

تأثیر تیمار UV-C و اسید آسکوربیک بر جمعیت میکروبی و قهوه‌ای شدن پس از برداشت قارچ تکمه‌ای (*Agaricus bisporus*)

نرگس حسینی^۱، اورنگ خادمی^{۲*}، محسن رودپیما^۳ و آیت اله سعیدی‌زاده^۴

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران

۲- استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران (o.khademi@shahed.ac.ir)

۳- استادیار گروه خاک‌شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران

۴- استادیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران

چکیده

قارچ تکمه‌ای سرشار از مواد غذایی است. ولی در مقایسه با سایر میوه‌ها و سبزی‌ها سرعت تنفس بالاتری دارد؛ بنابراین این محصول از عمر انبارمانی کمی برخوردار بوده و بلافاصله پس از برداشت شروع به تغییر رنگ و قهوه‌ای شدن می‌کند. در پژوهش حاضر اثر تیمارهای اسید آسکوربیک (در چهار سطح بدون اعمال تیمار و تیمار با سطوح صفر، ۰/۱ و ۰/۲ درصد) و UV-C (در سه سطح صفر، ۱ و ۱/۵ کیلوژول بر مترمربع) و تلفیق این تیمارها بر افزایش ماندگاری پس از برداشت قارچ تکمه‌ای مورد بررسی قرار گرفت. ابتدا قارچ‌ها به مدت پنج دقیقه در تیمار اسید آسکوربیک غوطه‌ور شدند و پس از خشک شدن تیمار نور UV-C اعمال شد. قارچ‌ها در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری و در زمان‌های ۷ و ۱۴ روز بعد از تیمار، بررسی شدند. نتایج نشان داد که تیمار UV-C با کاهش جمعیت میکروبی (۲۳/۱۸٪) و کاهش فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز (۴۲/۹۶٪) باعث کاهش قهوه‌ای شدن (۱۶/۳۲٪) و افزایش ماندگاری قارچ تکمه‌ای به مدت ۱۴ روز شد. ولی تیمار اسید آسکوربیک تأثیر مثبتی در کاهش قهوه‌ای شدن و عمر پس از برداشت قارچ نشان نداد؛ بنابراین استفاده از تیمار UV-C برای افزایش ماندگاری قارچ تکمه‌ای مناسب است. کلیدواژه: پس از برداشت، پلی‌فنل‌اکسیداز، حمله میکروبی، قارچ تکمه‌ای، قهوه‌ای شدن

مقدمه

قارچ تکمه‌ای با نام انگلیسی Button mushroom و نام علمی در منابع *Agaricus bisporus* شناخته می‌شود. قارچ‌ها کمترین میزان ماندگاری را در بین محصولات کشاورزی دارند (۱). نور فرابنفش بانام اختصاری UV، به‌طور گسترده به‌عنوان یک جایگزین ایمن برای سترون‌سازی شیمیایی و به‌منظور کاهش بار میکروبی در محصولات غذایی استفاده می‌شود و به‌عنوان یک ضدعفونی‌کننده برای تیمار سطحی غذاها تأیید شده است (۲ و ۱). گوآن و همکاران گزارش کردند نور UV-C به‌صورت معنی‌داری موجب کاهش جمعیت میکروبی، کاهش تعداد کلنی باکتری *Escherichia coli* O157:H7 و حفظ کیفیت قارچ تکمه‌ای در پس از برداشت شد ولی این تیمار با افزایش رنگ قهوه‌ای در کلاهک قارچ تکمه‌ای، اثر نامطلوبی بر ظاهر این محصول داشت (۳). در ادامه گوآن و همکاران نشان دادند که نور UV-C در شدت 0.45 kJ m^{-2} با کاهش جمعیت میکروبی در قارچ‌های خوراکی همراه بود ولی موجب تیره شدن قارچ‌ها در مقایسه با شاهد شد درحالی‌که ترکیب این تیمار با تیمار پراکسید هیدروژن ۳٪ با حفظ رنگ سفید قارچ

همراه بود و ضمن حفظ اثر مطلوب تیمار UV-C در افزایش عمر پس از برداشت قارچ اثرات نامطلوب این تیمار از بین رفت (۳). پرتوتابی UV باعث افزایش ماندگاری قارچ تکمه‌ای گردد ولی این تیمار با افزایش رنگ قهوه‌ای در کلاهک قارچ، اثر نامطلوبی در ظاهر محصول خواهد داشت که با توجه به اهمیت بالای ظاهر محصول در بازارپسندی، لازم است پژوهش‌های بیشتری در این زمینه صورت گیرد. اسید آسکوربیک یک اسید آلی ضعیف و جزء طبیعی بافت بسیاری از میوه‌ها و سبزی‌های تازه بوده و تا حدود زیادی برای سلامتی انسان مفید است. اسید آسکوربیک با نقش آنتی‌اکسیدانی خود موجب تحریک برخی واکنش‌های بیوشیمیایی می‌شود (۴). پاسبان و همکاران با بررسی تأثیر تیمارهای مختلف بر روی پوره‌ی قارچ تکمه‌ای، مشاهده کردند که تیمار با سطوح مختلف اسید آسکوربیک سبب حفظ کیفیت رنگ نمونه‌ها نسبت به نمونه‌های شاهد شد (۵). سرلک و همکاران نیز در بررسی تأثیر تیمارهای اسید آسکوربیک، پراکسید هیدروژن و کلرید کلسیم بر ماندگاری قارچ تکمه‌ای گزارش کردند که اسید آسکوربیک با ممانعت از قهوه‌ای شدن، کاهش نشت یونی، حفظ سفتی و کاهش جمعیت باکتری تیماری مؤثر در افزایش عمر پس از برداشت قارچ تکمه‌ای است (۶). اسید آسکوربیک ضمن اینکه خود به‌طور مستقیم می‌تواند مشکلات پس از برداشت قارچ خوراکی را حذف نماید، با ممانعت از قهوه‌ای شدن ناشی از تیمار UV-C می‌تواند در صورت استفاده هم‌زمان با این تیمار اثر افزایشی داشته و موجب افزایش بهتر و بیشتر ماندگاری قارچ تکمه‌ای گردد که این خود هدف این آزمایش و تحقیق بود.

