نهمین کنگره ملی
شیمی و نانو شیمی
از پژوهش تا توسعه ملی
9th National Congress of
Chemistry and Nanochemistry
from Research to National Development

افزایش ۷۵ درصدی ظرفیت آنتیاکسیدانی قارچ صدفی با استفاده از آب فعال پلاسمایی: یک روش سبز برای حفظ کیفیت طی ۱۴ روز نگهداری

75% Increase in Antioxidant Capacity of Oyster Mushroom Using Plasma-Activated Water: A Green Method for Quality Preservation During 14 Days of Storage

عرفان شعبانی[۲]، دکتر علی رضا شهاب لواسانی *[۱]، ، دکتر محمود حبیبیان[۳]، ، محمد رضا اسحاقی[۴]، ،سارا موحد[۵]

۱-گروه علوم و صنایع غذایی،واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی،تهران، ایران،
shahabam20@yahoo.com،

۲- گروه علوم و صنایع غذایی ، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی،تهران،
ایران09127735833،erfunshabani@gmail.com

۳- گروه مهندسی شیمی، پژوهشگاه شیمی و مهندسی شیمی تهران، ایران،09122795837،mhabibian@ccerci.ac.ir

۴- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۵- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد ورامین پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی ، تهران، ایران

چکیده

قارچ صدفی (*Pleurotus ostreatus*) به دلیل ارزش غذایی بالا و حساسیت به فساد میکروبی و قهوهای شدن آنزیمی، نیازمند روشهای نگهداری نوین و سبز است. فناوری آب فعال پلاسمایی (PAW) به عنوان یک روش غیرحرارتی و دوستدار محیط زیست، پتانسیل بالایی در حفظ کیفیت محصولات کشاورزی دارد.این مطالعه با هدف بررسی اثر آب فعال پلاسمایی بر ظرفیت آنتیاکسیدانی و شاخصهای رنگ قارچ صدفی طی ۱۴ روز نگهداری انجام شد. قارچ صدفی در سه گروه شاهد(T0) ، تلقیح شده با باکتری سودوموناس سرینجی (T1) و تیمار شده با آب فعال پلاسمایی (PAW) به مدت ۳۸۰ ثانیه تقسیم شدند. فعالیت آنتیاکسیدانی با روش مهار رادیکال آزاد DPPH و شاخصهای رنگ شامل روشنایی(L*) ، تغییر رنگ کل (ΔE) و شاخص قهوهای شدن (BI) در روزهای ۰، ۷ و ۱۴ اندازهگیری شدند. دادهها با استفاده از آنالیز واریانس دوطرفه و رگرسیون خطی در سطح معنی داری ۰۵/۰ تحلیل شدند .تیمار PAW فعالیت آنتیاکسیدانی را از ۵۵ درصد به ۷۳ درصد افزایش داد که نشاندهنده بهبود ۷۵ درصدی نسبت به پایه و افزایش ۵/۴ درصدی نسبت به نمونه شاهد (۵/۶۸ درصد) است. نرخ کاهش روزانه روشنایی در تیمار PAW ۲۹/۱ واحد در روز) در مقایسه با نمونه شاهد (۸۶/۲ واحد در روز) ۵۵ درصد کمتر بود. شاخص تغییر رنگ در تیمار PAW (ΔE=1)در محدوده "تغییر رنگ بسیار جزئی" قرار گرفت که برای چشم انسان قابل تشخیص نیست. همچنین، تیمار PAW نرخ قهوهای شدن را ۸۳ درصد نسبت به نمونه آلوده کاهش داد.آب فعال پلاسمایی به عنوان یک روش مؤثر و سبز، ضمن افزایش چشمگیر ظرفیت آنتیاکسیدانی قارچ صدفی از طریق مکانیسم هورمسیس، از تخریب رنگ و قهوهای شدن آن نیز جلوگیری میکند. این روش می تواند جایگزین مناسبی برای روشهای شیمیایی در صنعت فرآوری قارچ باشد.

