

(مقاله پژوهشی)

غنی سازی ویتامین D₂ در قارچ خوراکی دکمه‌ای آگاریکوس بایسپورس با استفاده از پرتو ماورا بنفش پالسی UV-B

منیر حیدری دستجردی^۱، فاطمه اردستانی^{۲*}، علی شکوهی راد^۲

۱- گروه مهندسی صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات مازندران، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران

۲- گروه مهندسی شیمی، واحد قائم شهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائم شهر، ایران

تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۱/۱۰

تاریخ دریافت: ۹۶/۰۵/۰۵

چکیده

کمبود ویتامین D₂ در رژیم‌های غذایی امروزه تبدیل به مشکل تغذیه‌ای مهمی شده است. هدف از این تحقیق، تعیین عوامل مؤثر در افزایش ویتامین D₂ در قارچ‌های خوراکی تازه با استفاده از پرتو ماورا بنفش پالسی می‌باشد. اثر دزهای پرتو دهی، فاصله از لامپ، وزن بسته‌ها و شکل قارچ (برش خورده و کامل) بر فرایند غنی‌سازی بررسی شد. اثر پرتو دهی بر مدت زمان نگهداری و کیفیت قارچ‌ها نیز تعیین شد. قارچ خوراکی دکمه‌ای سفید آگاریکوس بایسپورس بصورت برش خورده و کامل به مدت ۱ ثانیه با پرتو ماورا بنفش پالسی تیمار شد که در نهایت افزایش ویتامین D₂ در قارچ‌های برش خورده نسبت به قارچ‌های کامل تایید شد. پرتو دهی ۱۰۰ گرم قارچ خوراکی در مدت زمان ۱ ثانیه (۳ پالس) مقدار ویتامین D₂ را تا ۱۰۰ درصد نیاز روزانه یک فرد بالغ افزایش داد. با افزایش مدت زمان پرتو دهی از ۱ به ۴ ثانیه ویتامین D₂ بطور چشمگیری افزایش یافت (۱۹۴۰ درصد) ولی تأثیر خاصی بر مدت زمان نگهداری و کیفیت قارچ‌ها نداشت. با افزایش وزن بسته‌ها از ۱۰۰ به ۲۰۰ گرم در حدود ۴۰٪ کاهش در مقدار ویتامین D₂ مشاهده شد. پس از ۳ روز نگهداری در انبار سرد در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، کاهش ویتامین D₂ از ۸۳۱ به ۶۳۲ درصد در ۱۰۰ گرم قارچ، در قارچ‌هایی که به مدت ۱ ثانیه تحت تیمار بودند ثبت شد. افت کیفیت در این تیمارها اندک بوده ولی پس از گذشت ۸ روز، افت کیفیت قابل توجه بود. استفاده از پرتو ماورا بنفش برای قارچ‌های تازه، موجب افزایش مقدار ویتامین D₂ گردید.

واژه های کلیدی: آگاریکوس بایسپورس، پرتو ماورا بنفش، قارچ خوراکی دکمه‌ای، ویتامین D₂

۱- مقدمه

ویتامین D₂ در سال ۱۹۱۲، بعنوان ویتامین تولید شده تحت تاثیر نور خورشید توسط ادوارد ملانباي کشف و معرفی شد (۱۴). نقش اصلی ویتامین D در حفظ تعادل حیاتی کلسیم و حفاظت و پر شدن استخوان ها از کلسیم و فسفر است. ویتامین D₂ (ارگوکلیسفرول) از تاثیر پرتو ماورا بنفش بر استروئید گیاهی آرگسترول ساخته می شود. ارتباط کمبود ویتامین D با نرمی استخوان در کودکان و پوکی استخوان در بزرگسالان و همچنین بسیاری از انواع سرطانها مانند سرطان پستان (۲)، سرطان پروستات (۵ و ۲۲) و همچنین سرطان کلون (۸ و ۱۶) مشخص شده است. کمبود ویتامین D عامل ایجاد نارسایی قلبی با ضربان شدید در بزرگسالان و شروع نارسایی قلبی در کودکان می باشد (۴ و ۱۵). کمبود ویتامین D با ایجاد آرتروز، افزایش فشار خون (۱۷)، چاقی و دیابت (۱۹) و بیش فعالی (۱) در ارتباط است. به صورت طبیعی انسانها از طریق سنتتیک پوستی در معرض پرتو ماورا بنفش نور خورشید و رژیم غذایی مناسب، به خوبی ویتامین D را جذب می کنند. سنتز ویتامین D در پوست به فاکتورهایی مانند عرض جغرافیایی، فصل، مدت زمان قرار گرفتن در معرض پرتو خورشید، تابش مستقیم پرتو خورشید، رنگ پوست و سن در ارتباط است (۲۰). اما پرتوهای خورشید ممکن است باعث ایجاد سرطان پوست شود (۲۱). ویتامین های گروه D از مواد غذایی حیوانی محدودی مانند کره، مارگارین، شیر، فرآورده های لبنی، جگر، گوشت، تخم مرغ و ماهی های پرچرب (شامل ماکرل، ساردین، ماهی آزاد، قزل آلا) دریافت می شود و همچنین روغن جگر ماهی که مقدار زیادی ویتامین D دارد ولی اکثر افراد تمایلی به خوردن آن ندارند. تحقیقات نشان داده که کمبود ویتامین های گروه D در میان جمعیت جهان به طور قابل توجهی رو به افزایش است. قارچ های خوراکی به خاطر طعم مطلوب و پذیرش آن حتی در میان گیاه خواران، به عنوان مکمل مناسب و جایگزین برای تامین ویتامین D₂ در رژیم غذایی انسان مطرح شده است. مقدار ویتامین D₂ در

