

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA
Dip. di riferimento del CdS AGRONOMIA ANIMALI ALIMENTI
RISORSE NATURALI E AMBIENTE

Corso di laurea
SCIENZE E TECNOLOGIE ALIMENTARI

FUNGHI COME FONTE DI VITAMINA D

Relatore
Prof. Vincenzi Simone

Laureanda/o
Anna Marcato

Matricola n. 2008713

ANNO ACCADEMICO

2022/2023

Indice

Riassunto.....	1
Abstract.....	2
Introduzione.....	3
Capitolo 1 La vitamina D.....	5
1.1 Vitamina D: importanza per la salute umana	5
1.2 Fabbisogno giornaliero di vitamina D	6
1.3 Carenza di vitamina D.....	7
1.3.1 Quali sono le persone maggiormente a rischio?	8
1.4 Alimenti come fonti di vitamina D	9
Capitolo 2 Fonti vegetali di vitamina D: i funghi.....	10
2.1 Nutrizione e morfologia degli organismi fungini	10
2.2 Classificazione e tassonomia dei funghi.....	11
2.2.1 Focus sui Basidiomiceti.....	12
2.3 Aspetti nutrizionali.....	13
Capitolo 3 Radiazioni ultraviolette per l'aumento di vitamina D nei funghi.....	16
3.1 Funghi selvatici freschi e funghi freschi venduti al dettaglio.....	16
3.2 Funghi freschi esposti alla luce solare prima del consumo	17
3.3 Determinazione della distribuzione di ergosterolo nelle diverse parti dei funghi coltivati	19
3.4 Confronto tra shiitake e champignon bianchi	22
3.5 Funghi champignon bianchi esposti a luce UV pulsata	25
3.6 Effetto della temperatura sulla conversione dell'ergosterolo in vitamina D	26
Capitolo 4 Funghi secchi esposti alle radiazioni UV.....	28
4.1 Essiccazione al sole	28
4.2 Essiccazione ad aria calda.....	29
4.3 Liofilizzazione.....	30
Capitolo 5 Effetto della cottura domestica sulla ritenzione della vitamina D nei funghi irradiati con raggi UV.....	35
5.1 Ritenzione della vitamina D in seguito a diversi metodi di cottura dei funghi.....	35
5.2 Primo studio su campioni di funghi shiitake.....	35
5.3 Secondo studio su campioni di funghi Agaricus bisporus	38

5.4 Biodisponibilità della vitamina D ₂ nei funghi	39
5.5 Regolamentazione degli alimenti fortificati	42
Conclusioni.....	44
Bibliografia.....	45
Ringraziamenti.....	50

Riassunto

La vitamina D comprende un gruppo di molecole liposolubili che ricoprono un ruolo fondamentale per il nostro organismo, favorendo l'assorbimento del calcio a livello intestinale e renale. La vitamina D viene in parte sintetizzata nel nostro organismo, nella cute, in seguito all'esposizione ai raggi ultravioletti del precursore di questa vitamina, detto ergosterolo. Qualora però, questa esposizione fosse carente, è importante un adeguato apporto attraverso la dieta. Gli unici alimenti, di origine non animale, che contengono un buon quantitativo di vitamina D sono i funghi. A seconda della specie, infatti, nei tessuti fungini è presente in buone quantità l'ergosterolo, il quale può essere convertito in vitamina D₂ direttamente nel fungo mediante l'esposizione ai raggi ultravioletti. Tuttavia, gran parte dei metodi di produzione attuali dei funghi, prevede la coltivazione all'interno di stanze buie, in assenza di luce, impedendo la conversione dell'ergosterolo in vitamina D₂.

La presente tesi ha lo scopo di approfondire metodi efficaci per l'incremento di vitamina D nei funghi mediante l'esposizione ai raggi ultravioletti della luce solare o di lampade UV. Inoltre, viene valutato l'impatto delle diverse tipologie di essiccazione e della cottura domestica sulla ritenzione della vitamina D nei funghi e la conseguente biodisponibilità per l'organismo umano.

Abstract

Vitamin D comprises a group of fat-soluble molecules that play a crucial role in our body, promoting the absorption of calcium in the intestine and kidneys. Vitamin D is partly synthesized in our body, in the skin, following exposure to ultraviolet rays of its precursor, called ergosterol. However, in cases of inadequate exposure, it is important to obtain an adequate intake through the diet. The only non-animal sources of food that contain a significant amount of vitamin D are mushrooms. Depending on the species, fungal tissues contain a substantial amount of ergosterol, which can be converted into vitamin D₂ directly in the mushroom through exposure to ultraviolet rays. Nevertheless, a significant portion of current mushroom cultivation methods involves growing them indoors in the absence of light, preventing the conversion of ergosterol into vitamin D₂.

The purpose of this thesis is to explore effective methods to enhance vitamin D content in mushrooms through exposure to sunlight or UV lamps. Furthermore, it evaluates the impact of different drying techniques and home cooking on the retention of vitamin D in mushrooms and its subsequent bioavailability in the human body.

Introduzione

Con il termine vitamina D si identifica un gruppo di molecole liposolubili di cui fanno parte cinque diverse vitamine. Le due forme più comuni in cui la vitamina D si può trovare sono la vitamina D₂ (ergocalciferolo) e la vitamina D₃ (colecalfiferolo), entrambe dall'attività biologica molto importante per il nostro organismo. Le ricerche sulla vitamina D e il suo ruolo nella salute umana sono iniziate oltre un secolo fa, quando fu ipotizzata una correlazione tra carenza di vitamina di D e l'insorgenza di alcune patologie, prima fra tutte il rachitismo. Numerosi studi condotti a Boston e nei Paesi Bassi, alla fine del XIX secolo, avevano rilevato che l'80-90% dei bambini soffriva di rachitismo, una patologia causata proprio dalla carenza di tale vitamina, con sintomi specifici che includono ritardo della crescita, debolezza muscolare, deformità scheletriche.

In particolare, attraverso varie ricerche, il medico polacco Sniadecki notò che i bambini che vivevano a Varsavia, in Polonia avevano una maggiore incidenza di rachitismo rispetto ai bambini che vivevano in campagna dove l'esposizione al sole era più comune e Sniadecki fu il primo a ipotizzare l'importanza della luce solare per la salute delle ossa.

Nel corso degli anni, sulla base di questa teoria, venne portata avanti una vera e propria cura per le persone affette da rachitismo che consisteva nel sottoporre i pazienti a una lampada al quarzo a vapori di mercurio che emetteva radiazioni UVB e dopo sei settimane di trattamento, i bambini presentavano un miglioramento delle loro condizioni, dimostrato da un aumento nella mineralizzazione nelle radiografie dei bambini (Keegan et al., 2013).

Nonostante queste conoscenze, attualmente l'insufficienza di vitamina D colpisce ancora quasi il 50% della popolazione mondiale. Si stima che circa 1 miliardo di persone in tutto il mondo, di tutte le etnie e gruppi di età, abbia una carenza di vitamina D. (Holick, 2007). Questa pandemia di ipovitaminosi D può principalmente essere attribuita ad uno stile di vita e a fattori ambientali che riducono l'esposizione alla luce solare, infatti anche se la vitamina D viene assunta con la dieta, può essere assimilata dall'organismo in quantità sufficienti quando la pelle è esposta ai raggi ultravioletti (UV) del sole (Cardwell et al., 2018).

Se l'esposizione solare è limitata sono necessarie fonti alimentari ricche di vitamina D per mantenere un buon apporto di questa vitamina. I pochi alimenti che rappresentano una buona fonte di vitamina D si limitano principalmente agli alimenti di origine animale, come pesce, carne, tuorlo d'uovo mentre tra gli alimenti non di origine animale i *funghi* costituiscono l'unica fonte di vitamina D (Cardwell et al., 2023).

Nello specifico, diversi studi si sono concentrati sul corpo fruttifero dei funghi, il quale, sia in forma fresca che lavorata, è ricco di steroli, principalmente ergosterolo, che può essere convertito in vitamina D₂ mediante radiazioni ultraviolette. Le radiazioni UVB costituiscono la frazione più energetica e per questo sono anche quelli che possono causare i maggiori effetti negativi per gli organismi della biosfera, ma ad ogni modo sono quelli maggiormente implicati per l'aumento di vitamina D nei funghi.

La quantità di vitamina D varia tra le diverse specie di funghi e anche all'interno della stessa specie, ma approssimativamente si può affermare sia presente in quantità di mg/kg di conseguenza la conversione di una quantità relativamente piccola di ergosterolo in vitamina D₂ può già comportare un aumento nutrizionalmente significativo di vitamina D₂ (Kc et al., 2022).

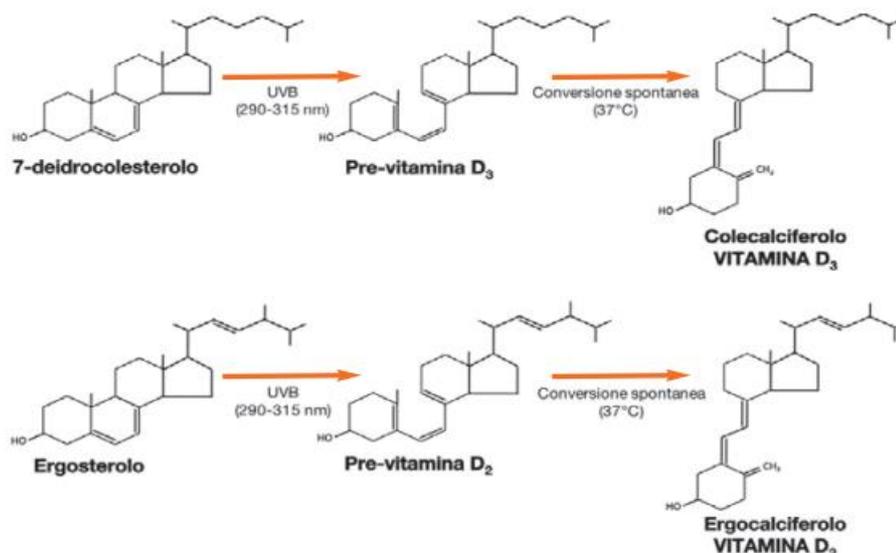
Capitolo 1

La vitamina D

1.1 Vitamina D: importanza per la salute umana

La definizione di vitamina D comprende un gruppo di molecole chiamate calciferoli. Le principali forme presenti negli alimenti sono il colecalciferolo (vitamina D₃) e l'ergocalciferolo (vitamina D₂), che differiscono chimicamente solo nella struttura della catena laterale. (Bendik et al., 2014). Infatti, D₂ differisce da D₃ per avere un doppio legame tra il C22 e C23 e un gruppo metilico in C24:

- La vitamina D₂, di origine vegetale, è prodotta dall'irradiazione UV a partire dall'ergosterolo
- la vitamina D₃, di origine animale, è prodotta dall'irradiazione del 7-deidrocolesterolo presente nella cute.



All'interno del nostro organismo la vitamina D esercita la sua attività endocrina per mantenere l'omeostasi del calcio in almeno tre organi, il rene, l'intestino tenue e l'osso, attraverso l'azione della sua forma attiva plasmatica, la 1,25-diidrossivitamina D (o calcitriolo), e del recettore della vitamina D (VDR).

La sintesi della previtamina D₃ si verifica in seguito all'esposizione del 7-deidrocolesterolo, presente nella cute, alle radiazioni ultraviolette, in particolare gli UVB (lunghezza d'onda 290-315nm), a cui segue un processo non enzimatico che prevede l'isomerizzazione termica della previtamina D₃ a vitamina D₃ (o colecalciferolo). Nel circolo sanguigno, più precisamente nel plasma, la vitamina D e

ciascuno dei suoi metaboliti sono prevalentemente legati alla “proteina di legame della vitamina D” detta DBP.

La vitamina D viene però attivata attraverso due reazioni di idrossilazione consecutive, catalizzate da specifici enzimi. La prima idrossilazione si verifica a livello del carbonio in posizione 25 e ha luogo *nel fegato* da parte della vitamina D 25-idrossilasi (CYP2R1) per formare il pro-ormone 25-idrossivitamina D detto anche calcifediolo o calcidiolo. A causa delle sue proprietà relative alla solubilità e al legame alla DBP, il livello di questo metabolita nel siero è quello che riflette meglio lo stato della vitamina D. La seconda idrossilazione si verifica a livello del carbonio in posizione 1 da parte della 25-idrossivitamina D-1alfa-idrossilasi renale (CYP27B1) ed è responsabile della sintesi del metabolita biologicamente attivo, la 1,25-diidrossivitamina D (Bikle, 2014).

Infatti è questa molecola che entra all'interno delle cellule dell'epitelio intestinale, si lega al recettore VDR presente nel nucleo delle cellule e aumenta la trascrizione genetica delle proteine della membrana cellulare, coinvolte nel trasporto del calcio, con conseguente aumento dell'assorbimento di Ca^{2+} dal lume intestinale nella cellula e un effetto positivo sulla mineralizzazione delle ossa (Goltzman, 2018).

1.2 Fabbisogno giornaliero di vitamina D

La quantità di vitamina D si valuta misurando i livelli del suo precursore (il calcidiolo), generalmente indicato con la sua formula chimica 25(OH)D, nel sangue ed esprimendo la sua concentrazione in nanogrammi per millilitro (ng/ml) o, in nanomoli per litro (nmol/L). Talvolta può essere espressa anche in UI, Unità internazionale, che corrisponde ad unità di misura utilizzate per sostanze biologicamente attive, come in questo caso le vitamine (Wimalawansa, 2012) :

Per la vitamina D 1 UI corrisponde a 0,025 µg di colecalciferolo/ergocalciferolo

La sintesi di tale vitamina nella cute dipende, però, da molti fattori, tra cui l'ora del giorno, la stagione, la latitudine e il colore della pelle che contribuiscono così, alla variabilità dei livelli di vitamina D nel sangue. Non c'è un consenso unanime nella comunità scientifica e medica su quali siano i livelli ottimali di vitamina D e sulla definizione clinica di carenza. In un recente documento dell'Associazione Italiana degli Endocrinologi Clinici (Cesareo et al., 2018), si considerano sufficienti nella popolazione generale valori uguali o maggiori di 20 ng/ml (50 nmol/L), ma si raccomandano livelli uguali o superiori a 30 ng/mL (75 nmol/L) se sono presenti condizioni di rischio e/o malattie, quali osteomalacia, osteoporosi e sintomi legati ad una carenza di vitamina D.

