

Increasing the Shelf Life of Button Mushroom (*Agaricus bisporus*) Using Bio-renewable Nano-Composite Coatings Based on Nano-Chitosan and Nano-Hydroxyapatite

Z. Ziaei Ghahnavieh¹, M. Raji^{1*}, A. Ehteshamnia¹, S. S. Sohrabi²

1- Department of Horticulture Sciences Engineering, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran

2- Department of plant Production and Genetic Engineering, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran

(* - Corresponding author's Email: raji.m@lu.ac.ir)

Received: 31 August 2025

Revised: 25 October 2025

Accepted: 18 November 2025

Available Online: 18 November 2025

How to cite this article:

Ziaei Ghahnavieh, Z., Raji, M., Ehteshamnia, A., & Sohrabi, S. S. (2026). Increasing the shelf life of button mushroom (*Agaricus bisporus*) using Biorenewable Nano-composite coatings based on Nano-chitosan and Nano-hydroxyapatite. *Journal of Horticultural Science*, 40(3), 481-499. (In Persian). <https://doi.org/10.22067/jhs.2025.94580.1448>

Introduction

Today, the use of nano-composite and natural coatings for the production of healthy food products, preserving the environment and natural resources has become one of the most important challenges in agriculture in the world. In this regard, achieving an increase in the postharvest shelf life of food products by using healthy coatings is one of the methods that can be used to increase the post-harvest shelf life of food products. However, sometimes natural coatings cause changes in the taste of food products. Due to the high perishability of edible button mushrooms (*Agaricus bisporus*), their preservation is of particular importance. The use of natural coatings as a relatively new and simple technology is very effective in preventing undesirable changes in the quality of various products. Using natural coatings, the shelf life of products can be increased by minimizing changes in their color and textural characteristics. Natural and edible coatings are divided into protein, polysaccharide, lipid coatings, or a combination of them and can increase the shelf life of food products by delaying water loss, preserving aromatic compounds, reducing respiration, and delaying structural changes in the fruit. Therefore, the present study was aimed to evaluate the effect of a bio-composite coating based on nano-chitosan and nano-hydroxyapatite on the postharvest shelf life and quality attributes of button mushrooms.

Materials and Methods

Button mushrooms harvested from the second flush were transported to the laboratory as soon as possible, then washed with distilled water, their stems were shortened, and they were prepared for immersion in the studied treatments. The mushrooms that were prepared for coating were divided into 9 groups. One uncoated sample and 8 samples containing coatings with different percentages of nano-chitosan and nano-hydroxyapatite were prepared and coded. The mushrooms were immersed in each of the coating solutions for five minutes according to the desired treatment. The mushrooms were removed from the solutions and placed on a mesh basket (at laboratory temperature) for 15 to 30 minutes to allow excess coating material to drain. The mushrooms were then individually weighed and transferred six in triplicate into disposable plastic containers with perforated lids. They were then transferred to a refrigerator at 4 degrees Celsius. The control sample was immersed in distilled water for 5 minutes. For this purpose, the effect of these coatings was evaluated in a factorial experiment in a completely randomized design with three replications to prevent undesirable changes on the postharvest quality of edible button mushrooms at a temperature of 4 degrees Celsius. The experimental



Authors retain the copyright. This is an open access article distributed under [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

<https://doi.org/10.22067/jhs.2025.94580.1448>

treatments included coating edible button mushrooms with different concentrations of nano-chitosan (0, 1, and 2 percent) and nano-hydroxyapatite (0, 40, 80 mg) for 28 days. After coating, titratable acidity, malondialdehyde, soluble solids, and enzyme measurements such as catalase, peroxidase, ascorbate peroxidase, and polyphenol oxidase enzymes of the mushrooms were recorded and analyzed on days 0, 7, 14, 21, and 28 of storage. Means were compared using Duncan's multiple range test at a 5% probability level. SAS software was used for statistical analysis.

Results and Discussion

Based on the results, the highest titratable acidity, catalase enzyme and ascorbate peroxidase enzyme were obtained in the nano-chitosan coating treatment containing 40 mg of nano-hydroxyapatite compared to the control treatment and the highest malondialdehyde, soluble solids and polyphenol oxidase enzyme were obtained in the control treatment without coating during the storage days. The lowest malondialdehyde, soluble solids and polyphenol oxidase enzyme were also obtained in the nano-chitosan coating treatment containing 40 mg of nano-hydroxyapatite compared to the control treatment during the storage days. Finally, coating with 1% nano-chitosan containing 40 mg of nano-hydroxyapatite can increase the shelf life of button mushrooms up to 14 days after harvest.

Conclusion

Due to the high perishability of button mushroom, its maintenance is very important. One of the methods of preserving button mushrooms is the application of natural coatings. The purpose of this study is to evaluate the effect of natural coating based on nano-chitosan and nano-hydroxyapatite. For this purpose, the coating of nano-chitosan (zero, 1%, 2%), nano-hydroxyapatite (zero, 40, 80 mg), and the combination of nano-chitosan with nano-hydroxyapatite in the mentioned concentrations were used. Finally, according to the findings of this study, it can be stated that coating with 1% nano-chitosan containing 40 mg of nano-hydroxyapatite can increase the shelf life of button mushroom up to 14 days after harvesting, which remained marketable for this period. Therefore, using this coating is recommended to extend the commercial shelf life of button mushrooms.

Acknowledgement

The implementation of this research was registered in the Golestan system of Lorestan University website under number: 37182349, date: March 15, 2024, and was carried out with financial support from Lorestan University, Khorramabad, Iran. We hereby acknowledge their support.

Keywords: Different days of storage, Food safety, Nano-compounds, Natural coating

افزایش ماندگاری قارچ دکمه‌ای (*Agaricus bisporus*) با استفاده از پوشش‌های نانوکامپوزیتی زیست‌تجدیدپذیر مبتنی بر نانوکیتوزان و نانوهیدروکسی آپاتیت

زهرا ضیائی قهنویه^۱ - محمد رضا راجی^{۱*} - عبدالله احتشام نیا^۱ - سید سجاد سهرابی^۲

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۶/۰۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۸/۲۷

چکیده

امروزه استفاده از پوشش‌های طبیعی برای تولید محصولات غذایی سالم و حفظ محیط‌زیست، یکی از مهم‌ترین چالش‌های کشاورزی در جهان است. از این رو پژوهش حاضر با هدف جایگزینی پوشش‌های نانوکامپوزیتی زیست‌تجدیدپذیر مبتنی بر نانوکیتوزان و نانوهیدروکسی آپاتیت بر افزایش زمان ماندگاری پس از برداشت قارچ دکمه‌ای (*Agaricus bisporus*) انجام شد. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در دمای چهار درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. تیمارهای آزمایش شامل پوشش‌دهی قارچ دکمه‌ای با غلظت‌های مختلف نانوکیتوزان (صفر، یک و دو درصد) و نانوهیدروکسی آپاتیت (صفر، ۴۰، ۸۰ میلی گرم) به مدت ۲۸ روز بود. بعد از پوشش‌دهی، صفات اسیدیته قابل تیتراسیون، مالون دی‌آلدئید، مواد جامد محلول و اندازه‌گیری‌های آنزیمی مانند آنزیم کاتالاز، آنزیم پراکسیداز، آنزیم آسکوربات پراکسیداز و آنزیم پلی‌فنل اکسیداز قارچ‌ها در روزهای صفر، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ نگهداری یادداشت‌برداری و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. براساس نتایج حاصل از این پژوهش، بیش‌ترین میزان اسیدیته قابل تیتراسیون، آنزیم کاتالاز و آنزیم آسکوربات پراکسیداز در تیمار پوشش نانوکیتوزان یک درصد حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت ۴۰ میلی گرم طی روزهای نگهداری حاصل شد که نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری داشت. همچنین بیش‌ترین میزان مالون دی‌آلدئید، مواد جامد محلول و آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در شاهد بدون پوشش در طی روزهای نگهداری به دست آمد. کم‌ترین مقدار مالون دی‌آلدئید، مواد جامد محلول و آنزیم پلی‌فنل اکسیداز نیز در تیمار پوشش نانوکیتوزان یک درصد حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت ۴۰ میلی گرم در طی روزهای نگهداری حاصل شد که نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری داشت. در نهایت با توجه به یافته‌های این مطالعه می‌توان چنین اظهار نمود که پوشش‌دهی نانوکیتوزان یک درصد حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت ۴۰ میلی گرم می‌تواند ماندگاری پس از برداشت قارچ دکمه‌ای را تا ۲۸ روز افزایش دهد که تا ۱۴ روز قابلیت بازاریابی دارد. بنابراین استفاده از این پوشش برای افزایش عمر انبارمانی قارچ دکمه‌ای توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: پوشش طبیعی، ترکیبات نانو، روزهای مختلف نگهداری، سلامت غذایی

مقدمه

al., 2016). با این حال، این محصول پس از برداشت به سرعت با افت کیفیت مواجه می‌شود که این موضوع چالشی جدی در نگهداری و عرضه آن محسوب می‌گردد. قارچ دکمه‌ای پس از برداشت به دلیل قهوه‌ای شدن آنزیمی، از دست دادن رطوبت و آلودگی میکروبی در عرض سه تا پنج روز ارزش تجاری خود را از دست می‌دهد (Singh et al., 2021). در سال‌های اخیر، روش‌های مختلف نگهداری برای *A. bisporus* ایجاد شده است که دارای معایبی مانند سمیت بالقوه، هزینه بالا و ایجاد تغییرات نامطلوب در رنگ، بافت و طعم قارچ هستند (Liu et al., 2019). پوشش‌دهی سالم می‌تواند در جلوگیری از این مشکلات و افزایش ماندگاری محصول مؤثر باشد (Moradian et al., 2017).

قارچ دکمه‌ای سفید با نام علمی *Agaricus bisporus* یکی از معروف‌ترین قارچ‌های خوراکی دنیا می‌باشد که برای قرن‌های متمادی قسمتی از رژیم غذایی بشر بوده است (Usman et al., 2021). ارزش بالای غذایی، دارویی و اقتصادی قارچ دکمه‌ای از جمله عوامل اصلی افزایش تولید جهانی آن بوده است (Khazarai et al., 2021).

۱- گروه مهندسی علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران

۲- گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران

(*) نویسنده مسئول: (Email: raji.m@lu.ac.ir)

<https://doi.org/10.22067/jhs.2025.94580.1448>

امروزه استفاده از پوشش‌های طبیعی به‌عنوان یک فناوری به نسبت جدید و ساده در جلوگیری از تغییرات نامطلوب کیفی محصولات مختلف بسیار مؤثر می‌باشد (Qian et al., 2021). با استفاده از پوشش‌های طبیعی می‌توان عمر مفید محصولات را با به حداقل رساندن تغییر در رنگ و ویژگی‌های بافتی آن‌ها افزایش داد (Nakilcioglu-taş & Ötles, 2020). پوشش‌های طبیعی و خوراکی به پوشش‌های پروتئینی، پلی‌ساکاریدی، لیپیدی و یا ترکیبی از آن‌ها تقسیم‌بندی می‌شوند و می‌توانند با به تأخیر انداختن کاهش ازدست‌دهی آب، حفظ ترکیبات معطر، کاهش تنفس و تأخیر در تغییرات ساختاری میوه موجب افزایش نگهداری محصولات غذایی شوند (Karimirad et al., 2020).

فناوری نانو یکی از مهم‌ترین اولویت‌های تحقیقاتی طی دهه اول قرن بیست و یکم محسوب می‌شود (Rezaei et al., 2015). مزیت اصلی فناوری نانو، بهره‌گیری از مواد در مقیاس نانومتری است. اهمیت این مقیاس تنها به کوچک بودن اندازه محدود نمی‌شود، بلکه به این دلیل است که با کاهش ابعاد مواد، خصوصیات ذاتی آن‌ها مانند رنگ و استحکام، دستخوش تغییرات منحصر به فردی می‌شود (Rezaei et al., 2015).

کیتوزان یک پلی‌ساکارید کاتیونی است که از استیل‌زدایی کیتین که جزء اصلی اسکلت بیرونی سخت‌پوستان و دومین پلی‌ساکارید فراوان در طبیعت است، به دست می‌آید (Elsabee & Abdou, 2013). نانو کیتوزان به دلیل زیست‌تخریب‌پذیری، زیست‌سازگاری و غیرسمی بودن به‌عنوان یک جزء ایده‌آل برای پوشش‌های طبیعی در نظر گرفته می‌شود. محصور کردن ترکیبات فعال زیستی در اندازه نانومتریک نشان‌دهنده یک تکنیک مزیت برای افزایش فعالیت بیولوژیکی آن‌ها است (Karimirad et al., 2020). نانوذرات کیتوزان به‌طور کلی دارای خواص مکانیکی خوب و نفوذپذیری انتخابی در برابر گازها است. علاوه بر این، ادغام ترکیبات ضد میکروبی، ضد باکتری و یا آنتی‌اکسیدانی در پوشش نانوذرات کیتوزان می‌تواند خواص فیزیکی، مکانیکی و بیولوژیکی پوشش را بیش‌تر بهبود بخشد (Liu et al., 2019).