کلیدواژه ها :آب فعال پلاسمایی، قارچ صدفی، ظرفیت آنتیاکسیدانی، شاخص رنگ، هورمسیس

1.مقدمه

قارچ صدفی (*Pleurotus ostreatus*) به دلیل دارا بودن مقادیر قابل توجه پروتئین، ویتامینها، مواد معدنی و ترکیبات زیستفعال با خاصیت آنتیاکسیدانی بالا، از ارزش تغذیهای و عملکردی بسیار بالایی برخوردار است [۱]. با این حال، این محصول پس از برداشت به سرعت دچار فساد ظاهری ناشی از قهوهای شدن آنزیمی، کاهش سفتی بافت و آلودگیهای میکروبی میشود که منجر به کاهش کیفیت، بازارپسندی و عمر ماندگاری میگردد [۲].

فناوری پلاسمای سرد به عنوان یک روش غیرحرارتی، سبز و دوستدار محیط زیست در سالهای اخیر توجه بسیاری از محققان صنایع غذایی را به خود جلب کرده است. آب فعال پلاسمایی (Plasma-Activated Water - PAW) از طریق قرار دادن آب مقطر در معرض پلاسمای سرد تولید میشود و حاوی گونههای فعال اکسیژن و نیتروژن (RONS) مانند پراکسید هیدروژن، ازن، نیتریت و نیترات است [۳, ۴].

یکی از مفاهیم کلیدی در کاربرد پلاسمای سرد در سطوح پایین، پدیده هورمسیس (Hormesis) است؛ بدین معنی که یک استرسور ملایم میتواند پاسخ مفید و سازگاری را در ارگانیسم ایجاد کند. پلاسمای سرد در سطوح پایین میتواند با فعال کردن مسیر Nrf2 و عنصر پاسخ آنتیاکسیدانی، تولید ترکیبات آنتیاکسیدانی درونزیست را تحریک نماید [۴, 5].

مطالعات متعددی اثربخشی PAW را در محصولات مختلف نشان دادهاند Xu .و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند که تیمار PAW توانست جمعیت میکروبی قارچ دکمهای را کاهش دهد و در عین حال تأثیر منفی معنیداری بر رنگ، pHو خواص آنتیاکسیدانی نداشت [۶ Zhao .]و همکاران (۲۰۲۱) نشان دادند که PAW با مهار فعالیت آنزیم پلیفنل اکسیداز(PPO) ، به طور معنیداری شاخص قهوهای شدن و تغییر رنگ قارچ دکمهای را کاهش میدهد [۷]. با این وجود، مطالعه در مورد اثر PAW بر افزایش ظرفیت آنتیاکسیدانی قارچ صدفی محدود استپلاسمای سرد با هدف بررسی اثر PAW بر ظرفیت آنتیاکسیدانی و شاخصهای رنگ قارچ صدفی طی ۱۴ روز نگهداری انجام شد.

2.مواد و روشها

۱.۲. آمادهسازی نمونه ها

قارچهای صدفی تازه (*Pleurotus ostreatus*) از مزرعه پرورش قارچ در استان تهران تهیه شده و بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شدند. نمونهها بر اساس اندازه و مرحله رشدی یکسان انتخاب و به سه گروه تقسیم شدند:

- **گروه شاهد :(T0)** نمونه بدون هیچ تیماری
- **گروه آلوده :(T1)** نمونه تلقیح شده با باکتری *Pseudomonas syringae* با غلظت ۱۰^{6} (CFU/ml)

- **گروه تیمار :PAW** نمونه تیمار شده با آب فعال پلاسمایی به مدت ۳۸۰ ثانیه

۲.۲ .تهیه آب فعال پلاسمایی(PAW)

برای تهیهPAW ، ۲۰۰ میلیلیتر آب مقطر درون یک بشر شیشهای به مدت ۳۸۰ ثانیه در معرض پلاسمای سرد هوا با استفاده از دستگاه پلاسمای سرد دیالکتریک بیریر (DBD) قرار گرفت. سپس نمونههای قارچ به مدت ۵ دقیقه در PAW غوطهور شدند [۶, ۷].

