مقاله علمی پژوهشی/ نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی/ جلد ۳۱ شماره ۲/ سال ۱۴۰۰/ صفحات ۲۰۱ تا ۲۲۳

DOI: 10.22034/FR.2021.39534.1735

بررسی اثر اشعه UVB بر میزان ویتامین D_2، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت میکروبی قارچ دکمه‌ای سفید

زهره افضلیان[1*]، زینب رفتنی امیری[2] و جمشید فرمانی[2]

تاریخ دریافت: ۹۹/۲/۱۰ تاریخ پذیرش: ۹۹/۵/۲۵

[1] دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشکده مهندسی زراعی، دانشگاه دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

[2] به‌ترتیب استاد و دانشیارگروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

[*] مسئول مکاتبه: Email: z.raftani@sanru.ac.ir

چکیده

زمینه مطالعاتی: قارچ‌ها درپاسخ به اشعه UV ویتامین D_2 تولید می‌کنند که می‌توانند به عنوان یک منبع ارزشمند برای تامین ویتامین D_2 مورد استفاده قرار گیرند. **هدف**: در پژوهش حاضر به بررسی اثر اشعه UVB بر روی میزان D_2، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و جمعیت میکروبی قارچ دکمه‌ای سفید پرداخته شد. **روش کار**: قارچ در اشکال مختلف (قارچ کامل، قارچ برش خورده و پودر قارچ) و در فواصل مختلف (٤، ٨ و ١٢ سانتی‌متر) ازمنبع تابش UVB به مدت ۲ ساعت قرار گرفت. سپس به منظور اندازه‌گیری میزان ویتامین D_2 از روش HPLC، از روش قدرت احیاکنندگی رادیکال آزاد DPPH و قدرت کاهندگی یون Fe^{3+} برای فعالیت آنتی‌اکسیدانی استفاده شد. محیط کشت‌های پلیت کانت آگار برای شمارش کلی باکتری‌ها و دی کلران رزبنگال کلرامفنیکول آگار برای شمارش کپک و مخمر مورد استفاده قرار گرفت. **نتایج**: با توجه به نتایج، بیشترین میزان ویتامین D_2 در قارچ‌های برش خورده با ضخامت ۳ میلی‌متر (٧٠١/١٠٪ افزایش نسبت به نمونه شاهد) بود. هم‌چنین بیشترین میزان ویتامین D_2 در فاصله ٤ سانتی‌متر (١٤٧٤/٣٦٪ افزایش نسبت به نمونه شاهد) در نمونه برش خورده بدست آمد. علاوه‌براین، تاثیر اشعه UVB بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی قارچ‌ها در اشکال و فواصل مختلف از منبع تابش نشان داد که اشعه‌ی UVB تاثیر قابل توجهی بر قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH نداشت. در قدرت احیاکنندگی یون Fe^{3+} با افزایش فاصله میزان قدرت احیاکنندگی کاهش یافت (جذب ٠/٤١ ± ١/٦٨ در ٤ سانتی‌متر). هم‌چنین پودر قارچ دارای بیشترین میانگین جذب ٠/٤٣ ± ١/٧٩ در میان سایر اشکال بود. در پایان با بررسی اثر تابش UVB بر جمعیت میکروبی قارچ‌های تیمار شده در اشکال و فواصل مختلف مشخص شد که اشعه UVB سبب کاهش جمعیت میکروبی قارچ از log cfu/gr ٠/ ١٦ ± ٩/٧٠٣ درنمونه شاهد به log cfu/gr ٥/٣٦ در پودر قارچ شد. **نتیجه‌گیری نهایی**: با توجه به تحقیقات صورت گرفته در پژوهش حاضر، تیمار قارچ دکمه‌ای سفید با اشعه‌ی UVB برای غنی سازی آن جهت افزایش میزان ویتامین D_2 راهی سریع، امن و در دسترس می‌باشد.

واژگان کلیدی: قارچ دکمه‌ای سفید، اشعه UVB، ویتامین D_2، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فعالیت میکروبی

مقدمه

قارچ‌ها دسته‌ای از یوکاریوت‌ها هستند که در دیواره یاخته های آن‌ها کیتین وجود دارد و توان فتوسنتز ندارند و هوازی یا بی‌هوازی اختیاری هستند. قارچ‌ها همگی هتروتروف[1] هستند و انرژی خود را از جانداران دیگر به دست می‌آورند چون قادر به ساخت ترکیبات آلی از ترکیبات معدنی نیستند.

قارچ خوراکی دکمه‌ای یا به اصطلاح علمی *آگاریکوس بیسپروس*[2] نام یک گونه قارچ خوارکی می‌باشد که با نام قارچ دکمه‌ای[3] نیز شناخته می‌شود. قارچ‌های خوراکی کشت شده در ایران از چهار دسته قارچ دکمه‌ای، صدفی، ژاپنی و چینی هستند. استفاده از قارچ به عنوان یک ماده غذایی دارای قدمت زیادی است (انجل و تامهان و کتوالیوال و همکاران ۲۰۰۷). قارچ خوراکی جایگاه ویژه‌ای از نظر ارزش غذایی در بین محصولات کشاورزی در سراسر جهان دارد و در سال‌های اخیر مصرف آن در جهان بسیار افزیش یافته است. در طب چینی نیز قارچ مصارف گوناگونی داشته است، زیرا چینی‌ها معتقد بودند که قارچ برای قلب بسیار مفید است و مقاومت بدن را در برابر عفونت‌های ویروسی افزایش می‌دهد، هم‌چنین یک ماده غذایی بسیار مناسب برای رفع خستگی است (مستر و همکاران ۲۰۰۰).

ارزش غذایی بالا، طعم و مزه مطلوب و سرعت و سهولت آشپزی با قارچ دلیل افزایش استقبال مردم از آن می‌باشد. قارچ‌ها به دلیل کالری پایین برای کسانی که قصد کاهش وزن دارند، مناسب بوده و هم‌چنین نسبت به سبزیجات و حبوبات قابلیت هضم بالایی دارند و مصرف آن برای سالمندان و سالخوردگان توصیه می‌شود. قارچ خوراکی سرشار از انواع ویتامین‌ها (ویتامین‌های گروه B به خصوص ویتامین B_2 و B_3، ویتامین C و D)، پروتئین و چربی‌های محلول می‌باشد. آن‌ها دارای میزان چشم‌گیری پتاسیم، آهن و مس هستند و می‌توانند فسفر مورد نیاز بدن را به طور کامل تامین کند. به علاوه قارچ‌ها حاوی مقدار ناچیزی سلنیوم هستند. مصرف روزانه ۱۰۰ گرم قارچ خوراکی نیاز بدن به ویتامین C را برطرف می‌کند. قارچ می‌تواند یک منبع جایگزین از ترکیبات ضد میکروبی جدید باشد. (آدبایو ۲۰۱۲).

قارچ باعث تقویت استخوان‌ها می‌شود و برای برطرف کردن کمبود ویتامین D مفید است. ویتامین D_2 قارچ در بدن به ویتامین D_3 تبدیل می‌شود. این ویتامین محلول در چربی می‌باشد و انواع مختلفی (D_1، D_2 و D_3) دارد. به ویتامین D ویتامین آفتاب نیز گویند که درحیوانات و انسان‌ها بعد از قرار گرفتن پوست در معرض آفتاب یا اشعه‌ی UV از نظر بیولوژیکی فعال می‌شود. ویتامین D ارتباط معنی داری با کاهش ریسک سرطان سینه، سرطان کلون، سرطان پروستات، بیماری‌های خودایمنی و بیماری‌های قلبی عروقی دارد (هولیک ۲۰۰٤). کمبود این ویتامین باعث راشیتیسم در کودکان و پوکی استخوان در بزرگسالان می‌شود. سایر بیماری‌های مرتبط با ویتامینD شامل فشارخون، سکته مغذی، دیابت، مولتیپل اسکلروزیس، روماتیسم (روماتوئید آرتریت)، التهاب روده، بیماری پریودنتال[4] تحلیل عضلات، بیماری‌های مغزی و درد مزمن می‌باشد (کانل و همکاران ۱۹۹۸). در کشور آمریکا بیش از ٤۲ درصد بزرگسالان (سیزار و همکاران ۲۰۲۰)، در آفریقا بیش از ۸۰ درصد (آکورت و همکاران ۲۰۱٦)، در اروپا ۳۰ تا ۵۰ درصد (باتائولت و همکاران ۲۰۱۳ و آمرین و همکاران ۲۰۲۰) و در ایران طبق آخرین آمار در سال ۱۳۹۸ بیش از ۸۰ درصد افراد دچار کمبود ویتامین D هستند. طبق توصیه‌ی موسسه دارویی IOM[5]، مقدار مصرف روزانه ویتامین D برای کودکان و بزرگسالان تا ۵۰ سال، ۱۵ میکروگرم و برای افراد بالای ۷۰ سال، ۲۰ میکروگرم می‌باشد (راس و همکاران ۲۰۱۱). برخی از مواد غذایی که منبع ویتامینD هستند شامل: ماهی، جگر گاو، روغن جگر ماهی‌هایی مثل کاد و زرده

[1] Heterotroph
[2] *Agaricus bisporus*
[3] Button Mushroom
[4] periodontal
[5] Institute Of Medicine

