Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Food Processing and Preservation Journal

Print ISSN: 2322 - 2069
Online ISSN: 2322 - 2794

Iranian Association of Food Scientists and Technologists

Measurement of nitrate residues in tomato and pomegranate fruits and their products by using the high performance liquid chromatography method

Mina Mehrpour[1], Zahra Erjaee[2*]

[1] Graduate student, Department of Food Science and Technology, Fasa Branch, Islamic Azad University, Fasa, Iran
[2] Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Fasa Branch, Islamic Azad University, Fasa, Iran, Email: zerjaee@yahoo.com

Article Info

Article type:
Research Full Paper

Article history:
Received: 2020/08/05
Revised: 2020/11/20
Accepted: 2021/01/03

Keywords:
Nitrate
Nitrogen fertilizers
Tomato
pomegranate
processing

ABSTRACT

Background and Objectives: Nitrate is the most important source of nitrogen in plants. The market demand has led to the use of chemical fertilizers which results in the increase of nitrate composition of the soil. Most plant organs are able to regenerate nitrate but the increase of this element in the plant causes its accumulation. Excess nitrate intake in the body through food products can cause health hazards. Tomatoes and pomegranates are two products that in addition to being eaten fresh, are also used as paste, dried and juice. Therefore, due to the risk of nitrate and nitrite for consumer health, measurement of nitrate in these products and the effect of heating and drying processes were investigated in this study.

Materials & Methods: Tomato and pomegranate samples were gathered from the fields and gardens of Marvdasht, Kazeroun, Arsenjan, Shiraz and Fasa in the Fars province. Nitrate levels of samples were determined by HPLC. The correlation between nitrate content and other properties such as sample size, pH and moisture content was also investigated. In the next step, the processes of cooking and preparing paste, drying and dehydration were performed on the samples and the residual nitrate concentration in the samples was re-measured.

Results: The results showed that the highest amounts of nitrate content in tomatoes were from Kazeroun and Shiraz cities with the amount of 27.7 and 25 mg/kg wet weight. A correlation was observed between nitrate and pH in tomatoes. The highest concentration of nitrate in pomegranate fruit related to samples from Fasa and Shiraz regions with 6.1 and 5.8 mg/kg wet weight, respectively. There was a correlation between the volumes of pomegranate samples with nitrate. The amount of nitrate in the tomato juice sample was higher than the dried tomato sample, and tomato paste had the lowest amount of nitrate. There was no significant difference between the amount of nitrate in pomegranate juice and raw pomegranate, while the amount of nitrate in pomegranate paste and dried pomegranate was decreased.

Conclusion: According to the international standards, the nitrate content in all samples in the Fars province was not high and in the safe limits 120 mg/kg wet weight. It was also determined that the nitrate content in the processed samples was much lower than the raw samples. Nitrate was decreased up to 86 percent in samples that were heated, such as tomato paste and pomegranate paste. The nitrate reduction in tomato juice samples

was lower (37 %) due to the solubility of nitrate in water. Proper farm management in fertilizing and proper processing of these products can help reduce the nitrate content in these products.

Cite this article: Mehrpour, M., Erjaee, Z. 2022. Measurement of nitrate residues in tomato and pomegranate fruits and their products by using the high performance liquid chromatography method. *Food Processing and Preservation Journal*, 14 (2), 105-120.

© The Author(s).
DOI: 10.22069/FPPJ.2022.18234.1627
Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

فرآوری و نگهداری مواد غذایی
شاپا چاپی: ۳۵٤٤-۲٤۲۳
شاپا الکترونیکی: ۳۸۰۳-۲٤۲۳

سنجش میزان باقیمانده نیترات در گوجه فرنگی و انار و محصولات آن‌ها با روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا

مینا مهرپور[۱]، زهرا ارجائی[۲*]

[۱] دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد فسا، دانشگاه آزاد اسلامی، فسا، ایران

[۲] استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد فسا، دانشگاه آزاد اسلامی فسا، ایران، رایانامه: zerjaee@yahoo.com

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی-پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۵/۱۵
تاریخ ویرایش: ۱۳۹۹/۰۸/۳۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۰/۱٤

واژه‌های کلیدی:
نیترات
کود شیمیایی نیتروژن‌دار
گوجه‌فرنگی
انار
فرآوری.

چکیده

سابقه و هدف: نیترات مهم‌ترین منبع نیتروژن برای استفاده گیاهان است. تقاضا در بازار منجر به استفاده از کود شیمیایی و در نتیجه افزایش مقدار نیترات خاک شده است. بیشتر اندام‌های گیاهی قادر به احیا نیترات می‌باشند ولی افزایش این عنصر در گیاه باعث تجمع آن می‌شود. ورود بیش از حد نیترات از طریق محصولات غذایی به بدن می‌تواند خطراتی برای سلامت مصرف کننده داشته باشد. دو محصول گوجه فرنگی و انار علاوه بر تازه‌خوری به صورت رب، خشک شده و آبمیوه مورد مصرف قرار می‌گیرند. لذا، با توجه به خطرات نیترات و نیتریت برای سلامت مصرف کننده، اندازه‌گیری نیترات در این محصولات و تأثیر پروسه‌های حرارت و خشک کردن در این پژوهش مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: نمونه‌های گوجه‌فرنگی و انار از زمین‌های کشاورزی و باغات مرودشت، کازرون، ارسنجان، شیراز و فسا در استان فارس جمع‌آوری شدند. شاخص نیترات در نمونه‌های جمع‌آوری شده با روش HPLC مورد ارزیابی قرار گرفت. همبستگی بین میزان نیترات و سایر شاخص‌های نمونه‌ها شامل اندازه، pH و رطوبت نیز بررسی شد. در مرحله بعدی، پروسه‌های پختن و تهیه رب، خشک کردن و آبگیری بر روی نمونه‌ها صورت گرفت و غلظت نیترات باقی مانده در نمونه‌ها مجدداً اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: نتایج نهایی نشان داد که بیشترین غلظت نیترات در گوجه‌فرنگی مربوط به نمونه‌های شهرستان کازرون و شیراز با میزان ۲۷/۷ mg/kg و ۲۵ وزن تر بود. همبستگی بین نیترات و pH در گوجه فرنگی دیده شد. بالاترین غلظت نیترات در انار مربوط به نمونه‌های مناطق فسا و شیراز با ٦/۱ mg/kg و ۵/۸ وزن تر بود. همبستگی بین حجم نمونه‌های انار با نیترات وجود داشت. میزان نیترات در نمونه آب گوجه‌فرنگی بیشتر از نمونه گوجه‌فرنگی خشک بود و رب گوجه کمترین میزان نیترات را داشت. تفاوت معنی‌داری بین میزان نیترات در آب انار و انار خام وجود نداشت، در حالی‌که مقدار نیترات در رب انار و انار خشک کاهش داشت.

