

بررسی اثر تغییرات قدرت یونی، pH و دمای محلول شستشو بر میزان نیتрат سبزیجات تازه

اعظم کرانی^{1*}، کامبیز حسن زاده²، عاطفه حسینی³، ناصر مفاخری⁴، شوگار گفتاری⁵، سوسن اشرفی⁶، عابد رستمی⁷، کژال نادری⁴، محمدرزگار ذره بین⁸، بیژن نوری⁹

1- دکتری تخصصی شیمی تجزیه، آزمایشگاه کنترل غذا و دارو، معاونت غذا و دارو، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

2- دکتری تخصصی، دانشیار فارماکولوژی، مرکز تحقیقات علوم سلولی و مولکولی، پژوهشکده توسعه سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

3- کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، آزمایشگاه کنترل غذا و دارو، معاونت غذا و دارو، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

4- کارشناسی ارشد شیمی تجزیه، آزمایشگاه کنترل غذا و دارو، معاونت غذا و دارو، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

5- کارشناسی شیمی کاربردی، آزمایشگاه کنترل غذا و دارو، معاونت غذا و دارو، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

6- کارشناسی علوم آزمایشگاهی، آزمایشگاه کنترل غذا و دارو، معاونت غذا و دارو، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

7- دکتری تخصصی شیمی آلی، آزمایشگاه کنترل غذا و دارو، معاونت غذا و دارو، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

8- کارشناسی ارشد شیمی آلی، آزمایشگاه کنترل غذا و دارو، معاونت غذا و دارو، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

9- استادیار آمار زیستی، مرکز تحقیقات عوامل اجتماعی مؤثر بر سلامت، پژوهشکده توسعه سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

(تاریخ دریافت: 98/03/27 تاریخ پذیرش: 99/01/16)

چکیده

در این مطالعه، تاثیر قدرت یونی، pH و دمای محلول‌های مورد استفاده در مراحل شستشوی سبزیجات بر تغییرات میزان نیترات این محصولات مورد بررسی قرار گرفته است. در اینجا سه محلول خوراکی شامل محلول نمک طعام به عنوان محلول با قدرت یونی بالا، جوش شیرین به عنوان محلول بازی (افزایش pH) و سرکه به عنوان محلول اسیدی (کاهش pH)، به عنوان عوامل مؤثر جهت کاهش نیترات سبزیجات برگی (نعناع، جعفری، ریحان، ترخن، تره، شاهی، گشنیز، مرزه و تربچه) انتخاب شدند. در بخش دوم این مطالعه، افزایش دما با استفاده از آب گرم با دمای 70 - 100 °C بر نیترات سبزیجات غده‌ای مورد بررسی قرار گرفت. میزان نیترات سبزیجات پس از نگهداری در محلول‌های فوق با الگوهای مختلفی تغییر کرد. افزایش قدرت یونی با استفاده از نمک کلرید سدیم منجر به افزایش میزان نیترات سبزیجات برگی در گستره وسیع (20/25- 85 (w/w)%) شد. افزایش pH با استفاده از محلول جوش- شیرین منجر به افزایش میزان نیترات به مقدار 33 (w/w)% در مورد گروه 1 سبزیجات مورد بررسی (نعناع و جعفری) و کاهش جزئی 0/22-6/2 (w/w)% در مورد سایر گروه‌ها شد، در حالیکه کاهش pH با استفاده از محلول سرکه منجر به کاهش قابل ملاحظه نیترات در گستره (14/6-41 (w/w)%) در کلیه گروه‌های مورد بررسی شد. نتایج حاصل نشان داد که غلظت بهینه محلول سرکه و زمان لازم برای نگهداری سبزیجات برگی در این محلول به ترتیب، 20 درصد و به مدت 10 دقیقه است. در بخش دوم این مطالعه، تاثیر نگهداری پیاز و سیب زمینی در آب گرم بر درصد نیترات محتوی این سبزیجات مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل حاکی از کاهش میزان نیترات در سیب زمینی و پیاز به ترتیب به مقدار 26/6 (w/w)% و 68/8 (w/w)% بود. مزیت مهم این کار تحقیقاتی در مقایسه با سایر تحقیقات مشابه انجام شده، کاهش میزان نیترات سبزیجات برگی و غده‌ای ضمن حفظ تازگی و بافت این محصولات است.

کلید واژگان: سلامت و ایمنی غذایی، نیترات، سبزیجات برگی، سبزیجات غده‌ای و سرکه

*مسنول مکاتبات: azam.korani@gmail.com

1- مقدمه

سبزیجات سرشار از ویتامین‌ها، مواد معدنی و آنتی‌اکسیدان‌ها¹ هستند که خواص ضد سرطانی آنها به اثبات رسیده است، استفاده منظم از سبزیجات در برنامه غذایی منجر به کاهش ابتلا به بیماری‌های متعددی مانند بیماری‌های قلبی و عروقی، سکتة مغزی و بسیاری از سرطان‌ها می‌شود [1]. از طرفی امکان آلودگی سبزیجات با یون‌های معدنی از جمله نیتريت و نیترات² وجود دارد [2]. فاکتورهای مختلفی از جمله نوع و مقدار کود نیتروژن-دار مورد استفاده [3-4]، سطح بالای ترکیبات آلی³ موجود در خاک، دما و میزان نور تابشی که وابسته به شرایط جغرافیایی است [5]، از جمله عوامل موثر بر میزان نیترات و نیتريت در سبزیجات هستند. مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که نیتريت در ایجاد بسیاری از سرطان‌ها سهیم است [6]. همین‌طور این یون در ایجاد بیماری متهموگلوبینیسم⁴ موثر است [7]. هرچند که نیترات به تنهایی در بدن، خطرناک نیست، اما مهمترین ماده اولیه برای تشکیل نیتريت در بدن است. با توجه به مطالعات انجام شده، تخمین زده می‌شود که حدود 5 درصد از نیترات هضم شده توسط میکروارگانیسم‌های بزاق به نیتريت احیا می‌شود [8]. گزارش‌های متعددی مبنی بر وجود وابستگی بین میزان نیترات موجود در مواد غذایی مورد استفاده و افزایش احتمال ایجاد سرطان مشاهده شده است [9]. طی مطالعات اخیر تخمین زده شده است که بین 75 تا 80 درصد نیتراتی که به صورت روزانه به بدن انسان وارد می‌شود، ناشی از مصرف سبزیجات می‌باشد. بنابراین سبزیجات منبع اصلی نیترات در رژیم غذایی افراد است [10]. میزان نیترات موجود در بسیاری از سبزیجات برگی مانند کاهو، اسفناج، کرفس، پونه کوهی و قابل ملاحظه است. سازمان بهداشت جهانی (WHO)⁵، حد مجاز مصرف روزانه نیترات را به ازای هر کیلو وزن بدن (ppm) 3/7 بیان کرده است