تخم مرغ می‌باشند و برخی از غذاها مثل شیر، غلات و بعضی آبمیوه‌ها و هم‌چنین غذاهایی مانند پنیر پروسس، ماست، مارگارین و بستنی می‌توانند با ویتامینD غنی شوند. مواد غذایی غیرحیوانی حاوی مقدار کمی ویتامین D_2 هستند (کیم و بائی ۲۰۱٦؛ ایتکونن و همکاران ۲۰۱٦؛ فلیپس و همکاران ۲۰۱۱). چون بسیاری از غذاها مقدار کمی ویتامین D دارند بسیاری از کشورها برای جلوگیری از پوکی استخوان غذاهایی که به طور مکرر مصرف می-شوند را غنی سازی می‌کنند. غنی سازی غذا با ویتامین D باعث می‌شود که کلسیم موجود در غذاها برای کودکان، افراد مسن و زنان بعداز یائسگی بیشتر در دسترس باشد (مائو و همکاران ۱۹۹۸). ویتامینD حائز اهمیت است و کمبود آن یک مسئله بزرگ اجتماعی محسوب می‌شود. قارچ به عنوان یک منبع مناسب برای تامین ویتامین D شناخته شده است. قارچ‌ها مقدار زیادی ارگسترول و پرو ویتامین D_2 دارند که می‌توانند بوسیله اشعه UV به ویتامین D_2 تبدیل شوند (جاگر ۱۹۸۵؛ مائو و همکاران ۱۹۹۸؛ تکمن و همکاران ۲۰۰۷؛ سایمون و همکاران ۲۰۱۱). بدین صورت که در قارچ بوسیله پرتو لامپ UV و یا نور خورشید سنتز نوری ارگسترول به ویتامین D_2 با واسطه-های ناپایدار پری‌ویتامین D_2 اتفاق می‌افتد که مشابه واکنش فتوشیمیایی در پوست انسان است که ۷-دهیدرو کلسترول بوسیله واسطه‌های ناپایدار تبدیل به ویتامین D_3 می‌شود. قارچ‌های کشت شده بخصوص *آگاریکوس بیپروس* بدین دلیل که در طول رشد در معرض نور آفتاب قرار ندارند حاوی ویتامین D_2 نیستند که می‌توان با قرار دادن آن‌ها در معرض نور UV طبیعی یا مصنوعی بعد از برداشت این ویتامین در قارچ افزایش پیدا کند (نول ۲۰۱۷). ترکیبات فنلی موجود در قارچ به عنوان آنتی‌اکسیدان عالی شناخته شده است که جهش‌زا نیست (جایا کومار ۲۰۰۹ و آدبایو ۲۰۱۲). فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی ترکیبات به مکانیسم‌های مختلفی از جمله جلوگیری از شروع زنجیره، اتصال به انتقال دهنده کاتالیزورهای یون فلزی، تجزیه پراکسیدها، جلوگیری از ادامه تجمع هیدروژن، کاهش ظرفیت و توانایی اصلاح رادیکال نسبت داده شده است (لی و همکاران ۲۰۰۷). قارچ‌ها هم‌چنین حاوی فنول‌های زیادی هستند که از این‌رو می‌توانند بعنوان مهارکننده برای رادیکال‌های پراکسید بسیار کارآمد باشند (مورسیا و همکاران ۲۰۰۲).

با توجه به ویژگی‌های تغذیه‌ای ارزشمند قارچ دکمه‌ای و ارتباط مستقیم ویتامین D_2 موجود در آن با سلامت انسان، ضروری است که این ویتامین در زنجیره غذایی افزایش یابد. در همین راستا در این پژوهش، از اشعه UVB در جهت افزایش میزان ویتامین D_2 در قارچ دکمه‌ای به اشکال قارچ کامل، قارچ برش خورده و پودر قارچ که در فواصل ٤ تا ۱۲ سانتی‌متری از منبع تابش قرار گرفته بودند، استفاده شد و میزان ویتامین D_2 آن‌ها به منظور یافتن بهترین شکل قارچ و فاصله قرار گرفتن از منبع تابش تواما، با یکدیگر مقایسه شد و در نهایت فعالیت‌آنتی‌اکسیدانی و میکروبی آن مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

قارچ دکمه‌ای سفید انتخاب شده در پژوهش حاضر به صورت تازه با اندازه کلاهک ٥ تا ٦ سانتی‌متر از شرکت کاسپین واقع در شهر بابل تهیه شد.

بافر پپتون واتر، محیط کشت‌های DRBC[1] و PCA[2]، کلرید آهنIII ، تری کلرو استیک اسید وDPPH از شرکت مرک و بافر فسفات سدیم، پتاسیم فری سیانید، اسید سیتریک، کلرید کلسیم از شرکت سیگما و اتانول۹٦ درصد از شرکت طلایه طب آزما تهیه شده‌اند.

آماده سازی قارچ دکمه‌ای

قارچ دکمه‌ای سفید جهت کاهش میزان تنفس و تغییرات فیزیولوژیکی و شیمیایی در داخل یخچال با دمای ۱±٤ درجه سانتی‌گراد حداکثر تا ۲٤ ساعت، نگهداری شدند (دخانیه ۲۰۱٦). هنگام مصرف به منظور یکنواخت شدن دمای قارچ‌ها با محیط یک ساعت قبل از آزمایش از یخچال

[1] Dicholoran Rose Bengal Chloramphenicol

[2] Plate Count Agar

خارج شدند. پس از حذف آلودگی‌های سطحی با آب شسته شده وآب سطحی آن توسط کاغذ صافی گرفته شد. برای تهیه قارچ برش خورده با استفاده از چاقوی تیز برش‌های عمودی (به دو ضخامت ۳و ٦ میلی‌متر) بطور یکنواخت تهیه شد. برای هر تیمار ۲۰ گرم قارچ دکمه‌ای تازه در نظر گرفته شد.

رنگبری

قارچ‌های کامل و قارچ برش خورده، با نسبت ۱ به ۱۰ (وزنی- حجمی) در محلول اسید سیتریک ۰/۳۳ نرمال (٤۰ گرم در هر لیتر) (برنان و همکاران ۲۰۰۰) و کلرید کلسیم ۰/۳۳ نرمال (به صورت تلفیقی با نسبت ۱به۱) (خادمی و همکاران ۱۳۹۲)، به مدت ۱۰ دقیقه غوطه‌ور شدند و سپس با جریان آب مقطر شسته شده و توسط دستمال نم‌گیر خشک شدند.

تهیه پودر قارچ

برای تهیه پودر قارچ، قارچ‌های برش خورده با ضخامت ۳ میلی‌متر تهیه شده و سپس برای حداقل تغییرات رنگی و تغییر در بافت قارچ به هنگام خشک کردن، از روش خشک کردن انجمادی با دستگاه zirbus VaCo5 (ساخت کشور آلمان)، در دمای ۵۰- درجه سانتی‌گراد و در فشار ۰/٦ میلی بار به مدت ۸ ساعت برای خشک کردن استفاده شد.

تیمار با اشعه UVB

نمونه‌ها به اشکال مختلف قارچ کامل، قارچ برش خورده و پودر قارچ تقسیم شدند. برای هر تیمار یک نمونه قارچ شاهد (قارچ دکمه‌ای سفید پرتو ندیده) در نظر گرفته شد. نمونه‌ها درون دستگاه تامین کننده اشعه UVB در برابر لامپ‌های UVB ۲۰ وات از شرکت هیتاچی ساخت کشور ژاپن تعبیه شده درون دستگاه به مدت ۲ ساعت در فاصله-های ٤، ۸ و ۱۲ سانتی‌متر از منبع تابش با دوز ۳٦ کیلو ژول بر متر مربع قرار گرفتند.

آزمون‌های فیزیکی شیمیایی

آنالیز ویتامین D_2

آنالیز ویتامین D_2 با استفاده از یک سیستم HPLC (KNAUER, Berlin, Germany) با کروماتوگرافی فاز معکوس با ستون C_{18} (۵ میکرومتر، ۲۵۰×٤/٦ میلی‌متر، Macherey-Nagel Co.,Duren, Germany) با آشکارساز UV ۲۵۰۰ در طول موج ۲٦٤ نانومتر انجام شد. دمای ستون ۲۵ °C و حجم تزریق ۲۵۰ میکرولیتر در لوپ ۲۰ میکرولیتر بود. برای انجام این آزمایش ۰/۰۵ گرم نمونه حاوی ویتامین D_2 در ۲ میلی‌لیتر اتانول حل شد (۲۵۰۰۰ قسمت در میلیون) سپس با رقت سازی به غلظت ۵، ۱۰، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ قسمت در میلیون رسید. محلول شویش A، ۲۵ درصد متانول و۷۵ درصد استونیتریل و محلول شویش B، ۱۰۰ درصد اتانول بود. شویش بدین صورت بود که از زمان ۰ تا زمان ۱۱ دقیقه ۱۰۰ درصد محلول A و صفردرصد محلول B، از زمان ۱۱ دقیقه تا ۱۵ دقیقه ۹۰ درصد محلول A و ۱۰ درصد محلول B، سپس از زمان ۱۵ دقیقه تا ۱۹ دقیقه ۲۰ درصد محلول A و ۸۰ درصد محلول B و از زمان ۱۹ تا ۲٤ دقیقه ۱۰۰ درصد محلول B بود که به ۱۰۰ درصد محلول A در بازه زمانی ۲٤ تا ۳۲ دقیقه رسید. زمان انجام آزمون ۳۲ دقیقه و سرعت جریان فاز متحرک ۰/۵ میلی‌لیتر بر دقیقه بود. میزان ویتامین D_2 براساس میلی‌گرم بر گرم وزن خشک گزارش شد (گیل و همکاران ۲۰۱۵؛ کویالامودی ۲۰۱۱؛ استافاس و همکاران ۲۰۰۳). براساس منحنی استاندارد بدست آمده R^2 برای ویتامین D_2 معادل ۰/۹۹۱۲ بود.

آنالیز فعالیت آنتی‌اکسیدانی قارچ

به منظور انجام این آزمون تمامی نمونه‌ها در همه اشکال جهت تهیه عصاره اتانولی با روش خشک کردن انجمادی به پودر تبدیل شدند.

تهیه عصاره اتانولی قارچ

برای تهیه عصاره اتانولی، ۲ گرم پودر قارچ با ۱۰۰ میلی-لیتر اتانول ۸۰ درصد مخلوط و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲٤ ساعت در شرایط تاریک بهم زده

شد. پس از سانتریفوژ در ۵۰۰۰ g به مدت ۱۰ دقیقه، باقی‌مانده دو بار با اتانول ۸۰ درصد دوباره استخراج شد. سوپرناتانت ها با هم مخلوط شدند، تحت فشار کم در ٤۰ درجه سانتی‌گراد تغلیظ شدند. عصاره خشک شده به دست آمده به طور مستقیم در محلول اتانول به منظور تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی مورد استفاده قرار گرفت (لیو و همکاران ۲۰۱۳).

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی

فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH

فعالیت مهار رادیکال DPPH با استفاده از روش لیو و همکاران (۲۰۱۳) با برخی تغییرات انجام شد. ۳ میلی‌لیتر از محلول DPPH (۰/۰۰٤ در صد در اتانول) با ۱ میلی‌لیتر نمونه قارچ‌های پرتو دیده پودر شده (قارچ کامل، قارچ برش خورده) و پودر قارچ (باغلظت ۱/۵ تا ۷/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) مخلوط شد. این مخلوط به شدت تکان داده شد و اجازه داده شد به مدت ۳۰ دقیقه در محیط تاریک در دمای اتاق نگهداری شد. سپس میزان جذب مخلوط در ۵۱۷ نانومتر اندازه گیری شد. فعالیت مهار رادیکال DPPH و هم‌چنین میزان EC_{50} (غلظتی از عصاره که باعث مهار ۵۰ درصد از فعالیت رادیکال DPPH می‌شود را نشان می‌دهد)، با فرمول زیر محاسبه شد:

$$SA = \frac{(A_0 - A_1)}{A_0} \times 100$$ رابطه‌ی ۳-۳

SA: فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH

A0: جذب نمونه شاهد

A1: جذب نمونه

اندازه‌گیری قدرت احیا کنندگی

اندازه‌گیری قدرت احیاکنندگی مطابق روش اویزو (۱۹۸۹) با اصلاحات انجام شد. واکنش در مخلوط حاوی ۲/۵ میلی‌لیتر نمونه (۰/۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)، ۲/۵ میلی‌لیتر از بافر فسفات سدیم ۰/۱ مولار (pH ٦/٦) و ۲/۵ میلی‌لیتر $K_3Fe(CN)6$ (۱ درصد وزنی به حجمی) با گرمخانه‌گذاری در ۵۰ °C به مدت ۲۰ دقیقه انجام شد. پس از اضافه کردن ۲/۵ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک‌اسید (۱۰ درصد وزنی به حجمی) مخلوط به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۵۰۰۰ سانتریفوژ شد. لایه بالایی (۵ میلی‌لیتر) با ۰/۵میلی‌لیتر$FeCl_3$ تازه (۱ درصد وزنی به حجمی) مخلوط شد و جذب در ۷۰۰ نانومتر در مقابل یک نمونه خالی اندازه‌گیری شد.

