غنی سازی ویتامین D_2 در قارچ خوراکی دکمه‌ای آگاریکوس بایسپورس با استفاده از پرتو ماورا بنفش پالسی UV-B

منیر حیدری دستجردی[1]، فاطمه اردستانی[2*]، علی شکوهی راد[3]

1- گروه مهندسی صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات مازندران، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران
2- گروه مهندسی شیمی، واحد قائم شهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائم شهر، ایران
3- گروه مهندسی شیمی، واحد قائم شهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائم شهر، ایران

تاریخ دریافت: 96/05/05 تاریخ پذیرش: 96/11/10

چکیده

کمبود ویتامین D_2 در رژیم‌های غذایی امروزه تبدیل به مشکل تغذیه‌ای مهمی شده است. هدف از این تحقیق، تعیین عوامل مؤثر در افزایش ویتامین D_2 در قارچ‌های خوراکی تازه با استفاده پرتو ماورا بنفش پالسی می‌باشد. اثر دزهای پرتودهی، فاصله از لامپ، وزن بسته‌ها و شکل قارچ (برش خورده و کامل) بر فرایند غنی‌سازی بررسی شد. اثر پرتودهی بر مدت زمان نگهداری و کیفیت قارچ‌ها نیز تعیین شد. قارچ خوراکی دکمه‌ای سفید آگاریکوس بایسپورس بصورت برش خورده و کامل به مدت 1 ثانیه با پرتو ماورا بنفش پالسی تیمار شد که در نهایت افزایش ویتامن D_2 در قارچ‌های برش خورده نسبت به قارچ‌های کامل تایید شد. پرتودهی 100 گرم قارچ خوراکی در مدت زمان 1 ثانیه (3 پالس) مقدار ویتامین D_2 را تا 100 درصد نیاز روزانه یک فرد بالغ افزایش داد. با افزایش مدت زمان پرتودهی از 1 به 4 ثانیه ویتامین D_2 بطور چشمگیری افزایش یافت (1940 درصد) ولی تأثیر خاصی بر مدت زمان نگهداری و کیفیت قارچ‌ها نداشت. با افزایش وزن بسته‌ها از 100 به 200 گرم در حدود 40% کاهش در مقدار ویتامین D_2 مشاهده شد. پس از 3 روز نگهداری در انبار سرد در دمای 4 درجه سانتی‌گراد، کاهش ویتامین D_2 از 831 به 632 درصد در 100 گرم قارچ، در قارچ‌هایی که به مدت 1 ثانیه تحت تیمار بودند ثبت شد. افت کیفیت در این تیمارها اندک بوده ولی پس از گذشت 8 روز، افت کیفیت قابل توجه بود. استفاده از پرتو ماورا بنفش برای قارچ‌های تازه، موجب افزایش مقدار ویتامین D_2 گردید.

واژه های کلیدی: آگاریکوس بایسپورس، پرتو ماورا بنفش، قارچ خوراکی دکمه ای، ویتامین D_2