در این تحقیق، برهمکنش تیمار UV-C و اسید آسکوربیک در افزایش ماندگاری و حفظ کیفیت ظاهری قارچ تکمه‌ای بررسی شد.

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه و تیمار

در این پژوهش قارچ تکمه‌ای سفید (رقم Button) با کلاهک بسته و قطر متوسط ۴۰ میلی‌متر از شرکت قارچ پارس واقع در استان تهران، شهرستان شهریار خریداری و بلافاصله به آزمایشگاه محل آزمایش منتقل گردید. برای انجام این آزمایش، از قارچ‌های تقریباً یکنواخت و سالم استفاده شد. قارچ‌ها به مدت پنج دقیقه در محلول اسید آسکوربیک با سه سطح صفر، ۰/۱ و ۰/۲ درصد (وزنی/حجمی) غوطه‌ور شدند. به‌منظور اعمال تیمار UV-C، قارچ‌های تیمار شده با اسید آسکوربیک صفر، ۰/۱ و ۰/۲ درصد و همچنین قارچ‌های خشک (بدون اعمال تیمار اسید آسکوربیک) به سه گروه با تعداد مساوی تقسیم‌بندی شدند. گروه اول به مدت صفر (به‌عنوان شاهد)، گروه دوم به مدت ۵۰ و گروه سوم به مدت ۱۰۰ ثانیه در معرض نور UV-C قرار داده شدند. پس از اعمال تیمارها، نمونه‌های هر تیمار در ۶ ظرف پلی‌اتیلنی (هر یک دارای ۷ قارچ) توسط پوشش سلوفان بسته‌بندی و در دمای چهار درجه سانتی‌گراد با رطوبت نسبی بالای ۸۰٪ نگهداری شدند. در زمان‌های یک و دو هفته پس از اعمال تیمار تعداد سه بسته از هر تیمار به‌عنوان سه تکرار از سردخانه خارج و از نظر خصوصیات؛ رنگ، درجه قهوه‌ای شدن، مقدار فنل و فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز بررسی شدند.

اندازه‌گیری صفات کیفی

شاخص قهوه‌ای شدن

برای اندازه‌گیری شاخص‌های رنگ L^* و a^* از دستگاه رنگ‌سنج (مدل TES 135A ساخت کشور تایوان) استفاده شد. چندین نقطه از هر قارچ به صورت تصادفی توسط رنگ‌سنج مورد اندازه‌گیری قرار گرفت و خصوصیات رنگ L^* , a^* , b^* CIE یادداشت گردید. سپس از روی خصوصیات رنگی، شاخص قهوه‌ای شدن (BI) محاسبه شد (۷).

$$X = \frac{(1.75 \times L^*) + a^*}{(5.645 \times L^*) + a^* - (0.3012 \times b^*)} \quad (1)$$

$$BI = \frac{100(X - 0.31)}{0.17} \quad (2)$$

فنل کل

برای اندازه‌گیری میزان فنل کل از روش فولین-سیوکالتو استفاده شد (۸). برای این منظور ابتدا یک گرم بافت نمونه به همراه ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰٪ در دستگاه هموژنایزر (مدل NARYA-BM 25 ساخت ایران) همگن گردید. هموژن حاصل به مدت ۱۵ دقیقه، با شتاب 10000 rpm و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. محلول رویی جمع‌آوری و برای اندازه‌گیری مقدار فنل کل اختصاص یافت. یک میلی‌لیتر از محلول رویی به هفت میلی‌لیتر آب مقطر، اضافه گردید. سپس مقدار یک میلی‌لیتر معرف فولین سیوکالتو به آن اضافه شده و پس از گذشت پنج دقیقه، یک میلی‌لیتر محلول کربنات سدیم ۲۰٪ به آن اضافه شد. میزان جذب نمونه‌های حاصل پس از گذشت یک ساعت در طول موج ۷۶۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد و مقدار فنل کل نمونه‌ها بر اساس استاندارد اسید تانیک محاسبه گردید.

جمعیت باکتری

جمعیت باکتری بر اساس روش ذکر شده توسط گوان و همکاران (۱) و با استفاده از محیط کشت مخصوص باکتری نوترینت آگار ارزیابی شد. مقدار بیست گرم نمونه از سطح قارچ با ۲۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل مخلوط شد و توسط دستگاه مخلوط‌کن (مدل BL-F016ABS از شرکت Midea) با توان ۶۰۰ وات و سرعت بالا برای مدت ۶۰ ثانیه همگن گردید. پس از تهیه رقت‌های متوالی (۵-۱۰-۱-۱۰) از این عصاره، صد میکرولیتر از هر رقت درون پتری‌دیش‌های حاوی محیط کشت نوترینت آگار (۲/۸٪) با روش کشت چمنی، به‌طور همگن پخش شد و پتری‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای 27°C در انکوباتور نگهداری شدند. در نهایت، تعداد کلونی موجود در هر پتری‌دیش با استفاده از تکنیک شمارش کلونی شمارش گردید و میزان CFU به دست آمد:

$$CFU = \frac{N_1 + N_2}{[(n_1 \times 1) + (n_2 \times 0.1)] \times d \times v} \quad (3)$$