نتیجه‌گیری: بر اساس استانداردهای بین‌المللی غلظت نیترات در هیچ کدام‌از تیمارهای اندازه‌گیری شده در استان فارس از حد مجاز تجاوز نکرد و در محدوده ۱۲۰ mg/kgبودند. همچنین فرآوری محصولات باعث کاهش غلظت نیترات آن‌ها نسبت به نمونه‌های خام گردید. نیترات در نمونه‌های حرارت دیده مانند رب گوجه فرنگی و انار تا ۸٦ درصد کاهش داشت. کاهش نیترات در آب گوجه فرنگی به علت حلالیت نیترات در آب کمتر بود (۳۷ درصد). مدیریت مناسب مزرعه از نظر نحوه کود دادن و فرآوری

درست این محصولات می‌تواند به کاهش نیترات در این محصولات کمک کند.

استناد: مهرپور، م.، ارجائی، ز. (۱٤۰۱). سنجش میزان باقیمانده نیترات در گوجه فرنگی و انار و محصولات آن‌ها با روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا. *فرآوری و نگهداری مواد غذایی*، ۱٤ (۲)، ۱۲۰-۱۰۵.

DOI: 10.22069/FPPJ.2022.18234.1627

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

© نویسندگان.

مقدمه

افـزایش تقاضـا بـرای محصـولات کشـاورزی و محدودیت‌های زمین‌هـای زراعـی منجـر بـه افـزایش تولید شده است. از جمله راهبردهـای ارتقـای تولیـد می‌توان به افزایش نهاده‌های مصرفی در واحد سـطح، افزایش بهره‌وری عوامل تولید و استفاده از واریته‌هایی با عملکرد بالا اشاره کرد. یکی از راهکارهای افـزایش عملکرد، استفاده از کودهای شـیمیایی اسـت. در ایـن راسـتا، نیتـروژن یکـی از عناصـر مهـم در تولیـد محصولات کشاورزی در سراسر دنیا به شمار می‌رود. از انواع کودهای نیتروژنه می‌توان به آمونیوم بدون آب (NH_3)، اوره (Urea)، اوره بـا پوشـش گـوگردی (SCU)، سـولفات آمونیـوم (AS)، نیتـرات آمونیـوم، نیترات فسفات آمونیوم، اوره نیترات آمونیوم (UNA)، نیترات کلسیم و کود کامل ماکرو اشاره نمود (۱).

نیترات ترکیبی متشکل از یک اتم نیتـروژن و سـه اتم اکسیژن می‌باشد که از لحاظ شیمیایی به دلیـل دارا بودن یک بـار منفـی، ترکیـب آنیـونی مـی‌باشـد و در طبیعت از طریق ترکیب شدن با کاتیون‌ها می‌تواند بـه حالت خنثی تبدیل گردد (۲). نیترات به همراه نیتریت عمدتاً به صـورت محلـول در محـیط زیسـت وجـود دارند. به‌طور طبیعی از اکسایش ترکیبـات نیتـروژن‌دار توسط میکروارگانیسم‌هـا در آب، خـاک و در مقـادیر کمتر توسط تخلیه الکتریکی مانند رعد و بـرق تولیـد می‌گردد. نیتروژن دارای چرخـه‌ای طبیعـی در محـیط زیست می‌باشد. در این چرخه باکتری‌ها نیتروژن را به نیترات تبدیل می‌کنند و نیترات توسط گیاهان جـذب می‌گردد. حیواناتی که از این گیاهان مصرف مـی‌کننـد از نیترات جهت تولید پروتئین استفاده می‌کنند. نیترات موجود در بافت حیوانات به دو طریق، دفع مـدفوع و تجزیه میکروبی بافت مرده حیوانـات بـه طبیعـت بـر می‌گردد حدود ۹۰ درصد ازت مورد نیـاز گیاهـان بـه صورت یون نیترات (NO_3) از خاک جذب مـی‌شـود. نیتـرات جـذب شـده در روز تحت تأثیر نور، دما و انرژی حاصل از فتوسنتز در داخل گیاه تبدیل به پروتئین می‌شود. این عمل در شب بـه علـت کـاهش شدید فعالیت‌های سـنتزی گیـاه، متوقف مـی‌گـردد حـال آن کـه عمل جـذب آب و املاح از جملـه نیترات، همچنان ادامه می‌یابد. بنابراین صبح‌ها همواره تجمع بیش از حـد یون نیترات در بافـت‌هـای گیاهی خصوصـا بـرگ‌هـا و ساقه‌های جوان وجـود دارد. چنانچه چنین گیاهانی(از جمله سبزی‌ها) به صورت تازه خورده شوند، مقدار زیادی نیترات به بدن وارد شده و در دستگاه گوارش تحت تـأثیر بـاکتری‌هـا بـه یون نیتریت (NO_2) تبدیل می‌گردد. خود نیترات برای انسان و سایر حیوانات مضر نیست، بلکه تبدیل آن به یون نیتریت است که برای سـلامتی مضـر اسـت (۳). سبزیجات از مهم‌ترین منابع جذب نیتـرات و نیتریت محسوب می‌شوند. به‌طورکلی سبزیجاتی که با ریشه، ساقه و برگ مصرف می‌شوند میزان نیترات بـالایـی دارند. حال آن که گیاهانی که تنها بخش میوه آنها قابل استفاده است میزان نیترات پـایین دارنـد. محتـوای نیترات سبزیجات ریشه‌ای، برگی و ساقه‌ای رشد یافته تحت شرایط گلخانه به‌طـور قابـل تـوجهی بیشـتر از سبزیجات صحرایی رشد یافته در همان فصـل اسـت. چندین عامل به طور بالقوه بر سطح نیترات و نیتریـت در سبزیجات تأثیر می‌گذارد. این عوامل شـامل نـوع، مقدار و شکل کود نیتروژنی، سطح بالای مواد ارگانیک در خـاک، دماهـای بالـای رشـد، عـرض جغرافیـایی (به‌علت کاربرد تأمین نور) می‌باشند (٤).

در بیشتر گونه‌هـای گیـاهی ماننـد گوجـه‌فرنگـی ریشه، ساقه و برگ‌ها توانایی احیای نیترات را دارنـد. میزان احیا بستگی به نوع گیاه، میزان نیترات، سن گیاه و شرایط محیطی دارد. وقتـی غلظـت نیتـرات پـایین باشد، بخش عمده آن در درون ریشه احیا می‌گردد. با افـزایش میـزان نیتـرات، ظرفیـت احیـای نیتـرات در

ریشه‌ها کاهش یافته و بخشی از نیتروژن کل به صورت نیترات به ساقه‌ها منتقل می‌شود. به همین ترتیب در ساقه‌ها نیز ظرفیت احیای نیترات محدود و مازاد نیترات مخصوصاً تحت شرایطی که کود نیتروژنی زیادی مصرف شده باشد، به برگ‌ها منتقل می‌گردد. با توجه به اینکه برگ‌ها به عنوان منبع تولید کننده عمل می‌کند در مرحله زایشی، رشد رویشی کاهش یافته و تولید مواد هیدروکربنه که برای احیای نیترات لازم است، کاهش می‌یابد. بنابراین ظرفیت احیای نیترات در برگ‌ها به هنگام مرحله زایشی کاهش می‌یابد (۵). چنانچه تحت این شرایط نیترات احیا شده وجود داشته باشد، وارد میوه شده و در آنجا تجمع می‌یابد. از طرف دیگر کربن موجود در میوه بیشتر صرف فرآیند تنفس شده و میوه برای احیای نیترات از این مواد هیدروکربنه استفاده نماید و کلاً ظرفیت محدودی برای احیای نیترات در میوه‌ها همانند سایر اندام‌های گیاه وجود دارد (٦).