L'Autorità Europea per la Sicurezza Alimentare (EFSA, dal nome inglese European Food Security Agency) ha recentemente aggiornato i valori dietetici di riferimento per la vitamina D ed indicato come fabbisogno giornaliero di vitamina D, in base alle diverse fasce d'età:

- *10 microgrammi al giorno* (400 unità internazionali o UI), per bambini fino a tra 7 e 12 mesi di età.
- *15 microgrammi al giorno* (600 unità internazionali o UI), per gli adulti

Secondo il rapporto 2011 sulle assunzioni dietetiche di riferimento (RDA) dell'Istituto di Medicina, per quanto riguarda la vitamina D, un livello sierico di 25-idrossivitamina D di almeno 20ng/ml (a cui corrispondono 400UI) soddisfano le esigenze di circa il 97,5% della popolazione. A causa dell'elevata variabilità nella sintesi della vitamina D dalla luce ultravioletta, si precisa che questi valori RDA per la vitamina D sono stati presi in considerazione in condizioni di minima esposizione al sole. (Ross et al., 2011)

1.3 Carenza di vitamina D

Le carenze nutrizionali sono di solito il risultato di una inadeguatezza alimentare, un diminuito assorbimento e/o un aumento del fabbisogno o dell'escrezione. La carenza di vitamina D viene diagnosticata quando la misurazione di livelli sierici totali di 25(OH)D, quindi la combinazione di vitamina D₂ e D₃, è pari o inferiori a 20µg/L (Wimalawansa, 2012):

- Carenza → < 20 µg/L
- Insufficienza → < 20-30 µg/L
- Fisiologico → < 30-100 µg/L
- Eccesso → > 100 µg/L
- Intossicazione → > 150 µg/L

Questa ipovitaminosi può essere dovuta a numerosi fattori che riguardano le due modalità di assimilazione/sintesi della vitamina D, mediante i raggi UV o attraverso la dieta. L'esposizione alla luce solare risulta limitata nei periodi invernali o in base all'ora del giorno, inoltre, con l'aumento dell'uso di creme solari con un fattore di protezione sempre più elevato, la diminuzione di attività all'aperto, la sintesi di vitamina D nella cute ha subito un notevole decremento. Un altro fattore importante è sicuramente la tendenza verso diete vegetariane e vegane, che negli ultimi anni hanno subito un notevole incremento. Con la divulgazione di siti Web, libri di cucina che propongono una vasta gamma di preparazioni vegetali, i consumatori mostrano sempre più interesse per pasti vegetariani a ridotto contenuto calorico, alimentati da considerazioni etiche, preoccupazioni per la

salute e problemi ambientali. Spesso però, se non informate adeguatamente o sufficientemente, molte persone non sono a conoscenza dei vari tipi di alimenti da consumare per un adeguato apporto di tutti i nutrienti essenziali per l'organismo. Eliminando pietanze di origine animale, sono stati segnalati bassi apporti di vitamina D, bassi livelli sierici di 25-idrossivitamina D, e riduzione della massa ossea in alcuni gruppi di persone vegane che non hanno assunto integratori di vitamina D o consumato cibi con un buon contenuto di vitamina D, quali latte vaccino, yogurt o pesce. Di conseguenza i reni non possono convertire la 25-idrossivitamina D nella sua forma attiva o l'assorbimento della vitamina D da parte del tratto digestivo è insufficiente.

L'assunzione di vitamina D da parte dei vegani quindi tende ad essere sostanzialmente inferiore a quella dei latte-ovo-vegetariani e dei non vegetariani. Per attenuare questo problema è stato rilevato che il consumo di funghi, esposti alla luce ultravioletta in condizioni controllate, ha registrato un accumulo di livelli sostanziali di vitamina D₂ (Craig, 2010).

1.3.1 Quali sono le persone maggiormente a rischio?

La carenza di questa vitamina è particolarmente frequente in Italia, soprattutto negli anziani e nei mesi invernali, quando i raggi solari sono meno intensi.

Gli anziani sono a maggior rischio di sviluppare insufficienza di vitamina D sia perché con l'invecchiamento la pelle non può sintetizzare la vitamina D in modo efficiente (a parità di esposizione solare il soggetto anziano ne produce circa il 30% in meno), tendono a passare più tempo in casa, ed inoltre perché possono avere un insufficiente apporto dietetico di vitamina D. Le persone con una colorazione della pelle più scura, costituiscono un'ulteriore categoria a rischio, in quanto è presente una maggiore quantità di melanina che protegge la cute dagli effetti dei raggi ultravioletti. Anche individui costretti a casa, donne che indossino lunghe vesti per motivi religiosi e persone con occupazioni che limitino l'esposizione al sole è improbabile che ottengano un adeguato apporto di vitamina D dalla luce solare. Poiché, come si è detto, la conversione del 7-deidrocolesterolo avviene a seguito dell'esposizione della cute a raggi ultravioletti UVB di specifica lunghezza d'onda e la luce solare è caratterizzata dalla presenza di queste radiazioni solo per un numero limitato di ore, che peraltro varia in relazione alla stagione e alla latitudine, si ritiene ad esempio che in Italia la produzione di vitamina D legata all'esposizione solare sia addirittura trascurabile nei mesi invernali. Dal momento che la vitamina D è una vitamina liposolubile, il suo assorbimento dipende dalla capacità dell'intestino di assorbire i grassi alimentari. Gli individui che hanno una ridotta capacità intestinale di assorbire i grassi potrebbero richiedere una supplementazione maggiore di vitamina D. Il malassorbimento dei grassi è associato a una serie di condizioni mediche, tra cui alcune forme di

epatopatie, la fibrosi cistica, la malattia celiaca. Un'altra categoria di persone a rischio sono le persone obese. Questa condizione patologica non influisce sulla capacità della pelle di sintetizzare la vitamina D, ma una maggiore quantità di grasso sottocutaneo, gli adipociti, sequestra la maggior parte della vitamina e modifica il suo rilascio in circolo, quindi persone obese potrebbero avere bisogno di un maggior apporto di vitamina D per ottenere livelli di 25-idrossivitamina D paragonabili a quelle di peso normale. (Alshahrani & Aljohani, 2013).

1.4 Alimenti come fonti di vitamina D

Come spiegato precedentemente, la produzione cutanea di vitamina D₃ in seguito all'esposizione ai raggi UV, può essere ridotta per molti motivi. Pertanto, l'assunzione alimentare di vitamina D attraverso alimenti o integratori svolge un ruolo vitale per mantenere livelli adeguati di vitamina D. Le principali fonti alimentari di vitamina D sono principalmente di origine animale con contenuto variabile in alimenti come:

Olio di fegato di merluzzo → 210 µg per 100g
Pesce grasso come salmone → 25 µg per 100g
Fegato di bovino → 0,5µg per 100g
Latticini → 0,2-2,0µg per 100g

L'olio di fegato di merluzzo spicca come primo alimento per il contenuto di vitamina D ma non è solitamente consumabile se non come integratore.

Occorre tenere presente, quindi, che attraverso l'alimentazione, l'assunzione di vitamina D è limitata, soprattutto se si segue una dieta alimentare vegetariana o vegana. Esistono poche fonti alimentari naturali contenenti livelli rilevanti di vitamina D. Le diete vegane si limitano alla vitamina D₂, presente in quantità molto basse in verdura a foglia verde come spinaci, erbe, bietole e in quantitativi maggiori nei funghi selvatici. Per soddisfare il fabbisogno giornaliero di tale vitamina alcuni alimenti vengono fortificati/arricchiti di vitamina D. Addirittura in alcuni Paesi, come il Canada, l'arricchimento della vitamina D è obbligatorio per latte (1µg/100 ml) e margarina (13,3µg/100 g) (Bendik et al., 2014).

Capitolo 2

Fonti vegetali di vitamina D: i funghi

Una corretta assunzione ed esposizione al sole assicura all'organismo di mantenere livelli sufficienti di vitamina D nel corpo, anche se, nella stagione invernale e nei paesi che ricevono un'esposizione solare insufficiente, è importante fare affidamento sulla vitamina D alimentare come fonte principale (Bendik et al., 2014).

I principali alimenti, di origine non animale, con un buon contenuto di vitamina D, sono i funghi, i quali apportano circa 2,4µg su 100g di vitamina D (Amy S Rasor, 2013).

I funghi sono un vasto, diverso e ampio regno di organismi che fa parte del dominio degli *Eukarya*, e comprende le muffe (o funghi filamentosi), i funghi propriamente detti (dotati di un corpo fruttifero epigeo, contenente spore)

e i lieviti. Di questo regno fanno parte più di 700000 specie conosciute, ma la biodiversità è stata stimata a circa 3 milioni di specie.

La maggior parte dei funghi è microscopica e terrestre, ma esistono anche alcune specie acquatiche o in grado di svilupparsi in condizioni ambientali estreme. I funghi vivono nel suolo o su materia morta di origine vegetale e svolgono un ruolo cruciale nella mineralizzazione del carbonio organico; infatti partecipano al processo di degradazione della sostanza organica, in cui carbonio, azoto e fosforo vengono riconvertiti in forme minerali.

La maggior parte di funghi è parassita di piante, un numero minore causa malattie negli animali, alcuni invece stabiliscono associazioni simbiotiche con molte piante, facilitando l'acquisizione di elementi minerali dal suolo da parte di quest'ultime.

2.1 Nutrizione e morfologia degli organismi fungini

I funghi sono organismi eucarioti, unicellulari o pluricellulari, e chemiorganotrofi quindi ricavano energia a partire da molecole organiche in presenza di ossigeno, in quanto gran parte sono aerobi.

I funghi si nutrono rilasciando enzimi extracellulari in grado di scomporre i materiali organici complessi (sia di origine vegetale che di origine animale), come i polisaccaridi o le proteine, in monomeri, che vengono assimilati come fonte di carbonio ed energia. Una delle primarie attività esercitate dai funghi, in particolare dei basidiomiceti, è la decomposizione del legno, della carta e altre matrici naturali. La lignina, infatti, è un polimero complesso costituito da composti fenolici, che insieme alla cellulosa conferisce rigidità alla pianta e viene decomposta in natura quasi esclusivamente dall'attività di alcuni basidiomiceti, chiamati funghi del marciume del legno. La

maggior parte dei funghi è costituita da organismi pluricellulari, caratterizzati da una struttura filamentosa costituita da cellule tubulari dette *ife*. Queste possono essere dotate di setti, che suddividono con pareti trasversali, ciascuna ifa in cellule separate (che possono presentare o meno un nucleo all'interno). I setti possono essere chiusi o presentare dei pori, che mettono in comunicazione, tra le cellule dell'ifa, il protoplasma, una sostanza gelatinosa composta da sostanze organiche e inorganiche, e permettono il flusso di materiale citoplasmatico, compresi i nuclei cellulari. In alcuni casi, comunque, la cellula vegetativa di un'ifa può contenere più di un nucleo, da cui, a seguito di ripetute divisioni cellulari, si possono formare centinaia di nuclei senza che si differenzino in setti: queste sono definite ife cenocitiche.

Le ife si originano dalla germinazione delle spore e crescono sia in apice che attraverso espansioni laterali, a partire dall'estremità della cellula terminale. Generano così assembramenti sulla superficie dei substrati colonizzati e danno origine all'apparato vegetativo dei funghi, detto *micelio*, ossia il corpo vegetativo o tallo del fungo. Dal micelio, le ife aeree si protendono in aria e all'estremità si formano propaguli vegetativi detti conidi, i quali sono spore asessuate che conferiscono al micelio un aspetto polveroso e vengono utilizzate nella riproduzione asessuale; infatti servono a diffondere il fungo in nuovi habitat. Alcuni funghi, per esempio le specie coltivate o le specie eduli dei boschi, formano strutture riproduttive macroscopiche chiamate corpi fruttiferi, in cui sono differenziate milioni di spore sessuate, in grado di essere poi diffuse dal vento, dall'acqua o dagli animali. Alcuni funghi invece, a differenza dei funghi con micelio, crescono come funghi unicellulari e sono detti lieviti.

2.2 Classificazione e tassonomia dei funghi

Classificare tassonomicamente un'entità fungina vuol dire collocarla entro raggruppamenti o taxa, dei quali i principali, in ordine di rango con crescente importanza, sono la Specie, il Genere, la Famiglia, l'Ordine, la Classe, la Divisione ed il Regno. Lo scopo principale di questa classificazione tassonomica è identificare in modo il più possibile oggettivo i vari miceti per poterne seguire l'eventuale evoluzione nel tempo e nello spazio.

Inizialmente, i funghi sono stati scientificamente classificati da Linneo come Piante, poi successivamente elevati al rango di regno da Nees nel 1817 e da Whittaker nel 1968.

In passato, si è operato raggruppando i funghi in base alle somiglianze morfologiche macroscopiche. In epoca più recente, questo criterio di suddivisione è stato affiancato e spesso sostituito da quello di analisi molecolare (PCR, sequenziamento delle basi del DNA) che ha permesso di esaminare i funghi anche in base ad elementi non visibili ad occhio nudo (elementi riproduttivi e strutture cellulari),

consentendo di creare nuovi raggruppamenti o di separare specie fino ad allora ritenute affini. Questo ha permesso un ordinamento sistematico più obiettivo e del grado di parentela esistente tra i membri dei vari raggruppamenti tassonomici. (Hibbett et al., 2007).

In particolare, la filogenesi si basa sul sequenziamento comparativo dell'RNA ribosomiale 18S e permette di definire cinque gruppi fungini distinti: i chitridiomyceti, gli zigomiceti, i glomeromiceti, gli ascomyceti, e i basidiomiceti. La più antica linea fungina si ritiene sia rappresentata dai chitridiomyceti, un gruppo di funghi dotati di motilità, il cui nome deriva dalla struttura del corpo fruttifero che contiene spore sessuate flagellate e mobili, le zoospore. Di conseguenza, la mancanza di flagelli in gran parte dei funghi indica come la motilità sia una caratteristica persa con il passare del tempo e le diverse linee filetiche fungine. Dai chitridiomyceti quindi, con l'evoluzione, derivano tutti gli altri gruppi, tra cui i basidiomiceti e gli ascomyceti, di cui fanno parte i lieviti del genere *Saccharomyces* e le muffe *Aspergillus*.

A partire dal 1973, la classificazione scientifica secondo Ainsworth et al., divideva il regno dei Funghi in due divisioni, *Myxomycota* ed *Eumycota*, suddividendo quest'ultima in cinque sottodivisioni: *Mastigomycota*, *Zigomycota*, *Ascomycota*, *Basidiomycotina* e *Deuteromycotina*.

Nel 1995, in quella che al momento sembra essere l'ultima classificazione scientifica, Hawksworth et al. rivedevano le conclusioni alle quali in precedenza si era giunti ordinando il Regno dei Funghi sulla base di sole quattro divisioni: *Ascomycota*, *Basidiomycota*, *Chytriomycota* e *Zigomycota* con le relative classi, sottoclassi e ordini (Michael T. Madigan [et al.], *Brock Biologia dei microrganismi*, Milano: Alberto Portalupi, 2015).

2.2.1 Focus sui Basidiomiceti

Concentrando l'attenzione sui principali funghi che contribuiscono ad un buon apporto di vitamina D, questi sono porcini, chiodini, finferli e ovolo bianco, e appartengono tutti alla classe dei Basidiomiceti. Molti funghi di questa classe corrispondono ai comuni funghi a cappello e appartengono a due generi principali, *Agaricus*, del quale fanno parte molti funghi commestibili e *Amanita*, alcuni dei quali sono velenosi. La caratteristica principale di questa classe di funghi è il basidio, la struttura nella quale si formano per meiosi le basidiospore. La riproduzione sessuata dei basidiomiceti porta alla differenziazione della struttura visibile del fungo, ovvero il corpo fruttifero, detto anche basidiocarpo, con gambo e cappello.

La più recente classificazione filogenetica suddivide il phylum dei Basidiomiceti in tre Subphylum e riporta: (*Basidiomycota - Taxonomy - NCBI*, s.d.)

Phylum **Basidiomycota**

- Subphylum Agaricomycotina
 - Classe Agaricomycetes
 - Classe Dacrymycetes
 - Classe Tremellomycetes

- Subphylum Pucciniomycotina
 - Classe Agaricostilbomycetes
 - Classe Atractiellomycetes
 - Classe Classiculomycetes
 - Classe Cryptomycocolacomycetes
 - Classe Cystobasidiomycetes
 - Classe Microbotryomycetes
 - Classe Mixiomycetes
 - Classe Pucciniomycetes

- Subphylum Ustilaginomycotina
 - Classe Exobasidiomycetes
 - Classe Ustilaginomycetes

2.3 Aspetti nutrizionali

I funghi sono stati utilizzati nella dieta umana per migliaia di anni. Rappresentano una fonte nutrizionale povera di calorie e carboidrati, ricca di fibre, con la presenza di micronutrienti utili per la salute. Sono composti dal 90% di acqua ed i corpi fruttiferi dei funghi apportano dosi diverse dei tre macronutrienti: proteine, grassi e carboidrati. Importante tenere conto che la composizione nutrizionale varia parzialmente a seconda della specie presa in considerazione. Contengono, inoltre, anche tracce di proteine e una buona quantità di vitamine e sali minerali come potassio, fosforo, calcio e ferro (Manzi et al., 1999).