* نویسنده مکاتبات: Ardestani_fatemeh@yahoo.com

1- مقدمه

ویتامین D_2 در سال 1912، بعنوان ویتامین تولید شده تحت تاثیر نور خورشید توسط ادوارد ملانبای کشف و معرفی شد (14). نقش اصلی ویتامین D در حفظ تعادل حیاتی کلسیم و حفاظت و پر شدن استخوان ها از کلسیم و فسفر است. ویتامین D_2 (ارگوکلیسفرول) از تاثیر پرتو ماورا بنفش بر استروئید گیاهی آرگسترول ساخته می‌شود. ارتباط کمبود ویتامین D با نرمی استخوان در کودکان و پوکی استخوان در بزرگسالان و همچنین بسیاری از انواع سرطان‌ها مانند سرطان پستان (2)، سرطان پروستات (5 و 22) و همچنین سرطان کلون (8 و 16) مشخص شده است. کمبود ویتامینD عامل ایجاد نارسایی قلبی با ضربان شدید در بزرگسالان و شروع نارسایی قلبی در کودکان می‌باشد (4 و 15). کمبود ویتامینD با ایجاد آرتروز، افزایش فشار خون (17)، چاقی و دیابت (19) و بیش فعالی (1) در ارتباط است. به صورت طبیعی انسان‌ها از طریق سنتیتیک پوستی در معرض پرتو ماورا بنفش نور خورشید و رژیم غذایی مناسب، به خوبی ویتامین D را جذب می‌کنند. 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 (20). اما پرتوهای خورشید ممکن است باعث ایجاد سرطان پوست شود (21). ویتامین‌های گروه D از مواد غذایی حیوانی محدودی مانند کره، مارگارین، شیر، فرآورده های لبنی، جگر، گوشت، تخم مرغ و ماهی‌های پرچرب (شامل ماکرل، ساردین، ماهی آزاد، قزل‌آلا) دریافت می‌شود و همچنین روغن جگر ماهی که مقدار زیادی ویتامین D دارد ولی اکثر افراد تمایلی به خوردن آن ندارند. تحقیقات نشان داده که کمبود ویتامین‌های گروه D در میان جمعیت جهان به طور قابل توجهی رو به افزایش است. قارچ‌های خوراکی به خاطر طعم مطلوب و پذیرش آن حتی در میان گیاه‌خواران، به عنوان مکمل مناسب و جایگزین برای تامین ویتامین D_2 در رژیم غذایی انسان مطرح شده است. مقدار ویتامین D_2 در طبیعت محدود است و فقط در تعدادی از قارچ‌های خوراکی وحشی گزارش شده است. قارچ‌های خوراکی پرورشی به دلیل عدم دریافت مستقیم پرتوهای ماورا بنفش نور خورشید، فاقد ویتامین D_2 می‌باشند. با این وجود آرگسترول موجود در قارچ از طریق پرتودهی با پرتو ماورا بنفش تبدیل به ویتامین D_2 می‌گردد (7). قارچ‌ها از معدود گیاهانی هستند که محتوی آرگسترول یعنی پیش ساز ویتامین D_2 می‌باشند. آرگسترول در معرض اشعه ماورا بنفش در کبد به 25- دی هیدروکسی ویتامینD و سپس در کلیه‌ها به فرم او 25- دی هیدروکسی ویتامینD هیدروکسید شده و در افزایش سطح ویتامین D_2 در سرم خون انسان مؤثر است (3). آرگسترول جزئی از دیوارهٔ سلولی قارچ‌ها می‌باشد و عیناً مانند کلسترول که در دیوارهٔ سلولی حیوانات یافت می‌شود.پرتو ماورا بنفش (UV) در طیف امواج الکترومغناطیسی مابین نور مرئی و پرتو X قرار داشته و می‌توان به عنوان پرتو نامرئی از آن یاد کرد. پرتو ماورا بنفش موجود در نور خورشید باعث آفتاب سوختگی پوست می‌شود. محدوده طول موج پرتو ماورا بنفش از 100 تا 400 نانومتر است. پرتو ماورا بنفش توسط کمیسیون بین‌المللی پرتونگاری به سه ناحیه تقسیم‌بندی می‌شود. الف) پرتو ماورا بنفش با طول موج بلند در محدوده 320 تا 400 نانومتر (UV-A): این پرتو در نور آفتاب و چراغ‌های الکتریکی موجود است و به وسیله لایه اوزون جذب نمی‌شود و همچنین سبب چروکیدگی پوست می‌شود.ب) پرتو ماورا بنفش با طول موج متوسط در محدوده 290 تا 320 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 می‌رسد. تاثیر آن بر پوست شدید بوده و سبب سوختگی می‌شود.ج): پرتو ماورا بنفش با طول موج کوتاه در محدوده 100 تا 290 نانومتر (UV-C): این پرتو در قوس الکتریکی جیوه وجود داشته و خاصیت میکروب‌کشی دارد. این پرتو کاملاً توسط لایه اوزون جذب می‌شود (6).جسینگ و همکاران (2005) برای بررسی روند غنی‌سازی ویتامین D_2 در قارچ‌های

