 0,24	0,57 ^{bcdA} ± 0,03	0,53 ^{efA} ± 0,04

CON – próbka kontrolna (chleb z 100% mąki pszennej); BS3, BS6, BS9, BS12 — próbki, w których zastosowano odpowiednio: 3%, 6%, 9% i 12% poziom substitucji mąki sproszkowanym owocnikiem *H. erinaceus*. Dane przedstawiono jako wartość średnią (n = 7); ± odchylenie standardowe. Różne małe litery (a–f) w kolumnie oraz duże litery (A–B) w wierszu oznaczają różnice statystycznie istotne (test Tukeya; $p \leq 0,05$).

4.2.5. Analiza sensoryczna pieczywa

Na podstawie uzyskanych wyników (tab. 17) stwierdzono, że wprowadzenie do receptury pieczywa proszku z *H. erinaceus* w ilości 3–12% nie wpłynęło istotnie na ocenę wyglądu zewnętrznego pieczywa. Najwyżej, z notą 4,45, ocenione zostało pieczywo BS3 oraz próbka kontrolna (CON), jednak próbki z udziałem komponentu na poziomie 6-12% uzyskały tylko nieznacznie niższe noty w zakresie elastyczności oraz smaku.

Podobne wyniki odnotowano w odniesieniu do zapachu - wszystkie warianty badanego pieczywa uzyskały stosunkowo wysokie noty ($> 3,5$) przy czym najlepiej ocenione zostały również próbki pieczywa BS3 i CON.

W przypadku oceny barwy pieczywa nie odnotowano istotnych różnic pomiędzy wynikami uzyskanymi dla analizowanych próbek. Niezależnie od poziomu dodatku komponentu grzybowego, wszystkie warianty pieczywa otrzymały zbliżone noty, co świadczy o neutralnym wpływie inkorporacji *H. erinaceus* na ten atrybut sensoryczny pieczywa.

Z kolei wyniki oceny elastyczności miękiszu pieczywa wykazały, że częściowa substitucja mąki komponentem grzybowym wpływa negatywnie na analizowany parametr. Odnotowana tendencja koreluje z wcześniej zaobserwowanym obniżeniem objętości właściwej i pogorzeniem porowatości miękiszu.

Największe różnice pomiędzy próbkami odnotowano w zakresie oceny smaku. Próbka kontrolna uzyskała najwyższą notę, natomiast najniższą ocenę uzyskał wariant pieczywa BS12, cechujący się największym udziałem komponentu grzybowego. Wyniki te wskazują, że zwiększenie udziału *H. erinaceus* powyżej 6% w recepturze wpływa negatywnie na smak pieczywa i znacząco obniża jego akceptowalność sensoryczną.

Warto podkreślić, że odmienne wyniki przedstawili Ulziijargal i in. (2013), którzy badali wpływ dodatku różnych gatunków grzybów na właściwości sensoryczne pieczywa. Autorzy wykazali, że substitucja mąki pszennej na poziomie 5% proszkiem z *Antrodia camphorata* (grzyb hubowaty o właściwościach adaptogennych), *Agaricus blazei* (pieczarka brazylijska), *Hericium erinaceus* (soplówka jeżowata) oraz *Phellinus linteus* (czyreń dębowy) niekorzystnie wpływała na barwę i wygląd pieczywa, jednak nie powoduje pogorszenia jego właściwości smakowych.

Tabela 17. Ocena sensoryczna pieczywa

Próbka	Parametry oceny sensorycznej					Ogólna ocena
	Wygląd	Zapach	Barwa	Elastyczność	Smak	
CON	4,45 ^a	4,36 ^a	4,27 ^a	4,18 ^a	4,55 ^b	4,36 ^a
	± 0,50	± 0,57	± 0,71	± 0,75	± 0,42	± 0,48
BS3	4,45 ^a	4,27 ^a	4,36 ^a	4,00 ^a	4,00 ^{ab}	4,22 ^a
	± 0,86	± 0,88	± 0,88	± 0,88	± 0,88	± 0,42
BS6	4,18 ^a	3,64 ^a	4,27 ^a	3,64 ^a	3,91 ^{ab}	3,93 ^a
	± 0,77	± 0,75	± 0,50	± 0,67	± 0,75	± 0,32
BS9	3,91 ^a	4,18 ^a	4,27 ^a	3,55 ^a	3,18 ^{ab}	3,82 ^a
	± 0,74	± 0,75	± 0,67	± 0,86	± 0,57	± 0,24
BS12	4,36 ^a	3,73 ^a	4,27 ^a	3,73 ^a	2,82 ^a	3,78 ^a
	± 0,95	± 0,88	± 0,43	± 0,54	± 0,86	± 0,81

CON – próbka kontrolna (chleb z 100% mąki pszennej); BS3, BS6, BS9, BS12 — próbki, w których zastosowano odpowiednio: 3%, 6%, 9% i 12% poziom substitucji mąki sproszkowanym owocnikiem *H. erinaceus*. Dane przedstawiono jako średnią (n = 11) ± odchylenie standardowe. Różne litery (a–b) w kolumnie oznaczają różnice statystycznie istotne (test Tukeya; $p \leq 0,05$).

4.2.6. Wartość odżywcza chleba

Analiza składu chemicznego surowców (mąki pszennej i proszku z *H. erinaceus*) wykazała statystycznie istotne różnice ($p \leq 0,05$) w zawartości składników odżywczych (tab. 18). Mąka pszenna typ 750, będąca typową i najpopularniejszą mąką chlebową, charakteryzowała się odpowiednią wilgotnością, zgodną z wymogami PN-91/A-74022:2003 i zawartością związków mineralnych oznaczonych w postaci popiołu. Uzyskane wyniki są zgodne z danymi literaturowymi (Adhikari i in., 2015; Biel i in., 2016; Wirkijowska i in., 2023). Zawartość białka, tłuszczu oraz błonnika pokarmowego - zarówno frakcji rozpuszczalnej (SDF), jak i nierozpuszczalnej (IDF) - była również typowa dla tego rodzaju surowca (Capuano i in., 2017; Gill i in., 2021).

Z kolei proszek z *H. erinaceus* cechował się mniejszą wilgotnością, charakterystyczną dla suszonych produktów grzybowych (Łysakowska i in., 2023) oraz istotnie większą zawartością składników mineralnych (popiołu), białka i błonnika pokarmowego (TDF). W składzie błonnika dominowała frakcja nierozpuszczalna (IDF), która stanowiła aż ponad 85% całkowitej zawartości błonnika. Podobne wyniki dotyczące wysokiej zawartości białka w *H. erinaceus* przedstawili Dimopoulou i in. (2022), wskazując jego udział na poziomie zbliżonym do uzyskanych w niniejszym badaniu.

Zastąpienie mąki pszennej proszkiem grzybowym w recepturze pieczywa wpłynęło istotnie ($p \leq 0,05$) na skład chemiczny gotowego produktu. Wraz ze wzrostem udziału *H. erinaceus* w chlebie zaobserwowano stopniowy wzrost wilgotności produktu. Zawartość wody w pieczywie z najwyższym udziałem komponentu grzybowego (BS12) była o około

9% większa w porównaniu z próbką kontrolną. Taka tendencja może być związana z obecnością błonnika pokarmowego, wykazującego dużą zdolność do wiązania wody, co ogranicza straty wilgoci w czasie wypieku i w konsekwencji prowadzi do wyższej wilgotności produktu końcowego.

Zwiększenie poziomu substytucji mąki proszkiem z *H. erinaceus* skutkowało również wzrostem zawartości popiołu w pieczywie. W próbkach z najwyższą zawartością *H. erinaceus* (BS12) zawartość składników mineralnych była o ok. 25% większa w porównaniu z próbką kontrolną (CON). Analogicznie, wraz ze wzrostem poziomu substytucji obserwowano sukcesywny przyrost zawartości białka w pieczywie. W przypadku próbki BS12 zawartość białka była o ponad 50% większa w porównaniu z próbką kontrolną (CON). Potwierdza to wysoką wartość odżywczą surowca grzybowego i jego duży potencjał w zakresie wzbogacania pieczywa w białko.

Wprowadzenie do receptury pieczywa proszku z *H. erinaceus* przyczyniło się również do istotnego wzrostu zawartości całkowitego błonnika pokarmowego (TDF). W próbce BS12 zawartość TDF była ponad dwukrotnie większa w porównaniu z próbką kontrolną, przy czym odnotowany wzrost TDF wynikał głównie z podwojenia zawartości frakcji nierozpuszczalnej błonnika (IDF) podczas gdy zawartość frakcji rozpuszczalnej (SDF) wzrosła o około 30%. Taki wzrost udziału błonnika pokarmowego w pieczywie może korzystnie wpływać na właściwości funkcjonalne produktu.

Zawartość tłuszczu w pieczywie była istotnie większa dopiero w próbce z 9% udziałem proszku grzybowego, osiągając odpowiednio wartość o ok. 12% wyższą względem kontroli.

Zwiększanie poziomu substytucji mąki pszennej proszkiem grzybowym skutkowało wzrostem zawartości makroskładników odżywczych w pieczywie, przy jednoczesnym systematycznym obniżeniu udziału węglowodanów przyswajalnych. W próbkach z najwyższym poziomem substytucji mąki *H. erinaceus* zawartość węglowodanów była o około 16% mniejsza w porównaniu z próbką kontrolną. Jednocześnie odnotowano redukcję wartości energetycznej pieczywa. Próbką chleba BS12 cechowała się kalorycznością mniejszą o ok. 10% w porównaniu z próbką CON, co może stanowić dodatkowy atut pieczywa fortyfikowanego grzybami z punktu widzenia żywieniowego i marketingowego, zwłaszcza w kontekście produktów funkcjonalnych o obniżonej wartości energetycznej.

Tabela 18. Skład chemiczny surowców i pieczywa

Próbka	Wilgotność	Popiół	Białko	Tłuszcz	TDF	IDF	SDF	Węglowodany przyswajalne (CHO)	Wartość energetyczna
	%				% s.m.				kcal/100 g
Mąka pszenna typ 750	9,4 ^A ±0,1	0,69 ^A ±0,01	13,12 ^A ±0,04	0,45 ^A ± 0,03	5,30 ^A ±0,13	2,40 ^A ±0,1	2,90 ^A ±0,2	71,04 ^B ±0,03	351,30±0,11 ^B
Proszek <i>H. erinaceus</i>	5,30 ^B ±0,14	5,80 ^B ±0,10	21,16 ^B ±0,01	1,92 ^B ±0,09	54,44 ^B ±0,11	47,14 ^B ±0,38	7,30 ^B ±0,49	11,38 ^A ±0,05	256,32±0,05 ^A
CON	41,46 ^a ±0,71	2,20 ^a ±0,01	10,83 ^a ±0,04	1,23 ^a ±0,03	7,22 ^a ±0,19	4,26 ^a ±0,17	2,95 ^a ±0,02	78,52 ^c ±0,42	224,16 ^d ±0,17
BS3	42,11 ^{ab} ±0,23	2,35 ^b ±0,09	13,62 ^b ±0,05	1,28 ^{ab} ±0,12	10,67 ^b ±0,18	7,7 ^b ±0,06	2,97 ^a ±0,23	72,08 ^d ±0,30	217,47 ^c ±0,90
BS6	43,04 ^b ±0,30	2,40 ^b ±0,08	13,95 ^b ±0,0b	1,33 ^{ab} ±0,09	10,84 ^{bc} ±0,36	7,37 ^b ±0,49	3,43 ^b ±0,13	71,48 ^c ±0,24	213,8 ^b ±0,80
BS9	44,52 ^c ±0,20	2,58 ^c ±0,08	16,25 ^c ±0,09	1,38 ^{bc} ±0,1	11,8 ^c ±0,46	8,4 ^b ±0,72	3,41 ^b ±0,26	67,99 ^b ±0,20	206,93 ^{ab} ±0,16
BS12	45,12 ^c ±0,15	2,78 ^d ±0,4	16,46 ^c ±0,08	1,44 ^c ±0,07	13,27 ^d ±0,80	9,34 ^c ±0,80	3,93 ^c ±0,01	66,05 ^a ±0,22	202,80 ^a ± 0,20

CON – próbka kontrolna (chleb z 100% mąki pszennej); BS3, BS6, BS9, BS12 — próbki, w których zastosowano odpowiednio: 3%, 6%, 9% i 12% poziom substytucji mąki sproszkowanym owocnikiem. *H. erinaceus*; CHO – przyswajalne węglowodany (obliczone z różnicy). Dane przedstawiono jako średnią (n=3) ± odchylenie standardowe. Różne litery (a–e) w tej samej kolumnie oznaczają różnice statystycznie istotne (test Tukeya; $p \leq 0,05$). Składniki odżywcze podano w przeliczeniu na suchą masę pieczywa, natomiast wartość energetyczną obliczono dla pieczywa świeżego.

4.2.7. Zawartość wybranych składników mineralnych

Grzyby uznawane są za cenne źródło składników mineralnych w diecie człowieka (Haro i in., 2020). Jako organizmy bioakumulujące, wykazują zdolność do gromadzenia zarówno makroelementów (np. potasu, wapnia, fosforu, magnezu), jak i pierwiastków śladowych (żelaza, chromu, cynku, manganu, miedzi czy kobaltu), a także metali ciężkich (np. ołowiu i kadmu). Na ich profil mineralny wpływają m.in. gatunek grzyba, stadium rozwoju, morfologia owocnika oraz warunki środowiskowe (Gençcelep i in., 2009; Mallikarjuna i in., 2013). Mąka pszenna typ 750, stanowiąca bazowy surowiec do wypieku chleba, charakteryzowała się umiarkowanie niską zawartością analizowanych elementów mineralnych, zwłaszcza magnezu i żelaza (tab. 19), co pozostaje zgodne z danymi literaturowymi (Martínez-Martín i in., 2023). W badanym materiale nie wykryto obecności metali ciężkich, co świadczy o bezpieczeństwie surowca i możliwości wykorzystania go na cele spożywcze. W porównaniu z mąką pszenną typ 750, proszek z *H. erinaceus* charakteryzował się istotnie wyższą zawartością wszystkich analizowanych pierwiastków. Zawartość potasu była tu ponad czternastokrotnie większa, fosforu - trzykrotnie, a magnezu - ponad dwukrotnie. Podobnie zawartość żelaza i cynku w komponencie grzybowym przewyższała dwukrotnie zawartość tych pierwiastków w mące, podczas gdy poziom manganu był większy jedynie o około 35% a selenu zaledwie o ok. 8%. Dane te potwierdzają wysoki potencjał proszku z *H. erinaceus* jako naturalnego źródła wybranych składników mineralnych.

Analiza składu mineralnego próbki kontrolnej (CON) oraz próbek chleba z udziałem proszku grzybowego (BS3–BS12) wykazała istotne różnice ($p \leq 0,05$) w zawartości poszczególnych makro- i mikroelementów odnotowane pomiędzy badanymi wariantami pieczywa. Wraz ze wzrostem poziomu substytucji mąki pszennej proszkiem z *H. erinaceus* obserwowano systematyczne zwiększenie zawartości analizowanych makro- i mikroelementów. W efekcie pieczywo wzbogacone pokrywało w większym stopniu zapotrzebowanie na poszczególne składniki mineralne. Na szczególne podkreślenie zasługuje podniesienie poziomu pokrycia zalecanego dziennego spożycia (RDA) lub wystarczającego spożycia (AI) dla pierwiastków często deficytowych w diecie człowieka, takich jak magnez, żelazo i potas (Montowska i in., 2019). W przypadku potasu, pokrycie AI wzrosło z ok. 6% dla pieczywa CON do ponad 14% dla produktu BS12. Tak znaczące zwiększenie zawartości składników mineralnych w pieczywie może realnie podnieść jego wartość odżywczą, szczególnie w kontekście żywności funkcjonalnej o ukierunkowanym działaniu prozdrowotnym. Szczególnie istotny z żywieniowego punktu widzenia jest wzrost zawartości potasu i żelaza

– pierwiastków, które pełnią kluczową rolę w wielu procesach fizjologicznych i należą do najczęściej niedoborowych w dietach populacji ogólnej (Jamova i in., 2022).

Tabela 19. Zawartość wybranych składników mineralnych w surowcach i pieczywie

Próbka	Makroelementy			Mikroelementy				Metale ciężkie	
	P	Mg	K	Fe	Zn	Mn	Se	*Pb	*Cd
Zawartość [mg/100 g s.m.]									
Wheat flour type 750	131 ^A ±31	22,3 ^A ±0,1	171,0 ^A ± 0,5	2,50 ^A ±0,08	0,704 ^A ±0,014	0,825 ^A ±0,07	0,0112 ^A ±0,0003	ND	ND
Proszek <i>H. erinaceus</i>	412 ^B ±68	48,0 ^B ±0,2	2440,00 ^B ± 11	6,76 ^B ±0,12	1,68 ^B ±0,08	1,11 ^B ±0,18	0,0121 ^A ±0,0005	ND	ND
Zawartość [mg/100 g s.m.]									
CON	89,4 ^a ±2,2	13,5 ^a ±0,1	121 ^a ±6	1,36 ^a ±0,05	0,537 ^a ±0,007	0,483 ^a ±0,07	0,0081 ^a ±0,0001	ND	ND
BS3	94,1 ^{ab} ±2,4	14,9 ^b ±0,1	153 ^b ±5	1,44 ^b ±0,06	0,544 ^{ab} ±0,006	0,503 ^{ab} ±0,24	0,0076 ^a ±0,0002	ND	ND
BS6	98,6 ^{bc} ±1,2	15,6 ^c ±0,1	194 ^c ±8	1,47 ^b ±0,08	0,555 ^b ±0,002	0,506 ^{ab} ±0,35	0,0076 ^a ±0,0002	ND	ND
BS9	101,3 ^{cd} ±1,7	15,9 ^d ±0,1	234 ^d ±11	1,61 ^c ±0,04	0,628 ^c ±0,005	0,500 ^{ab} ±0,36	0,0077 ^a ±0,0003	ND	ND
BS12	103,0 ^d ±2,0	16,1 ^e ±0,1	283 ^e ±5	1,62 ^c ±0,02	0,674 ^d ±0,001	0,614 ^b ±0,27	0,0079 ^a ±0,0004	ND	ND
RDA/AI [mg/day]	700	375	2000	14	10	2	0,055	0,428	0,06
% RDA/AI [%]									
CON	12,74	3,6	6,05	9,71	5,37	24,15	14,72	-	-
BS3	13,44	3,97	7,65	10,28	5,44	25,15	13,81	-	-
BS6	14,09	4,16	9,70	10,5	5,55	25,3	13,81	-	-
BS9	14,47	4,24	11,7	11,5	6,28	25	14	-	-
BS12	14,71	4,29	14,2	11,57	6,74	30,7	14,36	-	-

CON – próbka kontrolna (chleb z 100% mąki pszennej); BS3, BS6, BS9, BS12 — próbki, w których zastosowano odpowiednio: 3%, 6%, 9% i 12% poziom substytucji mąki sproszkowanym owocnikiem *H. erinaceus*. RDA – zalecane dzienne spożycie (Recommended Dietary Allowances); AI – wystarczające spożycie (Adequate Intake). Dane przedstawiono jako wartości średnie (n = 3) ± odchylenie standardowe. Średnie w tej samej kolumnie (dla surowca lub próbek pieczywa) oznaczone różnymi literami różnią się istotnie statystycznie (test Tukeya; $p \leq 0,05$). Zawartość składników mineralnych podano w przeliczeniu na suchą masę w przypadku surowców oraz w przeliczeniu na masę świeżą w przypadku pieczywa.

4.2.8. Zawartość związków bioaktywnych i aktywność antyoksydacyjna chleba z dodatkiem *H. erinaceus*

Mąka pszenna typ 750 charakteryzowała się niską zawartością związków polifenolowych oraz ograniczoną aktywnością przeciwutleniającą, mierzoną zdolnością do neutralizacji rodników ABTS i DPPH. Uzyskane wartości są zgodne z doniesieniami literaturowymi dotyczącymi właściwości antyoksydacyjnych surowców zbożowych (Zhang i in., 2021; Wirkijowska i in., 2023). W porównaniu z mąką pszenną, proszek z *H. erinaceus* (*soplówka jeżowata*) wykazywał wyraźnie wyższy potencjał przeciwutleniający – zawartość związków polifenolowych była tu o ponad 8600% większa, a aktywność wobec rodników ABTS i DPPH była większa odpowiednio o około 217% i 120%. Wyniki te jednoznacznie potwierdzają silne właściwości antyoksydacyjne tego gatunku grzyba (tab. 20).

Wprowadzenie proszku *H. erinaceus* do receptury chleba pszennego w ilościach 3–12% przyczyniło się do istotnego wzrostu zarówno zawartości związków polifenolowych, jak i zdolności do neutralizacji wolnych rodników. W próbce BS12, zawartość związków polifenolowych była większa o ponad 385% w porównaniu do próbki kontrolnej (CON), natomiast aktywność antyoksydacyjna mierzona wobec ABTS i DPPH wzrosła odpowiednio o 155% i 41%. Najwyższe wartości aktywności przeciwutleniającej odnotowano właśnie w tej próbce chleba, co wskazuje na istotny wpływ poziomu dodatku na właściwości bioaktywne produktu końcowego. Zwiększenie aktywności antyoksydacyjnej pieczywa może być związane z obecnością związków fenolowych, których grupy hydroksylowe (–OH) wykazują zdolność do neutralizacji reaktywnych form tlenu, przyczyniając się tym samym do redukcji stresu oksydacyjnego na poziomie komórkowym (Chang i in., 2021).

Zbliżone wyniki uzyskali Liu i in. (2022a), którzy wykazali, że dodatek proszków z *Pleurotus eryngii* (bocznik mikołajkowy) oraz *Cantharellus cibarius* (pieprznik jadalny) do pieczywa zwiększa zawartość polifenoli oraz jego potencjał antyoksydacyjny. Autorzy zwrócili jednak uwagę, że wzrost zawartości TPC (*całkowita zawartość polifenoli*) nie zawsze jest wprost proporcjonalny do ilości dodanego komponentu grzybowego, co może wynikać z częściowej degradacji związków fenolowych w trakcie procesu wypieku.

Tabela 20. Zawartość polifenoli i flawonoidów oraz aktywność antyoksydacyjna surowców i pieczywa

Próbka	Flawonoidy (mg QE/ g s.m.)	Polifenole (mg GAE/g s.m.)	Zdolność zmianienia wolnych rodników ABTS (%)	Zdolność zmianienia wolnych rodników DPPH (%)
Mąka pszenna typ 750	ND	0,13 ^A ±0,03	30,32 ^A ±0,9	45,02 ^A ±0,8
Proszek <i>H. erinaceus</i>	0,85 ± 0,05	11,42 ^B ±0,1	96,08 ^B ±1,1	98,83 ^B ±1,3
CON	ND	0,46 ^a ±0,02	30,12 ^a ±0,8	42,84 ^a ±0,3
BS3	ND	0,87 ^{bc} ±0,03	41,32 ^b ±0,82	51,06 ^b ±0,8
BS6	ND	0,98 ^c ±0,02 ^b	52,32 ^c ±0,34	54,69 ^c ±0,72
BS9	0,01 ^a ±0,01	1,16 ^d ±0,05	60,88 ^d ±0,2	57,38 ^c ±0,35
BS12	0,02 ^a ±0,01	2,24 ^e ±0,08	76,77 ^e ±0,24	60,36 ^e ±0,24

CON – próbka kontrolna (chleb z 100% mąki pszennej); BS3, BS6, BS9, BS12 — próbki, w których zastosowano odpowiednio: 3%, 6%, 9% i 12% poziom substytucji mąki sproszkowanym owocnikiem *H. erinaceus*. Dane przedstawiono jako średnią (n = 3) ± odchylenie standardowe. Średnie w tej samej kolumnie oznaczone różnymi literami różnią się istotnie statystycznie (test Tukeya; $p \leq 0,05$).

Podsumowanie

Uzyskane wyniki wskazują na znaczny potencjał aplikacyjny proszku z *H. erinaceus* jako składnika wzbogacającego pieczywo pszenne. Dodatek grzybowego komponentu w ilościach od 3 do 12% wpłynął korzystnie na parametry farinograficzne ciasta, powodując zwiększenie absorpcji wody, wydłużenie czasu rozwoju i stabilności ciasta oraz wzrost wartości liczby jakości (FQN), przy jednoczesnym zmniejszeniu stopnia rozmiękczenia ciasta. W rezultacie zwiększona wodochłonność surowców przyczyniła się do zwiększenia wydajności ciasta i pieczywa oraz ograniczenia straty piecowej całkowitej. W zakresie właściwości teksturalnych miększu nie zaobserwowano istotnych zmian w parametrach takich jak twardość, żujność i spójność w przypadku pieczywa z udziałem komponentu grzybowego na poziomie nieprzekraczającym 6%. Wyniki oceny sensorycznej potwierdziły, że nawet przy 12% udziale proszku z *H. erinaceus* otrzymane produkty były akceptowalne sensorycznie. Wzrost udziału *H. erinaceus* w recepturze pieczywa wiązał się ze zmianą barwy miększu – w kierunku ciemniejszych tonów z większym udziałem odcieni żółtych i brązowych. Analiza składu chemicznego wykazała, że pieczywo wzbogacone *H.*

erinaceus cechowało się większą zawartością białka, błonnika pokarmowego (w tym frakcji IDF i SDF) oraz składników mineralnych, co znacząco zwiększyło jego wartość odżywczą. Dodatkowo, obserwowany wzrost zawartości polifenoli oraz zwiększona aktywność przeciwutleniająca wskazują na potencjalne właściwości prozdrowotne produktów zawierających ten komponent grzybowy. Włączenie *H. erinaceus* do receptury tak popularnego produktu, jakim jest pieczywo może przyczynić się do poprawy ogólnego stanu zdrowia populacji oraz wspierać profilaktykę i leczenie chorób dietozależnych.

4.3. Zastosowanie proszku z owocnika *Ophiocordyceps sinensis* (Berk.) G.H. Sung, J.M. Sung, Hywel-Jones & Spataforak jako funkcjonalnego dodatku do pieczywa pszennego

Model badawczy III

Celem badań w modelu III była ocena wpływu wzrastającego poziomu substytucji (3, 6, 9, 12%) mąki proszkiem z *Ophiocordyceps sinensis* (Berk.) G.H. Sung, J.M. Sung, Hywel-Jones & Spatafora (*O. sinensis*) na właściwości technologiczne, fizykochemiczne, potencjał antyoksydacyjny i jakość sensoryczną pieczywa pszennego.

4.3.1. Właściwości farinograficzne ciasta

Zastosowanie proszku grzybowego z *O. sinensis* jako częściowego substytutu mąki pszennej wpłynęło istotnie na parametry reologiczne ciasta oceniane metodą farinograficzną (tab. 21). Szczególnie wyraźne zmiany zaobserwowano w zakresie absorpcji wody (WA), która wzrosła statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$) wraz z rosnącym poziomem dodatku *O. sinensis*. Zjawisko to można wiązać z wysoką zawartością białka i błonnika pokarmowego w proszku grzybowym w porównaniu z mąką pszenną (tab. 22). Obecność tych komponentów, cechujących się dużą pojemnością sorpcyjną, sprzyja zwiększonej retencji wody w cieście, co może przekładać się na poprawę wydajności zarówno ciasta, jak i gotowego pieczywa (tab. 23). Podobne zależności odnotowali Majeed i in. (2017) w badaniach nad wykorzystaniem proszku z *Pleurotus ostreatus* (bocznik ostrygowaty) do wzbogacania pieczywa. Kolejną obserwowaną zmianą było wydłużenie czasu rozwoju ciasta. Parametr ten w próbie BC12 wzrósł o ponad 110% względem próbki kontrolnej (CON). Może to wskazywać na zaburzenia w przebiegu formowania sieci glutenowej, będące następstwem obecności składników bioaktywnych w proszku *O. sinensis*, takich jak polisacharydy czy białka, które mogą wchodzić w interakcje z glutenem i modyfikować jego strukturę (Liu i in., 2020). Podobne efekty raportowano w przypadku zastosowania sproszkowanych owocników innych gatunków grzybów, w tym *Ganoderma lucidum* (model I), *Agaricus bisporus* (pieczarka dwuzarodnikowa) oraz *P. ostreatus* (Zhang i in., 2019; Łysakowska i in., 2024). Dodatek proszku z *O. sinensis* wpłynął również negatywnie na stabilność ciasta (ST), rozumianą jako jego odporność na długotrwałe mieszanie. Szczególnie wyraźne obniżenie tego parametru odnotowano przy poziomach substytucji wynoszących 9% i 12%. Zjawisko to związane jest z osłabieniem ciągłości matrycy glutenowej i jest zgodne z wynikami badań nad wpływem dodatku surowców o wysokiej zawartości błonnika takich jak proszek z aronii

(*Aronia melanocarpa*) czy palona kawa jęczmienna na matrycę białkową w cieście (Cacak-Pietrzak i in., 2023; Cacak-Pietrzak i in., 2024). Zaobserwowana zależność wskazuje, że zwiększająca się ilość komponentu grzybowego może nasilać niekorzystne efekty technologiczne, a proces mieszania ciasta wzbogaconego w ten komponent powinien być starannie kontrolowany – zarówno pod względem intensywności, jak i czasu. Dodatkowo, ciasto zawierające *O. sinensis* wykazywało wyższy stopień zmiękczenia. W porównaniu z próbką kontrolną wartość tego parametru wzrosła o 67% i 81%, odpowiednio w próbkach z 3% i 12% udziałem proszku grzybowego. Sugeruje to zwiększoną podatność ciasta na degradację mechaniczną, co może wynikać ze słabszej matrycy białkowej. Podobne obserwacje opisali Majeed i in. (2017), wskazując na znaczne zmiękczenie ciasta po zastosowaniu 15% dodatku proszku z *P. ostreatus*. Zjawisko to może być również potęgowane przez obecność związków fenolowych lub białek nieglutenowych, które – jak wykazano w badaniach z wykorzystaniem ekstraktu z zielonej herbaty czy mąki konopnej – zakłócają tworzenie stabilnej struktury siatki glutenowej (Qin i in., 2022; Capcanari i in., 2023).

Summary efekt zaobserwowanych zmian w parametrach farinograficznych przełożył się na obniżenie wartości wskaźnika jakości farinograficznej (FQN). W próbkach zawierających 9–12% proszku z *O. sinensis* wartość FQN obniżyła się o ok. 23%, w stosunku do CON co wskazuje na wyraźne pogorszenie konsystencji ciasta w warunkach rosnącego poziomu substytucji surowcem grzybowym.

Tabela 21. Parametry farinograficzne ciasta

Próbka	DDT (min)	WA (%)	ST (min)	DS [FU]	FQN
CON	02:11 ^a ±0,12	57,9 ^a ± 0,3	09:00 ^c ± 0,2	33 ^a ± 2,4	94 ^d ± 5,2
BC3	04:37 ^b ±0,05	58,0 ^a ± 0,4	07:01 ^b ± 0,3	42 ^b ± 1,1	81 ^{bc} ± 3,4
BC6	05:10 ^c ±0,05	58,3 ^a ± 0,2	06:41 ^{ab} ± 0,2	46 ^b ± 1,8	78 ^{ab} ± 2,2
BC9	05:10 ^c ±0,05	58,9 ^{ab} ± 0,3	06:05 ^a ± 0,2	55 ^{bc} ± 2,1	73 ^a ± 2,6
BC12	04:50 ^{bc} ±0,05	59,6 ^b ± 0,1	06:10 ^a ± 0,1	60 ^d ± 1,3	73 ^a ± 1,8

CON — próbka kontrolna (100% mąki pszennej); BC3, BC6, BC9, BC12 — próbki, w których zastosowano odpowiednio: 3%, 6%, 9% i 12% poziom substytucji mąki sproszkowanym owocnikiem *O. sinensis*. Wyniki przedstawiono jako wartość średnią ± odchylenie standardowe (n = 3). Różne litery w obrębie tej samej kolumny oznaczają istotne statystycznie różnice zgodnie z testem Tukeya ($p \leq 0,05$). DDT – czas rozwoju ciasta, WA – wodochłonność, ST – stabilność ciasta, DS – stopień zmiękczenia, FQN – farinograficzna liczba jakości ciasta.

4.3.2. Wartość odżywcza chleba wzbogaconego proszkiem z *O. sinensis*

Zastosowanie proszku z *O. sinensis* do częściowej substytucji mąki pszennej (w zakresie 3–12%) spowodowało istotne zmiany w składzie chemicznym otrzymanego pieczywa, proporcjonalne do poziomu substytucji (tab. 22). Ze względu na dużą zawartość błonnika pokarmowego (48,13 g/100 g s.m) w proszku *O. sinensis*, w chlebie zawierającym ten komponent grzybowy odnotowano statystycznie istotny ($p \leq 0,05$) wzrost całkowitej zawartości błonnika pokarmowego (TDF), sięgający 131% w próbce BC12 w porównaniu z CON. Zwiększenie TDF wynikało głównie ze zwiększenia zawartości frakcji nierozpuszczalnej (IDF), której poziom w tym wariancie pieczywa był ponad 2,7-krotnie większy w porównaniu z chlebem kontrolnym. Choć wzrost zawartości frakcji rozpuszczalnej błonnika (SDF) był znacznie mniejszy, to odnotowane różnice pomiędzy kolejnymi próbkami w zakresie zawartości SDF były statystycznie istotne ($p \leq 0,05$). Jak wskazano w opracowaniu przeglądowym zawartym w niniejszej pracy (Publikacja 1), grzyby lecznicze są zasobne w błonnik pokarmowy, głównie nierozpuszczalną jego frakcję, co wzmacnia ich potencjał jako składników żywności funkcjonalnej (Łysakowska i in., 2023). Podobne tendencje zaobserwowano w odniesieniu do zawartości białka. Już 3% zastąpienie mąki pszennej proszkiem z *O. sinensis* skutkowało wzrostem zawartości białka w chlebie o ok. 28%, natomiast przy 12% dodatku wzrost ten sięgnął 51% względem próbki kontrolnej. Tak znaczące różnice wynikają z wysokiej zawartości białka w analizowanym proszku grzybowym (33,73 g/100 g s.m.), przewyższającej poziomy raportowane dla innych grzybów leczniczych, takich jak *Hericium erinaceus* (21,16% s.m.) – model II – oraz *Ganoderma lucidum* (15,49% s.m.) – model I (Łysakowska i in., 2024; Łysakowska i in., 2025).

W białku obecnym w *O. sinensis* występują aminokwasy egzogenne m.in. takie jak, lizyna, arginina i histydyna, co czyni je wartościowym uzupełnieniem profilu

aminokwasowego białka obecnego w mące pszennej (Hsu i in., 2002). Szczególnie istotna wydaje się obecność lizyny - aminokwasu deficytowego w zbożach, której biodostępność może dodatkowo zwiększyć się w obecności związków fenolowych. Związki takie jak kwas chlorogenowy, kawowy i inne pochodne hydroksycynamonowe, obecne m.in. w *O. sinensis*, wykazują zdolność ograniczania reakcji Maillarda poprzez wychwytywanie reaktywnych związków karbonylowych, co prowadzi do „ochrony” wolnych grup aminowych obecnych w aminokwasach zasadowych (Rebollo-Hernanz i in., 2019). Mechanizm ten może mieć istotne znaczenie żywieniowe, szczególnie w dietach roślinnych, w których często obserwuje się niedobory aminokwasów egzogennych (Mariotti i Gardner, 2019; Babotă i in., 2022).

Choć obecnie dominują badania nad wykorzystaniem białek roślin strączkowych jako źródła uzupełniającego aminogram pieczywa, skład aminokwasowy *O. sinensis* wskazuje na jego wysoki potencjał w zakresie zwiększenia wartości biologicznej białka obecnego w pieczywie pszennym (Han i in., 2024; Bosmali i in., 2025). Należy jednak zaznaczyć, że dostępne dane na temat strawności i biodostępności białka zawartego w *O. sinensis* są ograniczone, a ich uzupełnienie może mieć kluczowe znaczenie dla oceny jego rzeczywistej wartości biologicznej.

Wprowadzenie do receptury proszku z *O. sinensis* wpłynęło również na wzrost zawartości tłuszczu oraz popiołu w pieczywie (tab. 22). Choć zmiany w zawartości tłuszczu były relatywnie niewielkie, to odnotowane wyniki dla poszczególnych wariantów pieczywa różniły się istotnie ($p \leq 0,05$). Nawet przy najwyższym poziomie substytucji (BC12) zawartość tłuszczu w produkcie finalnym nie przekroczyła 2 g/100 g s.m.

Zaobserwowany w funkcji wzrastającego udziału proszku z *O. sinensis* w pieczywie wzrost zawartości białka, błonnika pokarmowego (TDF) i tłuszczu był skorelowany z obniżeniem zawartości przyswajalnych węglowodanów. Ich udział obniżył się o 7,3–20,7% w zależności od poziomu substytucji 3-12%. W rezultacie, w połączeniu z wyższą zawartością wody w produktach wzbogaconych, odnotowano również obniżenie wartości energetycznej pieczywa. W porównaniu z próbką kontrolną wartość kaloryczna świeżego chleba z dodatkiem proszku grzybowego obniżyła się o 4,4–11,7%, w zależności od poziomu substytucji (3–12% w/w). Tego typu redukcja może mieć istotne znaczenie w kontekście rosnącego zapotrzebowania na produkty piekarskie o obniżonej wartości energetycznej, rekomendowane w dietach redukcyjnych oraz w prewencji chorób dietozależnych (Karunarathna i in., 2024).

Tabela 22. Skład chemiczny surowców i pieczywa

Próbka	Wilgotność	Popiół	Białko	Tłuszcz	TDF	IDF	SDF	Węglowodany przyswajalne (CHO)	Wartość energetyczna
	%				% s.m.				kcal/100 g
Mąka pszenna typ 750	9,4 ^A ±0,1	0,69 ^A ±0,01	8,79 ^A ±0,04	0,45 ^A ± 0,03	5,30 ^A ±0,13	2,40 ^A ±0,10	2,90 ^A ±0,20	84,77 ^B ±0,03	352,33 ^B ±0,11
Proszek <i>O. sinensis</i>	3,35 ^B ±0,09	5,69 ^B ±0,60	33,73 ^B ±1,40	5,64 ^B ±0,11	48,13 ^B ±0,80	44,83 ^B ±0,83	5,30 ^B ±0,08	3,46 ^A ±0,05	199,56 ^A ±0,4
CON	41,46 ^a ±0,71	2,20 ^a ±0,01	10,83 ^a ±0,04	1,23 ^a ±0,03	7,21 ^a ±0,19	4,26 ^a ±0,17	2,95 ^a ±0,02	78,53 ^c ±0,42	224,16 ^c ±0,17
BC3	43,34 ^b ±0,23	2,50 ^b ±0,05	13,82 ^b ±0,10	1,42 ^b ±0,08	9,49 ^b ±0,53	5,97 ^b ±0,31	3,52 ^b ±0,12	72,77 ^d ±0,54	214,24 ^d ±0,24
BC6	43,82 ^{bc} ±0,30	2,56 ^b ±0,02	14,89 ^{bc} ±0,06	1,67 ^c ±0,11	11,42 ^c ±0,28	7,12 ^c ±0,53	4,30 ^c ±0,25	69,46 ^c ±0,62	210,83 ^c ±0,22
BC9	44,5 ^c ±0,2	2,69 ^{bc} ±0,08	15,54 ^{cd} ±0,07	1,75 ^{cd} ±0,14	13,93 ^c ±0,12	9,15 ^d ±0,82	4,78 ^c ±0,12	66,09 ^b ±0,22	205,42 ^b ±0,42
BC12	45,70 ^d ±0,15	2,78 ^c ±0,03	16,41 ^d ±0,15	1,81 ^c ±0,09	16,71 ^d ±0,19	11,54 ^c ±0,94	5,17 ^d ±0,24	62,29 ^a ±0,32	197,93 ^a ± 0,19

CON — próbka kontrolna (100% mąki pszennej); BC3, BC6, BC9, BC12 — próbki, w których zastosowano odpowiednio: 3%, 6%, 9% i 12% poziom substytucji mąki sproszkowanym owocnikiem *O. sinensis*. Dane przedstawiono jako wartość średnią ± odchylenie standardowe (n = 3). Różne małe litery (a–e) oraz duże litery (A–B) w obrębie tej samej kolumny oznaczają istotne statystycznie różnice zgodnie z testem Tukeya ($p \leq 0,05$). TDF – całkowity błonnik pokarmowy, IDF – frakcja nierozpuszczalna błonnika pokarmowego, SDF – frakcja rozpuszczalna błonnika pokarmowego. Składniki odżywcze podano w przeliczeniu na suchą masę pieczywa, natomiast wartość energetyczną obliczono dla pieczywa świeżego.

4.3.3. Ocena cech jakościowych chleba

Częściowa substytucja mąki pszennej proszkiem grzybowym z *O. sinensis* w zakresie 3–12% wpłynęła istotnie na zwiększenie wydajności pieczywa (tab. 23). W porównaniu z próbką kontrolną odnotowano wzrost wartości tego parametru o 4,5–7,7% ($p \leq 0,05$), przy czym najwyższą wydajność (151,65%) uzyskano w przypadku próbki BC12. Wzrost wydajności ciasta i pieczywa można przypisać zwiększonej wodochłonności mąki wzbogaconej w proszek z *O. sinensis*, co jednocześnie determinuje wyższą zawartość wody w końcowym produkcie.

Większa wodochłonność proszku z *O. sinensis* wynika z dużej zawartości błonnika pokarmowego oraz białka w tym surowcu, które wykazują dużą zdolność do wiązania wody (tab. 21). Zdolność mąki lub jej mieszanek z proszkiem grzybowym do absorpcji wody ma istotne znaczenie nie tylko technologiczne, lecz również ekonomiczne – zwiększona wydajność pieczywa pozwala na optymalizację zużycia surowców oraz zwiększenie efektywności i rentowności produkcji (Różyło i in., 2015). Uzyskane wyniki są zgodne z obserwacjami innych autorów, którzy stosowali dodatek do pieczywa sproszkowanych grzybów, takich jak *Flammulina velutipes* (płomiennica zimowa) czy *Agaricus bisporus* (pieczarka dwuzarodnikowa). Wzbogacenie mąki tymi komponentami również prowadziło do zwiększonej absorpcji wody i wyższej wydajności pieczywa (Nie i in., 2019; Zhang i in., 2019).

Wprowadzenie proszku z *O. sinensis* do receptury chleba przyczyniło się także do obniżenia strat wypiekowych, definiowanych jako ubytek masy pieczywa w wyniku odparowania wody podczas wypieku (tab. 23). W próbkach wzbogaconych w komponent grzybowy odnotowano redukcję tego parametru w zakresie 27–39% względem próbki kontrolnej (odpowiednio w próbkach BC3 i BC12).

Obniżenie strat wypiekowych może wynikać ze zwiększonej retencji wody w strukturze chleba, co jest zgodne z wynikami badań innych autorów, poświęconych wykorzystaniu do wzbogacania pieczywa surowców bogatych w błonnik czy związki fenolowe takich jak mąka z nasion *Boerhavia elegans* Choisy czy ekstrakt z kurkumy (*Curcuma longa*) (Ammar i in., 2016; Bojñńska i in., 2024). Podobny mechanizm może zachodzić w przypadku wprowadzenia do pieczywa proszku z *O. sinensis*. Obecne w nim związki bioaktywne, w tym błonnik pokarmowy, białka i polifenole, mogą oddziaływać z glutenem i skrobią, modyfikując właściwości sieci glutenowej oraz zwiększając zdolność do wiązania wody. Lepsze wiązanie i retencja wody w strukturze chleba pozytywnie wpływają na jego

teksturę, ograniczają tempo czerstwienia oraz wydłużają świeżość pieczywa (Dong i Karbone, 2021).

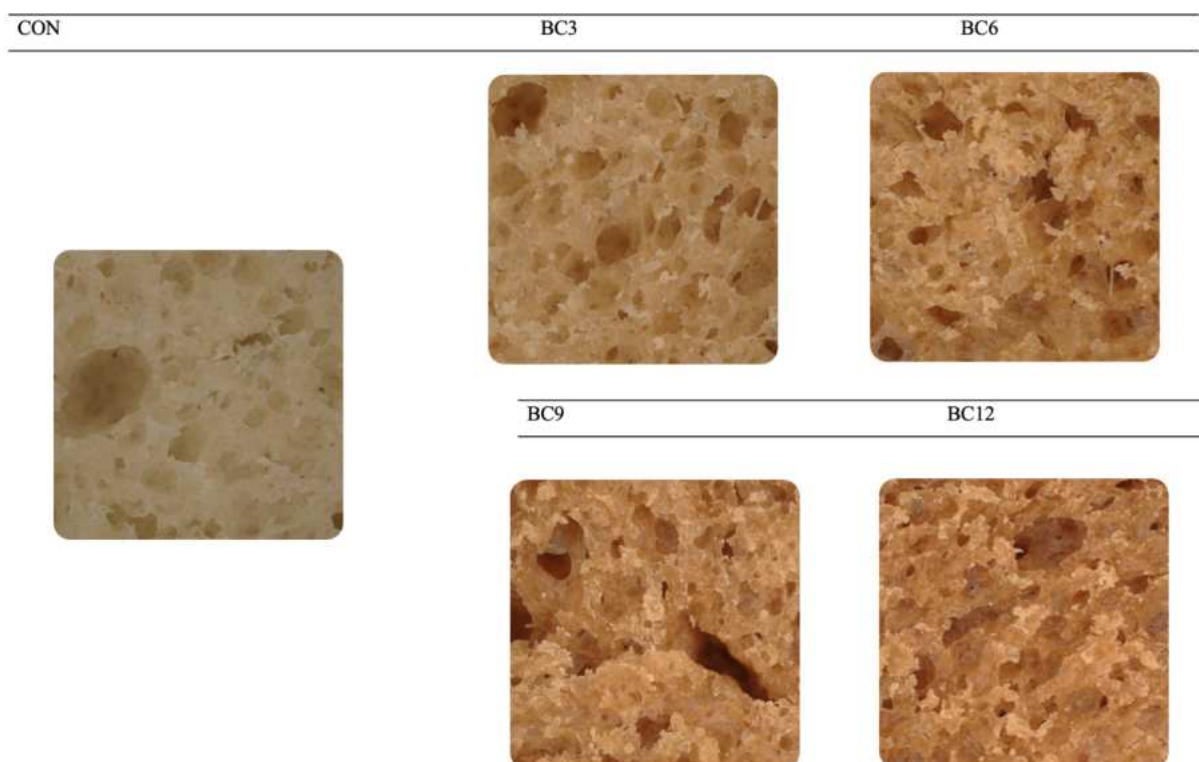
Dodatek proszku grzybowego z *O. sinensis* do mąki pszennej wywierał natomiast negatywny wpływ na objętość uzyskanego pieczywa (tab. 23). Najwyższą objętość właściwą ($350,79 \text{ cm}^3/100 \text{ g}$) odnotowano dla próbki CON. Częściowa substytucja mąki proszkiem grzybowym na poziomie 3–12% prowadziła do systematycznego obniżenia objętości właściwej, przy czym redukcja tego parametru mieściła się w zakresie 6,2–12,7%, a największe zmiany zaobserwowano w próbce BC12. Obniżenie objętości chleba wraz ze wzrostem poziomu substytucji mąki komponentem grzybowym może wynikać z osłabienia struktury sieci glutenowej w wyniku wprowadzenia składników nie zawierających białek glutenowych. Obecność związków zaliczanych do błonnika pokarmowego oraz związków fenolowych może zakłócać prawidłowy przebieg tworzenia matrycy białkowej, co ogranicza zdolność ciasta do zatrzymywania gazów fermentacyjnych. Jak wskazują badania Welc-Stanowskiej i in. (2023), związki fenolowe mogą wiązać się z białkami glutenowymi, zakłócając ich interakcje między- i wewnątrzcząsteczkowe. Z kolei Hanuka-Katz i in. (2022) raportują, że białka glutenowe oddziałują z polifenolami poprzez tworzenie wiązań niekowalencyjnych – w tym wiązań wodorowych i interakcji hydrofobowych – które mogą mieć wpływ na właściwości reologiczne ciasta. Dodatkowo, nieglutenowe białka obecne w proszku *O. sinensis* mogą konkurować z białkami glutenowymi o wodę oraz przestrzeń w strukturze ciasta, utrudniając rozwój elastycznej i rozciągliwej sieci glutenowej. W efekcie dochodzi do obniżenia zdolności siatki glutenowej do zatrzymywania gazów, co przekłada się na mniejszą objętość pieczywa.

Wyniki mikroskopowej analizy miękiszu (ryc. 8) potwierdzają zmiany w strukturze porów spowodowane dodatkiem proszku *O. sinensis*. W próbkach zawierających wyższe poziomy substytucji (BC9 i BC12) zaobserwowano wyraźnie gorszą porowatość miękiszu (ryc. 8) w porównaniu z wariantami zawierającymi mniejszy udział komponentu grzybowego (BC3 i BC6). Pory w próbkach miękiszu pieczywa BC9 i BC12 były drobniejsze, mniej jednorodne, gęściej rozmieszczone oraz charakteryzowały się grubsza ścianą, co wskazuje na mniejszą objętość ciasta uzyskanego w procesie fermentacji i w konsekwencji przekłada się na mniejszą objętość bochenka. Natomiast mięksiz chleba zawierającego 3% i 6% proszku z *O. sinensis* cechował się bardziej regularną strukturą porów – widoczne były tu większe i bardziej cienkościenne pory, które determinowały lepszą, delikatniejszą teksturę tych próbek pieczywa.

Tabela 23. Właściwości technologiczne chleba

Próbka	Wydajność ciasta [%]	Wydajność pieczywa [%]	Strata piecowa całkowita [%]	Objętość 100 g pieczywa [cm ³]
CON	162,17 ^a ±0,50	140,78 ^a ±1,31	13,19 ^c ±0,99	350,79 ^c ±2,69
BC3	162,67 ^{ab} ±0,20	147,09 ^b ±0,20	9,57 ^b ±0,71	329,01 ^b ±2,64
BC6	162,83 ^{ab} ±0,30	149,68 ^c ±0,90	8,64 ^a ±0,91	316,46 ^{ab} ±3,42
BC9	163,50 ^b ±0,30	151,26 ^d ±0,40	8,05 ^a ±0,31	307,64 ^a ±4,50
BC12	165,00 ^c ±0,20	151,65 ^c ±0,72	8,29 ^a ±0,46	306,24 ^a ±2,30

CON — próbka kontrolna (100% mąki pszennej); BC3, BC6, BC9, BC12 — próbki w których zastosowano odpowiednio: 3%, 6%, 9% i 12% poziom substytucji mąki sproszkowanym owocnikiem *O. sinensis*. Wyniki przedstawiono jako wartość średnią ± odchylenie standardowe (n = 3). Różne litery w obrębie tej samej kolumny oznaczają różnice statystycznie istotne, e zgodnie z testem Tukeya ($p \leq 0,05$).



Rycina 8. Porowatość miększu (powiększenie $\times 2000$) w przekroju poprzecznym pieczywa: kontrolnego (CON) oraz z dodatkiem sproszkowanego owocnika *O. sinensis* na poziomach 3, 6, 9 i 12% – odpowiednio próbki BC3, BC6, BC9 i BC12.

4.3.4. Parametry barwy chleba

Zastosowanie proszku grzybowego *O. sinensis* jako częściowego substytutu mąki pszennej istotnie wpłynęło na parametry barwy miękiszu chleba, powodując jego wyraźne pociemnienie (tab. 24). Wraz ze wzrostem udziału komponentu grzybowego w pieczywie odnotowano istotne statystycznie ($p \leq 0,05$) obniżenie współczynnika jasności (L^*) oraz zwiększenie wartości składowych a^* i b^* , co wskazuje na intensyfikację czerwonych i żółtych tonów. Zmiany te były szczególnie wyraźne w próbkach BC9 i BC12, a ich kierunek potwierdza wzrastający wskaźnik brązowienia (BI), świadczący o progresywnym ciemnieniu miękiszu wraz z poziomem substytucji mąki komponentem grzybowym. Wzrost udziału tego komponentu w pieczywie wpłynął również na inne cechy barwy. Zaobserwowano istotny wzrost wartości chromatyczności (C) oraz redukcję kąta barwy (h°), co wskazuje na przesunięcie koloru w stronę cieplejszych, nasyconych barw o odcieniu pomarańczowo-żółtym. Jednocześnie w próbkach z wyższym poziomem substytucji ($\geq 6\%$) stwierdzono wzrost nasycenia barwy (S), którego maksymalne wartości odnotowano w próbce BC12. Wartości parametru ΔE w próbkach BC3–BC12 systematycznie rosły wraz ze wzrostem dodatku, osiągając różnice od kilkudziesięciu do ponad dwustu procent.

Mechanizm opisanych zmian może wynikać z obecności naturalnych pigmentów w proszku z *O. sinensis*, głównie melanin, które odpowiadają za ciemną barwę komponentu grzybowego (Karmańska i Karwowski, 2022). Obecne w tym surowcu związki fenolowe mogą dodatkowo wpływać na przebieg reakcji chemicznych odpowiedzialnych za barwę, takich jak reakcje Maillarda, poprzez interakcje z aminami (Rebollo-Hernanz i in., 2019; Babotă i in., 2022). Z jednej strony mogą one ograniczać powstawanie melanoidyn, z drugiej – hamować enzymatyczne brązowienie poprzez inhibicję aktywności oksydoreduktaz, takich jak oksydaza polifenolowa i peroksydaza (Zhang i in., 2019; Karmańska i Karwowski, 2022; Sui i in., 2023). Należy jednak podkreślić, że w analizowanych próbkach to właśnie naturalne barwniki zawarte w proszku *O. sinensis* - a nie ewentualna inhibicja szlaków enzymatycznych miały decydujący wpływ na barwę miękiszu. Podobne tendencje opisano również w literaturze. Wprowadzenie do receptury pieczywa innych gatunków grzybów jadalnych i leczniczych, takich jak *Inonotus obliquus* czy *Agaricus bisporus*, również powodowało obniżenie wartości parametru L^* i wskazywało na zmniejszenie jasności miękiszu, co skutkowało jego intensywniejszym zabarwieniem i zmianą odcienia w kierunku cieplejszych tonów (Kobus i in., 2024; Zhang i in., 2019).

Tabela 24. Parametry barwy miękiszu chleba

Próbka	L*	a*	b*	BI	ΔE^*	C*	h*	S*
CON	61,49 ^c ±3,71	0,51 ^a ±2,3	12,27 ^a ±3,74	0,68 ^a ±0,09	-	12,28 ^a ±0,21	87,62 ^a ±2,4	0,2 ^a ±0,02
BC3	61,21 ^d ±4,34	2,81 ^b ±1,55	22,40 ^b ±1,26	3,42 ^b ±0,82	10,39 ^a ±1,2	22,58 ^b ±0,36	82,85 ^b ±3,04	0,37 ^{ab} ±0,04
BC6	53,65 ^c ±2,00	6,88 ^c ±0,58	24,20 ^c ±0,24	9,20 ^c ±1,23	15,63 ^b ±0,8	25,16 ^c ±0,13	74,13 ^c ±1,82	0,47 ^{bc} ±0,03
BC9	47,93 ^b ±2,98	9,25 ^d ±0,51	25,73 ^d ±0,74	13,64 ^d ±1,13	21,01 ^c ±1,50	27,34 ^d ±0,27	70,23 ^d ±0,93	0,57 ^{bc} ±0,04
BC12	43,81 ^a ±13,36	10,18 ^e ±4,20	27,71 ^e ±2,31	16,31 ^e ±1,23	25,39 ^d ±1,80	29,52 ^e ±0,43	69,83 ^e ±1,23	0,67 ^c ±0,06

CON — próbka kontrolna (100% mąki pszennej); BC3, BC6, BC9, BC12 — próbki w których zastosowano odpowiednio: 3%, 6%, 9% i 12% poziom substytucji mąki sproszkowanym owocnikiem *O. sinensis*. Wyniki przedstawiono jako wartości średnie ± odchylenie standardowe (n = 10). Różne litery w obrębie tej samej kolumny oznaczają różnice statystycznie istotne, zgodnie z testem Tukeya ($p \leq 0,05$). L* – jasność, a* –barwa w zakresie zielony (-a*) - czerwony(+a*)-, b* –barwa w zakresie niebieski (-b*) żółty (+b*), ΔE^* – różnica barwy względem próbki kontrolnej, C* – chromatyczność, h° – kąt barwy, S* – nasycenie, BI – wskaźnik brązowienia.



Rycina 9. Przekrój poprzeczny pieczywa pszennego (CON) oraz pieczywa (BC3, BC6, BC9, BC12), w którym zastosowano substytucję mąki pszennej proszkiem z *O. sinensis* (BC) odpowiednio na poziomie 3%, 6%, 9% i 12%.

4.3.5. Analiza profilu tekstury (TPA) chleba

Analiza właściwości teksturalnych miękiszu pieczywa wykazała, że wprowadzenie do receptury proszku grzybowego z *O. sinensis* tylko nieznacznie wpływa na parametry tekstury pieczywa. W większości wariantów pieczywa odnotowane różnice w badanych parametrach tekstury miękiszu po 24 i 48 godzinach od wypieku były statystycznie nieistotne (tab. 25). Twardość miękiszu, mierzona 24 godziny po wypieku, wykazywała tendencję wzrostową wraz z rosnącym poziomem substytucji mąki pszennej proszkiem grzybowym. Zjawisko to może wynikać z obniżonej porowatości chleba, będącej konsekwencją osłabienia struktury sieci glutenowej oraz pogorszenia jej elastyczności (Jødal i Larsen, 2021). Osłabienie matrycy glutenowej może być bezpośrednio związane z obniżeniem udziału białek glutenowych, a jednocześnie ze wzrostem zawartości składników takich jak błonnik pokarmowy, białka nieglutenowe i związki fenolowe, które – jak wykazano we wcześniejszych badaniach – mogą zakłócać strukturę siatki glutenowej (Zhang i in., 2019; Franceschinis i in., 2024; Marinopoulou i in., 2024). W literaturze wskazuje się, że dodatki bioaktywne, takie jak inulina czy błonnik z bulw *Helianthus tuberosus* L. (topinambur), mogą oddziaływać na strukturę ciasta poprzez modyfikację interakcji białkowo-skrobiowych, co w konsekwencji przekłada się na właściwości tekstury pieczywa (Franceschinis i in., 2024). Zbliżone efekty zaobserwowano również w pieczywie wzbogacanym białkiem konopnym, gdzie obecność tego dodatku powodowała powstanie bardziej zwartego miękiszu, cechującego się jednocześnie mniejszą elastycznością (Marinopoulou i in., 2024). Po 48 godzinach przechowywania nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic ($p > 0,05$) w twardości miękiszu pieczywa z różnym poziomem substytucji mąki pszennej proszkiem z *O. sinensis* (tab. 25) co sugeruje, że proces czerstwienia przebiegał w podobny sposób we wszystkich wariantach pieczywa.

W odniesieniu do pozostałych parametrów tekstury - takich jak sprężystość czy kohezja miękiszu, nie wykazano istotnych statystycznie różnic ($p > 0,05$) pomiędzy badanymi próbkami pieczywa, zarówno po 24, jak i 48 godzinach przechowywania.

Żujność miękiszu, badana po 24 godzinach przechowywania, była istotnie większa ($p \leq 0,05$) w próbkach zawierających $\geq 6\%$ (w/w) proszku z *O. sinensis* w odniesieniu do próbki CON, co może być związane z pogorszeniem struktury miękiszu, niewielkim wzrostem jego twardości i tym samym zwiększonym oporem stawianym przez próbkę podczas żucia. Wzrost żujności miękiszu pieczywa może być związany ze zwiększoną zawartością błonnika pokarmowego i pogrubieniem ścianek porów miękiszu, co znajduje potwierdzenie

we wcześniej omówionych wynikach badań porowatości miękiszu (ryc. 8). Podobne wyniki wpływu dodatków komponentów wysokobłonnikowych na żujność miękiszu odnotowali Zahorec in., (2024), wzbogacając pieczywo w wysokobłonnikowy ekstrakt z chleba świętojańskiego (*Ceratonia siliqua* L.) (szarańczyn strąkowy).

Tabela 25. Analiza profilu tekstury (TPA) pieczywa

Próbka	Twardość miękiszu [N]		Sprężystość		Żujność [N]		Spójność	
	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
CON	17,01 ^{aA}	19,03 ^{aA}	6,33 ^{aA}	6,19 ^{aA}	6,58 ^{aA}	6,43 ^{aA}	0,86 ^{aA}	0,72 ^{aA}
	± 1,50	± 0,67	± 1,50	± 0,67	± 0,45	± 1,31	± 0,05	± 0,07
BC3	17,81 ^{aA}	17,52 ^{aA}	6,27 ^{aA}	6,31 ^{aA}	8,69 ^{abA}	8,06 ^{abA}	0,72 ^{aA}	0,69 ^{aA}
	± 0,17	± 0,92	± 0,17	± 0,14	± 0,24	± 0,48	± 0,06	± 0,04
BC6	19,47 ^{aA}	18,92 ^{aA}	6,30 ^{aA}	6,32 ^{aA}	11,36 ^{bcA}	9,29 ^{abA}	0,68 ^{aA}	0,68 ^{aA}
	± 1,25	± 1,92	± 0,10	± 0,08	± 0,56	± 1,55	± 0,02	± 0,01
BC9	22,42 ^{abA}	21,76 ^{aA}	5,48 ^{aA}	6,34 ^{aA}	12,85 ^{cdA}	11,57 ^{abA}	0,64 ^{aA}	0,64 ^{aA}
	± 0,71	± 1,53	± 0,52	± 0,18	± 0,80	± 1,41	± 0,02	± 0,02
BC12	24,98 ^{bA}	24,03 ^{aA}	5,47 ^{aA}	6,24 ^{aA}	14,58 ^{dA}	14,44 ^{bA}	0,63 ^{aA}	0,57 ^{aA}
	± 0,54	± 2,78	± 0,12	± 0,10	± 0,20	± 0,55	± 0,04	± 0,02

CON — próbka kontrolna (100% mąki pszennej); BC3, BC6, BC9, BC12 — próbki, w których zastosowano odpowiednio: 3%, 6%, 9% i 12% poziom substytucji mąki sproszkowanym owocnikiem *O. sinensis*. Dane przedstawiono jako wartości średnie ± odchylenie standardowe (n = 7). Różne małe litery (a–d) w obrębie tej samej kolumny oznaczają różnice statystycznie istotne zgodnie z testem Tukeya ($p \leq 0,05$). Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic ($p > 0,05$) pomiędzy oznaczeniami wykonanymi po 24 i 48 godzinach od wypieku.

4.3.6. Zawartość wybranych składników mineralnych w pieczywie

Włączenie proszku z grzyba *O. sinensis* do receptury chleba istotnie ($p \leq 0,05$) wpłynęło na wzbogacenie jego składu mineralnego (tab. 26). W porównaniu z tradycyjną mąką pszenną, proszek grzybowy charakteryzował się znacząco wyższą zawartością składników mineralnych – zawierał około 10-krotnie więcej magnezu, 9-krotnie więcej wapnia i 7,5-krotnie więcej potasu. Jednocześnie wykazywał znacznie wyższą koncentrację pierwiastków śladowych, takich jak żelazo, miedź, cynk oraz selen. Zawartość metali ciężkich - ołowiu i kadmu w proszku z *O. sinensis* była na poziomie wartości śladowych, co wskazuje na bezpieczeństwo zdrowotne tego komponentu i umożliwia jego wykorzystanie jako funkcjonalnego składnika żywności.

W chlebie z 12% (w/w) udziałem proszku z *O. sinensis* (BC12) zawartość magnezu była ponad trzykrotnie większa niż w chlebie kontrolnym, co odpowiadało pokryciu w 14,7% zalecanego dziennego spożycia (RDA) tego pierwiastka, zgodnie z normami ustalonymi przez Institute of Medicine (2006).

Większa o 180% zawartość wapnia w wariancie pieczywa z 12% udziałem komponentu grzybowego (BC12) w stosunku do próbki CON, umożliwiła pokrycie zalecanego dziennego spożycia tego pierwiastka (RDA) w 5,5%, natomiast większa o 50% zawartość potasu zapewniła pokrycie 15% RDA, co pozwala stwierdzić, że pieczywo z 12 % udziałem *O. sinensis* może być dobrym źródłem potasu w diecie człowieka.

Istotne ($p \leq 0,05$) zwiększenie zawartości zaobserwowano również w odniesieniu do mikroelementów. Już przy najniższym (3%) poziomie substytucji mąki pszennej komponentem grzybowym, chleb można było uznać za źródło żelaza, cynku i selenu, ponieważ spożycie 100 g pieczywa pokrywało ponad 15% RDA dla tych składników mineralnych. Przy substytucji mąki komponentem grzybowym na poziomie 6–12% zawartość miedzi w chlebie przekraczała 30% RDA, co wskazuje na wysoką zawartość tego pierwiastka w produkcie finalnym.

W przypadku próbki BC12 zawartość ołowiu wynosiła 0,0104 mg/100 g, co odpowiadało jedynie 2,43% dopuszczalnego dziennego pobrania (ADI) ustalonego przez komitet ekspertów FAO/WHO (2001). Zawartość kadmu w tej samej próbce wyniosła zaledwie 0,0032 mg/100 g, stanowiąc 5,33% ADI. Wskazuje to, że zastosowanie proszku *O. sinensis* w pieczywie nie stwarza ryzyka przekroczenia dopuszczalnych norm bezpieczeństwa zdrowotnego.

Szczególnie istotne w kontekście żywieniowym jest wzbogacenie pieczywa w takie pierwiastki jak żelazo i cynk, których biodostępność w produktach zbożowych jest ograniczana przez obecność fitynianów. Fortyfikacja pieczywa grzybami, będącymi naturalnym źródłem tych składników, może zatem stanowić skuteczne narzędzie w prewencji niedoborów mikroelementów w populacjach zagrożonych ich deficytem (Gupta i in., 2024).