➤ *Carboidrati*

Nei corpi fruttiferi dei funghi il contenuto totale di carboidrati rappresenta dal *50 al 65%* del peso secco, comprendendo zuccheri quali monosaccaridi, loro derivati e oligosaccaridi. Ne fanno parte

anche certa quantità di zuccheri con funzione alcolica, come mannitolo e trealosio. Il trealosio è noto perché è in grado di prevenire la denaturazione delle proteine nelle cellule umane, quando queste sono esposte a stress ambientali come calore, freddo, ossidazione, essiccazione ecc.

➤ *Proteine*

Il contenuto di proteine varia circa dal 19 al 35% sulla sostanza secca. Con il loro contenuto di proteine i funghi apportano tutti gli aminoacidi essenziali e di questi quelli più rappresentati sono l'acido glutammico, l'acido aspartico e l'arginina. Oltre a questi, sono stati trovati due aminoacidi più insoliti, l'acido γ -aminobutirrico, un amminoacido non essenziale, e l'ornitina.

➤ *Lipidi*

I funghi apportano circa dal 2 al 6% di grassi su sostanza secca. Nei lipidi, il contenuto di acidi grassi insaturi è maggiore rispetto a quello degli acidi grassi saturi, in particolare l'acido palmitico, l'acido oleico e l'acido linoleico, sono quelli determinati in quantità più elevate. E' stata dimostrata l'importanza dell'acido linoleico come acido grasso essenziale per la sintesi di acidi grassi omega-3 coinvolti nella riduzione di colesterolo nel sangue, riducendo il rischio di malattie cardiovascolari (Ribeiro et al., 2009). La frazione lipidica dei funghi contiene anche tocoferoli, presenti in quantità elevate pari a 38,90 $\mu\text{g}/100\text{g}$ di sostanza secca in *Boletus edulis*, 27,63 $\mu\text{g}/100\text{g}$ in *Lentinus edodes* e 216 $\mu\text{g}/100\text{g}$ in *Xerocomus badius*. Confrontando altri alimenti, quantità più elevate di tocoferoli sono riscontrate negli oli, semi oleaginosi, ma la concentrazione presente nei funghi può essere paragonata a quella presente nel latte (80 $\mu\text{g}/100\text{g}$) o nel pomodoro (100 $\mu\text{g}/100\text{g}$) (Zaaboul & Liu, 2022).

➤ *Contenuto di vitamina D*

L'ergosterolo e la vitamina D₂ nei funghi sono stati rilevati per la prima volta nei primi anni 1930. I funghi, a differenza delle piante, hanno alte concentrazioni di ergosterolo nelle loro pareti cellulari. L'ergosterolo svolge un ruolo simile a quello del colesterolo negli animali: rafforza le membrane cellulari, modula la fluidità della membrana, regola il trasporto intracellulare. La concentrazione di ergosterolo varia a seconda della specie fungina, l'habitat, le condizioni climatiche dell'ambiente in cui si sviluppano i funghi e oscilla da 0,21 μg per 100g (*A. bisporus*) nei funghi coltivati, ad un valore più elevato 29,82 per 100 g in *C. tubaeformis* (Mattila et al., 1994). Il contenuto di vitamina D dipende non solo dalla concentrazione di ergosterolo presente nel fungo ma anche dall'esposizione ai raggi UV, e quindi dalla possibilità di conversione del precursore in vitamina D. Infatti la concentrazione di tale vitamina è molto variabile in base alle condizioni ambientali, del metodo di coltivazione; in un primo studio finlandese in otto campioni di funghi selvatici la quantità di vitamina D presente

variava da 3 a 30 μg su 100 g di peso fresco. Mentre se l'esposizione al sole è carente, in alcuni funghi coltivati la quantità di vitamina D risulta inferiore a 1 μg per 100 grammi di peso fresco, a causa della mancanza di luce durante la coltivazione.

Secondo il National Nutrient Database del Dipartimento dell'Agricoltura degli Stati Uniti, i funghi champignon sono elencati come contenenti meno di 1 $\mu\text{g}/100\text{g}$ di vitamina D₂. Poiché 100 grammi di funghi rappresentano una porzione tipica (circa tre funghi champignon), ciò implica che una porzione comune fornisce una quantità insignificante di vitamina D₂. (Cardwell et al., 2018).

➤ Altri nutrienti

La vitamina B₁₂ nei funghi è simile a quella che si trova nel manzo, nel fegato e nel pesce, e quindi essi possono essere una fonte dietetica importante per le persone che seguono una dieta vegana per tutta la vita.

La presenza di fibre alimentari (DF), tra cui β - glucani, complessi polisaccaridi-proteine, chitina, emicellulosi, mannani, xilani e galattosio fornisce una vasta gamma di benefici per la salute degli esseri umani. Triterpenoidi, sono sostanze bioattive, molecole aventi effetti benefici sulla salute degli organismi viventi, che aumentano il valore nutrizionale e rendono i funghi un alimento meraviglioso per le loro proprietà nutraceutiche. Negli ultimi anni, infatti, l'uso dei funghi si è esteso in misura più ampia non solo come alimento, ma anche nel settore farmaceutico, nutraceutico e cosmeceutico. (Rathore et al., 2017).

Capitolo 3

Radiazioni ultraviolette per l'aumento di vitamina D nei funghi

3.1 Funghi selvatici freschi e funghi freschi venduti al dettaglio

Le limitate fonti alimentari naturali di vitamina D e il riconoscimento sempre maggiore dell'importanza di tale vitamina per la salute umana hanno contribuito alla diffusione di alimenti fortificati, ovvero arricchiti di vitamina D (Bendik et al., 2014) . Quando le specie di funghi comunemente consumate sono esposte a una fonte di radiazioni ultraviolette (UV), come la luce solare o una lampada UV, possono generare quantità nutrizionalmente rilevanti di vitamina D. Durante la conversione dell'ergosterolo in vitamina D avviene una scissione fotochimica dell'anello B dell'ergosterolo sotto la radiazione UV e quindi l'intermedio (pre-vitamina D₂) subisce un successivo riarrangiamento termico per formare la vitamina D₂ (ergocalciferolo) (Jasinghe & Perera, 2005a).

La forma più comune di vitamina D nei funghi è la D₂, con minori quantità di vitamine D₃ e D₄. L'interesse per la vitamina D₂ nei funghi ha preso piede quando uno studio finlandese ha determinato la quantità di ergosterolo e vitamina D dei funghi coltivati e funghi freschi, in particolare finferli selvatici. I risultati riportarono un quantitativo più elevato di ergosterolo nei funghi coltivati (3,7-5,1mg per grammi di materia secca), rispetto ai funghi selvatici (1,4-4 mg per grammi di materia secca). Rilevando, invece, la quantità di vitamina D nei funghi selvatici finlandesi, raccolti nel periodo di fine estate e inizio autunno, questi presentavano contenuti più elevati di vitamina D₂ rispetto ai funghi champignon acquistati nei negozi al dettaglio (Teichmann et al., 2007). Un altro studio svedese ha analizzato i corpi fruttiferi di tre funghi selvatici raccolti in diverse foreste, quindi cresciuti in condizioni ambientali naturali, e il contenuto di vitamina D rilevato era rispettivamente di (Teichmann et al., 2007):

- 58,7 µg su 100 g di peso fresco in *Edulis di Boletus*
- 21,1 µg su 100 g di peso fresco in *Cantharellus tubaeformis*
- 10,7 µg su 100 g di peso fresco in *Cantharellus cibarius*

I funghi champignon venduti al dettaglio, invece, contenevano meno di 1 µg di vitamina D₂ per 100g di peso fresco, per esempio per *Agaricus bisporus* la quantità di vitamina D era di 0,3 µg su 100 g di peso fresco (Teichmann et al., 2007).

Questo è dovuto al fatto che la maggior parte dei funghi freschi per la vendita al dettaglio nel Regno Unito, in Europa, Nord America, Australia e Nuova Zelanda, in particolare il *fungo champignon*, viene coltivato al buio, raccolto e portato al mercato o ai punti vendita al dettaglio in trasporto refrigerato (Cardwell et al., 2018). Vengono solitamente coltivati in locali a controllo atmosferico, all'interno di stanze buie, l'unico momento in cui sono esposti alla luce è durante la raccolta sotto luci fluorescenti, che però emettono poca o nessuna radiazione UV, di conseguenza l'ergosterolo non può essere convertito in vitamina D (Teichmann et al., 2007). La scoperta di elevate concentrazioni di ergosterolo, il precursore della vitamina D₂, anche nei funghi coltivati, ha suscitato l'interesse per l'indagine del loro potenziale di produzione di vitamina D₂ in seguito all'esposizione all'irradiazione UV.

3.2 Funghi freschi esposti alla luce solare prima del consumo

Uno studio condotto a Blacksburg, Virginia (USA) (Amy S Rasor, 2013) , ha esaminato la composizione di una varietà di funghi commestibili coltivati, champignon bianchi, *Agaricus bisporus*, in seguito all'esposizione a condizioni ambientali differenti. Gli esperimenti sono stati eseguiti tra marzo 2011 e marzo 2013 in giorni diversi e circostanze variabili che influenzano l'esposizione ai raggi UV come per esempio ora del giorno, copertura nuvolosa, durata di esposizione. I funghi sono stati acquistati localmente 24 ore prima dell'inizio degli esperimenti. Sono stati poi distribuiti su diverse superfici, che includevano foglio di alluminio, padella di alluminio, padella antiaderente e carta bianca e posizionati all'aperto in un'area non soggetta a ombreggiamento per confrontare poi i risultati. Sono stati esposti in differenti ore della giornata e in un periodo che va da primavera 2011 a primavera 2013 durante il quale è stata misurata l'intensità dell'indice UV utilizzando un misuratore UV come stima dell'effettiva esposizione ai raggi UV.

La vitamina D₂ è stata estratta e analizzata mediante cromatografia liquida ad alta prestazione HPLC con rivelatore UV a 265 nm.

Analisi e risultati

Il contenuto iniziale di vitamina D₂ nei funghi champignon bianchi era di soli 10,5 UI/70 g (0,3µg su 70g) nei campioni di controllo non esposti ai raggi UV. Indipendentemente dalla stagione, dopo 15 minuti di esposizione a mezzogiorno a cielo sereno, la quantità di vitamina D è aumentata notevolmente, raggiungendo valori compresi tra 661 e 765 UI/70 g. Questo cambiamento ha portato i livelli di vitamina D₂ nei funghi da meno del 2% della RDA (assunzione di riferimento giornaliera) a oltre il 110% per porzione. Dopo 30 minuti di esposizione su superfici di padella di alluminio e

foglio di alluminio sono stati raggiunti livelli di vitamina D₂, pari a 1035-1153 UI/70 g, corrispondente al 172-192% dell'Assunzione Dietetica di Riferimento (RDA) (Amy S Rasor, 2013). Quindi l'esposizione di champignon bianchi alla luce del sole, sia in una giornata limpida ma anche nuvolosa in cui i raggi UV sono limitati, in media ha portato un incremento notevole dei livelli di vitamina D nei funghi. È necessario condurre ulteriori ricerche e approfondimenti su questo argomento ma potrebbe essere un metodo efficace per migliorare l'apporto di vitamina D con l'alimentazione.

Dopo aver eseguito l'esperimento a Blacksburg, sono state effettuate altre prove in diverse aree geografiche, per confrontare l'influenza delle diverse latitudini:

- Dexter; cielo per lo più sereno
- Corning, New York; cielo per lo più sereno
- Dallas, Texas; parzialmente nuvoloso
- Beltsville, MD; cielo per lo più sereno

I funghi champignon bianchi sono stati acquistati localmente ed esposti su fogli di alluminio alla luce solare per 18-30 min nei mesi di giugno e luglio 2012, tra le 10:30 e 11:30. I campioni sono stati congelati durante la notte e successivamente spediti a Blacksburg per essere analizzati in laboratorio.

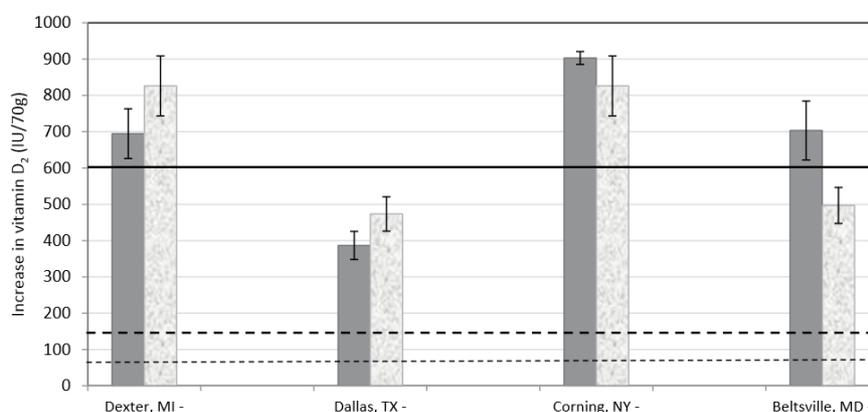


Figura 1. Incrementi di vitamina D nei funghi esposti alla luce solare a diverse latitudini (Amy S Rasor, 2013, p. 6).

Come illustrato nella Figura 1, nei primi tre casi (Dexter, Dallas, e Corning) il valore determinato di vitamina D₂ era entro il 10% rispetto al valore previsto, tranne per l'esperimento condotto a Beltsville, dove l'aumento è stato superiore alle aspettative. Il grafico illustra che potrebbe essere possibile prevedere l'aumento della vitamina D₂ in una specifica località con un determinato indice UV e con

una esposizione dei funghi di soli 20-30 min si potrebbe raggiungere un valore di 600UI pari all'assunzione dietetica di riferimento (Amy S Rasor, 2013).

3.3 Determinazione della distribuzione di ergosterolo nelle diverse parti dei funghi coltivati

Prendendo in considerazione i funghi appartenenti al *phylum* dei Basidiomiceti, molti studi sono concentrati sui due tipi di funghi più popolari, tra i consumatori, shiitake e funghi champignon bianchi. Il primo è più diffuso in Oriente e il secondo in Occidente, ma il consumo di funghi shiitake sta gradualmente aumentando anche in Occidente (Ko et al., 2008b). Prima di soffermare l'attenzione, però, sulle differenze tra le diverse specie fungine, è stato osservato, che la quantità di ergosterolo presente nei funghi varia non solo in base alla specie, ma anche nelle diverse parti che compongono il fungo stesso, quindi gambo, cappello e lamelle (Ko et al., 2008a).

Un'analisi svolta dall'accademica dell'Università Nazionale di Singapore ha mostrato una differenza significativa nella distribuzione della quantità di ergosterolo nei diversi tessuti (gambo, cappello e lamelle) di funghi shiitake. Pertanto, nei funghi interi, la conversione dell'ergosterolo in vitamina D₂, con l'esposizione ai raggi UV, è stato significativamente influenzato dall'orientamento dei tessuti del fungo verso i raggi UV. Solitamente in questi esperimenti, per ragioni pratiche, è stata utilizzata una lampada UV (Vilber Lourmat, T-15M) progettata per emettere radiazioni ultraviolette di tipo B con lunghezza d'onda di 280-320nm. I funghi shiitake freschi (*Lentinula edodes*) sono stati acquistati da un supermercato locale e sono stati utilizzati per gli esperimenti.

I funghi sono stati accuratamente separati in gambo, cappello ispessito (o pileo) e branchie, con l'uso di una lama affilata. Queste parti differiscono sia strutturalmente che morfologicamente, di conseguenza anche la composizione chimica può variare. Determinare la distribuzione dell'ergosterolo nel fungo potrebbe essere utile per interpretare la quantità di vitamina D presente poi nelle diverse parti del fungo che vengono comunemente consumate.

Queste tre parti sono state liofilizzate separatamente, coperte da un foglio di alluminio per evitare l'esposizione alla luce e conservate in un essiccatore sottovuoto prima dell'analisi.