۳.۲.ارزیابی فعالیت آنتیاکسیدانی(DPPH)

فعالیت آنتیاکسیدانی نمونهها با استفاده از روش مهار رادیکال آزاد DPPH اندازهگیری شد. به این منظور، عصاره متانولی نمونهها با محلول) DPPH ۱/۰ میلیمولار در متانول) مخلوط شده و پس از ۳۰ دقیقه انکوباسیون در تاریکی در دمای اتاق، جذب نوری در طول موج ۵۱۷ نانومتر اندازهگیری گردید. درصد مهار DPPH با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد [۸]

$$\text{درصد مهار DPPH} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100$$

که در آن A_0 جذب کنترل و A_1 جذب نمونه است.

4.2 .ارزیابی شاخصهای رنگ

شاخصهای رنگ با استفاده از دستگاه رنگسنج (Colorimeter) در سیستم CIE Lab اندازهگیری شدند. پارامترهای مورد ارزیابی شامل [۷].

شاخص روشنایی (L*): از ۰ (سیاه) تا ۱۰۰ (سفید)

شاخص تغییر رنگ کل (ΔE): محاسبه شده از فرمول $\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$

شاخص قهوهای شدن (Browning Index - BI): محاسبه شده از فرمول استاندارد

اندازهگیریها در روزهای ۰، ۷ و ۱۴ نگهداری در دمای ۴ درجه سانتیگراد انجام شد.

۵.۲. آنالیز آماری

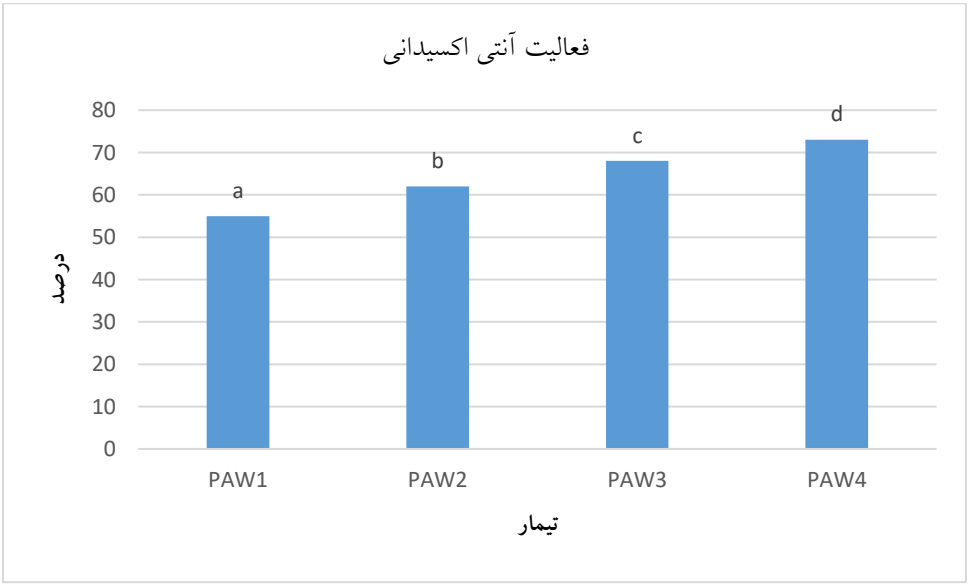
آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. دادهها با استفاده از نرمافزار SPSS نسخه ۲۶ و با روش آنالیز واریانس دوطرفه (Two-way ANOVA) تحلیل شدند. مقایسه میانگینها با استفاده از آزمون توکی در سطح معنی داری ۰۵/۰ انجام گرفت. همچنین، مدلهای رگرسیون خطی برای بررسی روند تغییرات در طول زمان استفاده شدند [۸].