میزان باقیمانده نیترات در گوجه‌فرنگی گلخانه‌ای در اتحادیه اروپا بین ۱۱٦/۷۵ mg/kg – ۸۲/۲٤ وزن تر بود. در آب گوجه‌فرنگی میزان نیترات ۷۸/۵۵ mg/kg – ۵۳/۷۵ و در سس گوجه‌فرنگی ۱۹۳/۸۵ mg/ kg–۱۳۱/۱۵ وزن تر گزارش شد. میزان نیترات در سس فرآوری شده بیشتر از گوجه‌فرنگی تازه بود. باقیمانده نیترات در تمام فرآورده‌ها در محدوده استاندارد (۱۲۰ mg/kg) بودند (۷). افزایش کودهای شیمیایی نیتروژن‌دار در نواحی نوار غزه منجر به افزایش میزان نیترات در محصولات کشاورزی شد. میزان باقیمانده نیترات در میوه انار و گوجه‌فرنگی به‌ترتیب، ۳۰۰ mg/kg و ۲۵۰ mg/kg وزن تر محاسبه شد. در این تحقیق به همبستگی بین میزان ابتلا به سرطان و افزایش میزان نیترات در میوه و سبزیجات اشاره شده است (۸). میزان باقیمانده نیترات در گوجه‌فرنگی و محصولات تبدیلی آن (رب گوجه‌فرنگی، سس کچاپ و آب گوجه‌فرنگی) زیر حد استاندارد FAO (۳-۰ mg/kg وزن بدن در روز) عنوان شد. متوسط باقیمانده نیترات در گوجه‌فرنگی ۱۰/۸۹ mg/kg وزن‌تر گزارش شد. آب گوجه‌فرنگی کمترین حد نیترات (۵ mg/kg وزن تر) و سس کچاپ بیشترین حد (۵۳/۹۷ mg/kg وزن تر) نیترات را به خود اختصاص داد (۹).

دو محصول گوجه و انار علاوه بر تازه خوری به صورت رب، خشک شده و آبمیوه مصرف می‌شوند. فرآیندهای پختن، جوشاندن و خشک کردن از جمله روش‌های نگهداری سبزیجات به شمار می‌رود که موجب تغییراتی در ترکیبات شیمیایی و محتوای نیترات محصول می‌شود. لذا با توجه به اهمیت به جایگاه نیترات و نیتریت در سلامت این محصولات، اندازه‌گیری نیترات در این محصولات و تأثیر پروسه‌های حرارت و خشک کردن در این پژوهش مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

مواد اولیه: نمونه‌های گوجه‌فرنگی از مزارع شهرستان‌های مرودشت، کازرون، ارسنجان، شیراز و نمونه‌های انار از باغات مناطق مرودشت، فسا، شیراز، کازرون نیز جمع‌آوری شدند. جمع‌آوری میوه‌ها در ماه‌های مرداد، شهریور و مهر ۱۳۹۷ انجام شد. نمونه‌برداری به صورت کاملاً تصادفی در هر مزرعه انجام شد. از هر مزرعه یا باغ به تعداد ۲۰ عدد میوه برداشت شد. نمونه‌ها بلافاصله به آزمایشگاه دانشگاه آزاد فسا منتقل شدند سپس با آب و مایع ظرفشویی شسته و بعد از خشک شدن تا زمان آزمایشات در یخچال نگهداری شدند.

فرآوری گوجه فرنگی: نمونه‌ها پس از جمع‌آوری از مزارع به چند قسمت تقسیم شدند. نمونه‌ای که دارای بیشترین غلظت نیترات بود جهت فرآوری مورد

استفاده قرار گرفت. برای تهیه رب گوجه‌فرنگی، ابتدا گوجه‌فرنگی‌ها شسته شده، سپس از وسط نصف شدند و در ظرف استیل ضدزنگ روی حرارت (۹۰ تا ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد) قرار داده شدند تا نرم شوند. پوست و دانه‌های گوجه‌فرنگی‌ها به وسیله صافی استیل ضد زنگ (اندازه ۰/۳ میلی‌متر)جدا شدند و به شکل پوره درآورده شدند و مجدد تا رسیدن به بریکس ۲۰ (مدت زمان ۵ ساعت) عمل حرارت‌دهی روی شعله مستقیم صورت گرفت. آب گوجه‌فرنگی، با استفاده از دستگاه آبمیوه گیری برقی (پارس خزر، مدل ویتافروت، ایران) تهیه شد. سپس، به وسیله کاغذ صافی (واتمن سایز ٤٢، آلمان) تمام پالپ و دانه‌های گوجه جداسازی شدند. برای تهیه گوجه‌های خشک شده، از گوجه‌فرنگی‌های نیمه سفت و گوشتی استفاده شد. گوجه‌فرنگی به ورقه‌های نازک به ابعاد ۷-٦ میلی‌متری با چاقوی اشپزخانه برش داده شدند و روی شبکه‌های توری درون آون جریان هوای داغ (آون ممرت، آلمان) تحت دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ٦-۸ ساعت قرار گرفتند و سپس به مدت ۳۰ دقیقه در هوای آزاد سرد شدند. در نهایت درون بسته بندی پلاستیکی زیپ‌داز (LDPE) قرار داده شدند.

فرآوری انار: انارها بصورت خام و نمونه‌ای که دارای بالاترین غلظت نیترات بود به صورت فرآوری شده مورد بررسی و آزمون قرار گرفت. جهت تهیه رب انار، دانه‌های انار جدا شدند و درون ظرف استیل ضد زنگ روی حرارت (۹۰ تا ۱۰۰ درجه سانتی گراد) قرار گرفتند تا کمی نرم شوند. آب انار از تفاله‌ها و هسته‌ها توسط صافی (واتمن اندازه ٤٢، آلمان) جدا شدند. آب انار تا رسیدن به بریکس ۸۱ (رفراکتومتر مدل تاپ ستون، تایوان) روی حرارت به مدت ۸ ساعت قرار گرفت. برای تهیه آب انار، دانه‌های انار بدون پوسته را در دستگاه مخلوط کن برقی (پارس خزر، مدل ویتافروت، ایران) قرار گرفتند. سپس آب انار از پالپ انار با کمک صافی استیل ضد زنگ (اندازه ۰/۳ میلی‌متر) و کاغذ صافی (واتمن اندازه ٤٢) جدا شد. جهت تهیه انار خشک (ناردونه)، دانه‌های انار درون سینی به‌مدت ٥-٦ روز در معرض نور مستقیم خورشید و هوای آزاد قرار گرفتند.