N_1 = تعداد کلنی در اولین رقت قابل شمارش

n_1 = تعداد تکرار از اولین رقت قابل شمارش

d = ضریب کوچک‌ترین رقت شمارش شده

N_2 = تعداد کلنی در دومین رقت قابل شمارش

n_2 = تعداد تکرار از دومین رقت قابل شمارش

v = حجم کشت شده از رقت‌ها

آنزیم پلی فنل اکسیداز

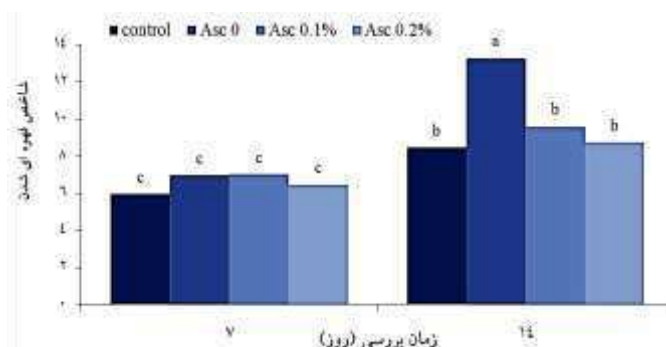
فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز با استفاده از روش وانگ و همکاران اندازه گیری شد (۹). برای اندازه گیری فعالیت این آنزیم دو گرم از بافت قارچ با ۱۲ میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار (متشکل از فسفات مونوپتاسیم و فسفات دی پتاسیم)، دارای pH=۶/۸ به خوبی همگن و در ۱۶۰۰۰ دور در دمای چهار درجه سانتی گراد به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. محلول رویی جمع آوری و سپس مقدار ۷۰۰ میکرو لیتر از آن با ۱۸۰۰ میکرو لیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار و ۵۰۰ میکرو لیتر محلول کاتکول نیم مولار مخلوط شده و میزان تغییرات جذب نوری محلول حاصل در ۴۲۰ نانومتر به مدت دو دقیقه اندازه گیری شد. هر واحد فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز به عنوان مقدار آنزیمی که توانایی تغییر در واحد جذب نوری به ازای هر گرم بافت میوه در هر دقیقه را داشته باشد تعریف شد.

$$PPO \text{ activity (unit g}^{-1} \text{ F.W.)} = \frac{\text{Absorbance}}{0.001 \times 2g}$$

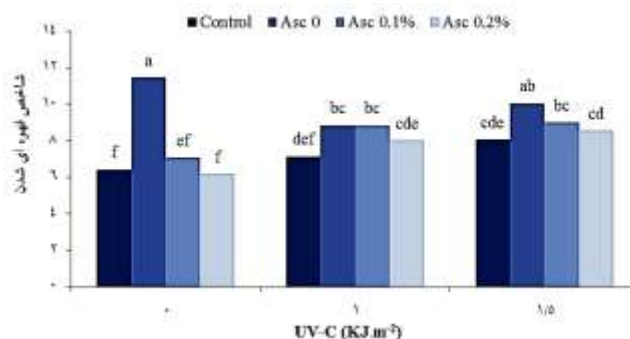
نتایج و بحث

شاخص قهوه ای شدن

با توجه به نمودار ۱. با گذشت زمان آزمایش، شاخص قهوه ای شدن نمونه ها افزایش یافت. همچنین این نمودار نشان می دهد که در زمان بررسی ۷ روز اختلاف معنی داری بین هیچ کدام از تیمارهای اسید آسکوربیک و شاهد از نظر شاخص قهوه ای شدن وجود



نمودار ۱. اثر برهمکنش تیمار اسید آسکوربیک و زمان بررسی بر شاخص قهوه ای شدن قارچ خوراکی تکمه ای. داده های با حروف مشابه در نمودار فاقد اختلاف معنی دار نسبت به هم در سطح ۵٪ آزمون دانکن می باشند.



نمودار ۲. اثر برهمکنش پیش تیمار اسید آسکوربیک و تیمار UV-C بر شاخص قهوه ای شدن قارچ خوراکی تکمه ای. داده های با حروف مشابه در نمودار فاقد اختلاف معنی دار نسبت به هم در سطح ۵٪ آزمون دانکن می باشند.

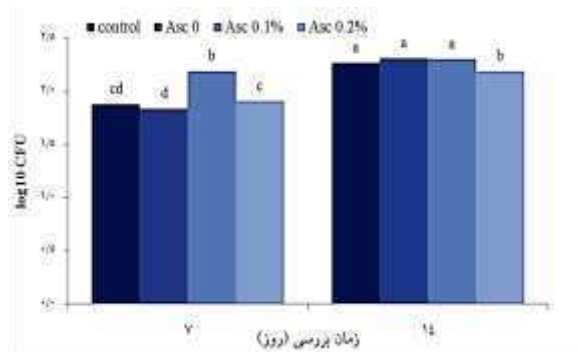
نداشت. ولی در زمان بررسی دوم شاخص قهوه‌ای شدن نمونه‌های تیمار اسید آسکوربیک صفر درصد به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها بود، درحالی‌که تفاوت معنی‌داری بین نمونه‌های اسید آسکوربیک ۰/۱ و ۰/۲ نسبت به یکدیگر و نسبت به شاهد از نظر شاخص قهوه‌ای شدن مشاهده نشد. بررسی برهمکنش بین پیش‌تیمار اسید آسکوربیک و تیمار UV-C نشان داد که بیشترین شاخص قهوه‌ای شدن در نمونه‌های تیمار شده با اسید آسکوربیک صفر درصد و تیمار نشده با UV-C مشاهده شد. در هر دو تیمار UV-C 1 KJ.m^{-2} و $1/5$ نمونه‌های شاهد دارای شاخص قهوه‌ای شدن کمتری بودند. درحالی‌که بین نمونه‌های سطوح مختلف اسید آسکوربیک اختلاف معنی‌داری از نظر شاخص قهوه‌ای شدن مشاهده نشد (نمودار ۲).