آنالیز میکروبی

برای آماده سازی نمونه‌ها جهت شمارش میکروارگانیسم‌های قارچ‌های پرتو دیده، نمونه‌ها به یک مخلوط‌کننده آزمایشگاهی منتقل و با نسبت ۱:۱ با بافر پپتون واتر رقیق شده و به مدت ۳۰ ثانیه همگن شدند. پس از رقت سازی سری با بافر پپتون واتر برای آنالیز تعداد باکتری‌های کلی نمونه‌ها از محیط کشت آگار و برای آنالیز تعداد مخمر و کپک‌ها از محیط کشت دیکلران رز بنگال کلرامفنیکول آگار در روش کشت سطحی استفاده شد (کلاراس و همکاران ۲۰۱۲). پلیت‌های تلقیح شده تحت شرایط هوازی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد برای ٤۸-۹۲ ساعت گرمخانه گذاری شده و سپس کلنی‌ها شمارش شدند.

تجزیه و تحلیل آماری

آزمایش در طرح کاملا تصادفی با ۳ تکرار انجام شد و تجزیه و تحلیل نتایج با استفاده از نرم افزار SPSS21 صورت گرفت. نتایج با آنالیز واریانس و آنالیز واریانس یک طرفه بررسی شد و برای تفاوت معنی‌داری میانگین ها از آزمون دانکن استفاده شد و تعیین وجود اختلاف معنی دارد در سطح $P<۰/۰۵$، صورت گرفت. برای آنالیز داده‌ها و رسم نمودارها از نرم افزار اکسل استفاده شد. تیمارها شامل سه نوع قارچ کامل، قارچ برش خورده، پودر قارچ و فاصله در سه سطح ٤، ۸ و ۱۲ سانتی‌متر از منبع تابش می‌باشند.

نتایج و بحث

آنالیز ویتامین D_2

کروماتوگرام برای اندازه‌گیری ویتامین D_2 نمونه‌های قارچ کامل دکمه‌ای سفید، قارچ برش خورده با ضخامت ۳ میلی‌متر، پودر قارچ و قارچ برش خورده با ضخامت ٦ میلی‌متر که در فاصله ٤ سانتی‌متر از منبع تابش قرار گرفته بودند، نشان

داده شده است. مقادیر ویتامین D_2 قارچ بعد از ۲ ساعت تیمار با اشعه UVB، در فواصل مختلف و نمونه شاهد در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱- مقادیر میانگین و انحراف معیار ویتامین D_2 قارچ دکمه‌ای سفید بعد از ۲ ساعت تیمار با اشعه UVB، در فواصل مختلف

Table 1- Mean values and standard deviation of vitamin D_2 of white button mushrooms after 2 hours of UVB treatment at different distances

Distance(cm)	Vitamin D_2 (mg/gr DM)
4	129.62 ± 6.55 [a]
8	80.22 ± 3.99 [b]
12	42.76 ± 2.35 [c]
Control	11.78 ± 0.56 [d]

Different superscripts represent significant difference at $P< 0.05$.

با مقایسه آنالیز واریانس مقادیر ویتامین D_2 نمونه‌های تیمار شده در فواصل مختلف (٤، ۸ و ۱۲ سانتی‌متر) و نمونه شاهد، مشاهده شد که بین همه نمونه‌ها تفاوت معنادار وجود دارد ($P <۰/۰۵$) و نمونه‌ها درهمه فواصل نسبت به نمونه شاهد دارای مقدار بیشتری ویتامین D_2 بودند. علاوه بر این مشخص شد که مقادیر ویتامین D_2 با افزایش فاصله کاهش یافته است. ماو و همکاران(۱۹۹۸)، محتوای ویتامین D_2 را ۱۲/٤۸، ٦/٥۸ و ۷/٥۸ میلی‌گرم بر گرم براساس ماده خشک به ترتیب در قارچ‌های دکمه‌ای، شیتیک[1] و استارو[2] بعد از ۲ ساعت قرار گیری در معرض اشعه UVB (۱٤/۷ کیلو ژول بر متر مربع) گزارش کردند. جاسینق و پررا (۲۰۰۵) نیز در قارچ های شیتیک، اویستر[3]، آبالون[4] و قارچ دکمه‌ای بعد از ۲ ساعت قرارگیری در معرض تابش اشعه UVB (۲۵/۲ کیلو ژول بر متر مربع) به ترتیب میزان ٥۳/۹، ۱۸٤، ۷۹/٥ و ٥٦/٥ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک ویتامین D_2 را گزارش کرده‌اند. کو و همکاران(۲۰۰۸) نشان دادند که بعد از قرارگیری قارچ‌های شیتیک در معرض اشعه UVB (۲۵ کیلو ژول بر متر مربع) میزان ویتامین D_2 تا ۳٦/۷، ٦۸/٦ و ۱۰٦/٤ میلی‌گرم بر گرم به ترتیب در بخش‌های روی کلاهک، بخش میانی[5] و بخش زیرین کلاهک قارچ افزایش یافت. هم‌چنین بررسی‌های آن‌ها نشان داد که تابش اشعه UVB در بخش زیرین کلاهک قارچ کامل شیتیک با دوزهای ۰، ۲۵، ٥۰ و ۷٥ کیلو ژول بر متر مربع به ترتیب سبب افزایش ویتامین D_2 تا ۲/۸، ۱۳/۸، ٤۰/۷ و ۹/ ٦۱ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک شد. سایمون و همکاران (۲۰۱۱) نیز تاثیر تابش اشعه UVB با دوز ۱۰/٦ کیلو ژول بر متر مربع بر محتوای ویتامین D_2 در۱۰۰ گرم نمونه را از ٥ تا ٤۱۰ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک گزارش کرده‌اند. نتایج تحقیق حاضر نشان

[1] Shiitake
[2] straw
[3] Oyster
[4] Abalone
[5] Middle

داد که پس از تیمار قارچ دکمه‌ای سفید در اشکال مختلف قارچ (قارچ کامل، قارچ برش خورده با ضخامت ۳ و ٦ میلی‌متر و پودر قارچ)، به مدت ۲ ساعت، مقدار ویتامین D_2 در فاصله ٤ سانتی‌متر به ترتیب ۲/۸۰ ± ۱۵٦/۸۳، ۵/٤۱ ± ۱۸۵/٤٦، ٤/۷٦ ۷۱/۱۷۵± و ۲/۷۳± ۱۱۸/۳٤ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک، در فاصله ۸ سانتی‌متر به ترتیب ۱/۳۵± ۱۰۰/۲۹، ۱/۷٤ ± ۱۱۳/۸۷، ۰/۱٦ ± ۱۱۱/۰۳ و ۲/۹٤ ± ٦٤/۱۵ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک و در نهایت در فاصله ۱۲ سانتی‌متر به ترتیب ۱/۰۸ ± ۵۰/۹٦، ۱±/۲۳ ٦٦/۳۸، ۰/٦۱ ± ٦٤/٦۰ و ۰/۱۳ ۱۰/۲۰± میلی‌گرم بر گرم وزن خشک بود که نسبت به نمونه شاهد با مقدار ۰/٦۵± ۱۱/۷۸ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک مقدار ویتامین D_2 بطور قابل توجهی افزایش یافته است و با نتایج سایر تحقیقات نیز مشابهت داشته و میزان ویتامین D_2 افزایش یافته بیشتر از سایر تحقیقات بود که احتمالا به دلیل سطح بیشتر نمونه تحت تابش اشعه UVB (تابش اشعه بر هر دو روی قارچ‌های برش خورده و قارچ کامل) بود

شکل ۱- نمودار HPLC ویتامین D_2 (۱) قارچ کامل دکمه‌ای سفید، (۲) قارچ برش خورده با ضخامت ۳ میلی‌متر، (۳) پودر قارچ ، (۴) قارچ برش خورده با ضخامت ۶ میلی‌متر در فاصله ۴ سانتی‌متر از منبع UVB

Figure 1- HPLC Chart of Vitamin D_2 (1) Whole Mushroom, (2) sliced Mushroom (3 mm Thickness), (3) Mushroom Powder, (4) sliced Mushroom (6 mm thickness), at a distance of 4 cm from UVB source

.در جدول۲ با مقایسه آنالیز واریانس مقادیر ویتامین D_2 نمونه‌های تیمار شده با اشعه UVB در اشکال قارچ کامل، قارچ برش خورده (با ضخامت ۳ و ٦ میلی‌متر) با نمونه شاهد، تفاوت معناداری دیده شد ($P < ۰/۰۵$). اما دربین مقادیر ویتامین D_2 نمونه‌های قارچ‌های برش خورده با ضخامت ۳ و ٦ میلی‌متر تفاوت معناداری مشاهده نشد ($P > ۰/۰۵$). در ادامه بین قارچ کامل، پودر قارچ و قارچ برش خورده با ضخامت ۳ و ٦ میلی‌متر تفاوت معناداری مشاهده شد ($P < ۰/۰۵$) .قارچ کامل توسط اشعه UVB با هر دو بخش بخش زیرین کلاهک[1] و بخش بیرونی کلاهک[2] به مدت ۲ ساعت تیمارشد. محتوای ویتامین D_2 در فواصل ٤، ۸ و ۱۲ سانتی‌متر به ترتیب: ۲/۸ ± ۱۵٦/۸۳، ۲/۹٤ ±۱۵ /٦٤ و ۰/۱۳ ±۲۰/۱۰ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک بوده است، که نسبت به نمونه شاهد با مقدار ۰/٦۵ ± ۱۱/۷۸ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک به ترتیب ۱۲۳۱/۳۲، ۷۵۱/۳۵ و ۳۳۲/۵۹ درصد افزایش ویتامین D_2 داشته است. جاسینق و پررا (۲۰۰۵) بیان کردند که پیش-ساز ویتامین D_2 درون بافت قارچ (ارگسترول) در کلاهک و ساقه قارچ بیشتر است. سرعت تبدیل ارگسترول به ویتامین D_2 بطور گسترده‌ای به پارامترهای فرآیند مانند دوز تابش، زمان و جهت قارچ‌ها در قرارگیری در برابر منبع اشعه UV، بستگی دارد.

