

## چکیده

در این مطالعه، اثر تزریق داخل تخم‌مرغی سطوح مختلف ۰، ۰/۰۴۲، ۰/۰۸۴ و ۰/۱۶۸ میلی‌گرم نیتريت سدیم به ازای هر تخم‌مرغ بر رشد و توسعه جنین و بعضی از فراسنجه‌های خونی جوجه‌های تفریخ شده بررسی شد. تزریق نیتريت سدیم تأثیری بر کیفیت جوجه یکروزه، درصد جوجه‌درآوری و مرگ و میر و همچنین وزن اندام‌های قلب و کبد نداشت ( $P > 0/05$ ). اما وزن جوجه‌های حاصل از تخم‌مرغ‌های تزریق شده با نیتريت سدیم پایین‌تر از وزن جوجه‌های حاصل از تخم‌مرغ‌های شاهد بود ( $P < 0/05$ ). همچنین پروتئین تام خون جوجه‌های تفریخ شده از تخم‌مرغ‌های تزریق شده با نیتريت سدیم کمتر از مقدار مربوط به جوجه‌های شاهد بود ( $P < 0/05$ ). تفاوت معنی‌داری بین جوجه‌های تیمارهای مختلف برای کلسترول، تری‌گلیسرید، هماتوکریت و هموگلوبین خون مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ). همچنین فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت ( $P > 0/05$ ). میزان مالون دی‌آلدئید خون جوجه‌های تزریق شده با ۰/۰۸۴ میلی‌گرم نیتريت سدیم بیشتر از گروه شاهد و جوجه‌های حاصل از تخم‌مرغ‌های تزریق شده با ۰/۰۴۲ میلی‌گرم نیتريت سدیم بود ( $P < 0/05$ ). همچنین ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی خون جوجه‌های تزریق شده با ۰/۰۴۲ و ۰/۱۶۸ میلی‌گرم نیتريت سدیم در مقایسه با جوجه‌های گروه شاهد پایین‌تر بود ( $P < 0/05$ ). به طور کلی تزریق داخل تخم‌مرغی نیتريت سدیم تأثیری بر کیفیت جوجه، جوجه‌درآوری، مرگ و میر و کلسترول کل، تری‌گلیسرید، هماتوکریت و هموگلوبین و فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز خون جوجه‌های تفریخ شده نداشت ولی وضعیت ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و پروتئین خون این جوجه‌ها را کاهش می‌دهد و در نتیجه منجر به افزایش مالون دی‌آلدئید خون می‌گردد که در نهایت کاهش وزن بدن جوجه‌های تفریخ شده را باعث می‌شود.

**کلمات کلیدی:** تزریق داخل تخم‌مرغی، جوجه‌درآوری، کیفیت جوجه یکروزه، متابولیت‌های خون، نیتريت

سدیم، وزن بدن

# فصل اول

## مقدمه

افزایش جمعیت جهان و نیاز به غذای بیشتر، نبود زمین حاصلخیز کافی و محدود بودن سطح زیر کشت، نظر متخصصان را به سمت افزایش کمی و کیفی محصولات کشاورزی سوق داده است. یکی از راهکارهای افزایش محصولات کشاورزی استفاده از کودهای شیمیایی بخصوص کودهای نیتراژ است. افزایش استفاده از این کودها باعث افزایش غلظت یون نیترات در خاک و سپس شسته شدن آنها به سمت آبهای زیرزمینی شده و در نتیجه منجر به افزایش نیترات آب می‌گردد. یون نیترات از آلاینده‌های منابع آبهای زیرزمینی است که علاوه بر چرخه طبیعی ازت از طریق ورود فاضلاب انسانی، مواد زاید شهری و صنعتی و فعالیت‌های کشاورزی وارد منابع آب و خاک شده و اثرات نامطلوبی بر سلامتی مصرف‌کنندگان بر جا می‌گذارد. نیترات یونی پایدار و محلول در آب است که به طور طبیعی به صورت یون ( $\text{NO}_3$ ) در قسمتی از چرخه ازت ساخته می‌شود. نیترات به‌خودی‌خود مضر نیست ولی پس از تبدیل شدن به نیتريت سمی خواهد بود. نیتريت بعد از ورود به جریان خون با آهن دو ظرفیتی هموگلوبین واکنش داده و آن را به یون آهن سه ظرفیتی تبدیل می‌کند و به این ترتیب مت هموگلوبین تولید می‌شود که قابلیت حمل اکسیژن ندارد و به این حالت مت هموگلوبینیا<sup>۱</sup> گفته می‌شود (Fan et al., 1987).

مت هموگلوبینیا باعث کمبود اکسیژن می‌گردد. علاوه مشکلات و بیماری‌هایی مانند سرطان، افزایش فشار خون، افزایش مرگ و میر جنین، نقص سیستم عصبی مرکزی، دیابت، سقط‌های خودبخودی، عفونت دستگاه تنفسی و کاهش قدرت سیستم ایمنی را نیز به دنبال دارد (Gupta et al., 2000).

در سال ۱۹۶۲ انجمن بهداشت عمومی آمریکا حد مجاز نیترات و نیتريت را برای مصارف انسانی در آب آشامیدنی به ترتیب ۵۰ و ۳ میلی‌گرم در لیتر توصیه نمود (WHO, 1996; EPA, 1977). تحت شرایط نرمال کمتر از ۲ درصد کل هموگلوبین به صورت مت هموگلوبین وجود دارد. علائم مت هموگلوبینیا در غلظت‌های بیشتر از ۱۰ درصد شامل یرقان در اعضای بدن، نقص سیستم عصبی مرکزی، سر درد، بیحالی، تشنج، کما و شوک است که نهایتاً منجر به مرگ می‌شود (Kross, 1992). رنگ پوست مایل به آبی یا قهوه‌ای از مشخصه دیگر مت هموگلوبینیا است (Brunning, 1993).