طبیعت محدود است و فقط در تعدادی از قارچ های خوراکی وحشی گزارش شده است. قارچ های خوراکی پرورشی به دلیل عدم دریافت مستقیم پرتوهای ماورا بنفش نور خورشید، فاقد ویتامین D₂ می باشند. با این وجود آرگسترول موجود در قارچ از طریق پرتو دهی با پرتو ماورا بنفش تبدیل به ویتامین D₂ می گردد (۷). قارچ ها از معدود گیاهانی هستند که محتوی آرگسترول یعنی پیش ساز ویتامین D₂ می باشند. آرگسترول در معرض اشعه ماورا بنفش در کبد به ۲۵- دی هیدروکسی ویتامین D و سپس در کلیه ها به فرم او ۲۵- دی هیدروکسی ویتامین D هیدروکسید شده و در افزایش سطح ویتامین D₂ در سرم خون انسان مؤثر است (۳). آرگسترول جزئی از دیواره سلولی قارچ ها می باشد و عیناً مانند کلسترول که در دیواره سلولی حیوانات یافت می شود. پرتو ماورا بنفش (UV) در طیف امواج الکترومغناطیسی مابین نور مرئی و پرتو X قرار داشته و می توان به عنوان پرتو نامرئی از آن یاد کرد. پرتو ماورا بنفش موجود در نور خورشید باعث آفتاب سوختگی پوست می شود. محدوده طول موج پرتو ماورا بنفش از ۱۰۰ تا ۴۰۰ نانومتر است. پرتو ماورا بنفش توسط کمیسیون بین المللی پرتونگاری به سه ناحیه تقسیم بندی می شود. الف) پرتو ماورا بنفش با طول موج بلند در محدوده ۳۲۰ تا ۴۰۰ نانومتر (UV-A): این پرتو در نور آفتاب و چراغ های الکتریکی موجود است و به وسیله لایه اوزون جذب نمی شود و همچنین سبب چروکیدگی پوست می شود. ب) پرتو ماورا بنفش با طول موج متوسط در محدوده ۲۹۰ تا ۳۲۰ نانومتر (UV-B): این پرتو در نوعی چراغ بخار جیوه وجود دارد. مقدار زیادی از آن توسط لایه اوزون جذب و مقداری به سطح زمین می رسد. تاثیر آن بر پوست شدید بوده و سبب سوختگی می شود. ج): پرتو ماورا بنفش با طول موج کوتاه در محدوده ۱۰۰ تا ۲۹۰ نانومتر (UV-C): این پرتو در قوس الکتریکی جیوه وجود داشته و خاصیت میکروب کشی دارد. این پرتو کاملاً توسط لایه اوزون جذب می شود (۶). جسینگ و همکاران (۲۰۰۵) برای بررسی روند غنی سازی ویتامین D₂ در قارچ های

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

قارچ خوراکی دکمه‌ای آگاریکوس بایسپورس با رنگ سفید از شرکت قارچ اسپه مازندران (ساری) تهیه شد. مواد شیمیایی مورد استفاده در این تحقیق شامل اسکوربات پتاسیم و هیدروکسید سدیم به صورت پودر (با خلوص ۹۹٪)، کلروفورم و هیدروکسید پتاسیم (با خلوص ۸۵٪)، متانول (با خلوص ۹۹/۸٪) و استونیتریل (با خلوص ۹۹/۸٪) از شرکت مرک، n-پنتان (با خلوص ۹۹/۸٪) و اتانول (با خلوص ۹۹٪) از شرکت سیگما آلدریچ تهیه شد.

۲-۲- روش پرتودهی

در این طرح از دستگاه پرتودهی ماورا بنفش پالسی (Xenon RC-900 Modular UV-B, USA) استفاده شد. دستگاه از سه قسمت اصلی تشکیل شده (شکل ۱) که شامل قسمت کنترل و قدرت، محفظه مخصوص و سیستم خنک کننده می باشد. همه کنترل های لازم برای تیمار با پرتو ماورا بنفش پالسی (مانند مدت زمان تیمار، شدت تیمار و غیره) در قسمت کنترل و قدرت انجام می شود. لامپ پرتو ماورا بنفش در بالا و وسط و نگهدارنده نمونه درون محفظه مخصوص قرار داشت. همچنین فاصله نمونه‌ها تا لامپ قابل تنظیم بود. برای تأمین امنیت و جلوگیری از نشت پرتوها به بیرون، محفظه مخصوص کاملاً ایزوله شد. سیستم خنک کننده، هوای داخل محفظه را توسط موتور و کانال متصل به آن به سمت خارج محفظه هدایت می کرد. این دستگاه برای هر پالس ۲۰۷ ژول انرژی تولید می کرد و تا ۲۵ پالس پرتو ماورا بنفش را در ۱ ثانیه می فرستاد. پس از تیمار، بسته‌های محتوی قارچ‌های خوراکی پرتودهی شده توسط خشک کن انجمادی (Ultra Pilot Lyophilizer, VirTis, SP Scientific Co., USA) به طور کامل و تحت خلأ خشک شدند. هر سری از قارچ‌ها با دستگاه مخلوط کن (Braun, MR5550CA, 400W)، میکس شده و پس از آسیاب شدن به صورت پودر در آورده

خوراکی از یک مدل حیوانی (موش) استفاده نمودند. در مرحله اول به ۳۰ موش نر به مدت ۱ هفته رژیم غذایی بدون ویتامین D₂ داده شد. سپس آنالیز مقدماتی چگالی مواد معدنی استخوان‌ها در ۶ موش انتخاب شده از میان آنها به صورت تصادفی انجام شد. موش‌های باقی مانده به دو دسته ۱۲ تایی تقسیم شده و به دسته اول برای مدت ۴ هفته قارچ خوراکی پرتودهی شده و به دسته دوم در همان مدت قارچ خوراکی بدون تیمار داده شد. بعد از گذشت ۴ هفته سطح ۲۵- هیدروکسی ویتامین D₂ در دسته اول ۲۲ و در دسته دوم ۱/۰۹ نانومول در لیتر گزارش شد. چگالی مواد معدنی استخوان ران دسته اول نیز بطور قابل ملاحظه‌ای بالاتر از دسته دوم بود ($P < 0/01$) و در نهایت از نتایج حاصله استنباط شد که ویتامین D₂ قارچ‌های پرتودهی شده با پرتو ماورا بنفش در سیستم جانوری به خوبی جذب و متابولیزه شده است (۹ و ۱۰). در سال ۲۰۰۸ محققان با کاربرد پرتو ماورا بنفش به صورت پالسی با شدت بالا در طول موج ۱۰۰ تا ۸۰۰ نانومتر موفق به انتقال انرژی با پیکی بالا و تبدیل آرگسترول به ویتامین D₂ در زمان بسیار کمتری در مقایسه با سیستم پرتودهی مداوم شدند (۱۱). تحقیقات نشان داده که استفاده از پرتو ماورا بنفش پالسی گروه B در مقایسه با گروه C در افزایش محتوی ویتامین D₂ در قارچ خوراکی دکمه‌ای سفید آگاریکوس بایسپورس^۱ موثرتر بوده است (۱۳). تحقیقات انجام شده در رابطه با پرتودهی قارچ‌های خوراکی با پرتو ماورا بنفش پالسی نشان داده که دز ۳ پالس از این پرتو از نظر ایمنی مواد غذایی مورد تایید است (۶، ۷، ۹، ۱۰ و ۱۱). در این تحقیق، اثرات برخی از عوامل مؤثر در افزایش محتوی ویتامین D₂ در قارچ‌های خوراکی دکمه‌ای سفید تازه آگاریکوس بایسپورس با استفاده از پرتو ماورا بنفش پالس شده شامل دزهای پرتودهی، فاصله از لامپ، وزن بسته‌های قارچ تحت تیمار و شکل قارچ (برش داده شده و کامل) مورد ارزیابی قرار می‌گیرد.