جدول ۲- مقادیر میانگین و انحراف معیار ویتامین D_2 قارچ دکمه‌ای سفید بعد از ۲ ساعت تیمار با اشعه UVB، در اشکال مختلف

Table 2- Average values and standard deviation of vitamin D_2 white button mushrooms after 2 hours of UVB radiation treatment, in different forms

Sample	Vitamin D_2 (mg/gr DM)
Whole mushroom	69.96 ± 5.67^{b}
Sliced mushroom (3 mm thickness)	94.37 ± 6.66^{a}
Sliced mushroom (6 mm thickness)	90.78 ± 6.30^{a}
Mushroom powder	53.59 ± 4.42^{d}
Control	11.78 ± 0.56^{c}

Different superscripts represent significant difference at $P< 0.05$.

هم‌چنین آن‌ها تاثیر دوره زمانی تابش هر طرف از برش خورده قارچ‌ها بر تبدیل ارگسترول به ویتامین D_2 را گزارش دادند. براساس گزارش نتایج آن‌ها، تبدیل ارگسترول به ویتامین D_2 با قرارگیری هر طرف از برش-های قارچ در برابر اشعه UV به مدت یک ساعت در افزایش هرچه بیشتر ویتامین D_2 موثر واقع شد. جاسینق و همکاران(۲۰۰٦)، نشان دادند که جهت قارچ‌ها و مدت زمان قرارگیری در معرض اشعه UV بر تبدیل ارگسترول به ویتامین D_2 (بعد از تابش هر طرف از قارچ‌ها (بخش رویی کلاهک و بخش زیرین کلاهک) برای ۱ و ۲ ساعت)، موثر است و بطور قابل ملاحظه‌ای بیشتر از زمانی است که تنها بخش زیرین کلاهک قارچ به مدت ۲ ساعت در برابر اشعه قرار داشت. میزان ویتامین D_2 بدست آمده برای زمانی که هر بخش از قارچ به مدت ۲ ساعت اشعه دیده‌اند ۳/۱۸ ± ۳۸/۵ میکروگرم بر گرم وزن خشک بود در حالی که این میزان در قارچ‌هایی که در هرطرف تنها

[1] Gills

[2] Cap

یک ساعت در معرض اشعه قرار داشتند ۲/۳۲ ± ۳۶/۱ میکروگرم بر گرم وزن خشک بود. با توجه به اینکه مقادیر بدست آمده از محتوای ویتامین D_2 تفاوت چندانی با هم نداشتند این نتیجه حاصل شد که افزایش مدت زمان تابش اشعه UV تاثیر چشم‌گیری بر میزان ویتامین D_2 نداشت (جاسینق و پررا ۲۰۰۷). با توجه به تحقیقات انجام شده در پژوهش حاضر، میزان ویتامین D_2 بدست آمده از قارچ‌های دکمه‌ای سفید کامل، پرتو دیده با اشعه UVB به مدت ۲ ساعت (در هر سطح یک ساعت) در هر دو سطح (بخش زیرین کلاهک و بخش روی کلاهک) با میانگین ۵/۶۷ ± ۶۹/۹۶ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک و هم‌چنین هر دو سطح قارچ برش خورده در هر دو ضخامت ۳ و۶ میلی‌متر، به ترتیب با میانگین، ۶/۶۶ ± ۹۴/۳۷ و ۶/۳۰ ± ۹۰/۷۸ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک بود که نسبت به تحقیقات بیان شده مقدار ویتامین D_2 تولید شده بیشتر بود.

در قارچ‌های برش خورده با ضخامت ۳ میلی‌متر توسط اشعه UVB میزان ویتامین D_2 در فواصل ٤، ۸ و ۱۲ سانتی‌متر به ترتیب ۵/٤۱ ± ۱۸۵/٤٦، ۱/۷٤ ± ۱۱۳/۸۷ و ۱/۲۳ ±۳۸/٦٦ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک بوده است، که نسبت به نمونه شاهد با مقدار ۱۱/۷۸ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک به ترتیب ۱۵۲۸/٤۳، ۸٦٦/٦۳ و ٤٦۳/٤۹ درصد افزایش داشت. هم‌چنین در قارچ‌های برش خورده با ضخامت ٦ میلی‌متر میزان ویتامین D_2 در فواصل ٤، ۸ و ۱۲ سانتی‌متر به ترتیب ٤/۷٦ ± ۱۷۵/۷۱، ۰/۱٦ ± ۱۱۱/۰۳ و ۰/٦۱ ± ٦٤/٦۰ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک بود که نسبت به نمونه شاهد با مقدار ۰/٦۵ ± ۱۱/۷۸ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک به ترتیب ۱۳۹۱/۵۹، ۸٤۲/۵۲ و ٤٤۸/۳۸ درصد ویتامین D_2 افزایش یافت. با توجه به نتایج بالا، با افزایش ضخامت، میزان ویتامین D_2 کاهش یافته است. نتایج بدست آمده با یافته‌های اوربان و جکوبسن (۲۰۱۵) که گزارش کردند برش‌های نازک‌تر قارچ‌های دکمه‌ای سفید مقدار بیشتری از ویتامین D_2 را نشان داده است که به دلیل قرارگیری مقدار سطح بیشتری از بخش کلاهک قارچ در برابر اشعه UVB بود، مطابقت داشت.

در نهایت میزان ویتامین D_2 در پودر قارچ در فواصل ٤، ۸ و ۱۲ سانتی‌متر به ترتیب: ۰/٦۵ ± ۱۱۸/۳٤، ±۹٤/۲ ٦٤/۱۵ و ۰/۱۳ ± ۲۰/۱۰ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک بوده است که نسبت به نمونه شاهد با مقدار ۰/٦۵ ± ۱۱/۷۸ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک به ترتیب ۹۰٤/۵۸، ٤٤٤/۵٦ و ۷۰/٦۲ درصد افزایش ویتامین D_2 داشته است. طبق تحقیقات راس و همکاران (۲۰۱۱)، ویتامین D_2 در قارچ‌های تیمار نشده کمتر از ۰/۰۰۵ میکروگرم بر گرم وزن خشک بود و پس از ۳ پالس با اشعه‌ی UVB به سرعت به ۱۲/٦ میکروگرم بر گرم وزن خشک افزایش یافت. این معادل ۵۱۸ درصد از[1] RDA ویتامین D در هر وعده قارچ تازه (۸٤ گرم) بود که بر اساس RDA فعلی ٦۰۰ IU[2] برای ویتامین D بود. آن‌ها گزارش کردند احتمالا، سطوح ویتامین D_2 در نمونه‌های قارچ با تیمار بین ۱۲ و ۱۸ پالس به حداکثر غلظت رسیده و تقریبا به ۲۷ میکروگرم بر گرم وزن خشک یا ۱۱۳۰ میکروگرم بر گرم وزن خشک RDA در هر وعده برسد. این تحقیق نتیجه افزایش ۱۵۷٤/۳٦ درصدی سطح ویتامین D_2 در قارچ‌های دکمه‌ای سفید تیمار شده (با اشعه‌ی UVB به مدت ۲ ساعت) که در پژوهش حاضر بدست آمده را توجیه می‌کند. دلیل تفاوت در مقدار ویتامین D_2، تفاوت درکشت‌های مختلف، شرایط محیطی متفاوت برای قارچ-ها و استفاده از شدت‌ها و دوزهای متفاوت اشعه بود. هم‌چنین در پژوهش حاضر محتوای ویتامین D_2 بدست آمده در پودر قارچ تیمار شده با تابش اشعه‌ی UVB به مدت ۲ ساعت به طور میانگین ٤/٤۲ ± ۵۳/۵۹ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک بود.

باتوجه به بررسی‌های استاوینیسکا و همکاران (۲۰۱٦)، تولید ویتامین D_2 در نمونه‌های پرتو دیده با اشعه UVB به روش خشک کردن قارچ‌ها (خشک کردن انجمادی یا

[1] Recommended Dietary Allowances

[2] International Unit

هدایت حرارتی) وابسته نیست. محتوای ویتامین D_2 در قارچ‌های خشک شده به روش خشک کردن انجمادی و خشک کردن با هوا تفاوت چندانی نداشت ($p>۰/۰۵$). هم‌چنین میزان بهینه محتوای رطوبت برای سرعت تبدیل ارگسترول به ویتامین D_2 حدود ۳/۵ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک بود. بر اساس یافته‌های جاسینق و پررا (۲۰۰۵)، تیمار قارچ‌های برش خورده خشک شده به روش انجمادی با پرتو UVB، باعث تولید مقدار قابل توجهی ویتامین D_2 (۰/۰۷۵ گرم بر گرم وزن خشک) شد که تفاوت چندانی با میزان ویتامین D_2 قارچ‌هایی که ابتدا تیمار شده و سپس به روش انجمادی خشک شده‌اند نداشت. محتوای ویتامین D_2 برش خورده قارچ‌های از پیش خشک شده تیمار شده با اشعه UVB در مقایسه با قارچ‌هایی که ابتدا پرتو دیدند و سپس به روش انجمادی خشک شدند، تفاوت قابل توجهی نداشت. این نتایج برای قارچ‌هایی مانند قارچ دکمه‌ای سفید و سایر گونه‌های قارچ‌ها نیز صادق بود. محتوای ویتامین D_2 در پودر قارچ خشک شده بطور قابل توجهی از قارچ برش خورده کمتر بود ($p>۰/۰۵$). احتمالا نتیجه گزارش شده بخاطر بیشتر بودن مقدار سایر اجزای بافت قارچ (باقیمانده پرده غشایی[1] ساقه[2] و بخش حلقه‌ای[3]) و در نتیجه کاهش تاثیر تابش اشعه UVB بود. این نتایج صحت محتوای ویتامین D_2 بدست آمده با میانگین ۴/۴۲ ± ۵۳/۵۹ میلی گرم بر گرم وزن خشک در پودر قارچ تیمار شده با تابش اشعه UVB نسبت به سایر اشکال قارچ‌های (قارچ کامل و برش خورده قارچ ۳ و ٦ میلی‌متر) تیمار شده به مدت ۲ ساعت در پژوهش حاضر را نیز تایید کرد.