خوراکی از یک مدل حیوانی (موش) استفاده نمودند. در مرحله اول به 30 موش نر به مدت 1 هفته رژیم غذایی بدون ویتامین D_2 داده شد. سپس آنالیز مقدماتی چگالی مواد معدنی استخوان‌ها در 6 موش انتخاب شده از میان آنها به صورت تصادفی انجام شد. موش‌های باقی‌مانده به دو دسته 12 تایی تقسیم شده و به دسته اول برای مدت 4 هفته قارچ خوراکی پرتودهی شده و به دسته دوم در همان مدت قارچ خوراکی بدون تیمار داده شد. بعد از گذشت 4 هفته سطح 25-هیدروکسی ویتامین D_2 در دسته اول 22 و در دسته دوم 1/09 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 D_2 قارچ‌های پرتودهی شده با پرتو ماورا بنفش در سیستم جانوری به خوبی جذب و متابولیزه شده است (9 و 10). در سال 2008 محققان با کاربرد پرتو ماورا بنفش به صورت پالسی با شدت بالا در طول موج 100 تا 800 نانومتر موفق به انتقال انرژی با پیکی بالا و تبدیل آرگسترول به ویتامین D_2 در زمان بسیار کمتری در مقایسه با سیستم پرتودهی مداوم شدند (11). تحقیقات نشان داده که استفاده از پرتو ماورا بنفش پالسی گروه B در مقایسه با گروه C در افزایش محتوی ویتامین D_2 در قارچ خوراکی دکمه‌ای سفید آگاریکوس بایسپورس موثرتر بوده است (13). تحقیقات انجام شده در رابطه با پرتودهی قارچ های خوراکی با پرتو ماورا بنفش پالسی نشان داده که دز 3 پالس از این پرتو از نظر ایمنی مواد غذایی مورد تایید است (6، 7، 9، 10 و 11).در این تحقیق، اثرات برخی از عوامل مؤثر در افزایش محتوی ویتامین D_2 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 می-گیرد.

2- مواد و روش‌ها

2-1- مواد

قارچ خوراکی دکمه‌ای آگاریکوس بایسپورس با رنگ سفید از شرکت قارچ اسپه مازندران (ساری) تهیه شد.

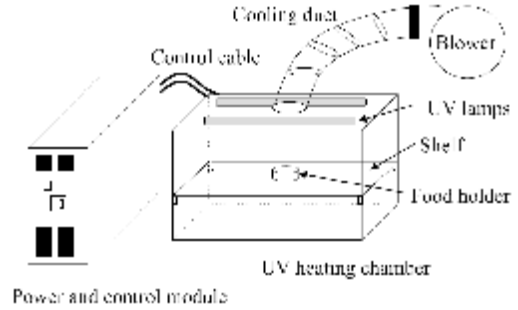
مواد شیمیایی مورد استفاده در این تحقیق شامل اسکوربات پتاسیم و هیدروکسید سدیم به صورت پودر (با خلوص99%)، کلروفرم و هیدروکسید پتاسیم (با خلوص 85%)، متانول (با خلوص99/8%) و استونیتریل (با خلوص99/8%) از شرکت مرک، n-پنتان (با خلوص99/8%) و اتانول (با خلوص99%) از شرکت سیگما آلدریچ تهیه شد.

2-2- 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 1) که شامل قسمت کنترل و قدرت، محفظه مخصوص و سیستم خنک کننده می باشد. همهٔ کنترل های لازم برای تیمار با پرتو ماورا بنفش پالسی (مانند مدت زمان تیمار، شدت تیمار و غیره) در قسمت کنترل و قدرت انجام می‌شود. 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 کاملا ایزوله شد. سیستم خنک کننده، هوای داخل محفظه را توسط موتور و کانال متصل به آن به سمت خارج محفظه هدایت می‌کرد. این دستگاه برای هر پالس 207 ژول انرژی تولید می کرد و تا 25 پالس پرتو ماورا بنفش را در 1 ثانیه می فرستاد. پس از تیمار، بسته‌های محتوی قارچ‌های خوراکی پرتودهی شده توسط خشک‌کن انجمادی (Ultra Pilot Lyophilizer, VirTis, SP Scientific Co., USA) به طور کامل و تحت خلأ خشک شدند. هر سری از قارچ‌ها با دستگاه مخلوط‌کن (Braun, MR5550CA, 400W)، میکس شده و پس از آسیاب شدن به صورت پودر در آورده

[†]Agaricus bisporus

و در کیسه های پلی پروپیلن بسته بندی شده و برای آنالیز ویتامین D_2 به بخش مربوطه فرستاده شدند.



شکل 1- شمای دستگاه مورد استفاده پرتودهی ماورا بنفش پالسی به قارچ خوراکی دکمه‌ای آگاریکوس بایسپورس