Irradiazione dei tessuti fungini

I funghi sono stati divisi equamente in due lotti: un lotto è stato posizionato con le lamelle rivolte verso la sorgente UV e l'altro lotto è stato irradiato con il cappello rivolto verso la sorgente UV, posta a una distanza di 15 cm dai campioni in una camera di irradiazione. Sono stati irradiati per 2 ore ad una dose di irradiazione pari a 25,2 kJ/m². I campioni irradiati sono stati poi liofilizzati separatamente

e sono stati conservati in un essiccatore sottovuoto. Gli esperimenti di irradiazione sono stati effettuati a 27 °C e umidità relativa del 65%.

Analisi ergosterolo e vitamina D₂.

Ergosterolo e vitamina D₂ sono stati estratti e analizzati secondo il metodo di Mau et al. (1998), i campioni sono stati iniettati in un sistema HPLC con rivelatore UV ad assorbanza ed eluiti attraverso una colonna C18 in fase inversa per la separazione dell'analita.

Le vitamine D₂, D₃ e l'ergosterolo sono stati determinati confrontando i tempi di ritenzione degli standard e la quantificazione è stata effettuata utilizzando una curva di calibrazione.

I risultati hanno mostrato come i funghi shiitake contenevano quantità notevolmente elevate di ergosterolo e i livelli identificati sono stati rispettivamente:

- Branchie → 10,6µg/g DM (sostanza secca)
- Strato esterno al cappello → 5,34µg/g DM
- Gambo → 2,97µg/g DM

I risultati hanno mostrato che le distribuzioni dell'ergosterolo all'interno dei tessuti dei funghi erano significativamente diverse. La concentrazione di ergosterolo più elevata è stata trovata nelle branchie, mentre la più bassa era presente nel gambo dei funghi. Nelle branchie la concentrazione era quasi il doppio di quella trovata nello strato esterno dei cappelli, che a sua volta risultava poco più del doppio di quella trovata nel gambo/stelo. Questo diverso quantitativo è dovuto al fatto che gli steroli sono coinvolti nella stabilizzazione delle membrane ai raggi UV. I tessuti più giovani, come le branchie, tendono ad avere una maggiore concentrazione di steroli nelle membrane delle cellule, rispetto ai tessuti più vecchi, quindi gambi e cappelli.

Sebbene nelle lamelle dei funghi shiitake sia presente un buon quantitativo di ergosterolo, è importante sottolineare il fatto che l'analisi per la determinazione della vitamina D ha prodotto come risultato la quasi assenza di tale vitamina. Questo è probabilmente dovuto alla mancata esposizione dei funghi alla luce solare durante il processo di coltivazione. Per questo motivo, in questo esperimento sono stati irradiate le diverse parti del fungo per osservare in quale percentuale avvenisse la conversione dell'ergosterolo in Vitamina D₂.

I risultati hanno mostrato un alto tasso di conversione dell'ergosterolo in vitamina D₂ quando i funghi sono stati irradiati con le lamelle rivolte verso la sorgente UV, in cui la produzione di vitamina D₂ era di $22,8 \pm 2,71$ µg/g di sostanza secca. Quando, invece, erano rivolte in direzione opposta alla fonte di irradiazione (i cappelli rivolti verso la fonte di irradiazione), la resa di vitamina D₂ era solo $5,16 \pm 0,61$ µg/g SS. Vitamina D₂ come mostrato in Figura 2.

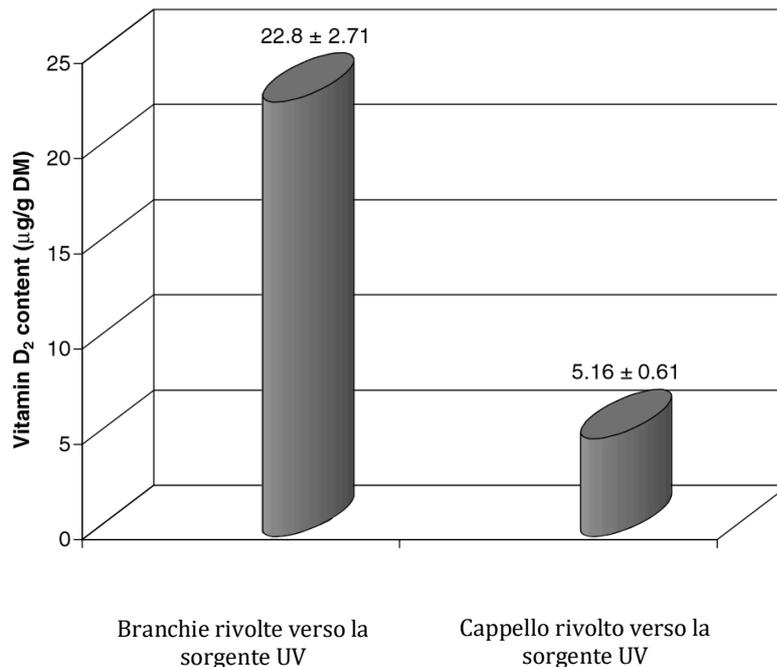


Figura 2. Differenti tessuti del fungo esposti alla luce ultravioletta (Jasinghe & Perera, 2005b, p. 543).

Anche se la concentrazione di ergosterolo nelle branchie dei funghi shiitake era solo circa due volte superiore a quella dello strato esterno del cappello, la figura illustra chiaramente un fattore di conversione circa 4 volte maggiore. Questo alto livello di conversione dell'ergosterolo in vitamina D₂ può essere dovuto alla morfologia fine delle lamelle, che consente una maggiore esposizione delle superfici all'irraggiamento rispetto al caso dei cappelli e alla loro maggiore attività metabolica rispetto ai cappelli e ai gambi. (Jasinghe & Perera, 2005a).

3.4 Confronto tra shiitake e champignon bianchi

Tra le varietà di funghi con un maggior tasso di conversione dell'ergosterolo in vitamina D, vi sono i funghi shiitake (*Lentinula edodes*) e Abalone (*Pleurotus cystidus*), mentre un tasso di conversione minore è stato osservato nei funghi champignon (*Agaricus bisporus*) (Jasinghe et al., 2007).

Uno studio condotto presso l'Università della Corea, ha confrontato l'aumento di vitamina D in seguito all'esposizione agli UVB nei due tipi di funghi più consumati nel mondo: shiitake e champignon bianchi.

I funghi shiitake freschi (*Lentinus edodes*) e i funghi champignon bianchi freschi (*Agaricus bisporus*) sono stati acquistati da un supermercato locale e sono stati utilizzati immediatamente negli esperimenti.

Dopo aver rimosso i gambi, i funghi shiitake sono stati preparati in due modi: interi e suddivisi in tre parti, ovvero il pileus (parte esterna del cappello), uno strato intermedio tra il cappello e la branchia (parte interna del cappello), e la branchia stessa.

Il pileus e lo strato intermedio sono stati successivamente tagliati in pezzi di dimensioni 1,5 cm in lunghezza, 1,5 cm in larghezza e 0,5 cm in altezza. Per quanto riguarda i funghi champignon bianchi, sono stati utilizzati sia interi che affettati in fette sottili di 0,5 cm nella direzione della lunghezza, come mostrato in Figura 3.

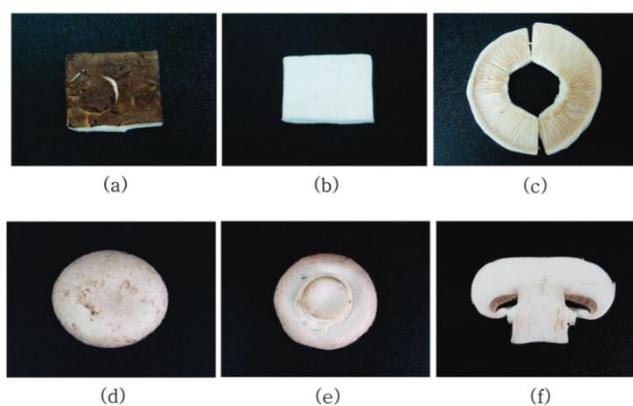


Figura 3. Funghi shiitake affettati (*Lentinula edodes*) in tre parti: (a) strato di pileus, (b) strato intermedio e (c) strato branchiale. Funghi champignon bianchi (*Agaricus bisporus*) in tre parti: (d) pileo intero, (e) branchia intera e (f) affettato. (Ko et al., 2008a, p. 3672).

Esposizione dei campioni ai raggi UV

I funghi shiitake sono stati posti su scaffali ed esposti a radiazioni UV-B a tre differenti dosi: 25 kJ/m², 50 kJ/m² e 75 kJ/m². Questa esposizione è stata effettuata all'interno di una camera UV utilizzando una lampada UV-B a una temperatura di 35 °C.

I funghi champignon bianchi, sono stati esposti a dosi di radiazioni UV-B pari a 10 kJ/m², 20 kJ/m² e 30 kJ/m². In seguito, i campioni irradiati sono stati sottoposti a liofilizzazione in modo separato e successivamente sono stati omogeneizzati. In preparazione all'analisi i campioni irradiati sono stati conservati a -20 °C.

Nella Figura 4 sono riportate le concentrazioni di vitamina D₂ in vari tessuti dei funghi shiitake esposti ai raggi UV-B. Nel campione di controllo (non esposto a raggi UV-B), la concentrazione di vitamina D₂ era di 2,77 µg/g. Dopo l'esposizione a una dose di UV-B pari a 25 kJ/m², sono stati osservati incrementi significativi della concentrazione di vitamina D₂, che sono stati di 36,7 µg/g per la parte esterna del cappello, 68,6 µg/g per lo strato intermedio e 106,4 µg/g per la branchia interna dei funghi Shiitake.

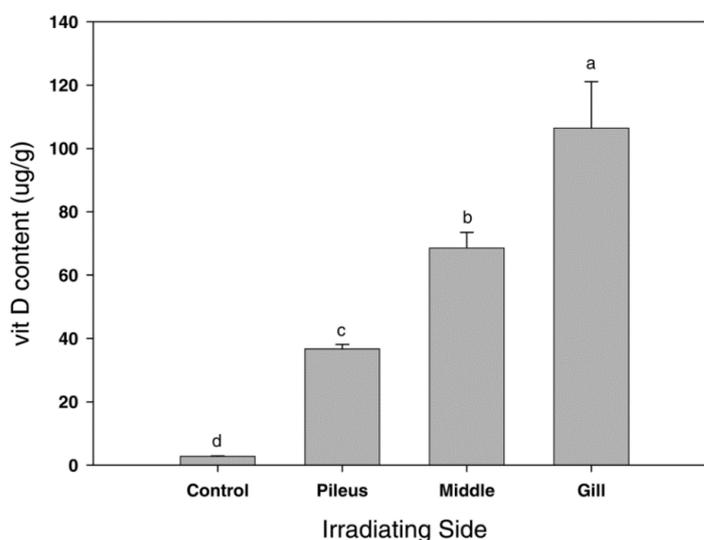


Figura 4. Il contenuto di vitamina D₂ in diverse parti del fungo shiitake esposte a una dose UV-B di 25 kJ/m² (Ko et al., 2008a, p. 3672).

È interessante notare che la branchia ha prodotto una concentrazione di vitamina D notevolmente maggiore rispetto al pileo e agli strati intermedi, confermando lo studio precedente (Jasinghe & Perera, 2005a).

Per i funghi champignon bianchi è stata utilizzata una dose di irradiazione di UVB che variava da 10 a 30 kJ/m², inferiore a quella utilizzata per i funghi shiitake in quanto un dosaggio più elevato porta ad una diminuzione della qualità dei funghi, determinando uno scolorimento della superficie e una diminuzione nel contenuto di umidità.

I funghi champignon bianchi interi sono stati esposti a diverse quantità di radiazioni UV-B, con il cappello del fungo rivolto in modo differente alla sorgente d'irradiazione. In figura 5 viene riportata la differenza di concentrazione di vitamina D:

- quando venivano esposti con il cappello rivolto verso la sorgente UVB, con dose di irradiazione di 10 kJ/m², il contenuto di vitamina D₂ era pari a 8,48 µg/g, mentre dopo una dose di 20 kJ/m² il contenuto aumentava a 13,03 µg/g;
- Nel caso dei funghi con la parte inferiore (branchia) esposta, le concentrazioni erano più elevate, raggiungendo 14,4 µg/g dopo 10 kJ/m² e 16,7 µg/g dopo 20 kJ/m² di irradiazione.

Quindi la concentrazione di vitamina D non solo aumenta a seconda della parte del fungo che viene esposta, ma anche con l'incremento della dose di irradiazione.

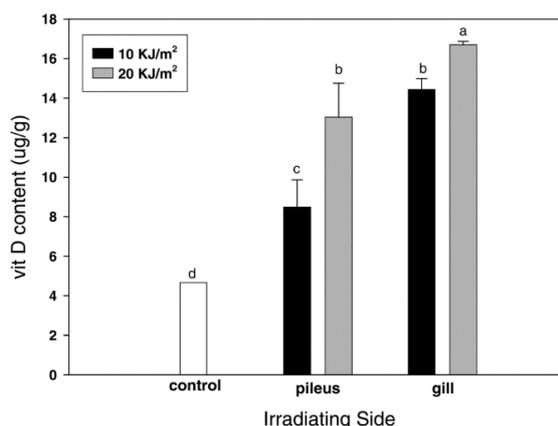


Figura 5. Incremento del contenuto di vitamina D con l'aumento della dose di irradiazione per i champignon bianchi

(Ko et al., 2008a, p. 3673).

Per i funghi champignon bianchi è stato fatto anche il confronto tra funghi interi e affettati, determinando che quando venivano affettati e irradiati con una dose di 30kJ/m², la quantità di vitamina D sintetizzata era circa di 30 µg/g, quindi superiore rispetto a quella dei funghi interi. Questo è sempre dovuto al fatto che nei funghi affettati la superficie della branchia esposta è maggiore.

Sfruttando l'esposizione dei funghi alla luce ultravioletta è quindi possibile, ottenere un significativo aumento nei livelli di vitamina D₂. La quantità prodotta varia in base a diversi fattori di esposizione: nei funghi affettati la concentrazione di vitamina era maggiore rispetto ai funghi esposti interi dove

la radiazione UVB agisce esclusivamente sulla superficie esterna del fungo. Tenendo conto di queste accortezze emerge l'importanza di esporre completamente tutti i lati dei funghi ai raggi UVB per ottenere i massimi benefici per quanto riguarda la vitamina D₂ (Ko et al., 2008b).

3.5 Funghi champignon bianchi esposti a luce UV pulsata

Un altro studio ha analizzato il contenuto di vitamina D₂ in *Agaricus bisporus* in seguito all'esposizione ad una lampada UV pulsata, in grado di fornire raggi UV sottoforma di impulsi in tempi molto brevi.

I funghi sono stati suddivisi in due vaschette di plastica destinate a due differenti analisi: nella prima, i funghi sono stati analizzati interi, nella seconda sono stati tagliati a fette di 5mm ciascuna. I campioni sono stati posizionati in un nastro trasportatore e sottoposti a un numero di impulsi di 2,5, 3, 6, 9 dove un tempo di esposizione di 1 secondo corrispondeva a 2,5 impulsi e la dose media era di 11,50 kJ/m².

I risultati in tabella 1 mettono in evidenza che, nei funghi interi, la quantità di vitamina D₂ prodotta è direttamente proporzionale al numero di impulsi, raggiungendo livelli molto elevati anche dopo 6 impulsi, vale a dire circa 3 secondi di esposizione.

Punnet size	Pulses (No.)	Vitamin D ₂	
		µg/g/dry wt	µg/84 g/serve
200 g	2.5	8.2 ± 1.0	73.7 ± 8.1
	3	9.4 ± 0.5	84.7 ± 3.8
	6	12.8 ± 2.3	114.8 ± 18.2
	9	18.0 ± 5.5	161.1 ± 44.4

Tabella 1. Contenuto di vitamina D₂ nei funghi interi sottoposti a luce UV pulsata (Koyyalamudi et al., 2011a, p. 978).