[11]. بنابراین کنترل میزان نیترات و پیدا کردن راه‌هایی به منظور کاهش این یون در سبزیجات اهمیت خاصی دارد. به دلیل اهمیت کنترل میزان نیترات در سبزیجات و سایر مواد غذایی روش‌های مختلفی طراحی و ارائه شده است [12].

همان‌طور که اشاره شد، نیترات به تنهایی، ترکیب خطرناکی برای سلامتی انسان به شمار نمی‌آید. اما پس از ورود به بدن انسان به نیتريت احیا شده و ضمن واکنش با آمین‌های نوع دوم موجود به نیتروز آمین که ترکیبی خطرناک و سرطان‌زا است تبدیل می‌شود [13]. به این ترتیب سبزیجات به عنوان ترکیبات مفید، ضد سرطان و مورد نیاز بدن تبدیل به ترکیباتی خطرناک و سرطان‌زا می‌شوند. بنابراین کنترل میزان نیترات سبزیجات و ارائه روش‌هایی جهت کاهش این ترکیب خطرناک در سبزیجات، قبل از مصرف ضروری است. راهکارهای مختلفی برای این منظور در زمان‌های مختلف قبل و بعد از برداشت محصول ارائه شده و مورد بررسی قرار گرفته است. از جمله آنها کشت این ماده غذایی به صورت طبیعی و بدون استفاده از هرگونه کودهای شیمیایی و یا ایجاد تغییرات ژنتیکی است [14]. مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که میزان نیترات موجود در محصولات کشت شده در این شرایط بین 1/45 تا 6/4 ppm متغیر بوده در حالی که همین پارامتر در محصولات کشت شده به شیوه مرسوم در گستره 10/5 تا 45/19 ppm تغییر می‌کند [14]. پیشنهاد ارائه شده دیگر به کشاورزان دقت در زمان برداشت محصول با توجه به حساسیت سطح نیترات موجود در سبزیجات به میزان تابش نورخورشید در طول روز است [15-16]. اما پیشنهادهای دیگری مربوط به زمان پس از برداشت محصول و ضمن فرآوری توسط مصرف کنندگان از جمله پختن و جوشاندن، خشک کردن و سرخ کردن مطرح شده است. با توجه به مطالعات انجام شده توسط پراساد⁶ در سال 2009، مشاهده می‌شود که ضمن جوشاندن، نیترات موجود در سبزیجات بین 23/3 تا 42/6 درصد کاهش می‌یابد، سرخ کردن در روغن سویا باعث افزایش نیترات

1. Antioxidants
2. Nitrite and nitrate
3. Organic compounds
4. Methaemoglobinaemia
5. World Health Organization

شستشوی سبزیجات برگی مورد بررسی قرار گیرد. برای این منظور محلول‌های نمک، جوش شیرین و سرکه که محلول‌هایی خوراکی و ایمن بوده انتخاب شدند. در این مطالعه، سبزیجات برگی مورد نظر در مدت زمان‌های مختلف در تماس با غلظت‌های متفاوت محلول‌های فوق قرار گرفته و تغییرات درصد نیترات بررسی شد. به دلیل بافت سخت‌تر سبزیجات غده‌ای اثر تغییرات دما در مراحل شستشو بر میزان نیترات محتوی این محصولات مورد بررسی قرار گرفت. در این راستا تغییرات میزان نیترات در سیب‌زمینی و پیاز پس از زمان‌های مختلف نگهداری در آب گرم مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفت. در پایان سعی شد که با استفاده از نتایج حاصل، روشی ساده جهت کاهش نیترات سبزیجات ضمن شستشو توسط مصرف‌کنندگان گردآوری شده و در دسترس عموم قرار گیرد.

2- مواد و روش‌ها

2-1- ترکیبات مورد استفاده

کلیه ترکیبات شیمیایی مورد استفاده در این مطالعه شامل دی‌پتاسیم هیدروژن فسفات⁹، هگزا سیانو فرات دو آبه¹⁰، روی استات دو آبه¹¹، جوش شیرین (سدیم هیدروژن کربنات)¹² با درجه تجزیه‌ای¹³ از کمپانی مرک¹⁴، نمک طعام¹⁵ (کلرید سدیم) و سرکه انگور از سوپرمارکت‌های سطح شهر سنجند خریداری و مورد استفاده قرار گرفتند. سبزیجات برگی مورد بررسی شامل نعناع، ریحان، گشنیز، جعفری، ترخن، فلفلک، شاهی، تره، تربچه، سیب‌زمینی و پیاز از تره‌بار سبزی و میوه شهر سنجند تهیه شدند. سبزیجات برگی مورد بررسی به چهار گروه به صورت زیر دسته‌بندی شدند.