با توجه به حجم بالای تولید قارچ دکمه‌ای در کشور، استفاده از پوشش‌های تهیه‌شده از ضایعات زیستی، یک راهکار دومنتوره است. این روش هم می‌تواند به کاهش دورریز محصول کمک کند و هم با افزایش ماندگاری، بستر مناسبی را برای صادرات آن به مناطق دوردست فراهم آورد (Khazarai et al., 2016).

هیدروکسی آپاتیت با فرمول شیمیایی $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ پایدارترین و زیست‌سازگارترین شکل فسفات کلسیم است که ماده معدنی اصلی استخوان انسان محسوب می‌شود (Sharifianjazi et al., 2021).

(al., 2021). در مقایسه با سایر فسفات‌های کلسیم، هیدروکسی آپاتیت یک ترکیب پایدارتر در شرایط فیزیولوژیکی مانند ترکیب مایعات بدن، دما و pH است (Victor Abera et al., 2022). با توسعه فناوری تهیه نانومواد، امکان تولید نانوهیدروکسی آپاتیت با ریخت‌شناسی‌های گوناگون فراهم شده است. تحقیقات نشان می‌دهد که نانوذرات هیدروکسی آپاتیت مزایای بیش‌تری نسبت به هیدروکسی آپاتیت سنتی در زمینه دارورسانی دارد (Liu et al., 2024). نانوذرات هیدروکسی آپاتیت برای حفظ ساختار خود باید پایداری مکانیکی خوبی داشته باشد (Victor Abera et al., 2022). هیدروکسی آپاتیت به‌دست‌آمده از منابع طبیعی یا ضایعات زیستی (مانند صدف، استخوان گاو، ماهی و شتر) در مقایسه با نمونه‌های مصنوعی، فعالیت متابولیکی و زیست‌فعالیت بالاتری از خود نشان می‌دهد. مزیت بیش‌تر هیدروکسی آپاتیت مشتق‌شده طبیعی، وجود گروه‌های کربنات و سیترات و محتوای کم پتاسیم، سدیم، منیزیم و استرانسیم در ترکیب شیمیایی آن است. عامل مهم دیگری که باید در نظر گرفته شود، نسبت کلسیم به فسفر است. در آپاتیت مصنوعی، این نسبت معمولاً کمتر از نانوذرات هیدروکسی آپاتیت طبیعی است. با در نظر گرفتن همه این عوامل، نانوذرات هیدروکسی آپاتیت طبیعی منتخب بهتری برای کاربردهای پزشکی است (Sharifianjazi et al., 2021). نانوذرات هیدروکسی آپاتیت به‌عنوان ماده‌ای برای اصلاح در محل در نظر گرفته می‌شوند (Landa et al., 2024). نانوهیدروکسی آپاتیت همچنین به‌عنوان منبع فسفر معدنی برای گیاهان عمل می‌کند (Landa et al., 2024). براساس گزارش‌ها، نانوهیدروکسی آپاتیت در مقایسه با کودهای فسفوری معمولی، کارایی بالاتری داشته و اثرات زیست‌محیطی کمتری بر جای می‌گذارد (Landa et al., 2024).

در مطالعه‌ای، تأثیر پوشش‌دهی با کیتوزان و اسانس گیاه چویل (*Ferulago angulate*) بر ماندگاری قارچ دکمه‌ای بررسی شد و نتایج نشان داد که ساختار کیتوزان و خاصیت ضد میکروبی و ترکیبات فنلی موجود در اسانس، علت اصلی حفظ کیفیت نمونه‌های قارچ در طی نگهداری بود (Ganjeh et al., 2020). در پژوهشی، اثر روغن زردچوبه (*Curcuma longa*) و نانوذرات کیتوزان حاوی روغن زردچوبه بر افزایش ماندگاری قارچ دکمه‌ای سفید در دمای چهار درجه سانتی‌گراد مورد ارزیابی قرار گرفت. به‌طور کلی، تیمار نانوذرات کیتوزان حاوی روغن زردچوبه، پذیرش کلی عمر میوه‌ها را تا روز ۱۵ حفظ کرد، اما قارچ‌های دکمه‌ای شاهد قبل از روز دهم پذیرش خود را از دست دادند (Valizadeh et al., 2021). در مطالعه‌ای دیگر به بررسی اثر نانوذرات کیتوزان حاوی اسانس زیره سبز (*Cuminum cyminum*) بر ماندگاری قارچ دکمه‌ای طی ۲۰ روز نگهداری در

سردخانه پرداختند و نتیجه گرفتند که در مقایسه با نمونه‌های شاهد که پس از ۱۰ روز نگهداری کیفیت خود را از دست دادند، به کیفیت کلی قابل قبول تیمار نانوذرات کیتوزان حاوی اسانس زیره سبز اشاره شد (Karimirad et al., 2019).

با توجه به فسادپذیری بالای قارچ دکمه‌ای و ضایعات اقتصادی ناشی از آن، استفاده از پوشش‌های خوراکی طبیعی به‌عنوان یک راهکار ایمن و پایدار، اهمیت روزافزونی یافته است. در این میان، پوشش‌های نانوکامپوزیتی به‌دلیل پتانسیل ایجاد اثرات هم‌افزایی، افق جدیدی را در افزایش ماندگاری محصولات کشاورزی گشوده‌اند. نانوکیتوزان به‌دلیل خواص ضد میکروبی و توانایی تشکیل فیلم شناخته شده است، در حالی که نانوهیدروکسی آپاتیت به‌عنوان یک ماده زیست‌سازگار می‌تواند خواص مکانیکی و حفاظتی پوشش را تقویت کند. با این حال، تاکنون تحقیقی جامع در مورد اثر ترکیبی این دو نانوماده بر حفظ کیفیت قارچ دکمه‌ای انجام نشده است. از این رو، پژوهش حاضر با هدف ارزیابی یک پوشش نانوکامپوزیتی نوین مبتنی بر نانوکیتوزان و نانوهیدروکسی آپاتیت طراحی شد تا تأثیر آن بر شاخص‌های کلیدی زوال محصول، یعنی فعالیت‌های آنزیمی (مانند پلی فنل اکسیداز) و پایداری غشای سلولی، به‌طور دقیق مورد بررسی قرار گیرد. نتایج این تحقیق می‌تواند به ارائه راهکاری عملی برای کاهش ضایعات پس از برداشت و افزایش ارزش افزوده این محصول مهم کمک نماید.

مواد و روش‌ها

ابتدا قارچ دکمه‌ای در مهرماه ۱۴۰۲ از کارگاه پرورش قارچ واقع در شهرک صنعتی استان لرستان تهیه شد. کیتوزان (با مشخصات وزن مولکولی: ۳۱۰-۱۹۰ کیلو دالتون براساس ویسکوزیته؛ ویسکوزیته: ۲۰۰-۸۰۰ cP؛ درجه استیلاسیون: ۷۵-۸۵ درصد) و نانوهیدروکسی آپاتیت (با مشخصات وزن مولکولی: ۱۰۴/۶ گرم بر مول؛ اندازه ذرات: ۳۰-۱۰ نانومتر؛ چگالی ۳/۰۷ گرم بر سانتی‌مترمکعب) از شرکت تمارد کالا تهران تهیه شد. سپس مراحل تیمار و پوشش‌دهی به‌شرح ذیل انجام شد.

تهیه محلول‌های پوشش‌دهی نانوکیتوزان

برای تهیه تیمار محلول پوشش‌دهی نانوکیتوزان، ابتدا باید محلول پوشش‌دهی کیتوزان تهیه شود. بنابراین برای تهیه محلول پوشش‌دهی کیتوزان یک درصد، ابتدا یک گرم پودر کیتوزان به ۹۹ میلی‌لیتر آب مقطر و یک میلی‌لیتر اسید استیک افزوده شد و هم‌زدن بدون حرارت‌دهی با دستگاه همزن مغناطیسی با سرعت متوسط حدود ۲۰۰ الی ۴۰۰ دور در دقیقه و به مدت دو ساعت انجام گردید و برای

تهیه کیتوزان دو درصد هم به همین ترتیب انجام گرفت، با این تفاوت که دو گرم پودر کیتوزان اضافه شد. تهیه محلول پوشش‌دهی نانوکیتوزان یک درصد و دو درصد با افزودن ۰/۵ گرم پودر سدیم تری‌پلی‌فسفین در ۱۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل گردید و سپس در بورت ریخته شد و قطره قطره به محلول کیتوزان به‌ترتیب یک درصد و دو درصد اضافه شد و به‌طور مکرر سونیک با دستگاه سونیکاتور دارای توان بین ۱۰۰۰-۱۰۰ وات، فرکانس ۳۰-۲۰ کیلوهرتز و زمان قابل تنظیم از چند ثانیه تا چند دقیقه و هم‌زدن بدون حرارت‌دهی با دستگاه همزن مغناطیسی با سرعت متوسط حدود ۲۰۰ الی ۴۰۰ دور در دقیقه و به مدت دو ساعت انجام گردید (Karimirad et al., 2020). در نهایت pH محلول به ۵/۵ رسانده شد و سپس فقط محلول پوشش‌دهی نانوکیتوزان برای اعمال تیمار استفاده گردید. از دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی نشر میدان (FE-SEM, Mara3 Tescan, Czech Republic) برای بررسی اندازه نانو و خصوصیات ریخت‌شناختی نانوکیتوزان استفاده شد.

تهیه محلول پوشش‌دهی نانوهیدروکسی آپاتیت

نانوهیدروکسی آپاتیت در مقدار ۴۰ میلی‌گرم وزن گردید و سپس ۴۰ میلی‌گرم نانوهیدروکسی آپاتیت به ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر افزوده شد و برای حل شدن، استیرر (با دستگاه همزن مغناطیسی با سرعت متوسط حدود ۲۰۰ الی ۴۰۰ دور در دقیقه و به مدت دو ساعت) صورت گرفت. در نهایت غوطه‌وری قارچ‌ها در محلول به‌دست‌آمده و سه لیتر آب مقطر و اضافه کردن دو قطره (۰/۱ میلی‌لیتر) توین انجام شد. تهیه این محلول پوشش‌دهی برای غلظت نانوهیدروکسی آپاتیت ۸۰ میلی‌گرم نیز مانند غلظت ۴۰ میلی‌گرم انجام شد.

تهیه محلول‌های مخلوط نانوکیتوزان و نانوهیدروکسی آپاتیت

محلول پوشش‌دهی نانوکیتوزان یک درصد را با اضافه کردن پنج میلی‌لیتر توین ۸۰ درصد و ۰/۵ میلی‌لیتر گلیسرول ۸۵ درصد بار دیگر تهیه کرده و سپس ۱۰۰ میلی‌لیتر از آن را برداشته و با محلول ۴۰ میلی‌گرم پودر نانوهیدروکسی آپاتیت که ابتدا در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب حل شده بود، مخلوط کردیم و در نهایت درون سه لیتر آب مقطر حل کرده و دو قطره (۰/۱ میلی‌لیتر) توین به محلول اضافه شد. سپس برای غلظت نانوکیتوزان یک درصد حاوی ۸۰ میلی‌گرم نانوهیدروکسی آپاتیت نیز به همین ترتیب عمل کردیم. تهیه محلول میکس نانوکیتوزان دو درصد حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت به همین ترتیب صورت گرفت.

آماده‌سازی نمونه و پوشش‌دهی قارچ‌ها

قارچ‌های دکمه‌ای برداشت‌شده از برداشت دوم (با قطر کلاهک ۴-۵ سانتی‌متر، عدم باز شدن چتر زیر کلاهک، رنگ کلاهک سفید و فاقد لکه) در کم‌ترین زمان به آزمایشگاه انتقال داده شدند. سپس با آب مقطر شست‌وشو و ساقه آن‌ها کوتاه شد و برای غوطه‌وری در تیمارهای مورد مطالعه آماده شدند. قارچ‌هایی که برای پوشش‌دهی آماده شدند به نه گروه تقسیم شدند. یک نمونه بدون پوشش و هشت نمونه حاوی پوشش با درصد‌های متفاوت نانوکیتوزان و نانوهیدروکسی آپاتیت تهیه و کدگذاری شدند. قارچ‌ها به روش غوطه‌وری طبق تیمار مورد نظر، داخل هر کدام از محلول‌های پوشش‌دهی به مدت پنج دقیقه قرار گرفتند. قارچ‌ها از محلول‌ها خارج شدند و به مدت ۱۵ دقیقه روی سبد مشبک (در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفتند تا مقدار اضافه ماده پوشش‌دهنده چکه کند. سپس قارچ‌ها به‌صورت انفرادی توزین شده و تعداد شش عدد در سه تکرار درون ظروف پلاستیکی بسته‌بندی یک‌بارمصرف دارای درب سوراخ‌دار منتقل شدند. سپس به یخچال با دمای چهار درجه سانتی‌گراد منتقل گردید. نمونه شاهد به مدت پنج دقیقه داخل آب مقطر غوطه‌ور شد.

عصاره‌گیری برای آنزیم‌ها

برای عصاره‌گیری از بافر استخراج (شامل بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار و EDTA یک میلی‌مولار، با pH برابر هفت) استفاده شد. به هر ۰/۲ گرم از نمونه، دو میلی‌لیتر از این بافر اضافه گردید و سپس با دور ۱۴۰۰۰ به مدت ۲۰ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شده و مایع رویی برای شناسایی فعالیت آنزیمی جدا گردید.