Tabela 26. Zawartość wybranych składników mineralnych w surowcach i pieczywie

Próbka	Makroelementy			Mikroelementy				Metale ciężkie	
	Mg	Ca	K	Fe	Cu	Zn	Se	*Pb	*Cd
Zawartość [mg/100 g]									
Mąka pszenna typ 750	22,3 ^A ±0,5	22,8 ^A ±0,5	171 ^A ±3,0	2,5 ^A ±0,00	0,16 ^A ±0,00	0,704 ^A ±0,01	0,0112 ^A ±0,01	ND	ND
Proszek <i>O. sinensis</i>	227 ^B ±4,5	198 ^B ±4,0	1270 ^B ±25,0	22,3 ^B ±0,02	0,94 ^B ±0,02	4,27 ^B ±0,09	0,0301 ^B ±0,03	0,0209±0,00	0,003±0,00
Zawartość [mg/100 g]									
CON	13,5 ^a ±0,2	11,6 ^a ±0,4	121 ^a ±1,5	1,36 ^a ±0,05	0,175 ^a ±0,01	0,537 ^a ±0,20	0,0081 ^a ±0,0005	ND	ND
BC3	47,5 ^b ±0,4	35,4 ^b ±0,9	222 ^b ±2,0	2,32 ^b ±0,08	0,240 ^b ±0,08	1,8 ^{bc} ±0,09	0,0285 ^b ±0,002	0,0094 ^a ±0,0002	0,0032 ^a ±0,0003
BC6	52,7 ^c ±0,3	37,7 ^{bc} ±0,7	242 ^c ±2,1	2,54 ^{bc} ±0,21	0,321 ^c ±0,11	1,84 ^{bc} ±0,050	0,0288 ^b ±0,0041	0,0096 ^a ±0,0001	0,0032 ^a ±0,0002
BC9	53,2 ^c ±0,5	39,5 ^c ±1,2	263 ^d ±2,0	2,70 ^c ±0,18	0,331 ^{cd} ±0,06	1,89 ^c ±0,10	0,0289 ^b ±0,0082	0,0096 ^a ±0,0002	0,0032 ^a ±0,0003
BC12	55,1 ^d ±0,4	43,8 ^d ±0,9	304 ^e ±2,2	3,06 ^d ±0,27	0,334 ^d ±0,08	2,18 ^d ±0,12	0,0289 ^b ±0,0023	0,0104 ^a ±0,0011	0,0032 ^a ±0,0030
RDA/AI [mg/dzień]	375	800	2000	14	1	10	0,055	0,428*	0,06*
% RDA/AI									
CON	3,60	1,45	6,05	9,72	17,50	5,37	14,73	0,0	0,0
BC3	12,67	4,43	11,10	16,57	24,00	18,00	51,81	2,20	5,33
BC6	14,05	4,71	12,10	18,14	32,10	18,40	52,36	2,25	5,33
BC9	14,19	4,93	13,15	19,28	33,10	18,90	52,55	2,25	5,33
BC12	14,70	5,47	15,12	21,86	33,40	21,80	52,55	2,43	5,33

CON — próbka kontrolna (100% mąki pszennej); BC3, BC6, BC9, BC12 — próbki pieczywa, w których zastosowano odpowiednio: 3%, 6%, 9% i 12% poziom substytucji mąki sproszkowanym owocnikiem *O. sinensis*. Wyniki przedstawiono jako wartości średnie ± odchylenie standardowe (n = 3). Różne małe litery (a-e) dla próbek pieczywa oraz duże litery (A-B) dla surowców w obrębie tej samej kolumny oznaczają różnice statystycznie istotne zgodnie z testem Tukeya ($p \leq 0,05$).; ND – niewykrywalne; RDA – zalecane dzienne spożycie, AI – wystarczające spożycie [Institute of Medicine, 2006]; *-ADI – dopuszczalne dzienne pobranie [FAO/WHO, 2001]

4.3.7. Zawartość związków polifenolowych oraz aktywność antyoksydacyjna pieczywa

Wprowadzenie do receptury pieczywa proszku z *O. sinensis* spowodowało istotny wzrost ($p \leq 0,05$) zawartości związków polifenolowych w tym flawonoidów oraz wzrost aktywności antyoksydacyjnej pieczywa wobec DPPH i ABTS (tab. 27). Mąka pszenna i pieczywo kontrolne nie zawierały flawonoidów podczas gdy ich obecność stwierdzono w próbkach chleba wzbogaconego proszkiem grzybowym. Brak flawonoidów w chlebie kontrolnym wynika prawdopodobnie z ich braku lub śladowej zawartości w mące pszennej rafinowanej. Wyniki dotychczasowych badań dowodzą, że związki te są skoncentrowane głównie w zewnętrznych warstwach ziarniaka, a ich zawartość w bielmie jest znikoma (Syeunda i Awika, 2024). Dodatkowo, Oghbaei i Prakash (2019) potwierdzają, że mąka pszenna nie stanowi istotnego źródła flawonoidów. Wśród badanych próbek pieczywa najwyższy poziom flawonoidów odnotowano w próbce BC12, w której zawartość tych związków była ponad 25-krotnie większa niż w próbce z najniższym poziomem substytucji mąki proszkiem z *O. sinensis* (BC3). Równocześnie, zawartość związków fenolowych systematycznie zwiększała się wraz ze wzrastającym udziałem proszku z *O. sinensis* w pieczywie. W przypadku próbki BC12 była ona ok. 11 razy większa niż w chlebie kontrolnym i blisko 40-krotnie większa niż w samej mące pszennej.

Aktywność przeciwutleniająca wobec DPPH, zwiększała się proporcjonalnie wraz ze wzrostem poziomu substytucji mąki pszennej proszkiem grzybowym. Próbka BC12 charakteryzowała się o 52% większą zdolnością do neutralizacji rodników DPPH w porównaniu z próbką kontrolną (CON). Podobny trend zaobserwowano w przypadku analizy potencjału antyoksydacyjnego pieczywa wobec ABTS. Aktywność przeciwutleniająca w próbce BC12 była w tym przypadku ponad dwukrotnie większa niż w chlebie kontrolnym i blisko czterokrotnie większa w porównaniu z mąką pszenną. Pomimo, że aktywność przeciwutleniająca chleba zawierającego proszek z *O. sinensis* nie osiągnęła poziomu obserwowanego dla czystego proszku grzybowego, wyniki jednoznacznie wskazują na skuteczność zastosowania omawianego komponentu w poprawie właściwości funkcjonalnych pieczywa, nawet przy niskim poziomie substytucji mąki tym surowcem. Uzyskane wyniki są zgodne z wcześniejszymi badaniami dotyczącymi pieczywa wzbogacanego innymi grzybami leczniczymi, takimi jak *Inonotus obliquus* (błyskoporek podkorowy) czy *Lentinula edodes* (twardnik japoński) oraz surowcami pochodzenia roślinnego (np. zielona herbata), wykazującymi właściwości przeciwutleniające. Badania przeprowadzone przez innych autorów dowiodły

o dodatniej korelacji pomiędzy zawartością związków fenolowych a zdolnością do neutralizacji wolnych rodników (Chen i in., 2022; Kobus i in., 2024; Lu i in., 2021).

Warto podkreślić, że uzyskane wyniki są zbieżne z wynikami badań Najjaa i in. (2021), którzy stosując 5% dodatek *Terfezia boudieri* (trufli pustynnej) do pieczywa uzyskali pięciokrotny wzrost zawartości związków polifenolowych ogółem.

W kontekście reakcji Maillarda warto zauważyć, że obecność związków polifenolowych może istotnie wpływać na przebieg przemian prowadzących do powstawania końcowych produktów, które mogą wykazywać zarówno właściwości prooksydacyjne jak też przeciwutleniające. Jak wykazali Syeunda i Awika (2024), określone flawonoidy, zwłaszcza flawony, mogą modulować intensywność tych reakcji poprzez wychwytywanie reaktywnych form pośrednich i ograniczanie tworzenia melanoidyn. Tym samym ich obecność w pieczywie, możliwa dzięki wprowadzeniu proszku grzybowego, może korzystnie wpływać nie tylko na wartość funkcjonalną pieczywa, ale również na jego właściwości sensoryczne i stabilność oksydacyjną.

Tabela 27. Zawartość związków polifenolowych oraz aktywność antyoksydacyjna surowców i pieczywa

Próbka	Flawonoidy (mg QE/g s.m.)	Związki fenolowe (mg GAE/g s.m.)	Zdolność antyoksydacyjna (mg TE/g s.m.)	
			DPPH	ABTS
Mąka pszenna typ 750	ND	0,13 ^A ± 0,02	1,03 ^A ±0,00	1,42 ^A ±0,03
Proszek <i>O.sinensis</i>	0,73 ± 0,05	13,06 ^B ± 0,3	3,24 ^B ±0,01	5,49 ^B ±0,13
CON	ND	0,46 ^a ± 0,04	1,42 ^a ±0,02	1,48 ^a ±0,14
BC3	0,08 ^a ± 0,01	1,09 ^b ± 0,20	1,73 ^b ±0,01	1,83 ^a ±0,08
BC6	0,10 ^a ± 0,01	2,26 ^c ± 0,10	1,89 ^b ±0,01	2,36 ^b ±0,13
BC9	0,18 ^b ± 0,02	4,08 ^d ± 0,30	1,94 ^c ±0,03	2,85 ^c ±0,18
BC12	0,26 ^c ± 0,01	5,16 ^e ± 0,40	2,16 ^d ±0,02	3,05 ^d ±0,12

CON — próbka kontrolna (100% mąki pszennej); BC3, BC6, BC9, BC12 — próbki pieczywa, w których zastosowano odpowiednio: 3%, 6%, 9% i 12% poziom substytucji mąki sproszkowanym owocnikiem *O. sinensis*. Wyniki przedstawiono jako wartości średnie ± odchylenie standardowe (n = 3). Różne litery w obrębie tej samej kolumny oznaczają różnice statystycznie istotne, zgodnie z testem Tukeya ($p \leq 0,05$). QE – ekwiwalent kwercetyny, GAE – ekwiwalent kwasu galusowego, TE – ekwiwalent Troloxu, e DPPH –2,2-difenylo-1-pikrylohydrozylowych), ABTS –kationo-rodnik 2,2'-azyno-bis(3-etylobenzotiazolino-6-sulfonowego kwasu), ND – nie wykryto.

4.3.8. Analiza sensoryczna pieczywa

Zastąpienie mąki pszennej proszkiem z *O. sinensis* (CS) w zakresie 3–12% nie wpłynęło istotnie statystycznie ($p > 0,05$) na jakość sensoryczną ocenianego pieczywa (tab. 28). Choć wraz ze wzrostem poziomu substytucji odnotowano niewielką tendencję spadkową w ocenach poszczególnych cech sensorycznych, takich jak wygląd zewnętrzny, aromat, smak czy elastyczność miękiszu, różnice te nie były istotne statystycznie. Również barwa miękiszu w opinii panelu ekspertów nie uległa istotnej zmianie pod wpływem wprowadzenia do receptury pieczywa proszku grzybowego. Warto podkreślić, że nawet przy najwyższym poziomie substytucji (12%) otrzymane pieczywo było w pełni akceptowalne pod względem właściwości sensorycznych. Łagodny i neutralny smak *O. sinensis* mógł w istotny sposób przyczynić się do utrzymania wysokiej akceptowalności produktu końcowego. Uzyskane wyniki kontrastują z danymi dotyczącymi chleba wzbogacanego proszkiem z *G. lucidum* (model I), gdzie już przy 6% poziomie substytucji mąki pszennej odnotowano istotne pogorszenie cech sensorycznych, szczególnie smaku. Z kolei w przypadku stosowania proszku z *Pleurotus ostreatus* (bocznik ostrygowaty), poziomy substytucji w zakresie 5–10% pozwalały na zachowanie wysokiej akceptowalności konsumenckiej, jednak przy wyższych dawkach komponentu grzybowego pogorszeniu ulegały cechy teksturalne chleba (Wahab i in., 2022). W badaniach dotyczących wzbogacania pieczywa proszkiem z *H. erinaceus* (model II) wykazano natomiast, że najlepsze właściwości sensoryczne uzyskiwano przy umiarkowanym poziomie substytucji, mieszczącym się w zakresie 6–9% (Łysakowska i in., 2025).

Tabela 28. Ocena sensoryczna pieczywa

Próbka	Wygląd zewnętrzny	Aromat	Barwa miękiszu	Elastyczność miękiszu	Smak	Ogólna ocena
CON	4,71 ^a ± 0,73	4,71 ^a ± 0,70	4,29 ^a ± 0,70	4,29 ^a ± 0,88	4,57 ^a ± 0,49	4,51 ^a ± 0,26
BC3	4,33 ^a ± 0,45	4,29 ^a ± 0,88	4,29 ^a ± 0,73	4,57 ^a ± 0,35	4,43 ^a ± 0,57	4,38 ^a ± 0,24
BC6	4,39 ^a ± 0,49	4,71 ^a ± 0,76	4,57 ^a ± 0,49	4,57 ^a ± 0,35	4,43 ^a ± 0,45	4,53 ^a ± 0,24
BC9	4,57 ^a ± 0,35	4,43 ^a ± 0,45	4,57 ^a ± 0,45	4,86 ^a ± 0,88	4,57 ^a ± 0,35	4,60 ^a ± 0,24
BC12	4,36 ^a ± 0,45	4,00 ^a ± 0,76	4,71 ^a ± 0,45	4,14 ^a ± 0,42	4,43 ^a ± 0,49	4,33 ^a ± 0,31

CON — próbka kontrolna (100% mąki pszennej); BC3, BC6, BC9, BC12 — próbki pieczywa, w których zastosowano odpowiednio: 3%, 6%, 9% i 12% poziom substytucji mąki sproszkowanym owocnikiem *O. sinensis*. Wyniki przedstawiono jako średnią ± odchylenie standardowe (n = 9). Różne litery w obrębie tej samej kolumny oznaczają istotne statystycznie różnice zgodnie z testem Tukeya ($p \leq 0,05$).

Podsumowanie

Przeprowadzone badania potwierdziły wysoki potencjał proszku z *O. sinensis* jako funkcjonalnego dodatku w produkcji pieczywa pszennego. Częściowa substytucja mąki pszennej proszkiem grzybowym (3–12%) istotnie wpłynęła na wartość odżywczą produktu końcowego, prowadząc do zwiększenia zawartości błonnika pokarmowego, białka oraz wybranych składników mineralnych, przy jednoczesnym obniżeniu zawartości węglowodanów przyswajalnych.

Wprowadzenie proszku *O. sinensis* do receptury chleba przyczyniło się również do istotnego wzrostu zawartości związków fenolowych oraz poprawy właściwości przeciwutleniających pieczywa. Analiza tekstury wykazała, że parametry takie jak elastyczność, spistość czy żujność pozostawały względnie stabilne w szerokim zakresie substytucji, natomiast wyraźny wzrost twardości miękiszu zaobserwowano dopiero przy 12% udziale proszku grzybowego w pieczywie.

Ocena sensoryczna pieczywa potwierdziła pełną akceptowalność sensoryczną wzbogaconego pieczywa. Nawet przy najwyższym 12% poziomie substytucji mąki proszkiem grzybowym chleb zachowywał korzystne właściwości sensoryczne, uzyskując wysokie noty w ocenie ekspertów.

Przedstawione wyniki wskazują, że zastosowanie proszku *O. sinensis* może stanowić skuteczną strategię wzbogacania pieczywa w składniki o działaniu prozdrowotnym. Włączenie tego komponentu do receptury produktów zbożowych może przyczynić się do wspierania profilaktyki chorób dietozależnych oraz rozszerzenia oferty żywności funkcjonalnej dostępnej na rynku. Uzyskane dane stanowią także punkt wyjścia do dalszych badań nad możliwością wykorzystania proszku z *O. sinensis* do wzbogacania innych kategorii produktów spożywczych.

4.4. Wyniki badań strawności *in vitro* skrobi i białka oraz wybranych właściwości fizycznych pieczywa – badania własne niepublikowane

Poniżej zaprezentowano niepublikowane i nierecenzowane wyniki badań własnych. Stanowią one uzupełnienie wcześniejszych analiz i umożliwiają identyfikację różnic pomiędzy badanymi gatunkami grzybów.

W ramach rozszerzenia zakresu badań przeprowadzono dodatkowe analizy surowców wykorzystanych we wszystkich modelach badawczych tj. mąki pszennej typ 750 i proszków z grzybów leczniczych: *Hericium erinaceus* (Bull.) Pers. (*H. erinaceus*), *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst. (*G. lucidum*) oraz *Ophiocordyceps sinensis* (Berk.) G.H. Sung, J.M. Sung, Hywel-Jones & Spatafora (*O. sinensis*) oraz uzyskanych wariantów pieczywa.

Analizie poddano:

- wskaźnik rozpuszczalności wodnej suchej masy (WSI, *Water Solubility Index*) – parametr określający procentowy udział suchej masy próbki przechodzącej do roztworu wodnego, stanowiący miarę zawartości frakcji rozpuszczalnych w wodzie,
- wskaźnik absorpcji wody (WAI, *Water Absorption Index*) – określający zdolność materiału do wiązania wody,
- strawność białka *in vitro* – wyrażona jako procentowy udział białka strawnego *in vitro* w warunkach symulowanej hydrolizy enzymatycznej w stosunku do białka ogółem,
- strawność skrobi *in vitro* – określająca procentowy udział skrobi rozkładanej w warunkach symulowanej hydrolizy enzymatycznej przy udziale enzymów amylolitycznych w stosunku do skrobi ogółem,
- zawartość skrobi odpornej (RS, *Resistant Starch*) – skrobi, która jest oporna na działanie enzymów amylolitycznych i wykazuje fizjologiczne właściwości zbliżone do błonnika pokarmowego, m.in. poprzez udział w regulacji glikemii, poprawie perystaltyki jelit oraz działaniu prebiotycznym,
- zawartość β -glukanów (β -(1 $\rightarrow$ 3),(1 $\rightarrow$ 6)-glukany) – nierozpuszczalnych polisacharydów ścian komórkowych grzybów, zaliczanych do błonnika pokarmowego, o udokumentowanym działaniu immunomodulującym, przeciwzapalnym i potencjalnie prebiotycznym.

Przeprowadzona analiza porównawcza umożliwiła ocenę funkcjonalności badanych gatunków w kontekście ich potencjalnego wykorzystania jako składników żywności funkcjonalnej, w tym pieczywa o podwyższonej wartości odżywczej i prozdrowotnej.

4.4.1. Wpływ substytucji mąki pszennej proszkami grzybowymi na wskaźnik rozpuszczalności wodnej oraz wskaźnik absorpcji wody surowców i pieczywa

Zastosowanie proszków z owocników grzybów leczniczych (*H. erinaceus*, *G. lucidum*, *O. sinensis*) do częściowej substytucji mąki pszennej (3–12%) wpłynęło istotnie na wodochłonność pieczywa. Analiza wykazała, że wskaźnik absorpcji wody WAI (tab. 29) wzrastał wraz ze zwiększającym się udziałem komponentu grzybowego w pieczywie ($p \leq 0,05$), przy czym największy przyrost (o 11,6% względem próbki kontrolnej) zaobserwowano w przypadku chleba z 12% dodatkiem proszku z *G. lucidum*. Efekt ten można wiązać z wysoką zawartością składników strukturalnych, zaliczanych do błonnika pokarmowego, o dużej zdolności do wiązania wody, takich jak β -glukany i chityna, charakterystycznych dla tego gatunku grzybów (Araújo i in., 2022; Araújo i in., 2023). Mniejsze, lecz statystycznie istotne wzrosty WAI (tab. 29) odnotowano w przypadku 12% dodatku proszków z *H. erinaceus* (+7,7%) oraz *O. sinensis* (+7,4%). Podobne tendencje odnotowali Mandliya i in. (2022), wskazując, że obecność komponentów błonnikowych o silnych właściwościach hydrofilowych (m.in. w suszonej grzybni boczniaka mikołajkowego) przyczynia się do zwiększenia zdolności pieczywa do zatrzymywania wody.

Z kolei wskaźnik rozpuszczalności wodnej suchej masy (WSI) wykazywał wyraźne zróżnicowanie w zależności od rodzaju zastosowanego proszku grzybowego. Najwyższy wzrost WSI (o 19,4% względem próbki kontrolnej) stwierdzono dla pieczywa z 12% dodatkiem proszku z *O. sinensis*. Wysoką rozpuszczalność tej matrycy można tłumaczyć obecnością w tym gatunku grzyba związków o niskiej masie cząsteczkowej, takich jak cukry, wolne aminokwasy i inne składniki, które łatwo przechodzą do fazy wodnej. Obecność tych związków w ekstraktach wodnych z *O. sinensis* potwierdzili He i in. (2024). Umiarkowany wzrost WSI (o 8,7%) stwierdzono w przypadku *H. erinaceus*, natomiast dodatek proszku z *G. lucidum* nie wpłynął istotnie na wartość analizowanego parametru (+0,4%), co może świadczyć o przewadze w składzie chemicznym tego gatunku grzyba składników strukturalnych nierozpuszczalnych w wodzie. Potwierdzeniem jest wysoka zawartość błonnika nierozpuszczalnego, wynosząca 68,22 g/100 g s.m. (tab. 22). Zbliżone wyniki uzyskali Hitayezu i Xiong (2021), którzy zaobserwowali, że pomimo większej zdolności retencji wody, składniki suchej masy obecne w proszku z *Hypsizygus tessellatus* (Shimeji), nie wykazywały

zwiększonej zdolności do rozpuszczania w wodzie. Z kolei Uukule in. (2023), stwierdzili, że dodatek proszku z boczniaka ostrygowatego do krakersów powodował wzrost WSI, przy braku istotnych zmian w wartości WAI, co autorzy przypisali dużej zawartości rozpuszczalnych składników w strukturze owocnika.

Tabela 29. Wskaźnik wodochłonności (WAI) oraz rozpuszczalności wodnej suchej masy (WSI) surowców i pieczywa

Próbka	WAI [% s.m.]	WSI [% s.m.]
<i>H. erinaceus</i>	169,32 ^C ± 0,83	17,30 ^C ± 0,03
<i>G. lucidum</i>	213,08 ^D ± 1,23	13,23 ^B ± 0,14
<i>O. sinensis</i>	146,48 ^B ± 0,94	29,31 ^D ± 0,21
Mąka pszenna typ 750	119,26 ^A ± 0,39	8,25 ^A ± 0,07
CON	134,69 ^a ± 1,31	13,08 ^a ± 0,04
BS3	135,72 ^{ab} ± 0,24	13,23 ^{ab} ± 0,11
BS6	137,80 ^{bc} ± 1,42	13,35 ^b ± 0,08
BS9	140,92 ^{cd} ± 0,93	13,38 ^b ± 0,08
BS12	145,08 ^e ± 0,31	13,53 ^{bc} ± 0,04
BR3	137,04 ^{bc} ± 0,42	13,62 ^c ± 0,03
BR6	140,43 ^{cd} ± 1,84	13,68 ^{cd} ± 0,14
BR9	144,86 ^e ± 0,52	13,71 ^{cd} ± 0,04
BR12	150,33 ^f ± 0,49	13,89 ^d ± 0,03
BC3	135,04 ^{ab} ± 0,85	14,17 ^e ± 0,09
BC6	137,57 ^{bc} ± 0,41	14,34 ^{ef} ± 0,09
BC9	140,58 ^{cd} ± 0,94	14,98 ^f ± 0,04
BC12	144,62 ^e ± 1,04	15,61 ^g ± 0,08

Wartości przedstawiono jako średnie ± odchylenie standardowe (n = 3). Różne wielkie litery w kolumnie wskazują na istotne statystycznie różnice pomiędzy surowcami ($p \leq 0,05$); różne małe litery oznaczają istotne różnice pomiędzy próbkami chleba, zgodnie z testem Tukeya (test Tukeya; $p \leq 0,05$). CON – chleb kontrolny; BS – chleby z *H. erinaceus*; BR – chleby z *G. lucidum*; BC – chleby z *O. sinensis*.

4.4.2. Strawność białka (*in vitro*)

Zawartość i strawność białka w badanych surowcach różniły się istotnie ($p \leq 0,05$) (ryc. 10a). Wszystkie proszki grzybowe charakteryzowały się wyższą zawartością białka ogólnego w porównaniu z mąką pszenną, przy czym najbardziej zasobny w białko był proszek z *O. sinensis*, a najmniejszym jego udziałem cechował się proszek z *G. lucidum*. Również największą zawartość białka strawnego odnotowano w proszku z *O. sinensis* (o ok. 2,6-krotnie większą w porównaniu z mąką), natomiast najmniejszą zawartością białka dostępnego dla enzymów proteolitycznych cechował się proszek z *G. lucidum*. Proszek z *H. erinaceus* charakteryzował się zawartością białka większą o ok. 61% i jedynie nieznacznie lepszą strawnością (+13%) w stosunku do mąki pszennej. Należy jednak podkreślić, że niska strawność białka oznaczona w surowcach nie musi przekładać się bezpośrednio na strawność białka w gotowym pieczywie. Proces fermentacji drożdżowej sprzyja proteolizie, prowadząc do zwiększenia aktywności proteaz i poprawy strawności białka, natomiast obróbka cieplna podczas wypieku może powodować inaktywację naturalnych inhibitorów proteaz oraz modyfikacje w strukturze białek, co dodatkowo zwiększa ich dostępność dla enzymów proteolitycznych (Ketnawa i in., 2021; Lavoignat i in., 2022; Ali, 2024).

Zastąpienie mąki pszennej proszkami z grzybów leczniczych w recepturze pieczywa miało istotny wpływ ($p \leq 0,05$) na zmniejszenie strawności białka (ryc. 10 b–d). W próbie kontrolnej (CON), niezawierającej komponentów grzybowych, odnotowano najwyższą strawność białka, wynoszącą 99,42%, co przekraczało wartość oznaczoną dla czystej mąki pszennej typ 750 (73,45%). Obserwację tę można wiązać z korzystnymi zmianami zachodzącymi w strukturze białek podczas wypieku, w tym denaturacją termiczną, inaktywacją naturalnych inhibitorów proteaz oraz modyfikacjami w matrycy glutenowej, ułatwiającymi dostęp enzymów proteolitycznych do substratu.

Dodatek sproszkowanych owocników grzybów skutkował znaczącym obniżeniem strawności białka, a jego stopień zależał zarówno od zastosowanego gatunku grzyba, jak i poziomu substytucji. Najmniejsze zmiany odnotowano w przypadku pieczywa z dodatkiem *G. lucidum* (ryc. 10b). Przy 3% poziomie substytucji strawność białka zmniejszyła się o 1,86 p. p., a przy 12% – o 23,5 p. p., w stosunku do strawności w próbie kontrolnej. Zjawisko to można tłumaczyć dużą koncentracją składników strukturalnych w Reishi, takich jak chityna i β -glukany, które mogą utrudniać dostęp enzymów proteolitycznych do białek (Colunga i in., 2020; Ayimbila i Keawsompong, 2023).

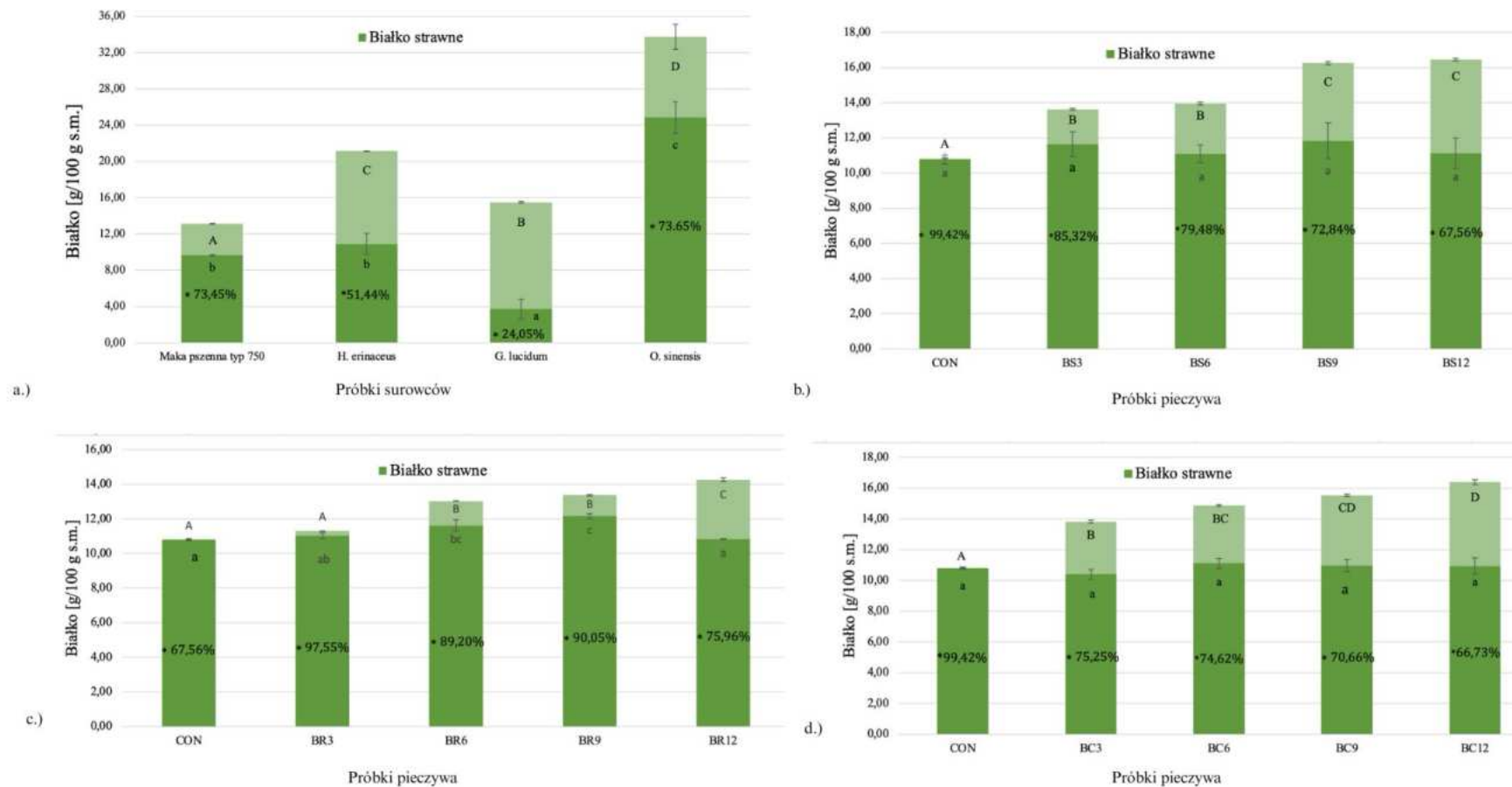
W przypadku pieczywa z dodatkiem *H. erinaceus* (ryc. 10c) zaobserwowano obniżenie strawności białka w porównaniu z próbką kontrolną. W pieczywie zawierającym 12% komponentu grzybowego strawność obniżyła się aż o 31,9 p. p. Jednak największy negatywny wpływ na strawność białka w pieczywie miało wprowadzenie do receptury *O. sinensis*. Już 3% udział tego komponentu skutkował obniżeniem strawności o ponad 24 p. p., a przy 12% udziale strawność białka zmniejszyła się aż o 33 p. p. To zdecydowanie wpływa na obniżenie wartości biologicznej białka obecnego w pieczywie zawierającym proszek z *O. sinensis* pomimo korzystnego profilu aminokwasowego tego grzyba (Tang i in., 2025). Efekt ten można wiązać z możliwym działaniem synergistycznym związków bioaktywnych, m.in. błonnika pokarmowego, jak również z oddziaływaniem kordycepiny (3'-deoksyadenozyny), nukleozydu wykazującego działanie inhibicyjne w stosunku do enzymów proteolitycznych, który w matrycy produktu, jakim jest pieczywo, może wykazywać intensywniejsze działanie inhibicyjne wobec proteaz (Chen i in., 2023). Potwierdzono, że *G. lucidum*, *H. erinaceus* oraz *O. sinensis* zawierają w swojej strukturze chitynę, która wraz z innymi polisacharydami kształtuje ich właściwości biologiczne (Mansouri, 2024). Obecność tego biopolimeru może przyczyniać się do ograniczenia strawności białka. Podobne zjawisko opisano w przypadku białka owadziego – usunięcie chityny z larw muchy czarnej (*Hermetia illucens*) znacząco poprawiło jego rozpuszczalność i strawność (Bonomini i in., 2024). Wykazano także, że pochodne chityny, takie jak chitozan, mogą negatywnie wpływać na strawność izolatu białka serwatkowego poprzez wytrącanie białek i modulowanie aktywności enzymów proteolitycznych (Wang i in., 2022). Z kolei częściowa hydroliza chityny z użyciem lizozymów może działać korzystnie, poprawiając jakość pieczywa wzbogaconego białkiem owadzym – zwiększając jego objętość, miękkość i akceptowalność sensoryczną (Pyo i in., 2024).

Obniżenie strawności białka w pieczywie pogłębiające się wraz z poziomem substytucji mąki proszkami z grzybów można również częściowo przypisać zmianom w jego mikrostrukturze (ryc. 3, ryc. 6, ryc. 8). Obserwowana redukcja porowatości miękiszu i bardziej zbita struktura produktów mogą ograniczać dyfuzję enzymów do substratu, co potwierdzają wcześniejsze badania innych autorów (Smith i in., 2015; Mathieu i in., 2016; Capuano i Janssen, 2021; Moretton i in., 2023).

Częściowa substytucja mąki pszennej *H. erinaceus* powodowała wzrost zawartości białka strawnego w zakresie od ok. 3 do 10% względem próbki kontrolnej, przy czym najwyższy efekt zaobserwowano przy 9% zastąpieniu mąki tym komponentem grzybowym. Podobny kierunek zmian odnotowano w przypadku zastosowania w recepturze pieczywa

G. lucidum, gdzie wzrost zawartości białka strawnego wynosił od ok. 2 do ponad 12%, osiągając maksimum również przy 9% poziomie substytucji. W przypadku *O. sinensis* efekt zwiększenia zawartości białka strawnego w produkcie był znacznie słabszy.

W tym kontekście na uwagę zasługują także badania Tańskiej i in. (2024), które wykazały, że proszki owadów *Alphitobius diaperinus* (mącznik młynarek) oraz *Acheta domesticus* (świerszcz domowy) zwiększały zawartość białka i poprawiały profil aminokwasowy ciastek kruchych. Analogicznie, pomimo potencjalnie ograniczonej biodostępności białka, grzyby mogą stanowić wartościowe źródło aminokwasów deficytowych w produktach zbożowych, a dalsze badania powinny skupić się na strategiach zwiększania strawności i biodostępności białek pochodzenia grzybowego, m.in. poprzez modyfikację parametrów wypieku, stosowanie izolatów białek czy wykorzystanie dodatków odpowiedzialnych za częściową hydrolizę składników, ograniczających biodostępność białek.



Rycina 10. Zawartość białka ogółem oraz białka strawnego (*in vitro*) (g/100 g s.m.) w surowcach (a.) oraz w pieczywie pszennym z udziałem 3-12%: odpowiednio *H. erinaceus* (b.), *G. lucidum* (c.) i *O. sinensis* (d.). Słupki przedstawiają wartości średnie $\pm$ odchylenie standardowe ($n = 3$). * – procentowy udział białka strawnego. Różne wielkie litery oznaczają różnice statystycznie istotne pomiędzy wynikami prezentowanymi w obrębie każdego wykresu ($p \leq 0,05$; test Tukeya), natomiast małe litery wskazują istotne różnice w zawartości białka strawnego.

4.4.3. Strawność skrobi (*in vitro*) i zawartość skrobi odpornej

Zastosowanie proszków z grzybów leczniczych do częściowej substytucji mąki pszennej w pieczywie wpłynęło istotnie statystycznie ($p \leq 0,05$) na strawność skrobi. Wraz ze wzrostem poziomu substytucji mąki pszennej proszkami z *H. erinaceus*, *G. lucidum*, *O. sinensis*, zaobserwowano systematyczny spadek zawartości skrobi strawnej (DS) w gotowym produkcie. Największe obniżenie dotyczyło próbki pieczywa z 12% udziałem proszku z *G. lucidum* (BR12), w której zawartość strawnej skrobi była mniejsza o ok. 23% w porównaniu z próbką kontrolną (CON). Mniejsze, choć również istotne ($p \leq 0,05$) obniżenie strawności stwierdzono w przypadku próbki BC12 (*O. sinensis*) i BS12 (*H. erinaceus*), odpowiednio o około 15% i 12% (tab. 30).

Zmniejszenie strawności skrobi można przypisać obecności frakcji polisacharydowych występujących w ścianie komórkowej grzybów, takich jak chityna oraz β -glukany. Związki te mogą tworzyć fizyczne bariery wokół granulek skrobi, ograniczając ich pęcznienie i żelatynizację oraz utrudniając dostęp enzymów amylolitycznych. Dodatkowo, mogą one wchodzić w interakcje z cząsteczkami skrobi, poprzez tworzenie nowych wiązań wodorowych, co skutkuje zmniejszeniem jej biodostępności (Tu i in., 2021; Liu i in., 2022). Podobne mechanizmy obserwowano również w przypadku innych grzybów jadalnych, np. *Pleurotus ostreatus* (bocznik ostrygowaty). Dodatek sproszkowanych owocników do krakersów prowadził do ograniczenia strawności skrobi przy jednoczesnym wzroście udziału frakcji odpornej (Uukule i in., 2023). Warto zaznaczyć, że mimo iż *G. lucidum* jako surowiec cechował się stosunkowo dużą zawartością strawnej skrobi, to chleb z udziałem tego komponentu grzybowego wyróżniał się najmniejszą strawnością skrobi spośród wszystkich badanych próbek. Zjawisko to może być wynikiem wysokiego udziału chityny i β -glukanów, które poprzez właściwości powłokotwórcze, sieciujące i stabilizujące – skutecznie ograniczały rozkład enzymatyczny skrobi (Tu i in., 2021). Zgodnie z wynikami uzyskanymi w niniejszych badaniach, zawartość β -glukanów w tym gatunku była najwyższa spośród analizowanych surowców, a szczegółowe dane przedstawiono w kolejnym podrozdziale (ryc. 11).

Wzrost zawartości skrobi odpornej (RS) w pieczywie był proporcjonalny do poziomu substytucji proszkami grzybowymi. Najwyższy przyrost RS, przekraczający 400% względem próbki kontrolnej, zaobserwowano dla wariantu pieczywa BR12 (z 12% udziałem *G. lucidum*). Zmiany te mogą wynikać zarówno z ograniczenia dostępności skrobi dla enzymów amylolitycznych, jak i z wpływu składników błonnikowych na jej przemiany

fizykochemiczne – w tym podatność na retrogradację oraz zdolność do tworzenia kompleksów z lipidami (Świeca i in., 2013; Wang i in., 2021). Skrobia oporna, nie ulegająca trawieniu w jelicie cienkim, jest fermentowana przez mikrobiotę jelitową w okrężnicy, prowadząc do powstawania korzystnych metabolitów, takich jak krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe (SCFA), w tym maślan, propionian i octan. Maślan wykazuje działanie przeciwzapalne i stanowi główne źródło energii dla komórek jelita grubego, propionian reguluje metabolizm glukozy i wrażliwość insulinową, natomiast octan może wpływać na lipogenezę i uczucie sytości (Zhou i in., 2021b; Sobh i in., 2022).

Udział frakcji strawnej w stosunku do całkowitej zawartości skrobi (SD) również uległ istotnym, choć umiarkowanym zmianom. Największe obniżenie SD, wynoszące blisko 6 p. p. względem kontroli, odnotowano również w próbce BR12. W pozostałych wariantach zmiany były mniejsze, lecz statystycznie istotne ($p \leq 0,05$). Należy podkreślić, że nawet niewielkie zmiany w strukturze granulek skrobi, długości łańcuchów amylozy i amylopektyny, jak również w stopniu żelatynizacji, mogą mieć wpływ na tempo amylolizy oraz końcową strawność tego polisacharydu (Corrado i in., 2023; Qi i in., 2022).

Tabela 30. Strawność skrobi w surowcach i pieczywie

Próbka	Skrobia strawna (g/100 g s.m.)	Skrobia oporna (g/100 g s.m.)	Strawność skrobi (%)
Surowce			
<i>H. erinaceus</i>	9,36 ^B ± 0,12	3,26 ^C ± 0,08	74,17 ^B ± 0,42
<i>G. lucidum</i>	15,84 ^C ± 0,19	6,25 ^D ± 0,09	71,71 ^A ± 0,37
<i>O. sinensis</i>	2,26 ^A ± 0,06	0,91 ^A ± 0,03	71,29 ^A ± 0,45
Mąka pszenna typ 750	59,55 ^D ± 0,31	1,10 ^B ± 0,04	98,19 ^C ± 0,12
Pieczywo			
CON	72,71 ^f ± 0,71	0,80 ^a ± 0,06	98,91 ^g ± 0,07
BS3	68,64 ^{ef} ± 0,76	1,12 ^{ab} ± 0,04	98,39 ^{fg} ± 0,04
BS6	67,24 ^{def} ± 0,65	1,35 ^{ab} ± 0,05	98,03 ^{ef} ± 0,06
BS9	66,11 ^{cde} ± 0,67	1,36 ^b ± 0,03	97,98 ^{ef} ± 0,02
BS12	64,13 ^{bcd} ± 0,58	1,38 ^{bc} ± 0,03	97,89 ^{ef} ± 0,04
BR3	65,43 ^{bcd} ± 0,73	1,93 ^{cd} ± 0,18	97,13 ^d ± 0,24
BR6	62,08 ^{bcd} ± 0,43	2,46 ^d ± 0,11	96,19 ^c ± 0,14
BR9	60,40 ^{ab} ± 0,73	3,66 ^e ± 0,24	94,29 ^b ± 0,29
BR12	55,98 ^a ± 0,58	4,22 ^f ± 0,21	92,99 ^a ± 0,31
BC3	71,83 ^f ± 0,69	1,21 ^{ab} ± 0,03	98,34 ^{fg} ± 0,02
BC6	68,21 ^{ef} ± 0,47	1,23 ^{ab} ± 0,11	98,23 ^f ± 0,15
BC9	65,83 ^{bcd} ± 0,58	1,37 ^b ± 0,10	97,96 ^{ef} ± 0,13
BC12	61,42 ^{abc} ± 0,83	1,54 ^{bc} ± 0,13	97,55 ^{de} ± 0,16

Wartości przedstawiono jako średnie ± odchylenie standardowe (n = 2). Wielkie litery w indeksie górnym oznaczają różnice statystycznie istotne ($p \leq 0,05$) pomiędzy wynikami dla surowców, natomiast małe litery pomiędzy wynikami dla próbek pieczywa (test Tukeya $p \leq 0,05$). CON – chleb kontrolny; BS, BR, BC – chleby pszenne z substytucją mąki proszkami grzybowymi odpowiednio (3-12%) *H. erinaceus*, *G. lucidum*, *O. sinensis*.

4.4.4. Zawartość β -(1 $\rightarrow$ 3),(1 $\rightarrow$ 6)-glukanów

β -(1 $\rightarrow$ 3),(1 $\rightarrow$ 6)-D-glukany należą do grupy strukturalnych polisacharydów obecnych m.in. w ścianach komórkowych grzybów i wykazują liczne właściwości biologiczne o znaczeniu prozdrowotnym. Do najważniejszych należą: modulacja odpowiedzi immunologicznej, działanie przeciwzapalne oraz właściwości przeciwutleniające, co czyni je istotnym składnikiem żywności funkcjonalnej (Mirończuk-Chodakowska i in., 2021).

W przeprowadzonym badaniu stwierdzono istotnie wyższą zawartość β -(1 $\rightarrow$ 3),(1 $\rightarrow$ 6)-D-glukanów w próbkach pieczywa pszennego w porównaniu z mąką pszenną (ryc. 11), co może wynikać nie tylko z udziału proszków grzybowych, ale również z wykorzystania drożdży piekarskich *Saccharomyces cerevisiae* w procesie fermentacji. Doniesienia literaturowe potwierdzają, że sucha masa komórek *S. cerevisiae* zawiera do 12% β -glukanów, a w formie oczyszczonej ich zawartość może sięgać nawet 76,56% (Naseer i Mousa, 2024).

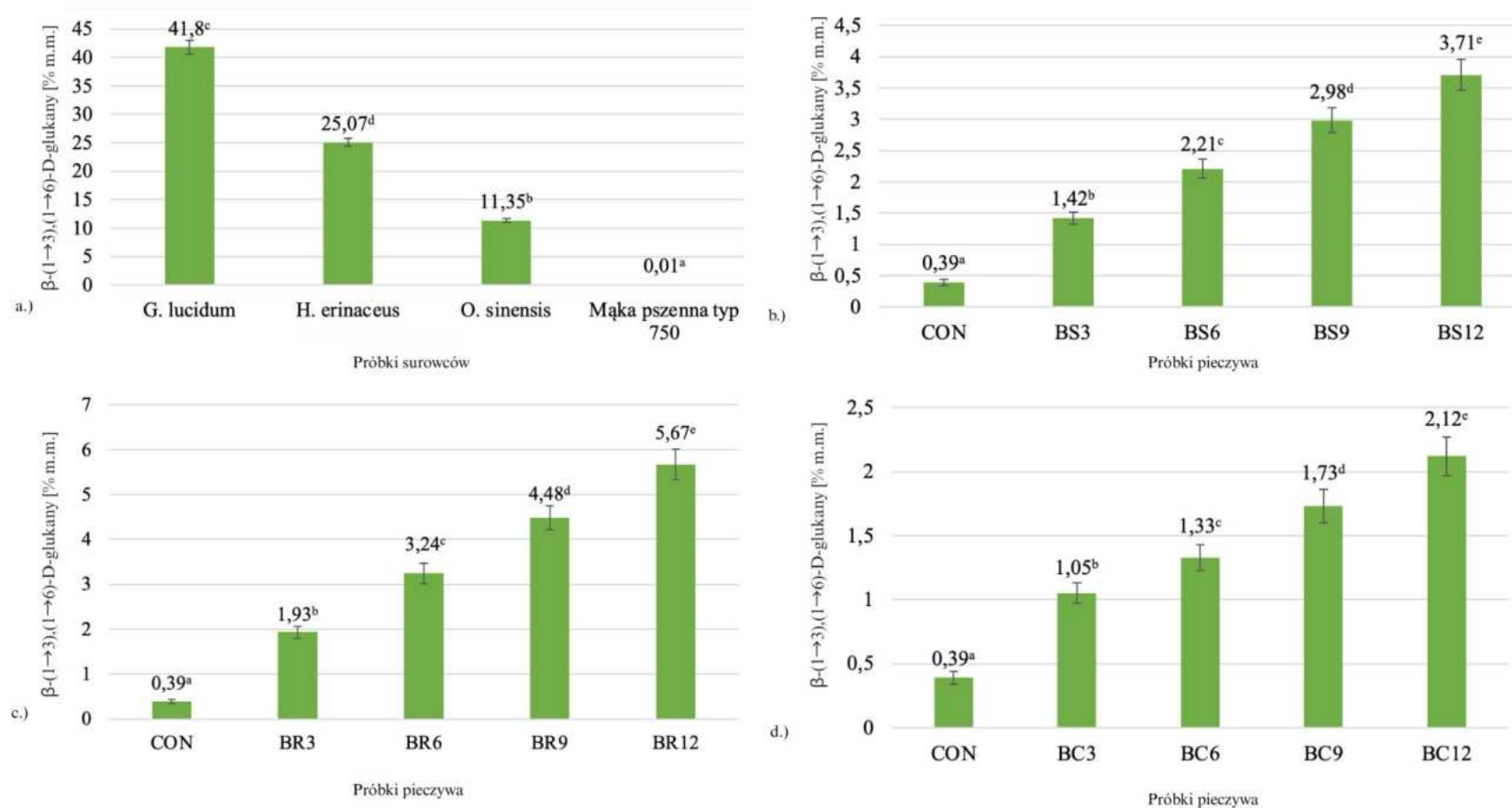
Efektywność wzbogacania pieczywa w β -glukany była zależna od naturalnej zawartości tych związków w poszczególnych komponentach grzybowych. Najwyższy poziom β -glukanów odnotowano dla *G. lucidum* (41,8% s.m.), umiarkowany dla *H. erinaceus* (25,1% s.m.), a najniższy dla *O. sinensis* (11,4% s.m.). W związku z tym największy przyrost zawartości β -glukanów w pieczywie odnotowano w wariancie z *G. lucidum*, gdzie 12% substytucja mąki pozwoliła na ponad 14-krotny wzrost ich zawartości w stosunku do próbki kontrolnej. Dla analogicznych poziomów substytucji *H. erinaceus* i *O. sinensis* zaobserwowano odpowiednio około 9- i 5-krotny wzrost.

Wyniki te potwierdzają, że różnice w zawartości bioaktywnych polisacharydów pomiędzy badanymi gatunkami grzybów mają bezpośrednie odzwierciedlenie w ich koncentracji w gotowym produkcie. Szczególnie wysoka zawartość β -glukanów w owocnikach *G. lucidum* znajduje potwierdzenie w dostępnej literaturze, wskazującej na potencjał tego gatunku jako surowca wykorzystywanego do projektowania żywności o właściwościach funkcjonalnych (Łysakowska i in., 2023; Navarro-Simarro i in., 2024).

Zwiększona zawartość β -glukanów może również częściowo tłumaczyć wcześniej zaobserwowane obniżenie strawności białka i skrobi oraz zwiększoną zawartość skrobi odpornej w pieczywie, szczególnie w przypadku zastosowania *G. lucidum*. Zgodnie z doniesieniami literaturowymi, β -glukany mogą tworzyć fizyczne bariery wokół granulek skrobi, ograniczając dostęp enzymów amylolitycznych, zwiększając lepkość matrycy i tym samym spowalniając jej hydrolizę (Liu i in., 2022; Wang i in., 2021). Podobne zjawiska

opisali Marzec i in. (2025), wykazując, że dodatek błonnika pszennego i owsianego w recepturze ciastek kruchych prowadził do istotnych zmian w ich mikrostrukturze, teksturze oraz percepcji sensorycznej, co potwierdza istotną rolę frakcji błonnikowych w kształtowaniu właściwości fizykochemicznych i sensorycznych produktów zbożowych.

Coraz więcej badań wskazuje również na korzystny wpływ β -glukanów pochodzenia grzybowego na funkcjonowanie układu odpornościowego. Na przykład, Case i in. (2024) wykazali, że frakcje polisacharydowe izolowane z *Agaricus bisporus* (pieczarka dwuzarodnikowa) aktywowały odpowiedź typu „trained immunity” (nabyta pamięć odporności wrodzonej) poprzez receptor Dectin-1, zwiększając odporność nieswoistą organizmu oraz poprawiając odpowiedź na stres oksydacyjny i infekcje. Co więcej, β -glukany grzybowe mogą modulować skład mikrobioty jelitowej, sprzyjając namnażaniu bakterii probiotycznych z rodzaju *Bifidobacterium* i *Lactobacillus*. Badania procesu fermentacji *in vitro* β -glukanu pochodzącego z grzyba *Lentinula edodes* (shiitake) wykazały również wzrost produkcji maślanu i propionianu - krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych o istotnym znaczeniu dla zdrowia metabolicznego (Liu i in., 2025).



Rycina 11. Zawartość β -(1 $\rightarrow$ 3),(1 $\rightarrow$ 6)-D-glukanów w surowcach (a.) oraz w chlebie zawierającym odpowiednio 3-12% udział *H. erinaceus* (b.); *G. lucidum* (c.) i *O. sinensis* (d.). Wartości przedstawiono jako średnie $\pm$ odchylenie standardowe (n = 3). Różne małe litery oznaczają różnice statystycznie istotne w obrębie prób prezentowanych na każdym wykresie ($p \leq 0,05$; test Tukeya). CON – chleb kontrolny bez dodatku komponentu grzybowego.

Podsumowanie

Zastosowanie proszków z owocników *Ganoderma lucidum* (*G. lucidum*), *Hericium erinaceus* (*H. erinaceus*) oraz *Ophiocordyceps sinensis* (*O. sinensis*) jako funkcjonalnych dodatków do pieczywa pszennego wykazało istotny wpływ na jego właściwości fizykochemiczne oraz wartość odżywczą. Substytucja mąki pszennej proszkami grzybowymi prowadziła do istotnego zwiększenia zawartości β -(1 $\rightarrow$ 3),(1 $\rightarrow$ 6)-D-glukanów w produkcie końcowym, przy czym najwyższe wartości odnotowano w próbkach wzbogaconych *G. lucidum*. Wzrost ten był skorelowany ze zwiększoną absorpcją wody (WAI) oraz jednoczesnym ograniczeniem strawności skrobi.

Obserwowane obniżenie udziału frakcji skrobi strawnej (o 23%) przy równoczesnym wzroście zawartości skrobi odpornej (o 427,5%) w pieczywie z dodatkiem *G. lucidum* (BC12) wskazuje na głębokie zmiany w strukturze skrobiowej matrycy, związane z obecnością nierozpuszczalnych biopolimerów ścian komórkowych grzybów, takich jak β -glukany i chityna. Zmiany te mogą przyczyniać się do obniżenia indeksu glikemicznego produktu.

Substytucja mąki proszkami grzybowymi wpływała także na strawność białka, a największe obniżenie strawności zaobserwowano w próbkach zawierających proszek z *O. sinensis*.

Uwzględniając dodatkowo obniżoną strawność skrobi w próbkach wzbogaconych proszkami z grzybów leczniczych, można wnioskować, że spożycie takiego pieczywa potencjalnie wiąże się z niższą odpowiedzią glikemiczną, co jest szczególnie istotne w kontekście produktów na bazie mąki pszennej o wysokim indeksie i ładunku glikemicznym.

Uzyskane wyniki potwierdzają znaczący potencjał badanych grzybów leczniczych jako nośników składników bioaktywnych w technologii piekarskiej i wskazują na ich przydatność w projektowaniu żywności funkcjonalnej o korzystnym profilu metabolicznym.

5. Wnioski

W oparciu o zgromadzony materiał badawczy oraz przeprowadzoną analizę danych sformułowano następujące wnioski, które potwierdzają zasadność przyjętych hipotez badawczych.

1. Proszki z grzybów leczniczych w porównaniu z mąką pszenną typ 750 cechowały się istotnie większą ($p \leq 0,05$) zawartością błonnika pokarmowego, białka, substancji mineralnych oznaczonych w postaci popiołu i tłuszczu całkowitego. Jednocześnie wyróżniała je stosunkowo mała zawartość węglowodanów przyswajalnych ($<12\%$ s.m.) i niska kaloryczność.
2. Wprowadzenie do receptury pieczywa pszennego sproszkowanych owocników z *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst. (*G. lucidum*); *Hericium erinaceus* (Bull.) Pers. (*H. erinaceus*); *Ophiocordyceps sinensis* (Berk.) G.H. Sung, J.M. Sung, Hywel-Jones & Spatafora (*O. sinensis*) pozwoliło na modyfikację jego cech technologicznych, właściwości fizykochemicznych, potencjału antyoksydacyjnego, a odpowiedni poziom substytucji umożliwił uzyskanie produktów o dobrej jakości sensorycznej.
3. Komponenty grzybowe wprowadzone do mąki w ilości 3-12% przyczyniły się do wzrostu wydajności ciasta i pieczywa, obniżenia straty piecowej całkowitej oraz objętości właściwej pieczywa. Największy negatywny wpływ na objętość 100 g pieczywa i porowatość miękiszu miał 12% dodatek *G. lucidum*.
4. Częściowa substytucja mąki pszennej proszkami z grzybów leczniczych wpłynęła na parametry farinograficzne ciasta, przy czym wielkość i kierunek zmian tych parametrów zależały od gatunku zastosowanego grzyba i poziomu jego udziału w recepturze. Wszystkie trzy komponenty grzybowe wprowadzone do mąki pszennej powodowały wzrost jej wodochłonności i wydłużenie czasu rozwoju ciasta. Zastosowanie *G. lucidum* i *H. erinaceus* wpłynęło pozytywnie na stabilność ciasta, podczas gdy dodatek *O. sinensis* powodował obniżenie stabilności, zwiększenie stopnia rozmiękczenia ciasta i w rezultacie obniżenie farinograficznej liczby jakości ciasta (FQN).
5. Częściowe zastąpienie mąki pszennej proszkami z grzybów leczniczych wpłynęło na znaczący wzrost zawartości błonnika pokarmowego (TDF) w pieczywie w tym szczególnie frakcji nierozpuszczalnej (IDF). Największą zawartość błonnika (17,08% s.m.) odnotowano w pieczywie z 12% udziałem *G. lucidum*.

6. Wprowadzenie do receptury pieczywa pszennego komponentów grzybowych przyczyniło się do wzrostu zawartości białka ogółem, jednak strawność białka zmniejszała się wraz ze wzrostem poziomu substytucji. Istotny statystycznie ($p \leq 0,05$) wzrost zawartości białka strawnego odnotowano jedynie w przypadku pieczywa z 6-9% udziałem proszku z *G. lucidum*. Dodatek pozostałych komponentów grzybowych (*H. erinaceus* i *O. sinensis*) nie powodował znaczącego wzrostu zawartości białka strawnego w produktach.
7. Wzrost udziału proszków grzybowych w pieczywie wpłynął na zmniejszenie zawartości węglowodanów przyswajalnych i obniżenie kaloryczności pieczywa. Jednocześnie zmniejszyła się strawność skrobi, a największe jej zmiany odnotowano w pieczywie wzbogaconym *G. lucidum*, w którym udział skrobi strawnej zmniejszył się o 23%, a opornej wzrósł aż o 427,5%.
8. Częściowa substytucja mąki pszennej proszkami z grzybów leczniczych wpłynęła istotnie na profil składników mineralnych w pieczywie, przy czym zastosowanie:
 - *O. sinensis* wpłynęło na zwiększenie zawartości magnezu, cynku, seleniu, miedzi oraz żelaza,
 - *H. erinaceus* zwiększyło zawartość potasu, żelaza, magnezu, fosforu oraz cynku,
 - *G. lucidum* w największym stopniu przyczyniło się do wzrostu zawartości wapnia, żelaza, manganu oraz miedzi.
9. W sproszkowanych owocnikach *G. lucidum* i *H. erinaceus* nie wykryto obecności metali ciężkich (Pb, Cd), a ich poziom w *O. sinensis* nie przekraczał (0,021 mg/100 g s.m.) i był znacznie niższy od dopuszczalnego dziennego poziomu pobrania tych metali, określonego przez FAO/WHO.
10. Największą zawartość β -(1 $\rightarrow$ 3),(1 $\rightarrow$ 6)-D-glukanów stwierdzono w proszku z grzyba *G. lucidum*. Również w pieczywie z dodatkiem tego komponentu odnotowano najwyższą zawartość β -glukanów, która wynosiła 5,67% m.m. przy najwyższym - 12% poziomie substytucji mąki proszkiem grzybowym. Wyniki te potwierdzają, że *G. lucidum* może być bardzo dobrym źródłem β -glukanów w pieczywie funkcjonalnym.
11. Dodatek proszków grzybowych do mąki pszennej zwiększał aktywność przeciwutleniającą pieczywa. Największą zawartość związków polifenolowych, w tym flawonoidów oraz najwyższą zdolność do neutralizacji wolnych rodników (DPPH i ABTS) odnotowano w próbkach wzbogaconych *O. sinensis*.

12. Wprowadzenie do pieczywa proszków z grzybów leczniczych skutkowało wyraźnym pociemnieniem barwy miękiszu chleba i przesunięciem parametrów barwy w kierunku tonów ciepłych (żółto-czerwonych). Efekt ten był prawdopodobnie związany z obecnością naturalnych pigmentów zawartych w grzybach.
13. Analiza tekstury świeżego pieczywa wykazała, że wraz ze wzrostem poziomu substytucji miękisz chleba charakteryzował się większą twardością i żuźnością, przy jednocześnie mniejszej sprężystości i spójności. Zaobserwowane zmiany parametrów tekstury były związane z wyraźnymi zmianami w mikrostrukturze pieczywa, w tym ze zmniejszoną porowatością oraz zwiększoną grubością ścian komórek powietrznych.
14. Największą wodochłonność (WAI) odnotowano w próbkach pieczywa z dodatkiem proszku z *G. lucidum*. Duża zdolność do absorpcji wody mogła wynikać z wysokiej zawartości błonnika pokarmowego i β -glukanów, których poziom był najwyższy zarówno w proszku z *G. lucidum*, jak i w pieczywie z jego udziałem.
15. Proszek z *O. sinensis* oraz pieczywo z jego dodatkiem charakteryzowały się najwyższą rozpuszczalnością suchej masy (WSI). Podwyższony poziom tego parametru może być związany z obecnością łatwo rozpuszczalnych w wodzie składników błonnika pokarmowego oraz innych, niskocząsteczkowych polisacharydów charakterystycznych dla tego gatunku grzyba.
16. Ocena sensoryczna wykazała, że dodatek proszków z grzybów leczniczych w większości przypadków nie wpływał istotnie negatywnie ($p \leq 0,05$) na właściwości sensoryczne pieczywa. Pomimo, że *G. lucidum* i *H. erinaceus* miały niekorzystny wpływ na smak, zwłaszcza przy wyższych poziomach substytucji, wszystkie próbki chleba uzyskały ogólną ocenę sensoryczną przekraczającą notę 3,5 t.j. 70% maksymalnej wartości oceny (5), co świadczy o ich pełnej akceptowalności sensorycznej. Najwyższe noty w ocenie ogólnej uzyskało pieczywo z 6-9% udziałem proszku z *O. sinensis*.

Uzyskane wyniki potwierdziły główną hipotezę badawczą, wskazując, że częściowa substytucja mąki pszennej proszkami z wybranych grzybów leczniczych pozwala istotnie modyfikować właściwości technologiczne, fizykochemiczne i potencjał antyoksydacyjny pieczywa i uzyskać produkty o akceptowalnej jakości sensorycznej. Integracja rezultatów z trzech modeli badawczych (I–III) wykazała, że w przypadku wybranych parametrów pieczywa pszennego zastosowanie proszków z grzybów *G. lucidum*, *H. erinaceus* oraz *O. sinensis* wywierało spójny, jednokierunkowy wpływ, niezależnie od gatunku. Natomiast w odniesieniu do innych właściwości efekt działania był zróżnicowany i zależał zarówno od gatunku grzyba, jak i zastosowanego poziomu substytucji mąki pszennej. Mimo tych różnic, wszystkie wykorzystane w badaniach grzyby wykazały potencjał jako wartościowe komponenty funkcjonalne i mogą być z powodzeniem stosowane w projektowaniu pieczywa o podwyższonej wartości odżywczej oraz właściwościach prozdrowotnych. Najważniejsze korzyści z zastosowania proszków z grzybów leczniczych obejmowały wzrost zawartości błonnika pokarmowego w tym β -(1 $\rightarrow$ 3),(1 $\rightarrow$ 6)-glukanów, białka ogółem, składników mineralnych, związków polifenolowych i poprawę właściwości przeciwutleniających pieczywa.

6. Bibliografia

1. AACC American Association of Cereal Chemists. *AACC Approved Methods of Analysis*, 11th ed.; AACC International: St. Paul, MN, USA, 2010.
2. Abdelkader, M.-A. E., Mediatrice, H., Lin, D., Lin, Z., & Aggag, S. A. (2024). Mitigating oxidative stress and promoting cellular longevity with mushroom extracts. *Foods*, *13*(24), 4028. <https://doi.org/10.3390/foods13244028>
3. Adhikari, B. M., Bajracharya, A., & Shrestha, A. K. (2015). Comparison of nutritional properties of stinging nettle (*Urtica dioica*) flour with wheat and barley flours. *Food Science & Nutrition*, *4*(1), 119–124. <https://doi.org/10.1002/fsn3.259>
4. Ahmad, R., Riaz, M., Khan, A., Aljamea, A., Algheryafi, M., Sewaket, D., & Alqathama, A. (2021). *Ganoderma lucidum* (Reishi) an edible mushroom: A comprehensive and critical review of its nutritional, cosmeceutical, mycochemical, pharmacological, clinical, and toxicological properties. *Phytotherapy Research*, *35*(11), 6030–6062. <https://doi.org/10.1002/ptr.7215>
5. Al-Wraikat, M., Abubaker, M. A., Li, L., Liu, Y., & Li, J. (2024). Impact of *Lycium barbarum* polysaccharides on wheat dough quality and hydration dynamics. *LWT*, *209*, 116753. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2024.116753>
6. Aleixandre, A., Benavent-Gil, Y., Velickova, E., & Rosell, C. M. (2021). Mastication of crisp bread: Role of bread texture and structure on texture perception. *Food Research International*, *147*, 110477. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110477>
7. Ali, S. A. (2024). Gelatinization and fermentation synergy: Functional and nutritional evaluation of breads fermented with *Saccharomyces cerevisiae* MK-157. *International Journal of Food Properties*, *27*(1), e2350243. <https://doi.org/10.1080/10942912.2024.2350243>
8. Alvarez-Ramirez, J., Rodriguez-Huezo, E., Meraz, M., Garcia-Diaz, S., Flores-Silva, P. C., & Mondragon-Reinoso, L. (2018). Spatial variation of *in vitro* starch and protein digestibility in white wheat bread. *Starch - Stärke*, *70*(8–9), 1800025. <https://doi.org/10.1002/star.201800025>
9. Ammar, A.-F., Zhang, H., Siddeeg, A., Chamba, M. V. M., Kimani, B. G., Hassanin, H., Obadi, M., & Alhejj, N. (2016). Effect of the addition of Alhydwan seed flour on the dough rheology, bread quality, texture profile, and microstructure of wheat bread. *Journal of Texture Studies*, *47*(6), 484–495. <https://doi.org/10.1111/jtxs.12187>

10. Antoniewska, A., Rutkowska, J., Pineda, M. M., & Adamska, A. (2018). Antioxidative, nutritional and sensory properties of muffins with buckwheat flakes and amaranth flour blend partially substituting for wheat flour. *LWT - Food Science and Technology*, 89, 217–223. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.10.057>
11. AOAC International. (1990). *Official method 985.29: Total dietary fiber in foods—Enzymatic-gravimetric method*. AOAC International.
12. AOAC International. (1995). *Official method 991.43: Total, soluble, and insoluble dietary fiber in foods*. AOAC International.
13. Araújo, D., Rodrigues, T., Alves, V. D., & Freitas, F. (2022). Chitin-glucan complex hydrogels: Optimization of gel formation and demonstration of drug loading and release ability. *Polymers*, 14(4), 785. <https://doi.org/10.3390/polym14040785>
14. Araújo, D., Rodrigues, T., Roma-Rodrigues, C., Alves, V. D., Fernandes, A. R., & Freitas, F. (2023). Chitin-glucan complex hydrogels: Physical-chemical characterization, stability, *in vitro* drug permeation, and biological assessment in primary cells. *Polymers*, 15(4), 791. <https://doi.org/10.3390/polym15040791>
15. Ayimbila, F., & Keawsompong, S. (2023). Nutritional quality and biological application of mushroom protein as a novel protein alternative. *Current Nutrition Reports*, 12(3), 281–298. <https://doi.org/10.1007/s13668-023-00468-x>
16. Babotă, M., Frumuzachi, O., Nicolescu, A., Ielciu, I., Păltinean, R., Crișan, G., & Mocan, A. (2022). Bioactive phenolic compounds from mushrooms. In D. Stojković & L. Barros (Eds.), *Edible fungi: Chemical composition, nutrition and health effects* (pp. 139–160). Royal Society of Chemistry. <https://doi.org/10.1039/9781839167522-00139>
17. Banerjee, S., Gupta, S., Raj, R., Gupta, M., Kumari, S., & Kaur, G. (2024). Unlocking the potential of lion's mane mushroom (*Hericium erinaceus*). *Journal of Applied and Natural Science*, 16(1), 39–50. <https://doi.org/10.31018/jans.v16i1.5224>
18. Bhardwaj, A., Pal, M., Srivastava, M., Tulsawani, R., Sugadev, R., & Misra, K. (2015). HPTLC based chemometrics of medicinal mushrooms. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 38(14), 1392–1406. <https://doi.org/10.1080/10826076.2015.1050501>
19. Biel, W., Jaroszewska, A., Stankowski, S., Sadkiewicz, J., & Bosko, P. (2016). Effects of genotype and weed control on the nutrient composition of winter spelt (*Triticum aestivum* ssp. *spelta* L.) and common wheat (*Triticum aestivum* ssp. *vulgare*).