به میزان 299/12 - 204/53 درصد می‌شود. در این مطالعات مشاهده شده است که فرایند پختن یا تغییر در میزان نیترات ایجاد نمی‌کند و یا باعث ایجاد تغییرات جزئی (کاهش) در محدوده 8/43 - 2/8 درصد می‌شود [17]. طی مطالعه دیگری که توسط آستاسارین⁷ در سال 1996 انجام شده است، تاثیر فرایندهای فریزکردن و پختن بر میزان نیترات کلم بروکلی مورد بررسی قرار گرفته است، نتایج نشان داد که فریز کردن این محصول به صورت صنعتی منجر به افزایش نیترات در گستره 127 - 232 ppm می‌شود. این افزایش می‌تواند ناشی از سطح بالای نیترات موجود در آب مورد استفاده برای این فرایند باشد. نتایج همین مطالعه نشان داد که ضمن پختن میزان نیترات در این محصول به مقدار 22 - 79 (w/w) درصد کاهش می‌یابد [18]. طی تحقیق دیگری که توسط صنیق⁸ و همکارانش در سال 2015 انجام شد، اثر فرایند جوشانیدن در آب و آب نمک با غلظت 5 درصد بر میزان نیترات و تعدادی از ترکیبات مغذی موجود در تعدادی از سبزیجات برگی مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصل، حاکی از الگوی متغیر تغییرات ترکیبات مورد نظر در انواع مختلف سبزیجات مورد بررسی بود. ضمن این مطالعه، کاهش میزان نیترات بین 22/5 تا 98/8 درصد پس از جوشانیدن در آب و 4/5 تا 76/5 درصد ضمن جوشانیدن در آب نمک 5 درصد، گزارش شد [19]. فرایندهای جوشاندن و یا پختن به دلیل استفاده از حرارت منجر به تخریب و از بین رفتن ترکیبات مغذی موجود در سبزیجات، از جمله ویتامین C و آنزیم‌های فعال مورد نیاز جهت هضم این محصولات می‌شوند. بنابراین معرفی و ارایه فرایندی که ضمن حفظ تازگی سبزیجات خام و ارزش تغذیه‌ای آنها، منجر به کاهش درصد نیترات محتوی این محصولات شود، از اهمیت خاصی برخوردار است.

در این مطالعه سعی بر این است که تغییرات درصد نیترات سبزیجات، با استفاده از تغییر قدرت یونی، pH و دما در مراحل

9. K₂HPO₄

10. K₄[Fe(CN)₆].3 H₂O

11. Zn(CH₃COO)₂.2.2 H₂O

12. NaHCO₃

13. Analytical Grade

14. Merck Company

15. NaCl

7. Astiasarin

8. Singh

Table 1 Investigated leafy vegetables grouping

Leafy vegetables	Mint & Basil	Parsley & Coriander	Savory & Tarragon	Cress, Radish & Leek
Group	1	2	3	4

شیر شستشو داده و آبکشی شده است. سپس سبزی آماده شده فوق به صورت زیر در تماس با محلول های نمک، جوش شیرین و سرکه قرار گرفتند.

2-1-3-2-1-1-3-2 بررسی اثر افزایش pH محلول شستشو با استفاده از جوش شیرین

ابتدا محلول های جوش شیرین با دو غلظت متفاوت 5 و 10 درصد با استفاده از آب شیر تهیه شد. نمونه های آماده شده در قسمت قبلی به 6 گروه یکسان تقسیم شده و به مدت زمان های مختلف 10، 20 و 30 دقیقه در محلول های تهیه شده جوش- شیرین، نگهداری شدند. پس از گذشت زمان های فوق، سبزی ها را از محلول خارج و با آب شیر آبکشی کرده و بعد از آبگیری کامل، نمونه ها جهت استخراج نیترات آماده شده و مطابق بند 2-4 اندازه گیری انجام شد.

2-1-3-2-2-1-3-2 بررسی اثر افزایش قدرت یونی محلول شستشو با استفاده از نمک طعام (کلرید سدیم)

در این قسمت، محلول های نمک سدیم کلرید با دو غلظت متفاوت 2 و 5 درصد با استفاده از آب شیر تهیه شد. نمونه های آماده شده در قسمت قبلی به 6 گروه یکسان تقسیم شده و به مدت زمان های مختلف 10، 20 و 30 دقیقه در محلول های تهیه شده سدیم کلرید، نگهداری شدند. پس از گذشت زمان های فوق، سبزی ها را از محلول خارج و با آب شیر آبکشی کرده و بعد از آبگیری کامل، نمونه ها جهت استخراج نیترات آماده شده و مطابق بند 2-4 اندازه گیری انجام شد.

2-1-3-2-3-1-3-2 بررسی اثر کاهش pH محلول شستشو با استفاده از سرکه

مشابه دو بند قبلی، محلول های سرکه با غلظت های 10 و 20 درصد از آب شیر تهیه و نمونه های سبزی به مدت 10، 20 و 30 دقیقه در این محلول ها نگهداری شد. پس از گذشت زمان های فوق، سبزی ها را از محلول خارج و با آب شیر آبکشی کرده و

2-1-1-2-1-1-2 محلول کارز شماره 16

150 گرم پتاسیم هگزاسیانوفرات II در بالن ژوژه 1000 میلی لیتری محتوی مقداری آب مقطر حل شد و سپس حجم نهایی به 1000 میلی لیتر رسید. در صورت نگهداری این محلول در ظرف تیره به مدت یک هفته قابل استفاده است.

2-1-2-2-1-2 محلول کارز شماره 2

220 گرم پودر زینک استات دوآبه را در بالن ژوژه 1000 میلی لیتری محتوی مقداری آب ریخته، 30 میلی لیتر گلاسیال استیک اسید¹⁷ به آن اضافه کرده و پس از حل شدن کامل پودر به حجم 1000 میلی لیتر رسید.