فعالیت آنزیم کاتالاز

فعالیت آنزیم کاتالاز به روش گالیگو و همکاران (Gallego et al., 1996) اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم کاتالاز با اندازه‌گیری کاهش جذب در ۲۴۰ نانومتر در محیط واکنش حاوی ۴۰۰ میکرولیتر بافر فسفات (۵۰ میلی‌مولار) و (pH= ۷/۲) و ۳۰۰ میکرولیتر H_2O_2 و ۵۰ میکرولیتر از عصاره نمونه مورد نظر به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر به مدت دو دقیقه تعیین شد. ثابت واکنش E برابر با ۳۹/۴ لیتر بر مول در سانتی‌متر می‌باشد و محتوای کاتالاز براساس واحد آنزیمی میکرومول بر دقیقه بر میلی‌گرم گیاه تر طبق معادله ۱ محاسبه شد.

$$(1) \quad \left(\frac{A_2 - A_1}{t_2 - t_1} \right) \times \frac{Vt}{V_s \times E}$$

که در آن، Vt: حجم نهایی محلول و Vs: حجم عصاره آنزیمی می‌باشد.

فعالیت آنزیم پراکسیداز

فعالیت آنزیم پراکسیداز براساس روش پلیوا و همکاران (Plewa et al., 1991) انجام شد. فعالیت آنزیم پراکسیداز با اندازه‌گیری افزایش جذب در ۴۷۰ نانومتر در محیط واکنش حاوی ۱۲۰۰ میکرولیتر بافر فسفات (۵۰ میلی‌مولار و pH=۷/۲)، ۵۰ میکرولیتر H_2O_2 ، ۵۰ میکرولیتر گایاکول و ۵۰ میکرولیتر از عصاره نمونه مورد نظر به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر به مدت دو دقیقه تعیین شد. ثابت واکنش E برابر با ۲۶/۶ لیتر بر مول در سانتی‌متر می‌باشد و محتوای پراکسیداز براساس واحد آنزیمی میکرومول بر دقیقه بر میلی‌گرم گیاه تر طبق معادله ۱ محاسبه گردید.

آنزیم آسکوربات پراکسیداز

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز براساس روش اسادا (Asada, 1992) انجام شد. فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز با اندازه‌گیری کاهش جذب در ۲۹۰ نانومتر در محیط واکنش حاوی ۱۵۰۰ میکرولیتر بافر استخراج بدون آسکوربات، ۳۰۰ میکرولیتر بافر محتوای آسکوربات سه میکرولیتر H_2O_2 و ۲۰ میکرولیتر از عصاره نمونه مورد نظر به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر به مدت دو دقیقه تعیین شد. ثابت واکنش E برابر با ۲/۸ لیتر بر مول در سانتی‌متر می‌باشد و محتوای آسکوربات پراکسیداز براساس واحد آنزیمی میکرومول بر دقیقه بر میلی‌گرم گیاه تر طبق معادله ۱ محاسبه گردید.

فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز

فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز براساس روش کار و میشر (Kar & Mishra, 1976) انجام شد. از پیروگالل به‌عنوان پیش‌ماده آنزیم استفاده گردید. مخلوط واکنش شامل یک میلی‌لیتر بافر فسفات (pH= ۷) ۵۰ میلی‌مولار و ۲۰۰ میکرولیتر پیروگالل ۰/۰۲ مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی است. فعالیت آنزیم توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۲۰ نانومتر با اندازه‌گیری کاهش جذب پس از دو دقیقه با اضافه کردن پیروگالل به مخلوط واکنش براساس وزن به‌عنوان واحد میکرومول بر دقیقه بر میلی‌گرم گیاه تر تعیین شد (معادله ۲).

$$(2) \quad PPO \text{ activity} = \frac{A_{420} \times Vt \times df}{E \times L \times T \times V_s}$$

که در آن، A420: اختلاف مقدار جذب محلول، Vt: حجم محلول واکنش، df: عامل رقیق‌کننده، T: طول زمان واکنش، Vs:

حجم نمونه، E : ضریب خاموشی $3/6$ لیتر بر مول در سانتی‌متر، L : مسافت طی شده توسط نور از محل واکنش می‌باشد.

مالون دی‌آلدئید

اندازه‌گیری محتوای مالون دی‌آلدئید براساس روش استیوارت و بیولی (Stewart & Bewley, 1980) انجام گرفت. برای این منظور، $0/5$ گرم بافت تازه قارچ با اسید تری کلرو استیک $0/1$ درصد کوبیده شد و به مدت 15 دقیقه با سرعت 12000 دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. یک میلی‌لیتر از محلول رویی برداشته و به آن یک میلی‌لیتر محلول $0/5$ درصد وزنی به حجم اسید تیوباریوتیک دارای اسید تری کلرو استیک 20 درصد اضافه شد. نمونه‌ها در حمام آب گرم در دمای 95 درجه سانتی‌گراد به مدت 30 دقیقه قرار گرفتند. پس از سرد شدن، جذب آن‌ها در طول موج‌های 450 و 532 و 600 نانومتر قرائت شد. محتوای مالون دی‌آلدئید در قارچ محاسبه و برحسب میکرومول در کیلوگرم وزن تازه بیان شد (معادله ۳).

$$MDA = 6.45(OD_{532} - OD_{600}) - 0.56(OD_{450}) \quad (3)$$

مقدار مواد جامد محلول (TSS)

مواد جامد محلول توسط دستگاه رفرکتومتر (ATAGO master5EM، ساخت کشور ژاپن) اندازه‌گیری شد. روش کار بدین صورت بود که عصاره قارچ‌های هر تیمار (با رنده کردن بر روی پارچه‌ای تمیز و سفید و فشردن پارچه برای خروج عصاره) تهیه گردید و دو سی‌سی عصاره روی حسگر دستگاه قرار گرفت و عدد مذکور یادداشت شد. پیش از شروع به کار، رفرکتومتر با آب مقطر کالیبره گردید. پس از هر بار قرائت به دقت رفرکتومتر تمیز شد تا از خطا جلوگیری گردد. میزان مواد جامد محلول برحسب درصد (درجه بریکس) بیان گردید (Jiang et al., 2012).

اسیدیته قابل تیتراسیون (TA)

برای اندازه‌گیری اسیدیته قابل تیتراسیون از روش تیتراسیون استفاده شد. ابتدا عصاره قارچ‌ها (با رنده کردن بر روی پارچه‌ای تمیز و سفید و فشردن پارچه برای خروج عصاره) گرفته شد. محتوای مواد واکنش حاوی 10 میلی‌لیتر از عصاره، 20 میلی‌لیتر آب مقطر و دو قطره ($0/1$ میلی‌لیتر) فنل فتالین بود. سپس با سود $0/1$ نرمال تیتر و اسیدیته عصاره به‌وسیله دستگاه pH متر قرائت شد. اسیدیته محلول حاصل با استفاده از سود $0/1$ نرمال تا رسیدن به اسیدیته $8/2$ تیتر گردید. اسیدیته قابل تیتراسیون طبق معادله ۴ محاسبه شد و نتایج برحسب گرم اسید سیتریک در 100 گرم بیان شد (Hamzeh-
kalkenari et al., 2020).

(۴)

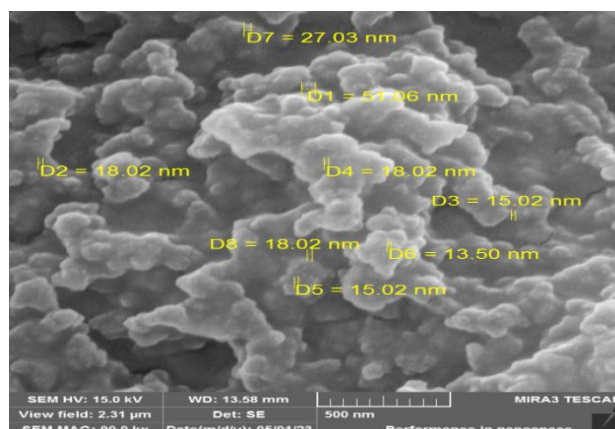
$$TA = \frac{(1000 \times \text{حجم سود مصرفی} \times \text{اکی والان اسید غالب} \times \text{نرمالیه سود مصرفی})}{(\text{حجم نمونه تیتر شده})}$$

طرح آماری و تجزیه داده‌ها

آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. اندازه‌گیری داده‌ها در روزهای صفر، 7 ، 14 ، 21 و 28 انجام گرفت. مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد. از نرم‌افزار SAS جهت تجزیه و تحلیل آماری استفاده گردید.

نتایج و بحث

ریخت‌شناسی نانوکیتوزان توسط یک میکروسکوپ الکترونی روبشی نشر میدان (FESEM) آنالیز شد. تصاویر FESEM از نانوکیتوزان یک شکل کروی و توزیع منظم را نشان دادند. اندازه متوسط نانوکیتوزان بین 13 و 51 نانومتر توزیع شد (شکل ۱).



شکل ۱- تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری (FESEM) از نانوکیتوزان تهیه‌شده

Figure 1- FESEM micrograph of prepared nano-chitosan

جدول ۱، نتایج تجزیه واریانس اثر نانوکیتوزان و نانوهیدروکسی آپاتیت بر صفات آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز، پلی‌فنل اکسیداز، مالون دی‌آلدئید، مواد جامد محلول و اسیدیت قابل تیتراسیون را بر ماندگاری پس از برداشت قارچ دکمه‌ای نشان می‌دهد. براساس نتایج این جدول اثرات یگانه، دوگانه و اثر سه‌گانه تیمارها بر صفات ذکرشده بر عمر ماندگاری قارچ دکمه‌ای در سطح یک درصد معنی‌دار شد.

آنزیم کاتالاز (CAT)

همان‌طور که در نمودار **شکل ۲** نشان داده شده است، کاهش تدریجی آنزیم کاتالاز در قارچ‌های بدون پوشش و پوشش داده‌شده در طول نگهداری مشاهده شد. با این وجود، استفاده از پوشش‌های نانوهیدروکسی آپاتیت به‌تنهایی یا همراه با نانوکیتوزان منجر به افزایش سطوح آنزیم کاتالاز در مقایسه با گروه شاهد (بدون پوشش) شد. بیش‌ترین میزان آنزیم کاتالاز در تیمار نانوکیتوزان یک درصد حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت ۴۰ میلی‌گرم روز صفر نگهداری (به‌میزان ۰/۰۲۳۴) بود که تفاوت معنی‌داری با سایر پوشش‌ها به‌جز تیمار نانوکیتوزان یک درصد و نانوکیتوزان یک درصد حاوی

نانوهیدروکسی آپاتیت ۸۰ میلی‌گرم روز صفر نگهداری داشت. به‌طور خاص، در تمام روزهای نگهداری به‌جز روز صفر، گروه شاهد بدون پوشش کم‌ترین آنزیم کاتالاز را نشان داد و در روز ۲۸ نگهداری به‌میزان کمتر ۰/۰۰۲۴۳ شد که با کم‌ترین تیمار سایر روزهای نگهداری تفاوت معنی‌داری را نشان داد. در مقابل، نمونه تیمار شده با پوشش نانوکیتوزان یک درصد حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت ۴۰ میلی‌گرم بیش‌ترین آنزیم کاتالاز را نشان داد که تأثیر قابل توجهی از تیمار ترکیبی نانوکیتوزان با غلظت یک درصد و نانوهیدروکسی آپاتیت را برجسته می‌کند.

کاتالاز یک آنزیم آنتی‌اکسیدانی کلیدی در سیستم‌های حفاظتی گیاهان است. سلول‌های هوای گیاه در برابر تنش، گونه‌های فعال اکسیژن مثل H_2O_2 تولید می‌کنند. فعالیت کاتالاز در برابر تنش‌ها در گیاهان به‌صورت سیستم دفاعی افزایش می‌یابد (Meng et al., 2017). تغییرات فعالیت آنزیم کاتالاز، که بیانگر میزان تجزیه آب اکسیژنه (H_2O_2) به آب و اکسیژن است، نقش مهمی در محافظت در برابر تنش اکسیداتیو ایفا می‌کند و در نتیجه به حفظ هموستاز ردوکس سلولی کمک می‌کند (Hu et al., 2015).