3-2- بررسی اثرات پارامترهای مختلف بر مقدار ویتامین D_2

عملکرد دزهای مختلف پرتو UV پالس شده بر تولید ویتامین D_2 در قارچ‌های دکمه‌ای سفید تازه (آگاریکوس بایسپورس)، اسلایس شده و بسته بندی شده در وزن100 گرم، تعیین شد و بسته ها به صورت تصادفی با 0 (شاهد)، 3 و 6 پالس در فاصله 3 سانتی متر از لامپ منبع پرتو UV، اشعه‌دهی شدند.اثر شکل قارچ‌ها بر مقدار ویتامین D_2 نیز بررسی شد. قارچ‌ها به صورت کامل و اسلایس شده با دز 3 پالس، اشعه‌دهی شدند و مقدار ویتامینD_2 برای هر گروه اندازه گیری شد.برای بررسی اثرات وزن بسته‌های محتوی قارچ بر مقدار ویتامین D_2 تولید شده طی پرتودهی، قارچ‌ها در وزن‌های 100 و 200 گرم بسته بندی و با دوز 3 پالس اشعه‌دهی شده و مقدار ویتامین D_2 برای هر گروه اندازه‌گیری شد.در آزمایشات دیگری، به منظور بررسی اثر فاصله قارچ از منبع نور بر میزان تولید ویتامین D_2، قارچ-های بسته بندی شده در فاصله 3 و 6 سانتی‌متر از منبع پرتو UV با 3 پالس قرار داده شدند و پرتودهی انجام شد. سپس مقدار ویتامین D_2 برای هر گروه اندازه‌گیری شد.قارچ‌های اسلایس شده و بسته‌بندی شده در جعبه‌های 100 گرمی که با 0 (شاهد) و 3 پالس پرتودهی شدند در انباری با دمای 4 درجه سانتی‌گراد جهت اندازه‌گیری ویتامینD_2 به مدت 0 (شاهد)، 3 ، 6 و 11 روز نگهداری شدند تا اثر مدت زمان نگهداری بر مقدار ماندگاری ویتامین D_2 تعیین گردد.

4-2- بررسی کیفیت قارچ های پرتودهی شده

دو مشخصه از کیفیت قارچ‌ها شامل کاهش وزن قارچ و تغییرات ظاهری بعد از0 (شاهد)، 3 ، 6 و 11روز انبارمانی در درجه حرارت 4 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 (Cannon Power A610) و از طریق مقایسه تصویرهای گرفته شده تحت شرایط کنترل شده تعیین شد.

5-2- روش استخراج ویتامین D_2

0/5 گرم از نمونه قارچ پودر شده را در یک بالن سرگرد 250 میلی لیتری ریخته و با 4 میلی لیتر محلول آسکوربات پتاسیم (17/5 گرم آسکوربات پتاسیم در 100 میلی لیتر هیدروکسید پتاسیم 1 مولار)، 50 میلی لیتر اتانول (با خلوص 99%) و 10 میلی لیتر هیدروکسید پتاسیم 50% مخلوط و در ریفلاکس آب گرم با دمای 80 درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت قرار داده تا صابونی شود. پس از خنک شدن، مخلوط درون قیف جداکننده ریخته شده و مادهٔ به جا مانده ابتدا با 5 میلی لیتر آب مقطر و بعد 15 میلی لیتر اتانول و سه مرتبه با 50 میلی لیتر نرمال پنتان شستشو داده شد. لایه‌های ارگانیک سه مرتبهٔ دیگر با 50 میلی لیتر هیدروکسید پتاسیم 3% در متانول 5% شسته و در آخر با آب مقطر تا خنثی سازی کامل، عمل شستشو ادامه یافت. سپس لایه‌های حاصل به اواپراتور گردان (Buchi, R-200) منتقل شده و پس از اینکه آب آن کاملاً خارج شد، تفاله به جا مانده در محلول کلروفرم/ متانول (به نسبت حجمی

1 به 3) حل شده و در نهایت محلول حاصله با استفاده از فیلتر غشایی نایلونی (Schleicher, Germany) صاف شد.

2-6- کالیبراسیون دستگاه HPLC

شناسایی آرگسترول، ویتامینD_2 و ویتامین D_3 با استفاده از ردیابی توسط جذب UV در طول موج 282 نانومتر امکان-پذیر است. استونیتریل/ متانول به عنوان حلال سیستم و به نسبت 25 به 75 بهترین فاز متحرک در این فرایند کروماتوگرافی تعیین شده و در این روش مناسب‌ترین تفیک-پذیری پیک در سرعت جریان 2/3 میلی لیتر در دقیقه اتفاق می‌افتد. از ویتامین D_3 به عنوان استاندارد داخلی استفاده شد زیرا در مقایسه با ویتامین D_2 خصوصیات مشابهی دارد و همچنین با دیگر اجزا موجود در نمونه تداخل ندارد. از مزایای دیگر امکان شناسایی این استاندارد داخلی و تفکیک‌پذیری پیک آن از دیگرترکیبات در طول موج 282 نانومتر می‌باشد. به منظور گزینش دقیق مقادیر اجزای هدف، کالیبراسیون اجزای استاندارد مطابق مقدار ویتامین D_2 در نمونه‌ها تنظیم شد. درجه کالیبراسیون برای ویتامین D_2، 1 تا 50 ppm است. ابتدا تعدادی محلول استاندارد از ویتامین D_2 آماده شد و سپس 20 میکرولیتر از نمونه‌های استاندارد آماده شده به سیستم کروماتوگرافی مایع تزریق شد. محدودهٔ خطی مطابق غلظت‌های تعیین شده آزمایش و کنترل شد. محدودهٔ خطی کنترل شده و ضرایب همبستگی در جدول 1 ارائه شده است.