2-2-2-2-2 تجهیزات

جداسازی و اندازه گیری با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مجهز به آشکارساز UV (2600 S)، پمپ چهار کاناله و ستون کروماتوگرافی با این مشخصات (250 × 4/6 mm) LiChrosorb NH₂، انجام شد.

2-3-2-3-2 بررسی اثر تغییرات قدرت یونی، pH و دما

در بخش اول این مطالعه، اثر تغییرات قدرت یونی و pH با استفاده از محلول های نمک، سرکه و جوش شیرین با غلظت های مختلف در مراحل شستشوی سبزیجات بر میزان نیترات محتوی این محصولات طبق بند 2-3-1-3-2 مورد بررسی قرار گرفت. در بخش دوم تاثیر افزایش دما بر میزان نیترات سبزیجات غده ای شامل پیاز و سیب زمینی با نگهداری آنها در آب گرم طبق بند 2-3-2-2 مورد بررسی قرار گرفته است.

2-1-3-2-1-3-2 سبزیجات برگی

ابتدا بخش های غیرخوراکی سبزیجات برگی را جدا کرده، سپس به منظور حذف ذرات خاک باقیمانده بر سطح سبزیجات با آب

16. Carrez solution
17. glacial acetic acid

محلول بالایی با استفاده از فیلتر سرسرنگی 0/45mm و سپس 0/22 mm فیلتر شد.

60 میکرولیتر از محلول فیلتر شده به دستگاه HPLC تزریق شده و اندازه گیری نیترات انجام شد. فاز متحرک مورد استفاده مخلوط محلول K_2HPO_4 با $pH = 3$ (95 %) و حلال استونیتریل (%) (5) است. جداسازی توسط ستون $Lichrosorb NH_2$ با طول 25cm قطر داخلی 46 میلی متر مجهز به پیش ستون مشابه و در دمای اتاق انجام شد. میزان نیترات محتوی در طول موج 205 نانومتر اندازه گیری شد.

2-5- آنالیز آماری

با توجه به تعداد کم نمونه ها (3 تکرار) برای مقایسه تمام گروه ها از آزمون ناپارامتری کروسکال-والیس¹⁸ استفاده شد، همچنین در صورت معنادار شدن آزمون مذکور برای انجام تست تعقیبی و مقایسه های دوتایی گروه ها از آزمون ناپارامتری من-ویتنی¹⁹ استفاده شد. مقدار p -value محاسبه شده با استفاده از آزمون ناپارامتری کروسکال-والیس در بررسی تغییرات نیترات در کلیه گروه های سبزیجات معنادار و برای گروه سبزیجات برگی معادل 0/0111، برای نمونه پیاز معادل 0/0118 و برای گروه سیبزمینی معادل 0/0225 است.

3- بحث و نتایج

3-1- بررسی تاثیر اعمال شرایط مختلف بر

میزان نیترات سبزیجات

در جدول 2 میانگین نتایج بررسی آنالیز نیترات در 12 گونه سبزیجات کشت شده در مناطق مختلف کشور ایران ارائه شده است. مشاهده می شود که میزان نیترات در سبزیجات برگی در محدوده 2108/71-1173/3 ppm و در مورد سبزیجات غده ای شامل سیبزمینی و پیاز در محدوده 234/79-108 ppm متغیر است.

بعد از آگیری کامل، نمونه ها جهت استخراج نیترات آماده شده و مطابق بند 2-4 اندازه گیری انجام شد.

لازم به شرح است که همزمان با هریک از مراحل شرح داده شده، نمونه یکسانی آماده شده و به مدت زمان های مختلف 10، 20 و 30 دقیقه در آبشیر نگهداری شده و به عنوان گروه کنترل مورد بررسی قرار گرفت.

2-3-2 سبزیجات غده ای

با توجه به بافت سخت تر سبزیجات غده ای نسبت به سبزیجات برگی، اثر افزایش دما در مراحل شستشو با استفاده از آب گرم بر این دسته از سبزیجات مورد بررسی قرار گرفت. به این صورت که ابتدا قسمت های غیرخوراکی آنها حذف شد، به قطعات ریزتر خورده شد و سپس آبکشی شده تا ذرات خاک یا قیمانده بر سطح آنها حذف شود. نمونه های آماده شده به صورت فوق، به مدت زمان های مختلف داخل آب گرم با دمای $100^{\circ}C - 70^{\circ}C$ نگهداری شدند. در مرحله پایانی، نمونه ها آبکشی شد، استخراج نیترات و اندازه گیری آن مطابق بند 2-4 انجام شد.

2-4- استخراج و اندازه گیری

برای استخراج و اندازه گیری نیترات در نمونه های سبزیجات مورد بررسی، مطابق استاندارد (BS EN 12014-2: 1997) [20] عمل شده است. به این صورت که حجم مشخصی از نمونه که نماینده کل نمونه است، با استفاده از یک بلندر آزمایشگاهی کاملاً خرد و سپس یکنواخت شد. 10 گرم از نمونه آماده شده فوق داخل یک بشر وزن شده و 90 میلی لیتر آب جوش (100 درجه سانتی گراد) به آن اضافه و به مدت 15 دقیقه روی حمام آب 100 درجه قرار گرفت. بعد از گذشت این زمان و هم دما شدن محلول داخل بشر با دمای محیط، با استفاده از کاغذ صافی کل نمونه صاف شد. 5 میلی لیتر از محلول زیر کاغذ صافی را برداشته و 2/5 میلی لیتر از هر کدام از محلول های کارز 1 و 2 به آن اضافه کرده و خوب همزده شد. محلول حاصل به مدت 10 دقیقه با سرعت 8000 (rpm) سانتریفیوژ شد. در مرحله پایانی،

18. Kruskal-Wallis Test

19. Mann-Whitney Test

Table 1 Nitrate in 12 fresh vegetables of different regions in Iran.