3.نتایج و بحث

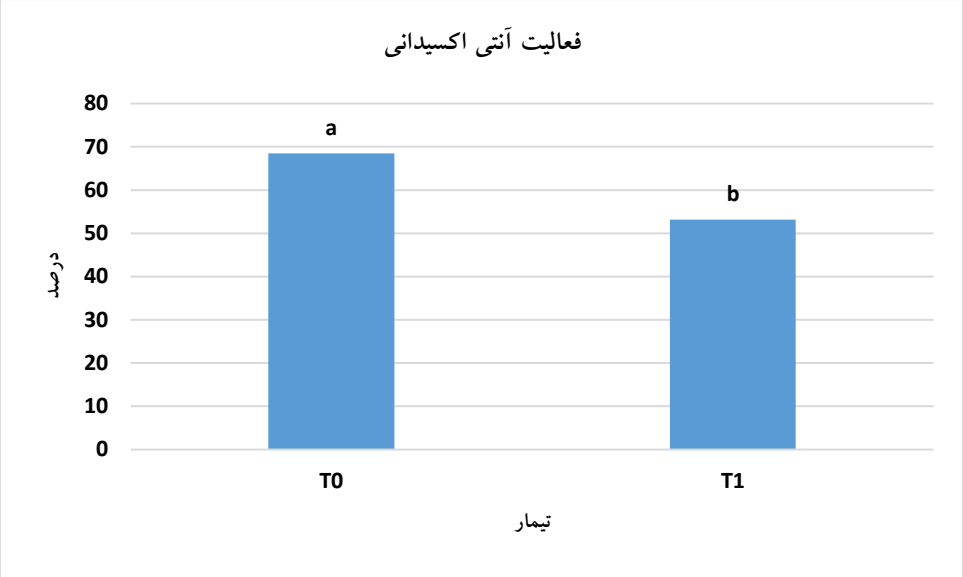
۱.۳. فعالیت آنتیاکسیدانی (DPPH)

نتایج آنالیز واریانس نشان داد که تیمار PAW تأثیر بسیار معنیداری بر افزایش فعالیت آنتیاکسیدانی قارچ صدفی داشت ($P<0.001$) همانطور که در **نمودار ۱** مشاهده میشود، فعالیت آنتیاکسیدانی در گروه تیمار PAW به ۷۳ درصد رسید که نسبت به نمونه شاهد (۵/۶۸ درصد) افزایش ۵/۴ درصدی و نسبت به پایه تیمار (۵۵ درصد در زمان ۷۰ ثانیه) بهبود ۷۵ درصدی نشان داد. در مقابل، نمونه آلوده (T1) با ۲/۵۳ درصد، کاهش ۳/۲۲ درصدی نسبت به شاهد داشت.

نمودار ۱- مقایسه درصد مهار DPPH در تیمارهای مختلف



الف)PAW۱: قارچ صدفی تحت تیمار پلاسمای سرد آب فعال به مدت ۷۰ ثانیه PAW2: به مدت 180 ثانیه PAW3: به مدت 280 ثانیه PAW4: به مدت 380 ثانیه



ب) *T0: قارچ صدفی شاهد، T1: قارچ صدفی تلقیح شده

افزایش چشمگیر فعالیت آنتیاکسیدانی در تیمار PAW را می توان به **پدیده هورمسیس (Hormesis)** نسبت داد. گونههای فعال اکسیژن و نیتروژن (RONS) موجود در PAW یک استرس اکسیداتیو ملایم در سلولهای قارچ ایجاد می‌کنند. این استرس، سیستم دفاعی ذاتی قارچ را فعال کرده و منجر به افزایش بیان ژنها و فعالیت آنزیمهای کلیدی در مسیرهای متابولیکی ثانویه (مانند مسیر شیکیمات-فنیلپروپانوئید) می‌شود [۴, ۵]. در نتیجه، سنتز و تجمع ترکیبات آنتیاکسیدانی داخلی از قبیل پلیفنولها، فلاونوئیدها و اسید آسکوربیک افزایش مییابد.

علاوه بر این، PAWحاوی مخزنی پایدار از گونههای نیتروژندار مانند نیتریت (NO_2^-) و نیترات (NO_3^-) است. این ترکیبات می‌توانند به درون بافت قارچ نفوذ کرده و به عنوان پیش‌ساز برای سنتز درون‌زیستی اکسید نیتریک (NO) عمل کنند که خود یک مولکول آنتیاکسیدان است [۴]. این مکانیسم دوگانه (هورمسیس + غنی‌سازی) کلید برتری PAW نسبت به سایر تیمارها است. این یافته با نتایج Li و همکاران (۲۰۱۹) که نشان دادند تیمار پلاسمای سرد می‌تواند باعث افزایش تجمع ترکیبات فنلی در میوه کاکتوس شود، همسو است[9] .