جدول1- محدودهٔ خطی کنترل شده و ضرایب همبستگی

استاندارد	محدودهٔ خطی کنترل شده (ppm)	ضریب همبستگی (R^2)
ویتامین D_2	1-50	0/9997
ویتامین D_3	1-50	0/9998
ارگسترول	100-1000	0/9998

2-7- اندازه‌گیری ویتامین D_2 با استفاده از دستگاه HPLC

حجم 20 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 2/3 میلی لیتر در دقیقه و توسط آشکار سازی UV با طول موج 282 نانومتر آزمایش انجام شد. مقادیر ویتامین D_2 از مقایسه بین مدت زمان بازداری نمونه و استانداردهای موجود و شناسایی ویتامین D_2 توسط مقایسه منحنی کالیبراسیون انجام شد.

2-8- روش تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های آزمایشگاهی با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 به روش آماری ANOVA در قالب طرح کاملاً تصادفی با 5 تیمار و برای هر تیمار 3 تکرار مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و آزمون مقایسه میانگین به روش دانکن در سطح اطمینان 95% تعیین شد.

3- نتایج و بحث

3-1- تأثیر دزهای پرتودهی بر مقدار ویتامین D_2

نتایج به دست آمده از این بررسی نشان داد که مقدار ویتامین D_2 در قارچ‌ها با افزایش تعداد پالس اشعه UV افزایش یافت. همچنین نتایج نشان داد که پس از 12 پالس (4 ثانیه) افزایش قابل توجهی در مقدار ویتامین D_2 مشاهده نشد و مقدار ویتامین D_2 در قارچ‌های تیمار شده با 12 و 18 پالس با هم اختلاف قابل توجهی نداشتند. تحقیقات نشان داده که وقتی سطح ویتامین D_2 در کمتر از %DV (%Daily Value) معادل با 1700% در هر وعده باشد امکان ایجاد سم احتمالی

توسط ویتامینD_2 کاهش می‌یابد (11). به علاوه با توجه به نمودار می‌توان نتیجه گرفت که با 3 پالس (1 ثانیه) پرتودهی یک DV% بیش از 800% در یک وعده 100 گرمی از قارچ، ویتامینD_2 حاصل شده که برای مصرف روزانه هر فرد کافی می باشد و با این تعداد پالس به حد مطلوب ویتامین D_2 می-توان دست یافت (جدول 2).

جدول 2- مقدار ویتامین D_2 در قارچ‌های خوراکی دکمه‌ای سفید آگاریکوس بایسپورس برش داده شده

دز پرتودهی	مقدار ویتامین D_2 (%DV/100 gr Serving)			
	تکرار1	تکرار2	تکرار3	میانگین
0	0/352	0/347	0/336	0/345[a]
3	875/7	883/7	897/3	885/4[b]
6	1419/4	1426/2	1399/7	1415/1[c]

نتایج مشابهی در مورد قارچ خوراکی آگاریکوس بایسپورس گزارش شده است. طبق این گزارش، استفاده از پرتو ماورا بنفش نوع B پالسی به مدت 1 ثانیه (3 پالس) موجب افزایش سطح ویتامین D_2 به میزان بیش از 100 درصد نیاز روزانه یک فرد بالغ شد (11). یافته های هوانگ و همکاران (2015) نیز نشان داد که سطح ویتامین D_2 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 واریته-های قارچ خوراکی تا 208 میکروگرم در گرم گزارش شد (7).