با گذشت زمان فعالیت آنزیمی افزایش می‌یابد. با توجه به اینکه قهوه‌ای شدن در قارچ تحت دو عامل حمله میکروبی و نیز فعالیت آنزیمی است (۱۰)، در نتیجه گذشت زمان می‌تواند با تشدید فعالیت آنزیمی و حمله میکروبی، باعث شود رنگ قارچ‌ها به تدریج تیره‌تر و قهوه‌ای‌تر گردد. اسید آسکوربیک به چند روش در کنترل قهوه‌ای شدن نقش دارد. با کاهش pH بافت موجب کاهش فعالیت آنزیم‌های خانواده پلی‌فنل اکسیداز می‌شود. از طرفی به علت داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی از فرآیندهای اکسیداسیونی جلوگیری و مانع اکسیداسیون فنل‌ها شده و قهوه‌ای شدن را به تأخیر می‌اندازد (۱۱)؛ بنابراین اسید آسکوربیک با جلوگیری از تولید ترکیبات تیره‌رنگ ملانین می‌تواند بازارپسندی را حفظ کند. ولی در این آزمایش اسید آسکوربیک تأثیر مثبتی بر کنترل قهوه‌ای شدن در مقایسه با نمونه‌های شاهد نشان نداد. منتهی اسید آسکوربیک صفر درصد نیز دارای قهوه‌ای شدن بالایی بود؛ بنابراین بیشتر شستشوی قارچ موجب افزایش قهوه‌ای شدن آن در این آزمایش شده است و تأثیر ناشی از تیمار اسید آسکوربیک نبوده است. البته حتی تیمار اسید آسکوربیک ۰/۲ درصد در مقایسه با اسید آسکوربیک صفر درصد دارای قهوه‌ای شدن کمتری بود ولی از آنجایی‌که قارچ‌های شستشو داده نشده کمترین قهوه‌ای شدن در این آزمایش را داشتند بنابراین تیمار اسید آسکوربیک در کنترل قهوه‌ای شدن مؤثر نبوده است. رنگ قارچ‌هایی که تحت تیمار نور UV-C قرار داشتند بلافاصله پس از تیمار متماایل به قهوه‌ای شد. این تیمار با افزایش رنگ قهوه‌ای در کلاهک قارچ تکمه‌ای، اثر نامطلوبی بر ظاهر محصول داشت. نتیجه این آزمایش با یافته‌های گوآن و همکاران مطابقت داشت (۱). علت این امر احتمالاً ایجاد یک خسارت توسط UV-C بر روی بافت سطح کلاهک قارچ بود که بلافاصله پس از تابش به وجود آمده است (۱). گوآن و همکاران همچنین نشان دادند که نور UV-C در شدت $0/45 \text{ KJ.m}^{-2}$ با کاهش جمعیت میکروبی در قارچ‌های خوراکی همراه بود ولی موجب تیره شدن قارچ‌ها در مقایسه با شاهد شد درحالی‌که ترکیب این تیمار با تیمار پراکسید هیدروژن ۳٪ با حفظ رنگ سفید قارچ همراه بود و ضمن حفظ اثر مطلوب تیمار UV-C در افزایش عمر پس از برداشت قارچ اثرات نامطلوب این تیمار از بین رفت (۳).

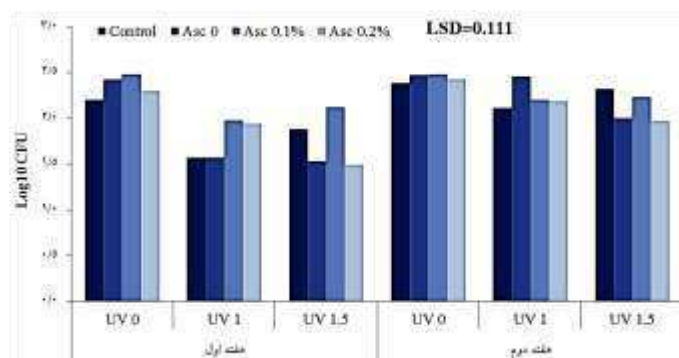
جمعیت باکتری

بررسی برهمکنش تیمار اسید آسکوربیک و زمان نشان داد که در روز هفتم، بیشترین جمعیت باکتری مربوط به تیمار اسید آسکوربیک ۰/۱ درصد بود. بین نمونه‌های شاهد و تیمار اسید آسکوربیک ۰/۲ درصد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. در هفته دوم بررسی، تیمار اسید آسکوربیک ۰/۲ درصد کم‌ترین جمعیت باکتری را نشان داد در حالی که تفاوت معنی‌داری بین سایر سطوح اسید آسکوربیک و شاهد از نظر جمعیت باکتری مشاهده نشد (نمودار ۳). با توجه به نمودار ۴. با گذشت زمان آزمایش جمعیت باکتری در تمامی نمونه‌ها افزایش یافت. بررسی برهمکنش سه‌گانه همچنین نشان داد که تأثیر مشخصی از پیش تیمار اسید آسکوربیک وجود نداشت ولی تیمارهای UV-C به‌طور مؤثری جمعیت باکتری را در مقایسه با بدون اعمال تیمار UV-C کاهش دادند. در این بین اثر شدت ۱/۵ KJ.m⁻² بیشتر از اثر شدت ۱ KJ.m⁻² در کاهش جمعیت باکتری بود.