اولین مورد مت هموگلوبینیا در کودکان در ایالات متحده توسط Comly (۱۹۴۵) گزارش شد و وی نتیجه گرفت این بیماری در کودکان بعد از مصرف آب آشامیدنی حاوی نیترات بالا رخ داده است و اختلالات معده ای-روده ای را هم در کودکان باعث گردید. کودکان زیر ۷ سال و نوزادان زیر ۶ ماه به این بیماری بیشتر مستعدند زیرا PH بالای معده آنها تبدیل نیترات را به نیتريت افزایش می‌دهد (L'hirondel, 2002). همچنین نسبت هموگلوبین جنینی بالاتر است و غلظت آنزیم NADH-سیتوکروم b<sub>5</sub> ردوکتاز (مت هموگلوبین را به هموگلوبین تبدیل می‌کند) کمتر است (Ayebo, 1997). امروزه اثبات شده است که حتی بیماری اسهال و اختلالات دستگاه گوارش با مت هموگلوبینیا در ارتباط است (Gebara et al., 1994).

<sup>1</sup> Methemoglobinemia

نیتريت در خون دستخوش تغيير می‌شود و در واکنش اکسیداسيون با اکسی‌هموگلوبين، مت هموگلوبين توليد می‌کند. بر عکس هموگلوبين، مت هموگلوبين قادر به انتقال اکسیژن نیست و بنابراین افزایش توليد مت هموگلوبين در جریان خون توانایی خون برای انتقال اکسیژن را کاهش می‌دهد. نیتريت می‌تواند از طریق جفت وارد گردش خون جنين شود (Kosiba and Sleight, 1970) و منجر به مشکلاتی در جنين گردد. اطلاعات کافی در مورد اثرات منفي نیتريت بر رشد و توسعه جنين انسان در دسترس نیست، اما اثرات منفي آن بر بعضی از حیوانات گزارش شده است.

نیتريت و نیتريت باعث ایجاد ناهنجاریهای سیستم عصبی مرکزی از جمله نقص مجرای عصبی در چندین حیوان می‌شود (DiPaolo, 1996). Arbuckle و همکاران (۱۹۸۸) گزارش کردند که ناهنجاری سیستم عصبی مرکزی هنگام مصرف سطح بالای نیتريت در آبهای زیرزمینی مضعف خواهد شد. Klotz and Pyrch (۱۹۹۸) دریافتند که هیچ ارتباطی بین نقص لوله عصبی و غلظت نیتريت در آب لوله کشی شده منازل وجود ندارد. بر اساس چند مطالعه تجربی، ارتباطی بین ترکیبات نیترته و نقایص موجود در سیستم عصبی مرکزی وجود دارد که باعث آنسفال می‌شود و این موضوع در حیوانات آزمایشگاهی ثابت شده است (Fan, 1987).

اثرات سوء تولیدمثلی از قبیل نقص‌های زمان تولد، محدودیت رشد داخلی رحم و سقط‌های خودبخودی در حیوانات دزهای بالای نیتريت یا نیتريت گزارش شده است (Tabacova et al., 1993). اگرچه اثرات منفي نیتريت در بعضی از حیوانات گزارش شده است ولی تاکنون هیچ تحقیقی در رابطه با اثرات احتمالی رو به افزایش نیتريت محصولات کشاورزی و آب آشامیدنی و نیتريت تولیدی حاصل از آن بر رشد جنين انسان و حتی جنين مرغ وجود ندارد.

بنابراین هدف از این آزمایش بررسی این اثرات احتمالی سطوح مختلف تزریق نیتريت سدیم (۰/۰۴۲، ۰/۰۸۴ و ۰/۱۶۸ میلی‌گرم به ازای تخم‌مرغ در روز ۷ انکوباسيون) بر رشد و توسعه جنين، کیفیت جوجه یکروزه، جوجه درآوری، وزن جوجه و برخی از فراسنجه‌های خونی از قبیل کلسترول، تری‌گلیسرید، پروتئين کل، هماتوکريت، هموگلوبين، میزان مالون دی‌آلدئید، ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی و فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز با استفاده از تخم‌مرغ‌های بارور به عنوان یک مدل انسانی بود. جنين جوجه در مقایسه با جوجه تفریخ شده به سطوح پایین ترکیبات سمی خیلی حساس است.

جنين جوجه به طور موفقیت‌آمیزی به عنوان یک روش تشخیصی برای ارزیابی سلامت افزودنیهای خوراکی، داروها، حشره‌کش‌ها، علف‌کش‌ها، قارچ‌کش‌ها و حتی بیماری‌زایی و ویروس‌ها استفاده شده است. این روش با آزمایش‌های تغذیه‌ای متفاوت است زیرا ماده شیمیایی تماس مستقیمی با جنين در طول رشد و توسعه خواهد داشت و اثرات سمی آن به راحتی قابل مشاهده خواهد بود (Daneshyar et al., 2010).