2-3- تأثیر شکل قارچ (کامل یا برش داده شده) بر مقدار ویتامین D_2

نمونه‌های تیمار نشده قارچ به طور طبیعی حاوی مقدار کمی از سطوح ویتامین D_2 در حد 2/32% نیاز روزانه یک فرد در هر 100 گرم قارچ بودند. با توجه به نتایج به دست آمده در این تحقیق (جدول 3)، قارچ‌های اسلایس شده (به صورت دو لایه چیدمان) در مقایسه با قارچ‌های کامل که تحت تیمار قرار گرفتند، به طور معنی‌داری حاوی مقدار بیشتری ویتامینD_2 تحت شرایط پرتودهی مشابه (پرتودهی با 3 پالس) بودند. به طور میانگین DV% در یک وعده 100 گرمی قارچ‌های کامل پس از 3 پالس پرتودهی با پرتو ماورا بنفش به 433/6 درصد رسید. در حالی که این مقدار برای قارچ‌های برش داده شده تحت شرایط کاملا مشابه به 788/9 درصد (تقریبا در حدود 2 برابر) رسید. نتایج برخی از تحقیقات پیشین نیز این افزایش قابل توجه را تایید کرده است (11).

جدول 3- اثرات شکل قارچ‌های خوراکی دکمه‌ای سفید آگاریکوس بایسپورس (کامل یا برش داده شده) بر مقدار ویتامینD_2

شکل قارچ	مقدار ویتامین D_2 (%DV/100 gr Serving)				
	شاهد	تکرار1	تکرار2	تکرار3	میانگین
برش داده شده	1±0/28	768/7	792/3	803/8	788/9[a]
کامل	1±0/28	422/3	418/2	457/5	433/6[b]

3-3- تأثیر وزن بسته‌ها بر مقدار ویتامین D_2

قارچ‌های برش داده شده در بسته‌های200 و100 گرمی پر شده و تحت پرتودهی با دز 3 پالس اشعه قرار داده شدند. داده‌های آزمایشگاهی نشان داد که با افزایش وزن بسته‌ها از 100 به 200 گرم در حدود 40% کاهش در مقدار ویتامین D_2 تولید شده در قارچ‌ها مشاهده شده است (جدول 4).

جدول4- تأثیر وزن بسته‌ها بر مقدار ویتامین D_2 در قارچ‌های خوراکی دکمه‌ای سفید آگاریکوس بایسپورس برش داده شده

وزن بسته (گرم)	مقدار ویتامین D_2 (%DV/100 gr Serving)			
	تکرار1	تکرار2	تکرار3	میانگین
100	839/9	860/3	842/1	847/4[a]
200	510/9	513/7	501/6	508/7[b]

4-3- تأثیر فاصله بسته‌ها تا منبع پرتودهی بر مقدار ویتامین D_2

نتایج این بررسی نشان داد که افزایش فاصله بسته‌های 100 گرمی محتوی قارچ‌های خوراکی دکمه‌ای سفید آگاریکوس بایسپورس برش داده شده تا پنجره کوارتز منبع پرتو ماورا بنفش از 3 به 6 سانتی‌متر (دو برابر کردن فاصله) تحت پرتودهی با دز 3 پالس اشعه، اختلاف معنی‌داری را در مقدار ویتامین D_2 تولید شده در قارچ ها در پی نداشت (جدول 5).

جدول 5- تأثیر فاصله بسته‌ها تا منبع پرتو بر مقدار ویتامینD_2 در قارچ‌های خوراکی دکمه‌ای سفید آگاریکوس بایسپورس برش داده شده

فاصله تا منبع پرتو (سانتی‌متر)	مقدار ویتامین D_2 (%DV/100 gr Serving)			
	تکرار1	تکرار2	تکرار3	میانگین
3	885/2	879/3	881/5	882[a]
6	896/2	885/7	887/4	889/7[a]

نتایج در پاسخ دزهای مورد مطالعه نشان داد که با افزایش تعداد پالس‌ها، افزایش مقدار ویتامین D_2 روند خطی داشت تا وقتیکه سطح ویتامین D_2 به حدود کمتر از DV% معادل با2380% در هر وعده رسید. با توجه به داده‌های به دست آمده در این تحقیق نسبت به وزن بسته، مقدار ویتامین D_2 را می‌توان از طریق عوامل مختلف کنترل شده به سطح مطلوب رساند. با وجود اینکه فاصله بسته‌ها تا منبع پرتودهی تأثیر چندانی در میزان تولید ویتامین D_2 در قارچ‌ها نداشت ولی به عنوان یک متغیر مهم در ایجاد چگونگی تیمار قارچ خوراکی تازه قابل بررسی است. کایالامدی و همکاران (2009) نشان دادند که هر چه فاصله بسته‌های محتوی قارچ از منبع پرتودهی افزایش یابد دز پرتودهی کاهش می‌یابد (12). جیسینگ و همکاران (2005) نشان داد که ارگسترول به طور متفاوت در 9 بافت مختلف قارچ وجود دارد و بیشترین مقدار آن در تیغه‌ها

متمرکز شده است. بنابراین قارچ‌های برش داده شده ارگسترول بیشتری دارند و این بافت غنی بازده بیشتری در تولید ویتامین D_2 دارد (9).