جمعیت باکتری و فاکتورهای مؤثر در رشد آن، نقش مهمی را در کیفیت پس از برداشت قارچ خوراکی ایفا می‌کنند (۱۲). UV-C با استفاده از دو مکانیسم از افزایش جمعیت میکروبی موجود بر روی سطح محصول جلوگیری به عمل می‌آورد: مکانیسم اول خاصیت میکروب‌کشی مستقیم آن است که با صدمه به DNA میکروارگانیسم‌ها و غیرفعال کردن آن‌ها، مانع از افزایش جمعیت آن‌ها می‌شود که البته این موضوع خود تحت تأثیر شدت UV-C و نیز سطحی از محصول که تحت تابش واقع شده است، قرار دارد. مکانیسم پیشنهادی دوم به این شکل است که UV-C از طریق فیتوالکسین‌ها (که متابولیت‌های ثانویه گیاه بوده و در کنترل فساد



نمودار ۳. اثر برهمکنش پیش تیمار اسید آسکوربیک و زمان بررسی بر جمعیت باکتری قارچ خوراکی تکمه ای. داده‌های با حروف مشابه در نمودار فاقد اختلاف معنی‌دار نسبت به هم در سطح ۵٪ آزمون دانکن می‌باشند.



نمودار ۴. اثر برهمکنش پیش تیمار اسید آسکوربیک و تیمار UV-C و زمان بررسی بر جمعیت باکتری قارچ خوراکی تکمه ای. داده‌های با حروف مشابه در نمودار فاقد اختلاف معنی‌دار نسبت به هم در سطح ۵٪ آزمون دانکن می‌باشند.

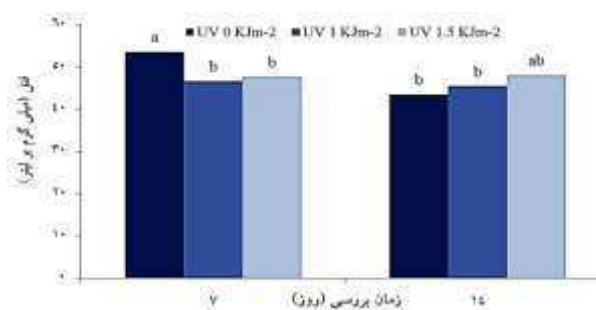
محصولات نقش مهمی را بازی می‌کنند) مکانیسم دفاعی را فعال کرده و باعث القای مقاومت نسبت به میکروارگانیسم‌ها می‌شود (۱۳). در این آزمایش نیز مشابه با نتایج سایر محققین تیمار UV-C موجب کاهش جمعیت باکتری قارچ خوراکی تکمه‌ای شد (۱ و ۳).

برخلاف نتایج قبلی (۱۵ و ۱۴ و ۴) در این آزمایش اسید آسکوربیک در هفته اول نگهداری تأثیر مثبتی در کاهش جمعیت باکتری نشان نداد ولی با گذشت زمان اثر مثبت اسید آسکوربیک در کاهش جمعیت باکتری کاملاً مشهود بوده است و این بیانگر اثر درازمدت این تیمار در کاهش بار میکروبی قارچ خوراکی تکمه‌ای است.

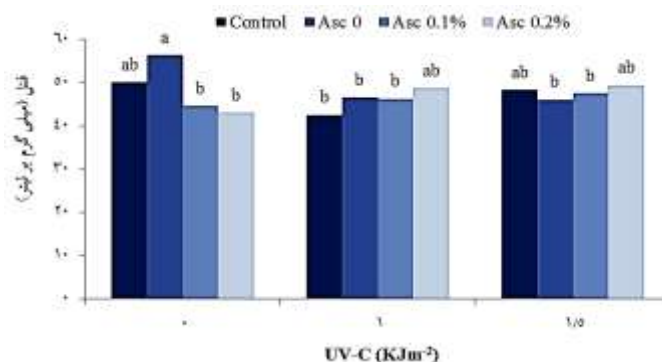
فصل کل

بر اساس نتایج مقایسه میانگین در زمان بررسی ۷ روز نمونه‌های تیمار نشده با UV-C در مقایسه با نمونه‌های تیمار شده با UV-C $1/5 \text{ KJ.m}^{-2}$ و ۱ دارای مقدار فنل بیشتری بودند درحالی‌که بین دو تیمار UV-C $1/5 \text{ KJ.m}^{-2}$ و ۱ اختلاف معنی‌داری در مقدار فنل در این زمان بررسی مشاهده نشد. با گذشت زمان مقدار فنل در نمونه‌های تیمار نشده با UV-C به‌طور معنی‌داری کاهش یافت درحالی‌که تغییر معنی‌داری در نمونه‌های UV-C $1/5 \text{ KJ.m}^{-2}$ و ۱ مشاهده نشد (نمودار ۵). در زمان بررسی ۱۴ روز تفاوتی بین نمونه‌های تیمار شده و تیمار نشده با UV-C از نظر مقدار فنل کل مشاهده نشد. نتایج مقایسه میانگین برهمکنش بین اسید آسکوربیک و تیمار UV-C نشان داد که در نمونه‌های تیمار نشده با UV-C بیشترین مقدار فنل در قارچ‌های تیمار اسید آسکوربیک صفر مشاهده شد که به‌طور معنی‌داری دارای مقدار فنل بیشتری از قارچ‌های تیمارهای اسید آسکوربیک ۰/۱ و ۰/۲ درصد بودند. در تیمارهای UV-C $1/5 \text{ KJ.m}^{-2}$ و ۱ اختلاف معنی‌داری بین غلظت‌های مختلف اسید آسکوربیک نسبت به یکدیگر و نسبت به شاهد از نظر مقدار فنل مشاهده نشد (نمودار ۶). در یک عبارت کلی نمونه‌هایی که با اسید آسکوربیک یا UV-C تیمار نشده بودند دارای فنل کل بیشتری بودند.