با مقایسه اشکال مختلف قارچ (کامل، برش خورده و پودر قارچ) و فواصل مختلف نمونه از منبع تابش اشعه UVB و با توجه به شکل ۱ بیشترین میزان ویتامین D_2 در قارچ‌های برش خورده با ضخامت ۳ میلی‌متر و در فاصله ٤ سانتی‌متر با مقدار ویتامین D_2، ۵/٤۱ ± ۱۸۵/٤٦ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک مشاهده شد.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش احیای آهن یا قدرت احیاکنندگی

با توجه به جدول۳، با بررسی میانگین‌های جذب نمونه‌های قارچ تیمار شده با اشعه UVB در فواصل مختلف (٤، ۸ و ۱۲ سانتی‌متر)، بین تیمارهای با فواصل ۸ و ۱۲ سانتی‌متر و نمونه شاهد تفاوت معناداری وجود نداشت ($P>۰/۰۵$). درحالی‌که تیمارهای با فاصله ٤ و ۱۲ سانتی‌متر و نمونه شاهد اختلاف معناداری وجود داشت ($P<۰/۰۵$)، یعنی میزان جذب در نمونه‌های تیمار شده در فاصله ٤ سانتی‌متر بیشتر از نمونه‌های تیمار شده در فاصله ۱۲ سانتی‌متر و نمونه شاهد بود. هم‌چنین بین تیمارهای با فاصله ٤ و ۸ سانتی‌متر اختلاف معناداری وجود نداشت ($P>۰/۰۵$).

با مقایسه میانگین‌های جذب در اندازه‌گیری قدرت احیاکنندگی نمونه‌های قارچ دکمه‌ای سفید (قارچ کامل، قارچ برش خورده و پودر قارچ) تیمار شده با اشعه UVB، در جدول ٤، مشاهده شد که بین نمونه‌های قارچ کامل، پودر قارچ و قارچ برش خورده تفاوت معناداری وجود داشت ($P<۰/۰۵$)، قارچ شاهد با پودر قارچ و قارچ برش خورده نیز تفاوت معناداری داشتند ($P<۰/۰۵$). در مقایسه بین نمونه شاهد با قارچ کامل تفاوت معناداری وجود نداشت ($P>۰/۰۵$).

[1] Cup
[2] Stem
[3] Ring

جدول ۳- مقایسه میانگین و انحراف معیار جذب نمونه‌ها در ۷۰۰ نانومتر در فعالیت آنتی-اکسیدانی (قدرت احیا کنندگی) اشکال نمونه‌های قارچ کامل، برش خورده و پودر تیمار شده با اشعه UVB، در فواصل مختلف (۴، ۸ و ۱۲ سانتی‌متر)

Table 3- Comparison of mean values and standard deviation of samples absorbance at 700 nm in reducing power All forms of mushrooms (whole mushroon, sliced and powder) treated with UVB rays, at different distances (4, 8 and 12 cm)

Distance (cm)	Absorbance at 700 nm
4	1.68 ± 0.41^{ab}
8	1.41 ± 0.47^{bc}
12	1.15 ± 0.53^{c}
Control	1.16 ± 0.06^{c}

Different superscripts represent significant difference at P< 0.05.

جدول ۴- مقایسه میانگین و انحراف معیار جذب نمونه‌ها در ۷۰۰ نانومتر در قدرت احیا کنندگی اشکال نمونه‌های قارچ کامل، برش خورده و پودر تیمار شده با اشعه UVB

Table 4 - Comparison of mean values and standard deviation of samples absorbance at 700 nm in reducing power of all forms of mushroom samples (whole mushroon, sliced and powder) treated with UVB rays

Sample	Absorbance at 700 nm
Whole mushroom	0.97 ± 0.45^{cd}
Sliced mushroom	1.48 ± 0.24^{b}
Mushroom powder	1.79 ± 0.43^{a}
Control	1.16 ± 0.06^{c}

Different superscripts represent significant difference at P< 0.05.

با بررسی میانگین‌های قدرت احیاکنندگی، مشاهده شد که مقدار جذب نسبت به نمونه شاهد تغییر یافته و هم‌چنین در بین تمامی اشکال قارچ‌ها، پودر قارچ از سایر اشکال نمونه‌های قارچ (قارچ کامل، قارچ برش خورده) تیمار شده با اشعه UVB از قدرت احیاکنندگی بیشتر و در نتیجه میزان جذب بیشتری برخوردار بود.

با توجه به نتایج بدست آمده در پژوهش حاضر، بین عصاره اتانولی با غلظت ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در تمام تیمارهای قارچ دکمه‌ای سفید (قارچ کامل، برش خورده و پودر قارچ، در فواصل ٤، ۸ و ۱۲ سانتی‌متر) تیمار شده با اشعه UVB، بیشترین میزان قدرت احیاکنندگی مربوط به پودر قارچ در فاصله ٤ سانتی‌متر با میانگین جذب ۰/٤۱ ± ۱/٦۸ بود که به دلیل بیشتر بودن سطح نمونه در معرض منبع تابش UVB و فاصله کمتر نمونه از منبع تابش است. کمترین میزان قدرت احیاکنندگی مربوط به قارچ کامل در فاصله ۱۲ سانتی‌متر بود (با میانگین جذب ۰/۵۳ ± ۱/۱۵) که به دلیل فاصله بیشتر از منبع تابش و قرار گرفتن سطح کمتری از نمونه در برابر منبع تابش

UVB نسبت به سایر اشکال (قارچ برش خورده و پودر قارچ) بود. همانطور که نتایج (جدول ۳)، نشان داد با افزایش فاصله، قدرت احیاکنندگی نیز کاهش یافته و باعث کاهش در میزان جذب شد. طبق نتایج بدست آمده از تحقیقات هوآنگ و همکاران (۲۰۱۵)، تیمار با اشعه ماوراء بنفش باعث افزایش به مقدار کم در قدرت احیاکنندگی در قارچ‌های تیمار شده می‌شود (از ۱/۹۷ به ۲/۰۵ در قارچ اویستر طلایی، از ٤/۷۳ به ٤/۹٤ در قارچ اویستر و از ۲/۵۱ به ۲/۹۳ در قارچ اویستر صورتی) که در پژوهش حاضر نیز این نتیجه بدست آمد. براساس تحقیقات لیو و همکاران (۲۰۱۳)، عصاره اتانولی قارچ دکمه‌ای قدرت احیاکنندگی بیشتری (۰/۳۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) نسبت به عصاره متانولی قارچ دکمه‌ای از کشور پرتغال (۳/۱۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)، (ریس و همکاران ۲۰۱۲) و عصاره متانولی قارچ دکمه‌ای از کشور فرانسه (۱/۷۷ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)، (ساووی و همکاران ۲۰۰۸) را نشان داد. درنهایت طبق مطالعات آن‌ها، نتایج نشان داد که عصاره اتانولی قارچ دکمه‌ای از ظرفیت کاهندگی بالاتری نسبت به عصاره متانولی برخوردار بود. طبق یافته‌های هوآنگ و همکاران (۲۰۱۵)، تابش اشعه UVB تاثیری اندک بر محتوای کلی فنل‌های سه نوع قارچ (قارچ‌های اویستر طلایی، میسلای اویستر و اویستر صورتی) داشت. پس از تابش اشعه ماوراء بنفش به مدت ۲ ساعت، میزان کل فنل موجود در قارچ‌ها اویستر طلایی و میسلای اویستر افزایش یافت (از ٦/۳٦ به ۱۸/۹۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر). با توجه به نتایج بدست آمده، دربین تیمارهای قارچ دکمه‌ای سفید (قارچ کامل، برش خورده و پودر قارچ، در فواصل ٤، ۸ و ۱۲سانتی‌متر) تیمار شده با اشعه UVB، بیشترین میزان قدرت احیاکنندگی مربوط به پودر قارچ در فاصله ٤ سانتی‌متر و کمترین میزان قدرت احیاکنندگی مربوط به قارچ کامل در فاصله ۱۲ سانتی‌متر بود.

آزمون فعالیت آنتی‌اکسیدانی با رادیکال آزاد DPPH

قارچ کامل

میزان EC_{50} قارچ دکمه‌ای سفید کامل تیمار شده با اشعه UVB و نمونه شاهد درفواصل ٤، ۸ و ۱۲ سانتی‌متر، در شکل ۲ نشان داده شده است. با قرار گرفتن قارچ‌های کامل در برابر اشعه UVB فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها نسبت به EC_{50} نمونه شاهد (۲/۸٦۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) کاهش یافت. میزان EC_{50} در فواصل ٤، ۸ و ۱۲ سانتی‌متر، به ترتیب ۳/۲، ۳/۱۰۱ و ۳/۰۱۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود.

قارچ برش خورده

میزان EC_{50} برش خورده قارچ دکمه‌ای سفید تیمار شده با اشعه UVB و نمونه شاهد درفواصل ٤، ۸ و ۱۲ سانتی-متر، در شکل۳ بیان شده است. با قرار گرفتن قارچ‌های برش خورده در برابر اشعه UVB فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها نسبت به EC_{50} نمونه شاهد (۲/۸٦۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)، کاهش یافت. میزان EC_{50} در فواصل ٤، ۸ و ۱۲ سانتی‌متر، به ترتیب ٤/۰۰۸، ٤/۰۵۵ و ۳/۳۹۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود.

شکل ۲- فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH قارچ دکمه‌ای سفید کامل (۱) فاصله ۴ سانتی‌متر ، (۲) فاصله ۸ سانتی-متر، (۳) فاصله ۱۲ سانتی‌متر، (۴) نمونه شاهد قارچ دکمه‌ای سفید از منبع تابش اشعه UVB

Figure 2- scavenging activity of free radical activity DPPH whole mushroom (1) at a distance of 4 cm from the UVB radiation source, (2) 8 cm, (3) 12 cm, (4) control

شکل ۳- فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH قارچ دکمه‌ای سفید برش خورده (۱) فاصله ۴ سانتی‌متر ، (۲) فاصله ۸ سانتی‌متر، (۳) فاصله ۱۲ سانتی‌متر، (۴) نمونه شاهد قارچ دکمه‌ای سفید از منبع تابش اشعه UVB

Figure 3- scavenging activity of free radical activity DPPH sliced mushroom (1) at a distance of 4 cm from the UVB radiation source, (2) 8 cm, (3) 12 cm, (4) control

پودر قارچ

میزان EC_{50} پودر قارچ دکمه‌ای سفید تیمار شده با اشعه‌ی UVB و نمونه شاهد درفواصل ٤، ٨ و ١٢ سانتی‌متر، در شکل ٤ نشان داده شده است. با قرار گرفتن پودر قارچ در برابر اشعه UVB فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن نسبت به EC_{50} نمونه شاهد (٢/٨٦٠ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) کاهش یافت. میزان EC_{50} در فواصل ٤، ٨ و ١٢ سانتی‌متر به ترتیب ٤/٦٨٣، ٤/٦١٢ و ٤/٥٥ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود.