3-5- تأثیر انبار مانی قارچ‌ها بر مقدار ویتامین D_2

سطح ویتامین D_2 در طی نگهداری قارچ‌ها در سردخانه در دمای 4 درجه سانتی‌گراد به طور قابل توجهی کاهش یافت. در روز برداشت مقدار ویتامین D_2 در قارچ‌های تیمار شده معادل با 1020% در یک وعده 100 گرمی اندازه‌گیری شد. این در حالی بود که سه روز پس از برداشت، سطح ویتامین D_2 در همین نمونه‌ها به حدود 777% در یک وعده 100 گرمی رسید و در روزهای ششم و یازدهم تقریباً پایدار باقی ماند (جدول 6). بنابراین افت حاصله از نگهداری قارچ‌های پرتودهی شده در انبار سرد در حدود 24% سطح اولیه اندازه-گیری شد. نتایج مشابهی توسط کالاراس و همکاران (2012) در رابطه با کاهش سطح ویتامین D_2 در قارچ خوراکی آگاریکوس بایسپورس پرتودهی شده با 3 پالس پرتو ماورا بنفش پس از 3 روز انبارمانی گزارش شده است. طبق یافته های این محققین، پس از 3 روز میزان ویتامین از 11/9 به 9/09 میکروگرم در گرم وزن خشک قارچ (معادل با 23/6 درصد) کاهش یافت که با نتایج به دست آمده در تحقیق حاضر (24 درصد کاهش در سطح ویتامین) کاملا مطابقت دارد. همچنین این گروه از پژوهشگران نشان دادند که کاهش سطح ویتامین در روزهای بعد و تا 11 روز قابل توجه نبوده است که این مورد نیز در تحقیق حاضر مشاهده گردید (11). با توجه به داده‌های به دست آمده، ماندگاری ویتامین D_2 در قارچ‌های تیمار شده نسبت به قارچ‌های تیمار نشده در طی نگهداری بیشتر بوده است. رابرت و همکاران (2008) پس از دو روز انبارمانی در دمای 2 درجه سانتی گراد کاهش قابل توجه (40-50 درصد) را در مقدار ویتامین D_2 در قارچ‌های خوراکی تازه گزارش دادند. در مجموع داده‌ها نشان دادند که مقادیر کاهش یافته ویتامین D_2 در قارچ‌های خوراکی تازه، متعاقباً پس از 7 روز افزایش یافته است (18). کایالامدی و همکاران (2009) اظهار داشتند که با افزایش مدت زمان نگهداری قارچ خوراکی تازه در انبار تغییری در مقدار ویتامین D_2 اتفاق نمی-افتد، اگر چه داده‌هایی در این رابطه ارائه نکردند (12). این موضوع که سه روز پس از نگهداری افتی معادل 24% در سطح ویتامین D_2 روی داده باید با توجه به استانداردها در طرح تیمار با پرتو UV پالسی در نظر گرفته شود.

جدول 6- تأثیر انبار مانی در دمای 4 درجه سانتی‌گراد بر مقدار ویتامین D_2 در قارچ‌های خوراکی دکمه‌ای سفید آگاریکوس بایسپورس برش داده شده و پرتودهی شده با 3 پالس اشعه

انبارمانی(روز)	مقدار ویتامین D_2 (%DV/100 gr Serving)			
	تکرار1	تکرار2	تکرار3	میانگین
0	829/2	840/5	825/6	831/4[a]
3	622/9	646/2	627/3	632/1[b]
6	583/8	602/7	598/5	595[c]
11	585/3	593/7	623/3	600/7[c]