، ۶ و ۱۱ روز نگهداری شدند تا اثر مدت زمان نگهداری بر مقدار ماندگاری ویتامین D₂ تعیین گردد.

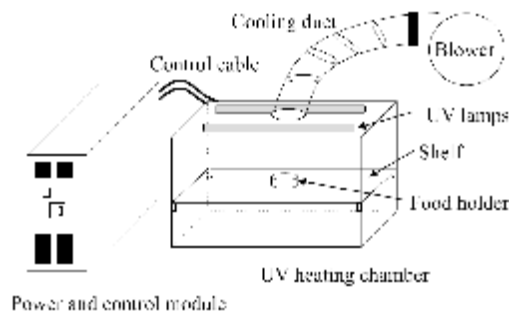
۲-۴- بررسی کیفیت قارچ های پرتودهی شده

دو مشخصه از کیفیت قارچها شامل کاهش وزن قارچ و تغییرات ظاهری بعد از ۰ (شاهد)، ۳، ۶ و ۱۱ روز انبارمانی در درجه حرارت ۴ درجه سانتیگراد بین قارچهای تیمار شده با پرتو UV و قارچ های تیمار نشده مقایسه و بررسی شد. به منظور تعیین مقدار کاهش وزن قارچها در روند انبارمانی، در روز اول با استفاده از ترازوی دیجیتال وزن اولیه به عنوان شاهد اندازه گیری شد و سپس با توزین در روزهای بعد و مقایسه با شاهد، اتلاف وزن مشخص گردید. تغییرات ظاهری قارچها طی روزهای متوالی انبارمانی با استفاده از دوربین دیجیتال (Canon Power A610) و از طریق مقایسه تصویرهای گرفته شده تحت شرایط کنترل شده تعیین شد.

۲-۵- روش استخراج ویتامین D₂

۰/۵ گرم از نمونه قارچ پودر شده را در یک بالن سرگرد ۲۵۰ میلی لیتری ریخته و با ۴ میلی لیتر محلول آسکوربات پتاسیم (۱۷/۵ گرم آسکوربات پتاسیم در ۱۰۰ میلی لیتر هیدروکسید پتاسیم ۱ مولار)، ۵۰ میلی لیتر اتانول (با خلوص ۹۹٪) و ۱۰ میلی لیتر هیدروکسید پتاسیم ۵۰٪ مخلوط و در ریفلاکس آب گرم با دمای ۸۰ درجه سانتیگراد به مدت یک ساعت قرار داده تا صابونی شود. پس از خنک شدن، مخلوط درون قیف جداکننده ریخته شده و ماده به جا مانده ابتدا با ۵ میلی لیتر آب مقطر و بعد ۱۵ میلی لیتر اتانول و سه مرتبه با ۵۰ میلی لیتر نرمال پتان شستشو داده شد. لایه های ارگانیک سه مرتبه دیگر با ۵۰ میلی لیتر هیدروکسید پتاسیم ۳٪ در متانول ۵٪ شسته و در آخر با آب مقطر تا خنثی سازی کامل، عمل شستشو ادامه یافت. سپس لایه های حاصل به اوپراتور گردان (Buchi, R- (200 منتقل شده و پس از اینکه آب آن کاملاً خارج شد، نفاله به جا مانده در محلول کلروفرم/متانول (به نسبت حجمی

و در کیسه های پلی پروپیلن بسته بندی شده و برای آنالیز ویتامین D₂ به بخش مربوطه فرستاده شدند.



شکل ۱- شمای دستگاه مورد استفاده پرتودهی ماورا بنفش پالسی به قارچ خوراکی دکمه ای آگاریکوس بایسپورس

۲-۳- بررسی اثرات پارامترهای مختلف بر مقدار ویتامین D₂

عملکرد دزهای مختلف پرتو UV پالس شده بر تولید ویتامین D₂ در قارچهای دکمه ای سفید تازه (آگاریکوس بایسپورس)، اسلایس شده و بسته بندی شده در وزن ۱۰۰ گرم، تعیین شد و بسته ها به صورت تصادفی با ۰ (شاهد)، ۳ و ۶ پالس در فاصله ۳ سانتی متر از لامپ منبع پرتو UV، اشعه دهی شدند. اثر شکل قارچها بر مقدار ویتامین D₂ نیز بررسی شد. قارچها به صورت کامل و اسلایس شده با دز ۳ پالس، اشعه دهی شدند و مقدار ویتامین D₂ برای هر گروه اندازه گیری شد. برای بررسی اثرات وزن بسته های محتوی قارچ بر مقدار ویتامین D₂ تولید شده طی پرتودهی، قارچها در وزنهای ۱۰۰ و ۲۰۰ گرم بسته بندی و با دوز ۳ پالس اشعه دهی شده و مقدار ویتامین D₂ برای هر گروه اندازه گیری شد. در آزمایشات دیگری، به منظور بررسی اثر فاصله قارچ از منبع نور بر میزان تولید ویتامین D₂، قارچهای بسته بندی شده در فاصله ۳ و ۶ سانتی متر از منبع پرتو UV با ۳ پالس قرار داده شدند و پرتودهی انجام شد. سپس مقدار ویتامین D₂ برای هر گروه اندازه گیری شد. قارچهای اسلایس شده و بسته بندی شده در جعبه های ۱۰۰ گرمی که با ۰ (شاهد) و ۳ پالس پرتودهی شدند در انباری با دمای ۴ درجه سانتیگراد جهت اندازه گیری ویتامین D₂ به مدت ۰ (شاهد)، ۳

۱ به ۳) حل شده و در نهایت محلول حاصله با استفاده از فیلتر غشایی نایلونی (Schleicher, Germany) صاف شد.