شکل ۴- فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH پودر قارچ دکمه‌ای سفید (۱) فاصله ۴ سانتی‌متر ، (۲) فاصله ۸ سانتی‌متر، (۳) فاصله ۱۲ سانتی‌متر، (۴) نمونه شاهد قارچ دکمه‌ای سفید از منبع تابش اشعه UVB

Figure 4- scavenging activity of free radical activity DPPH mushroom powder (1) at a distance of 4 cm from the UVB radiation source, (2) 8 cm, (3) 12 cm, (4) control

با توجه به جدول ٥، با بررسی سطح معناداری نمونه‌های قارچ مشخص شد که بین میزان فعالیت مهارکنندگی تیمارها با نمونه شاهد تفاوت معناداری مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$). با این وجود در بین تیمارهای قارچ کامل، قارچ برش خورده و پودر قارچ تفاوت معناداری مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$).

جدول ۵- مقایسه میانگین و انحراف معیار فعالیت مهار کنندگی اشکال نمونه‌های قارچ کامل، برش خورده و پودر تیمار شده با اشعه UVB

Table 5- Comparison of mean and standard deviation of scavenging activity of all forms of mushroom samples (whole mushroom, sliced and powder) treated with UVB

sample	Scavenging activity (%)
Whole mushroom	57.25 ± 2.45 [a]
Sliced mushroom	53.98 ± 2.47[a]
Mushroom powder	51.86 ± 2.48 [a]
Control	59.01 ± 5.86 [a]

Different superscripts represent significant difference at P< 0.05.

میانگین و انحراف معیار مهارکنندگی همه اشکال نمونه-های قارچ (کامل، برش خورده و پودر) تیمار شده با اشعه UVB در فواصل مختلف در جدول ٦ نشان داده شده است. از نظر سطح معناداری نمونه‌های تیمار شده در فواصل مختلف با نمونه شاهد تفاوت معناداری نداشتند (p>۰/۰۵). هم‌چنین در بین تیمارهای فواصل ٤، ۸ و ۱۲ سانتی‌متر تفاوت معناداری مشاهده نشد (۰/۰۵ <p).

جدول ۶- مقایسه میانگین و انحراف معیار مهار کنندگی اشکال نمونه‌های قارچ کامل، برش خورده و پودرتیمار شده با اشعه UVB در فواصل مختلف

Table 6-Comparison of mean and standard deviation of scavenging activity of all forms of mushroom samples (whole mushroom, sliced and powder) treated with UVB, at different distances (4, 8 and 12 cm)

Distance (cm)	Scavenging activity (%)
4	52.14 ± 2.56[a]
8	52.78 ± 2.36[a]
12	53.53 ± 2.83[a]
Control	59.01 ± 2.69[a]

Different superscripts represent significant difference at P< 0.05.

در پژوهش حاضر، مقادیر EC_{50} بدست آمده برای عصاره اتانولی برای قارچ کامل، قارچ برش خورده و پودر قارچ در فاصله ٤ سانتی‌متر به ترتیب ۳/۲، ٤/۰۰۸ و ٤/٦۸۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در فاصله ۸ سانتی‌متر به ترتیب ۳/۱۰۱، ٤/۰۵۵ و ٤/٦۱۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و در فاصله ۱۲ سانتی‌متر به ترتیب ۳/ ۰۱۸، ۳/۹۳۱ و ٤/۵۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود که با توجه به مقادیر EC_{50} مربوط به عصاره متانولی، برای قارچ‌های *A. arvensis*، *A. bisporus*، *A. romagnesii*، *A. silvaticus* و *A. silvicola* به ترتیب ۰/۲۷ ± ۱۵/۸۵، ۰/۰۷ ± ۹/٦۱، ۰/۱۰ ± ٦/۲۲، ۰/۰٦ ± ۵/۳۷ و ۰/۱٦ ± ٦/۳۹ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر (باروس و همکاران ۲۰۰۸) و مقادیر EC_{50} بدست آمده از عصاره متانولی قارچ‌های وحشی خوراکی *Lactarius deliciosus*، *L. deliciosus*، *L. deliciosus*، *Tricholoma*

portentosum، *T. portentosum* و *T. portentosum*، به ترتیب ۸/۵۲، ۱۱/۹، ۱۵/۱، ۲۲/۹، ۴۰/۲ و ۵۰< میلی‌گرم بر میلی‌لیتر (فرریرا و همکاران ۲۰۰۷)، میزان EC_{50} عصاره متانولی قارچ اویستر ۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود (جایاکومار و همکاران ۲۰۰۹). بیشتر بودن میزان فعالیت مهارکنندگی عصاره اتانولی از عصاره متانولی در تحقیق حاضر در تطابق با تحقیقات ذکر شده بود. در پژوهش هوآنگ و همکاران (۲۰۱۵) EC_{50} بدست آمده از عصاره اتانولی قارچ‌های اویستر طلایی، میسلای اویستر و اویستر صورتی پس از ۲ ساعت تیمار در فاصله‌ی ۱۹ سانتی‌متری از منبع تابش اشعه‌ی UVB با دوز ۲۵/۹ کیلو ژول بر متر مربع به ترتیب ۰/۲۵، ۱/٤٤ و ۰/۹۷ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. هم‌چنین مقدار EC_{50} عصاره اتانولی ۱/۳۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر برای قارچ اویستر در پژوهش لی و همکاران (۲۰۰۷)، نسبت به مقادیر بدست آمده در پژوهش حاضر کمتر بوده است. طبق مطالعات تسای و همکاران (۲۰۰۹) میزان فعالیت مهارکنندگی در عصاره اتانولی قارچ اویستر ۵/۵۸ میلی گرم بر میلی‌لیتر بود که از مقادیر بدست آمده در پژوهش حاضر بیشتر بود که احتمالا به دلیل تفاوت در نوع و گونه قارچ‌ها و شرایط تیمار آن‌ها بوده است.

مطابق یافته‌های هوآنگ و همکاران (۲۰۱۵)، تیمار با اشعه ماوراء بنفش می‌تواند توانایی مهار رادیکال‌های DPPH را کاهش دهد که در پژوهش حاضر نیز این نتیجه مشاهده شد. با توجه به نتایج بدست آمده در پژوهش حاضر اشکال مختلف قارچ (قارچ کامل، قارچ برش خورده و پودر قارچ) با اشعه UVB در فواصل مختلف (٤، ۸ و ۱۲ سانتی‌متر) بر میزان مهارکنندگی قارچ دکمه-ای سفید تاثیر قابل توجهی نداشته است که این نتایج با بررسی‌های هوآنگ و همکاران (۲۰۱۵) مطابقت داشت. مقادیر ارگوتیونئین، فلاونوئیدها، فنل‌های کلی از بخش خوراکی قارچ‌ها و میسلا نمونه‌های قارچ (قارچ‌های اویستر طلایی، میسلای اویستر و اویستر صورتی) پرتو دیده در نتایج آن‌ها نشان داد که این قارچ‌ها حاوی مقادیر کافی از عناصر آنتی‌اکسیدانی هستند. بر این اساس، علاوه بر محتوای بالای ویتامین D_2، بخش خوراکی قارچ تیمار شده با تابش UVB و میسلا میزان آنتی‌اکسیدان بالقوه‌ای برای استفاده در محصولات غذایی دارا می-باشند و می‌توانند به عنوان یک مکمل غذایی جدید و غذاهای کاربردی تولید شوند.

جدول ۷- شمارش کلی کلنی‌های قارچ دکمه‌ای سفید تیمار شده با اشعه UVB و نمونه شاهد

Table 7- Total count of all forms of mushroom samples (whole mushroom, sliced and powder) treated with UVB and control

Sample	TCA(log cfu/gr)
Whole mushroom	7.390 ± 0.23 [b]
Sliced mushroom	6.810 ± 0.17 [b]
Mushroom powder	5.360 ± 0.56 [c]
Control	9.703 ± 0.16 [a]

Different superscripts represent significant difference at P< 0.05.

آنالیز میکروبی

نتایج آزمون میکروبی شمارش کلی کلنی‌های قارچ دکمه-ای سفید (قارچ کامل، قارچ برش خورده و پودر قارچ، در فواصل ٤، ٨ و ١٢ سانتی‌متر) تیمار شده با اشعه UVB و نمونه شاهد پس از گرمخانه گذاری به مدت ٥ روز در جدول ٧ نشان داده شده است. نتایج حاصل با استانداردملی شماره ١٠٨٩٩ و ٥٢٧٢ مطابقت داشته و در تمام نمونه‌ها تعداد کلی کلنی‌ها (TCA) کمتر از log cfu/gr ١٠ بوده است. هم‌چنین هیچ‌گونه کپک و مخمری در نمونه‌های قارچ تیمار شده با اشعه UVB و نمونه شاهد مشاهده نشد.در قارچ شاهد میانگین تعداد کلنی‌ها ٠/١٦ ± ٩/٧٠٣، قارچ کامل ٠/٢٣ ± ٧/٣٩٠، قارچ برش خورده ٠/١٧ ± ٦/٨١٠ و در پودر قارچ log cfu/gr ٠/٥٦ ± ٥/٣٦٠ بود. فاصله از منبع تابش UVB (٤، ٨ و ١٢سانتی‌متر)، تاثیر قابل توجهی بر جمعیت میکروبی نمونه‌ها نداشت اما نوع شکل قارچ (قارچ کامل، قارچ برش خورده و پودر قارچ)، نیز در این میزان موثر بود. بیشترین کاهش در جمعیت میکروبی مربوط به پودر قارچ بود که به دلیل بیشتر بودن سطح تماس نمونه در برابر منبع تابش بود. نتایج بدست آمده از شمارش کلی کلنی‌ها در نمونه‌ها نشان داد که تیمار با اشعه UVB بر جمعیت میکروبی قارچ‌ها موثر بوده و باعث کاهش تعداد کلنی‌ها در تمامی اشکال نمونه‌ها نسبت به نمونه شاهد شد. طبق مطالعات کلاراس و همکاران (٢٠١٢)، تابشPUV (اشعه UV پالسی) در فرآوری مواد غذایی به طور عمده به عنوان یک عامل ضد میکروبی اثر کرد. تیماری که در مطالعه آن‌ها مورد استفاده قرار گرفت، برای تعیین اینکه آیا سطح تابش لازم برای دستیابی به مقادیر مناسب ویتامین D_2 در کاهش بارهای میکروبی نیز مؤثر است، مورد بررسی قرار گرفت. تعداد کلی میکروارگانیسم‌های هوازی و سطح مخمر و کپک با تیمار ٣ پالس کاهش پیدا نکرد. آن‌ها دوز کمتری از تابش PUV استفاده کردند که می‌تواند دلیل عدم کاهش بار میکروبی را توضیح دهد، هم‌چنین ممکن است به دلیل استفاده از لامپ از نوع UVC باشد، که خاصیت میکروب‌کشی کمتری در طیف UV دارد. چیکیماه و بیلمن (٢٠٠٦)، گزارش دادند که با افزایش زمان تیمار از ٤ تا ٣٠ ثانیه با PUV، میکروب‌های قارچ تازه می‌تواند از ٠/٩ تا ١/٦ log cfu/gr کاهش یابند. یکی دیگر از دلایل احتمالی عدم وجود اثرات میکروب‌کشی این است که تمام قارچ‌های تحت تیمار در بسته‌های تجاری آن‌ها کاملاً در معرض تابش PUV قرار نگرفته‌اند. لایه بالایی احتمالاً تنها سطحی است که در معرض تابش PUV قرار گرفته است و بنابراین جمعیت میکروبی موجود در آن کمتر است. در تایید نتایج پژوهش‌های انجام شده، جمعیت میکروبی قارچ‌های دکمه‌ای سفید تیمار شده با اشعه UVB به مدت ٢ ساعت در پژوهش حاضر از ٠/١٦ ± ٩/٧٠٣ در نمونه شاهد تا ٠/٥٦ ± ٦/٣٦ log cfu/gr در پودر قارچ، نیز به دلیل اثر ضد میکروبی اشعه UV بوده است.