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر کاربرد نانوکیتوزان و نانوهیدروکسی آپاتیت بر صفات بیوشیمیایی قارچ دکمه‌ای در دوره پس از برداشت
Table 1- ANOVA for the effects of chitosan nanoparticles and hydroxyapatite nanoparticles on biochemical traits of button mushrooms during the postharvest period

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	کاتالاز Catalase	پراکسیداز Peroxidase	آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase	پلی‌فنل اکسیداز Polyphenol oxidase
روز Day	4	0.00066**	0.0033**	6724906.12**	0.00027**
نانوکیتوزان Nanochitosan	2	0.00062**	0.0014**	20992698.41**	0.0012**
نانوهیدروکسی آپاتیت Nanohydroxyapatite	2	0.000037**	0.00022**	1878188.82**	0.00062**
روز × نانوکیتوزان Day × nanochitosan	8	0.000022**	0.000074**	523558.00**	0.00017**
روز × نانوهیدروکسی آپاتیت Day × nanohydroxyapatite	8	0.0000060**	0.000044**	174419.54**	0.00013**
نانوکیتوزان × نانوهیدروکسی آپاتیت Nanochitosan × nanohydroxyapatite	4	0.0000025**	0.0000016**	1113641.16**	0.00025**
روز × نانوکیتوزان × نانوهیدروکسی آپاتیت Day × nanochitosan × nanohydroxyapatite	16	0.00000044**	0.0000096**	70171.11**	0.000086**
خطا Error	90	0.00000008	0.00000007	1.04	0.00000006
ضریب تغییرات C.V (%)	-	1.85	0.72	0.025	1.01

*, **, و ns: به‌ترتیب در سطح احتمال یک و پنج درصد معنی‌دار هستند و معنی‌دار نیستند.

*, **, and ns: significant at the 1 and 5 percent of probability levels, respectively, and non-significant.

ادامه جدول ۱- تجزیه واریانس اثر کاربرد نانوکیتوزان و نانوهیدروکسی آپاتیت بر صفات بیوشیمیایی قارچ دکمه‌ای طی دوره پس از برداشت
Table 1 Continued- ANOVA for the effects of chitosan nanoparticles and hydroxyapatite nanoparticles on biochemical traits of button mushrooms during the postharvest period

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	مالون دی‌آلدئید Malondialdehyde	مواد جامد محلول Total suspended solids	اسیدیته قابل تیتراسیون Titratable acidity
روز Day	4	0.00047**	75.38**	0.091**
نانوکیتوزان Nanochitosan	2	0.00012**	7.53**	0.021**
نانوهیدروکسی آپاتیت Nanohydroxyapatite	2	0.000057**	32.87**	0.0047**
روز × نانوکیتوزان Day × nanochitosan	8	0.000012**	2.34**	0.0026**
روز × نانوهیدروکسی آپاتیت Day × nanohydroxyapatite	8	0.0000079**	4.27**	0.0017**
نانوکیتوزان × نانوهیدروکسی آپاتیت Nanochitosan × nanohydroxyapatite	4	0.000011**	1.14**	0.00049**
روز × نانوکیتوزان × نانوهیدروکسی آپاتیت Day × nanochitosan × Nanohydroxyapatite	16	0.0000011**	1.94**	0.0024**
خطا Error	90	0.00000007	0.12	0.000056
ضریب تغییرات C.V (%)	-	2.92	6.14	3.59

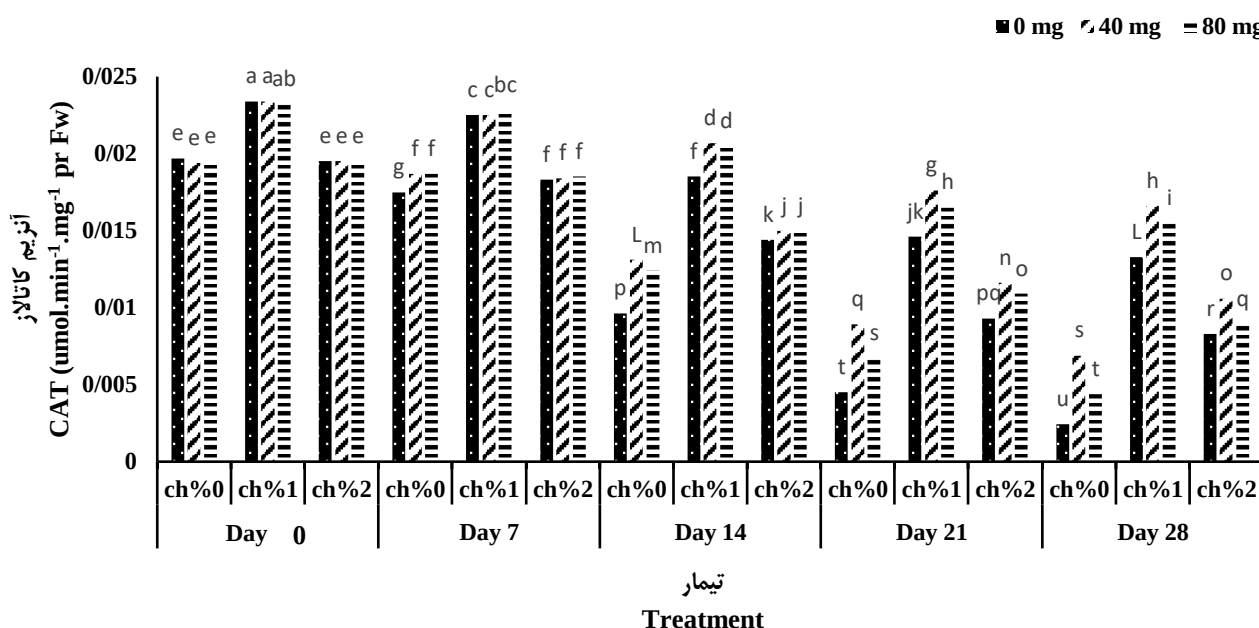
*, **, ns: به ترتیب در سطح احتمال یک و پنج درصد معنی‌دار هستند و معنی‌دار نیستند.

*, **, and ns: significant at the 1 and 5 percent of probability levels, respectively, and non-significant.

در لیتر فعالیت آنزیم کاتالاز همچنان روند رو به بالایی داشته است (Hamzeh-Kalkenari et al., 2020). در مطالعه‌ای که توسط لیو و همکاران (Liu et al., 2019) انجام شد، فعالیت کاتالاز قارچ‌های بسته‌بندی‌شده با لایه‌های پلی‌اتیلن (PE) و کیتوزان (CS) در شش روز اول نگهداری افزایش و پس از آن کاهش یافت. نتایج مشابهی توسط سایر محققان نیز مشاهده شد (Ding et al., 2016; Dokhanieh & Aghdam, 2016).

نتایج تحقیق حاضر نشان‌دهنده یک روند کاهشی کلی در فعالیت کاتالاز بود. این یافته با برخی مطالعات که در آن‌ها فعالیت کاتالاز در روزهای ابتدایی افزایش می‌یابد (Hamzeh-Kalkenari et al., 2020; Liu et al., 2019)، متفاوت است. این تفاوت ممکن است به دلیل نوع پوشش استفاده‌شده، شرایط نگهداری متفاوت یا فیزیولوژی خاص قارچ دکمه‌ای باشد. با این حال، یافته ما مبنی بر اینکه تیمار پوششی فعالیت آنزیم را نسبت به شاهد بالاتر نگه می‌دارد، با هدف کلی این پژوهش‌ها در راستای کاهش زوال محصول همخوانی دارد.

در آزمایشی توسط کیان و همکاران (Qian et al., 2021)، بر روی افزایش عمر انبارداری قارچ دکمه‌ای، فعالیت کاتالاز در قارچ‌های شاهد در طول نه روز اولیه افزایش یافت، پس از آن نسبت به بقیه نگهداری کاهش یافت، درحالی‌که فعالیت کاتالاز در نمونه‌های تیمار شده با ارگو تیونین در طول ۱۳ روز اولیه کاهش یافت و در آخرین دوره نگهداری کمی افزایش یافت. تیمار ارگو تیونین منجر به فعالیت کمتر کاتالاز در مقایسه با قارچ‌های شاهد در بیش‌تر طول دوره انبارداری شد. طی مطالعه‌ای روی افزایش عمر ماندگاری قارچ دکمه‌ای در بسته‌بندی‌های پلی‌اتیلنی و نانوکامپوزیت با پوشش اسانس خوشایزه (*Echinophora cinerea*) نشان داد که هرچند فعالیت کاتالاز در طول دوره نگهداری روند افزایشی داشته است، ولی افزایش فعالیت این آنزیم از روز پانزدهم شدت گرفته است و در بسته‌بندی پلی‌اتیلنی این آنزیم از روز سی‌ام کاهش فعالیت نشان داده است که می‌تواند ناشی از کاهش فعالیت این آنزیم در تجزیه H_2O_2 و به دلیل وقوع فرآیند پیری در نمونه‌های قارچ بسته‌بندی‌شده در فیلم‌های پلی‌اتیلنی باشد. درحالی‌که فعالیت آنزیم کاتالاز در هر دو نوع بسته‌بندی با غلظت ۵۰ میکرولیتر در لیتر اسانس خوشایزه از روز بیست و پنجم فعالیت ثابتی داشته است، ولی با غلظت ۱۰۰ میکرولیتر



شکل ۲- اثر سه گانه پوشش نانوکیتوزان × نانوهیدروکسی آپاتیت × زمان پس از برداشت بر میزان آنزیم کاتالاز نمونه های قارچ دکمه ای
Figure 2- Triple effect of chitosan nanoparticle coating (ch) × hydroxyapatite nanoparticle × postharvest time on catalase enzyme activity in button mushroom samples (DMRT, $p \leq 0.05$)

آنزیم پراکسیداز (POD)

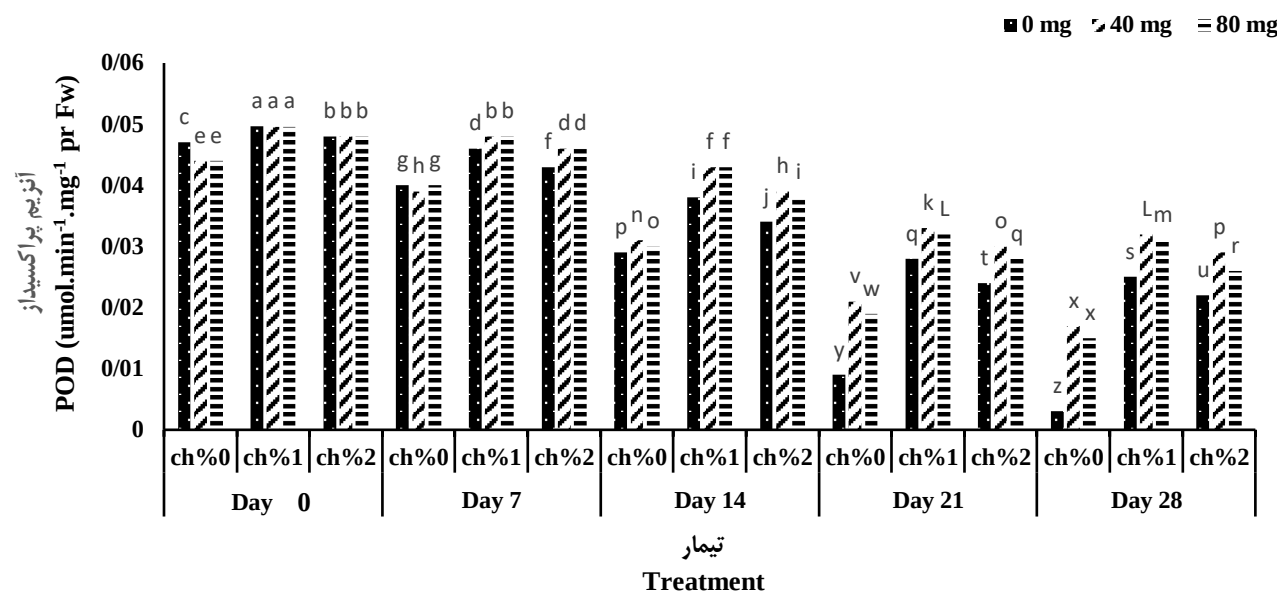
همان طور که در نمودار شکل ۳ نشان داده شده است، کاهش تدریجی آنزیم پراکسیداز در قارچ های بدون پوشش و پوشش داده شده در طول دوره نگهداری مشاهده گردید. با این وجود، استفاده از پوشش های نانوهیدروکسی آپاتیت به تنهایی یا همراه با نانوکیتوزان منجر به افزایش سطوح آنزیم پراکسیداز در مقایسه با گروه شاهد (بدون پوشش) شد. بیشترین میزان آنزیم پراکسیداز در تیمار نانوکیتوزان یک درصد حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت ۴۰ میلی گرم در طی روزهای نگهداری به دست آمد. به طور خاص، در تمام روزهای نگهداری به جز روز صفر و هفت، گروه شاهد بدون پوشش کمترین آنزیم پراکسیداز را نشان داد و در روز ۲۸ نگهداری نسبت به سایر روزها کمتر بود (به میزان ۰/۰۰۳) که با کمترین تیمار سایر روزهای نگهداری تفاوت معنی داری را نشان داد. در مقابل، نمونه تیمار شده با پوشش نانوکیتوزان یک درصد حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت ۴۰ میلی گرم بیشترین آنزیم پراکسیداز را نشان داد که تأثیر قابل توجه تیمار ترکیبی نانوکیتوزان با غلظت یک درصد و نانوهیدروکسی آپاتیت را برجسته می کند.