۲-۶- کالیبراسیون دستگاه HPLC

شناسایی آرگسترو، ویتامین D₂ و ویتامین D₃ با استفاده از ردیابی توسط جذب UV در طول موج ۲۸۲ نانومتر امکان پذیر است. استونیتریل / متانول به عنوان حلال سیستم و به نسبت ۲۵ به ۷۵ بهترین فاز متحرک در این فرایند کروماتوگرافی تعیین شده و در این روش مناسب ترین تفکیک پذیری پیک در سرعت جریان ۲/۳ میلی لیتر در دقیقه اتفاق می افتد. از ویتامین D₃ به عنوان استاندارد داخلی استفاده شد زیرا در مقایسه با ویتامین D₂ خصوصیات مشابهی دارد و

همچنین با دیگر اجزا موجود در نمونه تداخل ندارد. از مزایای دیگر امکان شناسایی این استاندارد داخلی و تفکیک پذیری پیک آن از دیگر ترکیبات در طول موج ۲۸۲ نانومتر می باشد. به منظور گزینش دقیق مقادیر اجزای هدف، کالیبراسیون اجزای استاندارد مطابق مقدار ویتامین D₂ در نمونه‌ها تنظیم شد. درجه کالیبراسیون برای ویتامین D₂، ۱ تا ۵۰ ppm است. ابتدا تعدادی محلول استاندارد از ویتامین D₂ آماده شد و سپس ۲۰ میکرولیتر از نمونه‌های استاندارد آماده شده به سیستم کروماتوگرافی مایع تزریق شد. محدوده خطی مطابق غلظت‌های تعیین شده آزمایش و کنترل شد. محدوده خطی کنترل شده و ضرایب همبستگی در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱- محدوده خطی کنترل شده و ضرایب همبستگی

| استاندارد | محدوده خطی کنترل شده (ppm) | ضریب همبستگی (R ²) |
|------------------------|----------------------------|--------------------------------|
| ویتامین D ₂ | ۱-۵۰ | ۰/۹۹۹۷ |
| ویتامین D ₃ | ۱-۵۰ | ۰/۹۹۹۸ |
| ارگسترو | ۱۰۰-۱۰۰۰ | ۰/۹۹۹۸ |

تیمار و برای هر تیمار ۳ تکرار مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و آزمون مقایسه میانگین به روش دانکن در سطح اطمینان ۹۵٪ تعیین شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- تأثیر دزهای پرتو دهی بر مقدار ویتامین D₂

نتایج به دست آمده از این بررسی نشان داد که مقدار ویتامین D₂ در قارچ‌ها با افزایش تعداد پالس اشعه UV افزایش یافت. همچنین نتایج نشان داد که پس از ۱۲ پالس (۴ ثانیه) افزایش قابل توجهی در مقدار ویتامین D₂ مشاهده نشد و مقدار ویتامین D₂ در قارچ‌های تیمار شده با ۱۲ و ۱۸ پالس با هم اختلاف قابل توجهی نداشتند. تحقیقات نشان داده که وقتی سطح ویتامین D₂ در کمتر از DV% (Daily Value) معادل با ۱۷۰۰٪ در هر وعده باشد امکان ایجاد سم احتمالی

۲-۷- اندازه گیری ویتامین D₂ با استفاده از دستگاه HPLC

حجم ۲۰ میکرولیتر از نمونه فیلتر شده به دستگاه (HPLC, Waters 600E, Milford, USA) با آشکارساز UV تزریق شد و با استونیتریل / متانول به عنوان فاز متحرک در سرعت جریانی معادل ۲/۳ میلی لیتر در دقیقه و توسط آشکار سازی UV با طول موج ۲۸۲ نانومتر آزمایش انجام شد. مقادیر ویتامین D₂ از مقایسه بین مدت زمان بازداری نمونه و استانداردهای موجود و شناسایی ویتامین D₂ توسط مقایسه منحنی کالیبراسیون انجام شد.

۲-۸- روش تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های آزمایشگاهی با استفاده از نرم افزار SAS 9.1 به روش آماری ANOVA در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵

توسط ویتامین D₂ کاهش می یابد (۱۱). به علاوه با توجه به نمودار می توان نتیجه گرفت که با ۳ پالس (۱ ثانیه) پرتودهی یک DV% بیش از ۸۰٪ در یک وعده ۱۰۰ گرمی از قارچ، ویتامین D₂ حاصل شده که برای مصرف روزانه هر فرد کافی می باشد و با این تعداد پالس به حد مطلوب ویتامین D₂ می توان دست یافت (جدول ۲).