# فصل دوم

## بررسی منابع

## ۲-۱- نیترات در آب آشامیدنی و تأثیر آن بر سلامت انسان

نیترات ترکیبی از نیتروژن (N) و اکسیژن (O) است. نیتروژن برای سنتز پروتئین‌های ضروری و رشد گیاهان استفاده می‌شود. گیاهان این ماده را با جذب مستقیم از زمین و به شکل نیترات یا در ترکیب با سایر مواد به دست می‌آورند. نیترات توسط عمل اکسیداسیون فیزیکی تولید می‌شود و از این رو در محیط موجود می‌باشد (Ridder and Oehme, 1974). بیشترین نیترات اضافی محیط از کودهای شیمیایی غیرآلی مورد استفاده در کشاورزی منشأ می‌گیرد (Stokinger, 1982). نیترات مورد استفاده در کشاورزی به عنوان کود، سبب افزایش این ماده در خاک و آبهای جاری می‌شود. از طریق آبهای جاری و غذاها، نیترات به بدن انسان وارد می‌شود. این ماده به طور کلی بی‌ضرر است اما افزایش سطح آن در مواد غذایی و آب آشامیدنی موجب تبدیل آن به ترکیبات دیگری چون نیتريت و نیتروزآمین می‌شود که برای سلامت بدن خطرناک هستند. نیترات در غذاها، سبزیجات و گوشت‌های کنسرو شده یافت می‌شود (Tosun et al., 2004; Tamme et al., 2006).

### ۲-۱-۱- خصوصیات نیترات:

نیترات بدون رنگ، بو و طعم بوده و در آبهای آشامیدنی بدون آزمایش قابل تشخیص نمی‌باشد. لذا پیشنهاد می‌گردد، آب مصرفی گروه سنی کودکان، زنان باردار، مادران شیرده و سالمندان آزمایش و نیترات آن محاسبه گردد. این گروه‌های سنی بیشتر در معرض خطر آلودگی آب‌های آشامیدنی به نیترات و نیتريت هستند. نیترات بطور طبیعی در حد غلظت کمتر از حد مجاز، در آبهای آشامیدنی و آبهای زیرزمینی وجود دارد.

## ۲-۱-۲- منابع نیترا ت در آبهای آشامیدنی:

نیتروژن بعنوان یک ماده مغذی (کود) به مقدار زیاد در چمنزار و باغات و محصولات کشاورزی کاربرد دارد علاوه بر کود، نیتروژن در خاک به فرم آلی از تجزیه گیاهان و حیوانات نیز بوجود می‌آید. فرم‌های مختلف نیتروژن در خاک توسط باکتریها به یون نیترا ت ( $\text{NO}_3$ ) تبدیل می‌شود. نیترا ت به راحتی با عبور آب از لایه های خاک به زمین نفوذ پیدا کرده و در اثر بارش یا آبیاری‌های شدید به ریشه‌ی گیاهان و نهایتاً به آبهای زیر زمینی می‌رسد. نیترا ت در آبهای زیرزمینی و یا منابع دیگری مانند مصرف کود کشاورزی در پارک ها، چمنزارها و باغات نشأت می‌گیرد و یا بطور طبیعی اتفاق می‌افتد (Knobeloch et al., 2000,2001).

نزدیک بودن بخش خوراک حیوانات به منابع آبهای زیرزمینی باعث انتقال آلودگی آب‌های زیرزمینی به محل خوراک حیوانات می‌گردد (Laitinen et al., 1993). آلودگی نیترا تی آب در آبهای سطحی و زیرزمینی مناطق متعدد مشکلاتی ایجاد می‌کند، اکثر منابع نیترا تی در محیط در اثر استفاده بیش از حد یا غلظت نامناسب کودهای نیتروژنه در کشاورزی می‌باشد (Stoate et al., 2001 ; Wright and Welbourn, 2002).

## ۲-۲- ارتباط نیترا ت و کودهای نیتروژنی

مصرف بهینه کود یکی از راهکارهای تولید محصولات سالم و عاری از آلاینده‌های مهمی نظیر نیترا ت است. یعنی مصرف کود در کشور باید بهینه و مطابق با برداشت گیاه باشد تا امکان تولید محصولات کشاورزی سالم به آسانی فراهم گردد. بی‌گمان یکی از اصول اولیه تولید پایدار، ارتقای کیفی خاک از بعد حاصلخیزی و برگرداندن مجدد عناصر غذایی جذب شده توسط گیاهان به خاک می‌باشد که متأسفانه در برنامه کودی کشور نادیده گرفته شده است (بایبوردی، ۱۳۸۵). در حال حاضر بیش از ۸۶ درصد از کودهای مصرفی کشور را کودهای نیتروژنی و فسفاتی تشکیل می‌دهد. نتایج تحقیقات نشان داده است که با مصرف نا متعادل کودها به ویژه زیاده‌روی در مصرف کودهای نیتروژنی و فسفاتی در انواع سبزی و صیفی، علاوه بر افزایش تجمع نیترا ت در آنها، از غلظت ویتامین C تا حد ۲۶ درصد کاسته می‌شود. لیکن، با رعایت اصول مصرف بهینه کود به ویژه مصرف سولفات پتاسیم و سولفات روی، علاوه بر بهبود کیفیت و خوش خوراکی، به غلظت ویتامین C تا حد ۲۰ درصد افزوده می‌گردد (Welch, 2003; Malakouti and Bybordi, 2006).