ترکیبات فنلی ترکیبات آنتی‌اکسیدان هستند که با مکانیسم‌های متعددی از جمله جذب و از بین بردن رادیکال‌های آزاد، قطع کردن واکنش‌های زنجیره‌وار اکسیداسیون و با قرار گرفتن به‌عنوان سوبسترا آنزیم‌های پراکسیداز نقش آنتی‌اکسیدانی خود را ایفا می‌کنند. این ترکیبات همچنین با دادن سریع هیدروژن به رادیکال‌های لیپید از ادامه زنجیره پراکسیداسیون جلوگیری کرده و محصولاتی با قدرت اکسیدکنندگی کمتر از ترکیبات اولیه را به وجود می‌آورند (۱۶).



نمودار ۵. اثر برهمکنش پیش تیمار اسید آسکوربیک و تیمار UV-C بر مقدار فنل کل قارچ خوراکی تکمه‌ای. داده‌های با حروف مشابه در نمودار فاقد اختلاف معنی‌دار نسبت به هم در سطح ۵٪ آزمون دانکن می‌باشند.

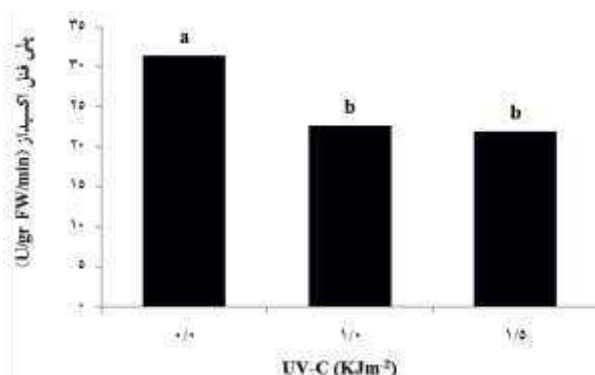


نمودار ۶. اثر برهمکنش تیمار UV-C و پیش تیمار اسید آسکوربیک بر مقدار فنل کل قارچ خوراکی تکه ای. داده‌های با حروف مشابه در نمودار فاقد اختلاف معنی دار نسبت به هم در سطح ۵٪ آزمون دانکن می‌باشند.

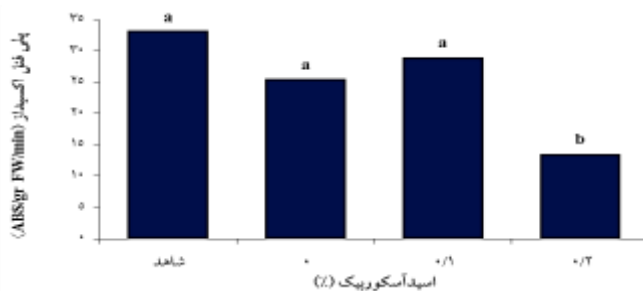
در این آزمایش از آنجایی که فرآیند قهوه‌ای شدن در نمونه‌های تیمار نشده با UV-C در مقایسه با نمونه‌های تیمار شده با آن بیشتر است بنابراین مقدار فنل نیز در این نمونه‌ها بالاتر است و تیمار UV-C فرآیند قهوه‌ای شدن و سوبسترای آن را کاهش داده است. اسید آسکوربیک تأثیر مشخصی نشان نداده است. UV-C می‌تواند محتوای فنل کل را با فعال کردن متابولیسم آنزیم فنیل پروپانویید در میوه‌ها و سبزی‌ها افزایش دهد (۱۷). پژوهش‌های زیادی تأثیر تیمار UV-C در افزایش میزان فنل کل را تأیید می‌کنند (۱۸ و ۱۹ و ۲۰). در این آزمایش مقدار فنل کل در نمونه‌های تیمار UV-C ۱/۵ KJ.m⁻² به‌مرور زمان در حال افزایش بود.

آنزیم پلی‌فنل اکسیداز

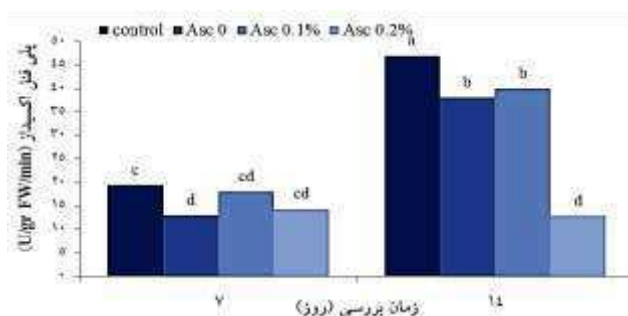
با گذشت زمان میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در نمونه‌های مورد آزمایش افزایش یافت. نتایج همچنین نشان داد قارچ‌های تیمار شده با UV-C (نمودار ۷) در هر دو سطح UV-C ۱/۵ KJ.m⁻² و ۱ دارای فعالیت آنزیمی کمتری از نمونه‌های تیمار نشده با UV-C بودند. بر اساس نتایج مقایسه میانگین تیمار اسید آسکوربیک (نمودار ۸) اختلاف معنی داری بین نمونه‌های شاهد و اسید آسکوربیک صفر و ۰/۱ درصد از نظر فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز وجود نداشت، درحالی‌که کم‌ترین فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در قارچ‌های تیمار شده با اسید آسکوربیک ۰/۲ درصد مشاهده شد. بررسی اثر تیمار اسید آسکوربیک در طول زمان (نمودار ۹) نشان داد که در هفته اول بررسی، بیشترین مقدار فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در نمونه‌های شاهد و کم‌ترین مقدار آن در قارچ‌های



نمودار ۷. اثر تیمار UV-C بر آنزیم پلی‌فنل اکسیداز قارچ خوراکی تکه ای. داده‌های با حروف مشابه در نمودار فاقد اختلاف معنی دار نسبت به هم در سطح ۵٪ آزمون دانکن می‌باشند.