ویژگی های کیفی و پوسیدگی قارچ ممکن است تحت تأثیر تغییرات آنزیمی مختلف در ترکیبات شیمیایی قرار گیرد. همچنین آنزیم پراکسیداز می تواند بر بو و طعم تأثیر بگذارد و کیفیت غذایی و تغذیه ای قارچ را بدتر کند (Nasiri et al., 2019). فعالیت آنزیم های

آنتی اکسیدان نقش مهمی در حفظ تعادل اکسیژن فعال در بدنه قارچ دارد (Wang et al., 2021). در پژوهش حاضر، فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمارهای پوشش دهی قارچ دکمه ای با نانوکیتوزان و نانوهیدروکسی آپاتیت، نسبت به شاهد افزایش یافت. این نتیجه در نگاه نخست با برخی گزارش های پیشین که کاهش فعالیت این آنزیم را در اثر پوشش های خوراکی گزارش کرده اند، مغایرت دارد. با این حال، بررسی های اخیر نشان می دهد که افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی از جمله پراکسیداز می تواند نشانگر فعال شدن سامانه دفاعی محصولات تازه در برابر تنش های اکسیداتیو و مکانیکی ناشی از پوشش دهی باشد و ارتباط مستقیمی با حفظ کیفیت و افزایش عمر ماندگاری دارد. نانوکیتوزان و نانوهیدروکسی آپاتیت به عنوان پوشش های زیست سازگار دارای ویژگی آنتی میکروبی و القاکنده پاسخ های دفاعی شناخته شده اند. تماس سطحی قارچ با این نانوذرات می تواند موجب تحریک بیان ژن های کدکننده پراکسیداز و سایر آنزیم های آنتی اکسیدانی شود و از این طریق، ظرفیت قارچ برای تجزیه پراکسید هیدروژن و دیگر گونه های فعال اکسیژن (ROS) افزایش یابد. در نتیجه، فرآیندهای تخریبی مانند قهوه ای شدن آنزیمی و افت بافت به طور مؤثری به تعویق می افتد (Huang et al., 2021). مطالعه هانگ و همکاران (Huang et al., 2021) نشان داد که پوشش نانوکیتوزان در غلظت های بهینه، فعالیت پراکسیداز و کاتالاز را در قارچ دکمه ای به طور معنی داری افزایش داده و این امر با کاهش

تعدیل کرده و عمر انباری قارچ را به‌طور چشمگیری افزایش داده‌اند. بر این اساس، نتایج به‌دست‌آمده در این تحقیق نه‌تنها قابل توجیه است، بلکه نشان‌دهنده کارآمدی پوشش‌های به‌کاررفته در القای سازوکارهای دفاعی و حفظ کیفیت قارچ دکمه‌ای محسوب می‌شود.

فساد و حفظ ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی محصول همراه بوده است. همچنین ریویدران و همکاران (Ravindran et al., 2020)، گزارش کردند که تیمارهای پوشش‌دهی نانویی برپایه بیوپلیمر، با برانگیختن فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، تغییرات فیزیولوژیکی را



شکل ۳- اثر سه‌گانه پوشش نانوکیتوزان × نانوهیدروکسی آپاتیت × زمان پس از برداشت بر میزان آنزیم پراکسیداز در نمونه‌های قارچ دکمه‌ای
Figure 3- Triple effect of chitosan nanoparticle coating (ch) × hydroxyapatite nanoparticle × postharvest time on the level of peroxidase enzyme in button mushroom samples (DMRT, $p < 0.05$)

آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX)

آسکوربات پراکسیداز را نشان داد که تأثیر قابل توجه تیمار ترکیبی نانوکیتوزان با غلظت یک درصد و نانوهیدروکسی آپاتیت را برجسته می‌کند. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نقش مهمی در فرآیند رسیدن و پیری قارچ دارند.

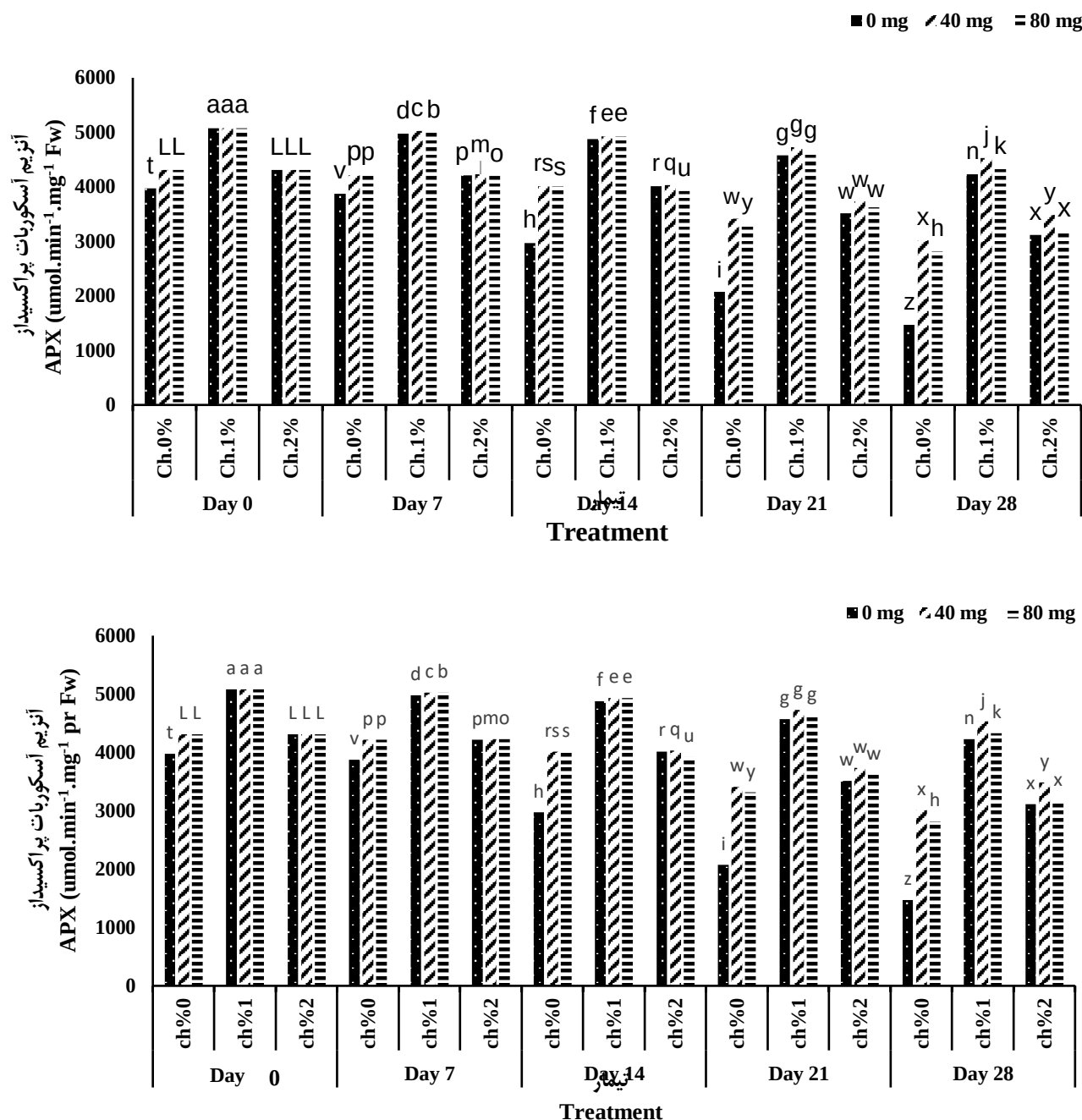
نتایج مطالعه‌ای که روی بهبود کیفیت قارچ‌های خوراکی با میکروکپسول حاوی اسانس دارچین انجام شد، نشان داد که در طول دوره نگهداری، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز ابتدا برای همه گروه‌ها افزایش و سپس کاهش یافت. فعالیت این آنزیم در روز دوم نگهداری به حداکثر رسید. هنگامی که نسبت نشاسته به میکروکپسول ۱:۵ بود، آنزیم آسکوربات پراکسیداز به بالاترین فعالیت رسید که ۱۴/۷۳ مول بر دقیقه بر گرم بود. فعالیت آنتی‌اکسیدانی قارچ‌های تیمار شده با کاغذ پوشش داده‌شده با میکروکپسول به‌طور قابل توجهی در مقایسه با شاهد افزایش یافت. نتایج فوق نشان می‌دهد که انتشار اسانس دارچین می‌تواند فعالیت این آنزیم آنتی‌اکسیدانی را تقویت کرده و پیری بافت را به تأخیر بیندازد (Shao et al., 2021).

نتایج این پژوهش نشان‌دهنده روند کاهشی کلی فعالیت آسکوربات پراکسیداز بود. این یافته با برخی مطالعات که در آن‌ها فعالیت آسکوربات پراکسیداز در روزهای ابتدایی ابتدا افزایش و سپس

مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف طی روزهای نگهداری بر آنزیم آسکوربات پراکسیداز قارچ دکمه‌ای (شکل ۴) نشان داد که، کاهش تدریجی آنزیم آسکوربات پراکسیداز در قارچ‌های بدون پوشش و پوشش داده‌شده در طول نگهداری مشاهده شد. با این وجود، استفاده از پوشش‌های نانوهیدروکسی آپاتیت به‌تنهایی یا همراه با نانوکیتوزان منجر به افزایش سطوح آنزیم آسکوربات پراکسیداز در مقایسه با گروه شاهد (بدون پوشش) شد. بیش‌ترین میزان آنزیم آسکوربات پراکسیداز مربوطه به تیمار نانوکیتوزان یک درصد حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت ۴۰ میلی‌گرم روز صفر نگهداری (به‌میزان ۵۰۷۸/۴۴) بود که تفاوت معنی‌داری با سایر پوشش‌ها به‌جز تیمار نانوکیتوزان یک درصد و نانوکیتوزان یک درصد حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت ۸۰ میلی‌گرم روز صفر نگهداری داشت. به‌طور خاص، در تمام روزهای نگهداری، گروه شاهد بدون پوشش کم‌ترین آنزیم آسکوربات پراکسیداز را نشان داد. و در روز ۲۸ نگهداری نسبت به سایر روزها به‌میزان کم‌تر (۱۴۷۱/۳۸) مشاهده شد و با کم‌ترین تیمار سایر روزهای نگهداری تفاوت معنی‌داری را نشان داد. در مقابل، نمونه تیمار شده با پوشش نانوکیتوزان یک درصد حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت ۴۰ میلی‌گرم بیش‌ترین آنزیم

اینکه تیمار پوششی فعالیت آنزیم را نسبت به شاهد بالاتر نگه می‌دارد، با هدف کلی این پژوهش‌ها در راستای کاهش زوال محصول همخوانی دارد.

کاهش می‌یابد (Shao et al., 2021)، متفاوت است. این تفاوت ممکن است به دلیل نوع پوشش استفاده‌شده، شرایط نگهداری متفاوت یا فیزیولوژی خاص قارچ دکمه‌ای باشد. با این حال، یافته ما مبنی بر



شکل ۴- اثر سه‌گانه پوشش نانوکیتوزان × نانوهیدروکسی آپاتیت × زمان پس از برداشت بر میزان آنزیم آسکوربات پراکسیداز در نمونه‌های قارچ دکمه‌ای

Figure 4- Triple effect of chitosan nanoparticle coating (ch) × hydroxyapatite nanoparticle × postharvest time on the level of ascorbate peroxidase enzyme in button mushroom samples (DMRT, $p \leq 0.05$)

آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز (PPO)

با توجه به نتایج مقایسه‌های میانگین (شکل ۵)، ابتدا افزایش تدریجی تا روز ۱۴ و سپس روند کاهشی و ثابت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز در قارچ‌های بدون پوشش و پوشش داده‌شده در طول نگهداری مشاهده شد. با این وجود، استفاده از پوشش‌های نانوهیدروکسی آپاتیت به‌تنهایی یا همراه با نانوکیتوزان منجر به کاهش سطوح آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز در مقایسه با گروه شاهد (بدون پوشش) شد. بیش‌ترین میزان آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز مربوطه به تیمار بدون پوشش روز ۲۸ نگهداری (به‌میزان ۰/۰۶۲۴) بود که تفاوت معنی‌داری با سایر پوشش‌ها طی روزهای نگهداری داشت. در مقابل، در تمام روزهای نگهداری، پوشش نانوکیتوزان یک درصد حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت ۴۰ میلی‌گرم کم‌ترین آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز را نشان داد. و در روز ۲۸ و ۲۸ نگهداری نسبت به سایر روزها به‌میزان کم‌تر (۰/۰۱۶۴) مشاهده شد. که با کم‌ترین تیمار سایر روزهای نگهداری تفاوت معنی‌داری را نشان داد که تأثیر قابل توجه تیمار ترکیبی نانوکیتوزان با غلظت یک درصد و نانوهیدروکسی آپاتیت را برجسته می‌کند.