تحقیقات انجام شده نشان داده است که رابطه بسیار معنی داری بین خاک سالم، گیاه سالم و انسان سالم وجود دارد و منشأ اکثر کمبودها و بیماری‌های انسانی به سوء تغذیه (سونامی خاموش) ارتباط دارد. در حال حاضر، تغذیه نامتعادل گیاهی، منجر به سوء تغذیه در جامعه گردیده و از علایم آن می‌توان به ریزش مو، بداخلاقی، سرماخوردگی های مزم، کم حوصلگی، خستگی مفرط، پوکی استخوان، پوسیدگی دندان، کوتاهی قد، افسردگی، کم خونی، ایمنی پایین بدن و سرطان دستگاه گوارش اشاره نمود. با بهبود تغذیه

گیاه که عمدتاً با مصرف بهینه کودها به ویژه، کودهای ریزمغذی، زیستی و آلی در مزرعه تحقق می یابد، علاوه بر افزایش کمی و کیفی محصولات کشاورزی، کمبودها برطرف شده، وضعیت تغذیه ای مردم اصلاح و به دلیل افزایش ایمنی بدن، نیاز به انواع داروها در کشور به طور چشمگیری کاهش می یابد. با انجام این امر مهم که از طریق تغییر در سیستم یارانه ای کودها با هزینه ای بسیار اندک قابل تحقق می باشد، علاوه بر صرفه جویی ارزی، اشتغال وسیعی در کشور از طریق راه اندازی مجدد کارخانه های تعطیل شده تولید کودهای زیستی، آلی، شیمیایی و ریزمغذی، ایجاد می گردد (ملکوتی و همکاران، ۱۳۸۷).

## ۲-۲-۱- آلودگی های نیترات ناشی از مصرف بی رویه کودهای نیتروژنی

تجمع نیترات در سبزی ها غالباً در اندام های مصرفی (ریشه، غده، ساقه و برگ) صورت می گیرد، ولی برخلاف تصور اغلب محققین مشاهده شده است که نیترات در سبزیهای میوه ای نظیر گوجه فرنگی و خیار نیز یافت می شود (ملکوتی و همکاران، ۱۳۸۴). به دلیل انجام فعل و انفعالات فتوسنتزی در برگ ها و عدم حرکت نیترات از برگ به میوه، نبایستی مسأله تجمع نیترات در میوه مطرح باشد اما گزارش ها حاکی از وجود نیترات زیاد در سبزیها و میوه ها است که عمدتاً ناشی از مصرف بی رویه کودهای نیتروژنی می باشد. تجمع نیترات با میزان فتوسنتز رابطه معکوس دارد. هر عاملی که میزان فتوسنتز در گیاه را کاهش دهد، سبب افزایش غلظت نیترات در گیاه خواهد شد. با توجه به این که فرایند آمین سازی (تبدیل نیترات به عامل آمینی برای سنتز پروتئین) در گیاه، انرژی خواه است و به ATP احتیاج دارد، بنابراین هر عاملی نظیر تنش های محیطی که باعث تضعیف گیاه شود، به تجمع نیترات کمک می کند (ملکوتی، ۱۳۸۱؛ ملکوتی و همکاران، ۱۳۸۳).

## ۲-۲-۲- اثرات سوء نیترات در محصولات کشاورزی

با مصرف بیش از نیاز کودهای نیتروژنی، شیوع بیماری ها و آفات در مزارع، برهم خوردن رابطه بین عناصر غذایی و افت کیفیت محصولات زراعی و باغی مطرح می باشد. در آزمایش هایی که بر روی گوجه فرنگی انجام شده، مشخص گردیده است که بین مقدار نیترات در میوه گوجه فرنگی با میزان کودهای نیتروژنی مصرف شده رابطه مستقیم وجود دارد. مهم ترین عامل محیطی مؤثر در تجمع نیترات در گیاه، مقدار نیترات موجود در اطراف ریشه و خود گیاه است. کاربرد بیش از حد کودهای نیتراتی، به ویژه در یک نوبت باعث افزایش میزان نیترات قابل جذب شده و در نهایت باعث تجمع نیترات در بافت های گیاه می شود. به طور کلی، میزان نیترات بافت های گیاهانی که تحت تنش های محیطی دچار توقف رشد شده اند، نسبت به گیاهانی که در شرایط مساعد رشد کرده اند بیشتر است. تنش خشکی، دمای بالا، یخبندان، شدت نور کم و کلیه عواملی که محدود کننده فتوسنتز و رشد در گیاه هستند، در افزایش میزان نیترات موجود در گیاه مؤثر



هستند. طبق گزارش مشترک سازمان های WHO و خواربار و کشاورزی FAO (۱۹۹۵)، حد قابل قبول مصرف روزانه  $\text{NO}_3$  تا ۳/۷ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن می باشد. با مصرف روزانه ۳۷۰ میلی گرم نیتрат در روز، در درازمدت اثر سویی بر سلامت مصرف کنندگان نداشته است. در سال ۱۹۹۷ کمیسیون اروپا حداکثر مقادیر مجاز آلاینده ها را در محصولات کشاورزی مشخص نمود. این کمیسیون در گزارش خود حد مجاز نیترات برای اسفناج و کاهو را ۳۰۰۰ تا ۴۰۰۰ میلی گرم در کیلوگرم بر مبنای وزن تازه اعلام نمود. بدیهی است این مقدار نیترات در جوامعی نظیر جامعه ایرانی که مصرف روزانه سبزی در آنها بسیار بالاتر است، خطرناک و مسأله ساز می باشد (Malakouti et al., 2009).