Per i funghi affettati, la quantità di vitamina D raggiunta, a parità di impulsi, risulta ancora più elevata rispetto ai funghi interi, come illustrato in tabella 2. Questo può essere dovuto alle differenti dimensioni e geometria dei funghi, che influenzano la superficie di esposizione.

Slices	Pulses (No.)	Vitamin D ₂	
		µg/g/dry wt	µg/84 g/serve
Single layer	2.5	81.3 ± 13.4	728.2 ± 107.4
	3	76.6 ± 11.5	686.7 ± 94.4
	6	120.8 ± 5.9	1082.6 ± 47.2
	9	145.1 ± 21.0	1300.1 ± 163.5

Tabella 2. Contenuto di vitamina D₂ nei funghi affettati sottoposti a luce UV pulsata (Koyyalamudi et al., 2011a, p. 979).

Questo studio ha dimostrato che l'utilizzo di lampade a luce UV pulsata consente di fornire impulsi ad alta intensità in pochi secondi, ottimizzando quindi i tempi di esposizione dei funghi ai raggi UV, e questo potrebbe rappresentare un vantaggio nei processi industriali.

Tuttavia, queste lampade hanno elevati costi di acquisto e questo può essere poco accessibile a molti coltivatori (Koyyalamudi et al., 2011b).

3.6 Effetto della temperatura sulla conversione dell'ergosterolo in vitamina D

La conversione dell'ergosterolo in vitamina D nei funghi può essere influenzata anche dalla temperatura di esposizione. Il precedente studio (Jasinghe & Perera, 2005b) ha esaminato la quantità di vitamina D prodotta nei funghi shiitake, a partire dall'ergosterolo, a diverse temperature. La figura 6 illustra la variazione della quantità di vitamina D prodotta al variare della temperatura.

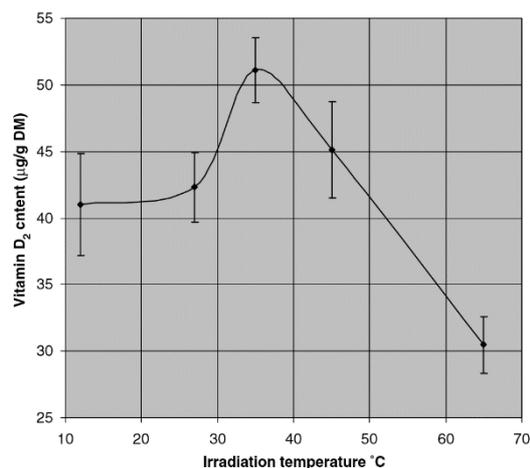


Figura 6. Andamento della concentrazione di vitamina D al variare della temperatura di irradiazione (Jasinghe & Perera, 2005b, p. 545).

Con l'inizio dell'esposizione dei funghi ai raggi UVB, quando la temperatura è di circa 10°C, i livelli di vitamina D sono abbastanza stabili, successivamente con l'incremento della temperatura di esposizione, la quantità di ergosterolo convertita in vitamina D aumenta, fino al raggiungimento di un livello massimo (in questo caso di circa 52µg/g di peso fresco) in corrispondenza di 30-35°C dove la resa di vitamina D risulta maggiore, in accordo anche con il precedente studio (Ko et al., 2008a).

Con l'utilizzo di una temperatura superiore la quantità di vitamina D prodotta è inferiore in quanto, temperature elevate possono portare alla morte cellulare, imbrunimenti dei tessuti fungini, stress ossidativo delle cellule (Jasinghe & Perera, 2005b).

Capitolo 4

Funghi secchi esposti alle radiazioni UV

I funghi sono alimenti molto deperibili in quanto contengono circa il 90% di acqua. Uno dei principali metodi di conservazione per aumentare la *shelf-life* di questi prodotti è l'essiccazione (Kc et al., 2022): questa consente di rimuovere l'acqua presente nei funghi mantenendo il 15% del peso originale dei funghi freschi. Con l'essiccazione si ottiene quindi una riduzione delle dimensioni, del peso, si facilita il trasporto, rendendo i funghi alimenti anche più economici (Cardwell et al., 2018). La conversione dell'ergosterolo in vitamina D in seguito all'esposizione ai raggi ultravioletti, può avvenire durante la crescita dei funghi o dopo la raccolta. I funghi, però, sono alimenti molto deperibili e subito dopo la raccolta devono essere refrigerati, quindi una possibile esposizione ai raggi UV nella fase di post-raccolta potrebbe essere un problema, in quanto la conversione dell'ergosterolo in vitamina D non avviene in modo ottimale a temperature di refrigerazione. Per questo motivo un metodo molto utilizzato per la conservazione dei funghi post-raccolta è l'essiccazione (Sławińska et al., 2016).

Dopo aver aumentato il contenuto di vitamina D nei funghi freschi, è interessante osservare come varia la concentrazione di vitamina D nei funghi in seguito a diversi processi di essiccazione. L'essiccazione dei funghi può contribuire a migliorare il loro sapore unico, preservare il colore, ottenere una consistenza superiore e consentire una completa reidratazione in acqua. Per soddisfare tali requisiti, sono state studiate varie metodologie di essiccazione dei funghi, determinando quali garantiscono il migliore mantenimento delle proprietà nutrizionali, in termini di vitamina D. Le principali tecniche sono l'essiccazione solare, l'essiccazione sottovuoto, l'essiccazione assistita da microonde e l'essiccazione a infrarossi (Jiang et al., 2020a).

4.1 Essiccazione al sole

L'essiccazione naturale al sole è uno dei primi metodi utilizzati per la conservazione dei funghi. Questo processo prevede la distribuzione dei funghi su vassoi o griglie e la loro successiva esposizione ai raggi solari, consentendo la perdita di umidità per evaporazione naturale. L'essiccazione al sole a differenza di altri metodi consente un elevato risparmio energetico, un basso investimento e la semplicità d'uso. Tra i pochi studi che hanno esaminato il contenuto di vitamina D nei funghi durante l'essiccazione solare, uno condotto in Danimarca ha determinato la variazione di vitamina D₂ in *Agaricus bisporus*, una varietà di funghi coltivati. Dopo 15 minuti di esposizione, con dose di raggi UV di 1,3 kJ/m² la quantità di vitamina D passava da 2,2µg/g DW (peso secco) a

17,6µg/g DM (Urbain & Jakobsen, 2015). Anche un altro studio condotto in Cina, in cui però non sono stati forniti dettagli sulla metodologia utilizzata, ha determinato una concentrazione di vitamina D pari a 16,96µg/g DM in 35 specie di funghi essiccati (Cardwell et al., 2018).

Tuttavia questa tecnica di essiccazione presenta alcuni svantaggi, in quanto è molto vulnerabile ad alcuni fattori che possono alterare la qualità dei funghi esposti, come l'inquinamento ambientale, la contaminazione da polveri, insetti o corpi estranei. Inoltre è spesso incompleta poiché l'efficienza del processo dipende molto dalle condizioni metereologiche. Nelle giornate nuvolose non sempre avviene una sufficiente esposizione ai raggi solari, che garantiscono un'essiccazione ottimale, di conseguenza i funghi sono maggiormente suscettibili all'attacco da parte di muffe o batteri deterioranti, che si sviluppano ad un elevato contenuto di umidità rendendo i funghi non idonei al consumo umano (Jiang et al., 2020a). Questo fenomeno rende l'essiccazione al sole un metodo non utilizzabile tutto l'anno ma solo in determinati periodi.

Per affrontare queste sfide, con l'evoluzione della tecnologia, sono stati sviluppati essiccatori solari specializzati per migliorare l'efficienza del processo di essiccazione. In questi essiccatori, i funghi vengono posizionati all'interno di una camera controllata, in modo tale da proteggere i funghi da inquinanti ambientali e condizioni meteorologiche avverse. L'utilizzo dell'energia solare per l'essiccazione riduce anche la dipendenza da fonti di energia non rinnovabile, contribuendo al risparmio energetico e alla sostenibilità ambientale (Jiang et al., 2020b). L'essiccazione al sole risulta, comunque, un metodo utilizzato soprattutto nei Paesi Asiatici ma al giorno d'oggi si sta via via abbandonando, con lo sviluppo di tecnologie che permettono un controllo maggiore nel processo di essiccazione (Cardwell et al., 2018).

4.2 Essiccazione ad aria calda

Uno dei metodi di essiccazione più utilizzati che permettono di velocizzare il processo è l'essiccazione ad aria calda. Questo è importante in quanto uno studio effettuato sui funghi shiitake, ha rilevato che il contenuto di umidità ottimale per la conversione dell'ergosterolo è circa del 78%. Molti studi si sono concentrati sull'esposizione dei funghi a fonti di radiazioni ultraviolette prima che il contenuto di umidità scenda al di sotto del 78%, in quanto la diluizione della molecola di ergosterolo in alto contenuto di acqua provoca una maggiore conversione di tale molecola. Per avere un processo più controllato, l'essiccazione al sole è stata sostituita dal metodo di essiccazione ad aria calda, un metodo che permette un maggior controllo della temperatura, e dei fattori ambientali che potrebbero influenzare negativamente la qualità dei funghi. I funghi vengono posizionati su vassoio e riposti all'interno di un tunnel, in cui viene raggiunta una temperatura di 50-70°C. L'elevata temperatura e velocità della convezione dell'aria, permettono la rimozione rapida dell'umidità presente nei funghi.

Il controllo della temperatura è di elevata importanza in quanto, se durante l'essiccazione dei funghi la temperatura sale al di sopra del valore ottimale, può provocare reazioni di imbrunimento tra zuccheri e le proteine del fungo, con effetto di imbrunimento significativo di questi alimenti (Jiang et al., 2020a).

4.3 Liofilizzazione

Anche la liofilizzazione è un processo sempre più utilizzato per la conservazione dei funghi. In questo metodo viene congelata l'acqua presente nei funghi che successivamente sublima direttamente da ghiaccio a vapore acqueo. Viene utilizzata una temperatura molto bassa, che consente di bloccare le reazioni enzimatiche e lo sviluppo dei microrganismi e la conservazione dei nutrienti dei funghi, in particolare delle molecole sensibili al calore. Tuttavia, nonostante i numerosi vantaggi è una tecnica molto costosa e richiede consumo di energia perché richiede il congelamento di prodotti freschi a basse temperature (Jiang et al., 2020a).

Uno studio (Sławińska et al., 2016) ha determinato la stabilità della vitamina D in diversi tipi di funghi irradiati con UVB, dopo l'essiccazione e durante la conservazione dei funghi con il trascorrere del tempo.

I funghi utilizzati per gli esperimenti sono:

- Funghi champignon bianchi (*Agaricus bisporus*)
- Funghi Ostrica (*Pleurotus ostreatus*)
- Funghi shiitake (*Lentinula edodes*)

Esperimento 1: Funghi freschi esposti a irradiazione e poi essiccazione

I funghi interi freschi sono stati stesi in un unico strato e irradiati con le branchie rivolte verso la sorgente UVB per 30 min. Alcuni campioni, in seguito, sono stati tagliati a fette di 3-4mm e sottoposti all'essiccazione ad aria calda in un essiccatore convettivo in cui la temperatura iniziale è di 30°C e quella finale di 60°C. I funghi sono stati conservati e sono stati effettuati campionamenti per determinare il contenuto di vitamina D dopo 1, 3, 8, 12 e 18 mesi.

Esperimento 2: Funghi essiccati e poi esposti a radiazione UVB

Lo stesso studio ha esaminato il contenuto di vitamina D nei funghi essiccati e poi esposti ai raggi UVB. I funghi freschi affettati sono stati congelati a -20°C per 24 ore e poi, in parte, liofilizzati per 72 ore. Un'altra parte dei funghi invece è stata sottoposta ad essiccazione ad aria calda ed entro 12 ore dal completamento di essiccazione, i funghi sono stati irradiati con raggi UVB.

La variazione di vitamina D è stata analizzata nei funghi sottoposti prima ad irradiazione e poi ad essiccazione ad aria calda. I risultati illustrati in tabella 3, mettono in evidenza che il processo di essiccazione non provoca una diminuzione del quantitativo di vitamina D sintetizzato con l'esposizione ai raggi UV, per i funghi Champignon bianchi e funghi ostrica. Mentre nei corpi fruttiferi dei funghi shiitake si è verificata una diminuzione di vitamina D da $29,33\mu\text{g/g}$ di peso secco a $26,20\mu\text{g/g}$: probabilmente i tessuti fungini dello shiitake sono maggiormente sensibili alle temperature. Di conseguenza è possibile ritenere questo processo un metodo valido per la conservazione senza alterare le proprietà dei funghi. Una notevole variazione della concentrazione di vitamina D è stata osservata, invece, nei diversi mesi di conservazione, con una diminuzione sostanziale con il passare del tempo; i funghi sono stati conservati in contenitori di plastica ben chiusi, posti in un luogo buio e asciutto (non sono stati utilizzati contenitori protettivi con atmosfera modificata). Dopo 18 mesi di conservazione la quantità di vitamina D nei funghi ostrica è calata drasticamente, circa del 66%, passando da $56,29\mu\text{g/g DW}$ a $37,66\mu\text{g/g DW}$, mentre nei funghi champignon e shiitake vi è stato un calo meno drastico, circa del 48%.

Storage time	Vitamin D ₂ content \pm SD ($\mu\text{g/g dw}$)		
	<i>Agaricus bisporus</i>	<i>Pleurotus ostreatus</i>	<i>Lentinula edodes</i>
Fresh mushrooms**	$13.10 \pm 1.6^{\text{CA}}$	$56.60 \pm 0.82^{\text{CC}}$	$29.33 \pm 2.24^{\text{dB}}$
Immediately after drying	$14.28 \pm 1.75^{\text{CA}}$	$56.29 \pm 1.36^{\text{CC}}$	$26.20 \pm 2.14^{\text{cdB}}$
1 month	$13.34 \pm 0.33^{\text{CA}}$	$54.97 \pm 1.48^{\text{CC}}$	$26.10 \pm 1.85^{\text{cdB}}$
3 months	$11.59 \pm 0.35^{\text{bcA}}$	$54.59 \pm 1.30^{\text{CC}}$	$23.84 \pm 1.34^{\text{bcB}}$
8 months	$9.27 \pm 0.62^{\text{abA}}$	$52.37 \pm 0.77^{\text{CC}}$	$21.13 \pm 0.75^{\text{abB}}$
12 months	$7.73 \pm 1.87^{\text{aA}}$	$46.13 \pm 2.18^{\text{bc}}$	$19.47 \pm 1.52^{\text{abB}}$
18 months	$6.90 \pm 1.10^{\text{aA}}$	$37.66 \pm 3.77^{\text{aC}}$	$17.92 \pm 0.80^{\text{aB}}$

Tabella 3. Variazione del contenuto di vitamina D nei funghi irradiati, essiccati e conservati per diversi mesi (Sławińska et al., 2016, p. 205).

Come illustrato nella tabella 4, anche l'irradiazione di funghi essiccati ha condotto a buoni risultati. Per entrambi i metodi di essiccazione, con l'aumento dell'esposizione all'irradiazione è aumentata anche la quantità di vitamina D prodotta, ad eccezione dei funghi ostrica in cui dopo 15 minuti di esposizione ai raggi UV il quantitativo di vitamina D ha subito un decremento (dopo 20 minuti se essiccati ad aria calda) questo probabilmente per il motivo citato precedentemente. Confrontando invece, i due metodi di essiccazione possiamo osservare che, con l'esposizione ai raggi UVB, i funghi liofilizzati contenevano livelli di vitamina D maggiori rispetto ai funghi essiccati ad aria calda ad eccezione di *Pleurotus* in cui il contenuto di vitamina D dopo 30 min di esposizione ai raggi UVB non variava drasticamente in liofilizzato o essiccato ad aria calda. Dopo 30 minuti di esposizione nei funghi *Agaricus* liofilizzati, la quantità di vitamina D era di circa 119,21 µg su g di sostanza secca.