جدول ۲- مقدار ویتامین D₂ در قارچ های خوراکی دکمه ای سفید آگاریکوس بایسپورس برش داده شده

| مقدار ویتامین D ₂ (%DV/100 gr Serving) | | | | دز پرتودهی |
|---|---------|---------|---------|------------|
| میانگین | تکرار ۳ | تکرار ۲ | تکرار ۱ | |
| ۰/۳۴۵ ^a | ۰/۳۳۶ | ۰/۳۴۷ | ۰/۳۵۲ | ۰ |
| ۸۸۵/۴ ^b | ۸۹۷/۳ | ۸۸۴/۷ | ۸۷۵/۷ | ۳ |
| ۱۴۱۵/۱ ^c | ۱۳۹۹/۷ | ۱۴۲۶/۲ | ۱۴۱۹/۴ | ۶ |

نمونه های تیمار نشده قارچ به طور طبیعی حاوی مقدار کمی از سطوح ویتامین D₂ در حد ۲/۳۲٪ نیاز روزانه یک فرد در هر ۱۰۰ گرم قارچ بودند. با توجه به نتایج به دست آمده در این تحقیق (جدول ۳)، قارچ های اسلایس شده (به صورت دو لایه چیدمان) در مقایسه با قارچ های کامل که تحت تیمار قرار گرفتند، به طور معنی داری حاوی مقدار بیشتری ویتامین D₂ تحت شرایط پرتودهی مشابه (پرتودهی با ۳ پالس) بودند. به طور میانگین DV% در یک وعده ۱۰۰ گرمی قارچ های کامل پس از ۳ پالس پرتودهی با پرتو ماورا بنفش به ۴۳۳/۶ درصد رسید. در حالی که این مقدار برای قارچ های برش داده شده تحت شرایط کاملاً مشابه به ۷۸۸/۹ درصد (تقریباً در حدود ۲ برابر) رسید. نتایج برخی از تحقیقات پیشین نیز این افزایش قابل توجه را تایید کرده است (۱۱).

نتایج مشابهی در مورد قارچ خوراکی آگاریکوس بایسپورس گزارش شده است. طبق این گزارش، استفاده از پرتو ماورا بنفش نوع B پالسی به مدت ۱ ثانیه (۳ پالس) موجب افزایش سطح ویتامین D₂ به میزان بیش از ۱۰۰ درصد نیاز روزانه یک فرد بالغ شد (۱۱). یافته های هوانگ و همکاران (۲۰۱۵) نیز نشان داد که سطح ویتامین D₂ در قارچ های خوراکی با پرتودهی توسط پرتو ماورا بنفش به طور قابل توجهی افزایش یافت. به طوری که در مورد این افزایش برای برخی از وارته-های قارچ خوراکی تا ۲۰۸ میکروگرم در گرم گزارش شد (۷).

۳-۲- تأثیر شکل قارچ (کامل یا برش داده شده) بر مقدار ویتامین D₂

جدول ۳- اثرات شکل قارچ های خوراکی دکمه ای سفید آگاریکوس بایسپورس (کامل یا برش داده شده) بر مقدار ویتامین D₂

| مقدار ویتامین D ₂ (%DV/100 gr Serving) | | | | | شکل قارچ |
|---|---------|---------|---------|--------|--------------|
| میانگین | تکرار ۳ | تکرار ۲ | تکرار ۱ | شاهد | |
| ۷۸۸/۹ ^a | ۸۰۳/۸ | ۷۹۲/۳ | ۷۶۸/۷ | ۱±۰/۲۸ | برش داده شده |
| ۴۳۳/۶ ^b | ۴۵۷/۵ | ۴۱۸/۲ | ۴۲۲/۳ | ۱±۰/۲۸ | کامل |

۳-۳- تأثیر وزن بسته‌ها بر مقدار ویتامین D₂

آزمایشگاهی نشان داد که با افزایش وزن بسته‌ها از ۱۰۰ به ۲۰۰ گرم در حدود ۴۰٪ کاهش در مقدار ویتامین D₂ تولید شده در قارچ‌ها مشاهده شده است (جدول ۴).

قارچ‌های برش داده شده در بسته‌های ۲۰۰ و ۱۰۰ گرمی پر شده و تحت پرتو دهی با دز ۳ پالس اشعه قرار داده شدند. داده‌های

جدول ۴- تأثیر وزن بسته‌ها بر مقدار ویتامین D₂ در قارچ‌های خوراکی دکمه‌ای سفید آگاریکوس بایسپورس برش داده شده

| مقدار ویتامین D ₂ (%DV/100 gr Serving) | | | | وزن بسته (گرم) |
|---|---------|---------|---------|----------------|
| میانگین | تکرار ۳ | تکرار ۲ | تکرار ۱ | |
| ۸۴۷/۴ ^a | ۸۴۲/۱ | ۸۶۰/۳ | ۸۳۹/۹ | ۱۰۰ |
| ۵۰۸/۷ ^b | ۵۰۱/۶ | ۵۱۳/۷ | ۵۱۰/۹ | ۲۰۰ |

۳-۴- تأثیر فاصله بسته‌ها تا منبع پرتو دهی بر مقدار**ویتامین D₂**

بایسپورس برش داده شده تا پنجره کوارتز منبع پرتو ماورا بنفش از ۳ به ۶ سانتی‌متر (دو برابر کردن فاصله) تحت پرتو دهی با دز ۳ پالس اشعه، اختلاف معنی‌داری را در مقدار ویتامین D₂ تولید شده در قارچ‌ها در پی نداشت (جدول ۵).

نتایج این بررسی نشان داد که افزایش فاصله بسته‌های ۱۰۰ گرمی محتوی قارچ‌های خوراکی دکمه‌ای سفید آگاریکوس

جدول ۵- تأثیر فاصله بسته‌ها تا منبع پرتو بر مقدار ویتامین D₂ در قارچ‌های خوراکی دکمه‌ای سفید آگاریکوس بایسپورس برش داده شده

| مقدار ویتامین D ₂ (%DV/100 gr Serving) | | | | فاصله تا منبع پرتو (سانتی‌متر) |
|---|---------|---------|---------|--------------------------------|
| میانگین | تکرار ۳ | تکرار ۲ | تکرار ۱ | |
| ۸۸۲ ^a | ۸۸۱/۵ | ۸۷۹/۳ | ۸۸۵/۲ | ۳ |
| ۸۸۹/۷ ^a | ۸۸۷/۴ | ۸۸۵/۷ | ۸۹۶/۲ | ۶ |

میزان تولید ویتامین D₂ در قارچ‌ها نداشت ولی به عنوان یک متغیر مهم در ایجاد چگونگی تیمار قارچ خوراکی تازه قابل بررسی است. کایالامدی و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند که هر چه فاصله بسته‌های محتوی قارچ از منبع پرتو دهی افزایش یابد دز پرتو دهی کاهش می‌یابد (۱۲). جیسینگ و همکاران (۲۰۰۵) نشان داد که ارگسترول به طور متفاوت در ۹ بافت مختلف قارچ وجود دارد و بیشترین مقدار آن در تیغه‌ها

نتایج در پاسخ دزهای مورد مطالعه نشان داد که با افزایش تعداد پالس‌ها، افزایش مقدار ویتامین D₂ روند خطی داشت تا وقتی که سطح ویتامین D₂ به حدود کمتر از %DV معادل با ۲۳۸۰٪ در هر وعده رسید. با توجه به داده‌های به دست آمده در این تحقیق نسبت به وزن بسته، مقدار ویتامین D₂ را می‌توان از طریق عوامل مختلف کنترل شده به سطح مطلوب رساند. با وجود اینکه فاصله بسته‌ها تا منبع پرتو دهی تأثیر چندانی در

متمرکز شده است. بنابراین قارچ‌های برش داده شده ارگسترول بیشتری دارند و این بافت غنی بازده بیشتری در تولید ویتامین D₂ دارد (۹).