Vegetables	Edible parts	Nitrate (ppm)
1	Leaves	2001.89 (± 50.72)
2	Leaves	1961.41 (± 31)
3	Leaves	2108.71 (± 77)
4	Leaves	1173.3 (± 76.9)
5	Root	108.31 (± 12.95)
6	Root	234.79 (± 1.98)

1. Group 1 of leafy vegetables, 2. Group 2 of leafy vegetables, 3. Group 3 of leafy vegetables, 4. Group 4 of leafy vegetables, 5. Potato, 6. Onion.

نتیجه می‌تواند ناشی از قدرت یونی بالای محلول و فرایند اسمز معکوس باشد. اما نگهداری سبزیجات گروه سوم در این محلول منجر به کاهش درصد نیترات محتوی به میزان 12/4 درصد می‌شود. این دیگرام نشان می‌دهد که افزایش pH در مراحل شستشو ضمن نگهداری سبزیجات در محلول جوش شیرین با غلظت 10 درصد در مورد گروه 1 منجر به افزایش میزان نیترات محتوی به میزان 33 درصد و در مورد سایر گروه‌ها منجر به کاهش جزئی درصد نیترات محتوی (0/67 در مورد گروه 2، 6/2 درصد برای گروه 3 و کاهش 0/22 درصدی برای گروه 4) خواهد شد. همین دیگرام نشان می‌دهد که کاهش pH در مراحل شستشو با نگهداری سبزیجات در محلول 20 درصد سرکه، منجر به کاهش نیترات به طور قابل ملاحظه‌ای در کلیه گروه‌ها شده است. این کاهش در گستره 14/6 درصد برای گروه 2 و 41 درصد برای گروه 3 است. بنابراین محلول سرکه 20 درصد به عنوان بهترین عامل کاهش‌دهنده نیترات محتوی سبزیجات برگی تازه معرفی می‌شود.

در مرحله بعدی، زمان بهینه نگهداری سبزیجات در سرکه 20 درصد مورد بررسی قرار گرفته است، برای این منظور مخلوط کلیه سبزیجات معرفی شده در جدول 1 را در محلول سرکه با غلظت (v/v) 20 درصد نگهداری و پس از 10، 20 و 30 دقیقه، آبکشی شده و میزان نیترات باقی‌مانده اندازه‌گیری شد. بر اساس نتایج نشان داده شده در شکل 2، مشاهده می‌شود که بیشترین میزان کاهش نیترات مربوط به زمان‌های نگهداری 10 و 30 دقیقه است که به ترتیب منجر به کاهش نیترات محتوی به میزان 24 و 26 درصد می‌شود. اما از آنجایی که با نگهداری سبزیجات در محلول فوق به مدت 30 دقیقه، سبزیجات پلاسیده شده و

در این مطالعه بر اساس تفاوت بافت سبزیجات، شرایط مختلفی ضمن شستشو به سبزیجات اعمال و سپس تغییرات درصد نیترات محتوی محصولات انتخاب شده، بررسی شد. در قسمت اول، تغییرات قدرت یونی و pH با استفاده از محلول‌های خوراکی نمک کلرید سدیم، جوش شیرین و سرکه در مراحل شستشو بر سبزیجات برگی اعمال و تغییرات نیترات مورد بررسی قرار گرفت. در بخش دوم، اثر افزایش دما با استفاده از آب گرم در مراحل شستشوی سبزیجات غده‌ای بررسی شد. نتایج حاصل به‌طور مفصل در بخش‌های 1-3 و 2-3 شرح داده شده است.

3-1-1- بررسی تغییرات نیترات در سبزیجات برگی با

تغییرات قدرت یونی و pH

در ابتدا به منظور پیدا کردن غلظت بهینه محلول‌های انتخاب شده، نمونه‌های سبزی گروه‌های مختلف 1 تا 4 مطابق جدول 1، طبق بند 1-3-2 در تماس با محلول‌های نمک کلرید سدیم، جوش شیرین و سرکه با غلظت‌های متفاوت قرار گرفت و سپس میزان تغییر نیترات محتوی هر گروه در هر محلول بررسی شد. نتایج حاصل بیان می‌کند که غلظت بهینه جوش شیرین 10 درصد (w/w)، نمک کلرید سدیم 5 درصد (w/w) و سرکه 20 درصد (v/v) است (جزئیات این نتایج نشان داده نشده است). اثر این محلول‌ها با غلظت بهینه بر میزان تغییر نیترات محتوی سبزیجات مورد بررسی در شکل 1 نشان داده شده است. با دقت در دیگرام‌های رسم شده در شکل 1 مشاهده می‌شود که نمک کلرید سدیم با غلظت 5 درصد (w/w) باعث افزایش درصد نیترات به طور قابل ملاحظه‌ای در گستره وسیع 20/25 درصد در مورد گروه چهارم تا 85 درصد در مورد گروه اول شده است. این

نیتрат باقیمانده این نمونه هم اندازه گیری شد. نتایج در شکل 3 نشان داده شده است، مشاهده می شود که میزان نیترات محتوی نمونه ای که در آب نگهداری شده تقریباً ثابت و با میزان نیترات محتوی سبزیجات قبل از نگهداری در آب تقریباً یکسان است. مقدار p -value محاسبه شده با استفاده از تست من - ویتنی معادل 0/2752 است که تایید کننده عدم وجود تفاوت معنادار بین نتایج حاصل و به عبارتی یکسان بودن نتایج حاصل از اندازه گیری نیترات سبزیجات قرار گرفته در شرایط شرح داده شده است.