- Acta Agriculturae Scandinavica, Section B — Soil and Plant Science*, 66(1), 27–35.
<https://doi.org/10.1080/09064710.2015.1062533>
20. Bishop, K. S., Kao, C. H. J., Xu, Y., Glucina, M. P., Paterson, R. R. M., & Ferguson, L. R. (2015). From 2000 years of *Ganoderma lucidum* to recent developments in nutraceuticals. *Phytochemistry*, 114, 56–65. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2014.12.015>
 21. Blagodatski, A., Yatsunskaya, M., Mikhailova, V., Tiasto, V., Kagansky, A., & Kantanaev, V. L. (2018). Medicinal mushrooms as an attractive new source of natural compounds for future cancer therapy. *Oncotarget*, 9(49), 29259–29274. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.25660>
 22. Bojňanská, T., Kolesárová, A., Čech, M., Tančinová, D., & Urminská, D. (2024). Extracts with nutritional potential and their influence on the rheological properties of dough and quality parameters of bread. *Foods*, 13(3), 382. <https://doi.org/10.3390/foods13030382>
 23. Bonomini, M. G., Prandi, B., & Caligiani, A. (2024). Black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) whole and fractionated larvae: *In vitro* protein digestibility and effect of lipid and chitin removal. *Food Research International*, 196, 115102. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.115102>
 24. Bosmali, I., Kotsiou, K., Matsakidou, A., Irakli, M., Madesis, P., & Biliaderis, C. G. (2025). Fortification of wheat bread with an alternative source of bean proteins using raw and roasted *Phaseolus coccineus* flours: Impact on physicochemical, nutritional and quality attributes. *Food Hydrocolloids*, 158, 110527. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2024.110527>
 25. Bredariol, P., de Carvalho, R. A., & Vanin, F. M. (2020). The effect of baking conditions on protein digestibility, mineral and oxalate content of wheat breads. *Food Chemistry*, 332, 127399. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127399>
 26. Budipramana, K., Ratih, R., & Budi Pramana, Y. (2024). Potential dyes from edible mushrooms for human health. *Jurnal Teknologi Laboratorium*, 12(2), 101–112. <https://doi.org/10.29238/teknolabjournal.v12i2.456>
 27. Cacak-Pietrzak, G., Dziki, D., Gawlik-Dziki, U., Parol-Nadłonek, N., Kalisz, S., Krajewska, A., & Stępniewska, S. (2023). Wheat bread enriched with black chokeberry (*Aronia melanocarpa* L.) pomace: Physicochemical properties and sensory evaluation. *Applied Sciences*, 13(12), 6936. <https://doi.org/10.3390/app13126936>

28. Cacak-Pietrzak, G., Dzik, D., Gawlik-Dzik, U., Sulek, A., Kalisz, S., & Sujka, K. (2021). Effect of the addition of dried dandelion roots (*Taraxacum officinale* F. H. Wigg.) on wheat dough and bread properties. *Molecules*, 26(24), 7564. <https://doi.org/10.3390/molecules26247564>
29. Cacak-Pietrzak, G., Grabarczyk, J., Szafrńska, A., Krajewska, A., & Dzik, D. (2024). Cereal coffee as a functional additive in wheat bread: Impact on dough and bread properties. *Foods*, 13(24), 3991. <https://doi.org/10.3390/foods13243991>
30. Campos-Perez, W., & Martinez-Lopez, E. (2021). Effects of short chain fatty acids on metabolic and inflammatory processes in human health. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1866(5), 158900. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2021.158900>
31. Capcanari, T., Covaliov, E., Negoită, C., Siminiuc, R., Chirsanova, A., Reșitca, V., & Țurcanu, D. (2023). Hemp seed cake flour as a source of proteins, minerals and polyphenols and its impact on the nutritional, sensorial and technological quality of bread. *Foods*, 12(23), 4327. <https://doi.org/10.3390/foods12234327>
32. Capuano, E. (2017). The behaviour of dietary fibre in the gastrointestinal tract determines its physiological effect. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(16), 3543–3564. <https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1180501>
33. Capuano, E., & Janssen, A. E. M. (2021). Food matrix and macronutrient digestion. *Annual Review of Food Science and Technology*, 12, 193–212. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-032519-051646>
34. Case, S., Hoang, H. D., Chu, J., Pillai, A. B., Biswas, D., & Clark, S. (2024). Consumption of *Agaricus bisporus* beta-glucan enhances trained immunity and modulates host metabolic state. *Frontiers in Nutrition*, 11, 1346706. <https://doi.org/10.3389/fnut.2024.1346706>
35. Cha, S., Bell, L., Shukitt-Hale, B., & Williams, C. M. (2024). A review of the effects of mushrooms on mood and neurocognitive health across the lifespan. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 158, 105548. <https://doi.org/10.1016/j.neubio-rev.2024.105548>
36. Chang, K. A., Kow, H. N., Tan, T.-E., Tan, K. L., Chew, L. Y., Neo, Y. P., & Sabaratnam, V. (2021). Effect of domestic cooking methods on total phenolic content, antioxidant activity and sensory characteristics of *Hericium erinaceus*. *International Journal of Food Science and Technology*, 56(11), 5639–5646. <https://doi.org/10.1111/ijfs.15158>

37. Chaturvedi, V. K., Agarwal, S., Gupta, K. K., Ramteke, P. W., & Singh, M. P. (2018). Medicinal mushroom: Boon for therapeutic applications. *3 Biotech*, 8(8), 334. <https://doi.org/10.1007/s13205-018-1358-0>
38. Chawananasest, K., Inyod, T., Kengkwasigh, P., Laovitthayangoon, S., Kammultri, J., Ajavakom, V., Funk, R., Prangchan, K., Termarom, T., & Thubthimthed, S. (2022). Amino acids analysis of four mushroom species, antioxidant activity, and immunostimulant evaluations of their polysaccharides extracts. *Current Journal of Applied Science and Technology*, 41(15), 1–8. <https://doi.org/10.9734/cjast/2022/v41i1531718>
39. Chen, G., Wang, J., & Li, Y. (2022). Extracts of sorghum bran, grape seed, and green tea: Chromatographic comparison of phenolic profiles and mitigation effect on acrylamide in antioxidant-fortified bread. *Food Chemistry Advances*, 1, 100082. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2022.100082>
40. Chen, M., Luo, J., Jiang, W., Chen, L., Miao, L., & Han, C. (2023). Cordycepin: A review of strategies to improve the bioavailability and efficacy. *Phytotherapy Research*, 37(9), 3839–3858. <https://doi.org/10.1002/ptr.7921>
41. Chen, P. X., Wang, S., Nie, S., & Marcone, M. (2013). Properties of *Cordyceps sinensis*: A review. *Journal of Functional Foods*, 5(2), 550–569. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2013.01.034>
42. Chioru, A., & Chirsanova, A. (2023). β -glucans: Characterization, extraction methods, and valorization. *Food and Nutrition Sciences*, 14(10), 963–983. <https://doi.org/10.4236/fns.2023.1410061>
43. Chong, P. S., Fung, M.-L., Wong, K. H., & Lim, L. W. (2020). Therapeutic potential of *Hericium erinaceus* for depressive disorder. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(1), 163. <https://doi.org/10.3390/ijms21010163>
44. Colunga, A. G., Cruz-Hernández, M., Losoya, C., Nobre Gonçalves, C., Treviño, A., Rodríguez-Jasso, R., Contreras-Esquivel, J., & Belmares, R. (2020). Edible mushrooms as a novel protein source for functional foods. *Food & Function*, 11(9), 7400–7414. <https://doi.org/10.1039/D0FO01746A>
45. Contato, A. G., & Conte-Junior, C. A. (2025). Lion's mane mushroom (*Hericium erinaceus*): A neuroprotective fungus with antioxidant, anti-inflammatory, and antimicrobial potential—A narrative review. *Nutrients*, 17(8), 1307. <https://doi.org/10.3390/nu17081307>

46. Cör, D., Knez, Ž., & Knez Hrnčič, M. (2018). Antitumour, antimicrobial, antioxidant and antiacetylcholinesterase effect of *Ganoderma lucidum* terpenoids and polysaccharides: A review. *Molecules*, 23(3), 649. <https://doi.org/10.3390/molecules23030649>
47. Corfield, R., Gomez Mattson, M., Pérez, O., Salvaroti, M., Schebor, C. (2025). Current state of research on health-promoting functional properties in berry-based foods. *Current Nutrition Reports*, 14(1), 22. <https://doi.org/10.1007/s13668-025-00615-6>
48. Corrado, M., Zafeiriou, P., Ahn-Jarvis, J. H., Savva, G. M., Edwards, C. H., & Hazard, B. A. (2023). Impact of storage on starch digestibility and texture of a high-amylose wheat bread. *Food Hydrocolloids*, 135, 108139. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.108139>
49. Das, A. K., Nanda, P. K., Dandapat, P., Bandyopadhyay, S., Gullón, P., Sivaraman, G. K., McClements, D. J., Gullón, B., & Lorenzo, J. M. (2021). Edible mushrooms as functional ingredients for development of healthier and more sustainable muscle foods: A flexitarian approach. *Molecules*, 26(9), 2463. <https://doi.org/10.3390/molecules26092463>
50. Das, R. S., Tiwari, B. K., & Garcia-Vaquero, M. (2023). The fundamentals of bread making: The science of bread. In M. Garcia-Vaquero, K. Pastor, G. E. Orhun, A. McElhatton, & J. M. F. Rocha (Eds.), *Traditional European breads* (pp. 1–23). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-031-23352-4_1
51. De Marco Castro, E., Calder, P. C., & Roche, H. M. (2020). β -1,3/1,6-glucans and immunity: State of the art and future directions. *Molecular Nutrition & Food Research*, 65(1), 1901071. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201901071>
52. Dimopoulou, M., Kolonas, A., Mourtakos, S., Androutsos, O., & Gortzi, O. (2022). Nutritional composition and biological properties of sixteen edible mushroom species. *Applied Sciences*, 12(16), 8074. <https://doi.org/10.3390/app12168074>
53. Diowski, A., Kopeć, P., & Koziróg, A. (2024). The inactivation of microscopic fungi in bakery products using hurdle technology—A case study. *Applied Sciences*, 14(22), 10648. <https://doi.org/10.3390/app142210648>
54. Dong, Y., & Karboune, S. (2021). A review of bread qualities and current strategies for bread bioprotection: Flavor, sensory, rheological, and textural attributes. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(2), 1937–1981. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12717>

55. El Sheikha, A. F. (2022). Nutritional Profile and Health Benefits of *Ganoderma lucidum* “Lingzhi, Reishi, or Mannentake” as Functional Foods: Current Scenario and Future Perspectives. *Foods*, 11(7), 1030. <https://doi.org/10.3390/foods11071030>
56. Eliaš, D., Tóth Hervay, N., & Gbelská, Y. (2024). Ergosterol biosynthesis and regulation impact the antifungal resistance and virulence of *Candida* spp. *Stresses*, 4(4), 641–662. <https://doi.org/10.3390/stresses4040041>
57. Elkhateeb, W. A., Daba, G. M., Thomas, P. W., & Wen, T.-C. (2019). Medicinal mushrooms as a new source of natural therapeutic bioactive compounds. *Egyptian Pharmaceutical Journal*, 18(2), 88–101. https://doi.org/10.4103/epj.epj_17_19
58. Esteller, M., Amaral, R., & Lannes, S. (2004). Effect of sugar and fat replacers on the texture of baked goods. *Journal of Texture Studies*, 35(4), 383–393. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4603.2004.tb00602.x>
59. Falsafi, S. R., Aaliya, B., Demirkesen, I., Kemerli-Kalbaran, T., Dehnad, D., Şahin, S., Yildirim-Yalcin, M., & Alarcon-Royo, A. D. (2025). Recent trends in fortifying bread with nutrients: Comprehensive insights into chemical, physical, functional, and nutritional attributes. *Future Foods*, 11, 100674. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2025.100674>
60. Feeney, M. J., Dwyer, J., Hasler-Lewis, C. M., Milner, J. A., Noakes, M., Rowe, S., Wach, M., Beelman, R. B., Caldwell, J., Cantorna, M. T., Castlebury, L. A., Chang, S. T., Cheskin, L. J., Clemens, R., Drescher, G., Fulgoni, V. L., III, Haytowitz, D. B., Hubbard, V. S., Law, D., ... Wu, D. (2014). Mushrooms and Health Summit proceedings. *The Journal of Nutrition*, 144(7 Suppl.), 1128S–1136S. <https://doi.org/10.3945/jn.114.190728>
61. Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO], & World Health Organization [WHO]. (2001). *Evaluation of certain food additives and contaminants: Fifty-seventh report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives* (WHO Technical Report Series, No. 909). World Health Organization.
62. Franceschinis, L., Diez, S., Rocha Parra, A. F., & Salvatori, D. M. (2025). Jerusalem artichoke ingredient for the nutritional profile improvement of sourdough bread: Techno-functional properties and consumer perception. *European Food Research and Technology*, 251(3), 415–427. <https://doi.org/10.1007/s00217-024-04641-6>
63. Friedman, M. (2015). Chemistry, nutrition, and health-promoting properties of *Hericium erinaceus* (lion’s mane) mushroom fruiting bodies and mycelia and their

- bioactive compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(32), 7108–7123. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b02914>
64. Gaglio, R., Guarcello, R., Venturella, G., Palazzolo, E., Francesca, N., Moschetti, G., Settanni, L., Saporita, P., & Gargano, M. L. (2019). Microbiological, chemical and sensory aspects of bread supplemented with different percentages of the culinary mushroom *Pleurotus eryngii* in powder form. *International Journal of Food Science & Technology*, 54(4), 1197–1205. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13997>
 65. Genççelep, H., Uzun, Y., Tunçtürk, Y., & Demirel, K. (2009). Determination of mineral contents of wild-grown edible mushrooms. *Food Chemistry*, 113(4), 1033–1036. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.08.058>
 66. Gentile, L. (2020). Protein–polysaccharide interactions and aggregates in food formulations. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 48, 60–69. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2020.03.002>
 67. Gharib, M., Elhassaneen, Y. A. E. E., & Radwan, H. (2022). Nutrients and nutraceuticals content and *in vitro* biological activities of reishi mushroom (*Ganoderma lucidum*) fruiting bodies. *Alexandria Science Exchange Journal*, 43(2), 301–316. <https://doi.org/10.21608/asejaiqjsae.2022.245271>
 68. Gill, S. K., Rossi, M., Bajka, B., & Whelan, K. (2021). Dietary fibre in gastrointestinal health and disease. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 18, 101–116. <https://doi.org/10.1038/s41575-020-00375-4>
 69. Główny Urząd Statystyczny. (2023). *Budżety gospodarstw domowych w 2022 roku*. Warszawa: GUS.
 70. Goel, S., Singh, M., Grewal, S., Razzaq, A., & Wani, S. H. (2021). Wheat proteins: A valuable resource to improve nutritional value of bread. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5, 769681. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.769681>
 71. Gong, W., Wang, Y., Xie, C., Zhou, Y., Zhu, Z., & Peng, Y. (2020). Whole genome sequence of an edible and medicinal mushroom *Hericium erinaceus* (Basidiomycota, Fungi). *Genomics*, 112(3), 2393–2399. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2020.01.011>
 72. Guo, D., Liu, C., Zhu, H., Cheng, Y., Guo, Y., Yao, W., Qian, H., & Jiang, J. (2025). Large edible mushrooms and mycelial proteins: A sustainable, nutritious protein source with health benefits and processing innovations. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 99, 103870. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2024.103870>

73. Guowei, Z., Lili, W., Yufeng, L., Hailei, W. (2019). Impact of the fermentation broth of *Ganoderma lucidum* on the quality of Chinese steamed bread. *AMB Express*, 9(1), 133. <https://doi.org/10.1186/s13568-019-0859-5>
74. Gupta, O. P., Singh, A., Pandey, V., Sendhil, R., Khan, M. K., Pandey, A., Kumar, S., Hamurcu, M., Ram, S., & Singh, G. (2024). Critical assessment of wheat biofortification for iron and zinc: A comprehensive review of conceptualization, trends, approaches, bioavailability, health impact, and policy framework. *Frontiers in Nutrition*, 10, 1310020. <https://doi.org/10.3389/fnut.2023.1310020>
75. Han, F., Song, J., Qi, M., Li, Y., Xu, M., Zhang, X., Yan, C., Chen, S., & Li, H. (2024). Incorporating whole soybean pulp into wheat flour for nutrient-enriched steamed bread: Exploring the impact on physical and nutritional characteristics. *Journal of Food Science*, 89(9), 5449–5460. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.17316>
76. Hanuka-Katz, I., Okun, Z., Parvari, G., & Shpigelman, A. (2022). Structure-dependent stability and antioxidant capacity of strawberry polyphenols in the presence of canola protein. *Food Chemistry*, 385, 132630. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132630>
77. Hapuarachchi, K. K., Elkhateeb, W. A., Karunarathna, S. C., Hyde, K. D., Daba, G. M., & Wen, T. C. (2018). Current status of global *Ganoderma* cultivation, products, industry and market. *Mycosphere*, 9(5), 1025–1052. <https://doi.org/10.5943/mycosphere/9/5/6>
78. Haro, A., Trescastro, A., Lara, L., Fernández-Fígares, I., Nieto, R., & Seiquer, I. (2020). Mineral elements content of wild growing edible mushrooms from the south-east of Spain. *Journal of Food Composition and Analysis*, 91, 103504. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2020.103504>
79. He, L., Li, C., Chen, Z., Liu, Y., Zhang, X., Wang, J., ... Zhao, J. (2024). Combined metabolome and transcriptome analysis reveal the mechanism of water stress in *Ophiocordyceps sinensis*. *BMC Genomics*, 25, 1014. <https://doi.org/10.1186/s12864-024-10785-2>
80. He, Y., Wang, B., Wen, L., Wang, F., Yu, H., Chen, D., Su, X., & Zhang, C. (2022). Effects of dietary fiber on human health. *Food Science and Human Wellness*, 11(1), 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2021.07.001>
81. Hitayezu, R., & Xiong, Y. L. (2021). Effect of particle size of powdered mushroom (*Hypsizygus marmoreus*) on hydration properties, physicochemical interactions, and

- microstructure of wheat dough and bread. *Korean Journal of Food Preservation*, 28(4), 540–548. <https://doi.org/10.11002/kjfp.2021.28.4.540>
82. Hsu, T. H., Shiao, L. H., Hsieh, C., & Chang, D. M. (2002). A comparison of the chemical composition and bioactive ingredients of the Chinese medicinal mushroom DongChongXiaCao, its counterfeit and mimic, and fermented mycelium of *Cordyceps sinensis*. *Food Chemistry*, 78(4), 463–469. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00158-9](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00158-9)
 83. Inla, K., Bunchan, S., Krittacom, B., & Luampon, R. (2023). Drying behavior, color change and rehydration of lingzhi mushroom (*Ganoderma lucidum*) under convection-assisted microwave drying. *Case Studies in Thermal Engineering*, 49, 103348. <https://doi.org/10.1016/j.csite.2023.103348>
 84. Institute of Medicine. (2006). *Dietary reference intakes: The essential guide to nutrient requirements*. The National Academies Press. <https://doi.org/10.17226/11537>
 85. ISO 8586:2012; Sensory Analysis—General Guidelines for the Selection, Training and Monitoring of Selected Assessors and Expert Sensory Assessors. International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland, 2012.
 86. ISO 8589:2007; Sensory Analysis—General Guidance for the Design of Test Rooms. International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland, 2007.
 87. Jędrejko, K., Kała, K., Sułkowska-Ziaja, K., & Muszyńska, B. (2024). The significance of cordyceps in medicine and nutrition. In K. Sridhar, S. K. Deshmukh, S.-Y. Fung, & S. Mahadevakumar (Eds.), *Advances in cordyceps research*. CRC Press / Balkema. <https://ruj.uj.edu.pl/handle/item/447346>.
 88. Jia, W., Guo, A., Zhang, R., & Shi, L. (2023). Mechanism of natural antioxidants regulating advanced glycosylation end products of Maillard reaction. *Food Chemistry*, 404(Part A), 134541. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134541>
 89. Jødal, A.-S. S., & Larsen, K. L. (2021). Investigation of the relationships between the alveograph parameters. *Scientific Reports*, 11, 5349. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-84959-3>
 90. Jomova, K., Makova, M., Alomar, S. Y., Alwasel, S. H., Nepovimova, E., Kuca, K., Rhodes, C. J., & Valko, M. (2022). Essential metals in health and disease. *Chemico-Biological Interactions*, 367, 110173. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2022.110173>
 91. Joshi, R. K. (2023). Bioactive usual and unusual triterpenoids derived from natural sources used in traditional medicine. *Chemistry & Biodiversity*, 20(2), e202200853. <https://doi.org/10.1002/cbdv.202200853>

92. Karmańska, A., & Karwowski, B. T. (2022). Bioactive components of *Cordyceps sinensis*. *Farmacja Polska*, 78(7), 361–371. <https://doi.org/10.32383/farm-pol/153911> [in Polish, English abstract].
93. Karunarathna, S. C., Lu, W., Patabedige, N., Zhao, C. L., & Hapuarachchi, K. K. (2024). Unlocking the therapeutic potential of edible mushrooms: *Ganoderma* and their secondary metabolites as novel antiviral agents for combating COVID-19. *New Zealand Journal of Botany*, 1–59. <https://doi.org/10.1080/0028825X.2024.2384453>
94. Karunarathna, S., Wickramasinghe, I., Truong, T., Brennan, C., Navaratne, S. B., & Chandrapala, J. (2024). Development of low-calorie food products with resistant starch-rich sources: A review. *Food Reviews International*, 40(2), 814–831. <https://doi.org/10.1080/87559129.2023.2204137>
95. Keerthana, C. S., Kumari, R., Beura, M., Sharan, S., Sharma, S. K., Ganjoo, A., & Krishnan, V. (2025). Unveiling the glucan profile: A comparative study of lion's mane and shiitake mushrooms. *Natural Product Research*, 1–4. <https://doi.org/10.1080/14786419.2025.2509142>
96. Ketnawa, S., Liceaga, A. M., & Rungraeng, N. (2021). *In vitro* protein digestibility and biochemical characteristics of bioactive peptides from different thermal processing of edible legumes. *Scientific Reports*, 11(1), 14168. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-93451-x>
97. Khalilova, G. A., Turaev, A. S., Mulkhitdinov, B. I., Khaitmetova, S. B., & Normakhamatov, N. S. (2022). Cytotoxic effects and antitumor activity of polysaccharides isolated from the fruiting body of *Ganoderma lucidum* basidial mushroom. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 56, 1045–1048. <https://doi.org/10.1007/s11094-022-02750-8>
98. Kim, S. (2020). Antioxidant compounds for the inhibition of enzymatic browning by polyphenol oxidases in the fruiting body extract of the edible mushroom *Hericium erinaceus*. *Foods*, 9(7), 951. <https://doi.org/10.3390/foods9070951>
99. Kladar, N. V., Gavarić, N. S., & Božin, B. N. (2016). *Ganoderma*: Insights into anticancer effects. *European Journal of Cancer Prevention*, 25(5), 462–471. <https://doi.org/10.1097/CEJ.0000000000000204>
100. Kobus, Z., Krzywicka, M., Blicharz-Kania, A., Bosacka, A., Pecyna, A., Ivanišová, E., Kozłowicz, K., & Kovačiková, E. (2024). Impact of incorporating dried chaga mushroom (*Inonotus obliquus*) into gluten-free bread on its antioxidant and

- sensory characteristics. *Molecules*, 29(16), 3801. <https://doi.org/10.3390/molecules29163801>
101. Komi, D. E. A., Sharma, L., & Dela Cruz, C. S. (2018). Chitin and its effects on inflammatory and immune responses. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*, 54(2), 213–223. <https://doi.org/10.1007/s12016-017-8600-0>
 102. Koszła, O., Kukula-Koch, W., Jóźwiak, K., Jastrząb, R., Marć, M. A., Mytych, J., Tabęcka-Łonczyńska, A., Skóra, B., Szychowski, K. A., & Sołek, P. (2025). Biotransformation of *Ganoderma lucidum* and *Hericium erinaceus* for *ex vivo* gut-brain axis modulation and mood-related outcomes in humans: CREB/BDNF signaling and microbiota-driven synergies. *Journal of Ethnopharmacology*, 342, 119393. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2025.119393>
 103. Kou, F., Ge, Y., Wang, W., Mei, Y., Cao, L., Wei, X., Xiao, H., & Wu, X. (2023). A review of *Ganoderma lucidum* polysaccharides: Health benefit, structure–activity relationship, modification, and nanoparticle encapsulation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 243, 125199. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.125199>
 104. Kozłowska, M., Laudy, A. E., Przybył, J., Ziarno, M., & Majewska, E. (2015). Chemical composition and antibacterial activity of some medicinal plants from Lamiaceae family. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 72(4), 757–767.
 105. Krawęcka, A., Sobota, A., Ivanišová, E., Harangozo, L., Valková, V., Zielińska, E., Blicharz-Kania, A., Zdybel, B., & Mildner-Szkudlarz, S. (2022). Effect of black cumin cake addition on the chemical composition, glycemic index, antioxidant activity, and cooking quality of durum wheat pasta. *Molecules*, 27(19), 6342. <https://doi.org/10.3390/molecules27196342>
 106. Krawęcka, A., Sobota, A., Pankiewicz, U., Zielińska, E., & Zarzycki, P. (2021). Stinging nettle (*Urtica dioica* L.) as a functional component in durum wheat pasta production: Impact on chemical composition, *in vitro* glycemic index, and quality properties. *Molecules*, 26(22), 6909. <https://doi.org/10.3390/molecules26226909>
 107. Kumar, K., Mehra, R., Guiné, R. P. F., Lima, M. J., Kumar, N., Kaushik, R., Ahmed, N., Yadav, A. N., & Kumar, H. (2021). Edible mushrooms: A comprehensive review on bioactive compounds with health benefits and processing aspects. *Foods*, 10(12), 2996. <https://doi.org/10.3390/foods10122996>

108. Kyanko, M. V., Canel, R. S., Ludemann, V., Pose, G., & Wagne, J. R. (2013). β -glucan content and hydration properties of filamentous fungi. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 49(1), 41–45. <https://doi.org/10.1134/S0003683813010080>
109. Lante, A., & Canazza, E. (2023). Insight on Extraction and Preservation of Biological Activity of Cereal β -D-Glucans. *Applied Sciences*, 13(19), 11080. <https://doi.org/10.3390/app131911080>
110. Lavoignat, M., Denis, S., Faye, A., Halupka, L., Perrochon, S., Rhazi, L., Girardeau, P., Déjean, S., Branlard, G., Bancel, E., & Ravel, C. (2022). Differences in bread protein digestibility traced to wheat cultivar traits. *Journal of Cereal Science*, 107, 103533. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2022.103533>
111. Lee, S. K., Ryu, S. H., Turk, A., Yeon, S. W., Jo, Y. H., Han, Y. K., Hwang, B. Y., Lee, K. Y., & Lee, M. K. (2020). Characterization of α -glucosidase inhibitory constituents of the fruiting body of lion's mane mushroom (*Hericium erinaceus*). *Journal of Ethnopharmacology*, 262, 113197. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113197>
112. Li, N., & Etzel, M. R. (2019). Hydrolysis of whey protein-dextran glyicates made using the Maillard reaction. *Foods*, 8(12), 686. <https://doi.org/10.3390/foods8120686>
113. Liu, G., Zhang, J., Kan, Q., Song, M., Hou, T., An, S., Lin, H., Chen, H., Hu, L., Xiao, J., Chen, Y., & Cao, Y. (2022). Extraction, structural characterization, and immunomodulatory activity of a high molecular weight polysaccharide from *Ganoderma lucidum*. *Frontiers in Nutrition*, 9, 846080. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.846080>
114. Liu, H., Wang, Q., Zeng, L., Liu, Y., Zhang, Y., Sun, Z., Guo, Q., & Cui, S. W. (2025). Structural dynamics, gut microbiota modulation, and immunological impacts of shiitake mushroom β -glucan during *in vitro* intestinal fermentation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 73(19), 12049–12060. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5c01611>
115. Liu, Y., Wang, J., Wang, W., Zhang, H., Zhang, X., & Han, C. (2015). The chemical constituents and pharmacological actions of *Cordyceps sinensis*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015, 575063. <https://doi.org/10.1155/2015/575063>
116. Liu, Y., Zhang, H., Brennan, M., Brennan, C., Cheng, G.-G., & Liu, Y. (2022a). Physical, chemical, sensorial properties and *in vitro* digestibility of wheat

- bread enriched with Yunnan commercial and wild edible mushrooms. *LWT – Food Science and Technology*, 169, 113923. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113923>
117. Liu, Y., Zhang, H., Yu, H., Li, J., Brennan, M. A., Brennan, C. S., & Qin, Y. (2022b). Wheat bread fortified with *Dictyophora indusiata* powder: Evaluation of quality attributes, antioxidant characteristics, and bread staling. *International Journal of Food Science & Technology*, 57(9), 5982–5992. <https://doi.org/10.1111/ijfs.15940>
 118. Liu, Z., Chen, J., Zheng, B., Lu, Q., & Chen, L. (2020). Effects of matcha and its active components on the structure and rheological properties of gluten. *LWT – Food Science and Technology*, 124, 109197. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109197>
 119. Losoya, C., Simoes, L., Cruz-Hernández, M., Rodriguez-Jasso, R., Treviño, A., Teixeira, J., Nobre Gonçalves, C., & Belmares, R. (2021). Development and characterization of *Pleurotus ostreatus* mushroom-wheat bread. *Starch - Stärke*, 74(9–10), 2100126. <https://doi.org/10.1002/star.202100126>
 120. Lu, J., He, R., Sun, P., Zhang, F., Linhardt, R. J., & Zhang, A. (2020). Molecular mechanisms of bioactive polysaccharides from *Ganoderma lucidum* (Lingzhi): A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 150, 765–774. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.02.035>
 121. Lu, X., Brennan, M. A., Serventi, L., & Brennan, C. S. (2018). Incorporation of mushroom powder into bread dough: Effects on dough rheology and bread properties. *Cereal Chemistry*, 95(3), 418–427. <https://doi.org/10.1002/cche.10043>
 122. Lu, X., Brennan, M. A., Serventi, L., Mason, S., & Brennan, C. S. (2016). How the inclusion of mushroom powder can affect the physicochemical characteristics of pasta. *International Journal of Food Science & Technology*, 51(11), 2433–2439. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13246>
 123. Łysakowska, P., Sobota, A., & Wirkijowska, A. (2023). Medicinal mushrooms: Their bioactive components, nutritional value and application in functional food production – A review. *Molecules*, 28(14), 5393. <https://doi.org/10.3390/molecules28145393>
 124. Łysakowska, P., Sobota, A., Wirkijowska, A., & Ivanišová, E. (2025). Lion's mane (*Hericium erinaceus* (Bull.) Pers.) as a functional component for wheat bread production: Influence on physicochemical, antioxidant, and sensory properties. *International Agrophysics*, 39(1), 13–28. <https://doi.org/10.31545/intagr/194613>

125. Łysakowska, P., Sobota, A., Wirkijowska, A., Zarzycki, P., & Blicharz-Kania, A. (2024). The effect of *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst. supplementation on the technological, chemical and quality parameters of wheat bread. *Foods*, 13(19), 3101. <https://doi.org/10.3390/foods13193101>
126. Ma, F., & Baik, B. K. (2021). Influences of grain and protein characteristics on *in vitro* protein digestibility of modern and ancient wheat species. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(11), 4578–4584. <https://doi.org/10.1002/jsfa.11100>
127. Majeed, M., Khan, M. U., Owaid, M. N., Khan, M. R., Shariati, M. A., Igor, P., & Ntsefong, G. N. (2017). Development of oyster mushroom powder and its effects on physicochemical and rheological properties of bakery products. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 6(5), 1221–1227. <https://doi.org/10.15414/JMBFS.2017.6.5.1221-1227>
128. Mallikarjuna, S. E., Ranjini, A., Haware, D. J., Vijayalakshmi, M. R., Shashirekha, M. N., & Rajarathnam, S. (2013). Mineral composition of four edible mushrooms. *Journal of Chemistry*, 2013, 805284. <https://doi.org/10.1155/2013/805284>
129. Man, Y., Xu, T., Adhikari, B., Zhou, C., Wang, Y., & Wang, B. (2021). Iron supplementation and iron-fortified foods: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(16), 4504–4525. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1876623>
130. Mandliya, S., Vishwakarma, S., & Mishra, H. (2022). Modeling of vacuum drying of pressed mycelium (*Pleurotus eryngii*) and its microstructure and physicochemical properties. *Journal of Food Process Engineering*, 45(4), e14124. <https://doi.org/10.1111/jfpe.14124>
131. Mansouri, M. (2024). *Improving extraction procedure and a comparative analysis of bioactive molecules from Ganoderma lucidum, Hericium erinaceus and Cordyceps mushrooms* (Doctoral dissertation, University of Windsor). *ProQuest Dissertations & Theses Global*. (31295864).
132. Marinopoulou, A., Sevastopoulou, N., Farmouzi, K., Konstantinidou, E., Alexandri, A., & Papageorgiou, M. (2024). Impact of hemp (*Cannabis sativa* L.) protein addition on the rheological properties of wheat flour dough and bread quality. *Applied Sciences*, 14(24), 11633. <https://doi.org/10.3390/app142411633>

133. Mariotti, F., & Gardner, C. D. (2019). Dietary protein and amino acids in vegetarian diets: A review. *Nutrients*, 11(11), 2661. <https://doi.org/10.3390/nu11112661>
134. Martínez-Martín, I., Hernández-Jiménez, M., & Revilla, I., & Vivar-Quintana, A. M. (2023). Prediction of mineral composition in wheat flours fortified with lentil flour using NIR technology. *Sensors*, 23(3), 1491. <https://doi.org/10.3390/s23031491>
135. Martins, A. C., Krum, B. N., Queirós, L., Tinkov, A. A., Skalny, A. V., Bowman, A. B., & Aschner, M. (2020). Manganese in the diet: Bioaccessibility, bioavailability, and emerging evidence of toxicity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(46), 12893–12903. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c00641>
136. Marzec, A., Stępień, A., Goclik, A., Kowalska, H., Kowalska, J., & Salamon, A. (2025). Analysis of the correlation of microstructure, instrumental texture, and consumer acceptance of shortbread biscuits with selected sweeteners and fibre. *Applied Sciences*, 15(3), 1137. <https://doi.org/10.3390/app15031137>
137. Mathew, J. T., Inobeme, A., Adetunji, C. O., Otori, A. A., Shaba, E. Y., Monday, M., Azeh, Y., Haruna, I., Mamman, A., Maurice, J., Oyewole, O. A., Eniola, K. I. T., & Yerima, M. B. (2025). Nutraceutical, mineral, proximate constituents from beneficial mushrooms. In C. O. Adetunji, C. Egbuna, O. A. Ijabadeniyi, & S. C. Karunarathna (Eds.), *Mushroom biotechnology for improved agriculture and human health* (Chap. 16). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781394212699.ch16>
138. Mathieu, V., Monnet, A.-F., Jourden, S., Panouillé, M., Chappard, C., & Souchon, I. (2016). Kinetics of bread crumb hydration as related to porous microstructure. *Food & Function*, 7(8), 3577–3589. <https://doi.org/10.1039/C6FO00522E>
139. Mayirao, H.-S., Sharma, K., Jangir, P., Kaur, S., & Kapoor, R. (2025). Mushroom-derived nutraceuticals in the 21st century: An appraisal and future perspectives. *Journal of Future Foods*, 5(4), 342–360. <https://doi.org/10.1016/j.jfutfo.2024.07.013>
140. Mironeasa, S., Codina, G., & Mironeasa, C. (2018). Effect of composite flour made from tomato seed and wheat of 650 type of a strong quality for bread making on bread quality and alveograph rheological properties. *ETP International Journal of Food Engineering*, 4(1), 22–26. <https://doi.org/10.18178/ijfe.4.1.22-26>

141. Mirończuk-Chodakowska, I., Kujawowicz, K., & Witkowska, A. M. (2021). Beta-Glucans from Fungi: Biological and Health-Promoting Potential in the COVID-19 Pandemic Era. *Nutrients*, 13(11), 3960. <https://doi.org/10.3390/nu13113960>
142. Mollakhalili-Meybodi, N., Sheidaei, Z., Khorshidian, N., Nematollahi, A., & Khanniri, E. (2023). Sensory attributes of wheat bread: A review of influential factors. *Food Measurement and Characterization*, 17, 2172–2181. <https://doi.org/10.1007/s11694-022-01765-9>
143. Montowska, M., Kowalczewski, P. Ł., Rybicka, I., & Fornal, E. (2019). Nutritional value, protein, and peptide composition of edible cricket powders. *Food Chemistry*, 289, 130–138. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.03.062>
144. Moretton, M., Alongi, M., Renoldi, N., & Anese, M. (2023). Steering protein and carbohydrate digestibility by food design to address elderly needs: The case of pea protein enriched bread. *LWT – Food Science and Technology*, 190, 115530. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.115530>
145. Mori, K., Inatomi, S., Ouchi, K., Azumi, Y., & Tuchida, T. (2009). Improving effects of the mushroom *Hericium erinaceus* on mild cognitive impairment: A double-blind placebo-controlled clinical trial. *Phytotherapy Research*, 23(3), 367–372. <https://doi.org/10.1002/ptr.2634>
146. Nagano, M., Shimizu, K., Kondo, R., & Hayashi, C. (2010). Reduction of depression and anxiety by *Hericium erinaceus* intake in a clinical trial. *Biomedical Research*, 31(4), 231–237. <https://doi.org/10.2220/biomedres.31.231>
147. Najjaa H., Abdelkbir R., Ben Arfa A., Doria E., Tlili H., Zouari N., Neffati M. (2021). Improved sensory quality and antioxidant capacity of wheat bread supplemented with the desert truffle *Terfezia boudieri* flour. *Analytical Letters*, 54(5), 867–883. <https://doi.org/10.1080/00032719.2020.1786106>
148. Naseer, B., & Mousa, E. F. (2024). Production of nano beta-glucans from baking yeast *Saccharomyces cerevisiae* and its comparison with extracted beta-glucans. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1325, 012049. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1325/1/012049>
149. Navarro-Simarro, P., Gómez-Gómez, L., Ahrazem, O., & Rubio-Moraga, Á. (2024). Food and human health applications of edible mushroom by-products. *New Biotechnology*, 81, 43–56. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2024.03.003>
150. Naveed, H., Sultan, W., Awan, K. A., Imtiaz, A., Yaqoob, S., Al-Asmari, F., Faraz, A., Qian, J. Y., Sharma, A., Mugabi, R., Alotaibi, S. S., & Nayik, G. A. (2024).

- Glycemic impact of cereal and legume-based bakery products: Implications for chronic disease management. *Food Chemistry: X*, 24, 101959. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2024.101959>
151. Ni, C., Jia, Q., Ding, G., Wu, X., & Yang, M. (2022). Low-glycemic index diets as an intervention in metabolic diseases: A systematic review and meta-analysis. *Nutrients*, 14(2), 307. <https://doi.org/10.3390/nu14020307>
 152. Nie, Y., Jin, Y., Deng, C., Xu, L., Yu, M., Yang, W., & Zhao, R. (2019). Rheological and microstructural properties of wheat dough supplemented with *Flammulina velutipes* (mushroom) powder and soluble polysaccharides. *CyTA – Journal of Food*, 17(1), 455–462. <https://doi.org/10.1080/19476337.2019.1596986>
 153. Oghbaei, M., & Prakash, J. (2019). Bioaccessible phenolics and flavonoids from wheat flour products subjected to different processing variables. *Cereal Chemistry*, 96, 1068–1078. <https://doi.org/10.1002/cche.10214>
 154. Parepalli, Y., Chavali, M., Sami, R., Khojah, E., Elhakem, A., El Askary, A., Singh, M., Sinha, S., & El-Chaghaby, G. (2021). Evaluation of some active nutrients, biological compounds and health benefits of reishi mushroom (*Ganoderma lucidum*). *International Journal of Pharmacology*, 17(4), 243–250. <https://doi.org/10.3923/ijp.2021.243.250>
 155. Park, C.-H., Oh, Y.-L., Shin, J.-H., & Park, Y.-J. (2024). The anti-melanogenic effects of ganodermanontriol from the medicinal mushroom *Ganoderma lucidum* through the regulation of the CREB and MAPK signaling pathways in B16F10 cells. *Molecules*, 29(16), 3976. <https://doi.org/10.3390/molecules29163976>
 156. Pasqualoni, I., Tolve, R., Simonato, B., & Bianchi, F. (2024). The Impact of Selected Ingredients on the Predicted Glycemic Index and Technological Properties of Bread. *Foods*, 13(16), 2488. <https://doi.org/10.3390/foods13162488>
 157. Pathare, P. B., Opara, U. L., & Al-Said, F. A. J. (2013). Measurement and analysis of colour in fresh and processed foods: A review. *Food and Bioprocess Technology*, 6(1), 36–60. <https://doi.org/10.1007/s11947-012-0867-9>
 158. Polski Komitet Normalizacyjny. (2003). Mąka pszenna – Wymagania i badania (PN-91/A-74022:2003). Polski Komitet Normalizacyjny.
 159. Polski Komitet Normalizacyjny. (2003). PN-A-74022:2003. Przetwory zbożowe. Mąka pszenna. Warszawa: Polski Komitet Normalizacyjny.

160. Poutanen, K., Flander, L., & Katina, K. (2009). Sourdough and cereal fermentation in a nutritional perspective. *Food Microbiology*, 26(7), 693–699. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2009.07.011>
161. Pyo, S.-H., Moon, C.-R., Park, S.-W., Choi, J., Park, J.-D., Sung, J. M., Choi, E.-J., & Son, Y.-J. (2024). Quality and staling characteristics of white bread fortified with lysozyme-hydrolyzed mealworm powder (*Tenebrio molitor* L.). *Current Research in Food Science*, 8, 100685. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2024.100685>
162. Qi, K., Yi, X., & Li, C. (2022). Effects of endogenous macronutrients and processing conditions on starch digestibility in wheat bread. *Carbohydrate Polymers*, 295, 119874. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.119874>
163. Qin, W., Pi, J., & Zhang, G. (2022). Interaction of tea polyphenols with wheat gluten in dough formation and bread baking. *Food & Function*, 13(24), 12827–12835. <https://doi.org/10.1039/d2fo02576k>
164. Qin, X., Fang, Z., Zhang, J., Zhao, W., Zheng, N., & Wang, X. (2024). Regulatory effect of *Ganoderma lucidum* and its active components on gut flora in diseases. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1362479. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1362479>
165. Quettier-Deleu, C., Gressier, B., Vasseur, J., Dine, T., Brunet, C., Luyckx, M., Cazin, M., Cazin, J.-C., Bailleul, F., & Trotin, F. (2000). Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls and flour. *Journal of Ethnopharmacology*, 72(1–2), 35–42. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(00\)00196-3](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(00)00196-3)
166. Rajoriya, A., Tripathy, S. S., & Gupta, N. (2015). *In vitro* antioxidant activity of selected *Ganoderma* species found in Odisha, India. *Tropical Plant Research*, 2(2), 72–77.
167. Rebollo-Hernanz, M., Fernández-Gómez, B., Herrero, M., Aguilera, Y., Martín-Cabrejas, M. A., Uribarri, J., & del Castillo, M. D. (2019). Inhibition of the Maillard reaction by phytochemicals composing an aqueous coffee silverskin extract via a mixed mechanism of action. *Foods*, 8(10), 438. <https://doi.org/10.3390/foods8100438>
168. Reguła, J., & Siwulski, M. (2007). Dried shiitake (*Lentinula edodes*) and oyster (*Pleurotus ostreatus*) mushrooms as a good source of nutrients. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 6(4), 135–142.

169. Rodríguez-Rodríguez, M., Barroso, F. G., Fabrikov, D., & Sánchez-Muros, M. J. (2022). *In vitro* crude protein digestibility of insects: A review. *Insects*, 13(8), 682. <https://doi.org/10.3390/insects13080682>
170. Różyło, R., Dziki, D., Gawlik-Dziki, U., Cacak-Pietrzak, G., Miś, A., & Rudy, S. (2015). Physical properties of gluten-free bread caused by water addition. *International Agrophysics*, 29(3), 353–364. <https://doi.org/10.1515/intag-2015-0042>
171. Saltarelli, R., Ceccaroli, P., Buffalini, M., Vallorani, L., Casadei, L., Zambonelli, A., Iotti, M., Badalyan, S., & Stocchi, V. (2015). Biochemical characterization and antioxidant and antiproliferative activities of different *Ganoderma* collections. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, 25(1), 16–25. <https://doi.org/10.1159/000369212>
172. Sarkar, T., Mazumder, B., Nandi, G., & Sen, S. (2025). Reishi mushroom (*Ganoderma lucidum*): Pharmacology of a potent healer in traditional Chinese medicine. *Natural Product Research*, 1–18. <https://doi.org/10.1080/14786419.2025.2511162>
173. Saunders, V. R., & Hillier, I. H. (1973). A “level–shifting” method for converging closed shell Hartree–Fock wave functions. *International Journal of Quantum Chemistry*, 7(4), 699–705. <https://doi.org/10.1002/qua.560070407>
174. Schimbator, M., Culețu, A., Susman, I., & Duță, D. (2020). Digestibility of proteins from different sources. *The Annals of the University Dunarea de Jos of Galati. Fascicle VI – Food Technology*, 44(2), 43–50. <https://doi.org/10.35219/food-technology.2020.2.03>
175. Seo, G., Hyun, C., Choi, S., Kim, Y. M., & Cho, M. (2019). The wound healing effect of four types of beta-glucan. *Applied Biological Chemistry*, 62, 20. <https://doi.org/10.1186/s13765-019-0428-2>
176. Shah Bacha, A., Ali, S., Ye, L., Rehman, H., Farooq, S., Mushtaq, A., & Wahocho, S. (2018). Lion’s mane mushroom: New addition to food and natural bounty for human wellness – A review. *International Journal of Biosciences*, 13(4), 396–402. <https://doi.org/10.12692/ijb/13.4.396-402>
177. Sharma, A., Ranout, A. S., & Nadda, G. (2024). Insights into cultivation strategies, bioactive components, therapeutic potential, patents, and market products of *Ophiocordyceps sinensis*: A comprehensive review. *South African Journal of Botany*, 171, 546–570. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2024.06.036>

178. Shevchuk, Y., Kuypers, K., & Janssens, G. E. (2023). Fungi as a source of bioactive molecules for the development of longevity medicines. *Ageing Research Reviews*, 87, 101929. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2023.101929>
179. Singleton, W. S., Gray, M. S., Brown, M. L., & White, J. L. (1965). Chromatographically homogeneous lecithin from egg phospholipids. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 42(1), 53–56. <https://doi.org/10.1007/BF02558256>
180. Skendi, A., Biliaderis, C. G., Papageorgiou, M., & Izydorczyk, M. S. (2010). Effects of two barley β -glucan isolates on wheat flour dough and bread properties. *Food Chemistry*, 119, 1159–1167. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.08.030>
181. Skřivan, P., Sluková, M., Sinica, A., Bleha, R., Švec, I., Šárka, E., & Pourová, V. (2024). Glycaemic index of bakery products and possibilities of its optimization. *Applied Sciences*, 14(14), 6070. <https://doi.org/10.3390/app14146070>
182. Smith, F., Pan, X., Bellido, V., Toole, G., Gates, F. K., Wickham, M., Shewry, P. R., Bakalis, S., Padfield, P., & Mills, E. N. C. (2015). The digestibility of gluten proteins is reduced by baking and enhanced by starch digestion. *Molecular Nutrition & Food Research*, 59(10), 2034–2043. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201500262>
183. Sobh, M., Montroy, J., Daham, Z., Sibbald, S., Lalu, M., Stintzi, A., Mack, D., & Fergusson, D. A. (2022). Tolerability and SCFA production after resistant starch supplementation in humans: A systematic review of randomized controlled studies. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 115(3), 608–618. <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqab402>
184. Steffolani, E., De la Hera, E., Pérez, G., & Gómez, M. (2014). Effect of chia (*Salvia hispanica* L.) addition on the quality of gluten-free bread. *Journal of Food Quality*, 37, 309–317. <https://doi.org/10.1111/jfq.12098>
185. Sui, X., Meng, Z., Dong, T., Fan, X., & Wang, Q. (2023). Enzymatic browning and polyphenol oxidase control strategies. *Current Opinion in Biotechnology*, 81, 102921. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2023.102921>
186. Sulieman, A. A., Zhu, K.-X., Peng, W., Shoaib, M., Obadi, M., Hassanin, H. A. M., Alahmad, K., & Zhou, H.-M. (2018). Assessment of rheological, physico-chemical, and staling characteristics of gluten-free dough and bread containing *Agaricus bisporus* polysaccharide flour and inulin. *Food Measurement and Characterization*, 12, 2032–2044. <https://doi.org/10.1007/s11694-018-9818-0>

187. Sułkowska-Ziaja, K., Balik, M., Szczepkowski, A., Trepa, M., Zengin, G., Kała, K., & Muszyńska, B. (2023). A review of chemical composition and bioactivity studies of the most promising species of *Ganoderma* spp. *Diversity*, 15(8), 882. <https://doi.org/10.3390/d15080882>
188. Syeunda, C., & Awika, J. M. (2024). Mechanisms of flavonoid inhibition of Maillard reaction product formation in relation to whole grains processing. *Food Chemistry*, 449, 139237. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.139237>
189. Szućko-Kociuba, I., Trzeciak-Ryczek, A., & Kupnicka, P., & Chlubek, D. (2023). Neurotrophic and neuroprotective effects of *Hericium erinaceus*. *International Journal of Molecular Sciences*, 24, 15960. <https://doi.org/10.3390/ijms242115960>
190. Świeca, M., Baraniak, B., & Gawlik-Dziki, U. (2013). *In vitro* digestibility and starch content, predicted glycemic index and potential *in vitro* antidiabetic effect of lentil sprouts obtained by different germination techniques. *Food Chemistry*, 138(2–3), 1414–1420. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.09.122>
191. Tachabenjarong, N., Rungsardthong, V., Ruktanonchi, U., Poodchakarn, S., Thumthanaruk, B., Vatanyoopaisarn, S., Suttisintong, K., Iempridee, T., & Uttapap, D. (2022). Bioactive compounds and antioxidant activity of lion's mane mushroom (*Hericium erinaceus*) from different growth periods. *E3S Web of Conferences*, 355, 02016. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202235502016>
192. Tang, C., Fan, Y., Wang, T., Wang, J., Xiao, M., He, M., Chang, X., Li, Y., & Li, X. (2025). Integrated amino acid profiling and 4D-DIA proteomics reveal protein quality divergence and metabolic adaptation in *Cordyceps* species. *Journal of Fungi*, 11(5), 365. <https://doi.org/10.3390/jof11050365>
193. Tańska, M., Browarek, J., Ruszkowska, M., & Purkiewicz, A. (2024). Comparative study on the incorporation of lesser mealworm (*Alphitobius diaperinus*) and house cricket (*Acheta domesticus*) powders into shortbread cookies: Effects on physical, chemical and sensory properties. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 74(3), 280–292. <https://doi.org/10.31883/pjfn/192341>
194. Tekin, T., & Dincer, E. (2023). Effect of resistant starch types as a prebiotic. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 107, 491–515. <https://doi.org/10.1007/s00253-022-12325-y>

195. Teterycz, D., & Sobota, A. (2023). Use of high-protein and high-dietary-fibre vegetable processing waste from bell pepper and tomato for pasta fortification. *Foods*, 12(13), 2567. <https://doi.org/10.3390/foods12132567>
196. Tian, M., Pak, S., Ma, C., Ma, L., Rengasamy, K. R. R., Xiao, J., Hu, X., Li, D., & Chen, F. (2024). Chemical features and biological functions of water-insoluble dietary fiber in plant-based foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 64(4), 928–942. <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2110565>
197. Timm, C., Reichelt, J., Rickauer, M., Wäsche, A., & Soltmann, C. (2023a). Advances in the application of fungal β -glucans in functional food systems. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 107, 847–860. <https://doi.org/10.1007/s00253-023-12656-4>
198. Timm, T. G., Schipmann, D. B. D., Costa, T. M., & Tavares, L. B. B. (2024b). Remediation of brewery wastewater and reuse for β -glucans production by basidiomycete fungi. *Waste and Biomass Valorization*, 15, 4629–4645. <https://doi.org/10.1007/s12649-024-02468-6>
199. Tu, J., Brennan, M., & Brennan, C. (2021). An insight into the mechanism of interactions between mushroom polysaccharides and starch. *Current Opinion in Food Science*, 37, 17–25. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.07.005>
200. Ucar, E. M., & Kizil, M. (2025). A review on healthier bread making: Focusing on the underlying mechanisms for decreasing glycemic index. *Food Reviews International*, 41(5), 1469–1508. <https://doi.org/10.1080/87559129.2025.2450046>
201. Ulziijargal, E., Yang, J.-H., Lin, L.-Y., Chen, C.-P., & Mau, J.-L. (2013). Quality of bread supplemented with mushroom mycelia. *Food Chemistry*, 138(1), 70–76. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.10.051>
202. Ulziijargal, E., Yang, J.-H., Lin, L.-Y., Chen, C.-P., & Mau, J.-L. (2013). Quality of bread supplemented with mushroom mycelia. *Food Chemistry*, 138(1), 70–76. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.10.051>
203. Uukule, E. N., Embashu, W., Kadhila, P. N., Ueitele, I. S. E., & Nantanga, K. K. M. (2023). Climate smart, underutilised, healthful future cereal: Protein content, hydration properties, starch digestibility and consumer liking of pearl millet-based oyster mushroom crackers. *Food Chemistry Advances*, 3, 100467. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2023.100467>

204. Valverde, M. E., Hernández-Pérez, T., & Paredes-López, O. (2015). Edible mushrooms: Improving human health and promoting quality life. *International Journal of Microbiology*, 2015, 376387. <https://doi.org/10.1155/2015/376387>
205. Varnosfaderani, S. M. N., Ebrahimzadeh, F., Akbari Oryani, M., Khalili, S., Almasi, F., Mosaddeghi Heris, R., Payandeh, Z., Li, C., Nabi Afjadi, M., & Alagheband Bahrami, A. (2024). Potential promising anticancer applications of β -glucans: A review. *Bioscience Reports*, 44(1), BSR20231686. <https://doi.org/10.1042/BSR20231686>
206. Villares, A., Mateo-Vivaracho, L., & Guillamón, E. (2012). Structural features and health-promoting properties of polysaccharides occurring in mushrooms. *Agriculture*, 2(4), 452–471. <https://doi.org/10.3390/agriculture2040452>
207. Waddell, I. S., & Orfila, C. (2022). Dietary fiber in the prevention of obesity and obesity-related chronic diseases: From epidemiological evidence to potential molecular mechanisms. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 63(27), 8752–8767. <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2061909>
208. Wahab, N. B. A., Darus, N. A., & Daud, S. A. M. (2022). Incorporation of mushroom powder in bread. In *Proceedings of the National Technology Research in Engineering, Design and Social Science Conference (nTrends' 22)* (pp. 499–507). Kuala Lumpur, Malaysia.
209. Wang, L., Wang, L., Wen, C., Wang, N., Yan, C., Shen, C., & Song, S. (2022). Chitosan and chitosan oligosaccharide influence digestibility of whey protein isolate through electrostatic interaction. *International Journal of Biological Macromolecules*, 222(A), 1443–1452. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.09.258>
210. Wang, X., Lao, X., Bao, Y., Guan, X., & Li, C. (2021). Effect of whole quinoa flour substitution on the texture and *in vitro* starch digestibility of wheat bread. *Food Hydrocolloids*, 119, 106840. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106840>
211. Wang, Z., Wang, L., Yu, X., Wang, X., Zheng, Y., Hu, X., Zhang, P., Sun, Q., Wang, Q., & Li, N. (2024). Effects of polysaccharide addition on physical properties of foods: A review. *Food Chemistry*, 431, 137099. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.137099>
212. Wani, S. M., Gani, A., Mir, S. A., Masoodi, F. A., & Khanday, F. A. (2021). β -Glucan: A dual regulator of apoptosis and cell proliferation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 182, 1229–1237. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.05.065>

213. Welc-Stanowska, R., Kłosok, K., & Nawrocka, A. (2023). Effects of gluten–phenolic acids interaction on the gluten structure and functional properties of gluten and phenolic acids. *Journal of Cereal Science*, *111*, 103682. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2023.103682>
214. Wirkijowska, A., Zarzycki, P., Teterycz, D., Nawrocka, A., Blicharz-Kania, A., & Łysakowska, P. (2023). The influence of tomato and pepper processing waste on bread quality. *Applied Sciences*, *13*, 9312. <https://doi.org/10.3390/app13169312>
215. Włodarczyk, A., Fijałkowska, A., Jędrejko, K., Zięba, P., Lazur, J., Sułkowska–Ziaja, K., & Muszyńska, B. (2020). Edible and medicinal mushroom *Herichium erinaceus* as a potential natural material with influence on brain functions. *Medicina Internacia Revuo*, *29*(114), 4–10. Retrieved from <https://interrev.com/mir/index.php/mir/article/view/166>
216. World Congress on Osteoporosis, Osteoarthritis and Musculoskeletal Diseases (WCO-IOF-ESCEO 2023). (2023). *Aging Clinical and Experimental Research*, *35*(Suppl. 1), 37–613. <https://doi.org/10.1007/s40520-023-02442-7>.
217. Wu, Y., Han, I., Park, B.-G., Li, J., Yang, H., & Shin, H.-J. (2016). Effects of dried medicinal mushroom (*Sparassis crispa*) powder on wheat flour dough and bread properties. *KSBB Journal*, *31*, 171–177. <https://doi.org/10.7841/ksbbj.2016.31.3.171>
218. Yang, Y., Li, J., Hong, Q., Zhang, X., Liu, Z., & Zhang, T. (2022). Polysaccharides from *Herichium erinaceus* fruiting bodies: Structural characterization, immunomodulatory activity and mechanism. *Nutrients*, *14*(18), 3721. <https://doi.org/10.3390/nu14183721>
219. Ying, M., Yu, Q., Zheng, B., Wang, H., Wang, J., Chen, S., Nie, S., & Xie, M. (2020). Cultured *Cordyceps sinensis* polysaccharides modulate intestinal mucosal immunity and gut microbiota in cyclophosphamide-treated mice. *Carbohydrate Polymers*, *235*, 115957. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.115957>
220. Yu, C., Dong, Q., Chen, M., Zhao, R., Zha, L., Zhao, Y., Zhang, M., Zhang, B., & Ma, A. (2023a). The effect of mushroom dietary fiber on the gut microbiota and related health benefits: A review. *Journal of Fungi*, *9*(10), 1028. <https://doi.org/10.3390/jof9101028>
221. Yu, Y., Liu, Z., Song, K., Li, L., & Chen, M. (2023b). Medicinal value of edible mushroom polysaccharides: A review. *Journal of Future Foods*, *3*(1), 16–23. <https://doi.org/10.1016/j.jfutfo.2022.09.003>

222. Yuan, B., Zhao, L., Yang, W., McClements, D. J., & Hu, Q. (2017). Enrichment of bread with nutraceutical-rich mushrooms: Impact of *Auricularia auricula* flour upon quality attributes of wheat dough and bread. *Journal of Food Science*, 82(9), 2041–2050. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13812>
223. Zahorec, J., Šoronja-Simović, D., Petrović, J., Šereš, Z., Pavlič, B., Sterniša, M., Smole Možina, S., Ačkar, Đ., Šubarić, D., & Jozinović, A. (2024). The effect of carob extract on antioxidant, antimicrobial and sensory properties of bread. *Applied Sciences*, 14(9), 3603. <https://doi.org/10.3390/app14093603>
224. Zhang, Q., Liu, Y., Tang, R., Kong, S., Lv, D., Li, H., Yang, H., & Lin, L. (2024). Gut microbiota and its metabolites: A potential approach for traditional Chinese medicine-derived non-starch polysaccharides to delay aging and prevent age-related diseases – A review. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, 8, 100567. <https://doi.org/10.1016/j.carpta.2024.100567>
225. Zhang, S., Chen, S., Geng, S., Liu, C., Ma, H., & Liu, B. (2021). Effects of Tartary buckwheat bran flour on dough properties and quality of steamed bread. *Foods*, 10(9), 2052. <https://doi.org/10.3390/foods10092052>
226. Zhang, Y., Ruan, C., Cheng, Z., Zhou, Y., & Liang, J. (2019). Mixolab behavior, quality attributes and antioxidant capacity of breads incorporated with *Agaricus bisporus*. *Journal of Food Science and Technology*, 56(8), 3921–3929. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03859-7>
227. Zhou, H., Hu, Y., Tan, Y., Zhang, Z., & McClements, D. J. (2021b). Digestibility and gastrointestinal fate of meat versus plant-based meat analogs: An *in vitro* comparison. *Food Chemistry*, 364, 130439. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130439>

Spis tabel

TABELA 1. CHARAKTERYSTYKA PORÓWNAWCZA WYBRANYCH GATUNKÓW GRZYBÓW LECZNICZYCH (G. LUCIDUM, H. ERINACEUS, O. SINENSIS).....	19
TABELA 2. CHARAKTERYSTYKA PORÓWNAWCZA B-GLUKANÓW POCHODZENIA GRZYBOWEGO I ZBOŻOWEGO (OPRACOWANIE WŁASNE NA PODSTAWIE: MIROŃCZUK-CHODAKOWSKA I IN., 2021; CHIORU I CHIRSANOVA, 2023; LANTE I CANAZZA, 2023).....	24
TABELA 3. POWIĄZANIE HIPOTEZ BADAWCZYCH Z CELAMI SZCZEGÓŁOWYMI, ETAPAMI REALIZACJI BADAŃ, ZASTOSOWANYMI METODAMI, OCZEKIWANymi EFEKTAMI ORAZ PUBLIKACJAMI NAUKOWYMI.....	28
TABELA 4. CHARAKTERYSTYKA ZASTOSOWANYCH SUROWCÓW W MODELACH BADAWCZYCH I–IV.....	31
TABELA 5. WODOCHŁONNOŚĆ MĄKI PSZENNEJ I JEJ MIESZANEK Z PROSZKAMI GRZYBOWYMI.....	33
TABELA 6. PARAMETRY FARINOGRAFICZNE CIASTA.....	40
TABELA 7. WŁAŚCIWOŚCI TECHNOLOGICZNE PIECZYWA	42
TABELA 8. PARAMETRY BARWY MIĘKISZU CHLEBA	45
TABELA 9. ANALIZA PROFILU TEKSTURY (TPA) PIECZYWA	48
TABELA 10. SKŁAD CHEMICZNY SUROWCÓW I PIECZYWA.....	53
TABELA 11. ZAWARTOŚĆ WYBRANYCH SKŁADNIKÓW MINERALNYCH W SUROWCACH I PIECZYWIE	55
TABELA 12. ZAWARTOŚĆ POLIFENOLI I AKTYWNOŚĆ ANTYOKSYDACYJNA SUROWCÓW I CHLEBA.....	57
TABELA 13. PARAMETRY FARINOGRAFICZNE CIASTA.....	59
TABELA 14. WŁAŚCIWOŚCI TECHNOLOGICZNE PIECZYWA	61
TABELA 15. PARAMETRY BARWY MIĘKISZU CHLEBA	63
TABELA 16. ANALIZA PROFILU TEKSTURY (TPA) PIECZYWA	65
TABELA 17. OCENA SENSORYCZNA PIECZYWA	67
TABELA 18. SKŁAD CHEMICZNY SUROWCÓW I PIECZYWA.....	69
TABELA 19. ZAWARTOŚĆ WYBRANYCH SKŁADNIKÓW MINERALNYCH W SUROWCACH I PIECZYWIE	72
TABELA 20. ZAWARTOŚĆ POLIFENOLI I FLAWONOIDÓW ORAZ AKTYWNOŚĆ ANTYOKSYDACYJNA SUROWCÓW I PIECZYWA	74
TABELA 21. PARAMETRY FARINOGRAFICZNE CIASTA.....	78
TABELA 22. SKŁAD CHEMICZNY SUROWCÓW I PIECZYWA.....	80
TABELA 23. WŁAŚCIWOŚCI TECHNOLOGICZNE CHLEBA	83
TABELA 24. PARAMETRY BARWY MIĘKISZU CHLEBA	85
TABELA 25. ANALIZA PROFILU TEKSTURY (TPA) PIECZYWA	88
TABELA 26. ZAWARTOŚĆ WYBRANYCH SKŁADNIKÓW MINERALNYCH W SUROWCACH I PIECZYWIE	91
TABELA 27. ZAWARTOŚĆ ZWIĄZKÓW POLIFENOLOWYCH ORAZ AKTYWNOŚĆ ANTYOKSYDACYJNA SUROWCÓW I PIECZYWA	93
TABELA 28. OCENA SENSORYCZNA PIECZYWA	94
TABELA 29. WSKAŹNIK WODOCHŁONNOŚCI (WAI) ORAZ ROZPUSZCZALNOŚCI WODNEJ SUCHej MASY (WSI) SUROWCÓW I PIECZYWA	98
TABELA 30. STRAWNOŚĆ SKROBI W SUROWCACH I PIECZYWIE	105

Spis rycin

RYCINA 1. OWOCNIKI GRZYBÓW LECZNICZYCH WYKORZYSTANYCH W BADANIACH: A.) <i>GANODERMA LUCIDUM</i> (CURTIS) P. KARST. (<i>G. LUCIDUM</i>), B.) <i>HERICIUM ERINACEUS</i> (BULL.) PERS (<i>H. ERINACEUS</i>) ORAZ C.) <i>OPHIOCORDYCEPS SINENSIS</i> (BERK.) G.H. SUNG, J.M. SUNG, HYWEL-JONES & SPATAFORA (<i>O. SINENSIS</i>).	17
RYCINA 2. SUROWCE ZASTOSOWANE W BADANIACH: A) MĄKA PSZENNA TYP 750, B) PROSZEK Z <i>G. LUCIDUM</i> (REISHI), C) PROSZEK Z <i>H. ERINACEUS</i> (LION'S MANE, SOPLÓWKA JEŻOWATA), D) PROSZEK Z <i>O. SINENSIS</i> (MACZUŹNIK CHIŃSKI).	30
RYCINA 3. POROWATOŚĆ MIĘKISZU (POWIĘKSZENIE $\times 2000$) W PRZEKROJU POPRZECZNYM PIECZYWA: KONTROLNEGO (CON) ORAZ Z DODATKIEM SPROSZKOWANEGO <i>G. LUCIDUM</i> - ODPOWIEDNIO PRÓBKIE BR3, BR6, BR9 I BR12.	42
RYCINA 4. PRZEKRÓJ POPRZECZNY CHLEBA PSZENNEGO (CON) I CHLEBA BR3, BR6, BR9, BR12, W KTÓRYM ZASTOSOWANO ODPOWIEDNIO: 3%, 6%, 9% I 12% POZIOM SUBSTYTUCJI MĄKI SPROSZKOWANYM OWOCNIKIEM <i>G. LUCIDUM</i>	45
RYCINA 5. WYNIKI OCENY SENSORYCZNEJ PIECZYWA PSZENNEGO ORAZ Z UDZIAŁEM PROSZKU Z OWOCNIKÓW <i>G. LUCIDUM</i> . CON – PRÓBKA KONTROLNA; BR3, BR6, BR9, BR12 — PRÓBKIE, W KTÓRYCH ZASTOSOWANO ODPOWIEDNIO: 3%, 6%, 9% I 12% POZIOM SUBSTYTUCJI MĄKI SPROSZKOWANYM OWOCNIKIEM <i>G. LUCIDUM</i> . DANE PRZEDSTAWIONO JAKO WARTOŚCI ŚREDNIE (N = 8).	50
RYCINA 6. POROWATOŚĆ MIĘKISZU (POWIĘKSZENIE $\times 2000$) W PRZEKROJU POPRZECZNYM PIECZYWA: KONTROLNEGO (CON) ORAZ Z DODATKIEM SPROSZKOWANEGO <i>H. ERINACEUS</i> (SOPLÓWKA JEŻOWATA) NA POZIOMACH 3, 6, 9 I 12% – ODPOWIEDNIO PRÓBKIE BS3, BS6, BS9 I BS12.	61
RYCINA 7. PRZEKRÓJ POPRZECZNY CHLEBA PSZENNEGO (CON) ORAZ PIECZYWA, W KTÓRYM ZASTOSOWANO CZĘŚCIOWĄ SUBSTYTUCJĘ MĄKI PSZENNEJ (3, 6, 9 I 12%) OWOCNIKIEM Z <i>H. ERINACEUS</i> (SOPLÓWKI JEŻOWATEJ), OZNACZONE ODPOWIEDNIO BS3, BS6, BS9 I BS12.	63
RYCINA 8. POROWATOŚĆ MIĘKISZU (POWIĘKSZENIE $\times 2000$) W PRZEKROJU POPRZECZNYM PIECZYWA: KONTROLNEGO (CON) ORAZ Z DODATKIEM SPROSZKOWANEGO OWOCNIKA <i>O. SINENSIS</i> NA POZIOMACH 3, 6, 9 I 12% – ODPOWIEDNIO PRÓBKIE BC3, BC6, BC9 I BC12.	83
RYCINA 9. PRZEKRÓJ POPRZECZNY PIECZYWA PSZENNEGO (CON) ORAZ PIECZYWA (BC3, BC6, BC9, BC12), W KTÓRYM ZASTOSOWANO SUBSTYTUCJĘ MĄKI PSZENNEJ PROSZKIEM Z <i>O. SINENSIS</i> (BC) ODPOWIEDNIO NA POZIOMIE 3%, 6%, 9% I 12%.	85
RYCINA 10. ZAWARTOŚĆ BIAŁKA OGÓŁEM ORAZ BIAŁKA STRAWNEGO (IN VITRO) (G/100 G S.M.) W SUROWCACH (A.) ORAZ W PIECZYWIE PSZENNYM Z UDZIAŁEM 3-12%: ODPOWIEDNIO <i>H. ERINACEUS</i> (B.), <i>G. LUCIDUM</i> (C.) I <i>O. SINENSIS</i> (D.). SŁUPKI PRZEDSTAWIAJĄ WARTOŚCI ŚREDNIE $\pm$ ODCHYLENIE STANDARDOWE (N = 3). * – PROCENTOWY UDZIAŁ BIAŁKA STRAWNEGO. RÓŻNE WIELKIE LITERY OZNACZAJĄ RÓŻNICE STATYSTYCZNIE ISTOTNE POMIĘDZY WYNIKAMI PREZENTOWANYMI W OBRĘBIE KAŻDEGO WYKRESU ($p \leq 0,05$; TEST TUKEYA), NATOMIAST MAŁE LITERY WSKAZUJĄ ISTOTNE RÓŻNICE W ZAWARTOŚCI BIAŁKA STRAWNEGO.	102
RYCINA 11. ZAWARTOŚĆ B-(1 $\rightarrow$ 3),(1 $\rightarrow$ 6)-D-GLUKANÓW W SUROWCACH (A.) ORAZ W CHLEBIE ZAWIERAJĄCYM ODPOWIEDNIO 3-12% UDZIAŁ.	108

7. Publikacje składające się na rozprawę doktorską (*załączniki*)

Review

Medicinal Mushrooms: Their Bioactive Components, Nutritional Value and Application in Functional Food Production—A Review

Paulina Łysakowska , Aldona Sobota * and Anna Wirkijowska 

Department of Plant Food Technology and Gastronomy, University of Life Sciences in Lublin, Skromna 8 Street, 20-704 Lublin, Poland; paulina.lysakowska@up.lublin.pl (P.Ł.); anna.wirkijowska@up.lublin.pl (A.W.)