اندازه‌گیری نیترات نمونه‌های خام و عمل‌آوری شده: به‌منظور بررسی و اندازه‌گیری میزان باقیمانده نیترات در محصولات غذایی سیستم کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (HPLC) ساخت شرکت Agilent (USA) با آشکارساز UV/VIS مدل ۱۱۰۰، پمپ چهارتایی، شیر تزریق با حجم تزریق ۲۰ میکرولیتر و ستون Zorbax XDB C18 به کارگرفته شد. این ستون به طول ۲۵ سانتی‌متر، قطر داخلی ٤/٦ میلی‌متر و اندازه ذرات ۵ میکرونی، ساخت شرکت Agilent (California, U.S.) جهت جداسازی و آنالیز کمی مورد استفاده قرار گرفت. به منظور ثبت کروماتوگرام‌ها و انتگرال‌گیری از سطح زیر پیک‌های ثبت شده، نرم‌افزار Chemstation استفاده شد. برای تهیه محلول مادر استاندارد ($mg.ml^{-1}$ ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر نیترات پتاسیم) ۲، ۱/٦۳۰۷ گرم از نیترات پتاسیم به بالن ۱۰۰۰ میلی‌لیتری منتقل گردید و سپس ۱۵ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک غلیظ ۹٦ درصد به آن اضافه شد (به‌عنوان محافظ). محلول با آب مقطر تا خط نشانه به حجم رسانده شد. برای رسم نمودارهای کالیبراسیون، محلول‌هایی با غلظت‌های مختلف از ۰/۱ تا ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر تهیه شد و بهترین محدوده غلظت برای رسم نمودار به دست آمد و در نهایت نمودارها رسم شدند. برای فاز متحرک کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (HPLC)، ۱۰ گرم از دی پتاسیم هیدروژن فسفات (۱۰)، توزین و به بالن ژوژه ۱۰۰۰ میلی لیتری منتقل شده، و ۵۰ میلی‌لیتر استونیتریل (HPLC Grade) اضافه گردید و با آب به حجم رسانیده شد. از ارتو فسفریک اسید ۸۵ درصد

برای تنظیم pH روی عدد ۳ استفاده شد و محلول از صافی غشایی ۰/٤٥ میکرونی عبور داده شد. از آشکارساز فرابنفش (UV) برای شناسایی کیفی و کمی باقیمانده نیترات در گوجه فرنگی و انار و فرآورده‌های آنها استفاده شد.

نمونه‌های گوجه‌فرنگی و انار در ابتدا به وسیله چرخ گوشت هموژن شدند، سپس ۱۰ گرم از نمونه آماده شده را در یک بالن ته گرد قرار داده و ٤۰۰ میلی‌لیتر آب داغ روی ریخته شد و ۱۵ دقیقه در بن‌ماری قرار گرفت. پس از رسیدن به دمای اتاق، از کاغذ صافی الیاف شیشه‌ای عبور داده شد. ٤۰ میلی‌لیتر از نمونه صاف شده را در بالن ۵۰ میلی‌لیتری ریخته و ۲ میلی‌لیتر از محلول کارز I به آن اضافه شد و خوب مخلوط گردید، سپس ۲ میلی‌لیتراز محلول کارز II به ان اضافه شد و به حجم رسانده شد. در انتها محلول از کاغذ صافی با الیاف شیشه‌ای عبور داده شد. ۱۰ میلی لیتر از نمونه تهیه شده، از ستون استخراج فاز جامد پر شده با ماده C18 (اکتا دسیل سیلان) در دو قسمت (۲ میلی‌لیتر در مرحله اول و ۸ میلی لیتر در مرحله بعد) عبور داده شد. ستون استخراج از قبل با متانول و آب شستشو گردید. حد تشخیص (Detection limit) دستگاه یک نانو گرم بر میلی لیتر و درصد بازیافت (recovery) ۱۰۱/۳ بود.

اندازه‌گیری رطوبت: به‌منظور اندازه‌گیری رطوبت موجود در نمونه‌ها از روش اندازه‌گیری رطوبت AOAC شماره ۹۳٤/۰٦ استفاده شد (۱۱).

اندازه‌گیری حجم: نمونه‌های مورد نظر از وسط نصف شدند و به وسیله کولیس، قطر آن‌ها اندازه‌گیری شد و در نهایت حجم نمونه‌های انار و گوجه فرنگی طبق معادله ۱ زیر محاسبه شدند:

$$V= \frac{3}{4}\pi r^3$$ معادله ۱)

اندازه‌گیری بریکس: اندازه‌گیری درجه بریکس نمونه‌های فرآوری شده گوجه فرنگی و رب انار، مطابق با روش آزمون ارائه شده توسط سازمان استاندارد ملی ایران، شماره ۷٦۱ انجام شد. قبل از اندازه‌گیری بریکس نمونه‌ها، دستگاه رفراکتومتر (مدل تاپ ستون، تایوان) به وسیله آب مقطر کالیبره شد. جهت کالیبراسیون دستگاه یک قطره آب مقطر روی چشمی دستگاه قرار داده و درجه نشانگر روی عدد صفر تنظیم شد. جهت اندازه‌گیری بریکس نمونه‌ها، ابتدا نمونه را در کاغذ صافی قرار گرفته و پس از صاف شدن، یک قطره از آن روی عدسی دستگاه قرار گرفت. وقتی قطره حاصل از نمونه روی عدسی دستگاه قرار گرفت، از چشمی رفراکتومتر دو عدد نیم کره قابل مشاهده است. با چرخاندن پیچ تنظیم می‌توان دایره را به دو قسمت تاریک و روشن تقسیم کرد. عدد بدست آمده بریکس است (۱۲).

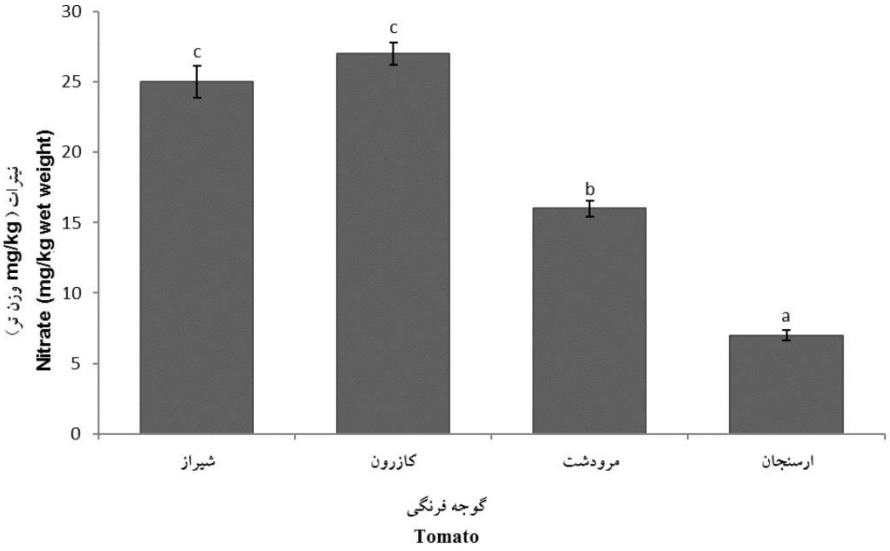
اندازه‌گیری pH: برای اندازه‌گیری سریع و کلی میزان اسیدی یا بازی بودن نمونه‌ها از دستگاه pH-meter (مدل PTR79، ایران) استفاده گردید. جهت کالیبراسیون دستگاه از بافرهای ٤، ۷ و ۱۰ استفاده شد. درجه حرارت بافرها و نمونه‌ها روی ۲۰ الی ۲۵ درجه سانتی‌گراد تنظیم شدند. پس از تنظیم دستگاه با بافرهای ذکر شده، الکترود را با آب مقطر شسته و خشک شد. سپس مقداری از نمونه مورد نظر زیر الکترود pH متر و در تماس یکدیگر قرار داده، و پس از ثابت شدن ارقام مشاهده شده در صفحه نمایش دستگاه، عدد یادداشت شد (۱۳).