۳-۵- تأثیر انبار مانی قارچ‌ها بر مقدار ویتامین D₂

سطح ویتامین D₂ در طی نگهداری قارچ‌ها در سردخانه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به طور قابل توجهی کاهش یافت. در روز برداشت مقدار ویتامین D₂ در قارچ‌های تیمار شده معادل با ۱۰۲۰٪ در یک وعده ۱۰۰ گرمی اندازه‌گیری شد. این در حالی بود که سه روز پس از برداشت، سطح ویتامین D₂ در همین نمونه‌ها به حدود ۷۷٪ در یک وعده ۱۰۰ گرمی رسید و در روزهای ششم و یازدهم تقریباً پایدار باقی ماند (جدول ۶). بنابراین افت حاصله از نگهداری قارچ‌های پرتودهی شده در انبار سرد در حدود ۲۴٪ سطح اولیه اندازه‌گیری شد. نتایج مشابهی توسط کالاراس و همکاران (۲۰۱۲) در رابطه با کاهش سطح ویتامین D₂ در قارچ خوراکی آگاریکوس بایسپورس پرتودهی شده با ۳ پالس پرتو ماورا بنفش پس از ۳ روز انبارمانی گزارش شده است. طبق یافته های این محققین، پس از ۳ روز میزان ویتامین از ۱۱/۹ به ۹/۰۹ میکروگرم در گرم وزن خشک قارچ (معادل با ۲۳/۶ درصد)

کاهش یافت که با نتایج به دست آمده در تحقیق حاضر (۲۴ درصد کاهش در سطح ویتامین) کاملاً مطابقت دارد. همچنین این گروه از پژوهشگران نشان دادند که کاهش سطح ویتامین در روزهای بعد و تا ۱۱ روز قابل توجه نبوده است که این مورد نیز در تحقیق حاضر مشاهده گردید (۱۱). با توجه به داده‌های به دست آمده، ماندگاری ویتامین D₂ در قارچ‌های تیمار شده نسبت به قارچ‌های تیمار نشده در طی نگهداری بیشتر بوده است. رابرت و همکاران (۲۰۰۸) پس از دو روز انبارمانی در دمای ۲ درجه سانتی‌گراد کاهش قابل توجه (۴۰-۵۰ درصد) را در مقدار ویتامین D₂ در قارچ‌های خوراکی تازه گزارش دادند. در مجموع داده‌ها نشان دادند که مقادیر کاهش یافته ویتامین D₂ در قارچ‌های خوراکی تازه، متعاقباً پس از ۷ روز افزایش یافته است (۱۸). کایالامدی و همکاران (۲۰۰۹) اظهار داشتند که با افزایش مدت زمان نگهداری قارچ خوراکی تازه در انبار تغییری در مقدار ویتامین D₂ اتفاق نمی‌افتد، اگر چه داده‌هایی در این رابطه ارائه نکردند (۱۲). این موضوع که سه روز پس از نگهداری افتی معادل ۲۴٪ در سطح ویتامین D₂ روی داده باید با توجه به استانداردها در طرح تیمار با پرتو UV پالسی در نظر گرفته شود.

جدول ۶- تأثیر انبار مانی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد بر مقدار ویتامین D₂ در قارچ‌های خوراکی دکمه‌ای سفید آگاریکوس بایسپورس برش داده شده و پرتودهی شده با ۳ پالس اشعه

| انبارمانی (روز) | مقدار ویتامین D ₂ (%DV/100 gr Serving) | | | |
|-----------------|---|---------|---------|--------------------|
| | تکرار ۱ | تکرار ۲ | تکرار ۳ | میانگین |
| ۰ | ۸۲۹/۲ | ۸۴۰/۵ | ۸۲۵/۶ | ۸۳۱/۴ ^a |
| ۳ | ۶۲۲/۹ | ۶۴۶/۲ | ۶۲۷/۳ | ۶۳۲/۱ ^b |
| ۶ | ۵۸۳/۸ | ۶۰۲/۷ | ۵۹۸/۵ | ۵۹۵ ^c |
| ۱۱ | ۵۸۵/۳ | ۵۹۳/۷ | ۶۲۳/۳ | ۶۰۰/۷ ^c |

۳-۶- بررسی کیفیت قارچ‌های پرتودهی شده

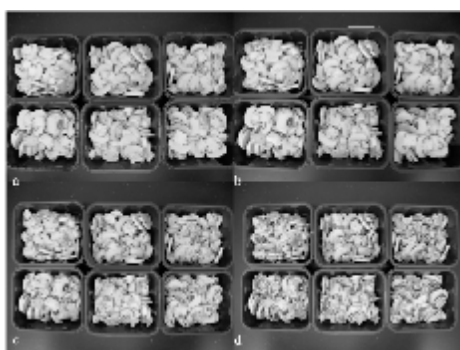
بررسی ویژگی‌های کیفی اختلاف قابل توجهی را در بین قارچ‌های پرتودهی شده با ۳ پالس پرتو ماورا بنفش نسبت به قارچ‌های تیمار نشده نشان نداد. این در حالی است که نتایج به دست آمده در این تحقیق بیانگر وجود اختلاف معنی‌داری در مقادیر افت وزن بین قارچ‌های تیمار شده با ۳ پالس پرتو ماورا

بنفش و نمونه‌های تیمار نشده در چند روز اول طی انبارمانی بود. همانگونه که در جدول ۷ نشان داده شده درصد افت وزن قارچ‌های خوراکی دکمه‌ای سفید آگاریکوس بایسپورس برش داده شده پرتودهی شده با ۳ پالس پرتو ماورا بنفش در روزهای متوالی انبارمانی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به طور متوسط، ۳ برابر افت وزن نمونه‌های قارچ تیمار نشده بوده است.