Time of UVB irradiation (min)	Vitamin D ₂ content ± SD (µg/g dw)					
	<i>Agaricus bisporus</i>		<i>Pleurotus ostreatus</i>		<i>Lentinula edodes</i>	
	Hot-air dried	Freeze dried	Hot-air dried	Freeze dried	Hot-air dried	Freeze dried
5	21.51 ± 1.13 ^{aA}	42.08 ± 0.9 ^{aB}	5.46 ± 0.4 ^{aA}	23.76 ± 1.15 ^{aB}	7.75 ± 1.06 ^{aA}	11.2 ± 1.96 ^{aA}
10	34.77 ± 0.48 ^{bA}	79.91 ± 2.51 ^{bB}	23.51 ± 1.85 ^{bA}	40.7 ± 1.01 ^{bB}	20 ± 1.24 ^{bA}	18.97 ± 1.39 ^{bA}
15	53.26 ± 1.14 ^{cA}	91.07 ± 2.17 ^{cB}	28.06 ± 1.46 ^{cA}	59.04 ± 1.54 ^{eB}	26.71 ± 1.14 ^{cA}	27.52 ± 1.34 ^{cA}
20	71.16 ± 0.59 ^{dA}	100.09 ± 2.22 ^{dB}	40 ± 1.49 ^{eA}	45.65 ± 1.44 ^{dB}	31.34 ± 1.81 ^{dA}	41.16 ± 1.46 ^{dB}
30	81.17 ± 1.94 ^{eA}	119.21 ± 1.38 ^{eB}	31.85 ± 1.86 ^{dA}	34.63 ± 0.91 ^{cA}	41.64 ± 1.21 ^{eA}	59.89 ± 1.36 ^{eB}

Tabella 4. Livelli di vitamina D nei funghi essiccati e successivamente irradiati con UVB (Sławińska et al., 2016, p. 206).

Questi risultati sembrano contraddire lo studio di (Jiang et al., 2020a) secondo il quale l'irradiazione con raggi UVB nei funghi deve avvenire prima che il contenuto di umidità scenda al di sotto del 70%. Essendo uno studio meno recente, questo può essere dovuto allo sviluppo di nuove tecnologie che hanno permesso di esaminare più nel dettaglio anche i funghi essiccati. Infatti esaminando i risultati in tabella 2, i tre funghi più consumati al mondo, in seguito a processi conservativi, come in questo caso l'essiccazione, una volta essiccati o liofilizzati, quando vengono irradiati, contengono elevati quantitativi di vitamina D. A sostegno di questa tesi, altri tre studi hanno confermato l'aumento di tale vitamina con l'irradiazione UVB dei funghi secchi.

Sebbene l'essiccazione ad aria calda abbia condotto a livelli abbastanza elevati di vitamina D, la liofilizzazione presenta un metodo più efficace per la conservazione dei funghi alterando in minor modo le proprietà di tali alimenti (Sławińska et al., 2016).

Aumento di vitamina D nei funghi freschi e nella polvere secca in due diversi momenti della lavorazione.

Uno studio molto recente (Hidalgo-Sanz et al., 2023) ha determinato la differenza di concentrazione di vitamina D nei funghi freschi, nei sottoprodotti (le basi del gambo, parti che non vengono commercializzate) e nella polvere secca dei funghi Portobello.

I funghi sono stati lavati, le parti commerciali sono state separate con un coltello per separare i sottoprodotti. Sia i funghi freschi che i sottoprodotti sono stati tagliati a fette spesse 3mm, che sono state essiccate a 40°C. Successivamente una parte delle fette essiccate sono state macinate in un mulino e ridotte in polvere secca. Questi campioni sono stati posti sotto lampade UVB per diverse dosi: da 0 a 48KJ tra 0 e 50min.

- FI: sono stati esposti ai raggi UV funghi freschi a fette.
- DI: è stata esposta ai raggi UVB la polvere di funghi essiccati;
- FDI: 75% della dose di raggi UVB è stata applicata sulle fette fresche, mentre il 25% della dose sulla polvere essiccata.

In questo esperimento quindi la dose di UVB è stata suddivisa in due momenti della lavorazione due funghi. Dopo il tempo di esposizione per ciascuna dose, i campioni sono stati coperti con filtri UV in policarbonato, questo è stato ripetuto fino al completamento di tutte le dosi, in modo tale che tutti i campioni fossero esposti alle stesse condizioni ad eccezione delle dosi UVB variabili.

I risultati mettono in evidenza che la quantità di vitamina D è aumentata con l'incremento della dose di UVB utilizzata fino a raggiungere un picco ottimale a 24 KJ/m².

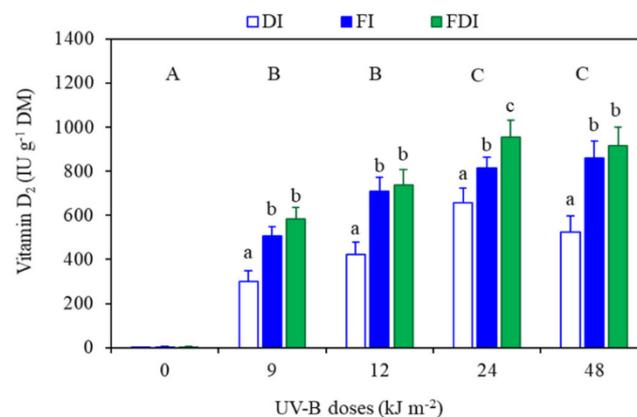


Figura 7. Concentrazione di vitamina D nei rispettivi campioni FI, DI, FDI, irradiati a diverse dosi di UVB (Hidalgo-Sanz et al., 2023, p. 4)

La concentrazione maggiore di vitamina D è stata ottenuta nell'analisi FDI, quando l'esposizione ai raggi UVB è stata ottenuta in due diversi momenti della lavorazione: il 75% dei raggi UVB nei funghi freschi e il restante 25% nella polvere secca, raggiungendo un livello di 1000 UI/g di peso secco. Il contenuto nei sottoprodotti, risulta inferiore ma comunque 500 volte superiore rispetto ai campioni di controllo non esposti ai raggi UVB, e anche se non sono parti commercializzabili per il consumo umano, può avere vantaggio per la produzione di alimenti arricchiti di vitamina D per l'alimentazione degli animali (Hidalgo-Sanz et al., 2023).

Altri studi (Mau et al., 1998) hanno provato ad aumentare il tempo di esposizione ai raggi UVB fino a 24 ore nei funghi champignon bianchi e funghi ostrica ottenendo livelli di vitamina D molto più alti circa di 2200 UI/g. Tuttavia questi tempi di esposizione più lunghi sono poco pratici per la produzione commerciale (Hidalgo-Sanz et al., 2023).

Capitolo 5

Effetto della cottura domestica sulla ritenzione della vitamina D nei funghi irradiati con raggi UV

5.1 Ritenzione della vitamina D in seguito a diversi metodi di cottura dei funghi

I funghi sono alimenti consumati in tutto il mondo e vengono trattati come ortaggi in molte ricette culinarie. Come approvato dai precedenti studi, una porzione non elevata di funghi (circa 100g) se esposti ad una fonte di radiazioni UV, raggi solari o lampade UVB, possono contenere un'elevata quantità di vitamina D variabile da 12-160 μg su 100 grammi di peso secco a seconda della durata di esposizione e intensità della radiazione UVB. Anche utilizzando l'essiccazione come metodo di conservazione, i livelli di vitamina D rimangono molto buoni e quasi invariati.

I funghi vengono utilizzati in molte ricette culinarie, e diversi metodi di cottura o preparazione di questi alimenti possono impattare negativamente i livelli di vitamina D: non vi sono molti studi riguardo l'influenza della cottura domestica ma sono state ottenute alcune informazioni grazie a due principali esperimenti riguardo la ritenzione della vitamina D nei funghi in seguito a diversi tipi di cottura casalinga (Cardwell et al., 2023).

5.2 Primo studio su campioni di funghi shiitake

Sono stati esaminati 41 campioni di funghi, raccolti da una fattoria in Australia occidentale. I funghi sono stati esposti a radiazioni UV tramite una lampada allo xeno pulsata con dose di $200\text{mJ}/\text{cm}^2$ posta ad una distanza di 10m, e in seguito sono stati essiccati all'aria ad una temperatura di 60°C , utilizzata normalmente in ambiente commerciali. I campioni dopo essere stati irradiati ed essiccati sono stati conservati a 4°C per quattro giorni prima dell'utilizzo. Prima della cottura i funghi sono stati reidratati in acqua, in cui la temperatura iniziale era di 50°C ma successivamente è diminuita a 36°C dopo 1 ora e 28°C dopo 2 ore. La diminuzione di temperatura nel tempo era indice di una replicazione di reidratazione casalinga, in cui i funghi vengono lasciati in acqua 1 o 2 ore prima della cottura. Successivamente alcuni campioni in modo casuale sono stati sottoposti ai seguenti metodi di cottura:

1. Campione di controllo: solo reidratazione

I campioni sono stati irradiati, essiccati all'aria, conservati a 4°C per quattro giorni e in seguito reidratati;

2. Reidratazione e fritto a secco per 5 minuti

I campioni sono stati reidratati ed entro 60 minuti dalla reidratazione sono stati fritti a secco in una padella antiaderente per 5 minuti.

3. Reidratazione e cotto per 10 minuti

I campioni sono stati cotti per 10 minuti in un forno ventilato preriscaldato a 200°C.

4. Reidratazione e bollito in acqua deionizzata a pH 5,5 per 20 minuti

I campioni sono stati bolliti per 20 minuti in 500ml di acqua deionizzata prima, ad un pH di 5,5, a 90°C entro un'ora dalla reidratazione. La temperatura dell'acqua è stata misurata ogni 5 minuti per garantire rimanesse costante.

5. Reidratazione e bollito in acqua deionizzata a pH 3,5 per 20 minuti

I campioni sono stati bolliti con la stessa procedura del punto 4 ma in acqua deionizzata ad un pH di 3,5 regolato con l'aggiunta di succo di limone fresco. Sono stati utilizzati due pH differenti in quanto in uno studio precedente (Ložnjak & Jakobsen, 2018a) era stata identificata una ritenzione maggiore a pH 3,5 in quanto il succo di limone è in grado di preservare la vitamina D.

I campioni dopo ciascun metodo di cottura sono stati liofilizzati prima dell'analisi.

I funghi sono stati pesati allo stato fresco, dopo l'essiccazione, dopo la reidratazione e dopo la cottura e dopo la liofilizzazione per determinare l'eventuale perdita di peso e quindi anche di vitamina D. Per determinare la percentuale di perdita di peso dovuta alla cottura, rispetto al peso reidratato, è stata utilizzata la seguente formula (1):

$$(1) \% \text{ perdita di peso} = \frac{\text{peso del campione reidratato prima della cottura (g)} - \text{peso dopo la cottura (g)}}{\text{peso del campione reidratato prima della cottura (g)}} \times 100$$

Analisi e risultati

Le dosi di irradiazioni sono state accuratamente misurate in modo tale da garantire una dose costante nel tempo, tuttavia è importante tenere conto che la ritenzione della vitamina D potrebbe variare a seconda delle condizioni di essiccazione utilizzate.

	Cook temp (°C)	Time (min)	Mushroom internal temp (°C)	Vitamin D ₂ µg/g DW	True retention % vitamin D ₂
Fresh ²	N/A	N/A	N/A	<LOQ ¹	N/A
Irradiated, dried, rehydrated (control) ³	N/A	N/A	N/A	14.8 ± 3.0 ^a	N/A
Irradiated, dried, rehydrated, dry-fried ³	n.m.	5	53 ± 5.0	17.9 ± 1.9 ^a	109 ± 3 ^b
Irradiated, dried, rehydrated, baked, oven ³	200 °C	10	56 ± 7.5	17.7 ± 3.1 ^a	108 ± 4 ^b
Irradiated, rehydrated, dried, boiled, pH 5.5 ³	90 °C	20	82 ± 3.9	16.6 ± 1.0 ^a	100 ± 2 ^b
Irradiated, rehydrated, dried, boiled, pH 3.5 ³	90 °C	20	82 ± 3.9	17.9 ± 1.6 ^a	101 ± 2 ^b

Tabella 5. Ritenzione livelli di vitamina D nei funghi dopo differenti metodi di cottura (Cardwell et al., 2023, p. 5).

Come riportato in tabella 5, per i funghi fritti a secco la ritenzione della vitamina D₂ era del 109%, per i funghi sottoposti ad una cottura al forno risultava del 108%, mentre per i funghi bolliti a pH 5,5 e 3,5 la ritenzione di vitamina D era del 100%, inferiore quindi a tutti gli altri metodi. Questo fenomeno può essere spiegato dalla percentuale di perdita di peso dei funghi, riportati in tabella 6, durante la bollitura rispetto agli altri metodi di cottura:

Treatment	Fresh weight (g)	Air-dried weight (g)	% weight loss ¹	Rehydrated weight (g)	RR	Cooked weight (g)	% weight loss ²	Freeze-dried weight (g)	% weight loss ³
Fresh ⁴	199.2	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	19.2	90.4
Irradiated, dried, rehydrated (control) ⁵	209.1 ± 5.1	25.4 ± 4.0	88 ± 2	57.0 ± 4.9	2.2	N/A	N/A	12.0 ± 0.9	94.2 ± 0.4 ^b
Irradiated, dried, rehydrated, dry-fried ⁵	207.0 ± 5.3	23.9 ± 2.4	89 ± 1	47.7 ± 4.8	2.0	35.3 ± 1.5	26.0 ± 3.1	10.9 ± 0.3	94.7 ± 0.2 ^{a,b}
Irradiated, dried, rehydrated, baked, oven ⁵	206.9 ± 5.8	22.3 ± 1.9	89 ± 1	48.6 ± 2.7	2.2	31.9 ± 2.3	34.4 ± 3.8	11.3 ± 1.4	94.5 ± 0.5 ^{a,b}
Irradiated, dried, rehydrated, dried, boiled, pH 5.5 ⁵	206.8 ± 5.9	23.4 ± 1.6	89 ± 1	52.8 ± 3.3	2.3	51.0 ± 2.9	3.4 ± 5.1	9.6 ± 0.7	95.4 ± 0.3 ^{a,b}
Irradiated, dried, rehydrated, dried, boiled, pH 3.5 ⁵	205.6 ± 4.2	21.9 ± 1.7	89 ± 1	51.5 ± 3.7	2.4	49.9 ± 3.2	3.1 ± 5.5	8.9 ± 0.5	95.7 ± 0.3 ^{a,b}

Tabella 6. Percentuali perdite di peso dei campioni dopo reidratazione cottura e liofilizzazione (Cardwell et al., 2023, p. 3).

Rispetto al campione di controllo, i funghi cotti presentavano una maggiore perdita di peso, indice quindi, che la cottura può comportare una perdita di materiale. In particolare, dopo la reidratazione, bollitura e liofilizzazione, il peso dei funghi era inferiore a tutti gli altri metodi di cottura: questo può essere dovuto alla dissoluzione di tessuti cellulari dei funghi nell'acqua di cottura circostante. La bollitura a diversi pH non ha invece portato differenti percentuali di perdite di peso, quindi i livelli di ritenzione sono stati gli stessi rilevati. I due metodi di cottura, invece, che comportavano una minor

perdita di materiale fungino risultarono rispettivamente la frittura a secco e la cottura in forno, i quali rappresentano i due metodi in grado di preservare maggiormente la vitamina D nei funghi.