* Correspondence: aldona.sobota@up.lublin.pl

Abstract: Medicinal mushrooms, e.g., Lion's Mane (*Hericium erinaceus* (Bull.) Pers.), Reishi (*Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst.), Chaga (*Inonotus obliquus* (Ach. ex Pers.) Pilát), Cordyceps (*Ophiocordyceps sinensis* (Berk.) G.H. Sung, J.M. Sung, Hywel-Jones and Spatafora), Shiitake (*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler), and Turkey Tail (*Trametes versicolor* (L.) Lloyd), are considered new-generation foods and are of growing interest to consumers. They are characterised by a high content of biologically active compounds, including (1,3)(1,6)- β -D-glucans, which are classified as dietary fibre, triterpenes, phenolic compounds, and sterols. Thanks to their low-fat content, they are a low-calorie product and are classified as a functional food. They have a beneficial effect on the organism through the improvement of its overall health and nutritional level. The biologically active constituents contained in medicinal mushrooms exhibit anticancer, antioxidant, antidiabetic, and immunomodulatory effects. In addition, these mushrooms accelerate metabolism, help fight obesity, and slow down the ageing processes thanks to their high antioxidant activity. The vast therapeutic properties of mushrooms are still not fully understood. Detailed mechanisms of the effects of medicinal mushrooms on the human organism still require long-term clinical studies to confirm their nutraceutical effects, their safety of use, and their dosage. Medicinal mushrooms have great potential to be used in the design of innovative functional foods. There is a need for further research on the possibility of incorporating mushrooms into food products to assess the interactions of their bioactive substances with ingredients in the food matrix. This review focuses on the properties of selected medicinal mushrooms and their effects on the human organism and presents current knowledge on the possibilities of their use in the production of functional foods.

Keywords: medicinal mushrooms; bioactive compounds; polysaccharides; functional foods; nutraceuticals; new generation foods; (1,3)(1,6)- β -D-glucans; polyphenols; antioxidant activity



Citation: Łysakowska, P.; Sobota, A.; Wirkijowska, A. Medicinal Mushrooms: Their Bioactive Components, Nutritional Value and Application in Functional Food Production—A Review. *Molecules* **2023**, *28*, 5393. <https://doi.org/10.3390/molecules28145393>

Academic Editors: Arunaksharan Narayanankutty, Ademola C. Famurewa, Eliza Oprea and José Sousa Câmara

Received: 11 April 2023

Revised: 11 July 2023

Accepted: 11 July 2023

Published: 14 July 2023



Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

For many years, mushrooms have accompanied humans both as food and medicine. Data from the literature indicate that, with the onset of hunting, mushrooms began to play an important role in the human diet [1]. Fruiting bodies, i.n., the visible part above the substrate commonly referred to as the mushroom, are the edible elements of some filamentous fungi [2]. Fungi form a separate kingdom alongside the kingdoms of prokaryotes, eukaryotes, plants, and animals [3]. About 2.2–3.8 million species of fungi in the world have been identified, of which 150,000 species have been described, 2000 species are considered edible, and over 200 species of wild mushrooms are considered medicinal [4,5]. Edible mushrooms, unlike medicinal mushrooms, are mainly consumed as fresh mushrooms with fruiting bodies or dried products. They can also be consumed as boiled, fried, roasted, soups, tinctures, teas, and many different dishes, while medicinal mushrooms are mostly used in biopharmaceutical applications in powdered, loose, or liquid extract forms [6]. In culinary terms, mushrooms are wrongly classified as vegetables and are informally

categorised as ‘white vegetables’ [7]. According to the USDA (United States Department of Agriculture), they can be used as a substitute for vegetables in the diet at a ratio of 1:1 (USDA, 2022). Due to their content of biologically active compounds with beneficial health effects, medicinal mushrooms have been used worldwide in folk medicine for centuries. They are particularly popular in Asian countries, e.g., China, Japan, Taiwan, and Korea. Due to the presence of numerous biologically active compounds, including polysaccharides, proteins, peptides, terpenoids, polyphenols, vitamins, and mineral elements, they are ascribed, e.g., anti-cancer, anti-inflammatory, antioxidant, hypocholesterolemic, hypoglycaemic, and immunomodulatory effects [8,9]. However, it should be remembered that the consumption of medicinal mushrooms is not always advisable. The safety of their use during pregnancy, lactation, and in children is still poorly reported. The selected bioactive compounds found in mushrooms may potentially limit the absorption of nutrients, trace elements, and vitamins. As a result, it is recommended that the elderly and children avoid the excessive consumption of mushrooms. Additionally, individuals taking medications or herbs should exercise caution when using mushrooms due to the potential for interactions with their bioactive compounds.

The chemical profile of medicinal mushrooms varies according to species, strain, cultivation conditions (cultured or growing wild) [10], the degree of maturity [11], and the proportion of individual anatomical parts in the total mass of the mushroom [12]. This is largely determined by environmental (access to water, light, UV radiation) [9,13] and biological (type of substrate/host, presence of competing fungi) factors. Song et al. [8] compared the chemical composition and functional properties of wood-cultured and sack-cultured Shiitake (*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler) and proved that the wood-cultured fungus had a higher content of terpenoids and phenolic components and concurrently exhibited higher antioxidant and hypoglycaemic potential compared to the sack-cultured Shiitake (*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler). In the case of Chaga (*Inonotus obliquus* (Ach. ex Pers.) Pilát), which is a parasite of various deciduous trees, only sclerotia derived from birch trunks have contained tree-specific compounds (betulin and betulinic acid) showing anticarcinogenic activity. Equally great importance for the chemical composition and health-promoting potential of medicinal mushrooms is ascribed to the world region from which they originate [14,15]. Chaga (*Inonotus obliquus* (Ach. ex Pers.) Pilát) sclerotia collected in France, Ukraine, and Canada were characterised by their different contents of betulin, betulinic acid, and inotodiol and showed differential biological activity in different cancer cells [15]. The bioactive substances present in fungi are primary and secondary metabolites that can be synthesised in response to specific environmental stimuli [9,13]. Their content depends on the species of fungus and their growing conditions [10,16]. However, Peng and Shahidi [17] emphasise that the cultivation of medicinal mushrooms in standard conditions offers the possibility to stimulate the synthesis of selected biologically active substances and yields raw materials with a reproducible chemical composition, comparable biological effects, and greater health safety (with a lower content of heavy metals, which are often found in excess in wild mushrooms growing in polluted environments).

The existence of a huge number of medicinal mushroom species with their diverse chemical composition and content of biologically active compounds and thus multidirectional effects on the human organism could make mushrooms objects of growing consumer interest. In 2020, the size of the global mushroom market was 14.35 million tonnes; it is estimated to grow to 24.05 million tonnes in 2028. The most popular mushrooms among consumers include Reishi (*Ganoderma lucidum*), Lion’s Mane (*Hericium erinaceus*), Chaga (*Inonotus obliquus* (Ach. ex Pers.) Pilát), Turkey Tail (*Trametes versicolor* (L.) Lloyd), Shiitake (*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler), and Cordyceps (*Ophiocordyceps sinensis* (Berk.) G.H. Sung, J.M. Sung, Hywel-Jones and Spatafora prior name *Cordyceps sinensis*). It is, therefore, expedient to compile and systematise existing knowledge on the most popular medicinal mushrooms, compare their functional potential, and discuss the possibilities of their use in the food industry.

2. Nutritional Value and Bioactive Components

Due to their high-water content (about 80–90%), the fruiting bodies of medicinal mushrooms are low in calories (50–70 kcal/100 g) [18]. After drying, their moisture content is at the level of about 3–13% [12,19,20]. The chemical composition of medicinal mushrooms is shown in Table 1. These mushrooms are a source of such nutrients as carbohydrates (65.6–87.13% d.b.), dietary fibre (16–53% d.b.), protein (3.87–37.4% d.b.), minerals (6.2–9.7% d.b.), and fats (1–5.62% d.b) [21].

Table 1. The chemical composition of medicinal mushrooms (g/100 g dried mushrooms).

Common Name	Latin Name	Moisture	Protein	Carbohydrates	Lipids	Dietary Fibre	Ash	The Literature Source
Reishi	<i>Ganoderma lucidum</i> (Curtis) P. Karst.	7.5–12.99	13.3–23.6	42.8–82.3	3–5.8	14.81	4	[19,22,23]
Lion's Mane	<i>Hericium erinaceus</i> (Bull.) Pers.	7.03 *	22.3	57.0	3.5	3.3–7.8	7.1	[19,23]
Chaga	<i>Inonotus obliquus</i> (Ach. ex Pers.) Pilát	3.5	2.4	10.3	1.7	67.5	n.d.	[20]
Cordyceps	<i>Ophiocordyceps sinensis</i> (Berk.) G.H. Sung, J.M. Sung, Hywel-Jones and Spatafora <i>prior name Cordyceps sinensis</i>	3.5 *	21.9–23.1	24.2–49.3	5.5–8.2	7.7	13.13	[19,23]
Shiitake	<i>Lentinula edodes</i> (Berk.) Pegler	7.14	17.2–27.09	38.1–66.0	1.26–2.95	46.19–49.09 (IDF: 40.7–44.2 and SDF: 1.95–8.4)	6.05–6.73	[24–27]
Turkey Tail It also known as; Cloud mushroom, Yun Zhi, Kawaritake	<i>Trametes versicolor</i> (L.) Lloyd	-	11.07	-	1.35	-	-	[28]

(-)—no data; (*)—unpublished own research, IDF—water-insoluble dietary fibre, SDF—water-soluble dietary fibre.

2.1. Polysaccharides

Carbohydrates present in fungi are represented by monosaccharides (glucose, fructose, galactose), alcohol sugars (mannitol), oligosaccharides (trehalose, malezitose), and polysaccharides, among which homopolysaccharides (glucans, chitin, glycogen) and heteropolysaccharides (xylomannan, α -(1→4)-D-glucopyranosyl and β -(1→6)-D-galactopyranosyl with branches at O-6 of glucose and O-2 of galactose, 6-O-galactopyranoses substituted at O-2 by 3-O-D-mannopyranosyl-L-fucopyranosyl, α -D-mannopyranosyl, and α -L-fucopyranosyl, α -(1→3)-linked galactose, with β -(1→4), (1→6)-glucose and fucose branches, mucilage composed of glucose and galactose can be distinguished). Carbohydrates can also occur in complexes with other compounds (e.g., proteins) and may include various sugar subunits [29–31]. Depending on their structure, bond type, and molecular weight, carbohydrates have different functional properties. The main indigestible polysaccharides present in fungi are chitin and β -D-glucans. They are composed of sugar units that are linked by β -glycosidic bonds. The monomer in chitin is β -glucosamine and is linked by 1-4- β -glycosidic bonds, while β -glucans are made up of glucopyranose molecules. The molecules linked by β -(1,3) and β -(1,4) glycosidic bonds form linear segments to which side chains are attached via β -(1,6) glycosidic bonds [29]. These compounds are classified as dietary fibres. They are found in fungal fruiting bodies and in fungal cells at both the vegetative and generative stages of ontogenesis and play a structural role in co-forming

cell walls. A special physiological role is attributed to β -D-glucans and complexes of these compounds with proteins [32,33].

Their structure takes the form of a single helix, a triple helix, or a random helix. Depending on their molecular weight, the type of β -glycosidic bonds present in the molecule, and the chain conformation, these compounds exhibit different functional properties [34]. Beta-glucans with a triple helix structure show a greater ability to inhibit tumour growth than β -glucans in a single helix form [35]. As reported by Sletmoen and Stokke [36] and Brown and Gordon [37], compounds with a higher molecular weight and lower water solubility are more potent immunostimulators, while β -glucans with a low MW and a short side chain are considered less active. On the contrary, Rop et al. [34] found that water-soluble β -glucans had stronger immunomodulatory properties than water-insoluble β -glucans. Macrophages mainly act as antigen-presenting immune cells, which contribute to the immunomodulatory effect of β -glucans by stimulating the fight against bacteria and viruses. High molecular weight molecules stimulate the action of specific lymphocyte—NK cells, which show cytotoxic effects against tumour cells.

In addition, they upregulate the expression of cytokines that are associated with immune response, including interferon- γ , TNF- α , IFN-g, IL-1, and IL-12, which inhibit tumour cell proliferation and induce their apoptosis, thereby exerting anti-tumour, antibacterial, and antiviral effects [23,37,38]. These compounds are often used as adjuvants in traditional cancer chemotherapy [39–44].

The content of β -glucans in mushrooms varies between 3.79% d.b. for Cordyceps (*Ophiocordyceps sinensis* (Berk.) G.H. Sung, J.M. Sung, Hywel-Jones and Spatafora) and 60.79% d.b. for Turkey Tail (*Trametes versicolor* (L.) Lloyd) (Table 2) [44,45]. In general, edodes are a better source of these compounds than caps. The Shiitake (*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler) mushroom is a rich source of β -glucans [34]. It takes its specific name from its β -glucan lentinan, which stimulates immune cells to attack cancer cells. Lentinan enhances the production of T lymphocytes and can potentiate the effect of AZT (3'-Azido-3'-deoxythymidine) in the anti-viral treatment of AIDS [27]. Its positive effects have been proved in the treatment of, e.g., glioma (human astrocytoma U251 cells) [46], breast cancer [47] and liver cancer [48]. In turn, the Turkey Tail (*Trametes versicolor* (L.) Lloyd) contains characteristic proteoglucans. One of these is crestin, also known as polysaccharide-K (PSK), which contains about 25–38% of the protein in the molecule. This proteoglucan is effective in the treatment of, e.g., gastric, oesophageal, colon, rectal, and lung cancer [29].

Table 2. Beta-glucan content of different medicinal mushrooms [31,44,48].

Common Name	Latin Name	Content of β -Glucans (g/100 g d.b.)
Reishi	<i>Ganoderma lucidum</i> (Curtis) P. Karst.	4.3–23.6
Lion's Mane	<i>Hericium erinaceus</i> (Bull.) Pers.	35.3
Chaga	<i>Inonotus obliquus</i> (Ach. ex Pers.) Pilát	8.5
Shiitake cap/steam	<i>Lentinula edodes</i> (Berk.) Pegler	20.0/25.3
Turkey tail	<i>Trametes versicolor</i> (L.) Lloyd	60.79
Cordyceps	<i>Ophiocordyceps sinensis</i> (Berk.) G.H. Sung, J.M. Sung, Hywel-Jones and Spatafora prior name <i>Cordyceps sinensis</i>	3.79

Another type of glucan that is complexed with protein present in Turkey Tail (*Trametes versicolor* (L.) Lloyd) mushrooms is called PSP (Poly Saccharo Peptide) and activates immune cells by increasing the production of cytokines, chemokines, histamine, and prostaglandin E. It reduces the detrimental effects of chemotherapy by alleviating fatigue, loss of appetite, vomiting, a dry mouth, and other related discomforts [49]. In addition to β -glucans, biological activity has also been attributed to poly- and monosaccharides occurring in complexes with other compounds. An example is the cordycepin present in cordyceps (*Ophiocordyceps sinensis* (Berk.) G.H. Sung, J.M. Sung, Hywel-Jones, and Spatafora). Its chemical structure resembles that of the nucleoside adenosine (ribose + adenine sugar); however, it lacks one hydroxyl group at position three of the five-membered ring of the

ribose moiety. Adenosine is involved in DNA and/or RNA synthesis in cells. Thanks to its analogy to adenosine, cordycepin can build into the RNA and DNA structures of bacteria and viruses and interfere with the biosynthesis and modification of nucleic acids, thereby limiting the growth of these microorganisms. It increases the proliferation and secretion of T and B lymphocytes and has anti-inflammatory effects through a reduction in the expression of pro-inflammatory cytokines and chemokines. Additionally, it inhibits platelet aggregation and shows suppressive properties against tumour cells [50]. The positive effects of polysaccharides as well as other phytochemicals present in mushrooms, are shown in Table 3.

Table 3. Bioactive components in medicinal mushrooms and their health-promoting effects.

Common Name	Latin Name	Compounds with Bioactive Potential	Health-Promoting Effects	References
Reishi	<i>Ganoderma lucidum</i> (Curtis) P. Karst.	Polysaccharides Glycoproteins (lectins) Steroids Triterpenoids Nucleotides Fatty acids Vitamins Minerals	Anti-inflammatory Anticancer Antiviral (including HIV) Antimicrobial Hypotensive effect Cardiotonic Immunomodelling Nephrotonic Hepatoprotective Neurotonic Anti-asthmatic	[21] ^a , [51], [52] ^{a,b} , [53]
Lion's Mane	<i>Herium erinaceus</i> (Bull.) Pers.	Hericerins, Erinacins, Glycoprotein, Polysaccharides Beta-glucans, Sterols, Lactone, Fatty acids Volatile compounds (e.g., hexadecanoic acid, linoleic acid, phenylacetaldehyde, benzaldehyde)	Anticancer, Antioxidant, Anti-ageing, Immunomodelling, Neurotonic, Anti-asthmatic, Hypoglycemic effects Hypocholesterolemic effects	[46] ^{a,b} , [53], [54] ^{a,b}
Chaga	<i>Inonotus obliquus</i> (Ach. ex Pers.) Pilát	Polysaccharides Fatty acids Hydroxy acids Poliphenols (phenolic acids, flavonoids, coumarins, quinones, and styrylpyrones) Triterpenoids (lanosterol) Steroids (ergosterol and ergosterol peroxide)	Antioxidant, Anti-ageing, Antimicrobial activity, Antitumor activity, Anti-inflammatory hypoglycemic effect, Antilipidemic effect, Antiglican effect, Immunoregulatory Cardioprotective effects	[14] ^b , [17,54,55]
Cordyceps	<i>Ophiocordyceps sinensis</i> (Berk.) G.H. Sung, J.M. Sung, Hywel-Jones & Spatafora prior name <i>Cordyceps sinensis</i>	Cordycepin (purine alkaloid) Cordymmin (peptide) Adenosine Cordycepic acid (D-mannitol) Trehalose Polysaccharide Beta-glucans Saponins Polyunsaturated fatty acids, Ergosterol δ -tocopherol Hydroxybenzoic acid	Antitumor, Hypoglycemic effect Hypocholesterolemic effect, Anti-inflammatory, Antioxidant, Antianging activity, Antimicrobial activity, Anticonvulsant activity, Cardiovascular protection (reduces cardiac arrhythmia and chronic heart failure)	[49], [56] ^{ab} , [57] ^a , [58] ^a , [59] ^a
Shiitake	<i>Lentinula edodes</i> (Berk.) Pegler	Polysaccharides, Beta-glucans (lentinan) Glycoproteins, Phenols, Steroids, Terpenoids, Nucleotides	Immune-enhancing effects, Antitumor, Antioxidant, Antiaging activity, Antimicrobial activity, Hypocholesterolemic effect, Reduction in blood pressure	[26], [27] ^a , [60]
Turkey Tail It also known as: Cloud mushroom, Yun Zhi, Kawaritake	<i>Trametes versicolor</i> (L.) Lloyd	Polysaccharopeptide (PSP) and polysaccharide K (PSK) (1,3)(1,6)- β -D-glucans, Poliphenols (phenolic acids: p-hydroxy benzoic, protocatechuic, vanillic, and homogentisic), Vitamin B, Fatty acids (linoleic, oleic, stearic, linolenic)	Antitumor Immunoregulatory, Antioxidant activity Prevent obesity, Antimicrobial, Antidiabetic AChE inhibitor	[28,61], [62] ^b

^a—in vivo studies. ^b—in vitro studies.

2.2. Proteins

In addition to polysaccharides, proteins, and peptides are important bioactive components that are present in mushrooms. Their content ranges widely from 4.6 to 56.3 g/100 g and is mainly determined by the mushroom species. Of the mushrooms discussed, Lion's Mane (*Hericium erinaceus* (Bull.) Pers.), Cordyceps (*Ophiocordyceps sinensis* (Berk.) G.H. Sung, J.M. Sung, Hywel-Jones and Spatafora), and Shiitake (*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler) have the highest protein content (more than 20%) [23]. The amino acid composition and sequence and the length of the polypeptide chain can determine the specific biological activity of these compounds. They are most commonly ascribed to hypotensive, angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibition, antioxidant, anticancer, antiviral, and antibacterial activities [63]. The most important bioactive fungal proteins include lectins (glycoproteins), immunomodulatory proteins, and proteins with enzymatic activity, e.g., nucleases, ribonucleases, laccase, and ergotionein [64]. Lectins increase insulin secretion and contribute to lowering blood sugar levels. In addition, they activate the immune system and show chemo-preventive effects against various types of cancer, e.g., hepatocellular carcinoma [65,66]. These compounds are present, e.g., in Reishi (*Ganoderma lucidum*). This type of protein, named TVC, was also isolated by Li et al. [67] from the fungus *Trametes versicolor*. As demonstrated by the authors, TVC increases the proliferation of human peripheral blood lymphocytes and is responsible for the increased necrosis of alpha tumour cells that are induced by mouse macrophages [67]. A characteristic low molecular weight peptide (cordymin) is present in cordyceps (*Ophiocordyceps sinensis* (Berk.) G.H. Sung, J.M. Sung, Hywel-Jones and Spatafora). Studies have demonstrated a protective role for this compound in lowering blood glucose levels in alloxan-induced hyperglycaemic rats. A dose of 50–100 mg/kg of the body weight of the animals also resulted in a reduction in aglycated haemoglobin (HbA1c) levels 5 weeks after the study. The oxidative stress induced by high sugar levels and the animal body weight decreased [68]. Numerous studies have shown that mushroom-derived protein has a complete amino acid profile. As highlighted by Thatoi and Singdevsachan [69], its nutritional value is even greater than that of milk, meat, or egg proteins. The protein present in mushrooms can be characterised by a high content of essential amino acids and glutamic acid, aspartic acid, or arginine. Pop et al. [70] reported that the *Trametes versicolor* contained as many as 18 types of amino acids like aspartic acid, threonine, serine, glutamic acid, glycine, alanine, valine, and leucine, which were identified. Furthermore, studies have confirmed the presence of ornithine, which is known for its particular physiological activity, and the non-protein neurotransmitter γ -aminobutyric acid (GABA) [71].

2.3. Lipids

The fat content in mushrooms varies depending on the species but can range from 0.1 to 5.9 g/100 g [19]. Among medicinal mushrooms, Cordyceps (*Ophiocordyceps sinensis* (Berk.) G.H. Sung, J.M. Sung, Hywel-Jones, and Spatafora) and Shiitake (*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler) are the most abundant in fat. About 52–87% of the fat is made up of unsaturated fatty acids (UFAs) such as oleic (C18:1) and linoleic (C18:2) acids [1,25,71,72]. These acids predominate, for example, in Cordyceps (*Ophiocordyceps sinensis* (Berk.) G.H. Sung, J.M. Sung, Hywel-Jones and Spatafora). The minor fatty acid in this mushroom is saturated fatty acids, e.g., palmitic (C16:0) and stearic (C18:0) acids. Guo et al. [72] found that the fatty acid profile could vary depending on geographical origin in the example of cordyceps (*Ophiocordyceps sinensis* (Berk.) G.H. Sung, J.M. Sung, Hywel-Jones and Spatafora).

Comparative examinations between indoor-cultivated and wild *Ophiocordyceps sinensis* (Berk.) G.H. Sung, J.M. Sung, Hywel-Jones, and Spatafora, conducted by Guo et al. [72], demonstrated that the wild mushrooms were characterized by a higher PUFAs (Polyunsaturated Fatty Acids) content with indoor-cultivated mushrooms. Such fatty acids as oleic acid, hydroxydocosanoic acid, hydroxytricosanoic acid, hydroxytetracosanoic acid, and hydroxypentacosanoic acid are predominate in Shiitake (*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler) mushrooms. Stearic acid, hydroxyhexacosanoic acid, linoleic acid, palmitic acid, hydrox-

arachidic acid, hydroxyheneicosanoic acid, and hydroxy-tricosenoic acid are present in smaller amounts [17].

Linoleic acid is known to have anticancer effects on breast, colon, and prostate cancer; thus, as a natural source of this acid, medicinal mushrooms also exhibit such properties [73]. Furthermore, unsaturated fatty acids can be used for the production of tissue hormones and are useful in preventing excessive blood clotting.

2.4. Sterols

Mushrooms are also a source of sterols classified as bioactive compounds. The most common of these is ergosterol. This compound undergoes photolysis to vitamin D2 when exposed to UV radiation [74]. A study conducted by Zheng et al. [75] showed that ergosterol exhibited cytotoxicity towards acute promyelocytic leukaemia cancer cells and liver cancer cells. At the same time, the authors noted moderate antimicrobial activity against selected bacteria and fungi. A characteristic sterol named H1-A, which resembles testosterone and dehydroepiandrosterone in its structure, was isolated from *Cordyceps*. In vivo studies in mice have shown that this compound could be effective for the treatment of selected autoimmune diseases [76].

2.5. Polyphenols

Thanks to the presence of polyphenols, including mainly phenolic acids represented by benzoic acid and cinnamic acid derivatives, medicinal mushrooms can be attributed to antioxidant activity. As reported by Ahmed et al. [77], gallic, caffeic, and p-coumaric acids are the predominant phenolic compounds in mushrooms. Phenolic compounds that are present in mushrooms exhibit strong antioxidant properties [78]. They inhibit free radicals and limit peroxide decomposition, scavenge reactive oxygen species, and block the action of metals when catalysing oxidation reactions [79–81]. Thus, they prevent mutations of cellular DNA and reduce the processes of carcinogenesis [82]. Peng and Shahidi [17] analysed Chaga ethanol extracts and detected 111 different phenolic compounds, including phenolic acids, flavonoids, coumarins, quinones, and styrylpyrones. Flavonoids in medicinal mushrooms are represented by myricetin, rutin, naringenin, quercetin, morin, and hesperetin [83]. Research conducted by Sharpe et al. [78] showed that, among many medicinal mushrooms, Chaga (*Inonotus obliquus* (Ach. Ex Pers.) Pilát) had the highest polyphenolic content and the highest antioxidant activity. The total phenolic content in this mushroom was at 97 $\mu\text{mol GAE/mg}$, while the content in reishi (*Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst.), shiitake, and turkey tail (*Trametes versicolor* (L.) Lloyd) was 21, 13, and 0.1 $\mu\text{mol GAE/mg}$, respectively. The water-ethanol extract from Chaga (*Inonotus obliquus* (Ach. Ex Pers.) Pilát) exhibited approximately five times higher antioxidant activity against DPPH than other mushrooms. Mushroom polyphenols exhibit multidirectional beneficial effects on the human body: anticancer, antioxidant, hypoglycemic, slowing down the aging process, and preventing the degenerative diseases of the nervous system and cardiovascular diseases. When used as a food additive, they reduce fat oxidation processes and extend the shelf life of products [79].

2.6. Terpenes and Terpenoids

Another group of compounds includes terpenes, with the general formula $(\text{C}_5\text{H}_8)_n$, and terpenoids containing additional functional groups (-OH, -CHO, =CO, -COOH, -O-O-). Triterpenes are the main biologically active metabolites of terpenoid nature and are synthesized by *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst. and *Inonotus obliquus* (Ach. ex Pers.) Pilát. Data in the literature have reported that large amounts of these compounds, e.g., in reishi (*Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst.) and chaga (*Inonotus obliquus* (Ach. ex Pers.) Pilát). Terpenes exert primarily anti-inflammatory effects. Triterpenes isolated from *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst. and *Inonotus obliquus* (Ach. ex Pers.) Pilát reduced the secretion of pro-inflammatory cytokines in macrophages (such as $\text{TNF-}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$, and IL-6) and the inflammatory mediators of nitric oxide (NO) and prostaglandin E2 (PGE2) [84,85]. Similarly,

anti-inflammatory properties were exhibited by lanostane-type triterpene acids present in *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst., which, as shown by Akihisa et al. [85], inhibited the inflammatory process induced in mouse macrophages. In addition to anticholinesterase activity, the beneficial effects of mushroom terpenes have been reported in anticancer, antiviral, antimalarial, and antimalarial treatments [86,87]. The pharmacological effect of triterpenoids has been employed in the treatment of neurodegenerative diseases, including Alzheimer's disease [88].

2.7. Vitamins and Minerals

The nutritional value of medicinal mushrooms is also related to their high vitamin and micronutrient content. The vitamins present in mushrooms are mainly fat-soluble vitamins, including A and E, as well as vitamin D2 (ergocalciferol) and provitamin D2 (ergosterol). Interestingly, medicinal mushrooms are considered to be the only non-animal raw material that contains vitamin D [27,89]. Thanks to their tocopherol content, medicinal mushrooms exhibit antioxidant properties [89]. In addition, medicinal mushrooms are a very good source of water-soluble B vitamins (B1, B2, B3, B6, B9, B12) and vitamin C [19]. The vitamin B12 found in medicinal mushrooms was an analogue of that found in beef, fish, and liver, indicating its highly bioavailable. Therefore, mushrooms can be a valuable addition to vegetarian and vegan diets [90,91]. Shiitake is rich in vitamins that exhibit antioxidant properties such as A, E, and C [27]. Medicinal mushrooms are rich in valuable mineral elements, including K, P, Na, Ca, and Mg, and, in smaller amounts, Cu, Zn, Fe, Mo, and Cd [27,79]. Given the ability of fungi to accumulate such heavy metals as Cd, Pb, Ar, Cu, Ni, Ag, Cr, and Hg, it is important that they grow in the least contaminated environment possible [92].

3. Possibilities of Using Medicinal Mushrooms for Functional Food Production

Medicinal mushrooms and mushroom-derived preparations containing bioactive compounds are classified as nutraceuticals. According to the European Food Safety Agency, they can be used as supplements due to their health-promoting and disease-preventing activity [93]. The production of nutraceuticals requires a great deal of knowledge of the functional properties of individual mushroom species. Due to the possible presence of substances that are harmful to health, it is necessary to control the origin, cultivation conditions, and raw material processing in order to ensure the health and safety of nutraceutical products on the one hand and an adequate level of biologically active compounds on the other to guarantee the beneficial effects of its preparation on health [94]. Clinical studies have shown that the recommended dose of nutraceutical preparations varies depending on the diagnosis and the patient [95]. Currently, a variety of fungal preparations are commercially available, most commonly in the dry extract form. There is growing interest in exploring the possibility of using various medicinal mushroom preparations to develop functional foods. An example of a popular product with medicinal mushrooms such as Chaga (*Inonotus obliquus* (Ach. ex Pers.) Pilát), cordyceps (*Ophiocordyceps sinensis* (Berk.) G.H. Sung, J.M. Sung, Hywel-Jones & Spatafora), shiitake, lion's mane (*Hericium erinaceus* (Bull.) Pers.) or reishi (*Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst.) is coffee. Its consumption regulates blood pressure, prevents heartburn, stimulates mental performance, boosts energy, and strengthens the immune system and performance of the organism [96]. Some medicinal mushrooms have also been used to enrich cereals, meat, fish, and beverage products (Table 4). Of the mushrooms discussed so far, reishi (*Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst.) and shiitake (*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler) have been used most commonly. In all food products, the addition of dried and powdered mushrooms resulted in an increase in protein and the total and insoluble dietary fibre and significantly increased the micronutrient content [66]. The introduction of mushroom powder at 5% in such bakery products as bread and biscuits did not have adverse effects of their quality [97]. In the case of additions above 5%, a deterioration in texture was often noted not only in bread but also in pasta, yoghurt, and cured meats (Table 4). There is no information in the literature on the possibility of using turkey

tail (*Trametes versicolor* (L.) Lloyd), cordyceps (*Ophiocordyceps sinensis* (Berk.) G.H. Sung, J.M. Sung, Hywel-Jones and Spatafora), lion's mane (*Hericium erinaceus* (Bull.) Pers.), or Chaga (*Inonotus obliquus* (Ach. ex Pers.) Pilát) preparations for food enrichment. Given the high health-promoting potential of these mushrooms, further research into the possibility of developing new functional foods with the above-mentioned mushrooms is advisable. The effect on the addition of selected medicinal mushrooms on quality parameters and the chemical composition of food products is presented in Table 4. An important issue in the design and implementation of new food products is sensory quality. Scientific studies have shown that the addition of medicinal mushrooms to foods, especially in a crushed or powdered form, can have a negative effect on the taste, texture, flavour, colour, and appearance of products. The addition of alcoholic or aqueous mushroom extracts has a less negative impact on the sensory quality and, with a small amount (up to 4%), can even improve the selected sensory characteristics of products.

Table 4. Use of medicinal mushrooms for food enrichment.

Common Name	Latin Name	Product/ Size of Additive	Impact on Chemical Composition (~) Lack of Impact (↓) Decrease (↑) Increase	Impact on Quality Parameters	References
Reishi	<i>Ganoderma lucidum</i> (Curtis) P. Karst.	Smoked fish sausage 1% of crushed mushroom	(↑) Antioxidant properties (↑) Total phenol content: + (↓) Moisture: – (↑) Ash: + (↑) Protein: + (↓) Fat: – Fiber: +	(↑) Shelf life (↓) Texture Sensory evaluation: (↓) flavour, (↓) colour, (↓) taste, (↓) texture, (↓) appearance, (↓) overall	[98]
		1% of water extract	(↑) Antioxidant properties (↑) Total phenol content (↓) Moisture: – (↑) Ash (↓) Protein: – (~) Fat (↑) Fiber: +	(↑) Shelf life (↑) Texture - Sensory evaluation: (↑) flavour, (↑) colour, (↑) taste, (↑) texture, (~) appearance, (↑) overall	
		0.25% of spore	(↑) Antioxidant properties (↑) Total phenol content (↓) Moisture: – (↑) Ash (↑) Protein (↑) Fat (↓) Fiber	(↑) Shelf life (~) Texture Sensory evaluation: (↓) flavour, (↓) colour, (↓) taste, (↓) texture, (~) appearance, (↓) overall	
Reishi	<i>Ganoderma lucidum</i> (Curtis) P. Karst.	Pilzner beer 0.1–1.5 mL/L of alcohol extract		Sensory evaluation: (~) aroma (↑) taste (↑) body (↑) bitterness (↑) liveliness (↑) overall impression	[99]
Reishi	<i>Ganoderma lucidum</i> (Curtis) P. Karst.	Emulsion Type Sausage 1% of dried fruiting bodies	(↑) Antioxidant properties	Sensory evaluation: (~) texture – (↓) taste (↓) Colour – (↓) Smell (↓) Acceptability (~) Peroxide value (↑) Microbiological analysis +	[100]

Table 4. Cont.

Common Name	Latin Name	Product/ Size of Additive	Impact on Chemical Composition (~) Lack of Impact (↓) Decrease (↑) Increase	Impact on Quality Parameters	References
Reishi	<i>Ganoderma lucidum</i> (Curtis) P. Karst.	Bread 2/4/6/8% water extract		(↑) Baking loss (↓) Bitterness Sensory evaluation: (↑) 2–4%, (↓) 6–8% Texture: (~) 2–4% (↓) 6–8% –	[101]
Reishi	<i>Ganoderma lucidum</i> (Curtis) P. Karst.	Yoghurt 2% Industrial waste (residues from aqueous extraction)	(↑) anti-coli effect, (↑) against <i>E. coli</i>	(↓) Texture (↓) Taste	[102]
Reishi	<i>Ganoderma lucidum</i> (Curtis) P. Karst.	Semolina pasta enriched with 2.5 and 5% of mushroom powder	(~) Phenolic compounds (↑) ABTS antiradical properties (↑) Syringic acid (~) β-glucan content (~) Anticancer properties	Not analyzed	[103]
Lion's Mane	<i>Hericum erinaceus</i> (Bull.) Pers.	Semolina pasta enriched with 2.5 and 5% of mushroom powder	(~) Phenolic compounds (~) Antioxidant properties (~) ABTS antiradical properties (↑) Vanilin (~) β-glucan content (~) Anticancer properties	Not analyzed	[103]
Shiitake	<i>Lentinula edodes</i> (Berk.) Pegler	Biscuits with mushroom powder 10%	(↑) Protein (↑) Mineral (Fe, P, Zn, Ca) (↑) Total and insoluble dietary fibre	Sensory evaluation: (~) aroma, (~) colour, (~) texture, (~) shelf life	[104]
Shiitake	<i>Lentinula edodes</i> (Berk.) Pegler	Bread enriched with 5–15% addition of mushroom powder	(↑) Dietary fiber	Bread dough: (↑) water absorption; (↓) development time; (↓) stability; >5% decreased the dough strength Bread quality physical: (↓) loaf height; (↑) moisture content; (↓) specific volume; >5% (↑) bread's gumminess; >5% bread's (↑) hardness; (↓) porosity	[97]
		Pork patties 0–6% addition to mushroom powder	Not analyzed	(↑) texture +; (↑) juiciness +; (↑) moisture +	[105]
		Semolina pasta enriched with 5–15% addition of mushroom powder	Not analyzed	(↑) Cooking loss (~) Water absorption; (~) Moisture content; (~) Tensile strength; (↑) Firmness	[106]

4. Conclusions or Concluding Remarks

To date, a great deal of research has already been conducted into medicinal mushrooms; however, given the diversity of species and the amount of bioactive substances contained therein, this area still appears to be incompletely explored. It seems advisable to conduct research not only to isolate and identify the bioactive substances present in mushrooms but

also to conduct clinical experiments to confirm the therapeutic effect of these substances. Such studies could facilitate a determination of the dose and duration of use for mushroom nutraceuticals. Toxicological studies confirming the safety of medicinal mushrooms are also needed. In the context of using medicinal mushrooms for the development of functional foods, it is important to study the interactions between the biologically active compounds present in mushrooms and food ingredients. It is important to bear in mind that the components present in the food matrix may act synergistically or antagonistically with mycochemicals, increasing or reducing their beneficial physiological effects, respectively. Based on the analysis of available information and scientific research, it can be concluded that the addition of medicinal mushrooms to foods, especially cereal products, can make their chemical composition more attractive due to their great health-promoting properties and the presence of biologically active compounds. Medicinal mushrooms are known for their potential to improve immunity, regulate metabolism, and prevent many diseases. The abundance of polysaccharides, polyphenols, amino acids, and vitamins in medicinal mushrooms is a valuable source of biologically active compounds that can contribute to maintaining the health and well-being of the body. At the same time, further scientific research is needed to confirm these benefits and develop optimal methods for the addition of medicinal mushrooms to foods, taking into account technological, sensory, and food safety aspects.

Funding: This research was supported by project no. SD/54/TŻ/2022 provided by the University of Life Sciences in Lublin, Poland.

Institutional Review Board Statement: Not applicable.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: Data sharing not applicable.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Wani, A.; Bodha, R.H.; Wani, A.H. Nutritional and medicinal importance of mushrooms. *J. Med. Plants Res.* **2010**, *4*, 2598–2604. [[CrossRef](#)]
2. Feeney, M.J.; Miller, A.M.; Roupas, P. Mushrooms-Biologically Distinct and Nutritionally Unique: Exploring a “Third Food Kingdom”. *Nutr. Today* **2014**, *49*, 301–307. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Verma, A.K.; Prakash, S. Status of Animal Phyla in Different Kingdom Systems of Biological Classification. *Int. J. Biol. Innov.* **2020**, *2*, 149–154. [[CrossRef](#)]
4. Beulah, H.; Margret, A.A.; Nelson, J. Marvelous Medicinal Mushrooms. *Int. J. Pharma Bio Sci.* **2013**, *3*, 611–615.
5. Hyde, K.D. The numbers of fungi. *Fungal Divers.* **2022**, *114*, 1. [[CrossRef](#)]
6. Elkhateeb, W.A.; Daba, G.M.; Thomas, P.W.; Wen, T.-C. Medicinal Mushrooms as a Source of Natural Therapeutic Bioactive Compounds. *Egypt. Pharm. J.* **2019**, *18*, 145–155. [[CrossRef](#)]
7. Weaver, C.; Marr, E.T. White vegetables: A forgotten source of nutrients: Purdue roundtable executive summary. *Adv. Nutr.* **2013**, *4*, 318–326. [[CrossRef](#)]
8. Song, T.; Zhang, Z.; Liu, S.; Chen, J.; Cai, W. Effect of Cultured Substrates on the Chemical Composition and Biological Activities of Lingzhi or Reishi Medicinal Mushroom, *Ganoderma lucidum* (*Agaricomycetes*). *Int. J. Med. Mushrooms* **2020**, *22*, 1183–1190. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
9. Elkhateeb, W.A.; Daba, G.M. Medicinal mushroom: What should we know? *Int. J. Pharm. Chem. Anal.* **2022**, *9*, 1–9. [[CrossRef](#)]
10. Catani, F.; Gargano, M.L.; Procida, G.; Venturella, G.; Cirilione, F.; Ferraro, V. Mycochemicals in wild and cultivated mushrooms: Nutrition and health. *Phytochem. Rev.* **2022**, *21*, 339–383. [[CrossRef](#)]
11. Barros, L.; Baptista, P.; Estevinho, L.M.; Ferreira, I.C.F.R. Effect of Fruiting Body Maturity Stage on Chemical Composition and Antimicrobial Activity of *Lactarius* sp. Mushrooms. *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 8766–8771. [[CrossRef](#)]
12. Safin, R.R.; Gainullin, R.H.; Safina, A.V.; Gainullin, R.H. Methods for evaluating chaga extraction effectiveness based on its porosity change. *J. Phys. Conf. Ser.* **2022**, *2373*, 042007. [[CrossRef](#)]
13. Huang, G.; Cai, W.; Xu, B. Vitamin D2, Ergosterol, and Vitamin B2 Content in Commercially Dried Mushrooms Marketed in China and Increased Vitamin D2 Content Following UV-C Irradiation. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* **2017**, *87*, 237–246. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

14. Glamočlija, J.; Ćirić, A.; Nikolić, M.; Fernandes, Â.; Barros, L.; Calhelha, R.C.; Ferreira, I.C.F.R.; Soković, M.; van Griensven, L.J.L.D. Chemical characterization and biological activity of Chaga (*Inonotus obliquus*), a medicinal “mushroom”. *J. Ethnopharmacol.* **2015**, *162*, 323–332. [\[CrossRef\]](#)
15. Géry, A.; Dubreule, C.; André, V.; Rioult, J.P.; Bouchart, V.; Heutte, N.; Eldin de Pécoulas, P.; Krivomaz, T.; Garon, D. Chaga (*Inonotus obliquus*), a Future Potential Medicinal Fungus in Oncology? A Chemical Study and a Comparison of the Cytotoxicity Against Human Lung Adenocarcinoma Cells (A549) and Human Bronchial Epithelial Cells (BEAS-2B). *Integr. Cancer Ther.* **2018**, *17*, 832–843. [\[CrossRef\]](#)
16. Yang, F.Q.; Li, D.Q.; Feng, K.; Hu, D.J.; Li, S.P. Determination of nucleotides, nucleosides and their transformation products in Cordyceps by ion-pairing reversed-phase liquid chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A.* **2010**, *1217*, 5501–5510. [\[CrossRef\]](#)
17. Peng, H.; Shahidi, F. Qualitative Analysis of Secondary Metabolites of Chaga Mushroom (*Inonotus obliquus*): Phenolics, Fatty Acids, and Terpenoids. *J. Food Bioact.* **2022**, *17*, 56–57. [\[CrossRef\]](#)
18. Golianek, A.; Mazurkiewicz-Zapałowicz, K. Mushrooms in the human diet—Nutritional and pro-health value. *Kosmos* **2016**, *65*, 513–522.
19. Dimopoulou, M.; Kolonas, A.; Mourtakos, S.; Androutsos, O.; Gortzi, O. Nutritional Composition and Biological Properties of Sixteen Edible Mushroom Species. *Appl. Sci.* **2022**, *12*, 8074. [\[CrossRef\]](#)
20. Lu, Y.; Jia, Y.; Xue, Z.; Li, N.; Liu, J.; Chen, H. Recent Developments in *Inonotus obliquus* (Chaga mushroom) Polysaccharides: Isolation, Structural Characteristics, Biological Activities and Application. *Polymers* **2021**, *13*, 1441. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
21. Kyanko, M.V.; Canel, R.S.; Ludemann, V.; Pose, G.; Wagner, J.R. β -Glucan Content and Hydration Properties of Filamentous Fungi. *Prikl. Biokhim. Mikrobiol.* **2013**, *49*, 48–52. [\[CrossRef\]](#)
22. Parepalli, Y.; Chavali, M.; Sami, R.; Khojah, E.; Elhakem, A.; El Askary, A.; Singh, M.; Sinha, S.; El-Chaghaby, G. Evaluation of Some Active Nutrients, Biological Compounds and Health Benefits of Reishi Mushroom (*Ganoderma lucidum*). *Int. J. Pharmacol.* **2021**, *17*, 243–250. [\[CrossRef\]](#)
23. Chaturvedi, V.K.; Agarwal, S.; Gupta, K.K.; Ramteke, P.W.; Singh, M.P. Medicinal Mushroom: Boon for Therapeutic Applications. *3 Biotech* **2018**, *8*, 334. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
24. Martínez-Flores, H.E.; Maya-Cortés, D.C.; Figueroa-Cárdenas, J.D.; Garnica-Romo, M.G.; Ponce-Saavedra, J. Chemical composition and physicochemical properties of shiitake mushroom and high fiber products. *J. Food* **2009**, *7*, 7–14. [\[CrossRef\]](#)
25. Riaz, S.; Ahmad, A.; Farooq, R.; Ahmed, M.; Shaheryar, M.; Hussain, M. Edible Mushrooms, a Sustainable Source of Nutrition, Biochemically Active Compounds and Its Effect on Human Health. In *Current Topics in Functional Food*; IntechOpen: Rijeka, Croatia, 2022. [\[CrossRef\]](#)
26. Antunes, P.S.; Erpen-Dalla Corte, L.; Bueno, J.C.; Spinosa, W.A.; Resende, J.T.V.; Hata, F.T.; Cabrera, L.C.; Zeffa, D.M.; Gonçalves, L.S.; Constantino, L.V. Firmness and biochemical composition of Shiitake and Shimeji commercialized in natura and consumers’ opinion survey. *Hortic. Bras.* **2021**, *39*, 425–431. [\[CrossRef\]](#)
27. Reguła, J.; Siwulski, M. Dried Shiitake (*Lentinula edodes*) and Oyster (*Pleurotus ostreatus*) Mushrooms as a Good Source of Nutrient. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.* **2007**, *6*, 135–142.
28. Kivrak, I.; Kivrak, S.; Karababa, E. Assessment of Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of Turkey Tail Medicinal Mushroom *Trametes versicolor* (*Agaricomycetes*). *Int. J. Med. Mushrooms* **2020**, *22*, 559–571. [\[CrossRef\]](#)
29. Vetter, J. The Mushroom Glucans: Molecules of High Biological and Medicinal Importance. *Foods* **2023**, *12*, 1009. [\[CrossRef\]](#)
30. Valverde, M.E.; Hernandez-Perez, T.; Paredes-Lopez, O. Edible mushroom: Improving human health and promoting quality life. *Int. J. Microbiol.* **2015**, *2015*, 376387. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
31. Villares, A.; Mateo-Vivaracho, L.; Guillamón, E. Structural Features and Healthy Properties of Polysaccharides Occurring in Mushrooms. *Agriculture* **2012**, *2*, 452–471. [\[CrossRef\]](#)
32. Cerletti, C.; Esposito, S.; Iacoviello, L. Edible Mushrooms and Beta-Glucans: Impact on Human Health. *Nutrients* **2021**, *13*, 2195. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
33. Meng, Y.; Lyu, F.; Xu, X.; Zhang, L. Recent advances in chain conformation and bioactivities of triple-helix polysaccharides. *Biomacromolecules* **2020**, *21*, 1653–1677. [\[CrossRef\]](#)
34. Rop, O.; Mlcek, J.; Jurikova, T. Beta-glucans in higher fungi and their health effects. *Nutr. Rev.* **2009**, *67*, 624–631. [\[CrossRef\]](#)
35. Falch, B.H.; Espevik, T.; Ryan, L.; Stokke, B.T. The cytokine stimulating activity of (1 $\rightarrow$ 3)-beta-D-glucans is dependent on the triple helix conformation. *Carbohydr. Res.* **2000**, *329*, 587–596. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
36. Sletmoen, M.; Stokke, B.T. Higher order structure of (1,3)-beta-D-glucans and its influence on their biological activities and complexation abilities. *Biopolymers* **2008**, *89*, 310–321. [\[CrossRef\]](#)
37. Brown, G.D.; Gordon, S. Fungal beta-glucans and mammalian immunity. *Immunity* **2003**, *19*, 311–315. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
38. Nitschke, J.; Modick, H.; Busch, E.; von Rekowski, R.W.; Altenbach, H.J.; Mölleken, H. A New Colorimetric Method to Quantify β -1,3-1,6-Glucans in Comparison with Total β -1,3-Glucans in Edible Mushrooms. *Food Chem.* **2011**, *127*, 791–796. [\[CrossRef\]](#)
39. Rasmy, G.E.; Botros, W.A.; Kabeil, S.; Daba, A.S. Preparation of Glucan from *Lentinula edodes* Edible Mushroom and Elucidation of Its Medicinal Value. *Aust. J. Basic Appl. Sci.* **2010**, *4*, 5717–5726.
40. Mironczuk-Chodakowska, I.; Witkowska, A.M. Evaluation of Polish Wild Mushrooms as Beta-Glucan Sources. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2020**, *17*, 7299. [\[CrossRef\]](#)

41. Trivedi, S.; Patel, K.; Belgamwar, V.; Wadher, K. Functional polysaccharide lentinan: Role in anti-cancer therapies and management of carcinomas. *Pharmacol. Res. Mod. Chin. Med.* **2022**, *2*, 100045. [\[CrossRef\]](#)
42. Wu, J.-Y.; Siu, K.-C.; Geng, P. Bioactive Ingredients and Medicinal Values of *Grifola frondosa* (Maitake). *Foods* **2021**, *10*, 95. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
43. Del Cornò, M.; Gessani, S.; Conti, L. Shaping the Innate Immune Response by Dietary Glucans: Any Role in the Control of Cancer? *Cancers* **2020**, *12*, 155. [\[CrossRef\]](#)
44. Song, H.-N. Functional Cordyceps Coffee Containing Cordycepin and β -Glucan Hyo-Nam Song. *Prev. Nutr. Food Sci.* **2020**, *25*, 184–193. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
45. Sari, M.; Prange, A.; Lelley, J.I.; Hambitzer, R. Screening of beta-glucan contents in commercially cultivated and wild growing mushrooms. *Food Chem.* **2017**, *216*, 45–51. [\[CrossRef\]](#)
46. Yuan, M.; Li, C.; Xiao, X.; Wan, D.; Xi, B.; Jiang, X.; Zhang, J. Effect of lentinan on proliferation and apoptosis of human astrocytoma U251 cells. *Pol J Pathol.* **2023**, *3*, 47758. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
47. Ataollahi, H.; Larypoor, M. Fabrication and investigation potential effect of lentinan and docetaxel nanofibers for synergistic treatment of breast cancer in vitro. *Polym. Adv. Technol.* **2022**, *33*, 1468–1480. [\[CrossRef\]](#)
48. Wang, Z.; Qu, K.; Zhou, L.; Ren, L.; Ren, B.; Meng, F.; Yu, W.; Wang, H.; Fan, H. Apaf1 NanoLuc biosensors identified lentinan as a potent synergizer of cisplatin in targeting hepatocellular carcinoma cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2021**, *577*, 45–51. [\[CrossRef\]](#)
49. Abascal, K.Y.; Yarnell, E. A turkey tail polysaccharide as an immunochemotherapy agent in cancer. *Altern. Complement. Ther.* **2007**, *13*, 178–182. [\[CrossRef\]](#)
50. Thuy, D.T.P.; Anh, T.T.N.; Thuy, N.T.T.; Intaparn, P.; Tapingkae, T.; Mai, N.T. Simple and Efficient Method for the Detection and Quantification of Cordycepin Content in Cordyceps. *Chiang Mai J. Sci.* **2021**, *48*, 420–428.
51. Karishma, R.; Rachana, M. Potential Secondary Bioactive Compounds of *Ganoderma lucidum* (Reishi Mushroom) against Various Pathogenic Activity. *Pharmacologyonline* **2021**, *3*, 1923–1944.
52. Ahmad, M.F. *Ganoderma lucidum*: Persuasive biologically active constituents and their health endorsement. *Biomed. Pharmacother.* **2018**, *107*, 507–519. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
53. Turlo, J. Large-flowered mushrooms—An underestimated source of medicinal substances. *Stud. I Mater. CEPL* **2015**, *17*, 138–151.
54. Thongbai, B.; Rapior, S.; Hyde, K.D.; Wittstein, K.; Stadler, M. *Heridium erinaceus*, an Amazing Medicinal Mushroom. *Mycol. Prog.* **2015**, *14*, 91. [\[CrossRef\]](#)
55. Doi, N.; Araki, K.; Fukuta, Y.; Kuwagaito, Y.; Yamauchi, Y.; Sasai, Y.; Kondo, S.; Kuzuya, M. Anti-glycation and antioxidant effects of Chaga mushroom decoction extracted with a fermentation medium. *Food Sci. Technol. Res.* **2023**, *29*, 155–161. [\[CrossRef\]](#)
56. Liu, Y.; Wang, J.; Wang, W.; Zhang, H.; Zhang, X.; Han, C. The Chemical Constituents and Pharmacological Actions of Cordyceps sinensis. *Evid. Based Complement. Altern. Med.* **2015**, *2015*, 575063. [\[CrossRef\]](#)
57. Wang, M.; Meng, X.Y.; Yang, R.L.; Qin, T.; Wang, X.Y.; Zhang, K.Y.; Fei, C.Z.; Li, Y.; Hu, Y.L.; Xue, F.Q. Cordyceps militaris polysaccharides can enhance the immunity and antioxidation activity in immunosuppressed mice. *Carbohydr. Polym.* **2012**, *89*, 461–466. [\[CrossRef\]](#)
58. Zhao, C.S.; Yin, W.T.; Wang, J.Y.; Zhang, Y.; Yu, H.; Cooper, R.; Smidt, C.; Zhu, J.S. CordyMax Cs-4 improves glucose metabolism and increases insulin sensitivity in normal rats. *J. Altern. Complement. Med.* **2002**, *8*, 309–314. [\[CrossRef\]](#)
59. Yan, X.-F.; Zhang, Z.-M.; Yao, H.-Y.; Guan, Y.; Zhu, J.-P.; Zhang, L.-H.; Jia, Y.-L.; Wang, R.-W. Cardiovascular protection and antioxidant activity of the extracts from the mycelia of Cordyceps sinensis act partially via adenosine receptors. *Phytother. Res.* **2013**, *27*, 1597–1604. [\[CrossRef\]](#)
60. Vetvicka, V.; Vetvickova, J. Immune-Enhancing Effects of Maitake (*Grifola frondosa*) and Shiitake (*Lentinula edodes*) Extracts. *Ann. Transl. Med.* **2014**, *2*, 14. [\[CrossRef\]](#)
61. Miletić, D.; Turlo, J.; Podsadni, P.; Sknepnek, A.; Szczepańska, A.; Lević, S.; Nedović, V.; Nikšić, M. Turkey Tail Medicinal Mushroom, *Trametes versicolor* (*Agaricomycetes*), Crude Exopolysaccharides with Antioxidative Activity. *Int. J. Med. Mushrooms* **2020**, *22*, 885–895. [\[CrossRef\]](#)
62. Benson, K.F.; Stamets, P.; Davis, R.; Nally, R.; Taylor, A.; Slater, S.; Jensen, G.S. The mycelium of the *Trametes versicolor* (Turkey tail) mushroom and its fermented substrate each show potent and complementary immune activating properties in vitro. *BMC Complement. Altern. Med.* **2019**, *19*, 342. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
63. Landi, N.; Clemente, A.; Pedone, P.V.; Ragucci, S.; Di Maro, A. An Updated Review of Bioactive Peptides from Mushrooms in a Well-Defined Molecular Weight Range. *Toxins* **2022**, *14*, 84. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
64. Sousa, A.S.; Araújo-Rodrigues, H.; Pintado, M.E. The health-promoting potential of edible mushroom proteins. *Current Pharm. Des.* **2023**, *29*, 804–823. [\[CrossRef\]](#)
65. El-Maradny, Y.A.; El-Fakharany, E.M.; Abu-Serie, M.M.; Hashish, M.H.; Selim, H.S. Lectins purified from medicinal and edible mushrooms: Insights into their antiviral activity against pathogenic viruses. *Int. J. Biol. Macromol.* **2021**, *179*, 239–258. [\[CrossRef\]](#)
66. Singh, R.S.; Kaur Preet, H.; Kanwar, J.R. Mushroom lectins as promising anticancer substances. *Curr. Protein Pept. Sci.* **2016**, *17*, 797–807. [\[CrossRef\]](#)
67. Li, F.; Wen, H.; Zhang, Y.; Aa, M.; Liu, X. Purification and characterization of a novel immunomodulatory protein from the medicinal mushroom *Trametes versicolor*. *Sci. China Life Sci.* **2011**, *54*, 379–385. [\[CrossRef\]](#)

68. Qi, W.; Zhang, Y.; Yan, Y.B.; Lei, W.; Wu, Z.X.; Liu, N.; Liu, S.; Shi, L.; Fan, Y. The Protective Effect of Cordymin, a Peptide Purified from the Medicinal Mushroom *Cordyceps sinensis*, on Diabetic Osteopenia in Alloxan-Induced Diabetic Rats. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* **2013**, *2013*, 985636. [\[CrossRef\]](#)
69. Thatoi, H.; Singdevsachan, S.K. Diversity, Nutritional Composition and Medicinal Potential of Indian Mushrooms: A Review. *Afr. J. Biotechnol.* **2014**, *13*, 523–545. [\[CrossRef\]](#)
70. Pop, R.M.; Puia, I.C.; Puia, A.; Chedea, V.S.; Leopold, N.; Bocsan, I.C.; Buzoianu, A.D. Characterization of *Trametes versicolor*: Medicinal Mushroom with Important Health Benefits. *Not. Bot. Horti Agrobi.* **2018**, *46*, 343–349. [\[CrossRef\]](#)
71. Tagkouli, D.; Kaliora, A.; Bekiaris, G.; Koutrotsios, G.; Christea, M.; Zervakis, G.I.; Kalogeropoulos, N. Free Amino Acids in Three *Pleurotus* Species Cultivated on Agricultural and Agro-Industrial By-Products. *Molecules* **2020**, *25*, 4015. [\[CrossRef\]](#)
72. Guo, L.-X.; Xu, X.-M.; Wu, C.-F.; Lin, L.; Zou, S.-C.; Luan, T.-G.; Yuan, J.-P.; Wang, J.-H. Fatty acid composition of lipids in wild *Cordyceps sinensis* from major habitats in China. *Biomed. Prev. Nutr.* **2012**, *2*, 42–50. [\[CrossRef\]](#)
73. Kim, J.-H.; Hubbard, N.E.; Ziboh, V.; Kelly, L. Erickson. Conjugated Linoleic Acid Reduction of Murine Mammary Tumor Cell Growth through 5-Hydroxyeicosatetraenoic. *Acid. Biochim. Biophys. Acta* **2005**, *1687*, 103–109. [\[CrossRef\]](#)
74. Urbain, P.; Singler, F.; Ihorst, G.; Biesalski, H.K.; Bertz, H. Bioavailability of vitamin D2 from UV-B-irradiated button mushrooms in healthy adults deficient in serum 25-hydroxyvitamin D: A randomized controlled trial. *Eur. J. Clin. Nutr.* **2011**, *65*, 965–971. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
75. Zheng, J.; Wang, Y.; Wang, J.; Liu, P.; Li, J.; Zhu, W. Antimicrobial Ergosteroids and Pyrrole Derivatives from Halotolerant *Aspergillus flocculosus* PT05-1 Cultured in a Hypersaline Medium. *Extremophiles* **2013**, *17*, 963–971. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
76. Yang, L.-Y.; Huang, W.-J.; Hsieh, H.-G.; Lin, C.-Y. H1-A Extracted from *Cordyceps sinensis*, Suppresses the Proliferation of Human Mesangial Cells and Promotes Apoptosis, Probably by Inhibiting the Tyrosine Phosphorylation of Bcl-2 and Bcl-XL. *J. Lab. Clin. Med.* **2003**, *141*, 74–83. [\[CrossRef\]](#)
77. Ahmed, A.F.; Mahmoud, G.A.-E.; Hefzy, M.; Liu, Z.; Ma, C. Overview on the edible mushrooms in Egypt. *J. Future Foods* **2023**, *3*, 8–15. [\[CrossRef\]](#)
78. Sharpe, E.; Farragher-Gnadt, A.; Igbunugo, M.; Huber, T.; Michelotti, J.C.; Milenkowic, A.; Ludlam, S.; Walker, M.; Hanes, D.; Bradley, R.; et al. Comparison of Antioxidant Activity and Extraction Techniques for Commercially and Laboratory Prepared Extracts from Six Mushroom Species. *J. Agric. Food Res.* **2021**, *4*, 100130. [\[CrossRef\]](#)
79. Das, A.K.; Nanda, P.K.; Dandapat, P.; Bandyopadhyay, S.; Gullón, P.; Sivaraman, G.K.; McClements, D.J.; Gullón, B.; Lorenzo, J.M. Edible Mushrooms as Functional Ingredients for Development of Healthier and More Sustainable Muscle Foods: A Flexitarian Approach. *Molecules* **2021**, *26*, 2463. [\[CrossRef\]](#)
80. Podkowa, A.; Kryczyk-Poprawa, A.; Opoka, W.; Kozarski, M.; Wróbel, M.S. Culinary–Medicinal Mushrooms: A Review of Organic Compounds and Bioelements with Antioxidant Activity. *Eur. Food Res. Technol.* **2021**, *247*, 513–533. [\[CrossRef\]](#)
81. Ma, G.; Yang, W.; Zhao, L.; Pei, F.; Fang, D.; Hu, Q. A critical review on the health promoting effects of mushrooms nutraceuticals. *Food Sci. Hum. Wellness* **2018**, *7*, 125–133. [\[CrossRef\]](#)
82. Taşkın, H.; Süfer, Ö.; Attar, S.H.; Kılıç, Ö.; Güzel, M.; Atakol, O. Total Phenolics, Antioxidant Activities and Fatty Acid Profiles of Six *Morchella* Species. *J. Food Sci. Technol.* **2021**, *58*, 692–700. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
83. Saltarelli, R.; Palma, F.; Gioacchini, A.M.; Bucchini, A.; Chiarini, A.; Pellegrini, A.; Rocchi, M.B.L.; Stocchi, V. Phytochemical Composition, Antioxidant and Antiproliferative Activities and Effects on Nuclear DNA of Ethanolic Extract from an Italian Mycelial Isolate of *Ganoderma lucidum*. *J. Ethnopharmacol.* **2019**, *231*, 464–473. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
84. Van, Q.; Nayak, B.N.; Reimer, M.; Jones, P.J.H.; Fulcher, R.G.; Rempel, C.B. Anti-inflammatory effect of *Inonotus obliquus*, *Polygala senega* L.; and *Viburnum trilobum* in a cell screening assay. *J. Ethnopharmacol.* **2009**, *125*, 487–493. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
85. Akihisa, T.; Nakamura, Y.; Tagata, M.; Tokuda, H.; Yasukawa, K.; Uchiyama, E.; Suzuki, T.; Kimura, Y. Anti-Inflammatory and Anti-Tumor-Promoting Effects of Triterpene Acids and Sterols from the Fungus *Ganoderma lucidum*. *Chem. Biodivers.* **2007**, *4*, 105–255. [\[CrossRef\]](#)
86. Wang, S.; Bao, L.; Zhao, F.; Wang, Q.; Li, S.; Ren, J.; Li, L.; Wen, H.; Guo, L. Isolation, Identification, and Bioactivity of Monoterpenoids and Sesquiterpenoids from the Mycelia of Edible Mushroom *Pleurotus cornucopiae*. *J. Agric. Food Chem.* **2013**, *61*, 5122–5129. [\[CrossRef\]](#)
87. Dasgupta, A.; Acharya, K. Mushrooms: An Emerging Resource for Therapeutic Terpenoids. *3 Biotech.* **2019**, *9*, 369. [\[CrossRef\]](#)
88. Zhang, X.; Zhang, S.; Yang, Y.; Wang, D.; Gao, H. Natural barrigenol-like triterpenoids: A comprehensive review of their contributions to medicinal chemistry. *Phytochemistry* **2019**, *161*, 41–74. [\[CrossRef\]](#)
89. Teichmann, A.; Dutta, P.C.; Staffas, A.; Jägerstad, M. Sterol and vitamin D2 concentrations in cultivated and wild grown mushrooms: Effects of UV irradiation. *LWT Food Sci. Technol.* **2007**, *40*, 815–822. [\[CrossRef\]](#)
90. Feeney, M.J.; Dwyer, J.; Hasler-Lewis, C.M.; Milner, J.A.; Noakes, M.; Rowe, S.; Wach, M.; Beelman, R.B.; Caldwell, J.; Cantorna, M.T.; et al. Mushrooms and Health Summit Proceedings. *J. Nutr.* **2014**, *144*, 1128S–1136S. [\[CrossRef\]](#)
91. Gründemann, C.; Reinhardt, J.K.; Lindequist, U. European medicinal mushrooms: Do they have potential for modern medicine?—An update. *Phytomedicine* **2020**, *66*, 153131. [\[CrossRef\]](#)
92. Waktola, G.; Temesgen, T. Application of Mushroom as Food and Medicine. *Adv. Biotechnol. Microbiol.* **2018**, *11*, 555817. [\[CrossRef\]](#)
93. Sachdeva, V.; Roy, A.; Bharadvaja, N. Current Prospects of Nutraceuticals: A Review. *Curr. Pharm. Biotechnol.* **2020**, *21*, 884–896. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
94. Benkeblia, N. *Polysaccharides Natural Fibres in Food and Nutrition*; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 2014. [\[CrossRef\]](#)

95. Rathore, H.; Prasad, S.; Sharma, S. Mushroom Nutraceuticals for Improved Nutrition and Better Human Health: A Review. *PharmaNutrition* **2017**, *5*, 35–46. [[CrossRef](#)]
96. Krzystyniak, K.L.; Klonowska, J. *New Trends in Dietetics*; University of Engineering and Health: Warsaw, Poland, 2019; p. 27. ISBN 978-83-942432-4-1.
97. Lu, X.; Brennan, M.A.; Serventi, L.; Brennan, C.S. Incorporation of Mushroom Powder into Bread Dough—Effects on Dough Rheology and Bread Properties. *Cereal Chem.* **2018**, *95*, 418–427. [[CrossRef](#)]
98. Wannasupchue, W.; Siriamornpun, S.; Huaisan, K.; Huaisan, J.; Meeso, N. Effect of Adding Ling-zhi (*Ganoderma lucidum*) on Oxidative Stability, Textural and Sensory Properties of Smoked Fish Sausage. *Thai J. Agric. Sci.* **2011**, *44*, 505–512.
99. Leskosek-Cukalovic, I.; Despotovic, S.; Lakic, N.; Niksic, M.; Nedovic, V.; Tesevic, V. *Ganoderma lucidum*—Medical Mushroom as a Raw Material for Beer with Enhanced Functional Properties. *Food Res. Int.* **2010**, *43*, 2262–2269. [[CrossRef](#)]
100. Ghobadi, R.; Mohammadi, R.; Chabavizade, J.; Sami, M. Effect of *Ganoderma lucidum* Powder on Oxidative Stability, Microbial and Sensory Properties of Emulsion Type Sausage. *Adv. Biomed. Res.* **2018**, *7*, 135. [[CrossRef](#)]
101. Chung, H.C.; Lee, J.T.; Kwon, O.J. Bread Properties Utilizing Extracts of *Ganoderma lucidum* (GL). *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **2004**, *33*, 1201–1205. [[CrossRef](#)]
102. Jovanović, M.; Vojvodić, P.; Petrović, M.; Radić, D.; Mitić-Ćulafić, D.; Kostić, M.; Veljović, S. Yogurt Fortified with GABA-Producing Strain and *Ganoderma lucidum* Industrial Waste. *Czech J. Food Sci.* **2022**, *40*, 456–464. [[CrossRef](#)]
103. Szydłowska-Tutaj, M.; Szymanowska, U.; Tutaj, K.; Domagała, D.; Złotek, U. The Addition of Reishi and Lion’s Mane Mushroom Powder to Pasta Influences the Content of Bioactive Compounds and the Antioxidant, Potential Anti-Inflammatory, and Anticancer Properties of Pasta. *Antioxidants* **2023**, *12*, 738. [[CrossRef](#)]
104. Singh, J.; Sindhu, S.C.; Sindhu, A.; Yadav, A. Development and Evaluation of Value Added Biscuits from Dehydrated Shiitake (*Lentinus edodes*) Mushroom. *Int. J. Curr. Res.* **2016**, *8*, 27155–27159.
105. Chun, S.; Chambers, E., IV.; Chambers, D. Perception of Pork Patties with Shiitake (*Lentinus edodes*) Mushroom Powder and Sodium Tripolyphosphate as Measured by Korean and United States Consumers. *J. Sens. Stud.* **2005**, *20*, 156–166. [[CrossRef](#)]
106. Lu, X.; Brennan, M.A.; Serventi, L.; Mason, S.; Brennan, C.S. How the Inclusion of Mushroom Powder Can Affect the Physico-chemical Characteristics of Pasta. *Int. J. Food Sci. Technol.* **2016**, *51*, 2433–2439. [[CrossRef](#)]

Disclaimer/Publisher’s Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

Article

The Impact of *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst. Supplementation on the Technological, Chemical, and Quality Parameters of Wheat Bread

Paulina Łysakowska ¹, Aldona Sobota ^{1,*}, Anna Wirkijowska ¹, Piotr Zarzycki ¹ and Agata Blicharz-Kania ²

¹ Department of Engineering and Cereal Technology, Faculty of Food Science and Biotechnology, University of Life Sciences in Lublin, Skromna Street, 20-704 Lublin, Poland; paulina.lysakowska@up.lublin.pl (P.Ł.); anna.wirkijowska@up.lublin.pl (A.W.); piotr.zarzycki@up.lublin.pl (P.Z.)