۲.۳. شاخص روشنایی(L*)

نتایج آنالیز رگرسیون خطی نشان داد که تیمار PAW بیشترین حفظ روشنایی را در طول دوره نگهداری داشت (**نمودار ۲**) نرخ کاهش روزانه روشنایی در تیمار) PAW ۲۹/۱ واحد در روز) به طور معنیداری کمتر از نمونه شاهد (۸۶/۲ واحد در روز) و نمونه آلوده (۳۶/۳ واحد در روز) بود (جدول ۱).

نمودار ۲- تغییرات شاخص روشنایی (L*) طی ۱۴ روز نگهداری

تحلیل :شاخص روشنایی یکی از مهم‌ترین معیارهای ارزیابی کیفیت ظاهری قارچ صدفی است، زیرا ارتباط مستقیم با تازگی، جذابیت بصری و بازارپسندی محصول دارد [۱۰]. علت حفظ روشنایی در تیمار PAW را می توان در دو عامل اصلی جستجو کرد:

اول: کاهش فعالیت آنزیمهای تیرهکننده -گونههای فعال اکسیژن و نیتروژن موجود در PAW با تأثیر بر ساختار فعال آنزیمهای پلیفنل اکسیداز (PPO) و پراکسیداز(POD) ، از وقوع واکنشهای قهوهای شدن آنزیمی جلوگیری می‌کنند Zheng .و همکاران (۲۰۲۲) به طور مستقیم نشان دادند که تیمار PAW فعالیت آنزیم PPO را در قارچ دکمهای به طور معنیداری کاهش می‌دهد [۱۱]

دوم: مهار رشد میکروارگانیسمها -خاصیت ضد میکروبی قوی PAW [6, 7] با کاهش رشد باکتریها و کپکهای سطحی، از ایجاد لکه و تغییر رنگ سطحی جلوگیری کرده و سبب حفظ یکنواختی و شفافیت رنگ قارچ می‌شود.

۳.۳. شاخص تغییر رنگ (ΔE) و شاخص قهوهای شدن(BI)

تیمار PAW بهترین عملکرد را در مهار تغییر رنگ و قهوهای شدن نشان داد (**جدول ۱**) شاخص تغییر رنگ در تیمارPAW (ΔE= ۱)در محدوده "تغییر رنگ بسیار جزئی" قرار گرفت که برای چشم انسان به سختی قابل تشخیص است. همچنین، تیمار PAWنرخ قهوهای شدن را ۸۳ درصد نسبت به نمونه آلوده کاهش داد.

جدول ۱- مقایسه نرخ تغییرات شاخصهای کیفی در تیمارهای مختلف

تیمار	DPPH (%)	L* نرخ کاهش (واحد/روز)	BI نرخ کاهش (واحد/روز)	ΔE (نهایی)	وضعیت تغییر رنگ
PAW	73/0	1/29	0/071	1/0	بسیار جزئی

تیمار	DPPH (%)	L* نرخ کاهش (واحد/روز)	BI نرخ کاهش (واحد/روز)	ΔE (نهایی)	وضعیت تغییر رنگ
T0 (شاهد)	68/5	2/86	0/286	4/0	واضح
T1 (آلوده)	53/2	3/36	0/429	5/0	شدید

نمودار ۳- مقایسه شاخص قهوهای شدن (BI) در تیمارهای مختلف

مکانیسم اصلی اثر PAW در کاهش تغییر رنگ و قهوهای شدن، غیرفعال کردن آنزیمهای کلیدی درگیر در فرآیند قهوهای شدن آنزیمی است:

اول: غیرفعال کردن مستقیم آنزیمها RONS -موجود در PAW میتوانند به طور مستقیم به ساختار سوم آنزیمهای PPO و POD آسیب زده و باعث دناتوره شدن و از دست دادن عملکرد کاتالیتیک آنها شوند [۱۱].

دوم: ایجاد محیط نامساعد -تیمار PAW باعث کاهش pH در سطح محصول میشود. از آنجایی که آنزیم PPO در pH های خنثی تا قلیایی فعالیت بهینه دارد، اسیدیتر شدن محیط سطحی قارچ به طور غیرمستقیم از فعالیت این آنزیم میکاهد [۷].