تازگی آنها از بین می رود، پس مدت زمان 10 دقیقه به عنوان زمان بهینه نگهداری این سبزیجات در محلول فوق گزارش شد. در پایان به منظور تایید نقش کاهش pH با استفاده از سرکه در کاهش میزان نیترات محتوی سبزیجات، آزمایش دیگری انجام شد. در این آزمایش مخلوطی از همه گروه های سبزیجات پس از آبکشی جهت حذف ذرات خاک باقیمانده بر سطح سبزیجات، به مدت 30 دقیقه در آب نگهداری شده و سپس نیترات باقیمانده اندازه گیری شد. همزمان با این آزمایش نمونه مشابهی پس از آبکشی جهت حذف ذرات خاک باقیمانده بر سطح سبزیجات، به مدت 10 دقیقه در محلول 20 درصد سرکه نگهداری و سپس

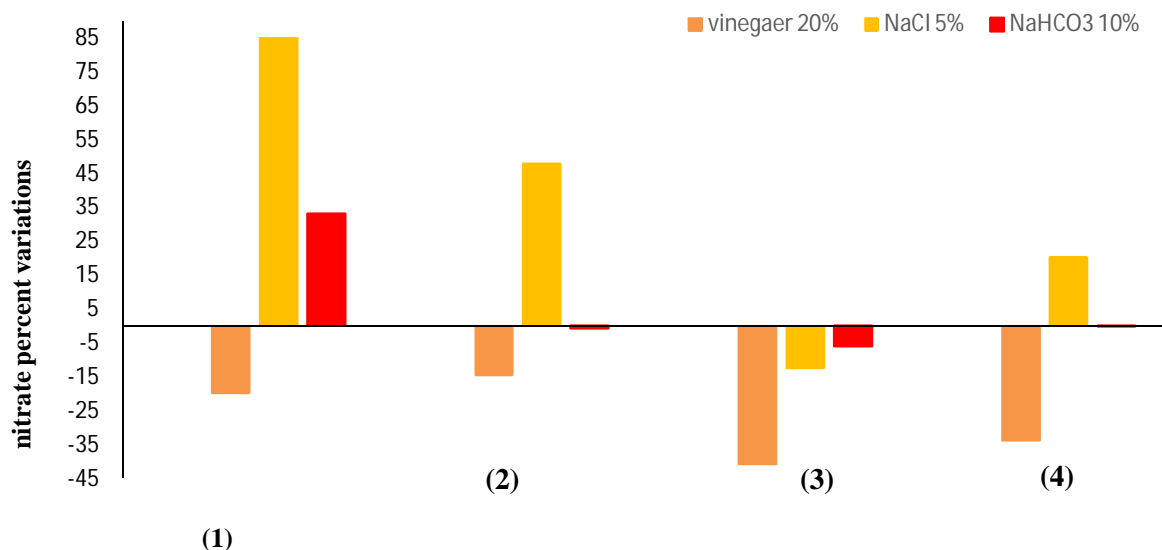


Fig 1 Nitrate percent changing of leafy vegetables after maintaining them in vinegar, backing soda and sodium chloride salt

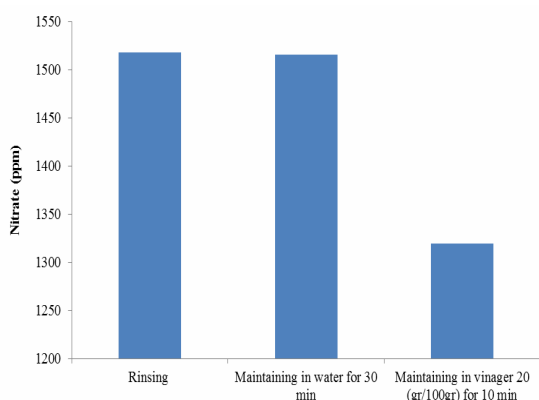


Fig 3 Nitrate content in water rinsing vegetables, vegetables maintained in water for 30 minutes and vegetables maintained in vinegar 20 (gr/100gr) for 10 minutes.

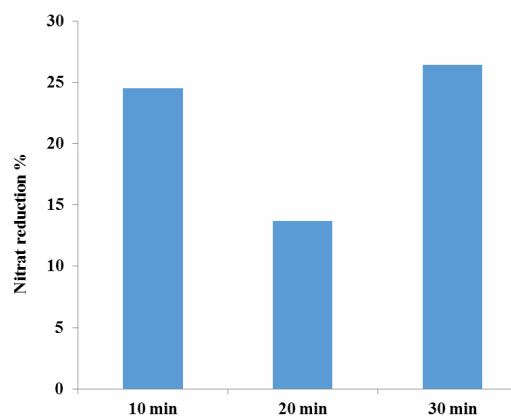


Fig 2 Nitrate changing of the leafy vegetables mix after maintaining them in vinegar (20 gr/100gr) for different times.

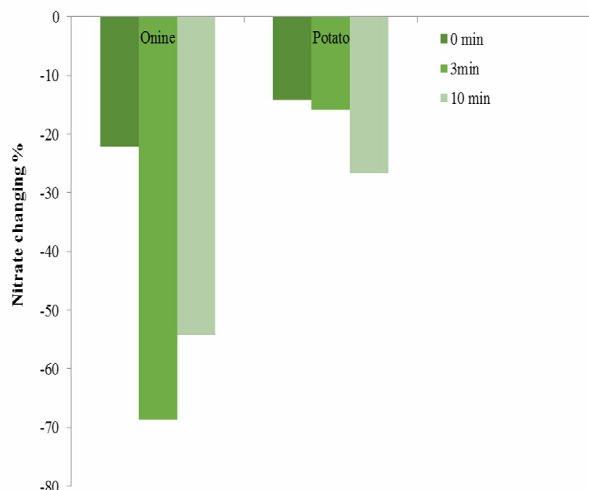


Fig 4 Nitrate changing in onion and potato after maintaining in warm water for different times 0 minute (means rinsing with cold water only), 3 minutes and 10 minutes.