روش تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها: کلیه آزمایشات این پژوهش در ۳ تکرار انجام شد، داده‌ها ار طریق آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) مورد تحلیل قرار گرفتند و سپس برای مقایسه میانگین‌ها و بررسی اختلاف معنی‌دار بین تیمارها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌دار ۹۵ درصداستفاده گردید. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نیز توسط نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ انجام شد. جهت بررسی همبستگی

بین میزان نیترات و سایر شاخص‌های نمونه‌ها شامل اندازه، pH و رطوبت، از آزمون همبستگی استفاده شد.

نتایج و بحث

بررسی و مقایسه میزان نیترات در نمونه خام گوجه فرنگی مناطق مختلف استان فارس: میزان باقی مانده نیترات در گوجه‌فرنگی چهار مزرعه از مناطق مختلف استان فارس بر حسب میلی گرم بر کیلوگرم وزن تر در شکل ۱ نشان داده شده است. کمترین میزان باقی‌مانده نیترات مربوط به گوجه‌فرنگی‌های منطقه ارسنجان با غلظت ۷/۸ میلی‌گرم در هر کیلوگرم وزن‌تر است. همچنین بیشترین درصد باقی‌مانده نیترات مربوط به نمونه‌های گوجه‌فرنگی شهرستان‌های کازرون و شیراز با غلظت‌های ۲۷/۷ و ۲۵ میلی‌گرم در هر کیلوگرم وزن‌تر است.



شکل ۱- مقایسه باقیمانده نیترات گوجه فرنگی مزارع مناطق مختلف استان فارس

Figure 1- comparison of nitrate residue of tomatoes in different farm regions of Fars province.

تاکنون پژوهش‌های متعددی در مورد بررسی تجمع نیترات و نیتریت در سبزی‌ها و میوه‌ها در ایران صورت گرفته است. پژوهش‌های انجام شده توسط رحمانی (۲۰۰۶) در اصفهان، پیرصاحب وهمکاران (۲۰۱۲) در کرمانشاه، و پورمقیم و همکاران (۲۰۱۲) در تهران نشان دادند که تجمع نیترات در برخی از سبزی های مورد مطالعه بیشتر از حدود استاندارد بوده است (۱۴، ۱۵ و ۱۶). در حالی که تحقیقات انجام شده توسط شهباززادگان و همکاران (۲۰۱۰) در اردبیل، اسدی و فاضلی (۲۰۲۰) در میدان تره بار تهران نشان داد تجمع نیترات و نیتریت در سبزی‌ها و صیفی جات مورد مطالعه کمتر از حد استاندارد بوده و نگرانی وجود نداشته است (۱۷ و ۱۸).

مطالعات نشان می‌دهد که بزرگسالان روزانه حدود ۴۰۰ گرم سبزی‌های مختلف مصرف می‌کنند. بنابراین میانگین مصرف نیترات می‌تواند ۱۵۷ میلی‌گرم در روز باشد (۱۹). حدود مجاز مصرف نیترات برای انسان توسط کمیته علمی مواد غذایی (FDA[1]) صفر تا ۳/۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن تنظیم شده است که معادل مصرف ۲۲۲ میلی‌گرم نیترات در روز برای یک فرد بالغ با وزن ۶۰ کیلوگرم است (۲۰). میزان حد

1. Food and Drug Administration

استاندارد و مجاز غلظت نیترات در گوجه فرنگی ۱۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم بیان شده است (۲۱). با توجه به تجزیه و تحلیل آماری، در کلیه مناطق نمونه‌برداری شده استان فارس، میانگین غلظت نیترات در گوجه‌فرنگی از حد استاندارد آن پایین‌تر بود.

در پژوهش انجام گرفته پیرامون تعیین غلظت نیترات در قسمت خوراکی سبزی‌های برگی و غده‌ای و میوه ای شهرستان‌های استان اصفهان، میانگین غلظت نیترات در اسفناج و گوجه فرنگی به ترتیب ۲۸٦۵ و ۱٤ میلی‌گرم در هر کیلوگرم وزن‌تر بود (۲۲). این پژوهش نشان داد که تجمع نیترات در برگ‌های گیاهان بوته‌ای بیشتر از خود میوه است (۲۳).

با توجه به جدول ۱ با بررسی و آنالیز داده‌های حاصل از آزمایش مشاهده شد که هیچگونه همبستگی بین صفت نیترات و حجم وجود ندارد. درصد رطوبت گوجه‌فرنگی‌ها همبستگی بسیار ضعیفی با نیترات دارند. در حالی که بررسی نتایج مربوط به اندازه‌گیری pH نشان می‌دهد که ضریب همبستگی بین نیترات و pH منفی بوده و همبستگی بالایی با احتمال ۰/۰۱ درصد وجود دارد. بدین معنی که با افزایش نیترات، مقدار pH کاهش می‌یابد.

جدول ۱- مقایسه همبستگی بین باقیمانده نیترات و صفات گوجه فرنگی خام

Table 1- Comparison of the correlation between nitrate and traits of raw tomatoes

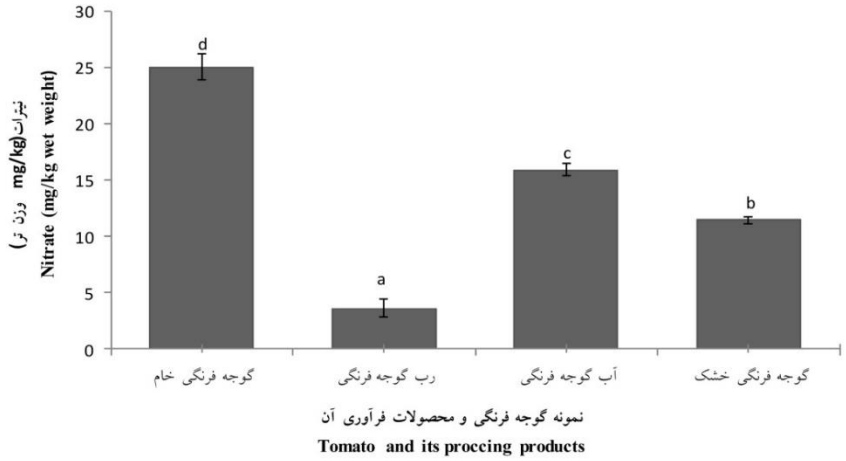
صفت	رطوبت	pH	حجم
نیترات	۰/٤۱۳	-۰/۷۵۳**	-۰/۲۸۷

** معنی‌دار بودن در سطح احتمال ۰/۰۱ می‌باشد.

همبستگی بین نیترات و وزن گوجه‌فرنگی دیده نشد. قربانی دهکردی و همکارانش (۲۰۱۵) مشاهده کردند که مصرف کودهای نیتراته هیچ رابطه معنی‌داری با وزن تر میوه و اندازه گوجه‌فرنگی نداشت، که این امر با پژوهش حاضر هم خوانی دارد (۲٤).