5.3 Secondo studio su campioni di funghi *Agaricus bisporus*

Un altro studio del 2022 ha esaminato la ritenzione della vitamina D nei funghi in seguito a metodi di cottura come bollitura, frittura, cottura al forno e l'effetto della variazione in seguito all'aggiunta di limone. Sono state utilizzate 24 confezioni di funghi champignon freschi (*Agaricus bisporus*) da 250g ciascuna provenienti dalla Danimarca. I funghi sono stati pesati crudi, esposti ai raggi UVB e sottoposti ai metodi di cottura presentati in tabella 7. In seguito i campioni sono stati pesati 30 minuti dopo il trattamento termico per determinare l'eventuale perdita di peso calcolata con la stessa equazione dello studio precedente (1).

	Heat treatment		Vitamin D ₂ bio-fortified mushrooms		
	Temp, (°C)	Time, (min)	Final T (°C)	True retention % Vitamin D ₂	Weight loss %
Boiling	90 ± 2	20	n.m.	62 ± 14 ^b	26 ± 0.3 ^a
Boiling, lemon juice	90 ± 2	20	n.m.	80 ± 5 ^{ab}	24 ± 0.3 ^a
Pan-fried, high heat	n.m.	5	n.m.	81 ± 1 ^{ab*}	27 ± 0.2 ^b
Pan-fried, low heat	n.m.	20	n.m.	88 ± 9 ^a	35 ± 0.6 ^c
Baked, oven (uncovered)	70 ± 4	90	n.m.	74 ± 2 ^{ab*}	49 ± 0.9 ^d
Baked, oven (uncovered)	200 ± 9	10	n.m.	67 ± 3 ^{b*}	48 ± 2 ^d

Tabella 7. Funghi esposti ai raggi UVB e sottoposti a differenti metodi di cottura (Ložnjak & Jakobsen, 2018b, p. 147)

Analisi e risultati

Il contenuto di vitamina D nei funghi prima della cottura era di 19,1µg/100g di funghi crudi. Contrariamente allo studio precedente, la percentuale minore di perdita di peso si è verificata con la bollitura, circa del 24%. Tuttavia, i livelli maggiori di ritenzione di vitamina D nei funghi risultano essere per i funghi fritti in padella, con un livello che varia dall'81 all'88%. La bollitura ha consentito una ritenzione dell'80%, inferiore ad ogni modo del livello di bollitura dello studio precedente, ma comunque una buona percentuale: in questo studio i funghi non sono stati reidratati nè liofilizzati, probabilmente i differenti risultati erano dovuti ai diversi metodi di trattamento dei funghi prima dell'analisi. In ogni caso la cottura in padella e al forno rappresenta uno dei metodi migliori per preservare la vitamina D nei funghi (Ložnjak & Jakobsen, 2018b).

5.4 Biodisponibilità della vitamina D₂ nei funghi

Con l'arricchimento di vitamina D nei funghi in seguito all'esposizione ai raggi ultravioletti, diversi studi hanno analizzato la biodisponibilità della vitamina D dai funghi determinando i livelli sierici totali di 25-(OH)-vitamina D nell'uomo. L'analisi della biodisponibilità della vitamina D nell'organismo umano, è iniziata con il primo studio nel 1998 («Bioavailability of Vitamin D from Wild Edible Mushrooms (*Cantharellus Tubaeformis*) as Measured with a Human Bioassay», 1999) con lo scopo di indagare la biodisponibilità dell'ergocalciferolo dai funghi commestibili selvatici *C.tubaeformis* selvatici liofilizzati, utilizzando come misura di assorbimento della vitamina D, l'aumento delle concentrazioni sieriche totali di 25-(OH)-vitamina D. È stato confrontato l'assorbimento della vitamina derivante dai funghi con quello degli integratori di vitamina D, ritenuto un livello accettabile. Lo studio è stato svolto nei mesi di gennaio e febbraio quando le concentrazioni sieriche di 25-(OH)-vitamina D erano minori a causa di una ridotta esposizione ai raggi solari. Sono stati coinvolti 27 volontari, divisi casualmente in 3 gruppi, durante il periodo della somministrazione di 3 settimane: al gruppo 1 veniva fornita per pranzo una porzione di funghi che apportava 14 µg di ergocalciferolo al giorno (560UI), al gruppo 2 veniva fornito un integratore di vitamina D che apportava lo stesso quantitativo di ergocalciferolo dei funghi, il gruppo 3 era il gruppo placebo (di controllo) a cui non veniva somministrato nulla. Analizzando i livelli sierici di 25-(OH)-vitamina D in laboratorio, le concentrazioni medie del gruppo 1 e 2 sono aumentate nel tempo a differenza del gruppo 3 in cui il livello è quasi calato nel tempo. La differenza di concentrazione invece tra il gruppo 1 e il gruppo 2 invece non era elevata, determinando quindi che l'ergocalciferolo nei funghi aumenta le concentrazioni sieriche di 25-(OH)-vitamina D con la stessa efficacia dell'integratore. Bisogna tenere conto che i funghi somministrati contenevano un quantitativo di ergosterolo inferiore a quello nei funghi esposti a fonti UVB. Un altro studio condotto a Friburgo nel 2011 (Urbain et al., 2011), ha testato l'efficacia dei funghi irradiati nell'aumento dei livelli sierici di 25-(OH)-vitamina D. I funghi utilizzati, Champignon marroni (*Agaricus bisporus*) forniti da un produttore locale di funghi, sono stati esposti ad una fonte UVB a 306nm per 25 minuti a temperatura ambiente, raggiungendo una concentrazione di vitamina D pari a 56,8µg su 100 g di peso secco. I funghi sono stati poi tagliati e utilizzati per la preparazione di una zuppa somministrata ai soggetti (divisi rispettivamente in 3 gruppi come il precedente studio) una volta a settimana per 3 settimane (fornendo circa 28000UI di vitamina D settimanali): alcuni test preliminari svolti sempre in questo studio hanno accertato che la quantità di vitamina D è rimasta stabile durante la preparazione della pietanza.

Dalla figura 8 è possibile osservare dopo la prima settimana dall'assunzione dei funghi, il livello sierico è aumentato del 33,1% mentre per il gruppo placebo il livello era diminuito. Statisticamente, quindi, l'ingestione di questo quantitativo di vitamina D apportata dai funghi esposti alle radiazioni

ultraviolette, può essere un metodo efficace nel miglioramento dello stato di vitamina D negli adulti sani.

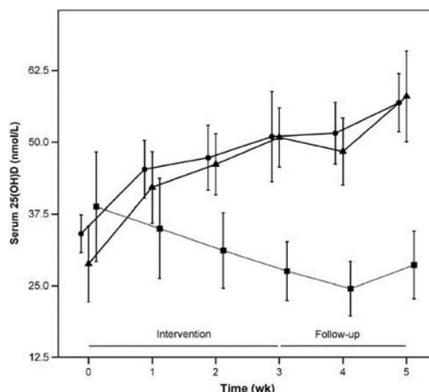


Figura 8. Andamento temporale delle variazioni medie dei livelli di 25-(OH)-vitamina D nel tempo (Urbain et al., 2011, p. 968).

Tuttavia questi studi sulla biodisponibilità della vitamina D₂ sono tutt'ora in fase di sperimentazione. In questo studio non sono stati confrontati i livelli sierici dati dalla vitamina D₂ rispetto alla D₃, in particolare nella capacità di mantenimento di buoni livelli sierici di 25-(OH)-vitamina D data dalla quantità totale di vitamina D₂ e D₃. Alcuni ricercatori, infatti, hanno riportato che con l'assunzione di circa 50000 UI di vitamina D₂ o vitamina D₃ il livello di 25-(OH)-vitamina D nel sangue è aumentato per le prime settimane. Tuttavia, è stata fatta una distinzione tra i soggetti che avevano assunto fonti arricchite di vitamina D₂ e alcune con vitamina D₃: i livelli di 25OHD dovuto all'assunzione di vitamina D₂ ha subito un decremento a partire dalla terza settimana (*Vitamin D₂ Is Much Less Effective than Vitamin D₃ in Humans* / *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* / *Oxford Academic*, s.d.), mentre per il gruppo di persone che aveva assunto alimenti arricchiti di vitamina D₃, il livello di 25-(OH)-vitamina D era risultato abbastanza stabile, incominciando a diminuire nei giorni successivi alla terza settimana. Questo può essere dovuto al fatto che la gran parte della sintesi di vitamina D deriva da una sintesi endogena di vitamina D₃, nella cute, e alcuni studi hanno rilevato una maggior capacità nel mantenere livelli stabili nel tempo. Un altro studio molto recente, del 2023, ha testato i livelli sierici di 25-(OH)-vitamina D in soggetti sani, dopo l'assunzione di capsule di funghi shiitake esposti ad una fonte UVB, fino al raggiungimento di 600UI. I partecipanti sono stati divisi in maschi e femmine e distinti in due gruppi: un gruppo 1 a cui sono stati somministrati funghi arricchiti e un gruppo 2 placebo di controllo. Dopo due mesi di somministrazione, dall'analisi dei risultati non vi è stato un aumento elevato del livello di 25-(OH)-vitamina D nel sangue, ma nel gruppo placebo il quantitativo era sicuramente minore e diminuiva in modo più drastico rispetto ai gruppi e 2. Inoltre è stato interessante notare che nel gruppo dei maschi

il livello sierico è iniziato a diminuire in minor tempo rispetto alle femmine. Questi risultati differiscono dai precedenti studi, probabilmente per gli elevati fattori di variabilità, infatti in questo studio, veniva somministrata una dose minore di vitamina D (600UI) per capsula rispetto a quantitativi maggiori dei precedenti studi ed era presente un numero minore di volontari per lo studio.

5.5 Regolamentazione degli alimenti fortificati

Per quanto riguarda l'aspetto normativo dei prodotti arricchiti con alcuni micronutrienti, in questo caso la vitamina D, è importante fare una distinzione tra due categorie di alimenti: la prima categoria comprende alimenti fortificati, mentre una seconda categoria riguarda alimenti per cui sono state utilizzate tecnologie per il miglioramento di livelli naturali di vitamina D. Per alimento fortificato si intende un alimento in cui viene aggiunto intenzionalmente un micronutriente, come ergocalciferolo o colecalciferolo, per aumentare il livello di assunzione di quella determinata sostanza da parte di un soggetto e soddisfare esigenze nutrizionali della popolazione, tenendo conto dei livelli massimi di assunzione in accordo con il Regolamento (CE) 1170/2009 della Commissione. I funghi arricchiti di vitamina D con l'esposizione ai raggi UV, rientrano nella seconda categoria, considerati come 'nuovi alimenti' sottoposti ad approvazione per garantirne la sicurezza d'uso da parte di autorità competenti del Paese richiedente, o Stato membro a norma dell'articolo 1 del Regolamento (CE) n.258/97 del Parlamento Europeo e del Consiglio (O'Mahony et al., 2011) (*Regolamento (CE) n.258/97 del Parlamento Europeo e del Consiglio*, s.d.)

A seguito della richiesta del 2015 dei Paesi Bassi per l'immissione sul mercato dell'Unione dei funghi (*Agaricus bisporus*) trattati con raggi UV, la Gazzetta Ufficiale dell'Unione Europea ha pubblicato il Regolamento di esecuzione (UE) 2018/1011 della Commissione (*REGOLAMENTO DI ESECUZIONE (UE) 2018/ 1011 DELLA COMMISSIONE - del 17 luglio 2018*, s.d.), che modifica il regolamento di esecuzione (UE) 2017/2470, autorizzando l'estensione dei livelli d'uso dei funghi trattati con raggi UV come nuovo alimento a norma del regolamento (UE) 2015/2283 del Parlamento europeo e del Consiglio (*Regolamento (UE) 2015/2283 del Parlamento europeo e del Consiglio del 25 novembre 2015 relativo ai nuovi alimenti*, s.d.).

Un altro aspetto importante da prendere in considerazione è la distinzione tra gli alimenti trattati con radiazioni ionizzanti e i funghi esposti ai raggi ultravioletti. Infatti, per preservare la qualità igienica e prolungare la *shelf-life*, alcuni alimenti vengono sottoposti a trattamenti con radiazioni ionizzanti, che comprendono raggi X, gamma, alfa e beta. Nell'Unione europea, è consentito questo tipo di trattamento per le erbe aromatiche essiccate, spezie e condimenti vegetali, e in Italia viene utilizzato come anti-germogliante per patate, aglio e cipolla. Queste radiazioni ionizzanti hanno un impatto negativo sul materiale genetico delle cellule microbiche, in quanto sono onde elettromagnetiche aventi una frequenza o intensità maggiore rispetto alle radiazioni ultraviolette, che invece vengono utilizzate nei funghi e convertono l'ergosterolo in vitamina D (Salute, s.d.).

Con la scoperta del possibile aumento in termini di vitamina D nei funghi, molti produttori di funghi integrano una fase di esposizione dei funghi a raggi UV durante la lavorazione, per ottenere un aumento del contenuto di vitamina D poi nel prodotto finale e sono stati svolti diversi studi per valutare la sicurezza e il valore nutrizionale di questi funghi.

Viene presa in considerazione l'eventuale variazione della composizione chimica e nutrizionale dei funghi esposti a fonti di raggi UV, per determinare l'impatto delle radiazioni ultraviolette e i possibili effetti negativi.

L'OCSE, Organizzazione per la Cooperazione e per lo Sviluppo Economico ha pubblicato un documento in cui vengono riportati i nutrienti specifici da prendere in considerazione per la valutazione degli effetti dei raggi UV sulla composizione di *A. bisporus* (nutrienti, umidità, aminoacidi, acidi, vitamina D, vitamina B6, vitamina C, riboflavina, niacina, acido pantotenico, 5-metiltetraidrofolato, 5-formiltetraidrofolato, tetraidrofolato e 10-formile folato).

Nelle analisi svolte per determinare la qualità nutrizionale e la sicurezza sono stati utilizzati raggi UVB a una dose di 10 kJ/m² fino al raggiungimento di una quantità di vitamina D₂, in *A. bisporus*, pari a 25,2 µg di vitamina D₂ per porzione da 84 g di funghi freschi. I risultati hanno dimostrato che l'aumento del contenuto di vitamina D è avvenuto in modo significativo ed efficace, mentre come effetti indesiderati dal punto di vista nutrizionale è stato osservato solo una piccola diminuzione della concentrazione di vitamina B₂ (riboflavina).

In conclusione, la luce nell'intervallo delle lunghezze d'onda ultraviolette rappresenta una forma di radiazione non ionizzante, la quale ha effetti limitati sulle molecole biologiche. Inoltre, la tecnologia utilizzata per l'irradiazione dei funghi, ha una bassa probabilità di causare effetti indesiderati significativi sugli alimenti (Simon et al., 2013).

Conclusioni

La vitamina D ricopre un ruolo fondamentale per la salute dell'organismo umano, in grado di mantenere l'omeostasi del calcio a livello intestinale grazie alla sua forma attiva 1,25-diidrossivitamina D. Questo micronutriente si trova in ridotte quantità negli alimenti, e l'unica fonte di origine non animale di vitamina D è rappresentata dai funghi, in cui è presente il precursore della vitamina D, detto anche ergosterolo, che viene convertito in vitamina D in seguito all'esposizione ai raggi ultravioletti. La produzione annuale di funghi è aumentata vertiginosamente negli ultimi anni, soprattutto per quanto riguarda alcune specie, come *Agaricus bisporus*, che attualmente ricopre il titolo di specie più comunemente coltivata e consumata. Nella produzione industriale, gran parte dei metodi prevede la coltivazione di funghi all'interno di stanze buie che permettono un maggior controllo di parametri critici per la crescita dei funghi, come temperatura e umidità.