² Department of Biological Bases of Food and Feed Technologies, Faculty of Production Engineering, University of Life Sciences in Lublin, Głęboka Street, 20-612 Lublin, Poland; agata.kania@up.lublin.pl

* Correspondence: aldona.sobota@up.lublin.pl

Abstract: This study explores the incorporation of *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst. (Reishi mushroom) into wheat bread to develop a functional food with enhanced nutritional value. Reishi powder was added to bread formulations at levels of 3%, 6%, 9%, and 12% to assess its effects on physicochemical, nutritional, and sensory properties. The 12% Reishi supplementation resulted in a twofold increase in total dietary fibre (from 7.21 g to 17.08 g per 100 g dry matter) and significant ($p < 0.05$) elevations in mineral content, particularly calcium (68%), iron (32%), and manganese (61.9%). Carbohydrate content decreased markedly by 27%, contributing to a 19.33% reduction in caloric value. Reishi addition improved bread yield and reduced baking losses, enhancing production efficiency. However, higher Reishi levels negatively impacted bread volume, possibly due to interference with gluten network formation. An increase in crumb moisture was observed, contributing to extended freshness. Sensory evaluation revealed that loaves of bread containing up to 6% Reishi were acceptable to consumers, whereas higher levels detrimentally affected flavour and aroma. Therefore, Reishi-enriched bread, particularly with 6% supplementation, presents a promising functional alternative to conventional wheat bread, optimising nutritional benefits while maintaining consumer acceptability.

Keywords: functional foods; bakery product; medical mushrooms; Reishi; dietary fibre; antioxidant properties



Citation: Łysakowska, P.; Sobota, A.; Wirkijowska, A.; Zarzycki, P.; Blicharz-Kania, A. The Impact of *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst. Supplementation on the Technological, Chemical, and Quality Parameters of Wheat Bread. *Foods* **2024**, *13*, 3101. <https://doi.org/10.3390/foods13193101>

Academic Editor: Antonella Pasqualone

Received: 11 September 2024

Revised: 23 September 2024

Accepted: 27 September 2024

Published: 28 September 2024



Copyright: © 2024 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

In recent years, there has been a growing interest in enriching traditional food products, such as wheat bread, with health-promoting components to meet the demands of consumers seeking functional foods. One promising approach in this regard is the incorporation of *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst., commonly known as Reishi or Lingzhi, into wheat bread. This mushroom, highly valued in traditional Chinese medicine for its health-enhancing properties, contains approximately 400 bioactive compounds, including polysaccharides such as beta-glucans and heteropolysaccharides (glucose, galactose, fructose, mannose, arabinose); triterpenoids such as ganoderic acid, lucidenic acid, ganoderol, and ganoderadiol; sterols like ergosterol and lanosterol; as well as micro- and macroelements such as selenium, potassium, and magnesium. The richness of these substances suggests a potentially wide range of health benefits [1]. Reishi primarily exhibits anticancer properties by enhancing the activity of NK (natural killer) cells and lymphocytes, which effectively support the immune system in combating cancer cells. Furthermore, this mushroom is known for its hepatoprotective and antioxidant properties, which manifest in reducing oxidative stress and promoting liver regeneration. Reishi also has potent

immunomodulatory effects, increasing T-cell counts and improving immune responses, which is beneficial in the treatment of allergies and chronic diseases. Additionally, studies have confirmed its antidiabetic effects, which are reflected in the reduction in HbA1c levels in patients with type 2 diabetes [2–5]. The nutritional value of Reishi depends on cultivation conditions, the part of the mushroom used, extraction methods, and the country of origin, all of which influence the content of bioactive compounds and its biological activity. The macronutrient content of Reishi can vary depending on the growing and processing conditions: protein, 7–28.6%; lipids, 1.52–5.8%; carbohydrates, 5.41–63.27%; and dietary fibre, 7.77–76.81% [3,6,7]. Moreover, Reishi may positively affect gut microbiota health and potentially regulate cortisol levels, which could support the body's adaptation to stress [7,8]. Additionally, research on the thermal processing of Reishi suggests that roasting dried fruiting bodies increases their antioxidant capacity and β -glucan availability, potentially enhancing their prebiotic properties and ability to neutralise free radicals [9]. Reishi also holds potential as a functional ingredient in the pharmaceutical and nutraceutical industries, particularly in the context of research on COVID-19 prevention [10]. Introducing Reishi into wheat bread may open new possibilities for the development of bakery products that address contemporary dietary and environmental challenges while offering consumers potential health benefits [11]. Wheat bread, a dietary staple worldwide, not only provides energy but also serves as an important source of carbohydrates, dietary fibre, B vitamins, and mineral elements. Its global consumption underscores its widespread importance and crucial role in human nutrition [12]. The history of wheat bread, which spread globally and became a key element of the human diet, is closely linked to the domestication and development of bread wheat (*Triticum aestivum*), a process that began around 8500–9000 years ago [13]. The hybridisation and evolution of wheat have led to today's diversity of bread types, which are tailored to different dietary preferences and nutritional needs. In response to these challenges, the bakery industry is turning to innovations, such as enriching wheat bread with health-promoting ingredients, among which *Ganoderma lucidum* presents itself as a promising additive. The presence of polysaccharides, triterpenoids, sterols, and micro- and macroelements in Reishi could contribute to the enhanced nutritional value of wheat bread while simultaneously offering health benefits [2,3,5]. Reishi's adaptogenic properties, supporting the body's adaptation to stress, may further contribute to improving consumers' overall health. In light of challenges related to bread waste and the need to increase its health benefits, the use of innovative ingredients like Reishi may represent a crucial step in optimising bread production.

There is a lack of reports in the literature regarding the fortification of traditional wheat bread with Reishi powder. Previous research has largely concentrated on the use of Reishi extracts, which have been shown to reduce baking losses, with lower concentrations proving acceptable from a sensory standpoint [7]. However, the incorporation of ground *Ganoderma lucidum* fruiting bodies into bread remains insufficiently studied. Consequently, this investigation, which explores the addition of Reishi powder, is particularly significant as it fills this gap in the existing body of knowledge. It also provides important insights into the effects of whole Reishi fruiting bodies on the quality parameters, physicochemical properties, sensory attributes, and antioxidant potential of bread. The results could facilitate the wider application of medicinal mushrooms in the bakery sector.

2. Materials and Methods

2.1. Materials

For this study, type 750 wheat flour produced by Polskie Młyny (Warsaw, Poland) was used. The characteristics of this flour included the following: ash content at 0.74% dry matter, wet gluten content of $27.5\% \pm 1.0$, gluten index 99.0 ± 0.3 , falling number of $304 \text{ s} \pm 6$, and an average particle size of 0.12 mm. As an additive for the bread, powdered Reishi mushroom (*Ganoderma lucidum*) (NatVita, Mirków, Poland) was used. Both raw materials were stored in dark, airtight containers at temperatures below 25 °C and a relative

humidity of 60–65%. These storage conditions were maintained prior to both the baking process and the chemical analysis of the raw materials and bread.

2.2. Farinographic Characteristics of Dough

Various farinographic parameters of type 750 wheat flour and wheat flour with the addition of 3%, 6%, 9%, and 12% Reishi mushroom powder were analysed. The examined parameters included dough development time (DDT), water absorption (WA), dough stability time (ST), dough softening degree (DS), and farinograph quality number (FQN). Measurements were taken using a Farinograph-E device (Brabender, model 8110142, Duisburg, Germany) following the AACC 54-21 procedure [14]. Each parameter was measured three times for each sample.

2.3. Bread Production Process

Five different bread formulations were prepared, including a loaf of control bread (CON) made from 100% wheat flour and loaves of bread in which the wheat flour was replaced with 3%, 6%, 9%, and 12% Reishi powder, labelled in the experimental model as BR3, BR6, BR9, and BR12, respectively. The complete bread recipe included 600 g of wheat flour or a blend of wheat flour and Reishi powder, 9 g (1.5%) of table salt, 18 g (3%) of compressed yeast (*Saccharomyces cerevisiae*), and an amount of water precisely determined based on the water absorption (WA) measured at a consistency of 500 Brabender units. This preparation method allowed for the precise monitoring of the impact of ingredient proportions on the final bread characteristics. The methodology described by Wirkijowska et al. (2020) [15] was employed for the bread preparation. The dough-making process followed a single-phase method. First, the dough ingredients were combined in a BEAR Varimixer Teddy 5 L (Varimixer A/S, Copenhagen, Denmark) for approximately 3 min at low mixer speed, followed by an increase in speed, with the dough mixed for a farinographically determined development time to ensure full gluten network development. Fermentation was carried out in a proofer (Tefi Klima, pro 100, Debag, Bautzen, Germany) at a temperature of 30 °C and relative humidity of $85 \pm 2\%$ for 90 min. After 60 min, intermediate punching of the dough was performed, and the dough was then divided into three portions weighing $290 \text{ g} \pm 5 \text{ g}$. The portions were hand-shaped and placed in baking tins measuring $18 \times 7.5 \times 7.0 \text{ cm}$. The dough was left to proof for 30 min in the proofer at 30 °C and $85 \pm 2\%$ relative humidity. The fermentation time was monitored for each sample. The fermented dough was then baked in a baking oven (Helios, pro 100, Debag, Germany) at 230 °C for 30 min. After baking, the loaves were cooled for one hour at room temperature and then individually packed in polyethylene bags and stored at room temperature (20 °C, 50% humidity) prior to quality evaluation. This procedure ensured the reliability of the research process and a comprehensive analysis of the bread's characteristics.

2.4. Evaluation of Bread Quality

Five hours after cooling, the bread's characteristics were analysed, including bread yield, calculated using Equation (1); mass loss, determined using Equation (2); bread volume, measured by mustard seed displacement according to AACC method 10-05.010; specific volume ($\text{cm}^3/100 \text{ g}$), calculated as the ratio of bread volume to its weight; and crumb moisture content, determined according to AACC method 44-15.02. All analyses were performed in triplicate.

$$BY = \frac{W_1}{W_2} \times 100\% \quad (1)$$

$$BL = \frac{W_3 - W_1}{W_3} \times 100\% \quad (2)$$

where *BY* denotes the bread yield, W_1 represents the mass of the baked bread (measured one hour after removal from the oven), W_2 is the mass of the flour used for the specific loaf of bread, *BL* indicates the mass loss during baking, and W_3 refers to the mass of the dough weighed immediately before placing it in the oven.

2.5. Bread Porosity

To analyse the porosity of the bread crumb, a VHX-7000N digital microscope (Keyence Corporation, Osaka, Japan) was employed at a magnification of $\times 20$ – 100 . The porous structure analysis involved evaluating the number, size, and uniformity of pores within the internal structure of the bread. The microscope facilitated the acquisition of detailed images of the sample. The number of pores was counted based on images taken from randomly selected areas of the crumb (3×3 cm), allowing for an assessment of the bread's aerated structure. The pore size was measured by determining the diameters of individual voids, providing insights into the uniform distribution of gases during fermentation and baking. Additionally, the uniformity of pore distribution across the sample was analysed, which was crucial for evaluating the consistency of the crumb's structure. The porosity measurement results served as a significant indicator of bread quality, enabling an assessment of its texture and consistency.

2.6. Evaluation of Bread Colour Parameters

The bread colour parameters were evaluated following the methodology described by Wirkijowska et al. (2023) [16]. The colour of the bread crumb was measured using a spherical spectrophotometer (Chroma Meter CR-5, Konica Minolta, Sakai, Osaka, Japan), and the L^* , a^* , and b^* values were expressed in the CIE Lab colour space. The L^* value represents the lightness of the colour (ranging from 0 to 100, from black to white), the a^* value indicates redness with positive values and greenness with negative values, and the b^* value represents yellowness with positive values and blueness with negative values. The spectrophotometer was calibrated using standard black and white plates, and measurements were performed 10 times for each sample. The total colour difference (ΔE^*) between the control sample and the enriched bread loaves was calculated according to Equation (3). Additionally, for each bread sample, the whiteness index (WI), yellowness index (YI), and browning index (BI) were calculated based on the L^* , a^* , and b^* values using Equations (4), (5), and (6), respectively.

L_c^* , a_c^* , and b_c^* represent the values for the control sample (CON); L_i^* , a_i^* , and b_i^* represent the values for the samples enriched with Reishi mushroom. WI is the whiteness index, YI is the yellowness index, and BI is the browning index.

$$\Delta E^* = \sqrt{(L_c^* - L_i^*)^2 + (a_c^* - a_i^*)^2 + (b_c^* - b_i^*)^2} \quad (3)$$

$$WI = 100 - \sqrt{((100 - L^*)^2 + a^2 + b^2)} \quad (4)$$

$$YI = 142.83 \cdot \frac{b^*}{L^*} \quad (5)$$

$$BI = \frac{100(x - 0.31)}{0.17} x = \frac{(a^* + 1.75L)}{(5.645L^* + a^* - 0.012b^*)} \quad (6)$$

where

L_c^* , a_c^* , b_c^* —the values for the control sample (CON);

L_i^* , a_i^* , b_i^* —the values for tested samples enriched with (LM) mushroom;

WI—whiteness index;

YI—yellowness index;

BI—browning index.

2.7. Texture Profile Analysis (TPA) of Bread

The top sections of the bread loaves were removed, and each loaf was sliced into 20 mm thick slices. From these slices, cuboid-shaped samples measuring $30 \times 30 \times 20$ mm were cut for further analysis. A double compression test was conducted using a Zwick/Roell Z0.5 strength testing machine (BT1-FR0.5TN.D14, ULM, Germany) with a maximum force

of 500 N. The parameters included compression to 50% of the initial height, maintaining a constant head speed of 1 mm/s, and using a flat cylindrical disk with a diameter of 100 mm. The force–deformation curves we obtained were used to determine various properties such as hardness [N], springiness [-], cohesiveness [-], and chewiness [N]. The texture profile analysis (TPA) was conducted 24 and 48 h after baking, and each sample was measured seven times.

2.8. Chemical Analysis of Raw Materials and Bread

Detailed chemical analyses of the raw materials and bread were conducted, encompassing moisture, ash, protein, fat, and dietary fibre content, following AACC and AOAC methods [17,18].

For moisture analysis, 3 g samples were dried according to the AACC 44-15A method in a laboratory oven at a constant temperature of $103\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ until a constant mass was achieved. Ash content was determined using the AACC 08-01 method. Samples weighing 3 g were placed in porcelain crucibles and incinerated in a muffle furnace at $550\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 7 h. After cooling, the samples were weighed, and the ash content was calculated.

The total protein content was determined using a Kjeltec™ 8400 apparatus (Foss Analytical AB, Höganäs, Sweden) with an automatic Kjeltec Auto device from Tecator. Nitrogen content was converted to protein using a conversion factor of $\text{N} \times 5.7$.

The total fat content was determined following acid hydrolysis, followed by continuous extraction using a Soxtec™ 8000 apparatus (Foss Analytical AB, Höganäs, Sweden) with hexane as the solvent. The analyses were performed in triplicate to ensure the reliability of the results. Enzymatic methods (AACC 32-05, AACC 32-21, AOAC 991.43, AOAC 985.29) were used to determine the total dietary fibre (TDF), insoluble dietary fibre (IDF), and soluble dietary fibre (SDF). This process involved sequential enzymatic digestion of the dry samples (1 g) using thermostable α -amylase, protease, and amyloglucosidase. The enzymes and analytical procedures were developed by Megazyme International Ireland Ltd. (Wicklow, Ireland).

Digestible carbohydrates were calculated as the difference between 100% and the content of water, protein, fat, dietary fibre, and ash (USDA). The energy value was measured in kilocalories (kcal) per 100 g of fresh bread using Atwater factors. Proteins and carbohydrates provided 4 kcal/g, fats provided 9 kcal/g, and total dietary fibre was calculated at 2 kcal/g. This comprehensive analysis ensured a thorough evaluation of the bread's composition and nutritional value.

2.9. Determination of the Content of Mineral Elements

In this study, the content of Ca, K, Fe, Cu, Mn, Pb, and Cd was determined using flame atomic absorption spectrometry (FAAS), in accordance with the PN-EN ISO 6869:2002 standard. Phosphorus was measured spectrophotometrically using a Shimadzu UV-1800 spectrophotometer.

2.10. Extraction of Polyphenols from Raw Materials and Bread

Polyphenol extraction from the raw materials and bread was carried out using 70% ethanol. Ten grams of each material was mixed with 90 mL of ethanol and heated in a water bath for 10 h at $40\text{ }^{\circ}\text{C}$, following the methodology described by Kozłowska et al. (2015) [19]. Filtration was then performed to separate the material from the solvent using filter paper. Fresh extracts were used to determine the total polyphenol and flavonoid content, as well as antioxidant capacities.

2.11. Total Polyphenol and Flavonoid Content in Raw Materials and Bread

The total polyphenol and flavonoid content were determined according to the methodology outlined by Krawecka et al., (2022) [20]. In brief, the polyphenol content was measured using the Singleton and Rossi method with Folin–Ciocalteu reagent. A 0.1 mL sample was mixed with the reagent and 20% (w/w) sodium carbonate, and then it was

incubated for 30 min. Absorbance was measured at a wavelength of 700 nm using a Thermo Spectronic Helios Epsilon (Thermo Electron, Waltham, MA, USA). Gallic acid (1–150 mg/L) was used as the standard, and the results were expressed as gallic acid equivalents (GAE) in mg/g of the sample.

The total flavonoid content was determined using the method proposed by Quettier-Deleu et al., (2000) [21]. A 2 mL sample of the extract was mixed with a 5% (*w/w*) aluminium chloride solution, and absorbance was measured at 405 nm after 30 min. Quercetin (0.25–20 mg/L) was used as the standard, and the results were expressed as quercetin equivalents (QE) in µg/g of the sample.

2.12. Antioxidant Activity of Raw Materials and Bread against DPPH· and ABTS^{•+}

A DPPH ethanolic solution with a concentration of 6×10^{-5} mol/dm³ was prepared and diluted with ethanol to achieve an absorbance value of $A = 0.70$ at a wavelength of $\lambda = 515$ nm. The DPPH solution was stored in a dark place at room temperature. To 1.8 mL of the methanolic DPPH solution at a concentration of 6×10^{-5} mol/dm³, 100 µL of the test solution was added and thoroughly mixed. After 30 min, the absorbance was measured at a wavelength of $\lambda = 515$ nm. Ethanol was used as a control instead of the test sample. The entire analysis was repeated three times. The radical scavenging activity (RSA) was expressed as the percentage of DPPH neutralisation.

$$\text{RSA (\%)} = (1 - A_t/A_0) \times 100 \quad (7)$$

where A_0 is the absorbance of the control sample, and A_t is the absorbance of the test sample after 30 min.

Precisely 0.1920 g of ABTS and 0.0343 g of potassium persulfate were accurately weighed and quantitatively transferred into a 50 mL volumetric flask. The solution was stored in a dark place for 16 h. After this period, the ABTS solution was diluted with methanol to achieve an absorbance of $A = 0.75$ at a wavelength of $\lambda = 734$ nm. Subsequently, 100 µL of the test solution was added to 1.8 mL of the ABTS solution at a concentration of 6×10^{-5} mol/dm³ and thoroughly mixed. Changes in the concentration of ABTS cation radicals were determined spectrophotometrically after 30 min of incubation with the test extracts. After 30 min, the absorbance was measured at a wavelength of 734 nm. Water was used as a control instead of the test solution. The analysis was performed in triplicate. The radical scavenging activity (RSA) was expressed as the percentage of ABTS radical neutralisation.

$$\text{RSA (\%)} = (1 - A_t/A_0) \times 100 \quad (8)$$

where A_0 is the absorbance of the control sample, and A_t is the absorbance of the test sample after 30 min.

2.13. Sensory Analysis

The sensory analysis of the bread was conducted using a five-point scale. The evaluation followed established standards for bread quality assessment, in accordance with ISO 8586:2012 [22] guidelines for sensory analysis. The sensory panel consisted of eight trained assessors, selected based on their regular consumption of bread, good health, and absence of gluten allergies. Panellists were provided with detailed descriptors for each score on the scale, ensuring a clear understanding of what each rating represented. For example, the lowest score indicated significant flaws in the attribute being assessed, while the highest score represented optimal quality with no discernible defects, with intermediate scores reflecting varying degrees of quality. The assessors evaluated several sensory attributes. The external appearance was assessed based on crust characteristics, surface uniformity, and the crumb structure visible on a 1 cm thick slice. Aroma was evaluated immediately upon receiving the sample to capture the freshness of the bread. Elasticity was measured by gently pressing the crumb to observe its ability to return to its original shape. Porosity was assessed visually and through light tactile examination, considering the size

and distribution of air pockets within the crumb. Taste was evaluated after chewing the sample, with attention to flavour intensity and aftertaste. Bread samples were sliced into 1 cm thick pieces using a mechanical bread slicer and labelled with random codes to ensure blind evaluation. The samples were presented in random order to prevent bias. The sensory analysis was conducted in a controlled sensory evaluation laboratory, with regulated lighting, temperature, and humidity conditions, in accordance with ISO 8589:2007 [23] standards, providing optimal conditions for objective assessment. The overall evaluation was calculated as the average of all individual scores for the assessed attributes. The study was approved by the Bioethics Committee (Resolution No. UKE/09/2023).

2.14. Statistical Analysis

The collected data were subjected to comprehensive statistical analysis. Mean values and their respective standard deviations were calculated to summarise the dataset. Statistical significance was determined using a one-way repeated measures analysis of variance (ANOVA). Post hoc comparisons were carried out using Tukey's test. The analysis was conducted with the use of STATISTICA 13 software (StatSoft), with the significance level set at $p \leq 0.05$.

3. Results and Discussion

3.1. Farinographic Properties of the Dough

In recent years, Reishi has gained popularity in the context of functional foods due to its bioactive components, such as polysaccharides, triterpenoids, and proteins, which influence the rheology and structure of bread dough by modifying its properties during baking [10]. The farinographic analysis of bread dough supplemented with *Ganoderma lucidum* revealed a significant impact of this addition on the dough's rheological properties (Table 1). The control sample (CON) reached optimal consistency after 2 min and 30 s, which served as a reference point for further comparisons. The addition of Reishi at various concentrations (3%, 6%, 9%, 12%—designated as BR3, BR6, BR9, BR12) significantly affected parameters such as dough development time (DDT), water absorption (WA), stability time (ST), and degree of softening (DS). It was found that Reishi concentrations in the range of 3–9% significantly ($p \leq 0.05$) shortened the DDT. This is consistent with the role of polysaccharides in modifying the rheological properties of food, as indicated by Wang et al. (2024) [24]. Polysaccharides, acting as plasticisers, increase dough's water retention capacity, affecting its viscosity and elasticity while facilitating the formation of the protein network. At lower concentrations, the hydrophilic groups of Reishi polysaccharides promote gluten protein hydration, which in turn enhances dough elasticity and reduces the time required for the development of the protein network. In the case of the highest Reishi concentration (12%, BR12), the DDT was significantly prolonged ($p \leq 0.05$). This suggests inhibition of key protein bond formation, likely due to the blockage of active protein sites by polysaccharides or triterpenoids present in Reishi, resulting in a reduced ability of gluten to form stable protein networks [25]. Additionally, excessive protein hydration caused by the high polysaccharide content increases dough viscosity and delays the network formation process. Water absorption (WA) systematically increased with rising Reishi concentrations, reaching the highest value of 63.3% in BR12. This is consistent with the hydrophilic nature of the polysaccharides in the mushroom, which enhance the dough's water-binding capacity [26]. The high dietary fibre content, particularly insoluble fibre (IDF) in Reishi, may also contribute to the increased water absorption in the dough. Such hydration is critical for bread quality, as higher hydration during dough formation results in a moister crumb, making the bread softer and prolonging its freshness. Dough stability time (ST) showed a positive correlation with Reishi concentration, increasing from 6 min and 3 s in the control sample to 19 min and 8 s in BR12. Higher Reishi concentrations strengthened the dough structure, likely due to interactions between mushroom polysaccharides and gluten proteins. Concurrently, the degree of softening (DS) decreased as the Reishi concentration increased, suggesting that the mushroom component helps maintain the integrity of the

gluten network and reduces its susceptibility to mechanical damage. The literature confirms that the formation of protein–polysaccharide complexes significantly influences dough's hydration properties and gluten network stability. The high polysaccharide content in Reishi can lead to excessive gluten protein hydration, increasing dough viscosity and delaying gluten network formation, which is particularly evident in the sample with the highest (12%) Reishi addition. This sample exhibited a significantly longer development time (10:48) compared to the other samples [27].

Table 1. Farinographic parameters of dough.

Sample	DDT (min)	WA (%)	ST (min)	DS [FU]	FQN (mm)
CON	02:30 ^b ± 0.12	57.9 ^a ± 0.3	06:03 ^a ± 0.2	55.0 ^e ± 2.4	71.0 ^a ± 5.2
BR3	01:32 ^a ± 0.08	59.6 ^{ab} ± 0.2	09:23 ^b ± 0.2	35.0 ^d ± 1.8	66.0 ^a ± 2.8
BR6	01:48 ^a ± 0.1	60.8 ^{ab} ± 0.2	14:37 ^c ± 0.4	23.0 ^c ± 2.1	146.0 ^b ± 3.2
BR9	01:52 ^a ± 0.08	61.9 ^{ab} ± 0.5	15:00 ^c ± 0.2	17.0 ^b ± 1.2	172.0 ^c ± 3.4
BR12	10:48 ^c ± 0.3	63.3 ^b ± 0.2	19:08 ^d ± 0.3	1.0 ^a ± 0.8	207.0 ^d ± 4.1

CON—control sample (100% wheat flour); BR3, BR6, BR9, BR12—samples enriched with 3, 6, 9, and 12% of Reishi, respectively. Data are presented as mean ($n = 3$) ± standard deviation. Means in the column with different letters are significantly different (Tukey's test; $p \leq 0.05$). Tested parameters: DDT—development time; WA—water absorption; ST—dough stability; DS—degree of dough softening; FQN—farinograph quality number.

3.2. Evaluation of Bread Quality Characteristics

Ganoderma lucidum, an additive to wheat bread and a rich source of dietary fibre and polysaccharides, significantly affects its physical properties. Despite its beneficial impact on water retention and reduction in baking losses, higher concentrations of Reishi lead to a reduction in bread volume. This phenomenon can be explained by the disruption of the gluten network structure by the dietary fibre and polysaccharides present in Reishi, which limit gluten's ability to trap air, resulting in a smaller loaf volume. Consequently, the dough's ability to retain fermentation gases decreases, ultimately leading to a reduction in bread volume. Additionally, interactions between fibre and the gluten structure may further disrupt the integrity of the gluten network, directly impacting the final bread volume. The dietary fibre's water-binding capacity also contributes to reduced baking losses by limiting moisture loss during the baking process [28]. Polysaccharides extracted from *Lycium barbarum* leaves, including both crude and degraded forms, had a significant impact on the quality of fresh bread dough, as confirmed through analyses of water-holding capacity, gluten structure, texture, and sensory acceptability. Electrophoretic studies demonstrated that crude polysaccharides destabilised gliadin, while degraded polysaccharides protected gluten, thereby improving dough texture. The application of these polysaccharides enhanced the dough's extensibility properties and increased sensory acceptability, confirming their potential for improving the quality of bakery products [29]. Similarly, research by Guowei et al., (2019) [30] confirms the positive effect of *Ganoderma lucidum* on the quality of Chinese steamed bread, demonstrating that the addition of Reishi fermentation broth modified the microstructure of starch and proteins, which led to the expansion of starch granules and the enlargement of pores in the crumb, thereby improving bread volume. These findings suggest that enzymes, such as amylases, break down starch and catalyse protein cross-linking, further enhancing the texture and structural quality of the product [29,30]. These findings, summarised in Table 2, indicate that the polysaccharides present in Reishi, similar to those from mulberry leaves, can positively influence the structure and quality of bread [31]. Reishi, as a source of polysaccharides, can affect dough and bread properties by modulating the structure of starch and proteins. Both polysaccharides—from mulberry leaves and Reishi—exhibit the ability to modify bread microstructure, potentially leading to increased water retention and delayed staling processes. At the same time, the presence of dietary fibre and polysaccharides in Reishi reduces the integrity of the gluten network, which may result in decreased bread volume. Microscopic analyses of the bread crumb (Figure 1) illustrate changes in porosity depending on the addition of Reishi. In the control sample, a well-developed pore network with

relatively large and regular dimensions was observed. As the Reishi concentration increased (from 3% to 12%), a reduction in pore size and irregularity became evident, indicating a denser and less aerated crumb structure. The reduction in porosity is most pronounced in the sample with 12% Reishi addition, suggesting that this supplement significantly affects the dough's rheological properties, reduces its porosity, and results in a more compact bread texture. Optimising the amount of Reishi added to bread seems advisable to achieve bread with favourable physical properties while simultaneously enriching it with valuable nutrients.

Table 2. Physical properties of bread.

Sample	Dough Yield [%]	Bread Yield [%]	Total Baking Loss [%]	Volume of 100 g of Bread
CON	162.17 ^a ± 0.5	140.78 ^a ± 1.31	13.19 ^c ± 0.81	350.79 ^e ± 2.69
BR3	162.67 ^{ab} ± 0.2	143.07 ^b ± 0.2	12.05 ^{bc} ± 0.3	337.27 ^d ± 2.1
BR6	162.83 ^{ab} ± 0.3	143.44 ^b ± 0.9	11.91 ^{abc} ± 0.7	329.35 ^c ± 2.2
BR9	163.50 ^b ± 0.3	146.48 ^c ± 0.4	10.28 ^{ab} ± 0.5	257.10 ^b ± 2.1
BR12	165.0 ^c ± 0.2	148.16 ^c ± 0.72	10.14 ^a ± 0.2	241.32 ^a ± 2.2

CON—control sample (100% wheat flour); BR—samples enriched with 3, 6, 9, and 12% of Reishi. Data are presented as mean ($n = 3$) ± standard deviation. Means in the column with different letters are significantly different (Tukey's test; $p \leq 0.05$).

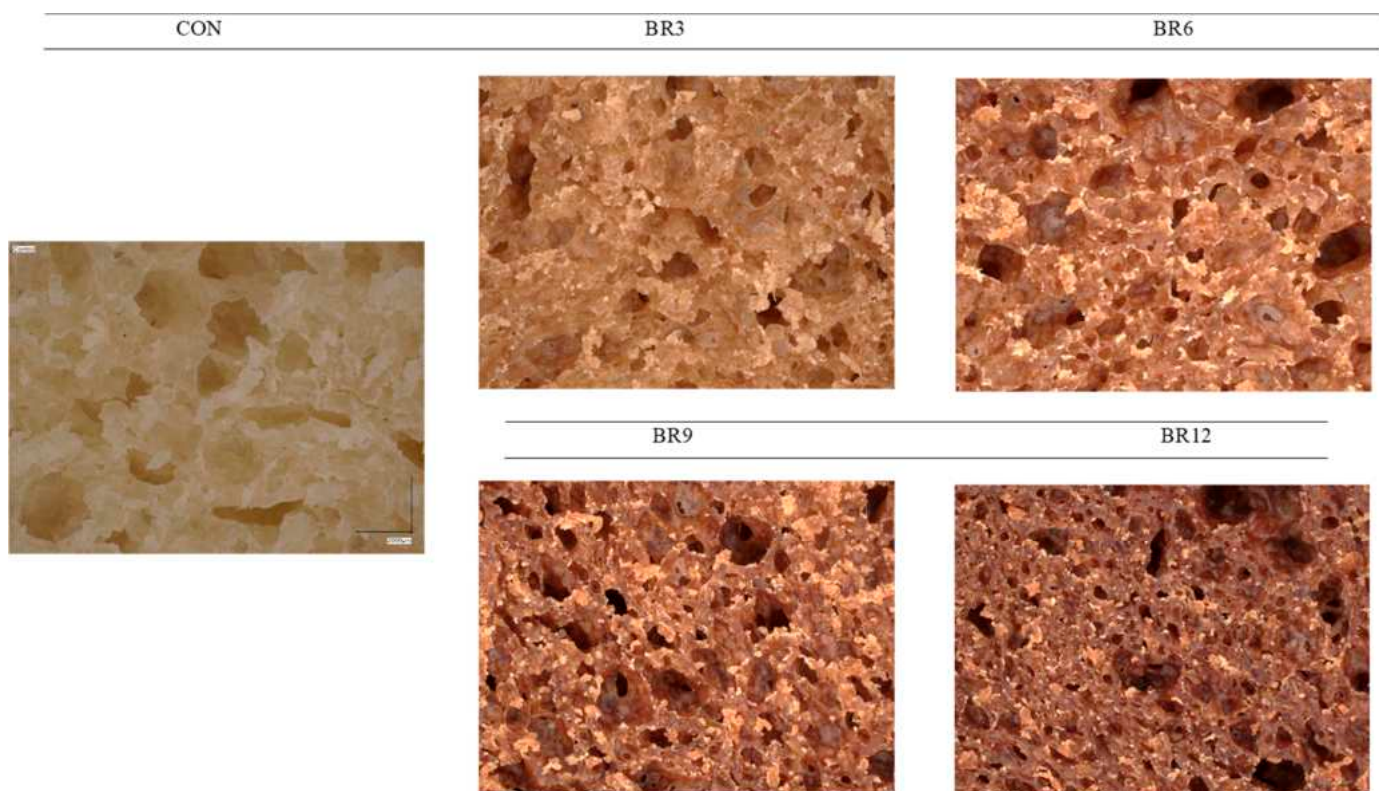


Figure 1. Porosity of fresh crumb of wheat bread (CON) and bread enriched with 3, 6, 9, and 12% Reishi (BR).

3.3. Evaluation of Bread Colour Parameters

The brownish-brown colour of Reishi (*Ganoderma lucidum*) is primarily attributed to the presence of terpenoids, melanin, and carotenoids, including β -carotene and lycopene, which together give the mushroom its characteristic hue. The carotenoid content in Reishi is approximately 4.47 mg/g, with β -carotene at 3.63 mg/g and lycopene at 0.224 mg/g, further contributing to its intense colour. To date, over 300 different triterpenoids have been isolated from this mushroom [32–34]. Triterpenoids are responsible for the brown

or reddish hue, melanin contributes to the darker colour, and carotenoids influence the orange and red tones. Environmental conditions, such as light and temperature, can further modify these colours, consistent with observations of the colour variability of Reishi [35]. The addition of Reishi to bread significantly affects its sensory properties, particularly colour, which is a key parameter in assessing the quality of food products. Studies show that the addition of Reishi significantly ($p \leq 0.05$) decreases the L^* value (lightness), from 61.49 in the CON to 22.60 in the sample with 12% Reishi (Table 3). The a^* value (green–red) increases from 0.51 in the CON to 9.29 in BS12, showing an intensification of the red hue with increasing Reishi content. Meanwhile, the b^* value (blue–yellow) initially rises and then declines, suggesting complex changes in the yellow tones. The recorded colour changes were determined by an increase in the browning and yellowness indexes and a decrease in the whiteness index of the samples as a function of the increasing share of Reishi in the bread (Table 3). These results suggest that increasing concentrations of Reishi cause significant changes in bread colour parameters, leading to darkening, the intensification of the red hue, and increased browning of the samples. These changes of colour parameters are consistent with the known effects of bioactive compounds found in Reishi, such as melanin and terpenoids, on the colour of food products. In Figure 2, five bread crumb samples are shown. The control sample (on the left) exhibits a light colour typical of traditional wheat bread. As the concentration of Reishi increases (3%, 6%, 9%, and 12%), progressive darkening of the crumb is observed, which is a direct result of the natural pigments contained in Reishi. The intensity of the colour is proportional to the amount of Reishi added, indicating its significant impact on the colour of the final bakery product. Similar conclusions were presented by Cacak-Pietrzak et al., (2021) [36] in studies on bread enriched with dandelion roots (*Taraxacum officinale*), where increasing the additive amount led to the darkening of the bread, an increase in the intensity of the red colour, and a decrease in yellow intensity. It is worth noting that higher temperatures can further modify the colour intensity by reducing the L^* value and altering the a^* and b^* parameters [37].

Table 3. Colour of bread.

Simple	L^*	a^*	b^*	Browning Index	Yellowness Index	Whiteness Index	ΔE^*
CON	61.49 ^c $\pm$ 0.58	0.51 ^a $\pm$ 0.37	12.27 ^a $\pm$ 0.46	22.11 ^a $\pm$ 0.98	28.50 ^a $\pm$ 1.08	59.58 ^c $\pm$ 0.55	-
BR3	39.63 ^b $\pm$ 3.5	7.87 ^b $\pm$ 1.8	17.67 ^b $\pm$ 0.9	43.30 ^b $\pm$ 1.3	63.70 ^b $\pm$ 1.3	36.61 ^b $\pm$ 1.0	22.61 ^a $\pm$ 1.1
BR6	30.61 ^{ab} $\pm$ 1.7	8.00 ^b $\pm$ 0.9	15.71 ^b $\pm$ 0.8	46.13 ^c $\pm$ 1.2	73.32 ^c $\pm$ 1.2	28.41 ^a $\pm$ 1.1	30.86 ^b $\pm$ 1.2
BR9	25.89 ^a $\pm$ 1.8	9.09 ^b $\pm$ 1.7	13.28 ^a $\pm$ 0.8	47.20 ^c $\pm$ 1.4	73.28 ^c $\pm$ 1.4	24.16 ^a $\pm$ 1.3	35.55 ^c $\pm$ 1.3
BR12	22.60 ^a $\pm$ 1.6	9.29 ^b $\pm$ 1.2	10.54 ^a $\pm$ 0.7	46.46 ^c $\pm$ 1.3	66.63 ^{bc} $\pm$ 1.5	21.34 ^a $\pm$ 1.4	38.84 ^d $\pm$ 1.1

CON—control sample (100% wheat flour bread); BR—bread enriched with 3, 6, 9, and 12% Reishi. Colour parameters include L^* (brightness), a^* (shade from red to green), and b^* (shade from blue to yellow). Data are presented as mean ($n = 10$) $\pm$ standard deviation. Mean values for the same parameters, denoted by different letters, are significantly different (Tukey's test, $p \leq 0.05$).

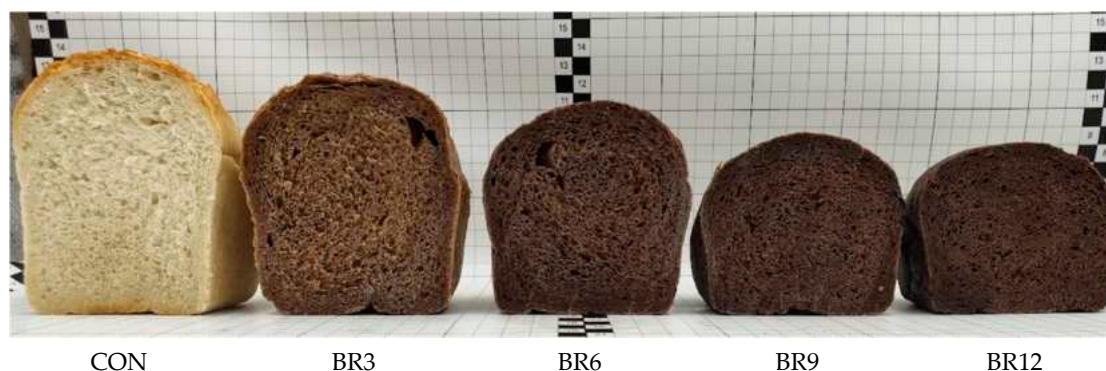


Figure 2. Samples of wheat bread (CON) and bread (BR) enriched with 3, 6, 9, and 12% Reishi.

3.4. Texture Profile Analysis (TPA) of Bread

The analysis of bread texture is a key component in evaluating its quality and has a direct impact on consumer acceptance and product shelf life [38]. Studies have shown that the addition of Reishi mushroom significantly influences bread hardness, which increases proportionally with higher concentrations of this ingredient (Table 4). It is suggested that this effect is related to interactions between the bioactive compounds in Reishi and gluten proteins, leading to the strengthening of the gluten network. This reinforcement results in a less porous, more compact, and rigid dough structure, which in turn translates to increased bread hardness. Similar interactions that affect bread hardness also influence its springiness, chewiness, and cohesiveness. Springiness, defined as the ability of bread to return to its original shape after pressure is removed, exhibited a downward trend with higher Reishi concentrations. The stiffening of the gluten network, caused by the addition of Reishi, limits the flexibility of the dough matrix, leading to reduced springiness. The increase in hardness and decrease in elasticity also contributed to higher chewiness, meaning more effort was required during biting and chewing. This is a direct consequence of the structural changes in the gluten network, which also affect other textural properties. Cohesiveness, reflecting the bread's ability to maintain its structural integrity, decreased as the Reishi concentration increased, potentially due to disruptions in the gluten network caused by the presence of insoluble dietary fibre components in Reishi. Similar effects were observed in studies examining the addition of mushroom powders such as button, shiitake, and porcini mushrooms to wheat bread. These additions resulted in increased hardness and decreased springiness and loaf volume, suggesting the possibility of enriching bread with dietary fibre and protein, but also indicating potential sensory drawbacks at higher substitution levels [39,40]. However, it should be noted that these results partially contradict observations from other studies on the impact of different mushrooms on bread texture. For example, the addition of mycelium from mushrooms such as *Antrodia camphorata*, *Agaricus blazei*, *Hericium erinaceus*, and *Phellinus linteus* showed the opposite effect—reducing hardness and improving bread springiness [40]. After 48 h, significant changes in the texture of the bread were observed, which can be attributed to the physico-chemical interactions affecting the samples. In terms of crumb hardness, a general increase in this parameter was noted across all samples. A particularly notable rise was recorded for sample BR6, where hardness increased from 7.70 N to 12.90 N. The highest hardness value was achieved by sample BR12, remaining at approximately 30 N, with changes between 24 and 48 h being insignificant, suggesting the structure of this sample had stabilised after 24 h.

The crumb springiness remained relatively stable in all samples, showing no statistically significant differences between 24 and 48 h. This indicates that the bread's elasticity did not undergo major changes during the test period. Chewiness values, on the other hand, tended to increase, particularly in sample BR6, where they rose from 3.99 N to 5.20 N. This may suggest that the increase in crumb hardness contributes to greater resistance during chewing, thus affecting the overall texture of the product.

These differences may stem from the varying mechanisms of action of the bioactive compounds found in these mushrooms, which may also increase the elasticity of the gluten network in the dough, thereby enhancing crumb porosity and creating a softer bread texture.

3.5. Sensory Evaluation of Bread Characteristics

The sensory evaluation of bread is a key tool in the process of product improvement, enabling a detailed analysis of consumer perception regarding attributes such as appearance, aroma, taste, texture, and overall product assessment [12]. In the context of introducing innovative ingredients to food, including medicinal mushrooms, sensory analysis plays a crucial role in assessing consumer acceptance of new products. Studies on bread enriched with various concentrations of Reishi mushroom powder (3–6%) revealed that small additions do not negatively affect attributes such as appearance, aroma, taste, and

elasticity, with the evaluation results for these attributes being comparable to the control bread (Figure 3). In contrast, higher concentrations (9–12%) led to a significant deterioration in taste and aroma, suggesting that the intense aroma and flavour of the mushrooms may limit the product's acceptance by consumers. Research by Gaglio et al., (2019) [41] showed that the addition of *Pleurotus eryngii* powder increased the intensity of the crust and crumb colour and influenced the bread's aroma and flavour, while negatively affecting the porosity and elasticity of the crumb. Nevertheless, the overall sensory evaluation of bread with up to 10% *Pleurotus eryngii* powder indicated an acceptable sensory profile. Similar results were obtained in other studies on bread enriched with *Pleurotus eryngii* and *Cantharellus cibarius* powder. Although the addition of these mushrooms improved the bread's nutritional value, it also led to a deterioration in some sensory attributes, particularly volume and aroma [42]. In contrast, the sensory analysis of gluten-free bread enriched with chaga (*Inonotus obliquus*) powder revealed that consumers most preferred samples with a low content of this ingredient (up to 10%). Higher concentrations (15% and 20%) significantly reduced the sensory ratings, particularly in the categories of taste, texture, and overall acceptance, which was attributed to the intense flavour and very dark colour of the bread [43]. These findings suggest that selected mushrooms, including Reishi, have considerable potential as functional additives to bread. When used in lower concentrations, they do not cause the significant deterioration of sensory attributes while serving as a source of bioactive compounds with multiple beneficial effects on the body. It is worth noting that the careful selection of mushroom quantities in the process of bread fortification is crucial for maintaining a balance between health benefits and consumer acceptance.

3.6. Chemical Composition of Raw Materials and Bread

The nutritional value of the raw materials and bread enriched with powdered Reishi mushroom is presented in Table 5. The introduction of Reishi into bread at various concentrations (3%, 6%, 9%, and 12%) significantly ($p \leq 0.05$) influenced the content of selected chemical components, including ash, protein, dietary fibre, and digestible carbohydrates. An analysis of type 750 wheat flour, the reference raw material, showed a relatively low protein content (8.79% d.m.) and high digestible carbohydrate content (71.04% d.m.), which are the main sources of energy in wheat bread. However, the dietary fibre content in refined wheat flour was only 5.3% d.m. Reishi powder exhibits a significantly higher dietary fibre content (72.80% d.m.), with a predominance of the insoluble fraction (68.22% d.m.). The addition of Reishi powder to bread at higher concentrations contributed to a gradual increase in dietary fibre content, reaching 17.08% in bread with 12% Reishi, compared to 7.21% in the control bread. The increase in fibre, both insoluble (IDF) and soluble (SDF), is particularly important in the context of regulating gastrointestinal function and reducing the risk of lifestyle-related diseases such as obesity, type 2 diabetes, and atherosclerosis [43,44]. Insoluble fibre positively affects intestinal transit, helps prevent constipation, and increases the feeling of satiety after meals, while soluble fibre contributes to lowering blood cholesterol levels, which is crucial for cardiovascular health [45]. The protein content in Reishi-enriched bread BR12 increased by approximately 31.8% compared to the control bread. Although Reishi powder is characterised by low protein content, its presence may support protein metabolism through its bioactive compounds. Moreover, the diverse amino acid profile of the proteins present in *Ganoderma lucidum*, such as glutamate (1133.20 mg/100 g), aspartic acid (916.47 mg/100 g), and leucine (718.36 mg/100 g), may have a significant impact on their bioavailability, which is particularly important for individuals following vegetarian or vegan diets [10,46]. The digestible carbohydrate content in Reishi-enriched bread BR12 was significantly lower compared to the control bread, translating to a reduction of approximately 27%. Products enriched with Reishi provide a better alternative to typical wheat bread for individuals with metabolic disorders, such as obesity or type 2 diabetes [47]. The reduction in carbohydrate content, coupled with the increase in dietary fibre, contributes to a lower glycaemic index (GI) of the bread, promoting better glycaemic control after meals [48]. The caloric value of bread enriched with Reishi powder

was also lower compared to the control bread. The addition of 12% *Ganoderma lucidum* resulted in a 19.33% reduction in the caloric content of the bread compared to the control. Similarly, the addition of mushroom powders (e.g., *Agaricus bisporus*, *Lentinula edodes*, *Boletus edulis*) to bread led to an increase in protein, fat, and fibre content, while simultaneously reducing the total starch content. These mushrooms, rich in protein and polyunsaturated fatty acids, enhanced the nutritional value of the bread. Furthermore, the starch content in the bread decreased as the proportion of mushroom powder increased, while the dietary fibre content rose, which further contributed to a lower predicted glycaemic index of the bread [39,40,49].

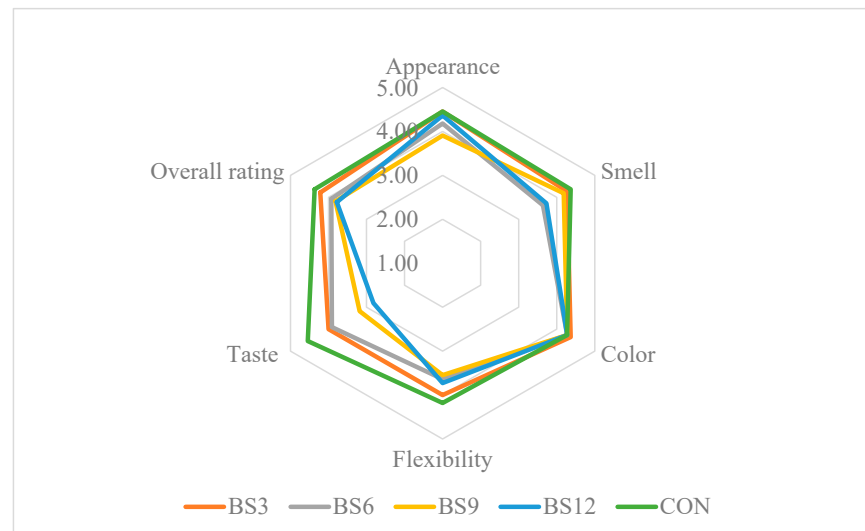


Figure 3. Results of the sensory evaluation of the bread. CON—control sample (100% wheat bread); BR—bread with 3, 6, 9, and 12% addition of Reishi.

3.7. Mineral Composition

The Reishi fruiting body powder exhibits significantly higher levels of calcium, iron, manganese, and copper compared to type 750 wheat flour, with increases of 268%, 620%, 864%, and 368%, respectively. The results of this study demonstrated a significant impact of Reishi powder addition on the macro- and microelement content of bread (Table 6). The Reishi powder contained less phosphorus and potassium compared to type 750 wheat flour, resulting in a reduction in these macroelements in the bread of approximately 29% for phosphorus and 22% for potassium. In contrast, the higher calcium content in Reishi relative to wheat flour translated into an increased calcium level in the enriched bread compared to the control sample. Similar results were obtained by incorporating *Boletus edulis* mushroom flour into bread, where the authors noted increased levels of calcium, magnesium, and iron [50]. The rise in calcium content in Reishi-enriched bread may be significant in the prevention of osteoporosis, degenerative joint diseases, and in conditions of increased calcium demand, such as menopause, periods of rapid growth, or for individuals engaged in intense physical activity [51]. Like *Boletus edulis*, *Pleurotus ostreatus*, and *Agaricus bisporus*, Reishi powder is notable for its high iron content (18.0 mg/100 g) and manganese (7.95 mg/100 g), which resulted in an increased presence of these elements in enriched bread (Table 6). In BR12, the iron content increased by approximately 32% compared to the control bread, which constitutes a significant improvement in nutritional value. An increased dietary intake of iron is particularly important in preventing anaemia, which often affects women of reproductive age, children, and the elderly. Iron plays a key role in oxygen transport within the body, and its deficiency can lead to weakness, fatigue, and impaired concentration [52,53]. The manganese content in BR12 bread increased by 61.9% compared to the control bread, which is crucial for proper skeletal system function, metabolism, and protection against oxidative stress. Increased manganese intake may support bone and joint health, as well as regenerative processes in the body [54].

Table 4. Analysis of the texture profile of bread.

Sample	Hardness [N]		Springiness		Chewiness [N]		Cohesiveness		Crust Hardness [N]	
	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
CON	2.15 ^{aA} ± 0.25	2.26 ^{aA} ± 0.53	0.95 ^{cA} ± 0.05	0.96 ^{dA} ± 0.04	1.39 ^{aA} ± 0.10	1.36 ^{aA} ± 0.19	0.69 ^{cA} ± 0.03	0.64 ^{cA} ± 0.06	19.24 ^{bB} ± 1.53	15.64 ^{abA} ± 1.23
BR3	4.39 ^{bA} ± 0.25	4.70 ^{bA} ± 0.49	0.92 ^{bcA} ± 0.04	0.86 ^{cdA} ± 0.04	2.45 ^{bA} ± 0.22	2.29 ^{bA} ± 0.24	0.61 ^{bA} ± 0.03	0.56 ^{bA} ± 0.02	18.94 ^{bB} ± 1.10	14.98 ^{aA} ± 0.98
BR6	7.70 ^{cA} ± 0.93	12.90 ^{cB} ± 0.77	0.90 ^{abcA} ± 0.03	0.88 ^{bA} ± 0.03	3.99 ^{cA} ± 0.48	5.20 ^{cB} ± 0.37	0.58 ^{bB} ± 0.04	0.46 ^{aA} ± 0.01	18.18 ^{abA} ± 1.13	17.88 ^{bA} ± 1.64
BR9	22.03 ^{dB} ± 1.28	20.18 ^{dA} ± 1.84	0.88 ^{abA} ± 0.02	0.86 ^{cdA} ± 0.03	8.59 ^{dA} ± 0.5	7.54 ^{dA} ± 0.61	0.45 ^{aA} ± 0.02	0.44 ^{aA} ± 0.03	18.48 ^{abA} ± 1.28	17.68 ^{bA} ± 1.62
BR12	31.23 ^{eA} ± 2.38	30.38 ^{eA} ± 2.27	0.85 ^{aA} ± 0.03	0.82 ^{aA} ± 0.02	12.11 ^{eA} ± 0.65	11.66 ^{eA} ± 0.81	0.46 ^{aA} ± 0.02	0.47 ^{aA} ± 0.02	16.54 ^{aA} ± 0.97	18.12 ^{bB} ± 1.27

CON—control sample (100% wheat flour); BR—bread enriched with 3, 6, 9, and 12% Reishi. Data are presented as mean ($n = 7 \pm$ standard deviation). Different lowercase letters (a–e) in the column and different uppercase letters (A, B) in the row indicate statistically significant differences (Tukey's test, $p \leq 0.05$).

Table 5. The chemical composition of raw materials and bread.

Sample	Moisture	Ash	Protein	Crude Fat	TDF	IDF	SDF	Digestible Carbohydrate (CHO)	Calories [kcal/100 g]
	%	% d.m.							
Wheat flour type 750	9.4 ^A ± 0.1	0.69 ^A ± 0.01	8.79 ^A ± 0.04	0.45 ^A ± 0.03	5.3 ^A ± 0.13	2.4 ^A ± 0.1	2.9 ^A ± 0.2	71.04 ^B ± 0.03	351.30 ^B ± 0.11
Reishi powder	2.46 ^B ± 0.14	3.90 ^B ± 0.2	15.49 ^B ± 0.1	0.99 ^B ± 0.05	72.80 ^B ± 0.4	68.22 ^B ± 0.51	4.58 ^B ± 0.03	11.38 ^A ± 0.04	233.93 ^A ± 0.1
CON	41.46 ^a ± 0.71	2.20 ^a ± 0.01	10.83 ^a ± 0.04	1.23 ^a ± 0.03	7.21 ^a ± 0.19	4.26 ^a ± 0.17	2.95 ^a ± 0.02	78.52 ^e ± 0.42	224.16 ^d ± 0.17
BR3	44.18 ^{ab} ± 0.23	2.22 ^b ± 0.02	11.30 ^a ± 0.02	1.25 ^a ± 0.12	10.13 ^b ± 0.86	7.70 ^b ± 0.93	2.43 ^a ± 0.07	67.49 ^d ± 0.3	193.51 ^c ± 0.2
BR6	46.59 ^b ± 0.30	2.31 ^b ± 0.02	13.03 ^b ± 0.02	1.25 ^a ± 0.09	12.73 ^{bc} ± 1.35	10.07 ^b ± 1.32	2.66 ^b ± 0.03	63.21 ^c ± 0.24	182.48 ^b ± 0.5
BR9	45.17 ^c ± 0.2	2.35 ^c ± 0.05	13.37 ^b ± 0.05	1.25 ^a ± 0.1	14.49 ^c ± 0.02	11.81 ^b ± 0.03	2.68 ^b ± 0.01	61.07 ^b ± 0.2	185.32 ^{ab} ± 0.1
BR12	45.52 ^c ± 0.15	2.40 ^d ± 0.02	14.27 ^c ± 0.1	1.25 ^a ± 0.07	17.08 ^d ± 0.16	14.37 ^c ± 0.11	2.71 ^c ± 0.04	57.38 ^a ± 0.22	180.88 ^a ± 0.3

CON—control sample (100% wheat flour); BS—bread with 3, 6, 9, and 12% addition of Reishi; CHO—digestible carbohydrates (from difference); mean value ($n = 3 \pm$ SD); different letters (a–e) and (A, B) in the column indicate statistically significant differences (Tukey's test, $p \leq 0.05$). The lowercase letters (a–e) represent significant differences within a group of bread samples, while the uppercase letters (A, B) indicate significant differences between different groups of raw material samples, based on Tukey's test ($p \leq 0.05$).

Table 6. Content of selected minerals in raw materials and bread.

Sample	Macroelements			Microelements				Heavy Metals	
	P	Ca	K	Fe	Cu	Mn	Se	*Pb	*Cd
Content [mg/100 g]									
Wheat flour type 750 RE powder	131 ^B ± 0.1	22.8 ^A ± 0.1	171.0 ^B ± 0.5	2.50 ^A ± 0.08	0.16 ^A ± 0.02	0.825 ^A ± 0.07	0.0112 ^A ± 0.0003	ND	ND
	93 ^A ± 0.2	84.0 ^B ± 0.2	133 ^A ± 11	18.0 ^B ± 0.12	0.75 ^B ± 0.5	7.95 ^B ± 0.18	0.0132 ^A ± 0.0005	ND	ND
CON	89.4 ^b ± 0.1	11.60 ^a ± 0.1	121 ^b ± 6	1.36 ^b ± 0.05	0.175 ^a ± 0.07	0.483 ^b ± 0.07	0.0081 ^c ± 0.0001	ND	ND
BR3	61.0 ^a ± 0.1	14.14 ^b ± 0.1	81.29 ^a ± 0.5	1.10 ^a ± 0.06	0.200 ^{ab} ± 0.10	0.455 ^a ± 0.02	0.0053 ^b ± 0.0002	ND	ND
BR6	61.0 ^a ± 0.1	15.93 ^c ± 0.1	80.6 ^a ± 0.2	1.38 ^b ± 0.08	0.210 ^{abc} ± 0.10	0.582 ^c ± 0.05	0.0063 ^a ± 0.0002	ND	ND
BR9	61.0 ^a ± 0.1	17.44 ^d ± 0.1	79.5 ^a ± 0.7	1.55 ^c ± 0.04	0.228 ^{bc} ± 0.20	0.691 ^d ± 0.02	0.0065 ^a ± 0.0003	ND	ND
BR12	61.0 ^a ± 0.1	19.44 ^e ± 0.1	79.66 ^a ± 0.6	1.8 ^d ± 0.02	0.246 ^c ± 0.10	0.782 ^e ± 0.03	0.0070 ^a ± 0.0004	ND	ND
RDA/AI [mg/day]	700	800	2000	14	1	2	0.055	0.428	0.06
% RDA/AI [%]									
CON	12.74	1.45	6.05	9.71	17.5	24.15	14.72	-	-
BR3	8.71	1.77	4.06	7.86	20	22.75	9.7	-	-
BR6	8.71	1.99	4.03	9.86	21	29.1	11.5	-	-
BR9	8.71	2.18	3.98	11.07	22.8	34.55	11.9	-	-
B12	8.71	2.43	3.98	12.86	24.6	39.1	12.72	-	-

RDA—recommended dietary allowances; AI—adequate intake; *daily allowable dose (WHO); CON—control sample (wheat bread); BR—bread enriched with 3, 6, 9, 12% Reishi (RE). Data are presented as mean ($n = 3$) ± standard deviation, means in the same column (raw material or sample) with different letters are significantly different (Tukey's test; $p \leq 0.05$).

3.8. Polyphenol Content and Antioxidant Activity

Polyphenols play a crucial role in antioxidant mechanisms, contributing to the neutralisation of free radicals and maintaining redox balance, which is a key element in protecting against oxidative damage. This mechanism is vital for cellular health and the overall well-being of the body [20]. Previous studies have shown that enriching bread with various raw materials rich in flavonoids and polyphenols, such as grape seed extract or prickly pear pulp, leads to increased antioxidant activity in the products [54]. The results of this study, presented in Table 7, confirm that Reishi powder is characterised by a significantly higher content of flavonoids (1.06 mg QE/g d.m.) and polyphenols (12.70 mg GAE/g d.m.) compared to wheat flour, in which no flavonoids were detected, and polyphenol content was only 0.13 mg GAE/g d.m. Additionally, Reishi powder exhibited very high antioxidant activity, achieving 98.5% in the ABTS^{•+} assay and 98.88% in the DPPH[•] assay, confirming its strong antioxidant properties. Substituting wheat flour with Reishi powder in bread led to a marked increase in the content of bioactive compounds and antioxidant activity. In the enriched bread (BR12 sample), flavonoid content was found to be 0.21 mg QE/g d.m., a significant increase compared to the control sample, where no flavonoids were detected. Polyphenol content increased more than fourfold, reaching 1.90 mg GAE/g d.m. Enriching bread with Reishi powder also resulted in a notable increase in antioxidant activity, with ABTS^{•+} radical scavenging rising by more than 160% (to 79.12%) and DPPH[•] radical scavenging increasing by over 45% (to 62.21%). Similar effects were observed in studies on gluten-free bread enriched with Chaga mushroom, where the content of flavonoids and polyphenols increased proportionally with the amount of the additive (from 5% to 20%), also leading to a significant increase in the bread's antioxidant properties [43]. However, it was noted that higher doses of Chaga may negatively affect the sensory qualities of the bread, such as colour and texture, suggesting the need for further research to optimise the quantity of the additive to balance health benefits with the sensory acceptability of the product.

Table 7. Polyphenol content and antioxidant activity of raw materials and loaves of bread.

Sample	Flavonoids (mg QE/g d.m.)	Polyphenols (mg GAE/g d.m.)	Radical Scavenging Activity against ABTS ^{•+} (%)	Radical Scavenging Activity against DPPH [•] (%)
Wheat flour type 750	ND	0.13 ^A ± 0.03	30.32 ^A ± 0.9	45.02 ^A ± 0.8
Reishi powder	1.06 ± 0.05	12.70 ^B ± 0.1	98.5 ^B ± 1.1	98.88 ^B ± 2.1
CON	ND	0.46 ^a ± 0.02	30.12 ^a ± 0.8	42.84 ^a ± 0.3
BR3	0.02 ^a ± 0.02	1.00 ^{bc} ± 0.08	42.51 ^b ± 0.12	53.12 ^b ± 0.8
BR6	0.03 ^a ± 0.01	1.10 ^c ± 0.05	54.38 ^c ± 0.42	56.42 ^c ± 1.1
BR9	0.10 ^b ± 0.01	1.26 ^c ± 0.02	61.91 ^d ± 0.5	59.90 ^d ± 0.2
BR12	0.21 ^b ± 0.02	1.90 ^d ± 0.1	79.12 ^e ± 1.0	62.21 ^e ± 0.3

CON—control sample (wheat bread); BS—bread with 3, 6, 9, and 12% addition Reishi. Data are presented as mean ($n = 3$) ± standard deviation; means in the same column (raw material or sample) with different letters are significantly different (Tukey's test; $p \leq 0.05$).

4. Conclusions

Studies on the enrichment of wheat bread with Reishi (*Ganoderma lucidum*) mushroom powder have shown that this addition significantly affects the rheological properties of dough, the physicochemical parameters of bread, and its nutritional value, while also offering considerable health benefits. The introduction of Reishi into wheat dough increased water absorption and extended dough stability time. This effect is attributed to the presence of polysaccharides, which have a high capacity for water binding and modify interactions within the gluten structure, leading to an extended dough development time and increased stability. The addition of Reishi also influenced the physical properties of the bread, such as a reduction in loaf volume, which resulted from the disruption of the gluten network by the fibre and polysaccharides present in Reishi. These components limited gluten's ability to retain fermentation gases, resulting in a denser and less aerated crumb structure. However,

the increased moisture content in the bread, due to the Reishi addition, may positively affect the bread's texture and prolong its freshness. Nutritional analysis of Reishi-enriched bread revealed a significant increase in dietary fibre, protein, and essential minerals such as calcium, iron, and manganese. The addition of Reishi also enhanced the polyphenol content and antioxidant potential of the bread. Despite the undeniable benefits to the nutritional value of the bread, it is recommended that the amount of Reishi added to wheat bread should not exceed 6%, due to the negative impact of higher substitution levels on the sensory qualities of the products, particularly in terms of taste, aroma, and flexibility.