### ۲-۲-۳- میزان تجمع نیترات در محصولات کشاورزی

تجمع نیترات در گیاهان یک پدیده طبیعی بوده و هنگامی رخ می دهد که میزان تجمع نیترات در گیاه بیشتر از میزان لازم آن بر اثر جذب باشد. ظرفیت تجمع نیترات به وسیله توان توارثی گیاه تنظیم گردیده و توسط عوامل محیطی، مدیریت، کوددهی و عملیات زراعی تغییر می کند. اگر نیترات به مقدار زیاد به وسیله گیاه جذب شود، احیای آن به علت مصرف انرژی و مواد قندی زیاد، از رشد گیاه می کاهد. این یون از ریشه به طرف برگ ها فرستاده شده و در آنجا تجمع می یابد. اگر فردی ۲۵۰ گرم گوجه فرنگی در روز مصرف نماید، و غلظت نیترات در گوجه فرنگی ۲۵۰ میلی گرم در کیلوگرم برحسب وزن تازه باشد، تحت چنین شرایطی روزانه ۶۲ میلی گرم نیترات تنها از این طریق وارد بدن این فرد می گردد، ولی اگر همین فرد به جای ۲۵۰ گرم گوجه فرنگی، همین مقدار کاهو و یا اسفناج محتوی ۳ هزار میلی گرم در کیلوگرم نیترات برحسب وزن تازه مصرف نماید، در چنین حالتی غلظت نیترات وارد شده به بدن این فرد، روزانه بیش از دو برابر حد مجاز خواهد بود، که مسأله ساز است (ملکوتی و همایی، ۱۳۸۳).

### ۲-۳- نیتريت و منبع آن

نیتريت نمکی است که برای نگهداری گوشت، ماهی و مرغ استفاده می شود و در بدن انسان نیز از طریق فرایندهای طبیعی و هضم غذاهای حاوی نیتريت و نیترات تولید می شود. نیتريت ها ترکیباتی هستند که برای جلوگیری از فساد و حفظ طعم موادغذائی در مدت نگهداری، جلوگیری از رشد و نمو میکروبی، تشدید رنگ مخصوص، پایداری و اصلاح ساختمان فیزیکی محصول استفاده می شوند. از لحاظ بالینی چندین نوع نیترات و نیتريت ارگانیک مورد استفاده قرار می گیرند اما تنها نیتريت درمانی، نیتريت سدیم می باشد (Heibashy and Abd El-Moneim, 1999). نیترات و نیتريت آلوده کننده های محیطی موجود در آب و غذا هستند که در ایجاد بیماری های کبد و کلیه و مشکلات مربوط به سیستم ایمنی در پرندگان اهلی دخالت

دارند (Ibrahim et al., 1999). ترکیبات نیتريتی بخصوص نیتريت سدیم افزودنی چند منظوره‌ای است که در گوشت‌های عمل‌آوری شده کاربرد دارد و علاوه بر خاصیت ضد میکروبی در مقادیر کم، برای ایجاد رنگ و عطر و طعم نیز استفاده می‌شود. در حقیقت ترکیبات نیتريتی و نیتراتی برای جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌ها، به خصوص کلستریدیوم بوتولینوم و ایجاد رنگی صورتی و طعم مناسب در گوشت‌های عمل‌آوری شده، استفاده می‌شوند (Heibashy and Abd El-Moneim, 1999).

این افزودنی‌های غذایی به عنوان فاکتورهای خطرناک برای سلامت انسان به طور مثال، مسمومیت کبدی و کلیوی، اختلالات غدد درون‌ریز، مت‌هموگلوبینمیا و تأخیر در رشد تشخیص داده می‌شوند (Hassan, 2007; Hassan et al., 2008, 2009). نیتريت به علت ویژگی اکسیداتیو آن، ۱۰ برابر بیشتر از نیترات سمی است. نیترات یا نیتريت در پرندگان علاوه بر مت‌هموگلوبین، تأخیر در رشد، تغییرات پاتولوژیکی در کبد، کلیه و روده کوچک، تغییراتی در خون و پلاسما، کاهش پاسخ ایمنی و مشکلات تولیدمثلی را هم باعث می‌شوند (Bruning-fann and Kaneene, 1993).

## ۲-۳-۱- اثرات سمی نیتريت

اولین اثرات سمی یون نیترات غیرآلی ( $\text{NO}_3^-$ ) تبدیل آن به نیتريت ( $\text{NO}_2^-$ ) توسط میکروارگانیسم‌های قسمت فوقانی دستگاه گوارش است (Johnson and Kross, 1990). این اثرات بصورت اکسیداسیون آهن هموگلوبین توسط نیتريت می‌باشد که به تشکیل مت‌هموگلوبین ختم می‌شود. نوزادان کمتر از ۶ ماه بیشترین جمعیت حساس به مت‌هموگلوبین هستند (Bouchard et al., 1992). مطالعات اپیدمیولوژیکی نشان می‌دهد که نوزادان زیر ۲ ماه در معرض آب آشامیدنی نیتراته بیش از ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر، به بیماری مت‌هموگلوبینمیا دچار شده‌اند زیرا میکروفلورای طبیعی روده در تولید مت‌هموگلوبین شرکت دارد و نوجوانان و جوانان نیز در غلظت‌های بالاتر متحمل این بیماری می‌شوند (U.S.EPA, 2006). در صورتی که هیچ موردی از مت‌هموگلوبینمیا توسط مصرف ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر آب آشامیدنی و کمتر از آن مشاهده نشده است (Shuval and Gruener, 1972).

مطالعات کمی هم در رابطه با اثرات نیترات در کودکان گزارش شده است که شامل افزایش بروز دیابت کودکان، اسهال و عفونت دستگاه تنفسی است. در بیماری مت‌هموگلوبینمیا (سندرم کودکان آبی) ابتدا رنگ آبی در لب و بینی و گوش در مراحل اولیه دیده می‌شود و سپس کاهش تولید اکسیژن بافتی منجر به کما و مرگ در کودکان می‌گردد. اثرات سطوح بالای نیترات و نیتريت باعث افزایش وقوع سرطان در افراد بالغ شده و ممکن است سبب وقوع افزایش تومورهای مغزی، تومورهای بینی و حلق و بیماری لوسمی گردد (Pogoda et al, 2001; Volkmer et al., 2005).