بررسی و مقایسه نیترات در نمونه خام گوجه فرنگی و نمونه های فرآوری شده آن: محصولات گوجه‌فرنگی پس از فرآوری شامل رب گوجه‌فرنگی، آب گوجه فرنگی و گوجه فرنگی خشک بودند. نتایج موجود در نمودار ۲ بیانگر اختلاف معنی‌دار میزان نیترات در بین نمونه خام و نمونه‌های فرآوری است.

میزان باقی‌مانده نیترات در محصولات فرآوری شده نسبت به نمونه خام اولیه کاهش یافت. میزان نیترات اولیه گوجه‌فرنگی خام ۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم وزن تر بود که پس از تهیه رب گوجه‌فرنگی و فرآیند جوشیدن و پختن میزان نیترات باقی‌مانده در آن به غلظت ۳/۲ mg/kg وزن تر رسید. همچنین پس از آبگیری گوجه فرنگی میزان غلظت نیترات ۱۵/۸ mg/kg وزن تر و میزان نیترات باقی‌مانده بعد از فرآیند خشک کردن ۱۰/۵ mg/kg وزن تر اندازه‌گیری شد.



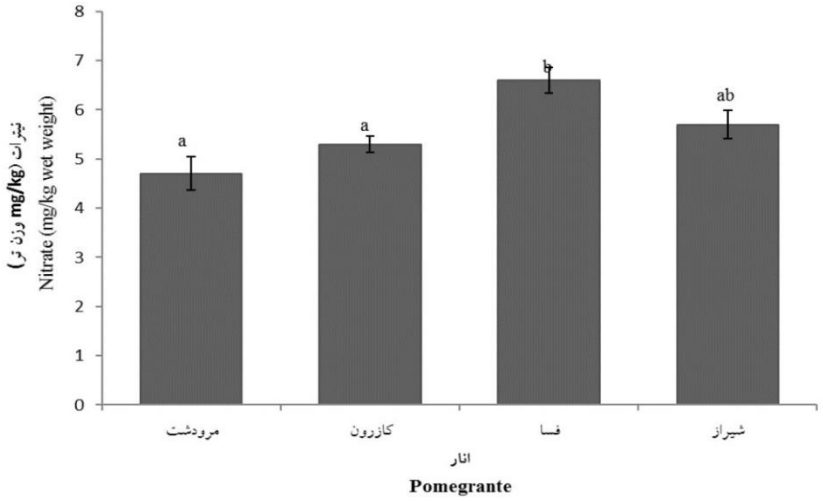
شکل ۲- مقایسه باقیمانده نیترات در گوجه‌فرنگی خام و فرآوری شده

Figure 2- Comparison of nitrate residue in raw and processed tomatoes.

از بین محصولات فرآوری شده، آب گوجه‌فرنگی پس از خود میوه دارای باقیمانده نیترات بیشتری است. نیترات در آب محلول است و بنابراین نیترات بیشتری وارد آب گوجه‌فرنگی شده است، در حالی که پالپ و رب گوجه‌فرنگی دارای درصد نیترات پایین‌تری می‌باشند. اوزدستان و اورن (۲۰۱۱) در پژوهش خود عنوان کردند که میزان حرارت‌دهی، مدت زمان حرارت و مقدار آب در زمان حرارت دادن همگی بر میزان نیترات تاثیر می‌گذارد (۲۵). چه بسا مشاهده شده است که نیترات می‌تواند در زمان حرارت‌دهی به ترکیبات اکسید نیتریت، آمونیوم و نیتریک اسید تبدیل شود (۲۳).

میرمحمد مکی و زیارتی (۲۰۱۵)، پس از اندازه‌گیری نیترات در گوجه‌فرنگی‌های مناطق مختلف تهران دریافتند که مقدار نیترات در گوجه‌فرنگی در حد مجاز می‌باشند و در محصولاتی همچون آب گوجه‌فرنگی پایین‌تر بوده که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد (٦). سیمیون و همکاران (۲۰۰۸)، مشاهده کردند که مقدار نیترات در محصولات فرآوری شده رب گوجه‌فرنگی و آب گوجه‌فرنگی پایین‌تر از میوه گوجه‌فرنگی خام است (۷). در حالی که زامیریک (۲۰۱۳) میزان نیترات موجود در رب گوجه‌فرنگی را بالاتر از گوجه‌فرنگی خام گزارش کرد (۹). صادقی و همکاران (۲۰۱٤) نشان دادند که خشک کردن در برخی سبزیجات می‌تواند باعث افزایش نیترات شود در حالی که ازیگو و فافونسو (۱۹۹۵) عنوان کردند که فرآیند خشک کردن، سطح نیترات نمونه‌های مورد آزمایش را کاهش می‌دهد که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد (۱۷ و ۲٦). تفاوت در دما و زمان حرارت‌دهی و اختلاف رطوبت در فرآیندها می‌تواند علت اختلاف در میزان باقیمانده نیترات باشد (۲۵).

بررسی و مقایسه میزان نیترات در نمونه خام انار مناطق مختلف استان فارس: نمودار ۳ نتایج به دست آمده از آزمایشات انجام شده در جهت اندازه‌گیری میزان نیترات موجود در نمونه‌های خام انار باغات استان فارس را نشان می‌دهد. کمترین میزان باقی‌مانده نیترات مربوط به انار باغ‌های مرودشت و کازرون با میزان باقیمانده نیترات ٤/۹ و ۵/۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر است. همچنین بیشترین درصد باقی‌مانده نیترات مربوط به انار باغات فسا و شیراز با ٦/۱ و ۵/۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر است.



شکل ۳- مقایسه باقیمانده نیترات انار مزارع مناطق مختلف استان فارس

Figure 3- comparison of nitrate residue of pomegranates in different farm regions of Fars province.

میزان غلظت نیترات در انارهای بررسی شده در استان فارس همگی در محدوده استاندارد توصیه شده توسط سازمان جهانی بهداشت (WHO[1]) بودند و هیچگونه خطری برای مصرف کنندگان و سلامتی آنها ندارد. علت این امر علاوه بر استفاده مناسب از کودهای نیتروژن‌دار و مدیریت مناسب مزارع و باغات، به شرایط اقتصادی و قیمت این کودها در سالهای اخیر می توان اشاره کرد (۲۷).