La presente tesi ha analizzato diversi metodi post-raccolta per incrementare il contenuto di vitamina D nei funghi mediante l'utilizzo di radiazioni ultraviolette, in grado di convertire in maniera significativa l'ergosterolo in vitamina D₂, riportando un ridotto impatto negativo nella composizione nutrizionale dei funghi. Per i funghi freschi, l'esposizione alla luce solare per 25-30 minuti, o alle lampade UV per tempi ridotti, ha portato alla produzione di elevate quantità di vitamina D di almeno 10µg su 100g, rappresentando un buon apporto in termini di assunzione giornaliera di riferimento (15µg/100g), soprattutto soggetti carenti di vitamina D. I funghi vengono consumati gran parte affettati ed essiccati, per aumentarne la durata di conservazione, tuttavia è stato riscontrato che i metodi di essiccazione maggiormente utilizzati, come liofilizzazione ed essiccazione ad aria calda, consentono di preservare la vitamina D nei funghi, causandone perdite in minime quantità. Anche i metodi di cottura casalinghi non hanno provocato elevate perdite in termini nutrizionali, in particolare una cottura al forno e in padella consentono di preservare in maniera più efficace la vitamina D nei funghi.

Sebbene l'esposizione dei funghi ai raggi ultravioletti rappresenti un metodo ampiamente studiato, è attualmente soggetto di numerosi ricerche e approfondimenti per rendere questa tecnologia più accessibile e diffusa nell'industria alimentare. Sono necessarie, inoltre, ulteriori valutazioni per aumentarne l'applicabilità da parte di diversi coltivatori di funghi, tuttavia potrebbe rappresentare un metodo valido per rendere i funghi un alimento potenziale per aumentare l'assunzione di vitamina D con la dieta e attenuare la carenza di vitamina D nella popolazione.

Bibliografia

- Alshahrani, F., & Aljohani, N. (2013). Vitamin D: Deficiency, Sufficiency and Toxicity. *Nutrients*, 5(9), Articolo 9. <https://doi.org/10.3390/nu5093605>
- Amy S Razor, K. M. P. (2013). A Nutritionally Meaningful Increase in Vitamin D in Retail Mushrooms is Attainable by Exposure to Sunlight Prior to Consumption. *Journal of Nutrition & Food Sciences*, 03(06). <https://doi.org/10.4172/2155-9600.1000236>
- Basidiomycota—Taxonomy—NCBI*. (s.d.). Recuperato 15 ottobre 2023, da <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/taxonomy/?term=basidiomicetes>
- Bendik, I., Friedel, A., Roos, F. F., Weber, P., & Eggersdorfer, M. (2014). Vitamin D: A critical and essential micronutrient for human health. *Frontiers in Physiology*, 5, 248. <https://doi.org/10.3389/fphys.2014.00248>
- Bikle, D. D. (2014). Vitamin D Metabolism, Mechanism of Action, and Clinical Applications. *Chemistry & Biology*, 21(3), 319–329. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2013.12.016>
- Bioavailability of vitamin D from wild edible mushrooms (*Cantharellus tubaeformis*) as measured with a human bioassay. (1999). *The American Journal of Clinical Nutrition*, 69(1), 95–98. <https://doi.org/10.1093/ajcn/69.1.95>
- Cardwell, G., Bornman, J. F., James, A. P., & Black, L. J. (2018). A Review of Mushrooms as a Potential Source of Dietary Vitamin D. *Nutrients*, 10(10), Articolo 10. <https://doi.org/10.3390/nu10101498>
- Cardwell, G., Bornman, J. F., James, A. P., Daly, A., Dabos, G., Adorno, P., Jakobsen, J., Dunlop, E., & Black, L. J. (2023). Effect of household cooking on the retention of vitamin D2 and 25-hydroxyvitamin D2 in pulse UV-irradiated, air-dried button mushrooms (*Agaricus bisporus*). *Food Chemistry*, 424. Scopus. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136387>
- Cesareo, R., Attanasio, R., Caputo, M., Castello, R., Chiodini, I., Falchetti, A., Guglielmi, R., Papini, E., Santonati, A., Scillitani, A., Toscano, V., Triggiani, V., Vescini, F., Zini, M., & On behalf of AME and Italian AACE Chapter. (2018). Italian Association of Clinical Endocrinologists (AME) and Italian Chapter of the American Association of Clinical Endocrinologists (AACE) Position Statement: Clinical Management of Vitamin D Deficiency in Adults. *Nutrients*, 10(5), Articolo 5. <https://doi.org/10.3390/nu10050546>
- Craig, W. J. (2010). Nutrition Concerns and Health Effects of Vegetarian Diets. *Nutrition in Clinical Practice*, 25(6), 613–620. <https://doi.org/10.1177/0884533610385707>
- Goltzman, D. (2018). Functions of vitamin D in bone. *Histochemistry and Cell Biology*, 149(4), 305–312. <https://doi.org/10.1007/s00418-018-1648-y>
- Hibbett, D. S., Binder, M., Bischoff, J. F., Blackwell, M., Cannon, P. F., Eriksson, O. E., Huhndorf, S., James, T., Kirk, P. M., Lücking, R., Thorsten Lumbsch, H., Lutzoni, F., Matheny, P. B., McLaughlin, D. J., Powell, M. J., Redhead, S., Schoch, C. L., Spatafora, J. W., Stalpers, J. A., ... Zhang, N. (2007). A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. *Mycological Research*, 111(5), 509–547. <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2007.03.004>

- Hidalgo-Sanz, R., Del-Castillo-Alonso, M.-Á., Monforte, L., Tomás-Las-Heras, R., Sanz, S., Olarte, C., Pérez-Matute, P., Íñiguez-Martínez, M., Ene, A.-L., Martínez-Abaigar, J., & Núñez-Olivera, E. (2023). Ultraviolet-B radiation, mushrooms, and vitamin D: From technology to bioavailability. *LWT*, *186*, 115210. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.115210>
- Holick, M. F. (2007). Vitamin D Deficiency. *New England Journal of Medicine*, *357*(3), 266–281. <https://doi.org/10.1056/NEJMra070553>
- Jasinghe, V. J., & Perera, C. O. (2005a). Distribution of ergosterol in different tissues of mushrooms and its effect on the conversion of ergosterol to vitamin D₂ by UV irradiation. *Food Chemistry*, *92*(3), 541–546. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.08.022>
- Jasinghe, V. J., & Perera, C. O. (2005b). Distribution of ergosterol in different tissues of mushrooms and its effect on the conversion of ergosterol to vitamin D₂ by UV irradiation. *Food Chemistry*, *92*(3), 541–546. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.08.022>
- Jasinghe, V. J., Perera, C. O., & Sablani, S. S. (2007). Kinetics of the conversion of ergosterol in edible mushrooms. *Journal of Food Engineering*, *79*(3), 864–869. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.01.085>
- Jiang, Q., Zhang, M., & Mujumdar, A. S. (2020a). UV induced conversion during drying of ergosterol to vitamin D in various mushrooms: Effect of different drying conditions. *Trends in Food Science & Technology*, *105*, 200–210. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.09.011>
- Jiang, Q., Zhang, M., & Mujumdar, A. S. (2020b). UV induced conversion during drying of ergosterol to vitamin D in various mushrooms: Effect of different drying conditions. *Trends in Food Science & Technology*, *105*, 200–210. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.09.011>
- Kc, D., Anand, A., Sharma, R., Kaur, H., Thakur, C., Gautam, A., & Sharma, A. (2022). UV irradiated mushrooms: Potential source of Vitamin D₂ review. *The Pharma Innovation Journal*, *11*(6), 2247–2252.
- Keegan, R.-J. H., Lu, Z., Bogusz, J. M., Williams, J. E., & Holick, M. F. (2013). Photobiology of vitamin D in mushrooms and its bioavailability in humans. *Dermato-Endocrinology*, *5*(1), 165–176. Scopus. <https://doi.org/10.4161/derm.23321>
- Ko, J. A., Lee, B. H., Lee, J. S., & Park, H. J. (2008a). Effect of UV-B Exposure on the Concentration of Vitamin D₂ in Sliced Shiitake Mushroom (*Lentinus edodes*) and White Button Mushroom (*Agaricus bisporus*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *56*(10), 3671–3674. <https://doi.org/10.1021/jf073398s>
- Ko, J. A., Lee, B. H., Lee, J. S., & Park, H. J. (2008b). Effect of UV-B Exposure on the Concentration of Vitamin D₂ in Sliced Shiitake Mushroom (*Lentinus edodes*) and White Button Mushroom (*Agaricus bisporus*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *56*(10), 3671–3674. <https://doi.org/10.1021/jf073398s>
- Koyyalamudi, S. R., Jeong, S.-C., Pang, G., Teal, A., & Biggs, T. (2011a). Concentration of vitamin D₂ in white button mushrooms (*Agaricus bisporus*) exposed to pulsed UV light. *Journal of Food Composition and Analysis*, *24*(7), 976–979. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2011.02.007>

- Koyyalamudi, S. R., Jeong, S.-C., Pang, G., Teal, A., & Biggs, T. (2011b). Concentration of vitamin D2 in white button mushrooms (*Agaricus bisporus*) exposed to pulsed UV light. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(7), 976–979. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2011.02.007>
- Ložnjak, P., & Jakobsen, J. (2018a). Stability of vitamin D3 and vitamin D2 in oil, fish and mushrooms after household cooking. *Food Chemistry*, 254, 144–149. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.182>
- Ložnjak, P., & Jakobsen, J. (2018b). Stability of vitamin D3 and vitamin D2 in oil, fish and mushrooms after household cooking. *Food Chemistry*, 254, 144–149. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.182>
- Manzi, P., Gambelli, L., Marconi, S., Vivanti, V., & Pizzoferrato, L. (1999). Nutrients in edible mushrooms: An inter-species comparative study. *Food Chemistry*, 65(4), 477–482. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00212-X](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00212-X)
- Mattila, P. H., Piironen, V. I., Uusi-Rauva, E. J., & Koivistoinen, P. E. (1994). Vitamin D Contents in Edible Mushrooms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42(11), 2449–2453. <https://doi.org/10.1021/jf00047a016>
- Mau, J.-L., Chen, P.-R., & Yang, J.-H. (1998). Ultraviolet Irradiation Increased Vitamin D2 Content in Edible Mushrooms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(12), 5269–5272. <https://doi.org/10.1021/jf980602q>
- Michael T. Madigan [et al.], *Brock Biologia dei microrganismi*, Milano: Alberto Portalupi, 2015.
- O'Mahony, L., Stepien, M., Gibney, M. J., Nugent, A. P., & Brennan, L. (2011). The Potential Role of Vitamin D Enhanced Foods in Improving Vitamin D Status. *Nutrients*, 3(12), Articolo 12. <https://doi.org/10.3390/nu3121023>
- Rathore, H., Prasad, S., & Sharma, S. (2017). Mushroom nutraceuticals for improved nutrition and better human health: A review. *PharmaNutrition*, 5(2), 35–46. <https://doi.org/10.1016/j.phanu.2017.02.001>
- REGOLAMENTO DI ESECUZIONE (UE) 2018/ 1011 DELLA COMMISSIONE - del 17 luglio 2018—Che autorizza un'estensione dei livelli d'uso dei funghi trattati con raggi UV quale nuovo alimento a norma del regolamento (UE) 2015/ 2283 del Parlamento europeo e del Consiglio e che modifica il regolamento di esecuzione (UE) 2017/ 2470 della Commissione.* (s.d.).
- Regolamento (CE) n.258/97 del Parlamento Europeo e del Consiglio del 27 gennaio 1997 sui nuovi prodotti e i nuovi ingredienti alimentari (GU L 43 del 14.2.1997, pag.1).* (s.d.). Recuperato 2 novembre 2023, da <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/IT/TXT/?uri=OJ%3AL%3A1997%3A043%3ATOC>
- Regolamento (UE) 2015/2283 del Parlamento europeo e del Consiglio del 25 novembre 2015 relativo ai nuovi alimenti e che modifica il regolamento (UE) n. 1169/2011 del Parlamento europeo e del Consiglio e abroga il regolamento (CE) n. 258/97 del Parlamento europeo e del Consiglio e il regolamento (CE) n. 1852/2001 della Commissione.* (s.d.).

- Ribeiro, B., Guedes de Pinho, P., Andrade, P. B., Baptista, P., & Valentão, P. (2009). Fatty acid composition of wild edible mushrooms species: A comparative study. *Microchemical Journal*, *93*(1), 29–35. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2009.04.005>
- Ross, A. C., Manson, J. E., Abrams, S. A., Aloia, J. F., Brannon, P. M., Clinton, S. K., Durazo-Arvizu, R. A., Gallagher, J. C., Gallo, R. L., Jones, G., Kovacs, C. S., Mayne, S. T., Rosen, C. J., & Shapses, S. A. (2011). The 2011 Report on Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D from the Institute of Medicine: What Clinicians Need to Know. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, *96*(1), 53–58. <https://doi.org/10.1210/jc.2010-2704>
- Salute, M. della. (s.d.). *Ministero della Salute*. Recuperato 2 novembre 2023, da <https://www.salute.gov.it/portale/home.html>
- Simon, R. R., Borzelleca, J. F., DeLuca, H. F., & Weaver, C. M. (2013). Safety assessment of the post-harvest treatment of button mushrooms (*Agaricus bisporus*) using ultraviolet light. *Food and Chemical Toxicology*, *56*, 278–289. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.02.009>
- Sławińska, A., Fornal, E., Radzki, W., Skrzypczak, K., Zalewska-Korona, M., Michalak-Majewska, M., Parfieniuk, E., & Stachniuk, A. (2016). Study on vitamin D2 stability in dried mushrooms during drying and storage. *Food Chemistry*, *199*, 203–209. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.11.131>
- Teichmann, A., Dutta, P. C., Staffas, A., & Jägerstad, M. (2007). Sterol and vitamin D2 concentrations in cultivated and wild grown mushrooms: Effects of UV irradiation. *LWT - Food Science and Technology*, *40*(5), 815–822. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2006.04.003>
- Urbain, P., & Jakobsen, J. (2015). Dose–Response Effect of Sunlight on Vitamin D2 Production in *Agaricus bisporus* Mushrooms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *63*(37), 8156–8161. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b02945>
- Urbain, P., Singler, F., Ihorst, G., Biesalski, H.-K., & Bertz, H. (2011). Bioavailability of vitamin D2 from UV-B-irradiated button mushrooms in healthy adults deficient in serum 25-hydroxyvitamin D: A randomized controlled trial. *European Journal of Clinical Nutrition*, *65*(8), Articolo 8. <https://doi.org/10.1038/ejcn.2011.53>
- Vitamin D2 Is Much Less Effective than Vitamin D3 in Humans | The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism | Oxford Academic*. (s.d.). Recuperato 30 ottobre 2023, da <https://academic.oup.com/jcem/article/89/11/5387/2844259>
- Wimalawansa, S. J. (2012). Vitamin D in the New Millennium. *Current Osteoporosis Reports*, *10*(1), 4–15. <https://doi.org/10.1007/s11914-011-0094-8>
- Zaaboul, F., & Liu, Y. (2022). Vitamin E in foodstuff: Nutritional, analytical, and food technology aspects. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *21*(2), 964–998. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12924>

Ringraziamenti

Per prima cosa, vorrei ringraziare il mio relatore, per i suoi consigli e per il suo aiuto nella stesura di questo scritto.

Un grazie ai miei amici, per i momenti di spensieratezza e per tutte le serate passate insieme

Grazie a Sofia ed Ester, compagne di vita e di risate, per tutti i momenti felici trascorsi insieme e per esserci sempre state, anche nei momenti più bui

Ringrazio anche Elisa e Andrea, che seppur non condividendo lo stesso percorso, mi sono sempre rimasti accanto. A tutte le partite guardate insieme e a quelle ancora che verranno

Un ringraziamento speciale va a Sara, alle nostre videochiamate di studio, a tutto il suo aiuto che mi ha donato quest'anno e per aver creduto in questo traguardo forse anche più di me.

Ed infine ringrazio di cuore i miei genitori e mio fratello, per i loro sacrifici che mi hanno permesso di arrivare fin qui, per il loro costante sostegno e per i loro insegnamenti, senza i quali oggi non sarei ciò che sono.