مطالعات دیگری در مورد اثرات سطوح بالای نیترات آب آشامیدنی در نوزادان گزارش شده است که شامل تأخیر در رشد جنین درون رحم، افزایش وقوع سندرم مرگ ناگهانی نوزادان، خطرات قلبی و افزایش نقص سیستم عصبی می‌باشد (Brender et al., 2004; Cedergren et al, 2002).

تأثیر دیگر مسمومیت نیترات غیرآلی بر سیستم قلبی عروقی می‌باشد. مصرف نیترات باعث اتساع عروق شده و به کمبود اکسیژن ناشی از مت‌هموگلوبینمیا منجر می‌شود (Ridder and Oehme, 1974).

مطالعات اپیدمیولوژیکی دیگری نیز در رابطه با ناهنجاری‌های ارثی سیستم عصبی مرکزی و سیستم ماهیچه ای اسکلتی در نوزادان متولد شده از مادران مصرف‌کننده آب آشامیدنی حاوی نیترات گزارش شده است (Dorsch et al, 1984).

مطالعات اپیدمیولوژیکی انسانی، ارتباط مثبتی بین غلظت نیترات آب و وقوع سرطان معده را در کشورهای از قبیل کلمبیا و دانمارک گزارش کرده است (Fraser et al., 1980).

اما مطالعات دیگری نیز در ایالات متحده و سایر کشورها هیچ ارتباطی بین سطوح نیترات و وقوع سرطان نشان نداده است (Croll and Hayes, 1988).

بررسی‌های جنین‌شناسی در دوره‌ی آبستنی، اثرات سوء نیترات و نیتريت را در نوزادان نشان داده است که شامل تأخیر در رشد مغز، کاهش وزن جنین، افزایش مرگ و میر جنین و تأخیر در فراگیری رفتارهای خاص می‌باشد (Inoue et al., 2004).

## ۲-۳-۲- تشکیل مت‌هموگلوبین

دلیل اصلی مسمومیت نیتريت، مت‌هموگلوبینمیا می‌باشد. فرآیندی که در آن هموگلوبین به مت‌هموگلوبین اکسیده می‌شود و آهن فرس  $Fe^{2+}$  به گروه هم آهن فریک  $Fe^{3+}$  اکسید می‌گردد که آهن فریک قابلیت حمل اکسیژن را به شش و بافت‌های مویرگی ندارد (Shuval and Gruener, 1977). میانگین سطح مت‌هموگلوبین نرمال در خون انسان حدود ۱ تا ۳ درصد می‌باشد (Fan and Steinberg, 1996). سرعت تشکیل مت‌هموگلوبین به گونه‌های حیوانات وابسته است، سرعت تشکیل آن در انسان بین نشخوارکنندگان و خوک است (Walker, 1996).

## ۲-۴- مسمومیت نیتراتی و نیتريتی

مسمومیت با نیترات و نیتريت اغلب مترادف هم در نظر گرفته می‌شود، ولی این موضوع عمدتاً در مورد نشخوارکنندگان صحیح است که نیترات در دستگاه گوارش آنها احیاء و به نیتريت تبدیل می‌شود. احیاء

نیترات به نیتريت در مواد غذایی و در خارج از بدن نیز ممکن است رخ دهد. به هر حال، مسمومیت با نیترات هرچند غیرمتداول است ولی در سگ و خوک متعاقب بلع مقدار زیادی نیترات شکل می‌گیرد و چهره در مانگاهی متفاوت با مسمومیت نیتريتی را باعث می‌شود (Angus et al., 1977).

در واقع نیترات برای نشخوارکنندگان نسبتاً غیرسمی است و بطور معمول در محیط شکمبه، نیترات گیاهان خورده شده به نیتريت و سپس به آمونیاک احیاء می‌گردد. آمونیاک تولید شده نیز به عنوان منبع نیتروژن توسط فلور میکروبی شکمبه برای سنتز پروتئین مورد استفاده قرار می‌گیرد. زمانی که سرعت تبدیل نیترات به نیتريت از میزان تبدیل نیتريت به آمونیاک فراتر رود، نیتريت اضافی در شکمبه تجمع یافته و به دنبال جذب از اپیتلیوم وارد جریان خون شده و مسمومیت شکل می‌گیرد (شمام و ساعدی، ۱۳۶۲؛ صیامی، ۱۳۶۸). متداولترین منبع مسمومیت با نیترات و نیتريت در دامها، گیاهانی هستند که سطوح سمی و بالای این ترکیبات را در خود جمع می‌کنند. بیش از هشتاد گونه گیاه حاوی نیترات در حد سمی شناخته شده‌اند.

با این حال تعداد کمی از این گیاهان (مانند تاج خروس، سورگوم، ذرت معمولی و غلات) به دنبال مصرف توسط دامها موجب مسمومیت می‌گردند. علاوه بر این، مصرف اتفاقی کودهای حاوی نیترات و نیز آشامیدن آب حوضچه‌ها و آب چاه‌های آلوده به مواد آلی آلوده نیز می‌تواند به مسمومیت دامها با نیتريت منجر گردد (مبین، ۱۳۶۴). آب حاوی مقدار کمتر از ۱۰۰ قسمت در میلیون نیترات برای دامها بی‌خطر اعلام شده است (کریمی، ۱۳۷۴).