نتیجه‌گیری

با توجه به ضرورت تامین ویتامین D برای افراد جامعه، به‌دلیل کمبود این ویتامین در بیشتر افراد جامعه و مشکلات و بیماری‌های حاکی از کمبود آن و با توجه به اثر اشعه UVB بر افزایش ویتامین D_2 در قارچ‌های خوراکی، در این مطالعه اثرات اشعه UVB بر محتوای ویتامین D_2، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و جمعیت میکروبی قارچ دکمه‌ای سفید در اشکال قارچ کامل، قارچ برش خورده و پودر قارچ در فواصل ٤، ٨ و ١٢ سانتی‌متر از منبع تابش، مورد ارزیابی قرار گرفت. نمونه‌های قارچ به مدت ٢ ساعت درون دستگاه تولید کننده اشعه UVB در معرض تابش قرار گرفتند. سپس آزمون‌های مورد نظر بر روی نمونه‌ها انجام گرفت. باتوجه به نتایج بدست آمده، تابش UVB تاثیر قابل توجهی بر میزان ویتامین D_2 در تمامی تیمارها داشت. اثر تابش بر میزان تولید ویتامین D_2 با افزایش فاصله کمتر شده و مقادیر ویتامین D_2 در قارچ‌ها نیز کاهش یافت. هم‌چنین میزان سطح قرارگیری نمونه‌ها در معرض تابش (ضخامت ٣ و ٦

میلی‌متر قارچ و شکل قارچ کامل، قارچ برش خورده و یا پودر قارچ) در میزان ویتامین D_2 تولید شده در نمونه‌ها موثر بود به‌طوری که میزان ویتامین D_2 در اشکال مورد تیمار با افزایش سطح تماس نمونه با منبع تابش، افزایش یافت (قارچ برش خورده با ضخامت ۳ میلی‌متر > قارچ برش خورده با ضخامت ٦ میلی‌متر > قارچ کامل > پودر قارچ). در پودر قارچ با وجود بیشتر بودن سطح تماس نسبت به سایر اشکال به دلیل حضور سایر ترکیبات، محتوای ویتامین D_2 از سایر اشکال کمتر بود. اثر اشعه UVB بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی قارچ دکمه‌ای سفید بدین صورت بود که با کاهش فاصله از منبع تابش میزان فعالیت مهار رادیکال DPPH کاهش یافت. اما اثر تابش بر قدرت احیاکنندگی نتیجه عکس داشت یعنی با افزایش فاصله میزان قدرت احیاکنندگی کاهش یافت. اما در مجموع تاثیر قابل توجهی بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی قارچ دکمه‌ای سفید نداشت. با توجه به خاصیت ضد میکروبی اشعه UVB، با بررسی جمعیت میکروبی قارچ‌های تیمار شده با اشعه UVB مشاهده شد که با قرارگیری نمونه‌ها در برابر منبع تابش جمعیت کلی باکتری‌ها آن‌ها نیز کاهش یافت و این اثر با افزایش فاصله از منبع تابش کمتر شد. با توجه به تحقیقات صورت گرفته بیان شده که سطوح ویتامین D_2 تولید شده در قارچ‌های خوراکی قرار گرفته در معرض تابش اشعه UVB برای بدن قابل دسترس می‌باشد و نیاز بدن افراد را به این ویتامین به خوبی تامین می‌کند و با توجه به نتایج بدست آمده در پژوهش حاضر می‌توان نتیجه گرفت که تیمار قارچ دکمه-ای سفید با اشعه UVB برای غنی سازی آن جهت افزایش میزان ویتامین D_2 راهی سریع، امن و در دسترس می-باشد. باتوجه به خاصیت میکروب‌کشی اشعه UVB بر قارچ دکمه‌ای سفید بطور کلی با افزایش فاصله این خاصیت کاهش یافته و هم‌چنین اثر میکروب‌کشی آن بر پودر قارچ نیز بیشتر بوده است که نشان داد با افزایش سطح تماس نمونه با تابش اشعه UVB باعث کاهش بیشتری در جمعیت میکروبی می‌شود. در ادامه اثر مثبت آن بر خاصیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH نشان داد که می‌توان از این اشعه برای کاهش جمعیت میکروبی قارچ دکمه‌ای سفید در اشکال مختلف قارچ کامل، قارچ برش خورده و پودر قارچ)، بدون ایجاد تغییرات نامناسب در سایر ویژگی‌های مورد نظر مانند فعالیت آنتی-اکسیدانی استفاده کرد.

منابع مورد استفاده

استاندارد ملی ایران، ۱۳۸٦. میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام- روش جامع برای شمارش کلی میکروارگانیسم ها در ۳۰ درجه سیلسیوس، اصلاحیه شماره ۱، شماره ۵۲۷۲.

استاندارد ملی ایران، ۱۳۸۷. میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام- روش جامع برای شمارش کپک و مخمرها، قسمت اول.

استاندارد ملی ایران، ۱۳۸٦. قارچ تازه خوراکی پرورشی- ویژگی‌ها، ویرایش دوم، شماره ۱٦۲۷.

خادمی، ا قا سمی، ح و نا صری، پ، ۱۳۹۲. افزایش عمر قفسه‌ای قارچ خوراکی برش خورده (Fresh cut) تو سط محلول‌های ا سید اگزالیک و کلرید کلسیم، سومین همایش بزرگ علوم و صنایع غذایی دانشگاه صنعتی اصفهان.

Accortt E.E, Schetter C.D, Peters R.M and Cassidy-Bushrow, A.E, 2016. Lower prenatal vitamin D status and postpartum depressive symptomatology in African American women: Preliminary evidence for moderation by inflammatory cytokines. Archives of women's mental health 19(2): 373-383.

Adebayo E.A, OlokeJ.K, Ayandele, A.A and Adegunlola C.O, 2012. Phytochemical, antioxidant and antimicrobial assay of mushroom metabolite from Pleurotus pulmonarius-LAU 09 (JF736658). Journal of Microbiology and Biotechnology Research 2(2): 366-374.

Amrein K, Scherkl M, Hoffmann M, Neuwersch-Sommeregger, S, Köstenberger M, Berisha A.T, Martucci G, Pilz S and Malle O, 2020. Vitamin D deficiency 2.0: An update on the current status worldwide. European Journal of Clinical Nutrition: 1-16.

Angle R.Y and Tamhane D.V, 2007. Mushrooms: An exotic source of nutritious and palatable food. Indian Food Packer 28(5): 22-28.

Barros L, Falcão S, Baptista P, Freire C, Vilas-Boas M and Ferreira I.C, 2008. Antioxidant activity of Agaricus sp. mushrooms by chemical, biochemical and electrochemical assays. Food chemistry 111(1): 61-66.

Brennan M, Le Port, G and Gormley R, 2000. Post-harvest treatment with citric acid or hydrogen peroxide to extend the shelf life of fresh sliced mushrooms. LWT-Food Science and Technology 33(4): 285-289.

Chikthimmah, N. Beelman, R, 2006. Microbial Spoilage of Fresh Mushrooms. In Microbiology of Fruits and Vegetables. Journal of agricultural and food chemistry pp: 135−158.

Dokhanieh A.Y and Aghdam M.S, 2016. Postharvest browning alleviation of Agaricus bisporus using salicylic acid treatment. Scientia Horticulturae 207: 146-151.

Ferreira I.C, Baptista P, Vilas-Boas M and Barros L, 2007. Free-radical scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms from northeast Portugal: Individual cap and stipe activity. Food chemistry 100(4): 1511-1516.

Gill B. D, Zhu X, and Indyk H. E, 2015. A rapid method for the determination of vitamin D_3 in milk and infant formula by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. Journal of AOAC International 98(2): 431-435.

Holick M.F, 2004. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. The American journal of clinical nutrition 80(6): 1678S-1688S.

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.

Itkonen S T, Skaffari E, Saaristo P, Saarnio E M, Erkkola M, Jakobsen J, Cashman K D and Lamberg-Allardt C, 2016. Effects of vitamin D_2-fortified bread v. supplementation with vitamin D_2 or D_3 on serum 25-hydroxyvitamin D metabolites: an 8-week randomised-controlled trial in young adult Finnish women British journal of nutrition 115(7): 1232-1239.

Jagger J, 1985, Solar-UV actions on living cells. Praeger Scientific, New York.

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.

Jasinghe V J, and Perera C O. 2006. Ultraviolet irradiation: the generator of vitamin D_2 in edible mushrooms. Food Chemistry 95(4): 638-643.

Jasinghe V J, Perera C O, and Sablani S S, 2007. Kinetics of the conversion of ergosterol in edible mushrooms. Journal of food engineering 79(3) :864-869.

Jayakumar T, Thomas P A and Geraldine P, 2009. In-vitro antioxidant activities of an ethanolic extract of the oyster mushroom, Pleurotus ostreatus. Innovative Food Science and Emerging Technologies 10(2): 228-234.

Kalaras M D, Beelman R B and Elias R J, 2012. Effects 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.

Kannel W B, Wolf P A, Benjamin E J, and Levy D, 1998. Prevalence, incidence, prognosis, and predisposing conditions for atrial fibrillation: population-based estimates. The American journal of cardiology 82(7): 2-9.

Kim G and Bae J H, 2016, Vitamin D and atopic dermatitis: A systematic review and meta-analysis. Nutrition 32(9): 913-920.

Ko J A, Lee B H, Lee J S and Park H J, 2008. Effect of UV-B exposure on the concentration of vitamin D_2 in sliced shiitake mushroom (Lentinus edodes) and white button mushroom (Agaricus bisporus). Journal of agricultural and food chemistry 56(10): 3671-3674.