Author Contributions: Conceptualization, P.Ł. and A.S.; methodology, P.Ł., A.W. and A.S.; software, P.Ł.; validation, A.S., formal analysis, A.S.; investigation, P.Ł., A.W., P.Z. and A.B.-K.; resources, P.Ł.; data curation, P.Ł.; writing—original draft preparation, P.Ł.; writing—review and editing, A.S.; visualization, P.Ł.; supervision, A.S. and A.W.; project administration, P.Ł.; funding acquisition, P.Ł. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was supported by the project no. SD/83/TŻ/2023, funded by the University of Life Sciences in Lublin.

Institutional Review Board Statement: The sensory analysis was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki and was conducted in a controlled sensory evaluation laboratory, with regulated lighting, temperature, and humidity conditions, in accordance with ISO 8589:2007 standards, providing optimal conditions for objective assessment. The study was approved by the Bioethics Committee (Resolution No. UKE/09/2023, Approval Date: 15 November 2023).

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Data Availability Statement: The original contributions presented in the study are included in the article. Further inquiries can be directed to the corresponding author.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest.

References

1. Karunarathna, S.C.; Ediriweera, A.; Prasannath, K.; Mingfei, Y.; Hapuarachchi, K.K. Exploring the health benefits of Ganoderma: Bioactive compounds and mechanisms of action; immunomodulatory, and anti-tumour activities. *N. Z. J. Bot.* **2024**, 1–85. [\[CrossRef\]](#)
2. Dabhi, F.A. A Review on Medicinal Properties and Historical Use of Reishi Mushroom. *J. Pharma Insights Res.* **2023**, 2, 37–41. [\[CrossRef\]](#)
3. Gharib, M.; Radwan, H.; Elhassaneen, Y. Nutrients and Nutraceuticals Content and In Vitro Biological Activities of Reishi Mushroom (*Ganoderma lucidum*) Fruiting Bodies. *Alex. Sci. Exch. J.* **2022**, 43, 301–316. [\[CrossRef\]](#)
4. Ahmad, R.; Riaz, M.; Khan, A.; Aljamea, A.; Algheryafi, M.; Sewaket, D.; Alqathama, A. *Ganoderma lucidum* (Reishi), an edible mushroom: A comprehensive and critical review of its nutritional, cosmeceutical, mycochemical, pharmacological, clinical, and toxicological properties. *Phytother. Res.* **2021**, 35, 6030–6062. [\[CrossRef\]](#)
5. Zhong, Y.; Tan, P.; Lin, H.; Zhang, D.; Chen, X.; Pang, J.; Mu, R. A Review of *Ganoderma lucidum* Polysaccharide: Preparations, Structures, Physicochemical Properties and Application. *Foods* **2024**, 13, 2665. [\[CrossRef\]](#)
6. Cadar, E.; Negreanu-Pirjol, T.; Pascale, C.; Sirbu, R.; Prasacu, I.; Negreanu-Pirjol, B.-S.; Tomescu, C.L.; Ionescu, A.-M. Natural bio-compounds from *Ganoderma lucidum* and their beneficial biological actions for anticancer application: A review. *Antioxidants* **2023**, 12, 1907. [\[CrossRef\]](#)
7. Łysakowska, P.; Sobota, A.; Wirkijowska, A. Medicinal Mushrooms: Their Bioactive Components, Nutritional Value and Application in Functional Food Production—A Review. *Molecules* **2023**, 28, 5393. [\[CrossRef\]](#)
8. Shevchuk, Y.; Kuypers, K.; Janssens, G.E. Fungi as a source of bioactive molecules for the development of longevity medicines. *Ageing Res. Rev.* **2023**, 87, 101929. [\[CrossRef\]](#)
9. Kiss, A.; Grünvald, P.; Ladányi, M.; Papp, V.; Papp, I.; Némedi, E.; Mirmazloun, I. Heat Treatment of Reishi Medicinal Mushroom (*Ganoderma lingzhi*) Basidiocarp Enhanced Its β -glucan Solubility, Antioxidant Capacity and Lactogenic Properties. *Foods* **2021**, 10, 2015. [\[CrossRef\]](#)
10. El Sheikha, A.F. Nutritional Profile and Health Benefits of *Ganoderma lucidum* “Lingzhi, Reishi, or Mannentake” as Functional Foods: Current Scenario and Future Perspectives. *Foods* **2022**, 11, 1030. [\[CrossRef\]](#)
11. Takahashi, J.A.; Barbosa, B.V.R.; Martins, B.d.A.; Guirlanda, C.P.; Moura, M.A.F. Use of the Versatility of Fungal Metabolism to Meet Modern Demands for Healthy Aging, Functional Foods, and Sustainability. *J. Fungi* **2020**, 6, 223. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
12. Mollakhalili-Meybodi, N.; Sheidaei, Z.; Khorshidian, N.; Nematollahi, A.; Khanniri, E. Sensory attributes of wheat bread: A review of influential factors. *J. Food Meas. Charact.* **2022**, 17, 2172–2181. [\[CrossRef\]](#)

13. A Levy, A.; Feldman, M. Evolution and origin of bread wheat. *Plant Cell* **2022**, *34*, 2549–2567. [CrossRef]
14. American Association of Cereal Chemists (AACC). *AACC Approved Methods of Analysis*, 11th ed.; AACC: St. Paul, MN, USA, 2010.
15. Wirkijowska, A.; Zarzycki, P.; Sobota, A.; Nawrocka, A.; Blicharz-Kania, A.; Andrejko, D. The possibility of using by-products from the flaxseed industry for functional bread production. *LWT* **2020**, *118*, 108860. [CrossRef]
16. Wirkijowska, A.; Zarzycki, P.; Teterycz, D.; Nawrocka, A.; Blicharz-Kania, A.; Łysakowska, P. The Influence of Tomato and Pepper Processing Waste on Bread Quality. *Appl. Sci.* **2023**, *13*, 9312. [CrossRef]
17. American Association of Cereal Chemists (AACC). *Approved Methods*, 10th ed.; AACC: St Paul, MN, USA, 2000. Available online: <http://methods.aaccnet.org/toc.aspx> (accessed on 14 April 2022).
18. Association of Official Analytical Chemists International (AOAC). *Official Methods*, 21st ed.; AOAC: Rockville, MD, USA, 2019. Available online: <https://www.aoac.org/official-methods-of-analysis/> (accessed on 14 April 2022).
19. Kozłowska, M.; Laudy, A.E.; Przybył, J.; Ziarno, M.; Majewska, E. Chemical composition and antibacterial activity of some medicinal plants from the Lamiaceae family. *Acta Pol. Pharm.* **2015**, *72*, 757–767. [PubMed]
20. Krawęcka, A.; Sobota, A.; Ivanišová, E.; Harangozo, L.; Valková, V.; Zielińska, E.; Blicharz-Kania, A.; Zdybel, B.; Mildner-Szkudlarz, S. Effect of Black Cumin Cake Addition on the Chemical Composition, Glycemic Index, Antioxidant Activity, and Cooking Quality of Durum Wheat Pasta. *Molecules* **2022**, *27*, 6342. [CrossRef]
21. Quettier-Deleu, C.; Gressier, B.; Vasseur, J.; Dine, T.; Brunet, C.; Luyckx, M.; Cazin, M.; Cazin, J.C.; Bailleul, F.; Trotin, F. Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls and flour. *J. Ethnopharmacol.* **2000**, *72*, 35–42. [CrossRef]
22. ISO 8586:2012; Sensory analysis—General guidelines for the selection, training and monitoring of selected assessors and expert sensory assessors. International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland, 2012.
23. ISO 8589:2007; Sensory Analysis—General Guidance for the Design of Test Rooms. International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland, 2007.
24. Wang, Z.; Wang, L.; Yu, X.; Wang, X.; Zheng, Y.; Hu, X.; Zhang, P.; Sun, Q.; Wang, Q.; Li, N. Effect of polysaccharide addition on food physical properties: A review. *Food Chem.* **2024**, *431*, 137099. [CrossRef]
25. Gentile, L. Protein–polysaccharide interactions and aggregates in food formulations. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2020**, *48*, 18–27. [CrossRef]
26. Villares, A.; Mateo-Vivaracho, L.; Guillamón, E. Structural Features and Healthy Properties of Polysaccharides Occurring in Mushrooms. *Agriculture* **2012**, *2*, 452–471. [CrossRef]
27. Li, N.; Etzel, M.R. Hydrolysis of whey protein-dextran glyicates made using the Maillard reaction. *Foods* **2019**, *8*, 686. [CrossRef] [PubMed]
28. Xu, Y.; Jin, H.; Li, H.; Zhang, C. Impact of dietary fiber addition on the quality and structure of bread dough. *Food Chem.* **2021**, *345*, 128772. [CrossRef]
29. Al-Wraikat, M.; Abubaker, M.A.; Li, L.; Liu, Y.; Li, J. Impact of *Lycium barbarum* polysaccharides on wheat dough quality and hydration dynamics. *LWT—Food Sci. Technol.* **2024**, *209*, 116753. [CrossRef]
30. Guowei, Z.; Lili, W.; Yufeng, L.; Hailei, W. Impact of the fermentation broth of *Ganoderma lucidum* on the quality of Chinese steamed bread. *AMB Express* **2019**, *9*, 133. [CrossRef] [PubMed]
31. Guowei, L.; Xiaolin, C.; Yanan, W. Effect of *Ganoderma lucidum* fermentation broth on the quality and microstructure of Chinese steamed bread. *Food Res. Int.* **2019**, *116*, 1025–1032. [CrossRef]
32. Sułkowska-Ziaja, K.; Balik, M.; Szczepkowski, A.; Trepa, M.; Zengin, G.; Kała, K.; Muszyńska, B. A Review of Chemical Composition and Bioactivity Studies of the Most Promising Species of *Ganoderma* spp. *Diversity* **2023**, *15*, 882. [CrossRef]
33. Khalilova, G.A.; Turaev, A.S.; Mulkhidinov, B.I.; Khaitmetova, S.B.; Normakhamatov, N.S. Cytotoxic effects and antitumor activity of polysaccharides isolated from the fruiting body of *Ganoderma lucidum* basidial mushroom. *Pharm. Chem. J.* **2022**, *56*, 1045–1048. [CrossRef]
34. Rajoriya, A.; Tripathy, S.S.; Gupta, N. In vitro antioxidant activity of selected *Ganoderma* species found in Odisha, India. *Trop. Plant Res.* **2015**, *2*, 72–77.
35. Budipramana, K.; Ratih, R.; Pramana, Y.B. Potential dyes from edible mushrooms for human health. *J. Teknol. Lab.* **2023**, *11*, 101–112. [CrossRef]
36. Cacak-Pietrzak, G.; Dziki, D.; Gawlik-Dziki, U.; Sułek, A.; Kalisz, S.; Sujka, K. Effect of the Addition of Dried Dandelion Roots (*Taraxacum officinale* F. H. Wigg.) on Wheat Dough and Bread Properties. *Molecules* **2021**, *26*, 7564. [CrossRef] [PubMed]
37. Inla, K.; Bunchan, S.; Krittacom, B.; Luampon, R. Drying behavior, color change and rehydration of lingzhi mushroom (*Ganoderma lucidum*) under convection-assisted microwave drying. *Case Stud. Therm. Eng.* **2023**, *49*, 103348. [CrossRef]
38. Aleixandre, A.; Benavent-Gil, Y.; Velickova, E.; Rosell, C.M. Mastication of crisp bread: Role of bread texture and structure on texture perception. *Food Res. Int.* **2021**, *147*, 110477. [CrossRef]
39. Lu, T.; Zeng, X.; Cao, W. Incorporation of mushroom powder into bread dough: Effects on dough rheology and bread properties. *Cereal Chem.* **2018**, *95*, 14–20. [CrossRef]
40. Ulziijargal, E.; Yang, J.-H.; Lin, L.-Y.; Chen, C.-P.; Mau, J.-L. Quality of bread supplemented with mushroom mycelia. *Food Chem.* **2013**, *138*, 70–76. [CrossRef]

41. Gaglio, R.; Guarcello, R.; Venturella, G.; Palazzolo, E.; Francesca, N.; Moschetti, G.; Settanni, L. Saporita, Microbiological, chemical, and sensory aspects of bread supplemented with different percentages of the culinary mushroom *Pleurotus eryngii* in powder form. *Int. J. Food Sci. Technol.* **2019**, *54*, 1197–1205. [\[CrossRef\]](#)
42. Liu, Y.; Zhang, H.; Brennan, M.; Brennan, C.; Qin, Y.; Cheng, G.; Liu, Y. Physical, chemical, sensorial properties and in vitro digestibility of wheat bread enriched with yunnan commercial and wild edible mushrooms. *LWT—Food Sci. Technol.* **2022**, *169*, 113923. [\[CrossRef\]](#)
43. Kobus, Z.; Krzywicka, M.; Blicharz-Kania, A.; Bosacka, A.; Pecyna, A.; Ivanišová, E.; Kozłowicz, K.; Kovačiková, E. Impact of Incorporating Dried Chaga Mushroom (*Inonotus obliquus*) into Gluten-Free Bread on Its Antioxidant and Sensory Characteristics. *Molecules* **2024**, *29*, 3801. [\[CrossRef\]](#)
44. He, Y.; Ma, H.; Wu, S.; Li, C.; Li, Y.; Wang, Y. Effects of dietary fiber on human health. *Food Sci. Hum. Wellness* **2022**, *11*, 1–10. [\[CrossRef\]](#)
45. Waddell, I.S.; Orfila, C. Dietary fiber in the prevention of obesity and obesity-related chronic diseases: From epidemiological evidence to potential molecular mechanisms. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2022**, *63*, 8752–8767. [\[CrossRef\]](#)
46. Tian, M.; Pak, S.; Ma, C.; Ma, L.; Rengasamy, K.R.R.; Xiao, J.; Hu, X.; Li, D.; Chen, F. Chemical features and biological functions of water-insoluble dietary fiber in plant-based foods. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2022**, *64*, 928–942. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
47. Chawanorastest, K.; Inyod, T.; Kengkwasigh, P.; Laovithayangoon, S.; Kammultri, J.; Ajavakom, V.; Funk, R.; Prangchan, K.; Termarom, T.; Thubthimthed, S. Amino acids analysis of the four mushroom species, antioxidant activity and immunostimulant evaluations of their polysaccharides extracts. *Curr. J. Appl. Sci. Technol.* **2022**, *41*, 1–8. [\[CrossRef\]](#)
48. Ni, C.; Jia, Q.; Ding, G.; Wu, X.; Yang, M. Low-Glycemic Index Diets as an Intervention in Metabolic Diseases: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients* **2022**, *14*, 307. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
49. Krawęcka, A.; Sobota, A.; Pankiewicz, U.; Zielińska, E.; Zarzycki, P. Stinging Nettle (*Urtica dioica* L.) as a Functional Component in Durum Wheat Pasta Production: Impact on Chemical Composition, In Vitro Glycemic Index, and Quality Properties. *Molecules* **2021**, *26*, 6909. [\[CrossRef\]](#)
50. Lu, X.; Brennan, M.A.; Guan, W.; Zhang, J.; Yuan, L.; Brennan, C.S. Enhancing the nutritional properties of bread by incorporating mushroom bioactive compounds: The manipulation of the predictive glycaemic response and the phenolic properties. *Foods* **2021**, *10*, 731. [\[CrossRef\]](#)
51. Vlaic, R.A.; Mureșan, C.C.; Muste, S.; Mureșan, V.; Pop, A.; Petruț, G.; Mureșan, A. *Boletus edulis* mushroom flour-based wheat bread as innovative fortified bakery product. *Bull. UASVM Food Sci. Technol.* **2019**, *76*, 52–62. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
52. Springer Nature Switzerland AG. World Congress on Osteoporosis, Osteoarthritis and Musculoskeletal Diseases (WCO-IOF-ESCEO 2023): Educational Lectures Abstracts. *Aging Clin. Exp. Res.* **2023**, *35*, 37–613. [\[CrossRef\]](#)
53. Man, Y.; Xu, T.; Adhikari, B.; Zhou, C.; Wang, Y.; Wang, B. Iron supplementation and iron-fortified foods: A review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2022**, *62*, 4504–4525. [\[CrossRef\]](#)
54. Martins, A.C.; Krum, B.N.; Queirós, L.; Tinkov, A.A.; Skalny, A.V.; Bowman, A.B.; Aschner, M. Manganese in the diet: Bioaccessibility, adequate intake, and neurotoxicological effects. *J. Agric. Food Chem.* **2020**, *68*, 12893–12903. [\[CrossRef\]](#)

Disclaimer/Publisher’s Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

Lion's Mane (*Heridium erinaceus* (Bull.) Pers.) as a functional component for wheat bread production: influence on physicochemical, antioxidant, and sensory properties

Paulina Łysakowska¹, Aldona Sobota¹*, Anna Wirkijowska¹, Eva Ivanišová²

¹Department of Engineering and Cereal Technology, University of Life Sciences in Lublin, Skromna 8, 20-704 Lublin, Poland

²Institute of Food Sciences, Faculty of Biotechnology and Food Science, Slovak University of Agriculture in Nitra, Trieda Andreja Hlinku 2, 94976 Nitra, Slovakia

Received July 9, 2024; accepted October 14, 2024

Abstract. Given the high global consumption of wheat bread, a significant challenge is to improve its nutritional and health value. The aim of the study was to evaluate the possibility of using Lion's Mane for fortifying wheat bread. The impact of Lion's Mane addition at levels of 3, 6, 9, and 12% to wheat flour on the farinographic properties of dough, physicochemical characteristics, quality parameters, and sensory attributes of bread were analyzed. The results showed that the Lion's Mane addition improved water absorption and stability of the dough and reduced softening, positively influencing the dough and bread yields while slightly reducing the bread volume. Importantly, the Lion's Mane fortification significantly boosted the nutritional profile of the bread, particularly the polyphenol content (from 0.13 to 2.24 mg GAE g⁻¹ d.m.) and antioxidant activity, providing a promising approach for bakery product enhancement. The research demonstrates the significant potential of Lion's Mane to be used for fortification of bakery products.

Keywords: medicinal mushrooms, bakery products, dough consistency, nutritional value, antioxidant capacity

1. INTRODUCTION

The contemporary interest in mushrooms arises not only from their nutritional and culinary importance but also from their beneficial impact on health and scientifically confirmed therapeutic properties. Some mushroom species, e.g. Lion's Mane (LM), Reishi, Chaga, Turkey Tail, Shiitake, and Cordyceps, are referred to as medicinal

mushrooms and are gaining popularity as dietary supplements and sources of bioactive substances (Łysakowska *et al.*, 2023; Venturella *et al.*, 2021). Medicinal mushrooms are a rich source of bioactive compounds, including (1,3) (1,6)-β-D-glucans, triterpenes, active peptides, polyphenols, sterols, and mine-ral components (Landi *et al.*, 2022; Sousa *et al.*, 2023; Thongbai *et al.*, 2015; Villares *et al.*, 2012), which exhibit immunomodulatory, anticancer, antioxidant, and antidiabetic properties (Elkhateeb *et al.*, 2019; Panda and Luyten, 2022; Song *et al.*, 2020). In recent studies, fortification of wheat bread with *Ganoderma lucidum* (Reishi) has been shown to improve its nutritional value, notably increasing the dietary fiber and mineral content while influencing the bread volume and sensory attributes (Łysakowska *et al.*, 2024). A similar approach could be applied to Lion's Mane fortification potentially enhancing the antioxidant properties and nutritional value of bakery products.

Heridium erinaceus (Bull.) Pers., known colloquially as Lion's Mane, Yamabushitake, or Hóutóugū, has long been used in traditional Chinese medicine (Blagodatski *et al.*, 2018; Gong *et al.*, 2020). The dried mushroom contains 7.03% of water, 57.0% of carbohydrates, 22.3% of protein, 3.5% of lipids, 3.3-7.8% of dietary fiber, and 7.1% of ash (Łysakowska *et al.*, 2023). The predominant

polysaccharide in Lion's Mane is (1-3), (1-6)- β -glucan (Ma *et al.*, 2021). Additionally, this mushroom contains other active polysaccharides and glycoproteins, polyphenols, steroids, alkaloids, lactones, monounsaturated fatty acids, and essential amino acids (Friedman, 2015; Ghosh *et al.*, 2021). Numerous studies have shown that Lion's Mane exhibits anti-inflammatory properties, thereby acting against inflammatory processes, delaying aging, and preventing the development of many diseases such as cardiovascular diseases, cancer, and diabetes (Anusiya *et al.*, 2021; Pandita and Pandita, 2023; Phan *et al.*, 2015; Singh *et al.*, 2022). The presence of hericenones and erinacines in Lion's Mane fruiting bodies stimulates the production of nerve growth factor (NGF) in the brain and thus limits the development of neurodegenerative diseases, *e.g.* Alzheimer's and Parkinson's diseases, and reduces the occurrence of anxiety and depression (Chong *et al.*, 2020). Recent studies have demonstrated that the aforementioned active substances reduce the cytotoxicity of β -amyloid (A β) and protect nerve cells from death induced by oxidative stress or endoplasmic reticulum stress (Szućko-Kociuba *et al.*, 2023; Włodarczyk *et al.*, 2020).

Due to the beneficial effects of Lion's Mane on health, attempts have been made to enrich various products, including durum wheat pasta, with this mushroom (Szydłowska-Tutaj *et al.*, 2023). However, there are still no data in the literature regarding the possibility of using Lion's Mane for fortifying wheat bread, which is one of the most commonly consumed grain products (Miettona *et al.*, 2022). Wheat bread, produced from low-extraction refined flour, has limited nutritional value due to its high content of digestible carbohydrates, mainly starch (80.3% d.m.), and relatively low content of protein (13.16% d.m.), dietary fiber (6.77% d.m.), mineral elements (0.72% d.m.), and biologically active compounds (Goel *et al.*, 2021; Wirkijowska *et al.*, 2023; Bredariol *et al.*, 2020). Introducing a mushroom component into the recipe of wheat bread offers the possibility of obtaining a product with functional properties, but the added component may have a negative impact on the physicochemical properties and sensory quality of the product.

The aim of the present research was to evaluate the effect of adding Lion's Mane powder on the rheological parameters of dough, the baking value of flour, and the physicochemical properties and sensory quality of bread, including its antioxidant potential. The fortification of wheat bread with Lion's Mane mushroom may offer an interesting and promising alternative to traditional additives used in baking.

2. METHODOLOGY

2.1. Materials and methods

2.1.1. Raw materials

Wheat flour type 750 produced by Polskie Młyny (Warsaw, Poland) was used in this study. Its characteristics included ash content of 0.74% d.m., wet gluten content of $27.5\% \pm 1.0$, gluten index of 99.0 ± 0.3 , falling number $304 \text{ s} \pm 6$, and an average particle size equivalent to 0.12 mm.

As a substitute for wheat flour, powdered fruiting body of Lion's Mane (LM) was used (NatVita, Mirków, Poland). The fruiting body was ground into powder with a particle size of 200-300 μm , and each batch underwent microbiological and physicochemical testing before being incorporated, including analyses for heavy metal content and microbial contamination. This mushroom was chosen given its high quality confirmed by information about the certification, expiry date, and country of origin.

Both the flour and the mushroom powder were carefully stored in dark airtight containers, maintaining a temperature below 25°C and relative humidity in the range of 60-65%. These precise storage conditions were maintained both before the baking process and before the chemical analysis of the raw materials and bread.

2.1.2. Chemical reagents

H₂SO₄, HCl, K₂SO₄, H₃PO₄, K₂S₂O₈, AlCl₃ methyl red, Quercetin, Folin-Ciocalteu reagent, DPPH solution, ABTS solution, MES, TRIS (Sigma-Aldrich, Germany); CuSO₄, HNO₃ (Honeywell, USA); NaOH (WARCHEM, Poland), H₃BO₃, CH₃COONa (Alfa Aesar, USA); hexane, H₂O₂ (Thermo Fisher Scientific, USA); Na₂SO₄, Na₂CO₃ (Merck, Germany); Total Dietary Fiber Assay Kit (Megazyme, Ireland), Ethanol, Acetone (STANLAB, Poland); gallic acid (Cayman Chemical, USA).

2.2. Farinographic characteristics of dough

Various farinographic parameters of wheat flour type 750 and wheat flour partially substituted with 3, 6, 9, and 12% of powdered Lion's Mane (LM) mushroom were analyzed. In this study, the LM powder was used to replace a portion of the wheat flour, as shown in Table 1. Specifically,

Table 1. Bread ingredients expressed in percentages

Bread samples	Quantity (%)				
	Flour	Powdered (LM)	Water	Yeast	Salt
CON	100	–	58.4		
BS3	97	3	59.2		
BS6	94	6	60.6	3	1.5
BS9	91	9	63.1		
BS12	88	12	66.7		

CON – wheat bread without additives; BS3, BS6, BS9, BS12 – wheat bread with the addition of 3, 6, 9, and 12% Lion's Mane, respectively.

the wheat flour was substituted by the LM powder at levels of 3, 6, 9, and 12% by weight of the total flour content. These substitutions reduced the amount of the wheat flour proportionally.

The analyzed farinographic parameters included dough development time (DDT), water absorption (WA), stability time (ST), degree of dough softening (DS), and farinograph quality number (FQN). Measurements were conducted using a Farinograph-E (Brabender, model 8110142, Duisburg, Germany) according to the AACC 54-21 procedure. Each parameter was measured three times in each sample to ensure accuracy.

2.3. Bread production process

Five bread recipes were prepared with different proportions of wheat flour, including a control bread (CON) made from wheat flour only, and breads enriched with powdered LM mushroom at 3, 6, 9, and 12% by weight of wheat flour, designated BS3, BS6, BS9, and BS12, respectively (as shown in Table 1, which outlines the full recipe proportions).

The full bread recipe included 600 g of wheat flour or a mixture of wheat flour with powdered LM mushroom, 9 g (1.5%) of table salt, 18 g (3%) of pressed yeast (*Saccharomyces cerevisiae*), and the amount of water precisely determined based on the farinographic water absorption (WA) measured at a consistency of 500 Brabender units. This approach allowed precise monitoring of the impact of the ingredient ratios on the final bread characteristics.

To prepare the bread, the methodology described by Wirkijowska *et al.* (2020) was employed. The bread dough manufacturing process followed a one-phase method. Initially, the ingredients were combined in a BEAR Varimixer Teddy 5 L device (Varimixer A/S, Copenhagen, Denmark), first at a low speed for about 3 minutes and then at a higher speed until complete gluten development, as indicated by farinographic analysis. The fermentation process took place in a proofing chamber (Tefi Klima pro 100, Debag, Germany) at 30°C and 85 ± 2% relative humidity for 90 min. After 60 min, an intermediate dough punching step was performed, after which the dough was divided into portions weighing 290 g ± 5 g. Subsequently, the portions were manually shaped and placed in baking molds with dimensions of 18 × 7.5 × 7.0 cm. Three loaves were prepared for each bread variant.

The dough was left for 30 min in the proofing chamber maintained at 30°C and 85 ± 2% relative humidity. The fermentation time was monitored for each sample. The fermented dough was then baked in a bakery oven (Helios pro 100, Debag, Germany) at 230°C for 30 min. After baking, the loaves were allowed to cool for 1 hour at room temperature; then, they were individually placed in polyethylene bags and stored in room conditions (20°C, 50% humidity)

before proceeding to the quality assessment. This protocol ensures the reliability of the research process and a comprehensive analysis of bread characteristics.

2.4. Evaluation of bread quality

Five hours post-cooling, the bread characteristics were analyzed, including bread yield assessment calculated using Eq. (1), crust loss determined by Eq. (2), bread volume measured with the mustard seed displacement method (AACC Method 10-05.010), specific volume (cm³ 100 g⁻¹) calculated as the ratio of bread volume to its mass, and crumb moisture content determined according to AACC Method 44-15.02. All analyses were conducted in triplicate:

$$BY = \frac{W_1}{W_2} 100\%, \quad (1)$$

$$BL = \frac{W_3 - W_1}{W_3} 100\%. \quad (2)$$

In the equations, *BY* represents the bread yield, *W*₁ denotes the mass of the baked bread (measured at 1 h after removal from the oven chamber), *W*₂ is the mass of the flour used for a specific loaf of bread; *BL* stands for baking loss, and *W*₃ is the mass of the dough weighed directly before being placed in the oven.

2.5. Porosity of bread

The bread crumb porosity was analyzed using a digital microscope VHX-7000N (Keyence Corporation, Osaka, Japan) at a magnification of x 2000. The analysis of the porous structure involved an assessment of the number and size of voids and their uniformity throughout the internal space of the bread. The results of the porosity measurements served as a significant indicator of bread quality, facilitating the assessment of its texture and consistency.

2.6. Evaluation of bread colour parameters

The colour parameters of the bread were evaluated following the methodology described by Wirkijowska *et al.* (2023). The measurement of the breadcrumb colour was conducted using a spherical spectrophotometer (Chroma Meter CR 5, Konica Minolta, Sakai Osaka, Japan), and the *L*^{*}, *a*^{*}, and *b*^{*} values were expressed in the CIE Lab colour space. *L*^{*} values indicate colours from black to white (0-100), *a*^{*} values express redness when positive and greenness when negative, and *b*^{*} values indicate yellowness when positive and blueness when negative. The spectrophotometer was calibrated using white and black standard tiles, and measurements were performed 10 times for each sample. The total colour difference (ΔE^*) between the control sample and the fortified bread loaves was calculated according to Eq. (3). Additionally, the whiteness index (*WI*), yellowness index (*YI*), and browning index (*BI*) were calculated for each bread sample from the *L*^{*}, *a*^{*}, and *b*^{*} values using Eqs (4), (5), and (6), respectively:

$$\Delta E^* = \sqrt{(L_c^* - L_i^*)^2 + (a_c^* - a_i^*)^2 + (b_c^* - b_i^*)^2}, \quad (3)$$

$$WI = 100 - \sqrt{(100 - L^*)^2 + a^2 + b^2}, \quad (4)$$

$$YI = 142.83 \cdot \frac{b^*}{L^*}, \quad (5)$$

$$BI = \frac{100(x-0.31)}{0.17}, \quad (6)$$

where: L_c^* , a_c^* , b_c^* – represent the values for the control sample (CON); L_i^* , a_i^* , b_i^* – represent the values for tested samples enriched with (LM) mushroom; WI – whiteness index, YI – yellowness index, BI – browning index.

The Nix Colour Sensor program was used to analyze the L^* , a^* , and b^* values. The L^* , a^* , b^* values were inputted into the program, which used them to conduct colour conversion. The conversion process was based on mathematical algorithms that analyze colour parameters and transform them into appropriate values representing the hue of the colour. Consequently, the program generated the final colour hue.

2.7. Texture profile analysis (TPA) of bread

The study involved two mechanical tests to evaluate the texture of the bread crumb and the strength of the crust. All analyses were conducted using the Zwick/Roell Z0.5 strength testing machine (BT1-FR0.5TN.D14, Ulm, Germany) with a maximum force of 500 N.

For the texture profile analysis (TPA) of the crumb, the top portions of the loaves were removed, and each loaf was sliced into 20 mm wide pieces. From these slices, samples in the form of rectangular prisms with dimensions of $30 \times 30 \times 20$ mm were extracted for further analysis. The double compression test was carried out using a flat cylindrical disc with a diameter of 100 mm at a constant head speed of 1 mm s^{-1} . The samples were compressed to 50% of their initial height. The force-deformation curves obtained from this test were used to determine several key parameters, including hardness (N), elasticity (-), cohesiveness (-), and chewiness (N). The TPA measurements were conducted 24 and 48 h after baking, with each sample being measured seven times to ensure accuracy and repeatability.

In addition to the crumb analysis, the strength of the bread crust was determined using a puncture test. A flat penetrometer with a diameter of 5 mm was used to puncture the crust in the upper part of the loaf. The entire bread loaf was placed on a stationary base, and the test was conducted at a speed of 1 mm s^{-1} until crust failure occurred. Failure was defined as a 20% drop in the registered force

after reaching the maximum value. The result of the test was expressed as the maximum force (N) recorded during the puncture of the crust.

2.8. Chemical analysis of raw materials and bread

The raw materials and bread underwent thorough chemical analyses (moisture, ash, protein, fat, and dietary fiber content) following the AACC and AOAC methods.

For moisture analysis, 3 g samples were subjected to drying using Method AACC 44-15A in a laboratory dryer maintained at a constant temperature of $103^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ until a constant mass was achieved.

The ash content was determined using method AACC 08-01. Precisely measured 3 g samples were placed in porcelain crucibles and subjected to combustion in a muffle furnace at 550°C for 7 h. After cooling, the samples were weighed, and the ash content was calculated.

To determine the total protein content, the KjeltectTM 8400 apparatus (Foss Analytical AB, Höganäs, Sweden) was used with automated Kjeltect Auto equipment from Tecator. The nitrogen content was converted to protein using a conversion factor of $N \times 5.7$.

The total fat content was determined following acid hydrolysis, after which continuous extraction was carried out using a Soxtec TM8000 apparatus (Foss Analytical AB, Höganäs, Sweden) with hexane as a solvent. The analyses were conducted three times to ensure reliability of results.

Enzymatic methods (AACC 32-05, AACC 32-21, AOAC 991.43, and AOAC 985.29) were employed to determine the content of total dietary fiber (TDF), insoluble dietary fiber (IDF), and soluble dietary fiber (SDF). The process involved sequential enzymatic digestion of 1 g dry samples using thermostable α -amylase, protease, and amyloglucosidase. The enzymes and analytical procedures were developed by Megazyme International Ireland Ltd. (Wicklow, Ireland).

Digestible carbohydrates were calculated as the difference between 100% and the content of water, protein, fat, dietary fiber, and ash (USDA).

The energy value was measured in kilocalories (kcal) per 100 g of wet bread, using Atwater coefficients. Proteins and carbohydrates contributed 4 kcal g^{-1} , fats provided 9 kcal g^{-1} , and total dietary fiber was calculated at 2 kcal g^{-1} . The entire analysis process ensured a comprehensive assessment of the composition and nutritional value of the bread.

2.9. Determination of the content of mineral elements

In the study, the content of Mg, K, Fe, Zn, Mn, Se, Pb, and Cd was determined using flame atomic absorption spectrometry (FAAS) in accordance with the standard PN-EN ISO 6869:2002. In turn, the chromium content was analyzed using inductively coupled plasma mass

spectrometry (ICP-MS). For phosphorus determination, a spectrophotometric method with the use of a Shimadzu UV-1800 spectrophotometer was employed.

2.10. Extraction of polyphenols from raw materials and bread

The extraction of raw materials and bread was carried out using 70% ethanol. 10 grams of each material were mixed with 90 ml of ethanol and heated in a water bath for 10 hours at a temperature of 40°C, following the methodology described by Kozłowska *et al.* (2015). Subsequently, filtration was conducted to separate the raw material from the solvent using filter paper. The fresh extracts were used to determine the total polyphenol and flavonoid content and antioxidant capacity.

2.11. Total polyphenol and flavonoid content in raw materials and bread

The total polyphenol and flavonoid content was determined following the methodology provided by Krawęcka *et al.* (2022). In brief, the polyphenol content was measured using the Singleton and Rossi method with the Folin-Ciocalteu reagent. A 0.1 ml sample was mixed with the reagent and 20% (w/w) sodium carbonate and incubated for 30 min; the absorbance was measured at 700 nm using a Thermo Spectronic Helios Epsilon (Thermo Electron, Waltham, Massachusetts, USA). Gallic acid (1-150 mg l⁻¹) served as a standard, and the results were expressed as gallic acid equivalents in mg g⁻¹ of tested sample.

The total flavonoid content was determined using the method proposed by Quettier-Deleu *et al.* (2000). A 2 ml sample of the extract was mixed with a 5% (w/w) solution of aluminum chloride, and the absorbance was measured at 405 nm after 30 min. Quercetin (0.25-20 mg l⁻¹) was used as a standard, and the results were expressed as quercetin equivalents in µg g⁻¹ of tested sample.

2.12. Antioxidant activity of raw materials and bread against DPPH[•] and ABTS^{•+}

An ethanol solution of DPPH at a concentration of 6 x 10⁻⁵ mol dm⁻³ was prepared and then diluted with ethanol to achieve a value of A = 0.70 at a wavelength of λ = 515 nm. The DPPH solution was stored in a light-free environment at room temperature.

To 1.8 ml of the methanol solution of DPPH with a concentration of 6 x 10⁻⁵ mol dm⁻³, 100 µl of the test solution was added and thoroughly mixed. After 30 min, the absorbance was measured at 515 nm. Ethanol was used instead of the test sample as a control. The entire analysis was repeated three times. The radical-scavenging activity (RSA) was expressed as a percentage of DPPH neutralization:

$$RSA (\%) = (1 - A_t / A_0) \times 100, \quad (7)$$

where: A₀ – absorbance of the control sample at time 0, A_t – absorbance of the test sample after 30 min.

0.1920 g of ABTS and 0.0343 g of potassium persulfate were precisely weighed and then transferred quantitatively to a 50-ml volumetric flask. The solution was kept in a light-free environment for 16 h. After this time, the ABTS solution was diluted with methanol to achieve an absorbance of A = 0.75 at a wavelength of λ = 734 nm.

Subsequently, 100 µl of the test solution was added to 1.8 ml of the ABTS solution with a concentration of 6 x 10⁻⁵ mol dm⁻³ and thoroughly mixed. Changes in the concentration of ABTS radical cations were determined spectrophotometrically after 30 min incubation with the test extracts. After 30 min, the absorbance was measured at a wavelength of 734 nm. Water was used as a control instead of the test solution. The analysis was conducted in three replications. The radical-scavenging activity (RSA) was expressed as the percentage of ABTS^{•+} free radical neutralization using the Eq. (7).

2.13. Sensory analysis

The sensory analysis of the bread was conducted using a five-point scale. The sensory panel consisted of 11 trained panelists selected based on their regular consumption of bread, good health status, and absence of allergic reactions to gluten products. All studies were approved by the Bioethical Commission (Resolution No. UKE/09/2023).

The following attributes were assessed: external appearance, odor, colour, elasticity, porosity, and flavour. The bread samples were mechanically sliced into 1 cm thick slices, coded, and served in random order to ensure the objectivity of the assessment. The tests were carried out in a controlled laboratory environment for sensory evaluation, which complied with ISO 8589:2007 standards regarding lighting, temperature, and humidity to ensure optimal conditions for objective sensory assessment (ISO 8589:2007). The selection, training, and monitoring of the sensory panelists followed the guidelines outlined in ISO 8586:2012 (ISO 8586:2012).

Each panelist was provided with detailed descriptors for each sensory attribute to ensure consistency in evaluations. For example, elasticity was measured by gently pressing the crumb and observing its ability to return to its original shape, while porosity was evaluated by visually examining the size and distribution of air pockets within the crumb. Flavour was assessed after chewing the bread, with particular attention paid to the intensity and balance of taste as well as any lingering aftertaste.

2.14. Statistical analysis

The gathered data underwent meticulous statistical analysis to derive meaningful conclusions. Mean values and their corresponding standard deviations were computed, providing a comprehensive summary of the dataset. Statistical significance was assessed using one-way analysis

of variance with replication (ANOVA). STATISTICA 13 software by Statsoft was employed for the analysis, and a significance level of $p < 0.05$ was adopted.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Farinographic properties of the dough

Farinographic analysis of flour is a crucial tool in optimizing the bread production process, allowing precise selection of dough manufacturing parameters. In the farinographic studies, the influence of the addition of the mushroom component to the wheat flour on its properties, particularly water absorption and dough consistency, was examined. The results of these studies are presented in Table 2.

The farinographic analysis of wheat dough enriched with *Ganoderma lucidum* showed a significant impact of the mushroom on the rheological properties of the dough, such as water absorption capacity and dough stability (Łysakowska *et al.*, 2024). A similar approach was used in this study to assess the parameters of dough fortified with Lion's Mane.

The basic farinographic characteristics of dough obtained from wheat flour and wheat flour with the addition of the fungal component LM are presented in Table 2. The research showed that the incorporation of LM into the flour led to significant changes in dough rheology. With the addition level of 9% or higher, a significant ($p \leq 0.05$) increase in water absorption and extension of dough development time were observed. These results are consistent with the

findings reported by Wu *et al.* (2016), who supplemented wheat bread with the pine mushroom (*Sparassis crispa* (Wulf.)). The increase in water absorption was attributed by the authors to the greater disintegration of the gluten network structure, facilitating water absorption by starch granules. Conversely, Nie *et al.* (2019) investigated the water absorption of flour enriched with *Flammulina velutipes* (mushroom) and emphasized that the higher water absorption capability was related to the high dietary fiber content in mushroom powders. Hydroxyl groups present in fiber structures bind water through hydrogen bonds. These conclusions align with the observations shown by Wirkijowska *et al.* (2023), who additionally emphasized that high water absorption resulting from increased dietary fiber content had a positive impact on bread yield and production profitability. The addition of LM had a positive effect on dough stability time (ST), which increased by up to 75 at the 3% fortification with the fungal component. Both the extension of the dough development time (DDT) and the dough ST demonstrate a positive impact of LM on the technological value of flour. The results of farinographic tests clearly indicate an improvement in the technological properties of the dough after the addition of LM, such as increased stability and a higher farinograph quality number (FQN). The farinograph also allows precise determination of water absorption and the optimal water addition needed for the dough, which is crucial for ensuring proper dough consistency and machinability during

Table 2. Water absorption of flour and farinographic parameters of dough

Sample	WA (%)	DDT (min)	ST (min)	DS (FU)	FQN (mm)
CON	57.9 ^a ± 1.07	2.3 ^a ± 0.12	6.05 ^a ± 0.15	55 ^d ± 0.9	71 ^a ± 1.16
BS3	59.6 ^{ab} ± 1.10	2.6 ^a ± 0.15	10.6 ^c ± 0.25	27 ^c ± 0.44	107 ^b ± 1.75
BS6	61 ^{ab} ± 1.12	2.12 ^a ± 0.3	9.65 ^b ± 0.23	28 ^c ± 0.46	102 ^b ± 1.67
BS9	63.1 ^{bc} ± 1.16	7.08 ^b ± 0.12	10.47 ^c ± 0.25	17 ^b ± 0.28	119 ^c ± 1.94
BS12	66.6 ^c ± 1.23	8.08 ^c ± 0.13	9.67 ^b ± 0.23	14 ^a ± 0.23	114 ^c ± 1.86

CON – control sample (100% wheat flour); BS3, BS6, BS9, BS12 – samples enriched with 3, 6, 9, and 12% of Lion's Mane. Data are presented as mean ($n = 3$) ± standard deviation. Means within the column followed by different letters are significantly different (Tukey test, $p \leq 0.05$). Tested parameters: WA – water absorption, DDT – dough development time, ST – dough stability time, DS – degree of dough softening, FQN – farinograph quality number.

Table 3. Physical properties of bread samples

Sample	Dough yield (%)	Bread yield (%)	Total baking loss (%)	Volume of 100 g of bread
CON	162.17 ^a ± 0.5	140.78 ^a ± 1.31	13.19 ^b ± 0.81	350.79 ^d ± 2.69
BS3	162.67 ^{ab} ± 0.3	141.65 ^a ± 0.6	12.92 ^{ab} ± 0.37	345.55 ^{cd} ± 2.33
BS6	164.17 ^{ab} ± 0.4	143.69 ^a ± 1.33	12.47 ^{ab} ± 0.81	341.08 ^c ± 2.41
BS9	166.17 ^{ab} ± 0.3	147.52 ^b ± 1.33	11.09 ^a ± 0.8	329.98 ^b ± 2.35
BS12	167.50 ^b ± 0.3	149.83 ^b ± 0.61	10.30 ^a ± 0.36	321.84 ^a ± 2.05

CON – control sample (100% wheat flour); BS3, BS6, BS9, BS12 – samples enriched with 3, 6, 9, and 12% of Lion's Mane. Data are presented as mean ($n = 3$) ± standard deviation. Means within the column followed by different letters are significantly different (Tukey test, $p \leq 0.05$).

Table 4. Analysis of the texture profile of bread crust and crumb

Sample	Crust hardness (N)		Hardness (N)		Springiness		Chewiness (N)		Cohesiveness	
	24 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	48 h
CON	19.24 ^{cdB} ± 1.53	2.15 ^{aA} ± 0.25	2.26 ^{aA} ± 0.53	0.95 ^{bA} ± 0.05	0.96 ^{dA} ± 0.04	2.15 ^{aA} ± 0.25	2.26 ^{aA} ± 0.53	0.95 ^{bA} ± 0.05	0.96 ^{dA} ± 0.04	15.64 ^{bA} ± 1.23
BS3	19.94 ^{dB} ± 0.74	2.33 ^{abA} ± 0.33	3.00 ^{aA} ± 0.37	0.93 ^{bB} ± 0.03	0.90 ^{cA} ± 0.05	2.33 ^{abA} ± 0.33	3.00 ^{aA} ± 0.37	0.93 ^{bB} ± 0.03	0.90 ^{cA} ± 0.05	14.26 ^{abA} ± 1.54
BS6	18.90 ^{cdB} ± 1.61	3.11 ^{bA} ± 0.16	4.65 ^{bbB} ± 0.44	0.94 ^{bB} ± 0.03	0.87 ^{bcA} ± 0.02	3.11 ^{bA} ± 0.16	4.65 ^{bbB} ± 0.44	0.94 ^{bB} ± 0.03	0.87 ^{bcA} ± 0.02	13.48 ^{aA} ± 1.23
BS9	16.72 ^{bcB} ± 1.77	4.82 ^{cA} ± 0.49	4.85 ^{bA} ± 0.45	0.91 ^{bB} ± 0.05	0.84 ^{abA} ± 0.01	4.82 ^{cA} ± 0.49	4.85 ^{bA} ± 0.45	0.91 ^{bB} ± 0.05	0.84 ^{abA} ± 0.01	13.32 ^{aA} ± 1.40
BS12	14.88 ^{abA} ± 0.68	7.97 ^{dA} ± 1.01	8.05 ^{cA} ± 0.78	0.82 ^{aA} ± 0.02	0.81 ^{aA} ± 0.03	7.97 ^{dA} ± 1.01	8.05 ^{cA} ± 0.78	0.82 ^{aA} ± 0.02	0.81 ^{aA} ± 0.03	14.74 ^{abA} ± 1.88

CON – control sample (100% wheat flour); BS3, BS6, BS9, BS12 – bread enriched with 3, 6, 9, and 12% of Lion's Mane. Data are presented as mean (n=7) ± standard deviation. Different lowercase letters (a-d) within the column and different uppercase letters (A-B) within the row indicate statistically significant differences (Tukey test, $p \leq 0.05$).

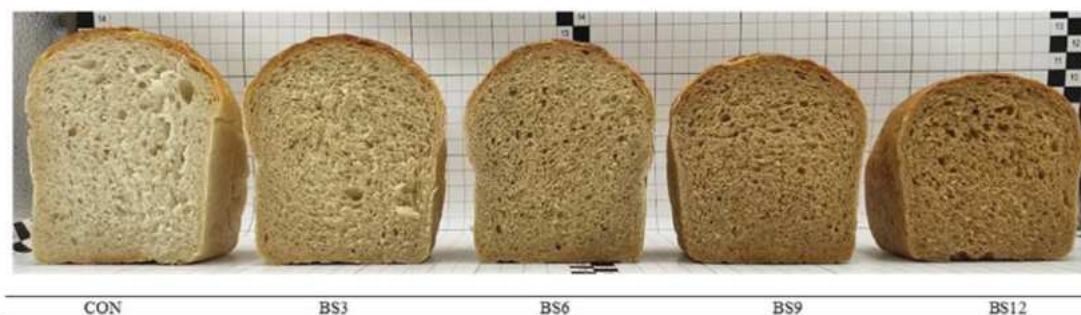
mixing. This positive impact of LM on the technological value of flour reflects its ability to enhance dough stability and reduce softening. However, the reduction in the bread volume (Table 3) and the firmer texture (Table 4) of bread enriched with LM may stem from the differing impact of this additive on the dough properties and the final product. While the farinograph provides valuable insights into the dough behavior during mixing and shaping, it does not directly measure parameters related to fermentation and gas retention, which are crucial for the final quality of the bread. The results of the farinographic evaluation (DDT, ST, DS) show that a strong gluten network was formed in the dough enriched with the mushroom powder, which can limit dough growth during fermentation and negatively affect the porosity of the bread. Nie *et al.* (2019) recorded an opposite trend when enriching wheat dough with 2.5–15% *Flammulina velutipes* (mushroom powders). This indicates that the species of mushroom used for fortification and its chemical composition are crucial in shaping dough consistency. As suggested by Welc-Stanowska *et al.* (2023), the presence of phenolic acids in the raw material may be significant. The authors demonstrated that hydrogen bonds between the polypeptide chain and phenolic acid

functional groups stabilized the gluten network, positively influencing dough consistency and stability. On the other hand, Teterycz and Sobota (2023) emphasize that the presence of mineral elements plays a significant role in shaping dough rheological parameters. As reported by the authors, increased levels of magnesium, potassium, or sodium ions may stimulate interactions between polypeptide chains and induce greater dough resistance to mixing while limiting its softening.

3.2. Evaluation of bread quality characteristics

An important aspect in the bakery technology is the analysis of bread baking parameters, including the determination of dough and bread yields, total baking losses, and bread volume per 100 g.

Table 3 presents the results of the physical properties of bread loaves. The evaluation of the baking parameters showed that both the dough yield and the bread yield increased significantly ($p \leq 0.05$) by approximately 5 and 9% points, respectively, in samples enriched with 12% of the LM powder. The increased bread yield and the reduced baking losses recommend LM as a component enhancing bread production profitability. However, it should be noted

**Fig. 1.** Samples of wheat bread (CON) and bread (BS) enriched with 3, 6, 9 and 12% Lion's Mane.

that the addition of the LM powder led to a statistically significant decrease ($p \leq 0.05$) in specific bread volume (Table 3, Fig. 1), already noticeable at a fortification level of 6%. Similar trends were observed by Lu *et al.* (2016), who introduced white mushroom and shiitake mushroom powder into wheat bread. Similarly, Skendi *et al.* (2010) reported that incorporation of β -glucan isolate into wheat flour led to a reduction in specific bread volume with increasing substitution levels. Yuan *et al.* (2017) observed that supplementation of bread with a fungal component has a negative effect on bread volume, mainly by weakening the gluten network crucial for retaining gases generated during fermentation. Enzymes present in fungal powder can hydrolyze proteins and starch in dough, further reducing the elasticity of the gluten network and weakening the dough structure. Incorporation of high-fiber fungal powder, devoid of gluten proteins, seems to contribute to a reduction in dough resistance to extensional stress occurring mainly during dough fermentation. Despite the greater resistance to mechanical stress (higher ST and lower DS, Table 2), dough enriched with a fungal component exhibits reduced gas retention capacity, including carbon dioxide produced during fermentation. Additionally, the altered dough recipe composition may negatively influence the fermentation process, potentially reducing gas production by yeast. As a result, bread with added fungal flour is characterized by lower volume and poorer porosity compared to traditional wheat bread (Fig. 2). Similar results were obtained by Yuan *et al.* (2017), who enriched bread with *Auricularia auricula* (mushroom) supplementation.

3.3. Evaluation of bread colour parameters

Studies on colour parameters are extremely important in assessing bread quality due to their impact on bread perception and consumer acceptance. In this study, the colour of wheat bread crumb with the addition of LM was compared to the colour of the control sample.

The statistical analysis revealed that the addition of LM, even at the level of 6%, significantly ($p < 0.05$) decreased the L^* value (brightness) and darkened the bread (Table 5). Simultaneously, with the increase in the level of wheat flour substitution with the fungal component in the range from 0 to 12%, a significant increase in the a^* (from 0.51 to 7.17) and b^* (from 12.27 to 27.14) values was observed, consequently leading to an increase in the bread browning index (from 22.11 to 77.61) and the yellowness index (from 28.5 to 72.58) with a simultaneous decrease in the whiteness index. The analysis of the total colour difference (ΔE) showed that even the smallest level of the fungal powder addition caused a significant change in the crumb colour. ΔE for sample BS3 (with the lowest fungal powder addition) had a value of 6.07, which was greater than 3, indicating a significant difference in the colour from the control sample, according to Pathare *et al.* (2013).

Typically, the LM fruiting body is white, but over time, the colour may change to yellow or brownish hues. In a study conducted by Kim (2020), the lack of data on the presence of pigments in LM was emphasized. The hypothesis suggests that the change of the fungus colour may be related to the processing into powder. Thermal processing may induce Maillard reactions, leading to the formation of melanoidins ranging from brown to black, which are responsible for the yellow-brown colour of the powder.

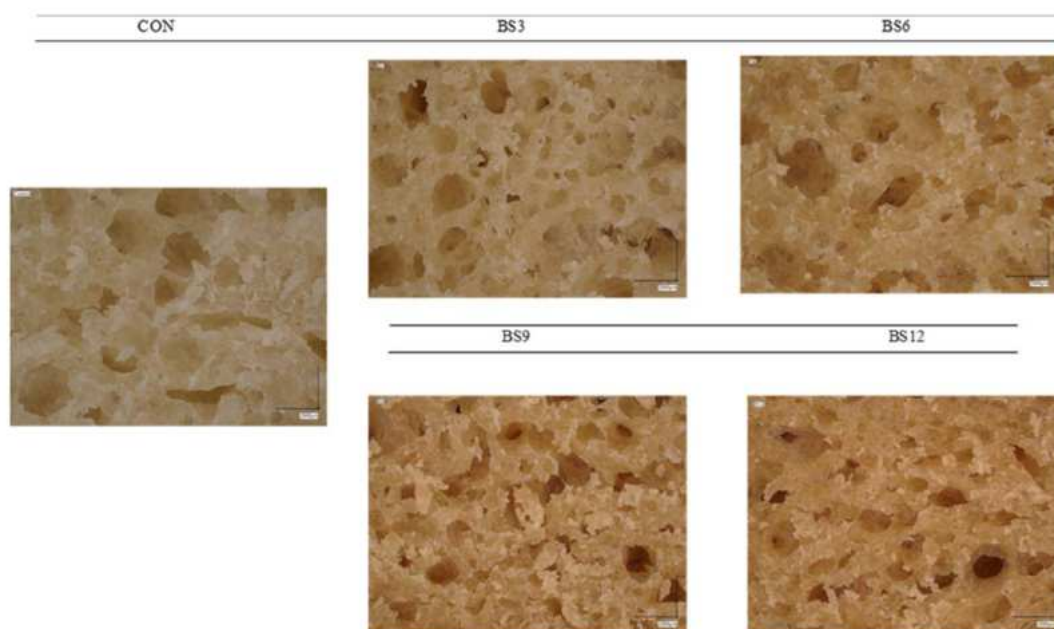


Fig. 2. Porosity of fresh crumb of wheat bread (CON) and bread enriched (BS) with 3, 6, 9 and 12% Lion's Mane.

Table 5. Colour of bread samples

Simple	Colour reading using the Nix Colour Sensor program	L^*	a^*	b^*	Index			
					Browning	Yellowness	White	ΔE^*
CON		61.49 ^c ± 0.58	0.51 ^a ± 0.37	12.27 ^a ± 0.46	22.11 ^a ± 0.98	28.5 ^a ± 1.08	59.58 ^c ± 0.55	—
BS3		60.17 ^{bc} ± 1.07	1.84 ^b ± 0.12	17.96 ^b ± 1.81	36.53 ^b ± 1.51	42.66 ^b ± 1.41	56.26 ^c ± 1.07	6.07 ^a ± 0.57
BS6		57.97 ^b ± 1.2	3.67 ^c ± 0.23	22.97 ^{cd} ± 1.62	54.28 ^c ± 1.8	57.26 ^c ± 2.1	51.88 ^b ± 5.39	13.13 ^b ± 1.86
BS9		57.07 ^b ± 1.91	5.29 ^d ± 0.46	24.96 ^c ± 0.92	62.23 ^d ± 3.5	62.52 ^d ± 2.44	50.03 ^b ± 1.55	14.45 ^b ± 1.03
BS12		53.43 ^a ± 1.35	7.17 ^c ± 0.28	27.14 ^d ± 1.02	77.61 ^c ± 2.05	72.58 ^c ± 1.34	45.61 ^a ± 0.97	18.28 ^c ± 0.56

CON – control sample (100% wheat flour bread); BS3, BS6, BS9, BS12 – bread enriched with 3, 6, 9, and 12% of Lion's Mane. Colour parameters include: L^* – lightness, a^* – red-green shade, and b^* – blue-yellow shade. Data are presented as mean (n = 10) ± standard deviation. Mean values for the same parameters followed by different letters are significantly different (Tukey test, $p \leq 0.05$).

Losoya-Sifuentes *et al.* (2021) observed a similar effect of mushroom addition on bread colour. They found that the addition of *Pleurotus ostreatus* caused a decrease in the L^* parameter and a significant increase in the a^* and b^* parameters. These changes were attributed to the darker colour of the mushroom powder compared to refined wheat flour and Maillard reactions leading to the formation of melanoidins giving brown colour to bread during baking. Jia *et al.* (2023) further emphasized that, during baking, Maillard reactions and caramelization of sugars inside the loaf are limited due to lower temperature and less intense water evaporation compared to the outer layers of the bread. Therefore, the bread crumb colour is mainly dependent on the colour of raw materials.

In the context of the present research on the addition of LM to bread, it is important to consider whether the introduction of mushrooms may increase the amount of substrates needed for Maillard reactions. Lion's Mane, like many other mushrooms, contains reducing sugars and amino acids, such as lysine, which are key substrates for Maillard reactions. By adding LM to bread, it is possible to provide additional substrates needed for this chemical reaction. Ultimately, this leads to a change in bread colour and the formation of new aroma and flavour compounds, which may have a significant impact on consumer perception and acceptance of the product.

3.4. Texture profile analysis (TPA) of bread

The incorporation of LM into the bread recipe resulted in changes in the textural properties of the crust and crumb. It is noteworthy that the crust hardness decreased with an increase in the LM content (Table 5). However, statistically significant changes were observed only after the application of the 12% addition. During storage, the crust hardness generally decreased, with changes being more pronounced

in the variant with the higher LM content. The decrease in crust hardness during storage is likely due to moisture migration from the crumb to the crust (Mironeasa *et al.*, 2018).

In turn, crumb hardness increased after the incorporation of LM. The increase in the amount of the LM powder caused further changes in this parameter. Similar trends were observed in a study conducted by Sulieman *et al.* (2018), where the hardness of gluten-free bread crumb increased with the addition of lyophilized *Agaricus bisporus* mushroom powder. The increase in the hardness of wheat bread fortified with mushroom or plant-based powders may result from the inclusion of a raw material that reduces the formation of the gluten network. Typically, bread hardness increases linearly with increasing concentrations of plant additives (Liu *et al.*, 2022; Steffolani *et al.*, 2014; Wirkijowska *et al.*, 2022). The average values of hardness determined at 48 h after baking generally increased. Furthermore, during storage, the crumb hardness changed the most in the bread with the 6% LM addition (by 49.5% compared to the value of the parameter determined at 24 h after baking). The further increase in the LM content did not result in such significant changes.

The highest springiness, indicating the ability to regain shape after deformation, was exhibited by the control bread crumb. With the increasing LM content, the values of this parameter gradually decreased, reaching significantly lower values compared to the control sample ($p \leq 0.05$) only at the 12% LM fortification level. Slightly greater variability was observed for bread resilience after 48 h of storage. The values of this parameter were significantly lower in all breads containing *Hericiium erinaceus*. Ulziijargal *et al.* (2013) also observed lower resilience values in bread crumb with the addition of LM compared to wheat bread. However, the data obtained by the authors after long-term

bread storage were interesting. The wheat bread exhibited significantly lower resilience at 6 days after baking than those enriched with *Hericium erinaceus*.

The addition of 3% of LM did not result in significant changes in crumb cohesiveness in our bread (both fresh and after 48 h of storage). Similar conclusions were reached by Ulziijargal *et al.* (2013), who added 5% of mushroom powder, including *Hericium erinaceus*, to the wheat bread recipe. It is also worth noting that, after 48 h of storage, the bread crumb with the addition of the mushroom component exhibited lower cohesiveness than the fresh bread. These changes are primarily associated with bread staling (Esteller *et al.*, 2004). The greatest changes in cohesiveness were observed for breads with the 3-9% LM addition.

Based on the results of statistical analysis, it was found that the fortification with up to 6% LM did not cause significant changes in bread crumb chewiness. Previous studies (Suliman *et al.*, 2018) confirm that enrichment of bread with LM results in increased crumb chewiness, indicating an increase in the force required to crush the crumb before swallowing. Wirkijowska *et al.* (2023) also demonstrated that incorporation of plant-based materials with high fiber content (69% of dry matter) to wheat bread can increase its chewiness. In their study, a 12% addition of tomato waste significantly affected this characteristic of bread. However, the addition of pepper waste, characterized by dietary fiber content of 33.47% dry matter, did not cause significant changes in bread chewiness.

3.5. Sensory evaluation of bread characteristics

Sensory acceptance and consumer preferences are key determinants of the market success of new food products. Therefore, the developed bread variants underwent a detailed sensory evaluation to determine their acceptance by consumers and identify potential undesired sensory attributes. The results of the sensory evaluation demonstrated that the use of the mushroom component additive in quantities of 3-12% did not significantly deteriorate the external appearance of the bread (Table 6). Particularly, the appearance of samples BS3 and the control (CON) were rated the highest by the panelists (4.45), suggesting that the

addition of the LM powder at this level does not negatively impact the visual perception of the product. Similar observations pertain to the evaluation of odor, which was highly rated for all samples, especially for sample BS3 and the control. The study confirmed the lack of a negative impact of the LM powder additive on the aromatic attractiveness of the bread.

In terms of colour, all samples, regardless of the mushroom component content, received a uniform rating (4.27), suggesting a neutral influence of the mushrooms on this sensory parameter. However, concerning elasticity and porosity, a decrease in the rating values was observed with an increase in the mushroom content. This was consistent with the results of bread quality characteristics, including reduced volume per 100 g of bread and decreased crumb porosity. The most significant differences were noticed in the taste category, where the control sample received the highest rating (4.54), while sample BS12 (with the highest mushroom addition) obtained a relatively low rating (2.81). These results indicate that a higher level of substitution with the mushroom component may have an adverse effect on the taste of the bread, which is a crucial aspect in terms of consumer acceptance. Different results were obtained by Ulziijargal *et al.* (2012), who investigated the impact of addition of different mushrooms on the sensory characteristics of bread. The authors showed that substitution of wheat flour with a 5% addition of *Antrodia camphorata*, *Agaricus blazei*, *Hericium erinaceus*, and *Phellinus linteus* negatively influenced the colour and appearance of bread but did not have an adverse impact on its taste.

3.6. Chemical composition of raw materials and bread

The chemical analysis of the raw materials and bread indicated statistically significant differences in the nutrient content between the tested samples (Table 7). Wheat flour type 750, which is a traditional raw material in bread production, was characterized by relatively low moisture content (9.4%) and ash content (0.69% d.m.), which is consistent with literature data presented for this type of soft wheat flour (Wirkijowska *et al.*, 2023; Biel *et al.*, 2016; Adhikari *et al.*, 2015). The protein (13.12% d.m.) and crude

Table 6. Results of the sensory evaluation of the bread

Sample	Evaluation parameters					
	Appearance	Smell	Colour	Flexibility	Taste	Overall rating
CON	4.45 ^a ± 0.5	4.36 ^a ± 0.57	4.27 ^a ± 0.71	4.18 ^a ± 0.75	4.55 ^b ± 0.42	4.36
BS3	4.45 ^a ± 0.86	4.27 ^a ± 0.88	4.36 ^a ± 0.88	4.00 ^a ± 0.88	4.00 ^{ab} ± 0.88	4.22
BS6	4.18 ^a ± 0.77	3.64 ^a ± 0.75	4.27 ^a ± 0.50	3.64 ^a ± 0.67	3.91 ^{ab} ± 0.75	3.93
BS9	3.91 ^a ± 0.74	4.18 ^a ± 0.75	4.27 ^a ± 0.67	3.55 ^a ± 0.86	3.18 ^{ab} ± 0.57	3.82
BS12	4.36 ^a ± 0.95	3.73 ^a ± 0.88	4.27 ^a ± 0.43	3.73 ^a ± 0.54	2.82 ^a ± 0.86	3.78

CON – control sample (100% wheat flour bread); BS3, BS6, BS9, BS12 – bread enriched with 3, 6, 9, and 12% of Lion's Mane. Data are presented as mean (n = 11) ± standard deviation. Different letters (a-b) in the column indicate statistically significant differences (Tukey test, p ≤ 0.05).

Table 7. Chemical composition of raw materials and bread samples

Sample	Moisture (%)	Ash (% d.m.)	Protein	Crude fat	TDF	IDF	SDF	Digestible carbohydrate (CHO)	Calories (kcal 100 g ⁻¹)
Wheat flour type 750	9.4 ^A ±0.1	0.69 ^A ±0.01	13.12 ^A ±0.04	0.45 ^A ±0.03	5.3 ^A ±0.13	2.4 ^A ±0.1	2.9 ^A ±0.2	71.04 ^B ±0.03	351.30±0.11 ^B
LM powder	5.3 ^B ±0.14	5.80 ^B ±0.1	21.16 ^B ±0.01	1.92 ^B ±0.09	54.44 ^B ±0.11	47.14 ^B ±0.38	7.3 ^B ±0.49	11.38 ^A ±0.05	256.32±0.05 ^A
CON	41.46 ^a ±0.71	2.20 ^a ±0.01	10.83 ^a ±0.04	1.23 ^a ±0.03	7.22 ^a ±0.19	4.26 ^a ±0.17	2.95 ^a ±0.02	78.52 ^c ±0.42	224.16 ^d ±0.17
BS3	42.11 ^{ab} ±0.23	2.35 ^b ±0.09	13.62 ^b ±0.05	1.28 ^{ab} ±0.12	10.67 ^b ±0.18	7.7 ^b ±0.06	2.97 ^a ±0.23	72.08 ^d ±0.3	217.47 ^c ±0.9
BS6	43.04 ^b ±0.30	2.4 ^b ±0.08	13.95 ^b ±0.0b	1.33 ^{ab} ±0.09	10.84 ^{bc} ±0.36	7.37 ^b ±0.49	3.43 ^b ±0.13	71.48 ^c ±0.24	213.8 ^b ±0.8
BS9	44.52 ^c ±0.2	2.58 ^c ±0.08	16.25 ^c ±0.09	1.38 ^{bc} ±0.1	11.8 ^c ±0.46	8.4 ^b ±0.72	3.41 ^b ±0.26	67.99 ^b ±0.2	206.93 ^{ab} ±0.16
BS12	45.12 ^c ±0.15	2.78 ^d ±0.4	16.46 ^c ±0.08	1.44 ^c ±0.07	13.27 ^d ±0.8	9.34 ^c ±0.80	3.93 ^c ±0.01	66.05 ^a ±0.22	202.80 ^a ±0.2

CON – control sample (100% wheat flour); BS3, BS6, BS9, BS12 – bread enriched with 3, 6, 9, and 12% of Lion's Mane (LM); CHO – digestible carbohydrates (by difference). Data are presented as mean (n = 3) ± standard deviation. Different letters in the column indicate statistically significant differences between the results for raw materials (A-B) and bread samples (a-d) (Tukey test, p ≤ 0.05).

fat (0.45% d.m.) content as well as the dietary fiber content (5.3% d.m.) divided into soluble (2.9% d.m.) and insoluble (2.4% d.m.) fractions indicate a chemical composition typical for wheat flour (Capuano *et al.*, 2017; Gill *et al.*, 2021).

The LM powder was characterized by relatively low moisture content (5.8% d.m.), typical for dried mushroom products (Łysakowska *et al.*, 2023). The high content of ash (5.8% d.m.), protein (21.16% d.m.), and dietary fiber (TDF) (54.44% d.m.), with a predominant insoluble fraction (IDF) (47.14% d.m.), confirm the high nutritional potential of LM. Dimopoulou *et al.* (2022) highlight the high protein content in *Hericium erinaceus*, which has been reported by these authors to be around 19.9% d.m.