قارچ‌های شاهد افزایش قابل توجه فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز را در طول زمان نشان دادند. با این وجود، فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز در همه قارچ‌های پوشش داده‌شده مهار شد. آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز یکی از آنزیم‌های کلیدی در قهوه‌ای شدن آنزیمی قارچ است. این امر می‌تواند اکسیداسیون مونو و دی‌فنل‌ها را به o-quinones کاتالیز کند و این کینون‌ها سپس پلیمریزه می‌شوند تا رنگدانه‌های قهوه‌ای تولید کنند (Han et al., 2015). فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز قارچ‌های شاهد به‌سرعت افزایش یافت و به‌طور قابل توجهی بیش‌تر از نمونه‌های پوشش داده‌شده بود. بنابراین، می‌توان اشاره کرد که مهار فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز در قارچ‌های پوشش داده‌شده می‌تواند به یک اثر هم‌افزایی ناشی از عوامل متعددی مانند کاهش دسترسی به O_2 تولیدشده توسط پوشش نانوکیتوزان در ترکیب با نانوهیدروکسی آپاتیت و مواد ضد میکروبی مرتبط باشد (Louis et al., 2021). مهار فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز با پوشش میوه‌ها و سبزیجات توسط محققان متعددی گزارش شده است.

در مطالعه‌ای که روی کارایی پوشش صمغ کتیرا (*Astragalus gummifer*) غنی‌شده با دو اسانس مختلف در کاهش قهوه‌ای شدن آنزیمی و پیری قارچ دکمه‌ای توسط نصیری و همکاران (Nasiri et al., 2019) صورت گرفت، نشان داده شد که فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز در طول دوره نگهداری افزایش یافت. فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز قارچ‌های شاهد به‌سرعت بدون پیک افزایش یافت و به‌طور قابل توجهی بیش‌تر از نمونه‌های پوشش داده‌شده با صمغ کتیرا حاوی اسانس‌های مرزه خوزستانی (*Satureja khuzestanica*) و آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) بود. فعالیت بالای آنزیم پلی‌فنل‌

اکسیداز منجر به ظاهر تیره و ناخوشایند قارچ‌ها می‌شود. در مطالعه‌ای روی عمر پس از برداشت قارچ دکمه‌ای تحت تیمار با ارگوتیونین، فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز قارچ به‌تدریج در روز ۱۳ به حداکثر مقدار افزایش یافت و سپس در روزهای باقی‌مانده شروع به کاهش کرد. تیمار ارگوتیونین منجر به فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز کمتر در مقایسه با شاهد شد و فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز در نمونه‌های تیمار شده با ارگوتیونین ۰/۲۲ درصد کم‌تر از گروه شاهد در روز ۱۷ بود. کاهش قابل توجه فعالیت پراکسیداز در هر دو گروه مشاهده شد، ارگوتیونین سرعت کاهش فعالیت پراکسیداز را در طول دوره نگهداری به‌جز روز ۱۷ تسریع کرد (Qian et al., 2021). براساس پژوهش لیو و همکاران (Liu et al., 2019) روی تأثیر بسته‌بندی فیلم کیتوزان پیوندی با اسید گالیک بر کیفیت پس از برداشت قارچ دکمه‌ای سفید نشان دادند که قارچ‌های بسته‌بندی‌شده با فیلم کیتوزان پیوندی با اسید گالیک کم‌ترین فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز را در بین تمام گروه‌های تیمار نشان دادند. این نتیجه نشان می‌دهد که بسته‌بندی فیلم کیتوزان پیوندی با اسید گالیک برای سرکوب فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز و در نتیجه کاهش قهوه‌ای شدن آنزیمی قارچ‌ها مؤثر است.

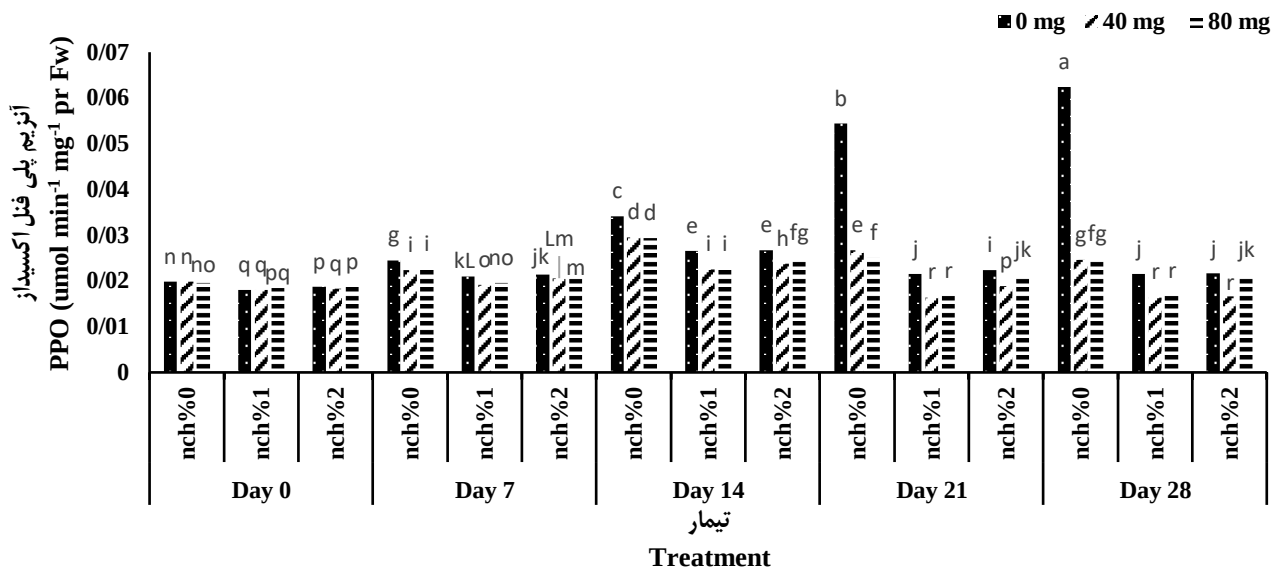
مالون‌دی‌آلدئید (MDA)

مطابق با نمودار شکل ۶ نشان داده شده است که افزایش تدریجی مالون‌دی‌آلدئید در قارچ‌های بدون پوشش و پوشش داده‌شده در طول نگهداری مشاهده شد. با این وجود، استفاده از پوشش‌های نانوهیدروکسی آپاتیت به‌تنهایی یا همراه با نانوکیتوزان منجر به کاهش مالون‌دی‌آلدئید در مقایسه با گروه شاهد (بدون پوشش) شد. بیش‌ترین میزان مالون‌دی‌آلدئید مربوطه به تیمار گروه شاهد بدون پوشش روز ۲۸ نگهداری (به‌میزان ۰/۰۲۰۵) بود که تفاوت معنی‌داری با تمام تیمارها در طی روزهای نگهداری داشت. به‌طور خاص، در تمام روزهای نگهداری به‌جز روز صفر، پوشش ترکیبی نانوکیتوزان یک درصد حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت ۴۰ میلی‌گرم کم‌ترین مالون‌دی‌آلدئید را نشان داد که تا روز هفتم نگهداری روند ثابت و از روز ۱۴ تا ۲۸ نگهداری روند افزایشی را داشت. در مقابل، نمونه شاهد بیش‌ترین مالون‌دی‌آلدئید را در طی دوره نگهداری نشان داد که تأثیر قابل توجه تیمار ترکیبی نانوکیتوزان با غلظت یک درصد و نانوهیدروکسی آپاتیت را برجسته می‌کند.

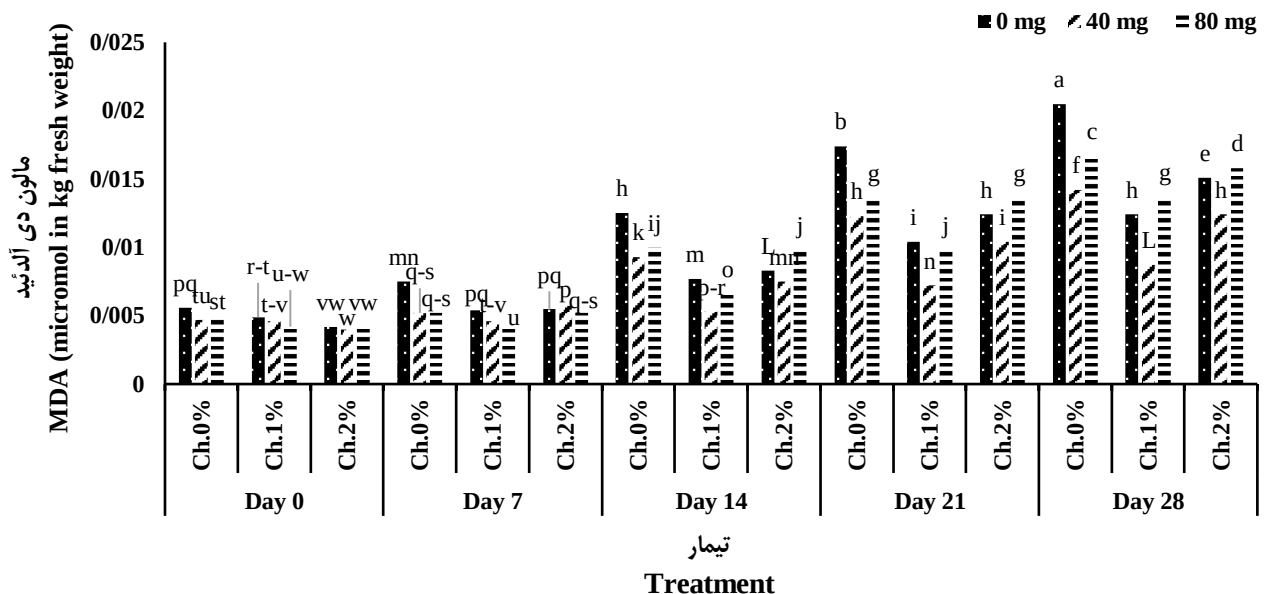
پراکسیداسیون لیپیدی یک تغییر اکسیداتیو اسیدهای چرب چند غیراشباع در غشای سلولی است که تعدادی از محصولات تخریب را تولید می‌کند. مالون‌دی‌آلدئید یکی از محصولات پراکسیداسیون لیپیدی است که به‌طور گسترده‌ای به‌عنوان نشانگر زیستی پراکسیداسیون لیپیدی پذیرفته شده است (Hu et al., 2015).

با توجه به نتایج پژوهش حاضر، یک روند افزایشی کلی محتوای مالون دی آلدئید مشاهده شد که با نتایج مطالعات دیگر که در آن‌ها محتوای مالون دی آلدئید یک روند افزایشی کلی را نشان داد (Huang et al., 2019; Qian et al., 2021)، منطبق است.

طی مطالعه‌ای روی افزایش ماندگاری قارچ دکمه‌ای با تیمار ارگوتیونین نشان داده شد که تیمار قارچ دکمه‌ای با ارگوتیونین افزایش محتوای مالون دی آلدئید را به تأخیر انداخت. در پایان نگهداری، قارچ‌های تیمار شده با ارگوتیونین ۹/۱۰ درصد کمتر از گروه شاهد، محتوای مالون دی آلدئید را نشان دادند (Qian et al., 2021).



شکل ۵- اثر سه گانه پوشش نانوکیتوزان × نانوهیدروکسی آپاتیت × زمان پس از برداشت بر فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز نمونه‌های قارچ دکمه‌ای
Figure 5- Triple effect of chitosan nanoparticle coating (ch) × hydroxyapatite nanoparticle × postharvest time on PPO activity of button mushroom samples (DMRT, $p \leq 0.05$)

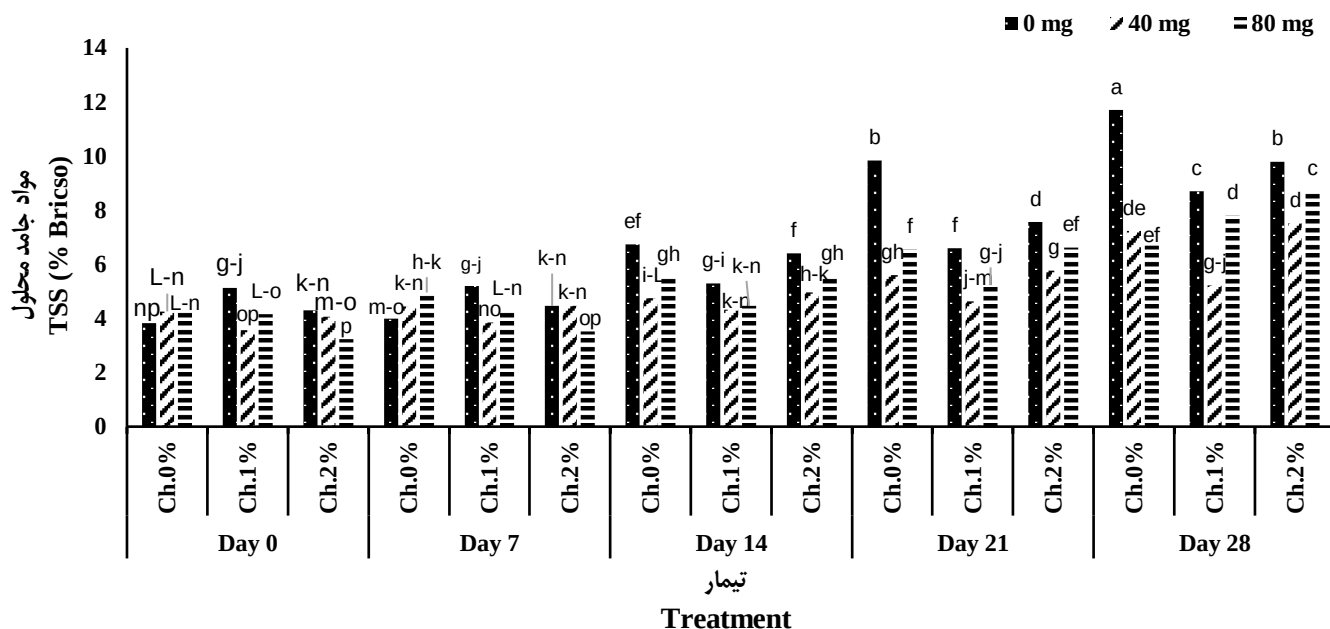


شکل ۶- اثر سه گانه پوشش نانوکیتوزان × نانوهیدروکسی آپاتیت × زمان پس از برداشت بر محتوای مالون دی آلدئید نمونه‌های قارچ دکمه‌ای
Figure 6- Triple effect of chitosan nanoparticle coating (ch) × hydroxyapatite nanoparticle × postharvest time on MDA content of button mushroom samples (DMRT, $p \leq 0.05$)