## ۲-۴-۱- اپیدمیولوژی

تجمع نیترات در گیاهان با توجه به فیزیولوژی نیترات در آنها قابل توجه است. نیتروژن به شکل نیترات توسط ریشه گیاه از خاک جذب شده و از طریق یک سری واکنش‌های شیمیایی به آمونیاک تبدیل می‌شود. سپس آمونیاک برای تولید اسیدهای آمینه به کار گرفته می‌شود و اسیدهای آمینه نیز به نوبه خود برای ساخته شدن پروتئین گیاهی مورد استفاده قرار می‌گیرند. احیاء ابتدایی نیترات به نیتريت یک واکنش حساس و وابسته به سیستم آنزیمی ردوکتاز می‌باشد. زمانی که فعالیت این سیستم آنزیمی کاهش یابد، میزان تبدیل نیترات به نیتريت نیز کم می‌شود. میزان فعالیت سیستم آنزیمی ردوکتاز در گیاهان به مقدار زیادی تحت تأثیر ژنتیک آنها است. همچنین فعالیت این سیستم نیاز به نور خورشید دارد و به دنبال تابش نور خورشید به حداکثر خود می‌رسد. بنابراین، در طول شب و روزهای ابری متوالی، نیترات در گیاه انباشته می‌شود. همچنین در شرایط فقر غذایی خاک و خشکسالی، فعالیت سیستم آنزیمی ردوکتاز در بعضی از گیاهان بطور قابل ملاحظه‌ای کاهش می‌یابد. به هر حال در این شرایط جذب نیترات از خاک ادامه می‌یابد ولی میزان تبدیل آن به نیتريت کاهش یافته و این روند منجر به تجمع نیترات در گیاه می‌گردد (مجد و همکاران، ۱۳۷۸).

بیشترین غلظت نیترات در ساقه گیاه و کمترین آنها در برگها وجود دارد. همچنین این میزان در طول ساقه متفاوت است و با افزایش ارتفاع از سطح زمین، مقدار نیترات گیاه کاسته خواهد شد (مجد و همکاران، ۱۳۷۸؛ مبین، ۱۳۶۴). خوردن گیاهان حاوی ۱-۱/۵ درصد نیترات پتاسیم در ماده خشک می‌تواند به مسمومیت حاد در نشخوارکنندگان منجر شود. مقدار نیترات در بعضی از گیاهان به ۱۸ و گاهی ۲۰ درصد ماده خشک می‌رسد (Ali et al., 1995).

به هر حال سمیت نیترات برای نشخوارکنندگان به عواملی از قبیل میزان نیترات مصرف شده، مقدار کربوهیدرات جیره دام‌ها و میزان عادت دام به جیره حاوی نیترات بالا بستگی دارد. مرگ و میر دامهای مسموم علاوه بر مقدار نیترات خوراک مصرف شده، تا حد زیادی به سرعت مصرف آن نیز بستگی دارد. گاوهای با جیره انرژی بالا، زیادی نیترات را بهتر تحمل می‌کنند. جیره غنی از کربوهیدرات، PH شکمبه را کاهش می‌دهد و در این حالت احیاء نیترات به نیتريت مهار می‌شود. همچنین میکروفلور شکمبه به جیره های با نیترات بالا عادت می‌کنند به طوری که تبدیل نیترات به نیتريت در دفعات اول مصرف نیترات به آهستگی صورت می‌گیرد ولی با ادامه دریافت نیترات این روند سریعتر صورت می‌گیرد به طوری که پس از مدتی، مقادیر بالاتر از ۲۰۰۰۰ قسمت در میلیون نیترات نیز در گاو قابل تحمل است (کریمی، ۱۳۷۴).

اختلاف قابل ملاحظه‌ای میان گونه‌های دام نسبت به مسمومیت با نیترات و نیتريت وجود دارد. خوک حساس‌ترین نوع دام است و گاو، گوسفند و اسب به ترتیب در ردیف‌های بعدی قرار می‌گیرند. حساسیت بیشتر گاو نسبت به گوسفند به توانایی بیشتر آن در تبدیل نیترات به نیتريت مربوط بوده و یا به علت توانایی بالاتر گوسفند برای تبدیل نیتريت به آمونیاک می‌باشد. به هر حال، دامهای نشخوارکننده در مقابل مسمومیت با نیتريت حساس بوده ولی در برابر نیترات حساسیت چندانی از خود نشان نمی‌دهند (Adams, 1990).

## ۲-۴-۲- بیماری زایی

در دامهای تک معده ای مانند سگ و خوک نشانه‌های مسمومیت بیشتر به دستگاه گوارش و سیستم ادراری مربوط می‌شود و در موارد دریافت مقدار بسیار زیادی ترکیبات حاوی نیترات نیز کم خونی همولیتیک و زردی در آنها دیده می‌شود. تبدیل نیترات به نیتريت در تک‌معدده‌ای‌ها ناچیز است (میرحیدری، ۱۳۷۴).

نیترات از مخاط دستگاه گوارش به مقدار ناچیز جذب می‌شود اما به دنبال خوردن زیاد گیاه حاوی مقادیر سمی نیترات توسط گاوها (با توجه به این که تولید آمونیاک در شکمبه دارای محدودیت است) به نیتريت تبدیل می‌شود و نیتريت در شکمبه تجمع می‌یابد و از دیواره آن جذب خون می‌گردد. یونهای نیتريت در جریان خون ضمن مبادله با یونهای کلرید به راحتی وارد اریتروسیت‌ها می‌گردند (کریمی، ۱۳۷۴). در داخل اریتروسیت‌ها یک مول نیتريت با دو مول اکسی هموگلوبین واکنش اکسیداتیو داده و موجب اکسیداسیون آن

می‌شود. در این روند آهن فروس الکترون از دست می‌دهد و به آهن فریک تبدیل می‌شود و اکسی هموگلوبین به مت هموگلوبین تبدیل می‌گردد. مت هموگلوبین تولید شده قادر به انتقال اکسیژن به بافتها نیست (مبین، ۱۳۶۴).