جدول ۷- مقایسه درصد افت وزن پس از انبارمانی قارچ‌های خوراکی دکمه‌ای سفید آگاریکوس بایسپورس برش داده شده پرتودهی

شده با ۳ پالس پرتو ماورا بنفش و نمونه‌های مشابه تیمار نشده

| مدت انبارمانی (روز) | % افت وزن در قارچ‌های پرتودهی شده | % افت وزن در قارچ‌های تیمار نشده |
|------------------------|--------------------------------------|-------------------------------------|
| ۳ | ۱/۸۷ ^a | ۰/۵۳ ^d |
| ۶ | ۳/۷۶ ^b | ۱/۲۳ ^a |
| ۱۱ | ۶/۱۹ ^c | ۲/۰۷ ^{ab} |



شکل ۲- تصاویر ثبت شده از مقایسه وضعیت ظاهری قارچ‌های خوراکی دکمه‌ای سفید آگاریکوس بایسپورس برش داده شده پرتودهی شده با ۳ پالس اشعه ماورا بنفش و نمونه‌های تیمار نشده پس از نگهداری در انبار با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد برای مدت زمان صفر روز (a)، ۳ روز (b)، ۶ روز (c) و ۱۱ روز (d). در ریف بالا از هر چهار قسمت قارچ‌های تیمار نشده و ردیف پایین از این چهار قسمت قارچ‌های تیمار شده با ۳ پالس اشعه‌دهی می‌باشند.

تصاویر ثبت شده با دوربین دیجیتال نشان داده که طی ۶ روز اول انبارمانی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد از نظر ظاهری تغییرات قابل توجهی در کیفیت قارچ‌ها روی نداده است (شکل ۲). از روز ششم به بعد تغییر رنگ و پلاسیدگی قارچ‌ها به شدت مشاهده شد. طبق نتایج مشاهده شده در این تحقیق، غنی‌سازی قارچ‌ها از لحاظ ویتامین D₂، می‌تواند اثر منفی هر چند ناچیز و غیر معنی‌داری بر کیفیت ظاهری قارچ داشته باشد و این مسأله باید برای اهداف تجاری و پذیرش مصرف‌کننده مورد توجه قرار گیرد. در کل می‌توان نتیجه گرفت که قارچ‌های تیمار شده با پرتو ماورا بنفش نسبت به قارچ‌های تیمار نشده از نظر مدت زمان نگهداری و تغییرات ظاهری در طی انبارمانی تفاوت قابل ملاحظه‌ای با هم نداشتند.

۵- منابع

1. Abouzed, M., Moshref, A., Elsherbiny, A. and Elsheikh, M. 2016. Correlation of vitamin D to attention deficit hyperactivity disorder. *European Psychiatry*, 33: 127-128.
2. Acevedo, F., Perez, V., Perez-Sepulveda, A., Florenzano, P., Artigas, R., Medina, L. et al. 2016. High prevalence of vitamin D deficiency in women with breast cancer: The first Chilean study. *Breast*, 29: 39-43.
3. Bernas, E. and Jaworska, G. 2016. Vitamins profile as an indicator of the quality of frozen *Agaricus bisporus* mushrooms. *Journal of Food Composition and Analysis*, 49: 1-8.
4. Carlton-Conway, D., Tulloh, R., Wood, L. and Kanabar, D. 2004. Vitamin D deficiency and cardiac failure in infancy. *Journal of the Royal Society of Medicine*, 97(5): 238-239.
5. Giangreco, A., Dambal, S., Wagner, D., Van der Kwast, T., Vieth, R., Prins, G. S. et al. 2015. Differential expression and regulation of vitamin D hydroxylases and inflammatory genes in prostate stroma and epithelium by 1,25-dihydroxyvitamin D in men with prostate cancer and an in vitro model. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 148: 156-165.
6. Hock, M., Beckmann, M., Hofmann, R. R., Bruelheide, H. and Erfmeier, A. 2015. Effects of UV-B radiation on germination characteristics in invasive plants in New Zealand. *NeoBiota*, 26: 21-37.
7. Huang, S. J., Lin, C. P. and Tsai S. Y. 2015. Vitamin D₂ content and antioxidant properties of fruit body and mycelia of edible mushrooms by UV-B irradiation. *Journal of Food Composition and Analysis*, 42: 38-45.
8. Hummel, D.M., Fetahu, I., Groschel, C., Manhardt, T. and Kallay E. 2014. Role of proinflammatory cytokines on expression of vitamin D metabolism and target genes in colon cancer cells. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 144: 91-95.
9. Jasinghe, V. J. and Perera, C. O. 2005. 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.

نتایج حاصله از تحقیق حاضر نشان داد که از طریق کنترل عواملی چون دز پرتودهی، وزن بسته‌ها، شکل قارچ (برش داده شده یا کامل) و مدت زمان نگهداری می‌توان به سطح مطلوب ویتامین D₂ دست یافت. اما در این میان بررسی تعداد پالس‌های پرتودهی به تولید کنندگان دستگاه UV پالسی کمک می‌کند تا تنظیماتی را به منظور رفع نگرانی‌ها جهت تولید بیش از حد ویتامین D₂ در طی استفاده از این تکنولوژی انجام دهند.