مواد جامد محلول (TSS)

طبق نمودار شکل ۷ نشان داده شده است که افزایش تدریجی میزان مواد جامد محلول در قارچ‌های بدون پوشش و پوشش داده‌شده در طول نگهداری مشاهده شد. با این وجود، استفاده از پوشش‌های نانوهیدروکسی آپاتیت به تنهایی یا همراه با نانوکیتوزان در روز صفر و هفتم نگهداری به جز پوشش نانوکیتوزان یک درصد تفاوت معنی‌داری در مقایسه با گروه شاهد (بدون پوشش) نداشت، اما از روز ۱۴ تا روز ۲۸ نگهداری منجر به کاهش سطوح مواد جامد محلول در مقایسه با گروه شاهد (بدون پوشش) شد. بیش‌ترین میزان مواد جامد محلول مربوط به گروه شاهد روز ۲۸ نگهداری (به میزان ۱۱/۷۰) بود که تفاوت معنی‌داری با سایر پوشش‌ها در طی دوره نگهداری داشت. به‌طور خاص، پوشش نانوکیتوزان یک درصد حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت ۴۰ میلی‌گرم کم‌ترین مواد جامد محلول را نشان داد. و در روز صفر نگهداری به میزان کمتر (۳/۵۶) مشاهده شد. که با کم‌ترین تیمار سایر روزها به جز روز هفتم نگهداری تفاوت معنی‌داری را نشان داد. در مقابل، نمونه شاهد از روز ۱۴ تا پایان دوره نگهداری بیش‌ترین مواد جامد محلول را نشان داد که تأثیر قابل توجه تیمار ترکیبی نانوکیتوزان با غلظت یک درصد و نانوهیدروکسی آپاتیت را برجسته می‌کند. افزایش مواد جامد محلول در محصولات پس از برداشت، عموماً به دلیل سرعت تنفس بالا و پیشرفت روند پیری است. یکی دیگر از

عوامل مؤثر در افزایش مواد جامد محلول در قارچ مسن ممکن است پلی‌ساکاریدهای دیواره سلولی و حل شدن همی سلولز باشد. این پوشش‌ها یک فیلم نیمه‌تراوای امیدوارکننده را روی سطح میوه ایجاد می‌کنند که با کاهش O_2 و یا افزایش CO_2 و سرکوب تولید اتیلن، جو داخلی را تنظیم می‌کنند. سنتز و استفاده از متابولیت‌ها به دلیل هیدرولیز آهسته‌تر کربوهیدرات‌ها به قند، پیامدهای مواد جامد محلول را کاهش می‌دهد که با کاهش نرخ تنفس کاهش می‌یابد (Nasiri et al., 2019). مواد جامد محلول به علت شکسته شدن کربوهیدرات پلی‌مری به ملکول‌های کوچک‌تر محلول در آب، در هنگام رسیدن افزایش می‌یابد و در نتیجه این مقدار مواد جامد محلول در میزان آب کم‌تری قرار می‌گیرند که منجر به افزایش بریکس می‌شود. به عبارت دیگر، هرچه میوه آب کم‌تری از دست بدهد، بریکس میوه به میزان کم‌تری افزایش می‌یابد (Shamlou et al., 2019). دلیل افزایش تدریجی مواد جامد محلول، وجود آب در نمونه‌های قارچ است (Hosseini & Moradinezhad, 2018). طی پژوهشی که روی کارایی پوشش صمغ کتیرا غنی‌شده با دو اسانس (آویشن شیرازی و مرزه خوزستانی) مختلف در کاهش پیری قارچ دکمه‌ای انجام شد، نشان داده شد که افزایش محتوای جامدات محلول در طول زمان نگهداری تدریجی بود. نمونه‌های شاهد و متا بی سولفیت سدیم (M) و اسانس S (MS) بالاترین مواد جامد محلول را نشان دادند.



شکل ۷- اثر سه‌گانه پوشش نانوکیتوزان × نانوهیدروکسی آپاتیت × زمان پس از برداشت بر میزان مواد جامد محلول نمونه‌های قارچ دکمه‌ای
Figure 7- Triple effect of chitosan nanoparticle coating (ch) × hydroxyapatite nanoparticle × postharvest time on the soluble solids content of button mushroom samples (DMRT, $p \leq 0.05$)

روزها تفاوت معنی‌داری داشت و این تأثیر قابل توجه تیمار ترکیبی نانوکیتوزان با غلظت یک درصد و نانوهیدروکسی آپاتیت را برجسته می‌کند.

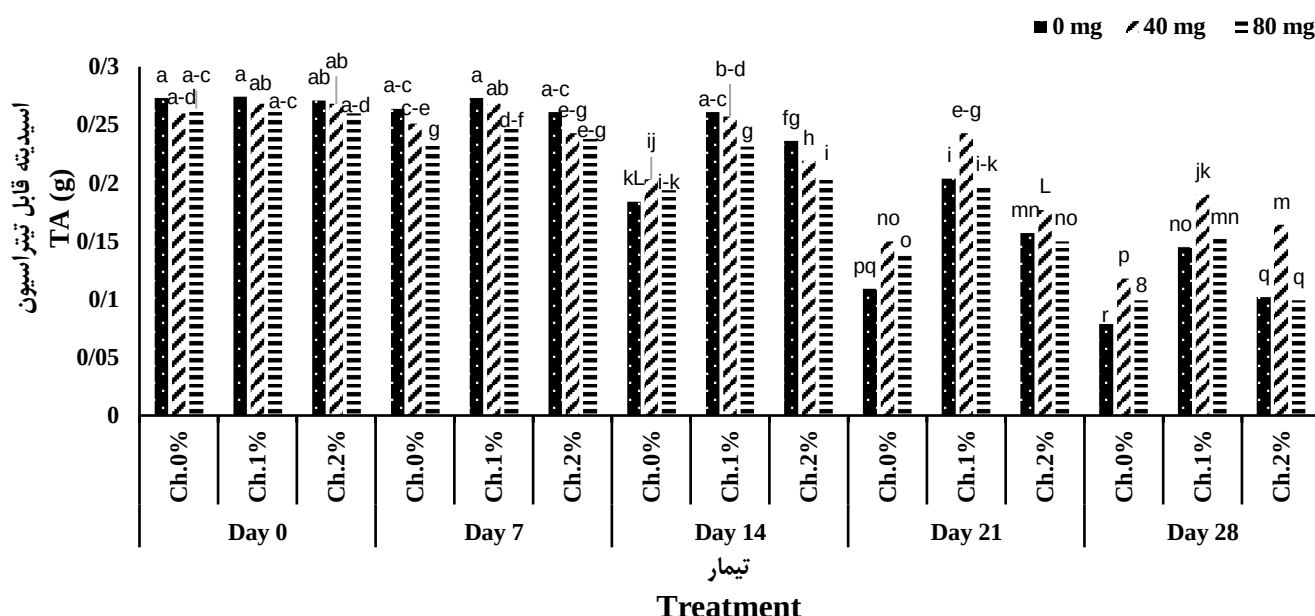
در مطالعه‌ای، دان و همکاران (Duan et al. 2011) بیان کردند که کاهش در میزان اسیدیته میوه بیانگر رسیدن و زوال آن است. پوشش‌ها، تغییرات اسیدیته را کند کرده و به‌طور مؤثری رسیدن و زوال آن‌ها را به تعویق می‌اندازند. با توجه به بیان پژوهشگران، حفظ اسیدیته قابل تیرر محصول قارچ نشانه ماندگاری مناسب آن است. همان‌طور که قارچ‌های پوشش‌دهی‌شده توانستند اسیدیته قابل تیرر خوبی را حفظ کنند، تیمارهای پوشش‌دار حفظ اسیدیته خوبی را نسبت به شاهد داشتند (Hamzeh-Kalkenari et al., 2020).

در مطالعه‌ای روی ماندگاری قارچ دکمه‌ای با پوشش کیتوزان و انواع فیلم‌های بسته‌بندی، نتایج نشان داد که میزان اسیدیته قابل تیرراسیون با گذشت زمان در تمام تیمارهای پوشش‌دار به‌تدریج کاهش یافت، و این کاهش پس از ۲۰ روز نگهداری در انبار سرد معنی‌دار نبود (Aminzade et al., 2015). در آزمایشی نشان داده شد که کیتوزان اثر معنی‌داری بر میزان اسیدیته قابل تیرر داشت. کم‌ترین میزان آن در قارچ‌های بدون پوشش و بیش‌ترین مقدار آن در قارچ‌های تیمار شده با کیتوزان دو درصد مشاهده شد (Aminzade et al., 2015).

افزایش مواد جامد محلول نمونه‌های ترکیب صمغ کنیرا و اویشن شیرازی و ترکیب صمغ کنیرا و مرزه خوزستانی کندتر و تدریجی‌تر از نمونه‌های دیگر بود (Nasiri et al., 2019). این نتایج با یافته‌های کالیک و همکاران (Khaliq et al., 2015) مطابقت داشت که افزایش آهسته مواد جامد محلول را در مورد انبه پوشیده‌شده با صمغ عربی ارائه کردند.

اسیدیته قابل تیرراسیون (TA)

همان‌طور که در نمودار شکل ۸ نشان داده شده است، کاهش تدریجی اسیدیته قابل تیرراسیون در قارچ‌های بدون پوشش و پوشش داده‌شده در طول نگهداری مشاهده شد. با این وجود، استفاده از پوشش‌های نانوهیدروکسی آپاتیت به‌تنهایی یا همراه با نانوکیتوزان از روز ۱۴ تا ۲۸ منجر به افزایش اسیدیته قابل تیرراسیون در مقایسه با گروه شاهد (بدون پوشش) شد. بیش‌ترین میزان اسیدیته قابل تیرراسیون مربوطه به تیمار نانوکیتوزان یک درصد روز صفر و هفتم نگهداری (به‌ترتیب به‌میزان ۰/۲۷۴ و ۰/۲۷۳) بود و در سایر روزها بیش‌ترین میزان در پوشش نانوکیتوزان یک درصد حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت ۴۰ میلی‌گرم به دست آمد. به‌طور خاص، کم‌ترین اسیدیته قابل تیرراسیون در گروه شاهد (بدون پوشش) روز ۲۸ نگهداری (به‌میزان ۰/۰۷۹) مشاهده شد که با کم‌ترین تیمار سایر



شکل ۸- اثر سه‌گانه پوشش نانوکیتوزان × نانوهیدروکسی آپاتیت × زمان پس از برداشت بر میزان اسیدیته قابل تیرراسیون نمونه‌های قارچ دکمه‌ای
Figure 8- Triple effect of chitosan nanoparticle coating (ch) × hydroxyapatite nanoparticle × postharvest time on TA content of button mushroom samples (DMRT, $p \leq 0.05$)

شاخص‌های زوال مانند مالون‌دی‌آلدئید، فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز و مواد جامد محلول، و همچنین با حفظ سطح بالاتر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز) و اسیدیته قابل تیتراسیون، کیفیت قارچ را به‌طور مؤثری حفظ کند. این تیمار ماندگاری پس از برداشت قارچ را تا ۲۸ روز افزایش داد و قابلیت بازاریابی آن را تا ۱۴ روز حفظ نمود. بنابراین، استفاده از این پوشش نانوکامپوزیتی به‌عنوان یک روش ایمن و کارآمد برای افزایش عمر انبارمانی قارچ دکمه‌ای توصیه می‌شود.

سپاسگزاری

اجرای پژوهش حاضر به شماره ۳۷۱۸۲۳۴۹ و تاریخ ۱۴۰۲/۱۲/۲۵، در سامانه گلستان سایت دانشگاه لرستان ثبت شد و با کمک مالی از طرف دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران انجام شد. بدین‌وسیله از حمایت‌های آن‌ها سپاسگزاری می‌شود.

در پژوهش حاضر، نتایج یک روند کاهشی کلی محتوای اسیدیته قابل تیتراسیون را نشان داد که استفاده از پوشش‌دهی منجر به افزایش اسیدیته قابل تیتراسیون در مقایسه با شاهد شد. این نتایج با نتایج برخی مطالعات دیگر روی محتوای اسیدیته قابل تیتراسیون (Aminzade et al., 2015; Hamzeh-Kalkenari et al., 2020) مطابقت داشت.