4- نتیجه گیری

بررسی‌های انجام شده نشان داد که استفاده از محلول نمک‌طعام ضمن شستشو به علت قدرت یونی بالا و فرایند اسمز معکوس در مقایسه با شستشوی با آب منجر به افزایش درصد نیترات محتوی سبزیجات برگی می‌شود. افزایش pH ضمن شستشو به صورت نگهداری در محلول جوش شیرین منجر به کاهش جزئی درصد نیترات محتوی شده و کاهش pH ضمن شستشو با استفاده از محلول 20 درصد سرکه منجر به کاهش قابل ملاحظه‌ای در میزان نیترات محتوی سبزیجات برگی خواهد شد. بنابراین می‌توان نگهداری سبزیجات برگی به مدت 10 دقیقه در سرکه 20 درصد را به عنوان روشی موثر جهت کاهش درصد نیترات سبزیجات برگی پیشنهاد کرد. مشاهده شد که با نگهداری قطعات خرد شده سیب‌زمینی و پیاز در آب گرم با دمای $70 - 100^{\circ}\text{C}$ ، به ترتیب به مدت 10 دقیقه و 3 دقیقه، میزان نیترات محتوی به مقدار 26/6 درصد و 54 درصد کاهش می‌یابد. کاهش میزان نیترات محتوی با استفاده از این روش‌ها منجر به حفظ تازگی بافت سبزیجات و مواد حساس به افزایش دما می‌شود که در مقایسه با سایر تحقیقات انجام شده که با پختن، جوشاندن و ... موفق به کاهش میزان نیترات محتوی شده‌اند، به عنوان یک مزیت مهم محسوب می‌شود. از طرفی سرکه و آب گرم با دمای $70 - 100^{\circ}\text{C}$ که در

اما در مورد نمونه‌ای که در محلول سرکه 20 درصد نگهداری شده است، میزان نیترات به طور قابل ملاحظه‌ای کاهش یافته است. در این مورد مقدار p-value محاسبه شده با استفاده از تست من - ویتنی معادل 0/049 است که تاییدی بر معنادار بودن تفاوت بین نتایج حاصل و به عبارتی بهتر کاهش میزان نیترات سبزیجات پس از نگهداری در محلول سرکه 20 درصد است. این کاهش می‌تواند ناشی از افزایش میزان نرمی و انعطاف‌پذیری غشاهای سلولی سبزی با کاهش pH باشد [21] که منجر به افزایش نفوذپذیری غشای سلولی و نفوذ یون‌های نیترات محتوی به خارج از سلول مطابق با فرایند اسمز می‌شود. با توجه به این مکانیسم برای کاهش درصد نیترات محتوی سبزیجات، در این مطالعه سعی شده است که با کنترل زمان نگهداری سبزیجات در محلول سرکه، از پلاسیدگی و از بین رفتن تازگی این مواد غذایی جلوگیری شود و به این ترتیب سبزیجات خام با حفظ تازگی و بسیاری از مواد مغذی همواره به عنوان یکی از مواد غذایی مفید در سفره غذایی افراد جامعه باقی بماند.

3-2- بررسی تغییرات نیترات در سبزیجات غده-

ای با افزایش دما

در این قسمت، اثر نگهداری سبزیجات غده‌ای شامل سیب‌زمینی و پیاز در آب گرم با دمای $70 - 100^{\circ}\text{C}$ ، بر میزان نیترات محتوی مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفته است. نتایج نشان داده شده در شکل 4 بیان می‌کند که نگهداری قطعات پیاز در آب گرم به مدت 3 دقیقه منجر به کاهش درصد نیترات به میزان 68/6 درصد و به مدت 10 دقیقه منجر به کاهش نیترات به میزان 54 درصد می‌شود. بنابراین مدت زمان 3 دقیقه، به عنوان زمان بهینه کاهش درصد نیترات محتوی ضمن نگهداری در آب گرم، گزارش شد. همین‌طور با توجه به شکل 4 بیشترین میزان کاهش نیترات محتوی سیب‌زمینی ضمن نگهداری در آب گرم پس از 10 دقیقه و به میزان 26/6 درصد است.

- [7] Chan, TYK., (2011). Vegetable-borne nitrate and nitrite and the risk of methaemoglobinaemia. *Toxicology Letters*, 200, 107–108.
- [8] Cassens, R., (1995). Use of sodium nitrite in cured meats today. *Food Technology*, 50(7), 115. 72–80.
- [9] Mitacek, EJ., Brunnemann, KD., Suttajit, M., Caplan, LS., Gagna, CE., Bhothisuwan, K., (2008). Geographic distribution of liver and stomach cancers in Thailand in relation to estimated dietary intake of nitrate, nitrite, and nitrosodimethylamine. *Nutrition and Cancer*, 60 (2), 196–203.
- [10] Dennis, MJ., Wilson, LA. (2003). Nitrates and nitrites. *Encyclopedia of food sciences and nutrition* (2nd ed., pp. 4136–4141).
- [11] Speijers, G., Van Den Brandt, PA. (2003). Nitrite and potential endogenous formation of N-nitroso compounds. *Food additives ser* (50). Geneva: World Health Organization. Available from: <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v50je05.htm> Accessed 20.12.14.
- [12] Wierzbicka, Elw (2020) Novel methods of nitrate and nitrite determination. *Journal of Elementology*. (1), 97-106.
- [13] Jimidar. M., Hartmann, C., Cousement, N., Massart, D. L., (1995) Determination of nitrate and nitrite in vegetables by capillary electrophoresis with indirect detection. *Journal of Chromatography A*, 706, 479-492.
- [14] Aires, A., Carvalho, R., Rosal, E., Saavedra, MJ., (2013). Effects of agriculture production systems on nitrate and nitrite accumulation on baby-leaf salads. *Food Science & Nutrition*, 1, 3 –7.
- [15] Chang, A.C., Yang, TY., Riskowski, GL., (2013). Ascorbic acid, nitrate, and nitrite concentration relationship to the 24 hour light/dark cycle for spinach grown in different conditions. *Food Chemistry*, 138, 382–388.
- [16] Colonna, E., Rouphael, Y., Barbieri, G., Pascale, SD., (2016). Nutritional quality of ten leafy vegetables harvested at two light intensities. *Food Chemistry*, 199, 702–710.
- [17] Avinesh, A., Prasad, CS., (2009). Flow injection analysis of nitrate-N determination in root vegetables: Study of the effects of cooking. *Food Chemistry*, 116, 561–566.