The analysis of the chemical composition of the LM-supplemented bread revealed an increase in bread moisture from 41.46% in the control sample to 45.12% in sample BS12 (Table 6). This trend may result from the higher content of dietary fiber in the LM-enriched samples, which is characterized by high water absorption. Both the increased water content introduced into the dough and the lower losses during baking determine the higher final moisture content of the product. The increase in the ash content from 2.20% d.m. in CON to 2.78% d.m. in BS12 indicates higher mineral content in bread enriched with *Hericium erinaceus*. The addition of LM also led to an increase in protein content in the bread. Products with the 12% addition (BS12) were characterized by a 52% increase in the protein content compared to the control sample (CON). The LM-enriched bread also had significantly higher total

dietary fiber content (TDF), including both insoluble (IDF) and soluble (SDF) fractions. At the 12% level of wheat flour substitution with the mushroom component, the TDF and IDF content in the bread increased approximately 2-fold, while the SDF content increased 1.3 times. The crude fat content in the bread was relatively low, ranging from 1.23 to 1.44% d.m. With the increase in the content of the analyzed macronutrients, a decrease in digestible carbohydrates from 78.52% d.m. in CON to 66.05% d.m. in BS12 was observed, accompanied by a decrease in the calorie content in the bread from 224.16 kcal 100 g⁻¹ in CON to 202.80 kcal 100 g⁻¹ in BS12.

3.7. Mineral composition

Mushrooms can be a good source of minerals in the human diet (Haro *et al.*, 2020). As bioaccumulators, they have the ability to concentrate macroelements (*e.g.* potassium, calcium, phosphorus, and magnesium), trace elements (*e.g.* iron, chromium, zinc, manganese, copper, and cobalt), and heavy metals (*e.g.* lead and cadmium). Such factors as mushroom species, growth stage, fruiting body morphology, and environmental conditions significantly influence the mineral profile of mushroom fruiting bodies (Genççelep *et al.*, 2009; Mallikarjuna *et al.*, 2013). Table 8 shows the content of selected minerals, *i.e.* P, Mg, K, Fe, Zn, Mn, and Se, and heavy metals (Pb, Cd) in the mushroom powder, wheat flour, and bread. Additionally, recommended dietary allowances (RDA) values resulting from the consumption of 100 g of the product were calculated and adequate intake (AI)

Table 8. Content of selected minerals in raw materials and bread samples

Sample	Macroelements				Microelements			Heavy metals	
	P	Mg	K	Fe	Zn	Mn	Se	*Pb	*Cd
Content (mg 100 g ⁻¹)									
Wheat flour type 750	131 ^A ±31	22.3 ^A ±0.1	171.0 ^A ±0.5	2.50 ^A ±0.08	0.704 ^A ±0.014	0.825 ^A ±0.07	0.0112 ^A ±0.0003		
LM powder	412 ^B ±68	48.0 ^B ±0.2	2440.00 ^B ±11	6.76 ^B ±0.12	1.68 ^B ±0.08	1.11 ^B ±0.18	0.0121 ^A ±0.0005		
CON	89.4 ^a ±2.2	13.5 ^a ±0.1	121 ^a ±6	1.36 ^a ±0.05	0.537 ^a ±0.007	0.483 ^a ±0.07	0.0081 ^a ±0.0001	ND	
BS3	94.1 ^{ab} ±2.4	14.9 ^b ±0.1	153 ^b ±5	1.44 ^b ±0.06	0.544 ^{ab} ±0.006	0.503 ^{ab} ±0.24	0.0076 ^a ±0.0002		
BS6	98.6 ^{bc} ±1.2	15.6 ^c ±0.1	194 ^c ±8	1.47 ^b ±0.08	0.555 ^b ±0.002	0.506 ^{ab} ±0.35	0.0076 ^a ±0.0002		
BS9	101.3 ^{cd} ±1.7	15.9 ^d ±0.1	234 ^d ±11	1.61 ^c ±0.04	0.628 ^c ±0.005	0.500 ^{ab} ±0.36	0.0077 ^a ±0.0003		
BS12	103.0 ^d ±2.0	16.1 ^e ±0.1	283 ^e ±5	1.62 ^c ±0.02	0.674 ^d ±0.001	0.614 ^b ±0.27	0.0079 ^a ±0.0004		
RDA/AI (mg day ⁻¹)	700	375	2000	14	10	2	0.055	0.428	0.06
% RDA/AI									
CON	12.74	3.6	6.05	9.71	5.37	24.15	14.72		
BS3	13.44	3.97	7.65	10.28	5.44	25.15	13.81	—	
BS6	14.09	4.16	9.70	10.5	5.55	25.3	13.81	—	
BS9	14.47	4.24	11.7	11.5	6.28	25	14	—	
BS12	14.71	4.29	14.2	11.57	6.74	30.7	14.36	—	

CON – control sample (100% wheat flour bread); BS3, BS6, BS9, BS12 – bread enriched with 3, 6, 9, and 12% of Lion's Mane (LM). RDA – recommended dietary allowances, AI – adequate intake. *Daily allowable dose (WHO). Data are presented as mean (n = 3) ± standard deviation. Means in the same column (raw material or sample) with different letters are significantly different (Tukey test, $p \leq 0.05$). The mineral elements are presented for dry mass in the case of raw materials and for wet basis in the case of baked bread.

values are presented. It is recognized that the most common deficiencies in mineral nutrients in the human diet include iron and magnesium (Montowska *et al.*, 2019).

The wheat flour used as a traditional bread ingredient exhibited relatively low concentrations of such elements as phosphorus (P) (131 mg 100 g⁻¹), magnesium (Mg) (22.3 mg 100 g⁻¹), potassium (K) (171 mg 100 g⁻¹), iron (Fe) 2.5 mg 100 g⁻¹, zinc (Zn) 0.704 mg 100 g⁻¹, manganese (Mn) 0.825 mg 100 g⁻¹, and selenium (Se) 0.0112 mg 100 g⁻¹. Heavy metals, such as cadmium (Cd) and lead (Pb), were not identified in this raw material (Table 8). Similar mineral contents in flour were reported by Martínez-Martín *et al.* (2023).

In comparison to the flour, the LM powder showed significantly higher concentrations of phosphorus (412 mg 100 g⁻¹), magnesium (48 mg 100 g⁻¹), potassium (2440 mg 100 g⁻¹), iron (6.76 mg 100 g⁻¹), zinc (1.68 mg 100 g⁻¹), manganese (1.11 mg 100 g⁻¹), and selenium (0.0121 mg 100 g⁻¹), suggesting its potentially beneficial influence on enriching bread with these mineral elements. Compared to the raw materials, the concentration of minerals in 100 g of the bread was lower due to the higher moisture content, but the analysis of the control bread (CON) and bread enriched with various concentrations of the mushroom (BS3, BS6,

BS9, BS12) revealed significant differences ($p > 0.05$) in the mineral content. The increase in the level of fortification with the mushroom component was accompanied by a gradual increase in the mineral content. BS12 was characterized by the highest levels of phosphorus (103 mg 100 g⁻¹), magnesium (16.1 mg 100 g⁻¹), potassium (283 mg 100 g⁻¹), iron (1.62 mg 100 g⁻¹), zinc (0.674 mg 100 g⁻¹), manganese (0.614 mg 100 g⁻¹), and selenium (0.0079 mg 100 g⁻¹). The enriched bread (BS3, BS6, BS9, BS12) covered RDA/AI for most minerals to a significantly greater extent. For example, in BS12, the percentage coverage of RDA/AI for potassium increased from 6.05 to 14.2%. However, the most significant increase in the percentage coverage of RDA/AI was observed for such minerals as manganese, phosphorus, and zinc. The significant increase in the mineral content in the enriched bread may have a significant impact on the nutritional value of the product. Particularly important is the increase in the levels of such minerals as iron and potassium, which play a crucial role in many physiological processes and are often deficient in typical diets (Jamova *et al.*, 2022).

Table 9. Polyphenol content and antioxidant activity of raw materials and bread samples

Sample	Flavonoids (mg QE g ⁻¹ d.m.)	Polyphenols (mg GAE g ⁻¹ d.m.)	Radical scavenging activity against (%)	
			ABTS ⁺	DPPH [·]
Wheat flour type 750	ND	0.13 ^A ±0.03	30.32 ^A ±0.9	45.02 ^A ±0.8
(LM) powder	0.85 ± 0.05	11.42 ^B ±0.1	96.08 ^B ±1.1	98.83 ^B ±1.3
CON	ND	0.46 ^a ±0.02	30.12 ^a ±0.8	42.84 ^a ±0.3
BS3	ND	0.87 ^{bc} ±0.03	41.32 ^b ±0.82	51.06 ^b ±0.8
BS6	ND	0.98 ^c ±0.02 ^b	52.32 ^c ±0.34	54.69 ^c ±0.72
BS9	0.01 ^A ±0.01	1.16 ^d ±0.05	60.88 ^d ±0.2	57.38 ^c ±0.35
BS12	0.02 ^A ±0.01	2.24 ^c ±0.08	76.77 ^c ±0.24	60.36 ^c ±0.24

CON – control sample (100% wheat flour bread); BS3, BS6, BS9, BS12 – bread enriched with 3, 6, 9, and 12% of Lion's Mane (LM). Data are presented as mean (n = 3) ± standard deviation. Means in the same column followed by different letters are significantly different (Tukey test, p ≤ 0.05).

3.8. Polyphenol content and antioxidant activity

Wheat flour type 750 exhibited polyphenol content of 0.13 mg GAE g⁻¹ d.m. with antioxidant activity measured by its ability to inhibit the cation radicals ABTS⁺ and DPPH[·] at 30.32 and 45.02%, respectively. In comparison to the wheat flour, the LM mushroom powder had significantly higher total polyphenol content (0.13 vs. 11.42 mg GAE g⁻¹ d.m.) and antioxidant activity reaching 96.08 and 98.83% against ABTS⁺ and DPPH[·], respectively. The results presented in Table 9 indicate a markedly greater antioxidant potential of LM mushroom compared to traditional wheat flour. Therefore, the incorporation of the LM mushroom powder into bread at levels ranging from 3% to 12% substantially increased the polyphenol content and antioxidant activity of the product. The polyphenol content increased from 0.87 mg GAE g⁻¹ d.m. in the bread with the 3% addition (BS3) to 2.24 mg GAE g⁻¹ d.m. in the bread with the 12% addition of the mushroom component (BS12). Concurrently, the antioxidant activity of the bread increased, reaching a maximum value of 76.77% and 60.36% RSA against ABTS⁺ and DPPH[·], respectively, at the highest level of mushroom substitution (BS12). The addition of the mushroom component, which is rich in phenolic compounds, significantly boosted the antioxidant activity of the bread. The presence of hydroxyl groups (-OH) in the structure of phenolic acids may be a source of the antioxidant activity of (LM) mushrooms (Chang *et al.*, 2021). Similar research findings were reported by Liu *et al.* (2022), who introduced powder from *Pleurotus eryngii* and *Cantharellus cibarius* mushrooms into bread. Breads enriched with the mushroom components exhibited higher total polyphenol content (TPC), suggesting a positive influence of these mushrooms on the antioxidant properties of the bread. The increase in TPC was not directly proportional to the amount of added powder, which may be due to partial degradation of polyphenols during bread baking. Therefore, introduction of medicinal mushrooms into bread production offers

the possibility of creating functional products with health-promoting properties and high antioxidant potential (Liu *et al.*, 2022).

4. CONCLUSIONS

The present results provide evidence for the potential use of Lion's Mane (LM) mushrooms to enrich wheat bread. The incorporation of the mushroom component at the levels from 3 to 12% positively influenced the farinographic parameters of the dough, increasing water absorption, development time, stability, and Farinograph Quality Number, while reducing dough softening. The addition of LM mushrooms may help to optimize the bread production process by increasing dough and bread yields and reducing total baking loss. The textural properties of the crumb, such as hardness, chewiness, and cohesiveness, did not significantly change with additions up to 6%, and the sensory evaluation results (overall rating) indicated that even the 12% addition of the LM mushrooms yielded sensory acceptable products (overall rating >3.5). The increase in the LM mushroom content in the bread was associated with a change in crumb colour towards darker, more yellowish, and brownish hues. The chemical composition analysis demonstrated that bread supplemented with the mushroom was richer in protein, dietary fiber (IDF and SDF), and mineral elements, enhancing its nutritional value. Additionally, it was characterized by higher polyphenol content and greater antioxidant activity, which may be potentially important in the prevention of *e.g.* cardiovascular diseases and cancer.

In summary, the present results indicate that powdered LM mushroom can significantly improve the nutritional profile and antioxidant properties of wheat bread while maintaining its sensory acceptability. These studies open up new perspectives for the baking industry in terms of the production of functional products with the addition of medicinal mushrooms. The incorporation of mushroom

components, rich in biologically active compounds, into such a popular food product as wheat bread may contribute to improvement of the overall health status of the population and play a significant role in the prevention and treatment of non-communicable diet-related diseases.

CRedit author statement:

Paulina Łysakowska: Conceptualization, Methodology, Investigation, Resources, Visualization, Writing-Original draft preparation; Aldona Sobota: Conceptualization, Methodology, Data curation, Supervision, Writing-Reviewing and Editing; Anna Wirkijowska: Investigation, Validation, Formal analysis; Eva Ivanišová: Investigation, Supervision.

Conflicts of Interest: The Authors declare any conflict of interest.

5. REFERENCES

- Adhikari, B.M., Bajracharya, A., Shrestha, A.K., 2015. Comparison of nutritional properties of Stinging nettle (*Urtica dioica*) flour with wheat and barley flours. *Food Sci. Nutri.* 4(1), 119-124. <https://doi.org/10.1002/fsn3.259>
- American Association of Cereal Chemists (AACC), 2000. *Approved Methods* (10th ed.). St. Paul, MN, USA: AACC. <http://methods.aaccnet.org/toc.aspx>
- American Association of Cereal Chemists (AACC), 2010. *AACC Approved Methods of Analysis* (11th ed.). St. Paul, MN, USA: AACC.
- Anusiya, G., Prabu, U.G., Yamini, N.V., Sivarajasekar, N., Rambabu, K., Bharath, G., *et al.*, 2021. A review of the therapeutic and biological effects of edible and wild mushrooms. *Bioengineered* 12(2), 11239-11268. <https://doi.org/10.1080/21655979.2021.2001183>
- Association of Official Analytical Chemists International (AOAC), 2019. *Official Methods*. Rockville, MD, USA: AOAC. Available online: <https://www.aoac.org/official-methods-of-analysis-21st-edition-2019>
- Biel, W., Jaroszewska, A., Stankowski, S., Sadkiewicz, J., Bosko, P., 2016. Effects of genotype and weed control on the nutrient composition of winter spelt (*Triticum aestivum ssp. spelta* L.) and common wheat (*Triticum aestivum ssp. vulgare*). *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B – Soil and Plant Sci.* 66(1), 27-35. <https://doi.org/10.1080/09064710.2015.1062533>
- Blagodatski, A., Yatsunskaya, M., Mikhailova, V., Tiasto, V., Kagansky, A., Katanaev, V.L., 2018. Medicinal mushrooms as an attractive new source of natural compounds for future cancer therapy. *Oncotarget* 9(49), 29259-29274. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.25660>
- Bredariol, P., Carvalho, R.A., Vanin, F.M., 2020. The effect of baking conditions on protein digestibility, mineral and oxalate content of wheat breads. *Food Chem.* 332, Article 127399. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127399>
- Capuano, E., 2017. The behaviour of dietary fibre in the gastrointestinal tract determines its physiological effect. *Critical Reviews Food Science Nutrition* 57(16), 3543-3564. <https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1180501>
- Chang, K.A., Kow, H.N., Tan, T.-E., Tan, K.L., Chew, L.Y., Neo, Y.P., *et al.*, 2021. Effect of domestic cooking methods on total phenolic content, antioxidant activity, and sensory characteristics of *Hericum erinaceus*. *Int. J. Food Sci. Technol.* 56, 5639-5646. <https://doi.org/10.1111/ijfs.15158>
- Chong, P.S., Fung, M.-L., Wong, K.H., Lim, L.W., 2020. Therapeutic potential of *Hericum erinaceus* for depressive disorder. *Int. J. Molecular Sci.* 21(1), Article 163. <https://doi.org/10.3390/ijms21010163>
- Dimopoulou, M., Kolonas, A., Mourtakos, S., Androustos, O., Gortzi, O., 2022. Nutritional composition and biological properties of sixteen species of edible mushrooms. *Applied Sci.* 12(16), p.8074. <https://doi.org/10.3390/app12168074>
- Elkhateeb, W.A., Daba, G.M., Thomas, P.W., Wen, T.-C., 2019. Medicinal mushrooms as a source of natural therapeutic bioactive compounds. *Egyptian Pharmaceutical J.* 18, 145-155.
- Esteller, M.S., Amaral, R.L., Lannes, S.C.D.S., 2004. Effect of sugar and fat replacers on the texture of baked goods. *J. Texture Studies* 35(4), 383-393.
- Friedman, M., 2015. Chemistry, nutrition, and health-promoting properties of *Hericum erinaceus* (Lion's Mane) mushroom fruiting bodies and mycelia and their bioactive compounds. *J. Agric. Food Chem.* 63(32), 7108-7123. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b02914>
- Gençelep, H., Uzun, Y., Tunçtürk, Y., Demirel, K., 2009. Determination of mineral contents of wild-grown edible mushrooms. *Food Chem.* 113(4), 1033-1036. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.08.058>
- Ghosh, S., Nandi, S., Banerjee, A., Sarkar, S., Chakraborty, N., Acharya, K., 2021. Prospecting medicinal properties of Lion's Mane mushroom. *J. Food Biochem.* 45, e13833. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13833>
- Gill, S.K., Rossi, M., Bajka, B., Whelan, K., 2021. Dietary fibre in gastrointestinal health and disease. *Nature Reviews Gastroenterology Hepatology* 18, 101-116. <https://doi.org/10.1038/s41575-020-00375-4>
- Goel, S., Singh, M., Grewal, S., Razzaq, A., Wani, S.H., 2021. Wheat proteins: A valuable resource to improve nutritional value of bread. *Frontiers in Sustainable Food Systems* 5, Article 769681. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.769681>
- Gong, W., Wang, Y., Xie, C., Zhou, Y., Zhu, Z., Peng, Y., 2020. Whole genome sequence of an edible and medicinal mushroom *Hericum erinaceus* (Basidiomycota, Fungi). *Genomics* 112(3), 2393-2399. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2020.01.011>
- Haro, A., Trescastro, A., Lara, L., Fernández-Figares, I., Nieto, R., Seiquer, I., 2020. Mineral elements content of wild growing edible mushrooms from the southeast of Spain. *J. Food Composition Analysis* 91, Article 103504. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2020.103504>
- ISO 8586:2012. *Sensory analysis – General guidelines for the selection, training and monitoring of selected assessors and expert sensory assessors*. Geneva, Switzerland: International Organisation for Standardisation.
- ISO 8589:2007. *Sensory analysis – General guidelines for the design of test rooms*. Geneva, Switzerland: International Organisation for Standardisation.
- Jia, W., Guo, A., Zhang, R., Shi, L., 2023. Mechanism of natural antioxidants regulating advanced glycosylation end products of Maillard reaction. *Food Chem.* 404 (Part A), Article 134541. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134541>

- Jamova, K., Makova, M., Alomar, S.Y., Alwasel, S.H., Nepovimova, E., Kuca, K., *et al.*, 2022. Essential metals in health and disease. *Chemico-Biological Interactions* 367, Article 110173. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2022.110173>
- Kim, S., 2020. Antioxidant compounds for the inhibition of enzymatic browning by polyphenol oxidases in the fruiting body extract of the edible mushroom *Hericium erinaceus*. *Foods* 9(7), Article 951. <https://doi.org/10.3390/foods9070951>
- Kozłowska, M., Laudy, A.E., Przybył, J., Ziarno, M., Majewska, E., 2015. Chemical composition and antibacterial activity of some medicinal plants from the Lamiaceae family. *Acta Poloniae Pharmaceutica* 72(4), 757-767.
- Krawęcka, A., Sobota, A., Ivanišová, E., Harangozo, L., Valková, V., Zielińska, E. *et al.*, 2022. Effect of black cumin cake addition on the chemical composition, glycemic index, antioxidant activity, and cooking quality of durum wheat pasta. *Molecules*, 26, 27(19), 6342. <https://doi.org/10.3390/molecules27196342>
- Landi, N., Clemente, A., Pedone, P.V., Ragucci, S., Di Maro, A., 2022. An updated review of bioactive peptides from mushrooms in a well-defined molecular weight range. *Toxins*, 14, Article 84.
- Liu, Y., Zhang, H., Brennan, M., Brennan, C., Qin, Y., Cheng, G., *et al.*, 2022. Physical, chemical, sensorial properties, and in vitro digestibility of wheat bread enriched with Yunnan commercial and wild edible mushrooms. *LWT* 169, Article 113923. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113923>
- Liu, Y., Zhang, H., Yu, H., Li, J., Brennan, M. A., Brennan, C. S., *et al.*, 2022. Wheat bread fortified with *Dictyophora indusiata* powder: evaluation of quality attributes, antioxidant characteristics, and bread staling. *Int. J. Food Sci. Technol.* 57(9), 5982-5992. <https://doi.org/10.1111/ijfs.15940>
- Losoya-Sifuentes, C., Simões, L.S., Cruz, M., Rodriguez-Jasso, R.M., Loredó-Treviño, A., Teixeira, J.A., *et al.*, 2021. Development and characterisation of *Pleurotus ostreatus* mushroom-wheat bread. *Starch – Stärke* 74, Article 2100126. <https://doi.org/10.1002/star.202100126>
- Lu, X., Brennan, M.A., Serventi, L., Mason, S., Brennan, C.S., 2016. How the inclusion of mushroom powder can affect the physicochemical characteristics of pasta. *Int. J. Food Sci. Technol.* 51, 2433-2439. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13246>
- Łysakowska, P., Sobota, A., Wirkijowska, A., 2023. Medicinal mushrooms: Their bioactive ingredients, nutritional value, and application in the production of functional food – a review. *Molecules* 28, Article 5393. <https://doi.org/10.3390/molecules28145393>
- Łysakowska, P., Sobota, A., Wirkijowska, A., Zarzycki, P., Blicharz-Kania, A., 2024. The impact of *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst. supplementation on the technological, chemical, and quality parameters of wheat bread. *Foods* 13, Article 3101. <https://doi.org/10.3390/foods13193101>
- Ma, B., Feng, T., Zhang, S., Zhuang, H., Chen, D., Yao, L., *et al.*, 2021. The inhibitory effects of *Hericium erinaceus* β -glucan on in vitro starch digestion. *Frontiers in Nutrition* 7, Article 621131. <https://doi.org/10.3389/fnut.2020.621131>
- Mallikarjuna, S.E., Ranjini, A., Haware, D.J., Vijayalakshmi, M. R., Shashirekha, M.N., Rajarathnam, S., 2013. Mineral Composition of Four Edible Mushrooms. *J. Chemistry* Article 805284. <https://doi.org/10.1155/2013/805284>
- Martínez-Martín, I., Hernández-Jiménez, M., Revilla, I., Vivar-Quintana, A.M., 2023. Prediction of mineral composition in wheat flours fortified with lentil flour using NIR technology. *Sensors* 23(3), Article 1491. <https://doi.org/10.3390/s23031491>
- Miettona, L., Samson, M.F., Marlin, T., Godet, T., Nollet, V., Guezennec, S., *et al.*, 2022. The impact of leavening agent and wheat variety on the sensory and nutritional quality of bread. *Microorganisms* 10, Article 1416. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10071416>
- Mironeasa, S., Codină, G.G., Mironeasa, C., 2018. Effect of composite flour made from tomato seed and wheat of 650 type of a strong quality for bread making on bread quality and alveograph rheological properties. *Int. J. Food Eng.* 4, 22-26.
- Montowska, M., Kowalczewski, P.L., Rybicka, I., Fornal, E., 2019. Nutritional value, protein, and peptide composition of edible cricket powders. *Food Chemistry* 289, 130-138. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.03.062>
- Nie, Y., Jin, Y., Deng, C., Xu, L., Yu, M., Yang, W., *et al.*, 2019. Rheological and microstructural properties of wheat dough supplemented with *Flammulina velutipes* (mushroom) powder and soluble polysaccharides. *CyTA - J. Food* 17(1), 455-462. <https://doi.org/10.1080/19476337.2019.1596986>
- Panda, S.K., Luyten, W., 2022. Medicinal mushrooms: Clinical perspective and challenges. *Drug Discovery Today* 27(2), 636-651. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2021.11.017>
- Pandita, D., Pandita, A. (Eds), 2023. *Mushrooms: Nutraceuticals and Functional Foods* (1st ed.). Boca Raton: CRC Press <https://doi.org/10.1201/9781003322238>
- Pathare, P. B., Opara, U.L., Al-Said, F.A. J., 2013. Measurement and analysis of colour in fresh and processed foods: A review. *Food Bioprocess Technol.* 6, 36-60. <https://doi.org/10.1007/s11947-012-0867-9>
- Phan, C.-W., David, P., Naidu, M., Wong, K.-H., Sabaratnam, V., 2015. Therapeutic potential of culinary-medicinal mushrooms for the management of neurodegenerative diseases: Diversity, metabolite, and mechanism. *Critical Reviews in Biotechnol.* 35(3), 355-368. <https://doi.org/10.3109/07388551.2014.887649>
- PN-EN ISO 6869:2002. Animal feeding stuffs – Determination of the contents of calcium, copper, iron, magnesium, manganese, potassium, sodium and zinc – Method using atomic absorption spectrometry (in Polish).
- Quettier-Deleu, C., Gressier, B., Vasseur, J., Dine, T., Brunet, C., Luyckx, M., *et al.*, 2000. Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls and flour. *J. Ethnopharmacology* 72(1-2), 35-42. [https://doi.org/10.1016/s0378-8741\(00\)00196-3](https://doi.org/10.1016/s0378-8741(00)00196-3)
- Singh, M.P., Rai, S.N., Dubey, S.K., Pandey, A.T., Tabassum, N., Chaturvedi, V.K., *et al.*, 2022. Biomolecules of mushroom: A recipe of human wellness. *Critical Reviews Biotechnol.* 42(6), 913-930. <https://doi.org/10.1080/07388551.2021.1964431>
- Skendi, A., Biliaderis, C.G., Papageorgiou, M., Izydorczyk, M.S., 2010. Effects of two barley β -glucan isolates on wheat flour dough and bread properties. *Food Chemistry* 119, 1159-1167. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.08.030>
- Song, T., Zhang, Z., Liu, S., Chen, J., Cai, W., 2020. Effect of cultured substrates on the chemical composition and biological activities of Lingzhi or Reishi medicinal mushroom, *Ganoderma lucidum* (Agaricomycetes). *Int. J. Medicinal Mushrooms* 22, 1183-1190.

- Sousa, A.S., Araújo-Rodrigues, H., Pintado, M.E., 2023. The health-promoting potential of edible mushroom proteins. *Current Pharmaceutical Design* 29, 804-823.
- Steffolani, E., De la Hera, E., Pérez, G., Gómez, M., 2014. Effect of chia (*Salvia hispanica* L.) addition on the quality of gluten-free bread. *J. Food Quality* 37, 309-317. <https://doi.org/10.1111/jfq.12098>
- Suliman, A.A., Zhu, K.X., Peng, W., Shoaib, M., Obadi, M., Hassanin, H.A., *et al.*, 2018. Assessment of rheological, physicochemical, and staling characteristics of gluten-free dough and bread containing *Agaricus bisporus* polysaccharide flour and inulin. *J. Food Measur. Characterization* 12, 2032-2044.
- Szućko-Kociuba, I., Trzeciak-Rydzek, A., Kupnicka, P., Chlubek, D., 2023. Neurotrophic and neuroprotective effects of *Hericum erinaceus*. *Int. J. Molecular Sci.* 24, Article 15960. <https://doi.org/10.3390/ijms242115960>
- Szydlowska-Tutaj, M., Szymanowska, U., Tutaj, K., Domagała, D., Złotek, U., 2023. The addition of Reishi and Lion's Mane mushroom powder to pasta influences the content of bioactive compounds and the antioxidant potential, anti-inflammatory, and anticancer properties of pasta. *Antioxidants* 12, Article 738.
- Teterycz, D., Sobota, A., 2023. Use of high-protein and high-dietary-fibre vegetable processing waste from bell pepper and tomato for pasta fortification. *Foods* 12(13), Article 2567. <https://doi.org/10.3390/foods12132567>
- Thongbai, B., Rapior, S., Hyde, K.D., Wittstein, K., Stadler, M., 2015. *Hericum erinaceus*, an amazing medicinal mushroom. *Mycological Progress* 14, Article 91.
- Ulzijiargal, E., Yang, J.H., Lin, L.Y., Chen, C.P., Mau, J.L., 2013. Quality of bread supplemented with mushroom mycelia. *Food Chem.* 138(1), 70-76.
- US Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Nutrient Data Laboratory., 2016. USDA. Washington, DC, USA.
- Venturella, G., Ferraro, V., Cirlincione, F., Gargano, M.L., 2021. Medicinal mushrooms: Bioactive compounds, use, and clinical trials. *Int. J. Molecular Sci.* 22, Article 634. <https://doi.org/10.3390/ijms22020634>
- Villares, A., Mateo-Vivaracho, L., Guillamón, E., 2012. Structural features and healthy properties of polysaccharides occurring in mushrooms. *Agriculture* 2, 452-471. <https://doi.org/10.3390/agriculture2040452>
- Welc-Stanowska, R., Kłosok, K., Nawrocka, A., 2023. Effects of gluten-phenolic acids interaction on the gluten structure and functional properties of gluten and phenolic acids. *J. Cereal Sci.* 111, Article 103682. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2023.103682>
- Wirkijowska, A., Sobota, A., Zarzycki, P., Nawrocka, A., Blicharz-Kania, A., Andrejko, D., 2022. Chemical, technological, and sensory evaluation of the suitability of coconut by-products in white rolls. *J. Sci. Food Agric.* 102(8), 3370-3378.
- Wirkijowska, A., Zarzycki, P., Sobota, A., Nawrocka, A., Blicharz-Kania, A., Andrejko, D., 2020. The possibility of using by-products from the flaxseed industry for functional bread production. *LWT* 118, Article 108860.
- Wirkijowska, A., Zarzycki, P., Teterycz, D., Nawrocka, A., Blicharz-Kania, A., Łysakowska, P., 2023. The influence of tomato and pepper processing waste on bread quality. *Appl. Sci.* 13, Article 9312. <https://doi.org/10.3390/app13169312>
- Włodarczyk, A., Fijałkowska, A., Jędrejko, K., Zięba, P., Lazur, J., Sułkowska-Ziaja, K., *et al.*, 2020. Edible and medicinal mushroom *Hericum erinaceus* as a potential natural material with influence on brain functions. *Medicina Internacia Revuo* 29(114), 4-10.
- Wu, Y., Han, I., Park, B.-G., Li, J., Yang, H., Shin, H.-J., 2016. Effects of dried medicinal mushroom (*Sparassis crispa*) powder on wheat flour dough and bread properties. *KSBB J.* 31, 171-177. <https://doi.org/10.7841/ksbbj.2016.31.3.171>
- Yuan, B., Zhao, L., Yang, W., McClements, D.J., Hu, Q., 2017. Enrichment of bread with nutraceutical-rich mushrooms: Impact of *Auricularia auricula* (mushroom) flour upon quality attributes of wheat dough and bread. *J. Food Sci.* 82, 2041-2050. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13812>

Evaluation of the Physicochemical, Antioxidant and Sensory Properties of Wheat Bread with Partial Substitution of Wheat Flour with *Cordyceps sinensis* Powder

Paulina Łysakowska , Aldona Sobota* , Piotr Zarzycki 

Department of Engineering and Cereal Technology, University of Life Sciences in Lublin, Skromna 8, 20-704, Lublin, Poland

Wheat bread is one of the most popular and widely consumed cereal products. The aim of this study was to determine the impact of replacing wheat flour with *Cordyceps sinensis* (CS) powder at levels of 3, 6, 9, and 12% (w/w) on dough rheological properties, as well as bread baking parameters, physical characteristics, nutritional value, and sensory attributes. The study also assessed the effect of CS powder on the total phenolic content, the total flavonoid content, and the antioxidant capacity of the bread. The results demonstrated that already 3% (w/w) substitution of wheat flour with CS powder affected a significantly higher content of the total dietary fiber (9.49 g/100 g dry matter (d.m.)) and protein (13.82 g/100 g d.m.) in the bread compared to the control sample (without CS powder). Increasing substitution levels resulted in an increase in the total phenolic content from 1.09 to 5.16 mg GAE/g d.m. and consequently increased the antioxidant capacity of the bread. The CS powder influenced the rheological properties of the dough, notably increasing the flour water absorption and the dough development time. However, it also led to a deterioration in dough consistency by reducing dough stability and the farinograph quality number, while increasing the degree of softening. The texture profile analysis showed no significant changes in hardness or elasticity after 48 h of storage, indicating good textural stability of the enriched breads. Compared to control, the enriched bread exhibited a more intense colour and similar sensory overall acceptability. The obtained results indicate the considerable potential of CS as a functional additive that enhances the bioactive compound content and the nutritional value of bread.

Keywords: bakery products, dietary fiber, functional foods, medicinal mushrooms, minerals, polyphenols fiber

INTRODUCTION

In light of contemporary health challenges, such as the increasing prevalence of lifestyle diseases, functional foods are gaining growing importance as tools for disease prevention and the overall improvement of public health. There is a growing consumer demand for innovative food products that combine high nutritional quality, sensory appeal, and health-promoting properties [Topolska *et al.*, 2021]. Wheat bread, being a staple food in many countries worldwide, represents a promising matrix for the enrichment with bioactive compounds. The source

of these bioactive compounds may be, among others, mushrooms [Łysakowska *et al.*, 2023].

Cordyceps sinensis (Berk) Sacc. (CS) (synonym: *Ophiocordyceps sinensis* (Berk.) G.H. Sung, J.M. Sung, Hywel-Jones & Spatafora) is a parasitic mushroom, also known as “winter worm, summer grass”, naturally occurring in the high-altitude regions of Tibet and the Himalayas [Sharma *et al.*, 2024]. It has been valued for centuries in traditional Asian medicine for its broad spectrum of health-promoting properties. This mushroom is a source of bioactive compounds such as nucleosides

*Corresponding Author:
E-mail: aldona.sobota@up.lublin.pl (Prof. A. Sobota)

Submitted: 11 February 2025
Accepted: 20 May 2025
Published on-line: 4 June 2025



© Copyright: © 2025 Author(s). Published by Institute of Animal Reproduction and Food Research of the Polish Academy of Sciences. This is an open access article licensed under the Creative Commons Attribution 4.0 License (CC BY 4.0) (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)

(mainly cordycepin and adenosine), polysaccharides (including β -glucans), sterols (including ergosterol), and flavonoids, which exhibit multi-faceted biological activities [Liu *et al.*, 2015; Sharma *et al.*, 2024]. Notably, cordycepin, a nucleoside structurally similar to adenosine, demonstrates anti-inflammatory, immunomodulatory, anticancer, and neuroprotective properties [Chen *et al.*, 2013; Sharma *et al.*, 2024]. By modulating key signalling mechanisms, such as the nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NF- κ B) pathway and the mitogen-activated protein kinase (MAPK) pathway, cordycepin reduces neuroinflammatory processes, which are a crucial factor in the pathogenesis of neurodegenerative diseases such as Alzheimer's and Parkinson's diseases [Chen *et al.*, 2013]. Moreover, in animal studies, polysaccharides derived from *C. sinensis* have been shown to regulate intestinal immunity and modulate gut microbiota composition in mice with cyclophosphamide-induced intestinal injury, which may indirectly contribute to the maintenance of gut-brain axis balance [Ying *et al.*, 2020]. In addition, the polysaccharides present in CS may have beneficial effects on cognitive functions and nervous system health [Zhang *et al.*, 2024]. CS is also characterised by a high content of nutritional compounds; *per* 100 g, it contains 21.9–30.4 g of protein, 24.2–24.9 g of carbohydrates, and 8.62–9.09 g of fat [Hsu *et al.*, 2002]. The relatively high protein content, balanced amino acid profile, presence of unsaturated fatty acids, as well as B-group vitamins (B₁, B₂, and B₁₂), vitamin E, and essential minerals further enhance the functional properties of *C. sinensis* [Sharma *et al.*, 2024]. Due to its low energy value (50–70 kcal/100 g of fresh matter) and a high fiber content, CS may support weight management and metabolic regulation [Jędrejko *et al.*, 2024; Liu *et al.*, 2015].

Previous studies have indicated that the enrichment of bread with medicinal mushrooms, such as *Inonotus obliquus* (chaga), *Lentinula edodes* (shiitake), *Hericium erinaceus* (lion's mane), and *Ganoderma lucidum* (reishi), leads to significant improvements in its nutritional and health-promoting properties [Kobus *et al.*, 2024; Lu *et al.*, 2021; Łysakowska *et al.*, 2024, 2025]. For instance, wheat starch supplemented with β -glucan derived from *L. edodes* has been identified as a product with a reduced glycaemic index (GI), making it a suitable component of functional bread and pasta for individuals with carbohydrate metabolism disorders [Zhuang *et al.*, 2017]. Furthermore, the complete genome analysis of *L. edodes* enabled identifying genes involved in aroma formation and fruiting body autolysis. These genetic features highlight the potential of *L. edodes* as a valuable additive for enhancing the sensory qualities of bakery products [Salwan *et al.*, 2021]. Additionally, *H. erinaceus*, which is rich in phenolic compounds and was incorporated into bread by replacing up to 12% of the wheat flour (*w/w*), significantly increased its antioxidant potential [Łysakowska *et al.*, 2025]. Our previous study further indicated that replacing 3% of wheat flour with *G. lucidum* powder (*w/w*) resulted in a significantly higher content of dietary fiber and minerals, particularly calcium and copper, in the bread [Łysakowska *et al.*, 2024]. However, the incorporation of mushrooms into

bread may be associated with a deterioration in its baking quality and sensory characteristics. Various biologically active compounds (such as chitin and β -glucans) of mushrooms may hinder gluten network formation in the dough, impede the fermentation process, and negatively affect the expansion of dough pieces, crumb structure, and crust colour [Zhao *et al.*, 2022]. For these reasons, determining the optimal level of supplementation of bread with mushroom, ensuring that, under appropriate technological conditions, obtaining a product with a high nutritional value and health-promoting potential, is required. To date, no studies have evaluated the impact of CS supplementation on wheat dough rheology, bread quality parameters, and its nutritional value. Therefore, the aim of this study was to comprehensively evaluate the effect of replacing wheat flour with CS powder at various levels (3–12%, *w/w*) on wheat dough rheology, bread baking performance, physical properties, and sensory characteristics, as well as on the chemical composition (including macronutrients, dietary fiber and minerals), total phenolic and flavonoid content, and antioxidant capacity. The study also aimed to determine the optimal substitution level that ensures both technological feasibility and enhancement of the nutritional and health-promoting potential of the bread.

MATERIALS AND METHODS

■ Materials

Wheat flour type 750, used for bread production, was supplied by Polskie Młyny (Warsaw, Poland). Its gluten index was 99.0 ± 0.3 , a falling number was 304 ± 6 s, and an average particle size was 120 μ m. Powdered *C. sinensis* fruiting bodies (CS), used as wheat flour substitute in bread, were sourced from a certified supplier (NatVita, Mirków, Poland). The CS powder had a particle size of 200–300 μ m and underwent microbiological control and heavy metal content analysis prior to use. Both raw materials were stored in airtight, dark containers at temperatures below 25°C and a relative humidity (RH) of 60–65%, in accordance with the guidelines from previous studies [Łysakowska *et al.*, 2024].

■ Determination of farinographic characteristics of dough

The farinographic characteristics were determined using a Farinograph-E (model 8110142, Brabender, Duisburg, Germany), following the Cereals & Grains Association, AACC method 54-21 [AACC, 2010]. The study involved the analysis of dough prepared from wheat flour (control, CON) and from wheat flour substituted with CS powder at levels of 3, 6, 9, and 12% (*w/w*) (BC3, BC6, BC9, BC12, respectively). The following parameters were assessed: water absorption (WA), defined as the sample's ability to absorb water; dough development time (DDT), representing the time required to achieve optimal consistency; dough stability (ST), indicating how long the dough maintains its consistency; degree of softening (DS), referring to the loss of consistency during mixing; and farinograph quality number (FQN), which serves as an indicator of the dough's technological quality. Each measurement was repeated three times.

■ Bread production

Five bread variants were produced including the control bread (CON from wheat flour, and four types of bread from wheat flour with 3, 6, 9, and 12% (w/w) substitution with CS powder (BC3, BC6, BC9, BC12, respectively). The recipe for each variant included 600 g of flour or a mixture of flour and powder, 9 g of salt (1.5%), 18 g of fresh yeast (3%), and the amount of water determined farinographically according to AACC method 54-21 as water absorption (WA) [AACC, 2010].

The process started with mixing the ingredients in a BEAR Varimixer Teddy 5 L mixer (Varimixer A/S, Copenhagen, Denmark). Mixing was carried out at low speed for 3 min, followed by higher speed until the gluten structure was fully developed. After mixing, the dough was transferred to a proofing chamber (Tefi Klima pro 100, Debag, Bautzen, Germany) and fermented for 90 min at 30°C and an RH of 85±2%. During fermentation, after 60 min, a degassing process was performed to improve dough structure. After fermentation, the dough was divided into portions weighing 290±5 g, which were then manually shaped and placed into baking pans measuring 18×7.5×7 cm. The pans with the dough were left for 30 min in the proofing chamber at 30°C and an RH of 85±2% to ensure optimal volume development. Baking was carried out in a Helios pro 100 oven (Debag) at 230°C for 30 min. Two batches of bread were baked, with each batch consisting of three loaves of each bread variant. After baking, the bread was cooled for 1 h at room temperature, then packed in polyethylene bags and stored at 20°C with an RH of 50% before further analysis.

■ Chemical composition analysis of raw materials and bread

The chemical composition of the wheat flour, CS powder and bread was analysed, starting with the determination of moisture content using the AACC method 44-15A by drying the samples (3 g) in a laboratory oven (model KBC-100W, WAMED, Warsaw, Poland) at 103±1°C until a constant weight was achieved [AACC, 2010]. The results were expressed as g per 100 g of sample. Next, the ash content was determined using the combustion method (AACC method 08-01) in a muffle furnace [AACC, 2010]. Samples weighing 3 g were placed in porcelain crucibles and ashed at 590°C for 7 h. The protein content was determined using the Kjeldahl method according to the AOAC International standard (method 979.09) [AOAC, 2016] with the Kjeltec™ 8400 apparatus (Foss Analytical AB, Höganäs, Sweden). The nitrogen present in the samples was converted to protein using a conversion factor of $N \times 5.7$. The fat content was measured after acid hydrolysis using the Soxtec™ 8000 extraction apparatus (Foss Analytical AB) and *n*-hexane as the solvent (AOAC method 2003.05) [AOAC, 2016]. The dietary fiber content was analysed using enzymatic methods, following AOAC International guidelines (method 991.43) [AOAC, 2016]. The process involved sequential enzymatic hydrolysis of a 1 g sample using α -amylase, protease, and amyloglucosidase provided by Megazyme Ltd. (Bray, Ireland). The total dietary fiber (TDF), insoluble dietary fiber (IDF), and soluble dietary fiber (SDF) contents were

determined. The contents of nutrients were expressed in g per 100 g dry matter (d.m.) of wheat flour, CS powder or bread. All analyses were carried out in triplicate. The content of digestible carbohydrates was calculated as the difference between 100 and the sum of the protein, fat, dietary fiber, and ash content in 100 g d.m. The energy value of the raw materials and bread was determined in kcal per 100 g of product, using the Atwater factors: protein and carbohydrates were assigned a value of 4 kcal/g, fat 9 kcal/g, and dietary fiber 2 kcal/g.

■ Evaluation of bread baking quality parameters

The bread baking quality was analysed 5 h after cooling. Dough yield was calculated as a percentage by dividing the total weight of the prepared dough by the weight of the flour used. The bread yield was expressed as the percentage ratio of the mass of the baked bread to the mass of flour used for its preparation. Baking loss was determined based on the difference in mass of dough before baking (W_2) and the mass of the finished bread (W_1). The results were calculated as the percentage mass loss relative to the dough mass according to Equation (1):

$$\text{Baking loss (\%)} = \frac{W_2 - W_1}{W_2} \times 100 \quad (1)$$

The bread volume was assessed by the mustard seed displacement method, AACC method 10-05.01, which allowed for determination of the crumb aeration degree [AACC, 2010]. The specific volume (mL/100 g) was calculated as the ratio of the bread volume to its mass.

To assess the crumb porosity, the microscopic images were taken using a digital microscope VHX-7000N (Keyence, Osaka, Japan) at magnifications ranging from $\times 20$ to $\times 100$. Bread slices approximately 10 mm thick were cut from the central part of the loaf and left to stabilise at room temperature prior to imaging. For each sample, images were acquired from randomly selected areas measuring 3×3 cm in the crumb cross-section under consistent lighting conditions. The analysis included the evaluation of pore size, shape, and distribution, with particular attention to pore connectivity and the presence of irregular voids. Uniformity of pore distribution was also assessed as an indicator of crumb consistency and aeration.

■ Evaluation of bread colour parameters

The analysis of bread crumb colour was performed using a CR-5 chroma meter (Konica Minolta, Sakai, Osaka, Japan) in the CIELab colour space under D65 light and at a 10° observation angle. The values of lightness (L^*), representing the perception of reflected light, the red-green component (a^*), and the yellow-blue component (b^*) were recorded. Measurements were performed ten times for each sample at different locations within the crumb to ensure the reliability of the results and minimise the impact of material heterogeneity.

Based on the obtained L^* , a^* and b^* data, secondary colour parameters were calculated. The colour intensity (chroma, C) was

expressed as the vector modulus in the a^* , b^* space and was calculated according to Equation (2):

$$C = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (2)$$

The hue angle (h°), defining the tonal character of the colour, was calculated using the arctangent function of the ratio of the b^* and a^* components. Saturation (S), which defines the vividness and purity of the colour relative to its lightness, was calculated as the ratio of C to L^* . The colour difference (ΔE) between the bread with CS powder (coordinates) and the control bread (coordinates) was calculated according to Equation (3):

$$\Delta E = \sqrt{(L_c^* - L_i^*)^2 + (a_c^* - a_i^*)^2 + (b_c^* - b_i^*)^2} \quad (3)$$

The browning index (BI) was calculated using Equation (4):

$$BI = \frac{100(x - 0.31)}{0.17} \quad (4)$$

where x was obtained according to Equation (5):

$$x = \frac{(a^* + 1.75L^*)}{(5.645L^* + a^* - 0.012b^*)} \quad (5)$$

■ Texture profile analysis of bread

The texture profile analysis (TPA) of the bread was conducted 24 and 48 h after baking. Samples in the form of rectangular prisms with dimensions of 30×30×20 mm were subjected to a double compression test using a Zwick/Roell Z0.5 machine (BT1-FR0.5TN. D14, Ulm, Germany), equipped with a flat cylindrical plunger with a diameter of 50 mm. Compression was performed to 50% of the initial height of the sample at a constant head speed of 1 mm/s. The parameters assessed during the analysis included hardness (expressed in N), elasticity, cohesiveness, and chewiness (expressed in N).

■ Determination of the element contents of raw materials and bread

The contents of magnesium (Mg), calcium (Ca), potassium (K), iron (Fe), copper (Cu), and zinc (Zn) in wheat flour, CS powder and bread were determined by flame atomic absorption spectrometry (FAAS). The analysis was performed using a Varian SpectraAA 280FS spectrometer (Varian, Mulgrave, VIC, Australia) after microwave-assisted mineralisation of the samples. The digestion was carried out in a CEM Mars Xpress microwave system (CEM Corporation, Matthews, NC, USA) using 4 mL of nitric acid for each 0.5 g of the sample. The mineralised solutions were diluted to 50 mL with deionised water. The FAAS determinations were conducted with an air-acetylene flame and element-specific conditions (wavelength, slit width and lamp current) optimised for each element. Calibration curves were prepared using standard solutions. Selenium (Se), lead (Pb), and cadmium (Cd) were

determined using inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) (ICP, Palo Alto, CA, USA). The samples digested as described above were analysed using Varian MS-820 mass spectrometer operated with the following settings: plasma gas flow – 16 L/min, nebuliser gas flow – 0.98 L/min, RF power – 1.38 kW, and sampling depth – 6.5 mm. No collision/reaction cell was used. Selected isotopes were monitored for identification and quantification (78Se, 114Cd, 206Pb, 207Pb, 208Pb). Quantification was performed using external calibration with certified standard solutions. The results for all analysed elements were expressed in mg/kg on a dry matter basis. Quality control included the analysis of blanks, duplicates, and certified reference material (NIST-1577c Bovine Liver, National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, USA) to ensure accuracy and precision.

■ Extraction and determination of total phenolic content, total flavonoid content and antioxidant capacity of raw materials and bread

To determine the total phenolic content (TPC), the total flavonoid content (TFC) and the antioxidant capacity, the wheat flour, CS powder and bread were extracted using 70% (v/v) ethanol as the solvent. Ten-gram samples were mixed with 90 mL of the solvent and incubated in a water bath at 40°C for 10 h, according to the methodology of Kozłowska *et al.* [2015]. After extraction, the samples were filtered through filter paper, and the obtained extracts were used for further determinations.

The TPC was determined using the method of Singleton & Rossi [1965] with a Folin-Ciocalteu reagent. Briefly, 0.1 mL of the extract was mixed with 0.1 mL of the Folin-Ciocalteu reagent and 1 mL of a 20% (w/w) sodium carbonate solution. After 30-min incubation, absorbance was measured at a wavelength of 700 nm using a Thermo Spectronic Helios Epsilon spectrophotometer (Thermo Electron, Waltham, MA, USA). The results were expressed as mg gallic acid equivalents (GAE) per g of product d.m.

The TFC was determined using the aluminium chloride method according to Quettier-Deleu *et al.* [2000]. Two mL of the extract were mixed with 0.4 mL of a 5% (w/w) aluminium chloride solution in test tubes. The mixtures were incubated for 30 min at room temperature in the dark. Absorbance was measured at a wavelength of 405 nm using a Thermo Spectronic Helios Epsilon spectrophotometer (Thermo Electron). The results were expressed as mg quercetin equivalents (QE) per g of product d.m.

2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity was determined using the method of Brand-Williams *et al.* [1995]. An extract (0.5 mL) was mixed with 2 mL of an ethanolic DPPH radical solution (0.025 g DPPH radical in 100 mL ethanol). The absorbance of the reaction mixture was measured at 515 nm using a Thermo Spectronic Helios Epsilon spectrophotometer (Thermo Electron). Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) was used as a standard, and the results were expressed in mg Trolox equivalents (TE) per g of product d.m.

To determine 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) radical cation scavenging activity, the ABTS radical cation solution was prepared by mixing 0.1920 g of ABTS with 0.0343 g of potassium persulfate, followed by incubation for 16 h in the dark [Re *et al.*, 1999]. The solution was then diluted with methanol to an absorbance of 0.75 at a wavelength of 734 nm. Next, 100 μ L of the extract were added to 1.8 mL of the ABTS radical cation solution, mixed, and incubated for 3 min. Absorbance was measured at a wavelength of 734 nm. Results were calculated based on a calibration curve plotted for Trolox and expressed as mg TE *per* g of product d.m.

All analyses were performed in triplicate for each sample.

■ Sensory analysis

The sensory analysis of bread was conducted by a nine-member panel of experts selected based on their experience in food product evaluation, regular consumption of bakery products, and absence of gluten allergies. The panellists were trained in accordance with a standard method [ISO 8586:2012] and familiarised with the principles of sensory evaluation using a five-point scale. Assessments were carried out under controlled laboratory conditions, ensuring standardised lighting, temperature, and humidity [ISO 8589:2007]. The study received approval from the Bioethics Committee of the University of Life Sciences in Lublin, Faculty of Food Sciences and Biotechnology (Resolution No. UKE/09/2023).

The evaluation included the following sensory attributes: external appearance, aroma, crumb colour, crumb elasticity, taste, and overall rating. The appearance was assessed based on shape, degree of crust browning, and surface uniformity. Aroma was analysed upon unpacking the samples, considering intensity and specific olfactory notes associated with the presence of the CS powder. Elasticity was evaluated by applying pressure to the crumb and observing its ability to return to its original shape, while porosity was determined based on pore size and distribution. Taste was assessed for intensity, balance, and the presence of characteristic notes, whereas overall acceptability incorporated all analysed attributes. Bread was sliced into 1 cm-thick pieces, coded, and presented to panellists in a random order to

eliminate systematic errors. Panellists were allowed to cleanse their taste receptors with water and coffee between evaluations. Results were recorded on evaluation sheets using a five-point scale, where 5 indicated the highest quality and 1 the lowest. Each assessed attribute was assigned corresponding reference points, defining specific criteria for each value on the scale. The inclusion of these reference points standardised assessments, enhancing their objectivity and reproducibility.

■ Statistical analysis

The obtained data were analysed using one-way analysis of variance (ANOVA) with Tukey's test to assess the significance of differences in physical parameters, chemical composition, sensory attributes, content of elements and phenolics, and antioxidant capacity of bread produced from wheat flour with different levels of CS powder substitution. The differences were considered significant at $p \leq 0.05$. The ANOVA of data for wheat flour and CS powder (chemical composition, content of elements and phenolics, and antioxidant capacity) was conducted in a separate set.

Results for each parameter were presented as means from repetitions with standard deviations. The data were analysed using STATISTICA 13 software (StatSoft, Kraków, Poland).

RESULTS AND DISCUSSION

■ Farinographic properties of the dough

The partial substitution of wheat flour with CS powder significantly affected the rheological properties of dough (Table 1). The observed extension of dough development time compared to the control dough (by approximately 111–121%) indicated a disruption in the kinetics of gluten network formation, which can be attributed to the specific physicochemical properties of the additives [Liu *et al.*, 2020]. Similar results were observed for the dough enriched with other powdered mushrooms including *G. lucidum*, *Agaricus bisporus*, and *Pleurotus ostreatus* (oyster mushroom) [Łysakowska *et al.*, 2024; Majeed *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2019]. The authors attributed the observed changes in dough development time to the interactions of mushroom-derived polysaccharides and proteins with wheat gluten.

Table 1. Farinographic characteristics of doughs from wheat flour (control, CON) and from wheat flour substituted with *Cordyceps sinensis* powder at levels of 3, 6, 9, and 12%, w/w, (BC3, BC6, BC9, BC12, respectively).

Dough	DDT (min)	WA (%)	ST (min)	DS (FU)	FQN
CON	2.18±0.12 ^c	57.9±0.3 ^b	9.0±0.2 ^a	33±2 ^d	94±5 ^a
BC3	4.62±0.05 ^b	58.0±0.4 ^b	7.0±0.3 ^b	42±1 ^c	81±3 ^b
BC6	5.17±0.05 ^a	58.3±0.2 ^b	6.7±0.2 ^{bc}	46±2 ^c	78±2 ^{bc}
BC9	5.17±0.05 ^a	58.9±0.3 ^{ab}	6.1±0.2 ^c	55±2 ^b	73±3 ^c
BC12	4.83±0.05 ^{ab}	59.6±0.1 ^a	6.2±0.1 ^c	60±1 ^a	73±2 ^c

Results are shown as mean ± standard deviation ($n=3$). Different letters within a column indicate significant differences according to Tukey's test ($p \leq 0.05$). DDT, dough development time; WA, water absorption; ST, dough stability; DS, degree of softening; FQN, farinograph quality number.

As shown in **Table 2**, CS powder was significantly richer in protein and dietary fiber compared to wheat flour. The substitution of wheat flour with such a high-fiber and high-protein ingredient led to a significant ($p \leq 0.05$) increase in the water absorption (WA) of the flour (**Table 1**), which could, in turn, result in higher dough and bread yield (**Table 3**). The increase in WA was in line with findings from a previous study by Majeed *et al.* [2017] who prepared wheat dough with oyster mushroom powder.

An important farinographic parameter defining the quality of flour is dough stability (ST), which measures the dough's resistance to prolonged mixing. The addition of CS powder to wheat flour reduced values of this parameter, with the most significant changes observed in the samples with substitution levels of 9 and 12% (w/w) (**Table 1**). A similar trend was observed by Majeed *et al.* [2017] when adding oyster mushroom powder to wheat flour, as well as by other authors who used various high-fiber additives such as aronia berry powder [Cacak-Pietrzak *et al.*, 2023] and roasted barley coffee [Cacak-Pietrzak *et al.*, 2024]. These changes in dough stability are most likely due to the disruption of the gluten matrix continuity and are positively correlated with the amount of mushroom or other high-fiber additives. When using such additives in wheat dough, it is important to strictly control the mixing time to ensure that, on the one hand, the gluten network develops sufficiently strong and, on the other, it does not suffer mechanical damage.

The substitution of wheat flour with CS powder negatively affected dough softening. The degree of dough softness increased by 91 and 150% for the 3 and 12% (w/w) mushroom powder-supplemented samples, respectively (**Table 1**). This suggests a weaker protein matrix in the dough prepared with mushroom powder and a greater susceptibility to degradation during mixing. Majeed *et al.* [2017] also observed this phenomenon and noted the greatest degree of softening in the dough with a 15% oyster mushroom powder addition, while the least softening occurred in the dough made with 100% wheat flour. Similarly, when adding raw materials rich in phenolic compounds (green tea extract) or plant proteins (hemp seed cake), which negatively affect the structure of the gluten network, dough stability was reduced, leading to poorer bread quality [Capcanari *et al.*, 2023; Qin *et al.*, 2022].

The use of CS powder in wheat dough preparation also led to a decrease in the farinograph quality number (FQN). Replacing 9–12% of wheat flour with the mushroom powder resulted in a decrease in the FQN from 94 to 73.

■ Chemical composition of raw materials and bread

The production of bread from wheat flour with CS powder substitution ranging from 3 to 12% (w/w) resulted in significant changes in its chemical composition, proportional to the enrichment level (**Table 2**). Due to the high dietary fiber content of the CS powder, enrichment of bread with this powder resulted in a significant ($p \leq 0.05$) increase in the total dietary fiber (TDF) content by up to 131% in the BC12 sample. This change was mainly attributed to the increase in the content of insoluble dietary fiber (IDF). In the BC12 sample, the IDF content was more than 2.7 times

Table 2. Chemical composition of raw materials including wheat flour and *Cordyceps sinensis* (CS) powder, and bread from wheat flour substituted with CS powder at levels of 3, 6, 9, and 12% w/w, (BC3, BC6, BC9, BC12, respectively).

Product	Moisture (g/100 g)	Ash (g/100 g d.m.)	Protein (g/100 g d.m.)	Fat (g/100 g d.m.)	TDF (g/100 g d.m.)	IDF (g/100 g d.m.)	SDF (g/100 g d.m.)	Digestible carbohydrates (g/100 g d.m.)	Energy value (kcal/100 g)
Wheat flour	9.40±0.10 ^A	0.69±0.01 ^B	8.79±0.04 ^B	0.45±0.03 ^B	5.30±0.13 ^B	2.40±0.10 ^B	2.90±0.20 ^B	84.77±0.03 ^A	352.33±0.11 ^A
CS powder	3.35±0.09 ^B	5.69±0.60 ^A	33.73±1.40 ^A	5.64±0.11 ^A	48.13±0.80 ^A	44.83±0.83 ^A	5.30±0.08 ^A	3.46±0.05 ^B	199.56±0.40 ^B
CON	41.46±0.71 ^d	2.20±0.01 ^c	10.83±0.04 ^d	1.23±0.03 ^d	7.21±0.19 ^e	4.26±0.17 ^e	2.95±0.02 ^d	78.53±0.42 ^a	224.16±0.17 ^a
BC3	43.34±0.23 ^c	2.50±0.05 ^b	13.82±0.10 ^c	1.42±0.08 ^c	9.49±0.53 ^d	5.97±0.31 ^d	3.52±0.12 ^c	72.77±0.54 ^b	214.24±0.24 ^b
BC6	43.82±0.30 ^{bc}	2.56±0.02 ^b	14.89±0.06 ^{bc}	1.67±0.11 ^b	11.42±0.28 ^c	7.12±0.53 ^c	4.30±0.25 ^b	69.46±0.62 ^c	210.83±0.22 ^c
BC9	44.50±0.20 ^b	2.69±0.08 ^{ab}	15.54±0.07 ^{ab}	1.75±0.14 ^{ab}	13.93±0.12 ^b	9.15±0.82 ^b	4.78±0.12 ^b	66.09±0.22 ^d	205.42±0.42 ^d
BC12	45.70±0.15 ^a	2.78±0.03 ^a	16.41±0.15 ^a	1.81±0.09 ^a	16.71±0.19 ^a	11.54±0.94 ^a	5.17±0.24 ^a	62.29±0.32 ^e	197.93±0.19 ^e

Data are shown as mean ± standard deviation ($n=3$). Different lowercase letters (a–e) and uppercase letters (A–B) within a column indicate significant differences according to Tukey's test ($p \leq 0.05$). TDF, total dietary fiber; IDF, insoluble dietary fiber; SDF, soluble dietary fiber; d.m., dry matter.

Table 3. Parameters of baking quality of bread from wheat flour (control, CON) and from wheat flour substituted with *Cordyceps sinensis* powder at levels of 3, 6, 9, and 12%, w/w, (BC3, BC6, BC9, BC12, respectively).

Bread	Dough yield (%)	Bread yield (%)	Baking loss (%)	Bread volume (mL/100 g)
CON	162.17±0.51 ^c	140.78±1.31 ^e	13.19±0.99 ^a	350.8±2.7 ^a
BC3	162.67±0.23 ^{bc}	147.09±0.20 ^d	9.57±0.71 ^b	329.0±2.6 ^b
BC6	162.83±0.34 ^{bc}	149.68±0.90 ^c	8.64±0.91 ^c	316.5±3.4 ^{bc}
BC9	163.50±0.32 ^b	151.26±0.40 ^b	8.05±0.31 ^c	307.6±4.5 ^c
BC12	165.00±0.21 ^a	151.65±0.72 ^a	8.29±0.46 ^c	306.2±2.3 ^c

Results are shown as mean ± standard deviation (n=3). Different letters within a column indicate significant differences according to Tukey's test ($p \leq 0.05$).

higher than in the control bread. Much smaller, but statistically significant ($p \leq 0.05$) changes were observed in the soluble dietary fiber (SDF) content. It should be emphasised that different medicinal mushroom powders are excellent sources of dietary fiber, especially insoluble fiber, and their addition to bread consistently leads to an increase in fiber content of the final product [Łysakowska *et al.*, 2023]. A similar trend was observed when analysing the protein content changes (Table 2). The lowest 3% (w/w) substitution of wheat flour with the mushroom powder resulted in a bread protein content increase of about 28%, while the 12% (w/w) substitution led to a 51% increase compared to the control sample. CS is distinguished among other medicinal mushrooms due to its particularly high protein content, which in our study was 33.73 g/100 g d.m. For comparison, the protein content of *H. erinaceus* was reported to be 21.16% d.m. and *G. lucidum* – 15.49% d.m. [Łysakowska *et al.*, 2024, 2025]. The dominant amino acids in CS proteins are glutamic acid, aspartic acid, lysine, arginine, and histidine [Hsu *et al.*, 2002]. Therefore, the addition of this mushroom can effectively balance the lysine deficiencies in bread, which are typical for cereal-based products. Although not directly demonstrated for CS, phenolic compounds such as chlorogenic acid, caffeic acid, and other hydroxycinnamic derivatives – known to occur in this mushroom [Babotă *et al.*, 2022] – may enhance the bioavailability of basic amino acids, including lysine, by inhibiting Maillard reactions in which these amino acids are consumed as substrates. This mechanism has been observed in polyphenol-rich plant extracts such as those from *Coffea arabica*, which reduce protein glycation by trapping reactive carbonyl species and protecting amino groups [Rebollo-Hernanz *et al.*, 2019]. This is particularly important for individuals on plant-based diets, who often face deficiencies in essential amino acids [Mariotti & Gardner, 2019]. Up until now, protein from legume seeds has been most commonly added to improve the nutritional value and amino acid profile of bread [Bosmali *et al.*, 2025; Han *et al.*, 2024]. However, it is worth noting that there is currently a lack of studies on the digestibility of CS protein, and researching its bioavailability could provide valuable insights into the full nutritional value of this mushroom.

The introduction of CS powder into the recipe also led to an increase in the fat and ash contents of the bread (Table 2). The changes in fat content were slight, but statistically significant ($p \leq 0.05$), with the fat content of the bread produced from wheat flour with the highest (12%, w/w) substitution with mushroom powder not exceeding 2 g/100 g d.m. These increases were due to the higher fat and ash contents naturally present in the CS powder compared to wheat flour.

The increase in fiber, protein, and fat contents was correlated with a decrease in the amount of digestible carbohydrates. Compared to the control bread, their levels decreased in the range of 7.34–20.69%, proportionally to the increasing level of mushroom powder replacement (Table 2). The reduction in carbohydrates, which are the primary source of energy in wheat bread, suggests a potential reduction in its glycaemic load. The decrease in carbohydrate content, along with the higher moisture content of the enriched bread, also resulted in a reduction in its energy value. Compared to the control sample, the energy value of the bread with the mushroom powder decreased in the range of 4.42–11.71%, proportionally to the enrichment level (3–12% of what flour, w/w). The reduction in the energy value of bread is particularly significant in the context of the growing demand for products with lower energy values, especially in diets aimed at controlling or reducing body weight [Karunarathna *et al.*, 2024].

■ Bread baking quality

The substitution of wheat flour with CS powder led to a significant ($p \leq 0.05$) increase in bread yield ranging from 4.5 to 7.7%, and the highest bread yield was determined for the BC12 sample (151.65%) (Table 2). This increase can be attributed to the higher water absorption observed in the dough enriched with the mushroom powder. It is important to highlight that the CS powder was rich in dietary fiber and protein, both of which have a high water absorption capacity and likely contribute to the improved water retention in the bread [Łysakowska *et al.*, 2023]. The water absorption of flour plays an important role in the economic aspect of bread production, as it leads to a higher bread yield, which reduces raw material costs and improves production efficiency [Różyło *et al.*, 2015]. Our results are in line with findings from studies that used powders from other mushroom species, such as *Flammulina velutipes* and *A. bisporus*, and showed enhanced water absorption in the dough with these powders, leading to an increase in bread yield [Nie *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2019].