۴- نتیجه گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از تیمار پرتو ماورا بنفش پالسی نسبت به تحقیقات پیشین که شامل تیمار با پرتو ماورا بنفش مداوم بودند روشی پر بازده تر و کاربردی تر است. بر اساس نتایج به دست آمده در این تحقیق می‌توان گفت به طور کلی استفاده از پرتو ماورا بنفش برای قارچ‌های تازه، موجب افزایش مقدار ویتامین D₂ گردید. به طوری که پرتودهی حدود ۱۰۰ گرم قارچ خوراکی با پرتو ماورا بنفش پالسی در مدت زمان ۱ ثانیه (۳ پالس) مقدار ویتامین D₂ را تا ۱۰۰ درصد نیاز روزانه یک فرد بالغ افزایش داد. از آنجایی که پرتودهی به مدت طولانی موجب تغییر نامطلوب رنگ قارچ-های سفید به قهوه‌ای می‌گردد از پرتو ماورا بنفش پالسی استفاده شد. باید توجه داشت که در این تحقیق برای پرتودهی به قارچ‌ها در بسته‌های تجاری ۱۰۰ گرمی از لامپ زنون نوع B استفاده شد و چنانچه بسته‌ها از قارچ‌های کامل پر شده باشند میزان ویتامین D₂ ۴۰٪ کاهش می‌یافت. بنابراین اگر از روش-های دیگری (به عنوان مثال استفاده از یک لایه قارچ بر روی تسمه متحرک) برای غنی‌سازی استفاده شود به احتمال زیاد تفاوت قابل توجهی در مقدار ویتامین D₂ مشاهده خواهد شد. همچنین محاسبه میزان ماندگاری ویتامین D₂ نیز مهم است و بایستی ذکر مقدار آن بر روی برچسب و تنظیمات دستگاه UV در نظر گرفته شود.

17. Qi, D., Nie, X. and Cai, J. 2017. The effect of vitamin D supplementation on hypertension in non-CKD populations: A systemic review and meta-analysis. *International Journal of Cardiology*, 227: 177-186.
18. Roberts, J. S., Teichert, A. and McHugh, T.H. 2008. Vitamin D₂ formation from post-harvest UV-B treatment of mushrooms (*Agaricus bisporus*) and retention during storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(12): 4541-4544.
19. N. sergeev, I. 2016. Vitamin D- cellular Ca²⁺ link to obesity and diabetes. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 164: 326-330.
20. Vidailhet, M., Mallet, E., Bocquet, A., Bresson, J. L., Briend, A., Chouraqui, J. P. et al. 2012. Vitamin D: still a topical matter in children and adolescents. *Archives of Pediatre*, 19(3): 316-328.
21. Wang, F., Ge, T., Gao, Q., Hu, L., Yu, J. and Liu, Y. 2014. The distribution of biologically effective UV spectral irradiances received on a manikin face that cause erythema and skin cancer. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 140: 205-214.
22. Wang, L., Whitlatch, L. W., Flanagan, J. N., Holick, M. F. and Chen, T. C. 2003. Vitamin D autocrine system and prostate cancer. *Recent Results in Cancer Research*, 164: 223-237.
10. Jasinghe, V. J., Perera, C. O. and Barlow, P. J. 2005. Bioavailability of vitamin D₂ from irradiated mushrooms: an in vivo study. *British Journal of Nutrition*, 93(6): 951-955.
11. Kalaras, M. D., Beelman, R. B. and Elias, R. J. 2012. Effect of Postharvest Pulsed UV light treatment of white button mushrooms (*Agaricus bisporus*) on vitamin D₂ content and quality attributes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(1): 220-225.
12. Koyyalamudi, S. R., Jeong, S. C., Cho, K. Y. and Pang, G. 2009. Vitamin B12 is the active corrinoid produced in cultivated white button mushrooms (*Agaricus bisporus*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(14): 6327-6333.
13. Mau, J. L., Chen, P. R. and Yang, J. H. 1998. Ultraviolet irradiation increased vitamin D₂ content in edible mushrooms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(12): 5269-5272.
14. Mellanby, E. 1989. An experimental investigation on rickets. *Nutrition*, 5(2): 81-86.
15. Nargesi, A. A., Heidari, B., Esteghamati, S., Hafezi-Nejad, N., Sheikhabaei, S., Pajouhi, A. et al. 2016. Contribution of vitamin D deficiency to the risk of coronary heart disease in subjects with essential hypertension. *Atherosclerosis*, 244: 165-171.
16. Ogunkolade, B. W., Boucher, B. J., Fairclough, P. D., Hitman, G. A., Dorudi, S., Jenkins, P. J. et al. 2002. Expression of 25-hydroxyvitamin D-1- α -hydroxylase mRNA in individuals with colorectal cancer. *Lancet*, 359: 1831-1832.

(Original Research Paper)
**Vitamin D₂ Enrichment in *Agaricus bisporus* Button Mushroom
Using Pulsed UV-B Ultraviolet Radiation**

Monir Heydari Dastjerdi¹, Fatemeh Ardestani^{2*}, Ali Shokoohi Rad²

1-Department of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran.

2- Department of Chemistry, Qaemshahr Branch, Islamic Azad University, Qaemshahr, Iran.

Received:27/07/2017

Accepted:30/01/2018

Abstract

Vitamin D₂ deficiency in today diets has become an important nutritional problem. The purpose of this study was to determine the factors affecting the increase of vitamin D₂ content in fresh edible mushrooms by pulsed ultraviolet light. The effect of irradiation doses, distance from the lamp, the weight of the packs, and the shape of the mushroom (sliced and complete) on the enrichment process were tested. The effect of irradiation on the storage time and quality of mushroom was also determined. The sliced and whole white button edible mushrooms of *Agaricus bisporus* were treated with pulsed ultraviolet light for 1 second. Finally, it was determined that the sliced one significantly increased the vitamin D₂ in compare to the whole one. Irradiation of 100 grams of edible mushrooms in 1 second (3 pulses) increased the amount of vitamin D₂ to 100% of an adult's daily requirement. Increase the irradiation pulses from 1 to 4 seconds caused to a significant rising in vitamin D₂ content (1940%) but did not have a specific effect on the storage self-life and the quality of the mushrooms. By increasing the weight of packages from 100 to 200 grams, a 40% reduction in the amount of produced vitamin D₂ was observed. After 3 days of storage in a cold warehouse at 4°C, vitamin D₂ content reduced from 831 to 632% per 100 g of 1 second treated mushrooms. Quality loss was low in these treatments, but after 8 days, it was significant. Using ultraviolet light for fresh mushrooms increased the amount of vitamin D₂.

Keywords: *Agaricus bisporus*, Mushroom Button, Ultraviolet Ray, Vitamin D₂

*Corresponding Author: Ardestani_fatemeh@yahoo.com