نیتروژن بیش از حد در خاک گیاه موجب رشد بیش از حد رویشی و در نتیجه کاهش میوه دهی و تآخیر در بلوغ میوه می‌گردد. همچنین کود نیتروژن رشد رویشی درخت را تحریک می‌کند و در صورت مصرف زیاد از حد آن منجر به ایجاد بافت‌های نرم در درخت شده و بر فرآیند تولید محصول اثر معکوس می‌گذارد (۲۸). مقدار نیترات اندازه‌گیری شده در باغات انار منطقه‌ای از فلسطین ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم گزارش شده است که این میزان غلظت از نیترات نشان دهنده حجم مصرف بالای کود اوره (٤٦ درصد) در زمین های کشاورزی و باغی این منطقه می‌باشد (۲۹).

جدول ۲ نشان می‌دهد که نیترات هیچگونه همبستگی با میزان رطوبت و pH در انار خام ندارد. در حالی‌که نیترات با حجم دارای همبستگی معنی‌دار مثبت (احتمال ۰/۰۱ درصد) می‌باشد، که می‌توان نتیجه گرفت، هر چقدر میوه انار حجم بیشتری داشته باشد، میزان غلظت باقیمانده نیترات بیشتری نیز خواهد داشت.

مصرف بیش از حد کود موجب افزایش تنش گیاه می‌شود، به‌طور مثال نیتروژن یا نیترات بیش از حد در خاک موجب رشد سریع و افزایش نیاز آبی گیاهان می‌گردد. این مسأله در مصرف نامتعادل عناصر غذایی نیز مطرح می‌باشد. گیاهان زمانی مواد غذایی را جذب می‌نمایند که در رشد فعال خود باشند. بطوری‌که در دوره خشکی و تنش گرما می‌بایست مقدار کودهای شیمیایی را کاهش داد (۱۰). ال-نهال (۲۰۱۸) همبستگی بین وزن میوه و نیترات در انار مشاهده کرد. کود اوره به گونه‌ای معنی‌دار بر روی صفات انار از جمله عملکرد میوه، تعداد میوه و وزن میوه تأثیر می‌گذارد (۸).

1. World Health Organization

جدول ۲- مقایسه همبستگی بین نیترات و صفات انار خام

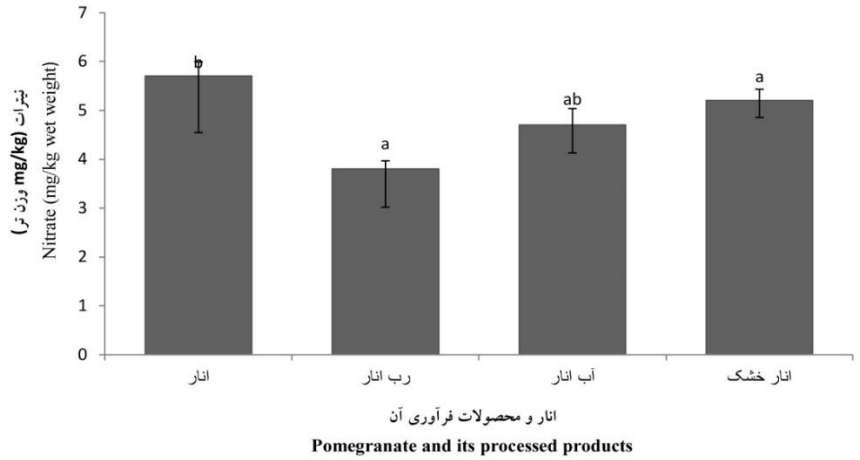
Table 2- Comparison of correlation between nitrate and traits of raw pomegranate.

صفت	رطوبت	pH	حجم
نیترات	۰/۰۸۹	-۰/۰۷۶	-۰/٦٨٤**

** معنی‌دار بودن در سطح احتمال ۰/۰۱ می‌باشد.

بررسی و مقایسه نیترات در نمونه خام انار و نمونه‌های فرآوری شده آن: محصولات انار نیز پس از فرآوری شامل رب انار، آب انار و دانه انارخشک شده (ناردانه) بودند. نتایج موجود در شکل ٤ بیانگر میزان اختلاف غلظت نیترات بین نمونه خام و نمونه‌های فرآوری شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود میانگین غلظت نیترات در محصولات فرآوری شده پس از پروسه‌های پختن نسبت به نمونه خام اولیه کاهش یافته است. روند تغییرات و مقایسه نیترات در فرآورده‌های انار تا حدودی مشابه تغییرات مشاهده شده در فرآورده‌های گوجهفرنگی می‌باشد. انار خشک حاوی پالپ و آب تغلیظ شده است و هیچگونه فرآیند حرارتی ندیده است به همین دلیل با انار خام از لحاظ نیترات تفاوت آماری ندارد. باقیمانده نیترات در آب انار (٤/۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر) و انار خام (۵/۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر) از لحاظ آماری با هم اختلاف معنادار ندارند. غلظت نیترات اندازه‌گیری شده در محصول رب انار ۳/۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر است که دارای تفاوت معنی‌داری با میزان نیترات در انار خام می‌باشد که این موضوع نشان دهنده میزان تأثیر حرارت بر روی نیترات باقیمانده در رب انار طی مدت زمان پخت و تغلیظ محصول می‌باشد. مقدار نیترات در آب انار تفاوت معنی‌داری با انار خام ندارد که علت آن محلول بودن نیترات در آب می‌باشد.

در پژوهشی، میزان نیترات در آب انار ۲٦/۱۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر اندازه‌گیری شد (۳۰). آب انار به‌دلیل داشتن ترکیبات پلی فنل بالا می‌تواند اثر محافظتی در برابر اکسایش نیترات در بدن داشته باشد. پلی‌فنل‌ها آنتی‌اکسیدان‌های بسیار قوی هستند که با رادیکال‌های آزاد واکنش می‌دهند و می‌توانند از تبدیل نیترات به اکسید نیتریک جلوگیری کنند. این امر از تشکیل ترکیبات سرطان‌زا در بدن جلوگیری می‌کند (۳۱).



شکل٤ - مقایسه باقیمانده نیترات در انار خام و فرآوری شده

Figure 4- Comparison of nitrate residue in raw and processed pomegranate products

نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که مقدار نیترات در محصولاتی مانند گوجه‌فرنگی و انار در مناطق استان فارس که میوه گیاه محسوب می‌شوند کم و در حد مجاز می‌باشد. مدیریت صحیح مزارع، گلخانه‌ها و باغات می‌تواند در کاهش تجمع نیترات در محصولات کشارزی نقش داشته باشد. در تمام نمونه‌های فرآوری شده، کاهش غلظت نیترات نسبت به نمونه‌های خام دیده شد. پس از فرآوری و آبگیری نمونه، به دلیل محلول بودن نیترات در آب، میزان باقیمانده نیترات در آب محصول بیشتر از پالپ آن بود. طی فرآوری نمونه و پروسه پخت، نیترات موجود در محصول فرآوری شده بر اثر حرارت تجزیه شده بر میزان نیترات باقیمانده در محصول فرآوری شده تأثیر گذاشت.