The baking loss, reflecting the mass loss of bread due to evaporation during baking, was lower by 27–39% in the case of the bread enriched with the mushroom powder compared to the control, for which it was 13.19% (Table 3). However, the baking loss of the bread produced from flour containing the mushroom powder at levels of 6, 9 and 12% (w/w) did not differ significantly ($p > 0.05$). The reduced baking losses observed in the study may result from increased moisture retention in the bread, which is consistent with the results of Ammar *et al.* [2016] and Bojňanská *et al.* [2024], who showed that additives such as *Boerhavia elegans*

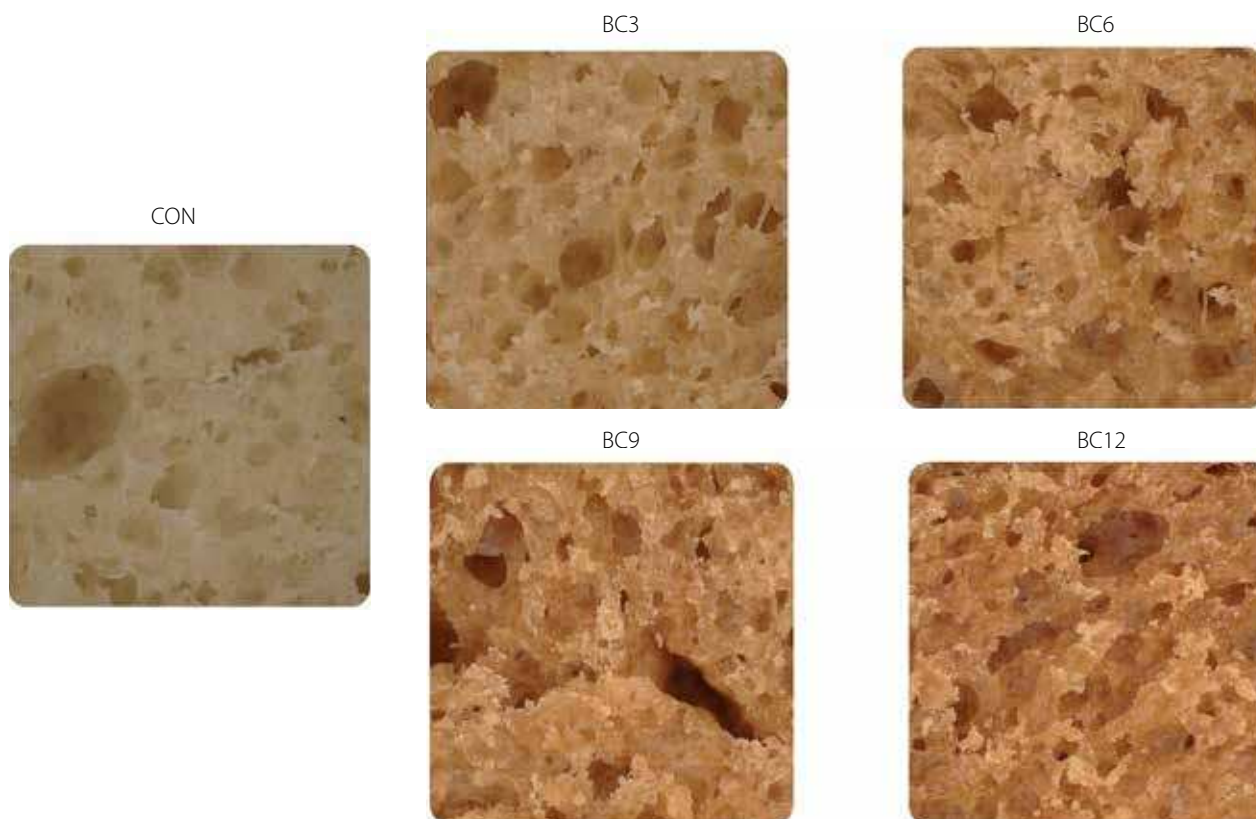


Figure 1. Microscopic images showing porosity of fresh crumb of bread from wheat flour (control, CON) and from wheat flour substituted with *Cordyceps sinensis* powder at levels of 3, 6, 9, and 12%, w/w, (BC3, BC6, BC9, BC12, respectively). Magnification $\times 2,000$.

Choisy seed flour, rich in fiber, and turmeric extracts, rich in phenolic compounds can significantly impact dough's ability to retain water. Similarly, in the case of CS powder, dietary fiber, protein, and bioactive compounds such as phenolics may determine the internal structure of the gluten network. These compounds can interact with proteins and starch, increasing the ability of the bread to bind and retain water. Higher water retention positively affects bread crumb texture, reduces staling, and extends freshness [Dong & Karboune, 2021].

The addition of CS powder negatively affected the bread volume (Table 3). The highest bread volume (350.8 mL/100 g) was determined for the bread prepared with 100% wheat flour. Partial substitution of wheat flour with the mushroom powder led to a decrease in bread volume by 6.2–12.7%, with the most significant changes observed in the BC12 sample. The reduction in bread volume can be explained by the weakening of the gluten network, caused by the introduction of components that do not contain gluten proteins but are rich in ingredients such as fiber and phenolic compounds, which, as studies have shown, may negatively affect the gluten structure [Welc-Stanowska *et al.*, 2023]. Phenolic compounds in plant extracts can interact with gluten proteins, disrupting their intermolecular and intramolecular interactions, which may lead to the weakening of the gluten network in the dough. According to the research by Hanuka-Katz *et al.* [2022], these interactions may involve non-covalent bonds, such as hydrogen bonds and hydrophobic interactions, which influence dough properties. Furthermore, non-gluten proteins present in the CS powder may compete

with gliadins and glutenins, hindering the formation of a strong gluten network and reducing the ability to trap gases during dough fermentation and bread baking. The microscopic images of crumbs showed that enriching bread with the CS powder reduced its porosity (Figure 1). Samples with a higher substitution level of the mushroom powder (BC9 and BC12) had visibly lower porosity than those with lower levels of wheat flour substitution (BC3 and BC6). At the same time, the pores in the BC9 and BC12 samples were more heterogeneous, thick-walled, and relatively densely packed. The crumb of bread with lower CS powder additions (BC3 and BC6) exhibited a more regular pore structure, with a large number of larger, thin-walled pores, indicating slightly better textural properties of these products.

■ Bread colour

The substitution of wheat flour with the mushroom powder led to a significant ($p \leq 0.05$) reduction in lightness (L^*) and an intensification of red and yellow tones (higher a^* and b^* values) in the bread crumb (Table 4). This effect was further confirmed by the increase in the browning index (BI), which indicated a progressive darkening of the crumb with a higher mushroom powder content. A significant ($p \leq 0.05$) increase in chroma (C) and a decrease in hue angle (h°) were observed in the samples BC3 to BC12, indicating a progressive intensification and shift of crumb colour towards warmer, red-yellow tones. Additionally, saturation (S) increased with the addition of the CS powder, with significant differences ($p \leq 0.05$) noted between the control sample and BC6, BC9, and BC12 samples, and the highest S

Table 4. Colour parameters of bread from wheat flour (control, CON) and from wheat flour substituted with *Cordyceps sinensis* powder at levels of 3, 6, 9, and 12%, w/w, (BC3, BC6, BC9, BC12, respectively).

Bread	L^*	a^*	b^*	BI	ΔE	C	h°	S
CON	61.49±3.71 ^a	0.51±2.30 ^e	12.27±3.74 ^e	0.68±0.09 ^e	–	12.28±0.21 ^e	87.62±2.40 ^a	0.20±0.02 ^c
BC3	61.21±4.34 ^b	2.81±1.55 ^d	22.40±1.26 ^d	3.42±0.82 ^d	10.39±1.20 ^d	22.58±0.36 ^d	82.85±3.04 ^b	0.37±0.04 ^{bc}
BC6	53.65±2.00 ^c	6.88±0.58 ^c	24.20±0.24 ^c	9.20±1.23 ^c	15.63±0.80 ^c	25.16±0.13 ^c	74.13±1.82 ^c	0.47±0.03 ^{ab}
BC9	47.93±2.98 ^d	9.25±0.51 ^b	25.73±0.74 ^b	13.64±1.13 ^b	21.01±1.50 ^b	27.34±0.27 ^b	70.23±0.93 ^d	0.57±0.04 ^{ab}
BC12	43.81±3.36 ^e	10.18±0.80 ^a	27.71±2.31 ^a	16.31±1.23 ^a	25.39±1.80 ^a	29.52±0.43 ^a	69.83±1.23 ^e	0.67±0.06 ^a

Results are shown as mean ± standard deviation ($n=10$). Different letters within a column indicate significant differences according to Tukey's test ($p \leq 0.05$). L^* , lightness; a^* , red-green spectrum; b^* , blue-yellow spectrum; ΔE^* , colour difference compared to the control; C, chroma; h° , hue angle; S, saturation; BI, browning index.

**Figure 2.** Appearance of bread from wheat flour (control, CON) and from wheat flour substituted with *Cordyceps sinensis* powder at levels of 3, 6, 9, and 12%, w/w, (BC3, BC6, BC9, BC12, respectively).

value recorded for BC12, confirming the enhancement of colour intensity in the enriched breads, as also visually presented in **Figure 2**. These results are consistent with findings from other studies on the impact of mushroom additions on bread colour, where similar trends were observed; the addition of mushrooms such as *I. obliquus*, *A. bisporus*, and *G. lucidum* to bread formulations resulted in darker product colours, with noticeable changes in the intensity of red and yellow hues [Kobus *et al.*, 2024; Łysakowska *et al.*, 2024; Zhang *et al.*, 2019].

The changes in the colour of the crumb in the wheat bread enriched with CS (**Table 4**) can be attributed to the presence of natural high-molecular weight pigments, such as melanins [Karmańska & Karwowski, 2022] and phenolic compounds [Babotă *et al.*, 2022]. The phenolic compounds present in the CS powder may inhibit the Maillard reaction and reduce the formation of melanoidins by binding to amines, thereby decreasing their availability for reactions with reducing sugars [Rebollo-Hernanz *et al.*, 2019]. Additionally, phenolic compounds can inhibit oxidoreductases, such as polyphenol oxidase (PPO) and peroxidase (POD), thereby limiting enzymatic browning of the crumb [Karmańska & Karwowski, 2022; Sui *et al.*, 2023; Zhang *et al.*, 2019]. However, in our study, these possible reactions of phenolic compounds did not significantly affect the course of colour

changes, which was primarily determined by the high content of pigments (melanins) in the CS powder.

■ Texture profile of bread

The texture parameters of wheat bread enriched with the CS powder did not show statistically significant differences ($p > 0.05$) after 24 and 48 h of storage (**Table 5**). The hardness of the crumb, measured 24 h after baking, increased with the growing addition of mushroom powder and was higher compared to the control bread by 4.7–46.9%. This trend may result from the decreased porosity of the bread, which is linked to the deterioration of the gluten network structure and its reduced elasticity [Jødal & Larsen, 2021]. The weakening of the gluten network could be directly due to the lower content of gluten proteins, while the increasing proportion of non-gluten proteins, dietary fiber, and polyphenols may contribute to the disruption and weakening of the gluten network, as shown in previous studies [Franceschinis *et al.*, 2024; Marinopoulou *et al.*, 2024; Zhang *et al.*, 2019]. No significant ($p > 0.05$) changes in bread hardness were observed after 48 h of storage as a function of increasing replacement of wheat flour with the CS powder (**Table 5**). An earlier study on the influence of bioactive ingredients, such as inulin and fiber from *Helianthus tuberosus* L., showed that their presence increased the hardness

Table 5. Parameters of texture profile of bread from wheat flour (control, CON) and from wheat flour substituted with *Cordyceps sinensis* powder at levels of 3, 6, 9, and 12%, w/w, (BC3, BC6, BC9, BC12, respectively), determined 24 and 48 h after baking.

Bread	Hardness (N)		Elasticity		Chewiness (N)		Cohesiveness	
	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
CON	17.01±1.50 ^{ba}	19.03±0.67 ^{aA}	6.33±1.50 ^{aA}	6.19±0.67 ^{aA}	6.58±0.45 ^{dA}	6.43±1.31 ^{ba}	0.86±0.05 ^{aA}	0.72±0.07 ^{aA}
BC3	17.81±0.17 ^{ba}	17.52±0.92 ^{aA}	6.27±0.17 ^{aA}	6.31±0.14 ^{aA}	8.69±0.24 ^{cdA}	8.06±0.48 ^{abA}	0.72±0.06 ^{aA}	0.69±0.04 ^{aA}
BC6	19.47±1.25 ^{ba}	18.92±1.92 ^{aA}	6.30±0.10 ^{aA}	6.32±0.08 ^{aA}	11.36±0.56 ^{bcA}	9.29±1.55 ^{abA}	0.68±0.02 ^{aA}	0.68±0.01 ^{aA}
BC9	22.42±0.71 ^{abA}	21.76±1.53 ^{aA}	5.48±0.52 ^{aA}	6.34±0.18 ^{aA}	12.85±0.80 ^{abA}	11.57±1.41 ^{abA}	0.64±0.02 ^{aA}	0.64±0.02 ^{aA}
BC12	24.98±0.54 ^{aA}	24.03±2.78 ^{aA}	5.47±0.12 ^{aA}	6.24±0.10 ^{aA}	14.58±0.20 ^{aA}	14.44±0.55 ^{aA}	0.63±0.04 ^{aA}	0.57±0.02 ^{aA}

Data are shown as mean ± standard deviation ($n=7$). Different lowercase letters (a–d) within a column indicate significant differences according to Tukey's test ($p\leq 0.05$). No significant ($p>0.05$) differences were found between determinations performed 24 and 48 h after baking (separately for each parameter and product).

of the crumb through modifications of the water-starch-protein interactions [Franceschinis *et al.*, 2024]. Similar effects were observed with the introduction of hemp proteins, which induced a denser crumb structure of the bread, while simultaneously reducing its elasticity [Marinopoulou *et al.*, 2024]. The changes in crumb elasticity and cohesiveness observed after 24 and 48 h of storage, resulting from the use of the CS powder in bread production, were not statistically significant ($p>0.05$) (Table 5). Compared to the control bread, chewiness, measured 24 h after storage, was significantly ($p\leq 0.05$) higher for the bread produced from flour containing 6% (w/w) CS powder and more, while after 48 h, statistically significant differences in this parameter were observed only at the 12% (w/w) fortification level. The increase in chewiness in the bread enriched with the CS powder correlated with a previous report on the impact of high-fiber additives, such as carob extract, on the textural properties of bread [Zahorec *et al.*, 2024].

■ Element content of raw materials and bread

The introduction of the CS powder into bread significantly enriched its mineral profile (Table 6). Compared to wheat flour, the mushroom powder contained approximately 10 times more magnesium, 9 times more calcium, and 7.5 times more potassium. It also exhibited significantly higher levels of trace elements such as iron, copper, zinc, and selenium, while showing only trace amounts of heavy metals (lead and cadmium), which ensures its health safety. Compared to the control sample, the bread produced with 12% (w/w) wheat flour substitution with the mushroom powder contained over three times more magnesium, which constitutes 14.7% of the recommended daily allowance (RDA) for this element, as established by the Institute of Medicine of the National Academies, USA [Institute of Medicine, 2006]. Similarly, the calcium content increased 2.8 times, meaning that the consumption of BC12 bread covers 5.5% of the RDA for this mineral. The potassium content increased 1.5 times, reaching 15% of the RDA. A significant increase ($p\leq 0.05$) was also observed in the trace elements. Even at the lowest 3% (w/w) substitution

level of wheat flour with the CS powder, the bread became a good source of iron, zinc, and selenium (covering >15% of the RDA for these elements). Fortification at levels of 6–12% (w/w) resulted in bread with a high copper content (>30% RDA). At the same time, the content of lead and cadmium, remained at safe levels. The Pb content in the bread produced from flour containing 12% (w/w) of the CS powder was 0.0104 mg/100 g, which corresponded to only 2.43% of the acceptable daily intake (ADI) established by the joint Food and Agriculture Organization (FAO) and World Health Organization (WHO) expert committee [FAO/WHO, 2001]. The Cd content of this bread type was minimal (0.0032 mg/100 g), accounting for 5.33% of the ADI. This indicates that the use of CS in bread production does not increase the risk associated with the presence of these metals and ensures the full health safety of the product. The fortification of bread with elements such as iron and zinc, whose bioavailability in wheat-based products is limited due to the presence of phytates, becomes especially significant in the context of preventing deficiencies of these elements in groups at risk of their shortages [Gupta *et al.*, 2024].

■ Total phenolic content, total flavonoid content and antioxidant capacity of raw materials and bread

The incorporation of the CS powder into bread significantly enhanced the TPC, TFC and antioxidant capacity in DPPH and ABTS assays compared to the control bread (Table 7). Flavonoids were undetectable in both wheat flour and the control bread but TFC exhibited an increase in the bread produced from flour with increasing levels of the mushroom powder. For instance, the sample with the highest mushroom powder substitution (BC12) demonstrated an over 25-fold increase in TFC compared to the samples with lower supplementation level (e.g., BC3). TPC also increased markedly in the enriched breads. BC12 showed an 11.2-fold increase in TPC relative to the control and a 39.7-fold increase compared to wheat flour. Statistical analysis confirmed significant ($p\leq 0.05$) differences between samples. Antioxidant capacity, assessed *via* the DPPH

Table 6. Content of selected elements (mg/100 g d.m.) in raw materials including wheat flour and *Cordyceps sinensis* (CS) powder, and bread from wheat flour (control, CON) and from wheat flour substituted with CS powder at levels of 3, 6, 9, and 12%, w/w, (BC3, BC6, BC9, BC12, respectively).

Product	Macroelements				Microelements				Heavy metals		
	Mg	Ca	K	Fe	Cu	Zn	Se	Pb	Cd		
Wheat flour	22.3±0.5 ^B	22.8±0.5 ^B	171±3 ^B	2.50±0.05 ^B	0.16±0.00 ^B	0.70±0.01 ^B	0.01±0.01 ^B	ND	ND		
CS powder	227.0±4.5 ^A	198.0±4.0 ^A	1,270±25 ^A	22.30±0.45 ^A	0.94±0.02 ^A	4.27±0.09 ^A	0.03±0.03 ^A	0.02±0.00	0.00±0.00		
CON	13.5±0.2 ^d	11.6±0.4 ^d	121±1 ^e	1.36±0.05 ^d	0.17±0.01 ^d	0.54±0.20 ^d	0.01±0.01 ^b	ND	ND		
BC3	47.5±0.4 ^c	35.4±0.9 ^c	222±2 ^d	2.32±0.08 ^c	0.24±0.08 ^c	1.80±0.09 ^{bc}	0.03±0.00 ^a	0.0094±0.0002 ^a	0.0032±0.0003 ^a		
BC6	52.7±0.3 ^b	37.7±0.7 ^{bc}	242±2 ^c	2.54±0.21 ^{bc}	0.32±0.11 ^b	1.84±0.05 ^{bc}	0.03±0.00 ^a	0.0096±0.0001 ^a	0.0032±0.0002 ^a		
BC9	53.2±0.5 ^b	39.5±1.2 ^b	263±2 ^b	2.70±0.18 ^b	0.33±0.06 ^{ab}	1.89±0.10 ^b	0.03±0.01 ^a	0.0096±0.0002 ^a	0.0032±0.0003 ^a		
BC12	55.1±0.4 ^a	43.8±0.9 ^a	304±2 ^a	3.06±0.27 ^a	0.33±0.08 ^{ab}	2.18±0.12 ^a	0.03±0.00 ^a	0.0104±0.0011 ^a	0.0032±0.0030 ^a		
RDA (mg/day)	375	800	2,000	14	1	10	0.055	–	–		
ADI (mg/day)	–	–	–	–	–	–	–	0.428	0.06		

Results are shown as mean ± standard deviation (n=3). Different lowercase letters (a–e) and uppercase letters (A–B) within a column indicate differences according to Tukey's test (p<0.05). d.m., Dry matter; ND, not detected; RDA, recommended dietary allowance [Institute of Medicine, 2006]; ADI, acceptable daily intake [FAO/WHO, 2001].

Table 7. Total phenolic content, total flavonoid content and antioxidant capacity of raw materials including wheat flour and *Cordyceps sinensis* (CS) powder, and bread from wheat flour (control, CON) and from wheat flour substituted with CS powder at levels of 3, 6, 9, and 12%, w/w, (BC3, BC6, BC9, BC12, respectively).

Product	Total flavonoid content (mg QE/g d.m.)	Total phenolic content (mg GAE/g d.m.)	Antioxidant capacity (mg TE/g d.m.)	
			DPPH assay	ABTS assay
Wheat flour	ND	0.13±0.02 ^B	1.03±0.00 ^B	1.42±0.03 ^B
CS powder	0.73±0.05	13.06±0.30 ^A	3.24±0.01 ^A	5.49±0.13 ^A
CON	ND	0.46±0.04 ^e	1.42±0.02 ^d	1.48±0.14 ^d
BC3	0.08±0.01 ^c	1.09±0.20 ^d	1.73±0.01 ^c	1.83±0.08 ^c
BC6	0.10±0.01 ^c	2.26±0.10 ^c	1.89±0.01 ^b	2.36±0.13 ^b
BC9	0.18±0.02 ^b	4.08±0.30 ^b	1.94±0.03 ^b	2.85±0.18 ^a
BC12	0.26±0.01 ^a	5.16±0.40 ^a	2.16±0.02 ^a	3.05±0.12 ^a

Results are shown as mean ± standard deviation (n=3). Different lowercase letters (a–e) and uppercase letters (A–B) within a column indicate significant differences according to Tukey's test ($p \leq 0.05$). QE, quercetin equivalent; GAE, gallic acid equivalent; TE, Trolox equivalent; DPPH assay, assay with 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radicals; ABTS assay, assay with 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical cations; d.m., dry matter; ND, not detected.

assay, improved proportionally with the increase in the amount of mushroom used in the production of the breads. BC12 exhibited a 52% higher DPPH radical scavenging activity than the control and a 110% increase over wheat flour. A comparable pattern was observed in the ABTS assay, where antioxidant capacity in BC12 more than doubled compared to the control and increased nearly fourfold relative to wheat flour. Although the antioxidant capacity of the enriched breads remained lower than that of pure CS powder (e.g., approximately 33% lower for BC12), the results highlight the viability of enriching bread with mushroom, even at low levels of flour replacement, in enhancing its functional properties. These trends align with studies on bread enriched with other medicinal mushrooms (e.g., chaga and shiitake) or plant-derived antioxidants (e.g., green tea) where phenolic enrichment correlated with improved free radical-scavenging capacity [Chen *et al.*, 2022; Kobus *et al.*,

2024; Lu *et al.*, 2021]. Notably, the magnitude of improvement observed here exceeds reports for *Terfezia boudieri* (desert truffle), where a 5% supplementation increased TPC fivefold [Najjaa *et al.*, 2021], underscoring CS as a potent functional ingredient for bakery applications.

■ Sensory scores for bread

The substitution of wheat flour with the CS powder in amounts ranging from 3–12% (w/w) did not significantly impair the sensory quality of the bread (Table 8). Although generally, an increase in the level of the mushroom powder was associated with a slight deterioration in external appearance, aroma, taste, and crumb elasticity of the bread, leading to a decrease in the overall rating, the differences in the evaluation of individual sensory attributes were statistically insignificant ($p > 0.05$). Moreover, according to expert evaluations, the use of the mushroom powder in bread recipe did not significantly ($p > 0.05$) change the crumb colour. However, even a wheat flour substitution with CS powder at a level of 12% (w/w) resulted in bread that was still fully acceptable from a sensory perspective. The characteristic mild taste of CS contributed to its high acceptability. Comparing these results with studies on bread enriched with *G. lucidum* powder, where doses above 6% led to a drastic decline in sensory scores due to a bitter taste [Łysakowska *et al.*, 2024], CS showed a significantly higher potential for bread substitution and, therefore, can be used in relatively high doses. Similarly, 5–10% flour replacement with *P. ostreatus* powder ensured high acceptability of the bread, but its higher contents negatively impacted the texture [Wahab *et al.*, 2022]. Furthermore, studies on bread enriched with *H. erinaceus* powder suggested that the best-quality bread could be obtained using a moderate substitution level (6–9%) [Łysakowska *et al.*, 2025].

CONCLUSIONS

The research has shown that *C. sinensis* exhibits high potential as a functional ingredient in wheat bread. The substitution of 3–12% (w/w) of wheat flour with the mushroom powder modified the nutritional value of the bread by increasing its dietary fiber, protein, and selected mineral contents, while also lowering the levels of digestible carbohydrates. Incorporation the CS powder into bread recipe increased the content

Table 8. Sensory evaluation of bread from wheat flour (control, CON) and from wheat flour substituted with *Cordyceps sinensis* (CS) powder at levels of 3, 6, 9, and 12%, w/w, (BC3, BC6, BC9, BC12, respectively).

Bread	External appearance	Aroma	Crumb colour	Crumb elasticity	Taste	Overall rating
CON	4.71±0.73 ^a	4.71±0.70 ^a	4.29±0.70 ^a	4.29±0.88 ^a	4.57±0.49 ^a	4.51±0.26 ^a
BC3	4.33±0.45 ^a	4.29±0.88 ^a	4.29±0.73 ^a	4.57±0.35 ^a	4.43±0.57 ^a	4.38±0.24 ^a
BC6	4.39±0.49 ^a	4.71±0.76 ^a	4.57±0.49 ^a	4.57±0.35 ^a	4.43±0.45 ^a	4.53±0.24 ^a
BC9	4.57±0.35 ^a	4.43±0.45 ^a	4.57±0.45 ^a	4.86±0.88 ^a	4.57±0.35 ^a	4.60±0.24 ^a
BC12	4.36±0.45 ^a	4.00±0.76 ^a	4.71±0.45 ^a	4.14±0.42 ^a	4.43±0.49 ^a	4.33±0.31 ^a

Results are shown as mean ± standard deviation (n=9). Different letters within a column indicate significant differences according to Tukey's test ($p \leq 0.05$).

of phenolic compounds of the product, significantly enhancing its antioxidant capacity. The texture parameters of the bread generally did not change significantly with increasing levels of the mushroom powder in the recipe, with only a notable increase in hardness occurring at the level of 12% (w/w) wheat flour substitution, while a 6–12% (w/w) substitution improved its chewiness. Sensory analysis confirmed the high acceptability of the enriched bread, with even the highest 12% (w/w) wheat flour substitution with the mushroom powder resulting in bread with good sensory quality, as indicated by high sensory scores. The use of the CS powder in bread fortification highlights its great potential in the production of foods with improved health-promoting properties that can help prevent lifestyle-related diseases. The research findings encourage further application of this ingredient in various bakery products and other categories of functional foods.

RESEARCH FUNDING

This study did not receive any external funding.

CONFLICT OF INTERESTS

The authors confirm that they have no competing interests related to the research described in this manuscript.

ORCID IDs

P. Łysakowska
A. Sobota
P. Zarzycki

<https://orcid.org/0000-0001-6347-2986>
<https://orcid.org/0000-0001-6526-6764>
<https://orcid.org/0000-0003-1462-6146>

REFERENCES

- AACC International (2010). *Approved Methods of Analysis* (11th ed). American Association of Cereal Chemists. Cereals and Grains Association, St. Paul, MN, U.S.A.
- Ammar, A.-F., Zhang, H., Siddeeg, A., Chamba, M.V.M., Kimani, B.G., Hassanin, H., Obadi, M., Alheji, N. (2016). Effect of the addition of Alhydwon seed flour on the dough rheology, bread quality, texture profile, and microstructure of wheat bread. *Journal of Texture Studies*, 47(6), 484–495. <https://doi.org/10.1111/jtxs.12187>
- AOAC (2016). *Official Methods of Analysis* (20th ed). The Association of Official Analytical Chemists International, Rockville, MD, USA.
- Babotă, M., Frumuzachi, O., Nicolescu, A., Ielciu, I., Păltinean, R., Crișan, G., Mocan, A. (2022). Chapter 4 – Bioactive phenolic compounds from mushrooms. In D. Stojković L. Barros (Eds.), *Edible Fungi: Chemical Composition, Nutrition and Health Effects*. Royal Society of Chemistry, pp. 139–160. <https://doi.org/10.1039/9781839167522-00139>
- Bojňanská, T., Kolesárová, A., Čech, M., Tančinová, D., Urminská, D. (2024). Extracts with nutritional potential and their influence on the rheological properties of dough and quality parameters of bread. *Foods*, 13(3), art. no. 382. <https://doi.org/10.3390/foods13030382>
- Bosmali, I., Kotsiou, K., Matsakidou, A., Irakli, M., Madesis, P., Biliaderis, C.G. (2025). Fortification of wheat bread with an alternative source of bean proteins using raw and roasted *Phaseolus coccineus* flours: Impact on physicochemical, nutritional and quality attributes. *Food Hydrocolloids*, 158, art. no. 110527. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2024.110527>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT – Food Science and Technology*, 28(1), 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Cacak-Pietrzak, G., Dziki, D., Gawlik-Dziki, U., Parol-Nadłonek, N., Kalisz, S., Krajewska, A., Stępniewska, S. (2023). Wheat bread enriched with black chokeberry (*Aronia melanocarpa* L.) pomace: Physicochemical properties and sensory evaluation. *Applied Sciences*, 13(12), art. no. 6936. <https://doi.org/10.3390/app13126936>
- Cacak-Pietrzak, G., Grabarczyk, J., Szafrńska, A., Krajewska, A., Dziki, D. (2024). Cereal coffee as a functional additive in wheat bread: Impact on dough and bread properties. *Foods*, 13(24), art. no. 3991. <https://doi.org/10.3390/foods13243991>
- Capcanari, T., Covaliov, E., Negoită, C., Siminiuc, R., Chirsanova, A., Reșitca, V., Țurcanu, D. (2023). Hemp seed cake flour as a source of proteins, minerals and polyphenols and its impact on the nutritional, sensorial and technological quality of bread. *Foods*, 12(23), art. no. 4327. <https://doi.org/10.3390/foods12234327>
- Chen, G., Wang, J., Li, Y. (2022). Extracts of sorghum bran, grape seed, and green tea: Chromatographic comparison of phenolic profiles and mitigation effect on acrylamide in antioxidant-fortified bread. *Food Chemistry Advances*, 1, art. no. 100082. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2022.100082>
- Chen, P.X., Wang, S., Nie, S., Marcone, M. (2013). Properties of *Cordyceps sinensis*: A review. *Journal of Functional Foods*, 5(2), 550–569. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2013.01.034>
- Dong, Y., Karboune, S. (2021). A review of bread qualities and current strategies for bread bioprotection: Flavor, sensory, rheological, and textural attributes. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(2), 1937–1981. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12717>
- FAO/WHO (2001). *Evaluation of certain food additives and contaminants: Fifty-seventh report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*, World Health Organization Technical Report Series, No. 909.
- Franceschinis, L., Diez, S., Rocha Parra, A.F., Salvatori, D.M. (2025). Jerusalem artichoke ingredient for the nutritional profile improvement of sourdough bread: Techno-functional properties and consumer perception. *European Food Research and Technology*, 251(3), 415–427. <https://doi.org/10.1007/s00217-024-04641-6>
- Gupta, O.P., Singh, A., Pandey, V., Sendhil, R., Khan, M.K., Pandey, A., Kumar, S., Hamurcu, M., Ram, S., Singh, G. (2024). Critical assessment of wheat biofortification for iron and zinc: A comprehensive review of conceptualization, trends, approaches, bioavailability, health impact, and policy framework. *Frontiers in Nutrition*, 10, art. no. 1310020. <https://doi.org/10.3389/fnut.2023.1310020>
- Han, F., Song, J., Qi, M., Li, Y., Xu, M., Zhang, X., Yan, C., Chen, S., Li, H. (2024). Incorporating whole soybean pulp into wheat flour for nutrient-enriched steamed bread: Exploring the impact on physical and nutritional characteristics. *Journal of Food Science*, 89(9), 5449–5460. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.17316>
- Hanuka-Katz, I., Okun, Z., Parvari, G., Shpigelman, A. (2022). Structure-dependent stability and antioxidant capacity of strawberry polyphenols in the presence of canola protein. *Food Chemistry*, 385, art. no. 132630. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132630>
- Hsu, T.H., Shiao, L.H., Hsieh, C., Chang, D.M. (2002). A comparison of the chemical composition and bioactive ingredients of the Chinese medicinal mushroom DongChongXiaCao, its counterfeit and mimic, and fermented mycelium of *Cordyceps sinensis*. *Food Chemistry*, 78(4) 463–469. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00158-9](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00158-9)
- Institute of Medicine (2006). *Dietary Reference Intakes: The Essential Guide to Nutrient Requirements*. The National Academies Press. <https://doi.org/10.17226/11537>
- ISO (2007). *ISO 8589:2007. Sensory analysis—General guidance for the design of test rooms*. International Organization for Standardization.
- ISO (2012). *ISO 8586:2012. Sensory analysis—General guidelines for the selection, training and monitoring of selected assessors and expert sensory assessors*. International Organization for Standardization.
- Jędrejko, K., Kała, K., Sułkowska-Ziaja, K., Muszyńska, B. (2024). Chapter 10 –The significance of *Cordyceps* in medicine and nutrition (1st ed.). In K. Sridhar, S. Kumar Deshmukh, S.-Y. Fung, S. Mahadevakumar (Eds.), *Advances in Cordyceps Research*. CRC Press, Boca Raton, USA. <https://doi.org/10.1201/9781003466420>
- Jødal, A.-S.S., Larsen, K.L. (2021). Investigation of the relationships between the alveograph parameters. *Scientific Reports*, 11, art. no. 5349. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-84959-3>
- Karmańska, A., Karwowski, B.T. (2022). Bioactive components of *Cordyceps sinensis*. *Farmacja Polska*, 78(7), 361–371 (in Polish, English abstract). <https://doi.org/10.32383/farmpol/153911>
- Karunaratna, S., Wickramasinghe, I., Truong, T., Brennan, C., Navaratne, S.B., Chandrapala, J. (2024). Development of low-calorie food products with resistant starch-rich sources – A review. *Food Reviews International*, 40(2), 814–831. <https://doi.org/10.1080/87559129.2023.2204137>
- Kobus, Z., Krzywicka, M., Blicharz-Kania, A., Bosacka, A., Pecyna, A., Ivanišová, E., Kozłowiec, K., Kovačiková, E. (2024). Impact of incorporating dried chaga mushroom (*Inonotus obliquus*) into gluten-free bread on its antioxidant and sensory characteristics. *Molecules*, 29(16), art. no. 3801. <https://doi.org/10.3390/molecules29163801>
- Kozłowska, M., Laudy, A. E., Przybył, J., Ziarno, M., Majewska, E. (2015). Chemical composition and antibacterial activity of some medicinal plants from Lamiaceae family. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 72(4), 757–767.
- Liu, Y., Wang, J., Wang, W., Zhang, H., Zhang, X., Han, C. (2015). The chemical constituents and pharmacological actions of *Cordyceps sinensis*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015, art. no. 575063. <https://doi.org/10.1155/2015/575063>

30. Liu, Z., Chen, J., Zheng, B., Lu, Q., Chen, L. (2020). Effects of matcha and its active components on the structure and rheological properties of gluten. *LWT – Food Science and Technology*, 124, art. no. 109197. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109197>
31. Lu, X., Brennan, M.A., Guan, W., Zhang, J., Yuan, L., Brennan, C.S. (2021). Enhancing the nutritional properties of bread by incorporating mushroom bioactive compounds: The manipulation of the pre-dictive glycaemic response and the phenolic properties. *Foods*, 10(4), art. no. 731. <https://doi.org/10.3390/foods10040731>
32. Łysakowska, P., Sobota, A., Wirkijowska, A. (2023). Medicinal mushrooms: Their bioactive components, nutritional value and application in functional food production – A review. *Molecules*, 28(14), art. no. 5393. <https://doi.org/10.3390/molecules28145393>
33. Łysakowska, P., Sobota, A., Wirkijowska, A., Ivanišová, E. (2025). Lion's mane (*Hericium erinaceus* (Bull.) Pers.) as a functional component for wheat bread production: influence on physicochemical, antioxidant, and sensory properties. *International Agrophysics*, 39(1), 13–28. <https://doi.org/10.31545/intagr/194613>
34. Łysakowska, P., Sobota, A., Wirkijowska, A., Zarzycki, P., Blicharz-Kania, A. (2024). The effect of *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst. supplementation on the technological, chemical and quality parameters of wheat bread. *Foods*, 13(19), art. no. 3101. <https://doi.org/10.3390/foods13193101>
35. Majeed, M., Khan, M.U., Owaid, M.N., Khan, M.R., Shariati, M.A., Igor, P., Ntsefong, G.N. (2017). Development of oyster mushroom powder and its effects on physicochemical and rheological properties of bakery products. *The Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 6(5), 1221–1227. <https://doi.org/10.15414/JMBFS.2017.6.5.1221-1227>
36. Marinopoulou, A., Sevastopoulou, N., Farmouzi, K., Konstantinidou, E., Alexandri, A., Papageorgiou, M. (2024). Impact of hemp (*Cannabis sativa* L.) protein addition on the rheological properties of wheat flour dough and bread quality. *Applied Sciences*, 14(24), art. no. 11633. <https://doi.org/10.3390/app142411633>
37. Mariotti, F., Gardner, C.D. (2019). Dietary protein and amino acids in vegetarian diets – A review. *Nutrients*, 11(11), art. no. 2661. <https://doi.org/10.3390/nu11112661>
38. Najjaa, H., Abdelkbir, R., Ben Arfa, A., Doria, E., Tlili, H., Zouari, N., Neffati, M. (2021). Improved sensory quality and antioxidant capacity of wheat bread supplemented with the desert truffle *Terfezia boudieri* flour. *Analytical Letters*, 54(5), 867–883. <https://doi.org/10.1080/00032719.2020.1786106>
39. Nie, Y., Jin, Y., Deng, C., Xu, L., Yu, M., Yang, W., Zhao, R. (2019). Rheological and microstructural properties of wheat dough supplemented with *Flammulina velutipes* (mushroom) powder and soluble polysaccharides. *CyTA – Journal of Food*, 17(1), 455–462. <https://doi.org/10.1080/19476337.2019.1596986>
40. Qin, W., Pi, J., Zhang, G. (2022). The interaction between tea polyphenols and wheat gluten in dough formation and bread making. *Food & Function*, 13(24), 12827–12835. <https://doi.org/10.1039/d2fo02576k>
41. Quettier-Deleu, C., Gressier, B., Vasseur, J., Dine, T., Brunet, C., Luyckx, M., Cazin, M., Cazin, J.C., Bailleul, F., Trotin, F. (2000). Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls and flour. *Journal of Ethnopharmacology*, 72(1–2), 35–42. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(00\)00196-3](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(00)00196-3)
42. Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10), 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
43. Rebollo-Hernanz, M., Fernández-Gómez, B., Herrero, M., Aguilera, Y., Martín-Cabrejas, M.A., Uribarri, J., del Castillo, M.D. (2019). Inhibition of the Maillard reaction by phytochemicals composing an aqueous coffee silverskin extract via a mixed mechanism of action. *Foods*, 8(10), art. no. 438. <https://doi.org/10.3390/foods8100438>
44. Różyło, R., Dziki, D., Gawlik-Dziki, U., Cacak-Pietrzak, G., Miś, A., Rudy, S. (2015). Physical properties of gluten-free bread caused by water addition. *International Agrophysics*, 29(3), 353–364. <https://doi.org/10.1515/intag-2015-0042>
45. Salwan, R., Katoch, S., Sharma, V. (2021). Recent developments in shiitake mushrooms and their nutraceutical importance. In: X. Dai, M. Sharma, J. Chen (Eds.), *Fungi in Sustainable Food Production. Fungal Biology*. Springer, Cham, pp. 165–180. https://doi.org/10.1007/978-3-030-64406-2_10
46. Sharma, A., Ranout, A.S., Nadda, G. (2024). Insights into cultivation strategies, bioactive components, therapeutic potential, patents, and market products of *Ophiocordyceps sinensis*: A comprehensive review. *South African Journal of Botany*, 171, 546–570. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2024.06.036>
47. Singleton, V.L., Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144–158. <https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144>
48. Sui, X., Meng, Z., Dong, T., Fan, X., Wang, Q. (2023). Enzymatic browning and polyphenol oxidase control strategies. *Current Opinion in Biotechnology*, 81, art. no. 102921. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2023.102921>
49. Topolska, K., Florkiewicz, A., Filipiak-Florkiewicz, A. (2021). Functional food – Consumer motivations and expectations. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(10), art. no. 5327. <https://doi.org/10.3390/ijerph18105327>
50. Wahab, N.B.A., Darus, N.A., Daud, S.A.M. (2022). Incorporation of mushroom powder in bread. In: *Proceedings of the National Technology Research in Engineering, Design and Social Science Conference (nTrends' 22)*, Kuala Lumpur, Malaysia, pp. 499–507.
51. Welc-Stanowska, R., Kłosok, K., Nawrocka, A. (2023). Effects of gluten–phenolic acids interaction on the gluten structure and functional properties of gluten and phenolic acids. *Journal of Cereal Science*, 111, art. no. 103682. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2023.103682>
52. Ying, M., Yu, Q., Zheng, B., Wang, H., Wang, J., Chen, S., Nie, S., Xie, M. (2020). Cultured *Cordyceps sinensis* polysaccharides modulate intestinal mucosal immunity and gut microbiota in cyclophosphamide-treated mice. *Carbohydrate Polymers*, 235, art. no. 115957. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.115957>
53. Zahorec, J., Šoronja-Simović, D., Petrović, J., Šereš, Z., Pavlič, B., Sterniša, M., Smole Možina, S., Ačkar, Đ., Šubarić, D., Jozinović, A. (2024). The effect of carob extract on antioxidant, antimicrobial and sensory properties of bread. *Applied Sciences*, 14(9), art. no. 3603. <https://doi.org/10.3390/app14093603>
54. Zhang, Q., Liu, Y., Tang, R., Kong, S., Lv, D., Li, H., Yang, H., Lin, L. (2024). Gut microbiota and its metabolites: A potential approach for traditional Chinese medicine-derived non-starch polysaccharides to delay aging and prevent age-related diseases – A review. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, 8, art. no. 100567. <https://doi.org/10.1016/j.carpta.2024.100567>
55. Zhang, Y., Ruan, C., Cheng, Z., Zhou, Y., Liang, J. (2019). Mixolab behavior, quality attributes and antioxidant capacity of breads incorporated with *Agaricus bisporus*. *Journal of Food Science and Technology*, 56(8), 3921–3929. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03859-7>
56. Zhao, H., Wang, L., Brennan, M., Brennan, C. (2022). How does the addition of mushrooms and their dietary fiber affect starchy foods. *Journal of Future Foods*, 2(1), 18–24. <https://doi.org/10.1016/j.jfutfo.2022.03.013>
57. Zhuang, H., Chen, Z., Feng, T., Yang, Y., Zhang, J., Liu, G., Li, Z., Ye, R. (2017). Characterization of *Lentinus edodes* β -glucan influencing the *in vitro* starch digestibility of wheat starch gel. *Food Chemistry*, 224, 294–301. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.12.087>

8. Oświadczenia

mgr inż. Paulina Łysakowska
Katedra Inżynierii i Technologii Zbóż
Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
ul. Skromna 8, 20-704 Lublin
paulina.lysakowska@up.lublin.pl

Lublin, 03.09.2025r.

**Rada Dyscypliny
Technologia żywności i żywienia
Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie**

Oświadczenie o współautorstwie

(P1) Łysakowska, P., Sobota, A., & Wirkijowska, A. (2023). Medicinal Mushrooms: Their Bioactive Components, Nutritional Value and Application in Functional Food Production- A Review. *Molecules*, 28(14), 5393.

Mój wkład w przygotowanie publikacji obejmował: opracowanie koncepcji badawczej, przeprowadzenie przeglądu literatury, przygotowanie pierwszej wersji manuskryptu oraz opracowanie tabel i zestawień. Uczestniczyłam w pełnym procesie recenzyjnym, obejmującym przygotowanie i redakcję odpowiedzi na uwagi recenzentów.

(P2) Łysakowska, P., Sobota, A., Wirkijowska, A., Zarzycki, P., & Blicharz-Kania, A. (2024). The Impact of *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst. Supplementation on the Technological, Chemical, and Quality Parameters of Wheat Bread. *Foods*, 13(19), 3101.

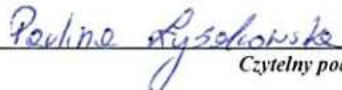
Mój wkład w publikację obejmował opracowanie koncepcji badawczej, pozyskanie środków finansowych na realizację projektu, zakup surowców i przygotowanie prób, wykonanie procesu wypieku pieczywa, przeprowadzenie większości analiz laboratoryjnych, analizę statystyczną wraz z interpretacją wyników, przygotowanie pierwszej wersji manuskryptu. Uczestniczyłam w pełnym procesie recenzyjnym, obejmującym przygotowanie i redakcję odpowiedzi na uwagi recenzentów.

(P3) Łysakowska, P., Sobota, A., Wirkijowska, A., Ivanišová, E. (2025). Lion's Mane (*Hericium erinaceus* (Bull.) Pers.) as a functional component for wheat bread production: influence on physicochemical, antioxidant, and sensory properties. *Int. Agrophys.*, 39(1), 13-28.

Mój wkład w publikację obejmował opracowanie koncepcji badawczej, pozyskanie środków finansowych na realizację projektu, zakup surowców i przygotowanie prób, wykonanie procesu wypieku pieczywa, przeprowadzenie większości analiz laboratoryjnych, analizę statystyczną wraz z interpretacją wyników, przygotowanie pierwszej wersji manuskryptu. Uczestniczyłam w pełnym procesie recenzyjnym, obejmującym przygotowanie i redakcję odpowiedzi na uwagi recenzentów.

(P4) Łysakowska, P., Sobota, A., Zarzycki, P. (2025). Evaluation of the Physicochemical, Antioxidant and Sensory Properties of Wheat Bread with Partial Substitution of Wheat Flour with *Cordyceps sinensis* Powder. Polish Journal of Food and Nutrition Sciences, 75(2), 170-183.

Mój wkład w publikację obejmował opracowanie koncepcji badawczej, pozyskanie środków finansowych na realizację projektu, zakup surowców i przygotowanie prób, wykonanie procesu wypieku pieczywa, przeprowadzenie większości analiz laboratoryjnych, analizę statystyczną wraz z interpretacją wyników, przygotowanie pierwszej wersji manuskryptu. Uczestniczyłam w pełnym procesie recenzyjnym, obejmującym przygotowanie i redakcję odpowiedzi na uwagi recenzentów.


Czytelny podpis

dr hab. inż. Aldona Sobota, prof. uczelni
Katedra Inżynierii i Technologii Zbóż
Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
ul. Skromna 8, 20-704 Lublin
aldona.sobota@up.lublin.pl

Lublin, 03.09.2025r.

**Rada Dyscypliny
Technologia żywności i żywienia
Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie**

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracach:

(P1) Łysakowska, P., Sobota, A., & Wirkijowska, A. (2023). Medicinal Mushrooms: Their Bioactive Components, Nutritional Value and Application in Functional Food Production- A Review. *Molecules*, 28(14), 5393.

Mój wkład w publikację obejmował: udział w opracowaniu koncepcji badawczej, wsparcie w zakresie wyszukiwania literatury, analizę formalną oraz redakcję i edycję manuskryptu, pełnienie funkcji autora korespondencyjnego, a także udział w przygotowaniu odpowiedzi na recenzje.

(P2) Łysakowska, P., Sobota, A., Wirkijowska, A., Zarzycki, P., & Blicharz-Kania, A. (2024). The Impact of *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst. Supplementation on the Technological, Chemical, and Quality Parameters of Wheat Bread. *Foods*, 13(19), 3101.

Mój wkład w publikację obejmował: udział w opracowaniu koncepcji badawczej i założeń metodologicznych, współudział w planowaniu oraz realizacji eksperymentu, współtworzenie manuskryptu, przeprowadzenie analizy formalnej i sprawowanie nadzoru merytorycznego, pełnienie funkcji autora korespondencyjnego, a także udział w przygotowaniu odpowiedzi na recenzje.

(P3) Łysakowska, P., Sobota, A., Wirkijowska, A., Ivanišová, E. (2025). Lion's Mane (*Hericium erinaceus* (Bull.) Pers.) as a functional component for wheat bread production: influence on physicochemical, antioxidant, and sensory properties. *Int. Agrophys.*, 39(1), 13-28.

Mój wkład w publikację obejmował: udział w opracowaniu koncepcji badawczej i założeń metodologicznych, współudział w planowaniu oraz realizacji eksperymentu, współtworzenie manuskryptu, przeprowadzenie analizy formalnej i sprawowanie nadzoru merytorycznego, pełnienie funkcji autora korespondencyjnego, a także udział w przygotowaniu odpowiedzi na recenzje.

(P4) Łysakowska, P., Sobota, A., Zarzycki, P. (2025). Evaluation of the Physicochemical, Antioxidant and Sensory Properties of Wheat Bread with Partial Substitution of Wheat Flour with *Cordyceps sinensis* Powder. Polish Journal of Food and Nutrition Sciences, 75(2), 170-183.

Mój wkład w publikację obejmował: udział w opracowaniu koncepcji badawczej i założeń metodologicznych, współudział w planowaniu oraz realizacji eksperymentu, współtworzenie manuskryptu, przeprowadzenie analizy formalnej i sprawowanie nadzoru merytorycznego, pełnienie funkcji autora korespondencyjnego, a także udział w przygotowaniu odpowiedzi na recenzje.


Czytelny podpis

dr inż. Anna Wirkijowska
Katedra Inżynierii i Technologii Zbóż
Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
ul. Skromna 8, 20-704 Lublin
anna.wirkijowska@up.lublin.pl

Lublin, 03.09.2025r.

**Rada Dyscypliny
Technologia żywności i żywienia
Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie**

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracach:

(P1) Łysakowska, P., Sobota, A., & Wirkijowska, A. (2023). Medicinal Mushrooms: Their Bioactive Components, Nutritional Value and Application in Functional Food Production- A Review. *Molecules*, 28(14), 5393.

Mój wkład w publikację obejmował: wyszukiwanie i selekcję literatury, a także redakcję oraz korektę tekstu.

(P2) Łysakowska, P., Sobota, A., Wirkijowska, A., Zarzycki, P., & Blicharz-Kania, A. (2024). The Impact of *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst. Supplementation on the Technological, Chemical, and Quality Parameters of Wheat Bread. *Foods*, 13(19), 3101.

Mój wkład w publikację obejmował: pomoc w przygotowaniu oraz wypieku pieczywa, pomoc w analizie farinograficznej, pomoc w przygotowaniu dokumentacji fotograficznej, edycja i korekta tekstu.

(P3) Łysakowska, P., Sobota, A., Wirkijowska, A., Ivanišová, E. (2025). Lion's Mane (*Hericium erinaceus* (Bull.) Pers.) as a functional component for wheat bread production: influence on physicochemical, antioxidant, and sensory properties. *Int. Agrophys.*, 39(1), 13-28.

Mój wkład w publikację obejmował: pomoc w przygotowaniu oraz wypieku pieczywa, pomoc w analizie farinograficznej, pomoc w przygotowaniu dokumentacji fotograficznej, edycja i korekta tekstu.


Czytelny podpis

dr hab. inż. Piotr Zarzycki
Katedra Inżynierii i Technologii Zbóż
Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
ul. Skromna 8, 20-704 Lublin
piotr.zarzycki@up.lublin.pl

Lublin, 03.09.2025r.

**Rada Dyscypliny
Technologia żywności i żywienia
Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie**

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracach:

(P2) Łysakowska, P., Sobota, A., Wirkijowska, A., Zarzycki, P., & Blicharz-Kania, A. (2024). The Impact of *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst. Supplementation on the Technological, Chemical, and Quality Parameters of Wheat Bread. *Foods*, 13(19), 3101.

Mój wkład w publikację obejmował: pomoc w przeprowadzeniu analizy farinograficznej

(P4) Łysakowska, P., Sobota, A., Zarzycki, P. (2025). Evaluation of the Physicochemical, Antioxidant and Sensory Properties of Wheat Bread with Partial Substitution of Wheat Flour with *Cordyceps sinensis* Powder. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 75(2), 170-183.

Mój wkład w publikację obejmował: pomoc w przeprowadzeniu analizy farinograficznej



Czytelny podpis

Doc. Ing. Eva Ivanišová, PhD.
Faculty of Biotechnology and Food Sciences
Slovak University of Agriculture in Nitra
Trieda Andreja Hlinku 2, 949 76 Nitra
eva.ivanisova@uniag.sk

Lublin, 03.09.2025r.

**Rada Dyscypliny
Technologia Żywności i Żywienia
Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie**

Oświadczenie o współautorstwie

(P3) Łysakowska, P., Sobota, A., Wirkijowska, A., Ivanišová, E. (2025). Lion's Mane (*Hericium erinaceus* (Bull.) Pers.) as a functional component for wheat bread production: influence on physicochemical, antioxidant, and sensory properties. Int. Agrophys., 39(1), 13-28.

Mój wkład w publikację obejmował: pomoc w oznaczeniu zawartości polifenoli, flawonoidów oraz zdolności antyoksydacyjnej. (My contribution to the publication involved assistance in the determination of polyphenol and flavonoid content as well as antioxidant capacity).

IVANIŠOVÁ EVA

Czytelny podpis (Signature)

dr inż. Agata Blicharz-Kania
Katedra Biologicznych Podstaw
Technologii Żywności i Pasz
Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
ul. Skromna 8, 20-704 Lublin
agata.kania@up.lublin.pl

Lublin, 03.09.2025r.

**Rada Dyscypliny
Technologia Żywności i Żywienia
Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie**

Oświadczenie o współautorstwie

(P2) Łysakowska, P., Sobota, A., Wirkijowska, A., Zarzycki, P., & Blicharz-Kania, A. (2024). The Impact of *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst. Supplementation on the Technological, Chemical, and Quality Parameters of Wheat Bread. *Foods*, 13(19), 3101.

Mój wkład w publikację obejmował: opracowanie metodyki pomiaru tekstury, wykonanie oznaczenia TPA.


Czytelny podpis

Aneks – życiorys naukowy

Wykształcenie

Lata	Uczelnia / Kierunek	Uwagi
2024 – obecnie	Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii – Dietetyka (studia magisterskie)	–
2021 – 2025	Szkoła Doktorska Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie – Technologia żywności i żywienia	Promotor: dr hab. inż. Aldona Sobota, prof. uczelni Rozprawa doktorska: Wpływ częściowej substytucji mąki pszennej sproszkowanymi owocnikami wybranych grzybów leczniczych na cechy technologiczne, właściwości fizykochemiczne, potencjał antyoksydacyjny i jakość sensoryczną pieczywa pszennego
2021 – 2022	Wyższa Szkoła Nauk Społecznych w Lublinie – Psychodietetyka (studia podyplomowe)	–
2020 – 2021	Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie – Technologia żywności i żywienie człowieka (studia magisterskie)	Promotor: prof. dr hab. Urszula Pankiewicz Tytuł pracy: Wpływ dodatku soplówki jeżowatej (<i>Hericium erinaceus</i>) i chagi (<i>Inonotus obliquus</i>) na jakość ciasta krucho- drożdżowego
2016 – 2020	Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie – Technologia żywności i żywienie człowieka (studia inżynierskie)	Promotor: dr hab. inż. Aldona Sobota, prof. uczelni Tytuł pracy: Projekt makaronu wzbogaconego dodatkiem mąki z nasion konopi siewnych (<i>Cannabis sativa</i> L.)

Stáže naukowe i mobilności zagraniczne

Data	Instytucja	Program / Opis
01.03.2023 – 31.03.2023	Uniwersytet Rolniczy w Nitrze (Słowacja), Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności	Staż naukowy
04.09.2023 – 08.09.2023	Uniwersytet Południowoczeski w Czeskich Budziejowicach (Czechy)	Erasmus+, kurs <i>Summer School of Food Production</i>
18.09.2023 – 13.10.2023	Uniwersytet w Porto (Portugalia)	Erasmus+, kurs <i>RADIANT – Tradition in Culinary Innovation</i>
01.07.2024 – 05.07.2024	Uniwersytet Turība w Rydze (Łotwa)	Erasmus+, kurs <i>Wellness Wonderland – Discover Your Path to Vibrant Living</i>
30.10.2024 – 30.11.2024	Uniwersytet Zasobów Naturalnych i Nauk o Życiu w Wiedniu (Austria); Instytut Technologii Żywności	Staż naukowy

Publikacje naukowe

1. **Łysakowska, P.**, Sobota, A., & Zarzycki, P. (2025). Evaluation of the Physicochemical, Antioxidant and Sensory Properties of Wheat Bread with Partial Substitution of Wheat Flour with *Cordyceps sinensis* Powder. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 75(2), 170–183.
Punkty MEiN: 100; IF: 2,3
2. **Łysakowska, P.**, Sobota, A., Wirkijowska, A., & Ivanišová, E. (2025). *Lion's Mane* (*Hericium erinaceus* (Bull.) Pers.) as a functional component for wheat bread production: influence on physicochemical, antioxidant, and sensory properties. *International Agrophysics*, 39(1), 13–28.
Punkty MEiN: 100; IF: 1,7
3. Zarzycki, P., Wirkijowska, A., Teterycz, D., & **Łysakowska, P.** (2024). Innovations in Wheat Bread: Using Food Industry By-Products for Better Quality and Nutrition.

Applied Sciences, 14(10), 3976. <https://doi.org/10.3390/app14103976>

Punkty MEiN: 100; IF: 2,5

4. **Łysakowska, P.**, Sobota, A., Wirkijowska, A., Zarzycki, P., & Blicharz-Kania, A. (2024). The Impact of *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst. Supplementation on the Technological, Chemical, and Quality Parameters of Wheat Bread. *Foods*, 13(19), 3101.

Punkty MEiN: 100; IF: 5,1

5. Wirkijowska, A., Zarzycki, P., Teterycz, D., Nawrocka, A., Blicharz-Kania, A., & **Łysakowska, P.** (2023). The Influence of Tomato and Pepper Processing Waste on Bread Quality. *Applied Sciences*, 13(16), 9312. <https://doi.org/10.3390/app13169312>

Punkty MEiN: 100; IF: 2,5

6. **Łysakowska, P.**, Sobota, A., & Wirkijowska, A. (2023). Medicinal Mushrooms: Their Bioactive Components, Nutritional Value and Application in Functional Food Production – A Review. *Molecules*, 28(14), 5393.

Punkty MEiN: 140; IF: 4,2

7. Teterycz, D., Sobota, A., Przygodzka, D., & **Łysakowska, P.** (2021). Hemp seed (*Cannabis sativa* L.) enriched pasta: Physicochemical properties and quality evaluation. *PLOS ONE*, 16(3), e0248790. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0248790>

Punkty MEiN: 100; IF: 3,752

Dorobek publikacyjny obejmuje łącznie 740 punktów MNiSW, łączny Impact Factor na poziomie 22,052, 213 cytowań według bazy Scopus (w tym 205 bez autocytowań) oraz indeks Hirscha równy 5.

Udział w konferencjach naukowych

Referaty wygłoszone na konferencjach krajowych

1. **Łysakowska P.** 2018. „Wpływ dodatku komponentów wysokobłonnikowych na jakość pieczywa pszennego”, VIII Ogólnokrajowa Konferencja Naukowa „Młodzi Naukowcy w Polsce – Badania i Rozwój”, 23.11.2018, Lublin.

2. **Łysakowska P.** 2019. „Sposoby podnoszenia wartości odżywczej pieczywa i nadawania mu cech żywności funkcjonalnej”, I Ogólnopolska Konferencja Naukowa „Naukowo o Żywieniu”, 18.05.2019, Lublin.
3. **Łysakowska P.**, Konat S., Wirkijowska A., Teterycz D. 2020. „Wpływ wytlóków i mąki konopnej na jakość pieczywa pszennego”, Przegląd badań prowadzonych w studenckich kołach naukowych, 2020, Lublin.
4. **Łysakowska P.** 2021. „Metody maskowania gorzkiego smaku w produktach zbożowych”, XIV Ogólnokrajowa Konferencja Naukowa „Młodzi Naukowcy w Polsce – Badania i Rozwój”, 26.11.2021, Lublin.
5. **Łysakowska P.** 2022. „Wpływ preparatów błonnikowych na jakość wyrobów piekarniczych”, XVI Ogólnokrajowa Konferencja Naukowa „Młodzi Naukowcy w Polsce – Badania i Rozwój”, 28.11.2022, Lublin.
6. **Łysakowska P.** 2022. „Wpływ dodatku wytlóków lnianych na jakość i skład chemiczny wyrobów ciastkarskich”, XIV Interdyscyplinarna Konferencja Naukowa TYGIEL 2022 „Interdyscyplinarność kluczem do rozwoju”, 27.03.2022, Lublin.
7. **Łysakowska P.**, Wirkijowska A. 2023. „Wpływ preparatów błonnikowych na skład chemiczny i teksturę muffinek”, XV Interdyscyplinarna Konferencja Naukowa TYGIEL 2023 „Interdyscyplinarność kluczem do rozwoju”, 23-26.03.2023, Lublin.
8. **Łysakowska P.**, Sobota A., Wirkijowska A., Teterycz D., Botor E. 2023. „Wpływ dodatku reishi (*Ganoderma lucidum*) na skład chemiczny, zawartość polifenoli i jakość makaronów durum”, Konferencja Naukowa „Żywność jako wyzwanie dla współczesnej nauki i przemysłu”, 21-22.09.2023, Kraków.
9. **Łysakowska P.**, Sobota A., Wirkijowska A. 2023. „Grzyb leczniczy reishi (*Ganoderma lucidum*) jako komponent pieczywa funkcjonalnego”, XXVII Sesja Naukowa Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ „Rozwój Nauk o Żywności. Zrównoważona przyszłość”, 11-12.05.2023, Kraków.
10. **Łysakowska P.**, Sobota A., Zarzycki P., Wirkijowska A. 2024. „Ocena wpływu dodatku *Cordyceps sinensis* na właściwości fizykochemiczne i sensoryczne pieczywa pszennego”, IV Konferencja Naukowa z cyklu Nauka o Zbożach – „Współczesne trendy w produkcji i przetwórstwie zbóż”, 19-20.09.2024, Trzebnica.

Referaty wygłoszone na konferencjach międzynarodowych

1. **Łysakowska P.**, Pankiewicz U., Sobota A. 2022. „Evaluation of the quality of crispy-yeast cake with the addition of lion's mane (*Hericium erinaceus*)”, IXth International Session of Young Scientific Staff „Food nowadays local or global? Traditional or innovative?”, 19-20.05.2022, Poznań.

Postery zaprezentowane na konferencjach krajowych

1. **Łysakowska P.**, Libera J. 2024. „Choroby nieswoiste zapalne jelit a samoocena pacjentów: wpływ na styl życia i zdrowie”, I Ogólnopolska Konferencja Naukowo-Szkoleniowa „Żywnienie dla zdrowia”, 25.10.2024, Lublin.

Postery zaprezentowane na konferencjach międzynarodowych

1. **Łysakowska P.**, Wirkijowska A. 2022. „Possibilities assessment of use egg substitutes for the production of vegan biscuits”, 1st International PhD Student's Conference at the University of Life Sciences in Lublin, Poland „ENVIRONMENT – PLANT – ANIMAL – PRODUCT”, 26.04.2022, Lublin.
2. **Łysakowska P.**, Sobota A., Ivanišová E., Wirkijowska A. 2023. „Chemical composition, polyphenol content and antioxidant activity of durum pasta enriched with lion's mane (*Hericium erinaceus*)”, 9th International Conference of Young Researchers, 22-23.06.2023, Kraków.
3. **Łysakowska P.**, Sobota A., Wirkijowska A. 2023. „Lion's mane (*Hericium erinaceus*) as a functional component of wheat bread”, 2nd International PhD Student's Conference at the University of Life Sciences in Lublin, Poland „ENVIRONMENT – PLANT – ANIMAL – PRODUCT”, 19-20.04.2023, Lublin.
4. **Łysakowska P.**, Libera J., Sobota A. 2024. „The therapeutic dietary strategy in geriatric obesity with comorbidity”, 3rd International PhD Student's Conference at the University of Life Sciences in Lublin, Poland „ENVIRONMENT – PLANT – ANIMAL – PRODUCT”, 24-26.04.2024, Lublin.
5. **Łysakowska P.**, Libera J. 2025. „Dietary intervention supporting remission in Crohn's disease”, 4th International PhD Student's Conference at the University of Life Sciences in Lublin, Poland „ENVIRONMENT – PLANT – ANIMAL – PRODUCT”, 09.04.2025, Lublin.

Współautorstwo w doniesieniach konferencyjnych

1. Teterycz D., Sobota A., **Łysakowska P.**, Przygodzka D. 2022. „By-products of hemp seed (*Cannabis sativa* L.) processing as a fortifying additive for durum wheat pasta”, IXth International Session of Young Scientific Staff „Food nowadays local or global? Traditional or innovative?”, 19-20.05.2022, Poznań.
2. Wirkijowska A., **Łysakowska P.**, Teterycz D., Zarzycki P., Sobota A., Blicharz-Kania A. 2022. „Wpływ dodatku wytlóków lnianych na jakość i wartość odżywczą wyrobów ciastkarskich”, III Konferencja Naukowa „Nauka o Zbożach – osiągnięcia i perspektywy”, 22-23.09.2022, Lublin.
3. Zarzycki P., Wirkijowska A., Teterycz D., Nawrocka A., Blicharz-Kania A., **Łysakowska P.** 2023. „The influence of vegetable processing waste from bell pepper and tomato on the baking characteristics of wheat flour and the quality of wheat bread”, 14th International Conference on Agrophysics, 11-13.09.2023, Lublin, Poland.
4. Wirkijowska A., Sobota A., Zarzycki P., **Łysakowska P.**, Blicharz-Kania A. 2023. „Wytłoki z rokitnika jako komponent pieczywa pszenne o cechach funkcjonalnych”, XV Konferencja Naukowa z cyklu: „Żywność XXI wieku” – „Żywność jako wyzwanie dla współczesnej nauki i przemysłu”, 21-22.09.2023, Kraków.
5. Sobota A., **Łysakowska P.**, Zarzycki P., Libera J., Plewik A. 2023. „Wpływ dodatku wytlóków z owoców rokitnika (*Hippophae rhamnoides*) na właściwości fizykochemiczne i jakość makaronów”, XV Konferencja Naukowa z cyklu: „Żywność XXI wieku” – „Żywność jako wyzwanie dla współczesnej nauki i przemysłu”, 21-22.09.2023, Kraków.
6. Dąbek W., **Łysakowska P.** 2024. „Możliwości zagospodarowania produktów ubocznych do wzbogacenia pieczywa pszenne”, XVI Interdyscyplinarna Konferencja Naukowa TYGIEL 2024 „Interdyscyplinarność kluczem do rozwoju”, 21-24.03.2024, Lublin.

Projekty badawcze

(wykonawca we wszystkich poniższych projektach)

Projekty ze środków zewnętrznych

- 2025 – nr UBAD.WVI.25.203 – *Badanie indeksu glikemicznego in vivo trzech produktów wysokobiałkowych*
- 2025 – nr UBAD.WVI.25.198 – *Badanie indeksu glikemicznego in vivo zbożowych batonów proteinowych.*
- 2025 – nr UBAD.WVI.25.022 – *Badanie indeksu glikemicznego produktów wytworzonych i dostarczonych przez zlecniodawcę FOODWELL Sp. z o.o., tj. batona proteinowego i granoli proteinowej oraz przygotowanie opracowania naukowego na podstawie uzyskanych wyników.*
- 2024 – nr POPUL/SP/0171/2023/01 – *Popularyzacja nauki pt. „Rzemieślnicza produkcja żywności i kosmetyków w oparciu o naukę i praktykę”.*
- 2022 – nr VKR/U-356/TŻ/2021 – *Opracowanie innowacyjnej receptury i technologii produkcji długiego makaronu typu spaghetti o bardzo niskim indeksie glikemicznym ($IG < 40$) i bardzo niskim ładunku glikemicznym ($LG < 10$).*

Projekty ze środków wewnętrznych

- 2023 – *Wpływ dodatku wycieków z przetwórstwa warzyw na cechy fizykochemiczne chleba pszennego.*
- 2022 – *Wpływ wybranych preparatów błonnikowych na jakość i wartość odżywczą muffinek.*
- 2021 – *Wpływ metod fizycznych na minimalizację smaku gorzkiego w wyrobach ciastkarskich z dodatkiem wycieków lnianych.*
- 2021 – *Wpływ wycieków lnianych na jakość i wartość odżywczą wyrobów ciastkarskich.*

Udział w Lubelskim Festiwalu Nauki (2022–2024)

Rok	Wydarzenia
2022	• <i>Bezpłatne konsultacje w ramach wydarzenia specjalnego „Ogrody żywności”</i> • <i>„Absolutnie dietetycznie! – studencki maraton wykładowy, część I” (online)</i> • <i>„Zapleciona, słodka, zdrowa czyli chałka kolorowa”</i>
2023	• <i>„Magia neuroplastyczności grzybów leczniczych: odkryj ich niezwykłą moc regeneracji umysłu”</i> • <i>„Słodka, zdrowa, kolorowa czyli chałka na wesoło”</i> • <i>„Makaron zakręcony kolorami”</i>
2024	• <i>„Grzyby lecznicze w akcji: antyoksydanty w Twojej diecie”</i> • <i>„Mózg na talerzu: sekrety dla optymalnego funkcjonowania”</i> • <i>„Indeks glikemiczny żywności – czy warto go poznać bliżej?”</i> • <i>„To ci się upiecze!”</i> • <i>„Kreatywne muffinki: twórz, dekoruj, smakuj!”</i>