نمودار ۸. اثر پیش تیمار اسید آسکوربیک بر آنزیم پلی فنل اکسیداز قارچ خوراکی تکمه ای. داده‌های با حروف مشابه در نمودار فاقد اختلاف معنی دار نسبت به هم در سطح ۵٪ آزمون دانکن می‌باشند.



نمودار ۹. اثر برهمکنش پیش تیمار اسید آسکوربیک و زمان بررسی بر آنزیم پلی فنل اکسیداز قارچ خوراکی تکمه ای. داده‌های با حروف مشابه در نمودار فاقد اختلاف معنی دار نسبت به هم در سطح ۵٪ آزمون دانکن می‌باشند.

تیمار شده با صفر درصد اسید آسکوربیک بود، ولی اختلاف معنی داری بین نمونه‌های اسید آسکوربیک ۰/۱ و ۰/۲ درصد با شاهد و همچنین با اسید آسکوربیک صفر درصد مشاهده نشد. در روز چهاردهم نسبت به روز هفتم فعالیت آنزیم در نمونه‌های شاهد و اسید آسکوربیک صفر و ۰/۱ درصد در مقایسه با روز هفتم افزایش یافت درحالی‌که در نمونه‌های اسید آسکوربیک ۰/۲ درصد تغییر معنی داری با گذشت زمان نشان نداد. در زمان بررسی ۱۴ روز، بیشترین فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در شاهد و کم‌ترین میزان آن در نمونه‌های تیمار شده با ۰/۲ درصد اسید آسکوربیک مشاهده شد. در این زمان بررسی تفاوت معنی داری بین اسید آسکوربیک صفر و ۰/۱ درصد از نظر فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز مشاهده نشد.

اسید آسکوربیک از طریق تبدیل جایگاه فعال آنزیم پلی فنل اکسیداز از حالت Cu^{+2} به Cu^{+1} و در نتیجه غیرفعال شدن آنزیم، از قهوه‌ای شدن آنزیمی جلوگیری می‌کند (۲۱ و ۴). در این آزمایش کم‌ترین تجمع آنزیم پلی فنل اکسیداز در سطح ۰/۲ درصد اسید آسکوربیک مشاهده شد که به خصوص اثر این تیمار با گذشت زمان آزمایش بیشتر مشهود شد؛ بنابراین به نظر می‌رسد اسید آسکوربیک در این آزمایش موجب کاهش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز شده است ولی باین وجود اسید آسکوربیک در کنترل قهوه‌ای شدن آنزیمی کاملاً موفق عمل نکرده است زیرا زمانی که اسید آسکوربیک کاملاً به دهیدروآسکوربیک اسید اکسید شود، دیگر اورتو-کوئینون احیا نمی‌شود و تیره شدن رخ می‌دهد (۲۲).

نتیجه‌گیری

اسید آسکوربیک در این آزمایش موجب کاهش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز شده است ولی در کنترل قهوه‌ای شدن آنزیمی مؤثر نبوده است. برهمکنش تیمارهای UV-C و اسید آسکوربیک تا حدودی موجب کنترل جمعیت میکروبی و افزایش ماندگاری

قارچ خوراکی تکمه‌ای در مرحله پس از برداشت گردید. به‌طور کلی نتایج نشان داد که تیمار UV-C علاوه بر کنترل جمعیت باکتری، با کاهش فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز باعث کاهش قهوه‌ای شدن و افزایش ماندگاری قارچ تکمه‌ای شد. ولی تیمار اسید آسکوربیک تأثیر مثبتی در کاهش قهوه‌ای شدن قارچ نشان نداد؛ بنابراین استفاده از تیمار UV-C برای افزایش ماندگاری قارچ تکمه‌ای مناسب است.

منابع

1. Guan, W., Fan, X. & Yan, R. 2012. **Effects Of Uv-C Treatment On Inactivation Of Escherichia Coli O157: H7, Microbial Loads, And Quality Of Button Mushrooms.** Postharvest Biology And Technology, 64, 119-125.
2. Guan, W., Zhang, J., Yan, R., Shao, S., Zhou, T., Lei, J & Wang, Z. 2016. **Effects Of Uv-C Treatment And Cold Storage On Ergosterol And Vitamin D 2 Contents In Different Parts Of White And Brown Mushroom (*Agaricus Bisporus*).** Food Chemistry, 210, 129-134.
3. Guan, W., Fan, X. & Yan, R. 2013. **Effect Of Combination Of Ultraviolet Light And Hydrogen Peroxide On Inactivation Of Escherichia Coli O157: H7, Native Microbial Loads, And Quality Of Button Mushrooms.** Food Control, 34, 554-559.
4. Suttirak, W. & Manurakchinakorn, S. 2011. **Potential Application Of Ascorbic Acid, Citric Acid And Oxalic Acid For Browning Inhibition In Fresh-Cut Fruits And Vegetables.** Walailak Journal Of Science And Technology (Wjst), 7, 5-14.
5. پاسبان، آ.، محبی، م.، پورآذرننگ، ه. و وریدی، م. ۱۳۹۲. مطالعه اثر اسیدسیتریک، اسید آسکوربیک و سدیم متابی سولفیت بر رنگ و خصوصیات کف‌زایی پوره‌ی قارچ دکمه‌ای (*Agaricus bisporus*). نشریه پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران، ۹، ۱۴۶-۱۳۸.
6. سرلک، ف.، خادمی، ا. و عرفانی مقدم، ج. ۱۳۹۵. تأثیر اسید آسکوربیک، کلرید کلسیم و پراکسید هیدروژن بر ماندگاری قارچ تکمه‌ای (*Agaricus bisporus*). مجله تولید و فرآوری محصولات زراعی و باغی، ۲۲، ۱۴۷-۱۳۵.
7. Gómez, P., García-Loredo, A., Nieto, A., Salvatori, D., Guerrero, S. & Alzamora, S. 2012. **Effect Of Pulsed Light Combined With An Antibrowning Pretreatment On Quality Of Fresh Cut Apple.** Innovative Food Science & Emerging Technologies, 16, 102-112.
8. Fan, X. 2005. **Antioxidant Capacity Of Fresh-Cut Vegetables Exposed To Ionizing Radiation.** Journal Of The Science Of Food And Agriculture, 85, 995-1000.
9. Wang, Z., Chen, L., Yang, H. & Wang, A. 2015. **Effect Of Exogenous Glycine Betaine On Qualities Of Button Mushrooms (*Agaricus Bisporus*) During Postharvest Storage.** European Food Research And Technology, 240, 41-48.
10. Munsch, P., Johnstone, K. & Alatosava, T. 2002. **Evidence For Genotypic Differences Between The Two Siderovars Of *Pseudomonas Tolaasii*, Cause Of Brown Blotch Disease Of The Cultivated Mushroom *Agaricus Bisporus*.** Microbiological Research, 157, 93-102.
11. Golan-Goldhirsh, A. & Whitaker, J. R. 1984. **Effect Of Ascorbic Acid, Sodium Bisulfite, And Thiol Compounds On Mushroom Polyphenol Oxidase.** Journal Of Agricultural And Food Chemistry, 32, 1003-1009.
12. Wu, C., Hu, Y., Chen, S., Chen, J., Liu, D. & Ye, X. 2016a. **Formation Mechanism Of Nano-Scale Antibiotic And Its Preservation Performance For Silvery Pomfret.** Food Control, 69, 331-338.
13. González-Aguilar, G., Zavaleta-Gatica, R. & Tiznado-Hernández, M. 2007. **Improving Postharvest Quality Of Mango 'Haden' by Uv-C Treatment.** Postharvest Biology And Technology, 45, 108-116.