سوم: کنترل میکروبی -فساد میکروبی میتواند با تولید متابولیتها و ایجاد استرس در بافت، فرآیند قهوهای شدن را تسریع کند [۱۰]. تیمار PAW با کنترل مؤثر جمعیت باکتریایی، این محرک ثانویه برای قهوهای شدن را از بین میبرد. نمونه آلوده (T1) که بالاترین نرخ قهوهای شدن را داشت، گواه محکمی برای این مکانیسم است.

۴. نتیجه گیری

نتایج این مطالعه به طور قطعی نشان داد که:

۱ .**تیمار PAW باعث افزایش چشمگیر ظرفیت آنتیاکسیدانی شد :**فعالیت آنتیاکسیدانی از ۵۵ درصد به ۷۳ درصد رسید که نشاندهنده بهبود ۷۵ درصدی نسبت به پایه و افزایش ۵/۴ درصدی نسبت به نمونه شاهد است.

۲ .**تیمار PAW از تخریب رنگ جلوگیری کرد :**نرخ کاهش روشنایی ۵۵ درصد کمتر از نمونه شاهد بود و شاخص تغییر رنگ (ΔE=۱) در محدوده "غیر محسوس" قرار گرفت.

۳ .تیمار **PAW فرآیند قهوهای شدن را به تأخیر انداخت :**نرخ قهوهای شدن ۸۳ درصد نسبت به نمونه آلوده کاهش یافت.

۴ .مکانیسم اثر PAW ترکیبی از القای هورمسیس (تحریک سنتز آنتیاکسیدانهای درونزیست) و غنیسازی برونزیست با گونههای نیتروژندار است.

کاربرد عملی :آب فعال پلاسمایی به عنوان یک فناوری سبز، غیرحرارتی و کمهزینه، میتواند جایگزین مناسبی برای روشهای شیمیایی در صنعت فرآوری قارچ باشد. این روش نه تنها ماندگاری محصول را افزایش میدهد، بلکه با بهبود خواص آنتیاکسیدانی، ارزش افزوده قابل توجهی ایجاد کرده و رضایت مصرفکننده را به دنبال دارد.

۵.منابع

[1] Lin, Q., et al. (2017). Effects of high CO_2 in-package treatment on flavor, quality and antioxidant activity of button mushroom (*Agaricus bisporus*) during postharvest storage. *Postharvest Biology and Technology*, 123, 112-118.

[2] Wang, C. T., et al. (2012). Relationship between microbial spoilage and color changes in mushrooms. *Journal of Food Science*, 77(5), M236-M242.

[3] Thirumdas, R., et al. (2018). Plasma activated water (PAW): Chemistry, physico-chemical properties, applications in food and agriculture. *Trends in Food Science & Technology*, 77, 21-31.

[4] Abdo, A. I., & Kopecki, Z. (2024). Comparing Redox and Intracellular Signalling Responses to Cold Plasma in Wound Healing and Cancer. *Current Issues in Molecular Biology*, 46(5), 4885-4923.

[5] Ma, R., et al. (2015). Nitrite as a signaling molecule in plants. *Plant Science*, 241, 193-201.

[6] Xu, Y., Tian, Y., Ma, R., Liu, Q., & Zhang, J. (2016). Effect of plasma activated water on the postharvest quality of button mushrooms, *Agaricus bisporus*. *Food Chemistry*, 197, 436-444.

[7] Zhao, Z., Wang, X., & Ma, T. (2021). Properties of plasma-activated water with different activation time and its effects on the quality of button mushrooms (*Agaricus bisporus*). *LWT*, 156, 111633.

[8] 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.

[9] Li, X., et al. (2019). Cold plasma treatment induces phenolic accumulation and enhances antioxidant activity in fresh-cut pitaya (*Hylocereus undatus*) fruit. *LWT*, 115, 108447.

[10] Zheng, Y., et al. (2022). The Effect of Dielectric Barrier Discharge Plasma Gas and Plasma-Activated Water on the Physicochemical Changes in Button Mushrooms (*Agaricus bisporus*). *Foods*, 11(19), 3015.