Kotwaliwale N, Bakane P and Verma A 2007, Changes in textural and optical properties of oyster mushroom during hot air drying. Journal of Food Engineering 78(4): 1207-1211.

Koyyalamudi S. R, Jeong S. C, Pang G, Teal A, and Biggs T, 2011. Concentration of vitamin D_2 in white button mushrooms (Agaricus bisporus) exposed to pulsed UV light. Journal of Food Composition and Analysis 24(7): 976-979.

Lee Y L, Huang G W, Liang Z C and Mau J L, 2007. Antioxidant properties of three extracts from Pleurotus citrinopileatus. LWT-Food Science and Technology 40(5): 823-833.

Liu J, Jia L, Kan J and Jin C.H, 2013. In vitro and in vivo antioxidant activity of ethanolic extract of white button mushroom (Agaricus bisporus). Food and chemical toxicology 51: 310-316.

Matser A M, Knott E R, Teunissen P G and Bartels, P V, 2000. Effects of high isostatic pressure on mushrooms. Journal of Food Engineering 45(1): 11-16.

Mau JL, Chen, PR and Yang JH, 1998. Ultraviolet irradiation increased vitamin D_2 content in edible mushrooms. Journal of Agricultural and Food Chemistry 46(12): 5269-5272.

Murcia MA, Martinez-Tome M, Jimenez AM, Vera, AM, Honrubia M and Parras P, 2002. Antioxidant activity of edible fungi (truffles and mushrooms): losses during industrial processing. Journal of food protection 65(10): 1614-1622.

Nölle N, Argyropoulos D, Ambacher S, Müller J and Biesalski H.K, 2017. Vitamin D_2 enrichment in mushrooms by natural or artificial UV-light during drying. LWT-Food Science and Technology 85: 400-404.

Oyaizu, M 1989, Antioxidative Activities of Pigments from Dried Marine Algae. journal of the japanese society for cold preservation of food 15(1): 18-21.

Phillips K.M, Ruggio D.M, Horst R.L, Minor B, Simon R.R, Feeney M.J, Byrdwell W.C and Haytowitz D.B, 2011. Vitamin D and sterol composition of 10 types of mushrooms from retail suppliers in the United States. Journal of agricultural and food chemistry 59(14): 7841-7853.

Reis F.S, Martins A, Barros L and Ferreira I.C, 2012. Antioxidant properties and phenolic profile of the most widely appreciated cultivated mushrooms: A comparative study between in vivo and in vitro samples. Food and Chemical Toxicology 50(5): 1201-1207.

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 and Kovacs C.S, 2011. The 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 and Metabolism 96(1): 53-58.

Savoie J.M, Minvielle N and Largeteau M.L, 2008. Radical-scavenging properties of extracts from the white button mushroom, Agaricus bisporus. Journal of the Science of Food and Agriculture 88(6): 970-975.

Simon R.R, Phillips K.M, Horst R.L and Munro I.C, 2011. Vitamin D mushrooms: comparison of the composition of button mushrooms (Agaricus bisporus) treated postharvest with UVB light or sunlight. Journal of agricultural and food chemistry 59(16): 8724-8732.

Sizar O, Khare S, Goyal G, Bansal P, Givler A, 2020. Vitamin D Deficiency. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK532266/

Staffas A, and Nyman A, 2003. Determination of cholecalciferol (vitamin D_3) in selected foods by liquid chromatography: NMKL collaborative study. Journal of AOAC International 86(2): 400-406.

Stawinska, A, Fornal, E, Radzki, W, Skrzypczak, K, Zalewska-Korona, M, Michalak- Majewska, M, et al. 2016. Study on vitamin D_2 stability in dried mushrooms during drying and storage. Food Chemistry 199: 203-209.

Ross, A. C, Taylor, C. L, Yaktine, A. L, and Del Valle, H. B. 2011. Dietary reference intakes for calcium and vitamin D. Washington, DC: The National Academic Press.

Tsai S.Y, Huang S.J, Lo S.H, Wu T.P, Lian P.Y and Mau J.L, 2009. Flavour components and antioxidant properties of several cultivated mushrooms. Food Chemistry 113(2): 578-584.

Teichmann A, Dutta P. C, Staffas A, and Jägerstad M, 2007. Sterol and vitamin D_2 concentrations in cultivated and wild grown mushrooms: Effects of UV irradiation. LWT-Food Science and Technology 40(5): 815-822.

Urbain, P, and Jakobsen, J. 2015. Dose–response effect of sunlight on vitamin D_2 production in Agaricus bisporus mushrooms. Journal of agricultural and food chemistry 63(37): 8156-8161.

Journal of Food Researches/vol.31 No.2 2021/pp 201-223
https://foodresearch.tabrizu.ac.ir
DOI: 10.22034/FR.2021.39534.1735

Evaluation of the effect of of UVB radiation on vitamin D_2 levels, antioxidant activity and microbial activity of white button mushrooms

Z Afzalian[1], Z Raftani Amiri[2*] And J Farmani[2]

Received: April 29, 2020 Accepted: August 15, 2020
[1]MSc, Department of Food Science and Technology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran
[2] Professor and Associate Professor, respectively, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agricultural Engineering, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran
[*]Corresponding Author: Email: zramiri@gmail.com, z.raftani@sanru.ac.ir

Introduction: Edible mushrooms consumption and cultivation as a food source has a long history and has attained great commercial importance. Mushrooms are eukaryotic organisms. There is chitin in the cell membrane of mushroom (Fungi) and they do not have the ability to photosynthesize. Edible mushrooms are important in terms of nutritional value among agricultural products around the world and in recent years the consumption of mushrooms has greatly increased. Edible mushrooms are rich in a variety of vitamins, proteins and soluble fats. They are also eaten as a main or a lateral food in raw or cooked form in a variety of appetizers, soups, stews, sandwiches and salads. Low calorie intake is good for those who want to lose weight. Mushrooms strengthen bones and are good for vitamin D deficiency. This vitamin is fat-soluble and comes in a variety of forms, including D_1, D_2 and D_3. It is also known as sun vitamin, which is biologically active in animals and humans after sun exposure or UV radiation. Vitamin D deficiency causes rickets in children and osteoporosis in adults. Vitamin D consumption is associated with a significant reduction in the risk of breast cancer, colon cancer, prostate cancer, autoimmune diseases and cardiovascular disease. Some foods that are sources of vitamin D include: fish, cow liver, fish liver oil, cod and egg yolk. Moreover, some foods such as milk, cereals, some juices and processed cheese, yogurt, Margarine and ice cream can be fortified with vitamin D. Because many foods are low in vitamin D, many countries enrich foods with vitamin D in order to prevent osteoporosis. Enriching foods with vitamin D leads to more calcium availability in children, the elderly and women after menopause. As a result, vitamin D is important, and its deficiency is a major social problem. Mushrooms are known to be a good source of vitamin D. Mushrooms contains large amounts of ergosterol and pro-vitamin D_2, which can be converted to vitamin D_2 by UV rays. Vitamin D is an essential vitamin for people in communities. Mushrooms produce vitamin D_2 in response to UV rays, which can be used as a valuable source of vitamin D_2. In the present study, the effect of UVB irradiation on D_2 levels, antioxidant activity and microbial population of white button mushroom was investigated.

Material and methods: white button mushroom in different forms (Whole mushroom, sliced mushroom and mushroom powder) and at different distances (4, 8 and 12 cm) from UVB irradiation source for 2 hours and then to measure the amount of vitamin D_2 HPLC method is used. For scavenging activity, DPPH free radical method and for reducing power, Fe^{3+} ion method to measure antioxidant activity is used. Also, PCA methods for total bacterial counting and DRBC for mold and yeast counting were employed.

Results and discussion: According to the results, the amount of vitamin D_2 was significantly increased in the treated mushrooms. The D_2 level in the sliced mushroom with a thickness of 3 mm

reached 94.37±6.66 µg/g (701.10 % increase compared to control sample), which was more than other forms (sliced mushrooms with a thickness of 6 mm, whole mushroom and mushroom powder). This indicates the effect of the sample's contact surface with the irradiation source on the amount of produced vitamin D_2. Also, the maximum amount of vitamin D_2 at a distance of 4 cm 185.46 ± 5.41 g/µg DM (1474.34% increase compared to the control sample) in the sliced sample (a thickness of 3 mm), this represents the importance of distance from irradiation source to quantity of the vitamin D_2 production. Moreover, the effect of UVB irradiation on the antioxidant activity of white button mushrooms in different forms and at different distances from the irradiation source was also investigated. The results proved that UVB irradiation doesn't have significant effect on DPPH free radical scavenging activity. In the Fe^{3+} ion's reducing power the most effective distance was 4 cm (absorption: 1.68 ± 0.41) and also the mushroom powder had the highest absorption average (1.79 43 0.43) among other forms. Finally, by examining the effect of UVB irradiation on the microbial population of treated mushroom in different shapes and distances, it was found that UVB irradiation reduced the microbial population of the mushroom from 9.703 ± 0.16 log cfu/gr in the control sample to 5.36 log cfu/gr in the mushroom powder.

Final Conclusion: According to the results, UVB irradiation had a significant effect on vitamin D_2 levels in all treatments. The effect of irradiation on vitamin D_2 production decreased with increasing distance and the amount of vitamin D_2 in Mushrooms were also decreased. Also, the surface of the samples to exposure to irradiation (mushroom thickness: 3 and 6 mm and the shape of the fungus: whole mushrooms, fungal slides or fungal powder) was effective in the amount of vitamin D_2 produced in the samples, so that the amount of vitamin D_2 was increased in the treated forms by increasing the contact area of the sample with the irradiation source (3 mm thick sliced mushroom> 6 mm thick sliced mushroom> whole mushroom> mushroom powder). The result of the UVB irradiation effects on the antioxidant activity of the white button mushroom revealed that the level of scavenging activity of DPPH radical decreased by reducing distance from the irradiation source. However, the effect of irradiation on the reducing power had opposite effect, the reducing power decreased with increasing distance, however, did not have a significant effect on antioxidant activity of mushrooms. Due to the antimicrobial properties of UV radiation, the microbial population of mushrooms treated with UVB irradiation was decreased and this effect decreases with increasing distance from the radiation source. According to researches, the levels of vitamin D_2 produced in edible mushrooms exposed to UVB irradiation are very available to the body and it can provide the body's need of this vitamin. According to the obtained results of the present study, it can be concluded that the treatment of white button mushrooms with UVB rays to enrich it via increasing the amount of vitamin D_2 is a fast, safe and accessible way.

Keywords: White button mushroom, UVB irridation, Vitamin D_2, Antioxidant activity, Microbial activity