14. Kniel, K.E., Sumner, S.S., Lindsay, D.S., Hackney, C.R., Pierson, M.D., Zajac, A.M., Golden, D.A. And Fayer, R., **2003. Effect Of Organic Acids And Hydrogen Peroxide On Cryptosporidium Parvum Viability In Fruit Juices.** Journal Of Food Protection, 66(9), Pp.1650-1657.
15. Toledo, M. E. A., Ueda, Y., Imahori, Y. & Ayaki, M. **2003. L-Ascorbic Acid Metabolism In Spinach (Spinacia Oleracea L (.During Postharvest Storage In Light And Dark.** Postharvest Biology And Technology, 28, 47-57.
16. Robak, J. & Gryglewski, R. J. **1988. Flavonoids Are Scavengers Of Superoxide Anions.** Biochemical Pharmacology, 37, 837-841.
17. Cavallini, E., Matus, J.T., Finezzo, L., Zenoni, S., Loyola, R., Guzzo, F., Schlechter, R., Ageorges, A., Arce-Johnson, P. and Tornirlli, G.B., **2015. The phenylpropanoid pathway is controlled at different branches by a set of R2R3-MYB C2 repressors in grapevine.** Plant Physiology, pp.pp-114.
18. Erkan M, Wang S.Y. and Wang C.Y., **2008. Effect of UV treatment on antioxidant capacity, antioxidant enzyme activity and decay in strawberry fruit.** Postharvest Biology and Technology, 48(2), pp. 163-171.
19. Jiang, T., Jahangir, M. M., Jiang, Z., Lu, X. & Ying, T. **2010. Influence Of Uv-C Treatment On Antioxidant Capacity, Antioxidant Enzyme Activity And Texture Of Postharvest Shiitake (Lentinus Edodes) Mushrooms During Storage.** Postharvest Biology And Technology, 56, 209-215.
20. Park, M.H. and Kim, J.G., **2015. Low-dose UV-C irradiation esduces the microbial population and preserves antioxidant levels in peeled garlic (Allium sativum L.) during storage.** Postharvest Biology and Technology, 100, pp. 109-112.
21. Rico, D., Martin-Diana, A. B., Barat, J. & Barry-Ryan, C. **2007. Extending And Measuring The Quality Of Fresh-Cut Fruit And Vegetables: A Review.** Trends In Food Science & Technology, 18, 373-386.
22. Wang, S., Lin, T ,Man, G., Li, H., Zhao, L., Wu, J. & Liao, X. **2014. Effects Of Anti-Browning Combinations Of Ascorbic Acid, Citric Acid, Nitrogen And Carbon Dioxide On The Quality Of Banana Smoothies.** Food And Bioprocess Technology, 7, 161-173.



Influence of UV-C treatment and ascorbic acid on microbial load and postharvest browning of button mushroom (*Agaricus bisporus*)

Narges Hassani, Orang Khademi, Mohsen Roodpeyma and Ayatolah Saeidizadeh

Abstract

Button mushroom is full of nutrients, but in compared to other fruits and vegetables, it has higher respiration rate. Therefore this produce has limited storability and browning, weight loss and microbial attacks are the main postharvest changes of button mushrooms. In this study, the effects of ascorbic acids (at four level of without treatments and treatment with 0, 0.1 and 0.2 ascorbic acid) and UV-C (at three level of 0, 1 and 1.5 KJ/m²) and their combinations on the improve of postharvest life of button mushrooms was studied. First the mushrooms treated with ascorbic acid for 5 min and after drying treated with UV-C. The treated mushrooms were stored at 4°C and were assessed in 7 and 14 days of storage. Results showed that UV-C treatment by reduce the microbial load (23.18%) and reduce the PPO activity (42.96%) led to reduce of browning (16.32%) and increase of mushrooms storability for 14 days. However ascorbic acid treatment did not show any positive effect on the browning control and postharvest life of the mushrooms. Hence, use of UV-C treatment is suitable for increase the storability of mushrooms.

Keywords: browning, button mushroom, microbial attack, postharvest