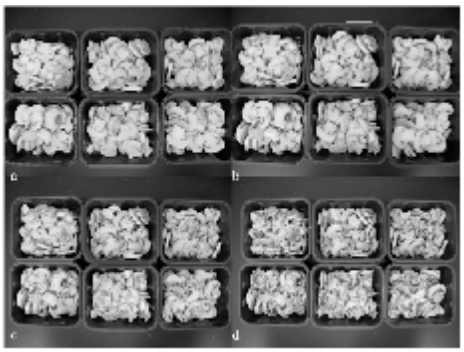
3-6- بررسی کیفیت قارچ‌های پرتودهی شده

بررسی ویژگی‌های کیفی اختلاف قابل توجهی را در بین قارچ های پرتودهی شده با 3 پالس پرتو ماورا بنفش نسبت به قارچ های 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 3 پالس پرتو ماورا بنفش و نمونه‌های تیمارنشده در چند روز اول طی انبارمانی بود. همانگونه که در جدول 7 نشان داده شده درصد افت وزن قارچ‌های خوراکی دکمه‌ای سفید آگاریکوس بایسپورس برش داده شده پرتودهی شده با 3 پالس پرتو ماورا بنفش در روزهای متوالی انبار مانی در دمای 4 درجه سانتی‌گراد به طور متوسط، 3 برابر افت وزن نمونه‌های قارچ تیمار نشده بوده است.

جدول 7- مقایسه درصد افت وزن پس از انبار مانی قارچ‌های خوراکی دکمه‌ای سفید آگاریکوس بایسپورس برش داده شده پرتودهی شده با 3 پالس پرتو ماورا بنفش و نمونه‌های مشابه تیمار نشده

مدت انبارمانی (روز)	% افت وزن در قارچ‌های پرتودهی شده	%افت وزن در قارچ‌های تیمار نشده
3	1/87 [a]	0/53 [d]
6	3/76 [b]	1/23 [a]
11	6/19 [c]	2/07 [ab]

تصاویر ثبت شده با دوربین دیجیتال نشان داده که طی 6 روز اول انبارمانی در دمای 4 درجه سانتی‌گراد از نظر ظاهری تغییرات قابل توجهی در کیفیت قارچ‌ها روی نداده است (شکل 2). 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 D_2، می‌تواند اثر منفی هر چند ناچیز و غیر معنی‌داری بر کیفیت ظاهری قارچ داشته باشد و این مسأله باید برای اهداف تجاری و پذیرش مصرف کننده مورد توجه قرار گیرد. در کل می‌توان نتیجه گرفت که قارچ-های تیمار شده با پرتو ماورا بنفش نسبت به قارچ‌های تیمار نشده از نظر مدت زمان نگهداری و تغییرات ظاهری در طی انبار مانی تفاوت قابل ملاحظه‌ای با هم نداشتند.



شکل 2- تصاویر ثبت شده از مقایسه وضعیت ظاهری قارچ‌های خوراکی دکمه‌ای سفید آگاریکوس بایسپورس برش داده شده پرتودهی شده با 3 پالس اشعه ماورا بنفش و نمونه‌های تیمار نشده پس از نگهداری در انبار با دمای 4 درجه سانتی‌گراد برای مدت زمان صفر روز (a)، 3 روز (b)، 6 روز (c) و 11 روز (d). در ریف بالا از هر چهار قسمت قارچ های تیمار نشده و ردیف پایین از این چهار قسمت قارچ های تیمار شده با 3 پالس اشعه‌دهی می-باشند.

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 D_2 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 D_2 در طی استفاده از این تکنولوژی انجام دهند.

4- نتیجه‌گیری

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 بازده‌تر و کاربردی‌تر 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 D_2 گردید. به طوری که پرتودهی حدود 100 گرم قارچ خوراکی با پرتو ماورا بنفش پالسی در مدت زمان 1 ثانیه (3 پالس) مقدار ویتامین D_2 را تا 100 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 100گرمی از لامپ زنون نوع B استفاده شد و چنانچه بسته‌ها از قارچ‌های کامل پر شده باشند میزان ویتامینD_2 40% 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 ویتامینD_2 مشاهده خواهد شد. همچنین محاسبه میزان ماندگاری ویتامینD_2 نیز مهم است و بایستی ذکر مقدار آن بر روی برچسب و تنظیمات دستگاهUV در نظر گرفته شود.

5- منابع

1. Abouzed, M., Moshref, A., Elsherbiny, A. and Elsheikh, M. 2016. Correlation of vitamin D to attention deficit hyperactivty 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 D_2 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 D_2 by UV irradiation. Food Chemistry, 92(3): 541-546.

10. Jasinghe, V. J., Perera, C. O. and Barlow, P. J. 2005. Bioavailability of vitamin D_2 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 D_2 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 D_2 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., Sheikhbahaei, S., Pajouhi, A. at 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.

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 D_2 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 Ca^{2+} 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 Pediatrie, 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.