این مطالعه به عنوان عوامل کاهش‌دهنده نیترات معرفی شده‌اند، ترکیباتی خوراکی و ایمن هستند و ضمن استفاده از این ترکیب برای کاهش میزان نیترات محتوی، علاوه بر تازگی، ایمنی سبزیجات همچنان حفظ می‌شود. نتایج بررسی‌های انجام شده نشان می‌دهد که می‌توان دستورالعملی ساده برای استفاده از محلول سرکه 20 درصد و آب‌گرم در مراحل شستشوی سبزیجات تهیه و در اختیار عموم قرار داد و بدین صورت سبزیجات همچنان به عنوان مواد غذایی مفید در سفره غذایی افراد جامعه مورد استفاده قرار بگیرند.

5- تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله بدین وسیله، مراتب تشکر و قدردانی خود را از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کردستان به خاطر حمایت‌های مالی لازم جهت انجام این پژوهش، اعلام می‌دارند.

6- منابع

- [1] Van Duyan, M., Pivonka, E., (2000). Overview of the health benefits of fruit and vegetable consumption for the dietetics professional: selected literature. *Journal of the American Dietetic Association*, 100(12), 1511e1521.
- [2] Van Duyan, M., Pivonka, E., (2000). Overview of the health benefits of fruit and vegetable consumption for the dietetics professional: selected literature. *Journal of the American Dietetic Association*, 100(12), 1511e1521.
- [3] Elia, A., Santamaria, P., Serio, F., (1998). Nitrogen nutrition, yield and quality of spinach. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 76, 341–346.
- [4] Lips, S., Leidi, E., Siberbush, M., Soares, M., Lewis, O., (1990). Physiological aspects of ammonium and nitrate fertilization. *Journal of Plant Nutrition*, 13, 1271–1289.
- [5] Habben, J., (1973). Quality constituents of carrots *Daucus carota* L., as influenced by nitrogen and potassium fertilization. *Acta Horticulturae*, 29, 295–304.
- [6] Cassens, R., (1997). Residual nitrite in cured meats. *Food Technology*, 51(2), 53–55.

- microwave boiling with normal and 5% NaCl solution. Food Chemistry. 176, 244–253.
- [20] Foodstuffs. Determination of nitrate and/or nitrite content. HPLC/IC method for the determination of nitrate content of vegetables and vegetable products. BS EN 12014-2:1997.
- [21] Doesburg, J. J., (1965) Pectic substances in fresh and preserved fruits and vegetables. I.B.V.T., Wageningen.
- [18] Huarte-Mendicoa, JC., Astiasarin, I., Bello, J., (1996). Nitrate and nitrite levels in fresh and frozen broccoli. Effect of freezing and cooking. Food Chemistry, 58, 39-42.
- [19] Singh, S., Swain, S., Singh, DR., Salim, KM., Nayak, D., Dam Roy, S., (2015) Changes in phytochemicals, anti-nutrients and antioxidant activity in leafy vegetables by

Study of the effects of ionic strength, pH and temperature of washing solution on nitrate percentage in fresh vegetables

Korani A. ^{1*}, Hassanzadeh K. ², Hosseini S A. ¹, Mafakheri N. ¹,
Goftari Sh. ¹, Ashrafi, S. ¹, Rostami A. ¹, Naderi K. ¹, Zarehbin M R. ¹, Nouri B. ³

1. Food laboratory, Vice chancellor for Food and Drug. Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran.
2. Cellular and Molecular Research Center. Research Institute for Health Development, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran
3. Social Determinants of Health Research Center, Research Institute for Health Development, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran

(Received: 2019/06/17 Accepted: 2020/04/04)

In this study, we try to evaluate the effect of ionic strength, pH and temperature of washing solutions on nitrate percentage in many leafy and root vegetable. For this purpose three edible solutions including NaCl as high ionic strength solution, baking soda (NaHCO_3) as basic solution and vinegar as acidic solution selected as nitrate losing agents for leafy vegetables (mint, basil, savory, tarragon, parsley, coriander, cress, radish and chives) and the effect of temperature evaluated using warm water (70 -100 °C) on nitrate percentage in root vegetables (potato and onion). Nitrate percentage in vegetables changed with different patterns. High ionic strength increased leafy vegetable nitrate percentage in wide rang (20.25 - 85 % (w/w)), pH increasing by baking soda solution increased nitrate percentage of group 1 (Mint & Basil) leafy vegetables (33 % (w/w)) and decreased it in other groups partially (0.22 - 6.2 % (w/w)). However, pH decreasing by vinegar solution decreased nitrate percentage in all cases (14.6 - 41 % (w/w)). Optimum concentration of vinegar solution and treatment time in this solution, for maximum nitrate losing were 20 % (w/w) and 10 minutes, respectively. In the second part of this study, effect of solution temperature on nitrate percentage of root vegetables (potato and onion) was evaluated. Results show by this pretreatment nitrate percentage decreased 68.6 % (w/w) about potato and 26.6% (w/w) about onion. The important advantage of this study is vegetables nitrate percentage decrease, while the freshness and safety of these products preserved.

Keywords: Food healthy and safety, Nitrate, Leafy Vegetables, Root vegetables and vinegar

* Corresponding Author E-Mail Address: Azam.korani@gmail.com