سپاسگزاری

در پایان از مدیریت محترم آزمایشگاه تخصصی آروین کاوش اکسیر نوین، با مدیریت آقای دکتر امامی که مسئولیت آزمایشات دقیق HPLC تمام نمونه‌های خام و فرآوری شده این پژوهش را به عهده گرفتند، کمال تقدیر و تشکر را داریم.

References

1. Malakouti, M.J., and Baba Akbar, M. 2004. The need to increase the efficiency of nitrogen fertilizers in the country, the first part of definitions and practical examples. Publication No. 425. Soil and Water Research Institute, Sana publications, Tehran, Iran. (In Persian).
2. Laue, W., Thiemann, M., Scheibler, E., and Wiegand, K.W. 2006. Nitrates and Nitrites. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry. Wiley-VCH. Weinheim, Germany.
3. Mosier, A., Syers, J.K., and Freney, J.R. 2013. Agriculture and the nitrogen cycle: assessing the impacts of fertilizer use on food production and the environment. Island Press. Washington DC, USA.
4. Lorenz, O.A. 1978. Potential nitrate levels in edible plant parts. In: D.R .Nielsen and J.G. MacDonald (eds), Nitrogen in environment. 2nd ed. Academic Press. New York. p. 210-20.
5. Malakouti, M.J. 2010. The relationship between optimal fertilizer consumption and production of healthy agricultural products. J Crop Ecophys. 4:16.133-150 (In Persian)
6. MirMohammad-Makki, F., and Ziarati, P. 2015. Nitrate and nitrite in fresh tomato and tomato derived products Biomed pharmacol.8:1. 115-22.
7. Simion, V., Campeanu, G.H., Vasile, G., Artimon, M., Catana, L., and Negoita. M. 2008. Nitrate and nitrite accumulation in tomatoes and derived products. Roum. Biotech. Lett. 13:4. 3785-90.
8. El-Nahhal, Y. 2018. Nitrate residues in fruits, vegetables and bread samples and their health consequences. Health.10:4. 487-501.
9. Zamrik, M.A. 2013. Determination of nitrate and nitrite contents in tomato and processed tomato products in Syrian market. Int .J. Pharm Sci. Rev Res. 19:1. 1-5.
10. Brickell, C. and Joyce, D. 1996. Royal Horticultural Society: Pruning & training. Dorling & Kindersley. London, UK.
11. AOAC. 1990. Moisture in dried fruits. Official method 934.06.
12. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. 2007. Canned Tomato Paste Features and Test Methods. ISIRI no 761. Karaj: ISIRI. (In Persian).
13. Institute of Standards and Industrial Research of Iran.1988. Fruits and Vegetables- pH measurement in products butter (margarine)-specifications. ISIRI no 4404. Karaj: ISIRI. (In Persian)
14. Rahmani, H.R. 2006. Investigation of nitrate status in soil, water and plant of Isfahan vegetable lands Environ. Sci. 11: 1. 23-34. (In Persian)

15. Pourmoghim, M., Khosh Tinat, Kh, Sadegh Maki, A., Kamili Fotud, R, Golestan, B., Pir Ali, M. 2010. Determination of nitrate content in lettuce, tomatoes and potatoes supplied in Tehran's Tareh Bar Square by HPLC method. Iranian J. Nutr. Sci. Food Tech. 5: 1. 63-70. (In Persian)
16. Pirsaheb, M., Rahimiyan, S., Pasdar, Y. 2012. The amount of nitrate and nitrite in vegetables and summer vegetables consumed in Kermanshah. J. of Kermanshah University of Medical Sciences 16: 1. 76-83. (In Persian)
17. Sadeghi, A., Almasi, A., Dehem, M., Azizi, A., and Ghayebzadeh, M. 2014. Investigation of the effect of vegetable drying and frying processes on nitrite and nitrate levels. IJHE. 7: 4. 491-498. (In Persian).
18. Asadi, S., and Fazeli, F. 2020. Nitrate contents of some highly consumed products on sale in wholesale fruit and vegetable markets in spring and winter in district 4, Tehran, Iran. Journal of school of public health and institute of public health research. 18:1. 111-120. (In Persian)
19. FAO/WHO. 2013. Nitrate (and potential endogenous formation of N-nitroso compounds) In: WHO Food Additive series World Health Organization, 50.
20. Santamaria, P. 2006. Nitrate in vegetables: toxicity, content, intake and EC regulation. J. Sci. Food Agri. 86:1. 10–17.
21. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. 2013. Maximum nitrate residue limit in agricultural products. ISIRI no 16596. Karaj: ISIRI. (In Persian)
22. Haft Baradar, S.H., Malakoti, M.J., and Koshghoftarmanesh, A. 2018. Nitrate risk assessment in edible organs of some agricultural products of Isfahan province. Appl. Soil Res. 6:1. 1-12. (In Persian)
23. Keshavarz, M., Mazloomi, S.M., Babajafari, S. 2015.The effect of home cooking method and refrigeration processes on the level of nitrate and nitrite in spinach. JHSSS. 3:3.88-93.
24. Ghorbani Dehkordi, A., Mashayek, K., and Kamkar, B. 2015. Effect of foliar application of sucrose on nitrate and salicylic acid on yield and yield components of Super tomato plant. Res Crop Ecosyst. 2: 1.43-52 (in Persian).
25. Özdestan, Ö., and Üren, A. 2011. Effects boiling parameters on the levels of nitrate, nitrite and color values of wild Radish (*Raphanus raphanistrum*). GIDA. 36: 193-200.
26. Ezeagu, I.E. and Fafunso, M.A. 1995. Effect of wilting and processing on the nitrate and nitrite contents of some Nigerian leaf vegetables. Nut. and Health.10:3. 269-75.
27. Shahbazzadeghan, S., Hashemi Majd, K.V., and Shabazi, B. 2010. Measurement of nitrate concentration in vegetables and fruits supplied in Ardabil. J. of Ardabil University of Medical Sciences. 10: 1. 38-47. (In Persian)
28. Tadayon, M.S. 2004. Pomegranate nutrition technical instructions. Fars Province Agricultural and Natural Resources Research and Training Center. Soil and Water Research Institute. 2: 1-57.
29. Hosseini, M., Zamani, Z., Savaghi, G.H.R., and Tabatabai, Z. 2014. Effect of urea and manure on leaf nutrient concentration, yield and quality of pomegranate fruit. JOPPR. 20: 2.1-18. (In Persian)
30. Hord, N.G., Tang, Y., and Bryan, N.S. 2009. Food sources of nitrates and nitrites: the physiologic context for potential health benefits. Am. J. Clin, Nut. 90:1. 1-10.
31. Roelofs, E.J., Smith-Ryan, A.E., Trexler, E.T., Hirsch, K.R., and Mock, M.G. 2017. Effects of pomegranate extract on blood flow and vessel diameter after high-intensity exercise in young, healthy adults. Eur. J. Sport Sci. 17: 3. 317-325.