نتیجه‌گیری

با توجه به فسادپذیری بالای قارچ دکمه‌ای، استفاده از پوشش‌های طبیعی برای افزایش ماندگاری آن اهمیت ویژه‌ای دارد. این پژوهش به‌منظور ارزیابی تأثیر پوشش نانوکامپوزیتی مبتنی بر نانوکیتوزان و نانوهیدروکسی آپاتیت بر ویژگی‌های کیفی و بیوشیمیایی قارچ دکمه‌ای انجام شد. نتایج به‌طورکلی نشان داد که پوشش ترکیبی نانوکیتوزان یک درصد حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت ۴۰ میلی‌گرم، مؤثرترین تیمار بود. این پوشش توانست با کاهش

References

- Asada, K. (1992). Ascorbate peroxidase hydrogen peroxide scavenging enzyme in plants. *Physiologica Plantarum*, 85(2), 235–241. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1992.tb04728.x>
- Aminzadeh, R., Ramin, A., & Amini, F. (2015). The effect of different types of packaging films and coating with chitosan on the storage life of button mushroom. MSc. Thesis, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran. p. 62. (In Persian).
- Ding, Y., Zhu, Z., Zhao, J., Nie, Y., Zhang, Y., Sheng, J., Meng, D., Mao, H., & Tang, X. (2016). Effects of postharvest brassinolide treatment on the metabolism of white button mushroom (*Agaricus bisporus*) in relation to development of browning during storage. *Food and Bioprocess Technology*, 9(8), 1327–1334. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1992.tb04728.x>
- Dokhanieh, A. Y., & Aghdam, M. S. (2016). Postharvest browning alleviation of *Agaricus bisporus* using salicylic acid treatment. *Scientia Horticulturae*, 207(5), 146–151. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.05.025>
- Duan, J., Wu, R., Strik, B. C., & Zhao, Y. (2011). Effect of edible coatings on the quality of fresh blueberries (Duke and Elliott) under commercial storage conditions. *Postharvest Biology and Technology*, 59(1), 71–79. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2010.08.006>
- Elsabee, M. Z., & Abdou, E. S. (2013). Chitosan based edible films and coatings: A review. *Materials Science and Engineering C*, 33(4), 1819–1841. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2013.01.010>
- Gallego, S. M., Benavides, M. P., Tomaro, M. L. (1996). Effect of heavy metal ion excess on sunflower leaves: Evidence for involvement of oxidative stress. *Plant Science*, 121(2), 151–159. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(96\)04528-1](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(96)04528-1)
- Ganjeh, M., Gharejelo, A., & Ghaderi, S. (2020). Evaluation of extending the shelf life of button mushroom (*Agaricus Bisporous*) using chitosan and *Ferulago angulata* essential oil. *Food Science*, 21(154), 1–88. <http://fsct.modares.ac.ir/article-7-73195-en.html>
- Han, L., Qin, Y., Liu, D., Chen, H., Li, H., & Yuan, M. (2015). Evaluation of biodegradable film packaging to improve the shelf-life of *Boletus edulis* wild edible mushrooms. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 29, 288–294. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.04.008>
- Huang, S. J., Lin, S. Y., Wang, T. T., & Hsu, F. C. (2019). Combining acetic acid and ethanol as an anti-browning treatment for lettuce butt discoloration through repression of the activity and expression of phenylalanine ammonia lyase. *Postharvest Biology and Technology*, 164, 111–151. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2020.111151>
- Huang, T., Wang, L., Ma, L., Chen, M., & Qiao, X. (2021). Nano-chitosan coating enhances postharvest quality and antioxidant defense system of button mushroom (*Agaricus bisporus*). *Food Chemistry*, 339, 128148.
- Hamzeh-Kalkenari, S., Bodaghi, H., & Ghasimi Hagh, Z. (2020). Improving postharvest quality of button mushroom (*Agaricus bisporus*) using polyethylene-clay nanocomposite packing and *Echinophora cinerea* essential

- oil coating. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 17(2), 315-328. <https://doi.org/10.22067/ifstrj.v17i1.83935>
13. Hu, Y. H., Chen, C. M., Xu, L., Cui, Y., Yu, X. Y., Gao, H. J., Wang, Q., Liu, K., Shi, Y., & Chen, Q. X. (2015). Postharvest application of 4-methoxy cinnamic acid for extending the shelf life of mushroom (*Agaricus bisporus*). *Postharvest Biology and Technology*, 104(10), 33–41. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.03.007>
14. Hosseini, A., & Moradinezhad, F. (2018). Effect of short-term high CO₂ treatment on quality and shelf life of button mushroom (*Agaricus bisporus*) at refrigerated storage. *Journal of Horticulture and Postharvest Research*, 1(1), 37–48. <https://doi.org/10.22077/jhpr.2018.1198.1006>
15. Jiang, T., Feng, L., & Li, J. (2012). Changes in microbial and postharvest quality of shiitake mushroom (*Lentinus edodes*) treated with chitosan – glucose complex coating under cold storage. *Food Chemistry*, 131(3), 780–786. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.08.087>
16. Karimirad, R., Behnamian, M., & Dezhsetan, S. (2019). Application of chitosan nanoparticle scontaining *Cuminum cyminum* oil asa deli very system for shelfl ifeextension of *Agaricus bisporus*. *LWT-Food Science and Technology*, 106(4), 218-228. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.02.062>
17. Karimirad, R., Behnamian, M., & Dezhsetan, S. (2020). Bitter orange oil incorporated into chitosan nanoparticles: Preparation, characterization and their potential application on antioxidant and antimicrobial characteristics of white button mushroom. *Food Hydrocolloids*, 100(5), 105387. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105387>
18. Kar, M., & Mishra, D. (1976). Catalase, peroxidase and polyphenl oxidase activities during rice leaf senescence. *Plant Physiology*, 57(2), 315-319. <https://doi.org/10.1104/pp.57.2.315>
19. Khazarai, M., Jihadi, M., Fazil, M., & Allameh, A. (2016). Investigating the effect of chitosan-lemon essence coating on button mushroom shelf life. *FoodTechnology and Nutrition*, 13(1), 35-46.
20. Khaliq, G. H., Mohamed, M. T. M., Ali, A., Ding, P., & Ghazalic, H. M. (2015). Effect of gum Arabic coating combined with calcium chloride on physicochemical and qualitative properties of mango (*Mangiferaindica L.*) fruit during low temperature storage. *Scientia Horticulturae*, 190(6), 187–194. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.04.020>
21. Landa, P., Müller, K., Přerostová, S., Petrová, S., Mořková, K., Vaněk, T., & Soudek, P. (2024). Effect of nano-hydroxyapatite and phosphate on thorium toxicity – *Arabidopsis* transcriptomic study. *Environmental and Experimental Botany*, 217(1), 105573. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2023.105573>
22. Louis, E., Villalobos-Carvajal, R., Reyes-Parra, J., Jara-Quijada, E., Ruiz, C., Andrade, P., Gacitúa, J., & Beldarrain-Iznaga, T. (2021). Preservation of mushrooms (*Agaricus bisporus*) by an alginate-based-coating containing a cinnamaldehyde essential oil nanoemulsion. *Food Packaging and Shelf Life*, 28(1), 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2021.100662>
23. Liu, x., Sun, R., Zhou, Z., & Tang, Y. (2024). *In situ* growth of nano-hydroxyapatite on multilayered Ti C T MXene as a drug carrier with superior-performance. *Journal of Materials Science and Technology*, 180(2), 91-101. <https://doi.org/10.1016/j.jmst.2023.08.063>
24. Liu, J., Liu, S., Zhang, X., Kan, J., & Jin, C. (2019). Effect of gallic acid grafted chitosan film packaging on the postharvest quality of white button mushroom (*Agaricus bisporus*). *Postharvest Biology and Technology*, 147(1), 39-47. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.09.004>
25. Meng, D. M., Zhang, Y. X., Yang, R., Wang, J., Zhang, X. H., Sheng, J. P., Wang, J. P., & Fan, Z. C. (2017). Arginase participates in the methyl jasmonate-regulated quality ma-intenance of postharvest *Agaricus bisporus* fruit bodies. *Postharvest Biology and Technology*, 132(1), 7–14. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.05.018>
26. Moradian, S., Moini, S., & Almasi, H. (2017). Investigation of the properties of green tea extract loaded film and its effect on increasing shelf life of bottom mushroom. Iran's First Applied Chemistry Seminar, University of Tabriz, Tabriz, Iran. (In Persian).
27. Nasiri, M., Barzegar, M., Sahari, M. A., & Niakousari, M. (2019). Efficiency of Tragacanth gum coating enriched with two different essential oils for deceleration of enzymatic browning and senescence of button mushroom (*Agaricus bisporus*). *Original Research, Food Science and Nutrition*, 7(4), 1520–1528. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1000>
28. Nakilcioğlu-taş, E., & Ötleş, S. (2020). Kinetics of colour and texture changes of button mushrooms (*Agaricus bisporus*) coated with chitosan during storage at low temperature. *Engineering Sciences*, 92(2), 1678-2690. [10.1590/0001-3765202020181387](https://doi.org/10.1590/0001-3765202020181387)
29. Plewa, M. J., Smith, S. R., & Wanger, E. D. (1991). Diethyldithiocarbamate suppresses the plant activation of aromatic amines into mutagens by inhibiting tobacco cell peroxidase. *Mutation Research*, 247(1), 57-64. [https://doi.org/10.1016/0027-5107\(91\)90033-K](https://doi.org/10.1016/0027-5107(91)90033-K)
30. Qian, X., Hou, Q., Liu, J., Huang, Q., Jin, Z., Zhou, Q., Jiang, T., & Zheng, X. (2021). Inhibition of browning and shelf life extension of button mushroom (*Agaricus bisporus*) by ergothioneine treatment. *Scientia Horticulturae*, 288(2), 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110385>

31. Ravindran, J., Jaiswal, A. K., & Jaiswal, S. (2020). Biopolymer-based nano-coatings modulate enzymatic and biochemical changes in mushrooms during storage. *Postharvest Biology and Technology*, 168, 111248.
32. Rezaei, P., Shahriari, Sh., & Direct, T. (2015). The role of polylactic acid packaging coating based on clay nanoparticles on the quality characteristics and shelf life of edible mushrooms. MSc. Thesis, Islamic Azad University, Quds Branch, Iran. p. 98. (In Persian).
33. Shao, P., Yu, J., Chen, H., & Gao, H. (2021). Development of microcapsule bioactive paper loaded with cinnamon essential oil to improve the quality of edible fungi. *Food Packaging and Shelf Life*, 27(2), 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2020.100617>
34. Sharifianjazi, F., Esmacilkhanian, A., Moradi, M., Pakseresht, A., Shahedi Asl, M., Won Jang, H., & Varma, R. S. (2021). Biocompatibility and mechanical properties of pigeon bone waste extracted natural nano-hydroxyapatite for bone tissue engineering. *Materials Science and Engineering: B*, 264(1), 114950. <https://doi.org/10.1016/j.mseb.2020.114950>
35. Shamlou, S., Vaziri, A., Shekarabi, A., & Safekordi, A. A. (2019). Extending the shelf life of edible button mushroom (*Agaricus bisporus*) by edible coatings on the basis of natural polymers. *Food Science and Industry*, 91, 16.
36. Singh, S., Gaikwad, K. K., Lee, M., & Lee, Y. S. (2021). Thermally buffered corrugated packaging for preserving the postharvest freshness of mushrooms (*Agaricus bispours*). *Journal of Food Engineering*, 216(1), 11–19. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.07.013>
37. Stewart, R. C., & Bewley, J. D. (1980). Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes. *Plant Physiology*, 65(2), 245-248. <https://doi.org/10.1104/pp.65.2.245>
38. Usman, M., Murtaza, G., & Ditta, A. (2021). Nutritional, medicinal, and cosmetic value of bioactive compounds in button mushroom (*Agaricus bisporus*): A review. *Applied Sciences*, 11(31), 1-16. <https://doi.org/10.3390/app11135943>
39. Valizadeh, M., Behnamian, M., Dezhsetan, S., & Karimirad, R. (2021). Controlled release of turmeric oil from chitosan nanoparticles extends shelf life of *Agaricus bisporus* and preserves its postharvest quality. *Food Bioscience*, 44(1), 1-3. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101401>
40. Victor Aberea, D., Sammy, A., Ojob Oyatogunc, G. M., Belen Paredes-Epinosaa, M., Carmalita Dharsika Niluxsshuna, M., & Hakamid, A. (2022). Mechanical and morphological characterization of nano-hydroxyapatite (nHA) for bone regeneration: A mini review. *Biomedical Engineering Advances*, 4(1), 100056. <https://doi.org/10.1016/j.bea.2022.100056>
41. Wang, T., Yun, J., Zhang, Y., Bi, Y., Zhao, F., & Niu, Y. (2021). Effects of ozone fumigation combined with nano-film packaging on the postharvest storage quality and antioxidant capacity of button mushrooms (*Agaricus bisporus*). *Postharvest Biology and Technology*, 176(1), 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2021.111501>