همراه این واکنش نیتريت نیز به نیترات تبدیل می‌شود. مقدار ۲۵ میلی‌گرم در لیتر نیترات در سرم گاوها برای مسمومیت جنبه تشخیصی دارد. نیترات از سد خونی- مغزی و جفت عبور می‌کند. مهمترین راه دفع نیتريت از بدن ادرار است (کریمی، ۱۳۷۴). در شرایط عادی مقدار نیتريت جذب شده کم و همچنین مت هموگلوبین تولید شده ناچیز است. دو آنزیم احیاءکننده ردوکتاز به نامهای دیافوراز یک و دو<sup>۲</sup> (که وابسته به NADP هستند) آن را به اکسی هموگلوبین بر می‌گردانند (مبین، ۱۳۶۴).

ولی زمانیکه تولید مت هموگلوبین بالا باشد، اکسیژن رسانی به بافتها مختل شده و هیپوکسی در آنها شکل می‌گیرد. به دنبال تبدیل ۳۰-۲۰ درصد اکسی هموگلوبین به مت هموگلوبین نشانه‌های مسمومیت ظاهر شده و وقتی این میزان به حدود ۸۰ درصد می‌رسد، مرگ اتفاق می‌افتد (Ali, 1987). حداکثر غلظت مت هموگلوبین در خون ۵ ساعت پس از خوردن علوفه حاوی نیترات توسط گاو و یا گوسفند دیده می‌شود (Adams, 1990).

از طرف دیگر نیتريت موجب اتساع عروق می‌گردد و این اثر از طریق افزایش متسع‌کننده‌های عروق با منشأ اندوتلیوم اعمال می‌شود (کریمی، ۱۳۷۴). اتساع آرتیولها موجب کاهش فشار خون و در نتیجه کاهش برون ده قلب و نارسایی خون محیطی می‌گردد که به نوبه خود هایپوکسی<sup>۳</sup> ناشی از ایجاد مت هموگلوبین را تشدید می‌نماید (مبین، ۱۳۶۴؛ کریمی، ۱۳۷۴).

در گاوهای آبستن متعاقب هایپوکسی ناشی از شکل‌گیری مت هموگلوبین، انتقال اکسیژن به جفت شدیداً کاهش می‌یابد و می‌تواند موجب مرگ جنین در داخل رحم و سقط آن گردد. همچنین هایپوکسی در دامهایی که در اواخر آبستنی به سر می‌برند، موجب افزایش کورتیزول و نیز غلظت هورمونهای آدرنوکورتیکوتروپیک پلاسمای جنین می‌گردد که این روند نیز منجر به سقط جنین و یا مرده‌زایی می‌شود (شمار و ساعدی، ۱۳۶۲).

سقط جنین و اختلالات تولید مثلی دیگری نیز در مسمومیت مزمن و یا تحت درمانگاهی نیترات و نیتريت دیده می‌شوند. در این موارد تولید پروژسترون به علت غیرفعال شدن قسمتی از آنزیم های هیدروکسیله کننده‌ی وابسته به P-450 (آنزیم‌های اکسیداز چند منظوره) توسط نیترات کاهش می‌یابد (کریمی، ۱۳۷۴). همچنین ویتامین A و کاروتن در دستگاه گوارش و کبد توسط نیترات و نیتريت تخریب می‌شوند که قسمتی از نارسایی‌های تولید مثلی مربوط به این پدیده است (Aladakatti and Ahmed, 1999).

---

Diaphorase I and II<sup>2</sup>

<sup>۳</sup> کمبود اکسیژن در بافت

## ۲-۴-۳- نشانه های درمانگاهی

مرگ ناگهانی دامها در چراگاه به علت مسمومیت با نیترات رخ می‌دهد. نشانه‌های درمانگاهی ۴ تا ۸ ساعت پس از خوردن گیاهان حاوی نیترات، به شکل ناگهانی ظاهر می‌شود. ریزش بزاق، دل درد ناشی از التهاب معده‌ای - روده‌ای، اسهال و استفراغ در تک‌معدده‌ایها و گاهی در نشخوارکنندگان مشاهده می‌شود که ناشی از اثرات نیترات است (کریمی، ۱۳۷۴).

نشانه‌های اصلی مربوط به اثرات نیتريت بوده و شامل تنگی نفس و افزایش شدید تعداد تنفس، تنفس با دهان باز (که گاهی با بلع هوا همراه می‌شود)، افزایش تعداد ضربان قلب و ضعیف شدن نبض، لرزش عضلانی، ضعف، عدم تعادل در حرکت و تلوتلو خوردن، عدم تحمل فعالیت بدنی، سیانوز پیش‌رونده (که به صورت رنگ آبی - تیره در مخاط و پوست فاقد رنگدانه جلب توجه می‌کند) و از پا افتادگی و تشنج در مراحل انتهایی (که به مرگ دام ختم می‌شود) می‌باشد. در طی روند مسمومیت درجه حرارت بدن، طبیعی یا کمتر از مقدار طبیعی است. خون وریدی نیز به رنگ شکلاتی (قهوه ای - تیره) تبدیل می‌گردد. مرگ دام‌های مسموم در عرض ۳۰ دقیقه تا چند ساعت بعد از شروع علائم رخ می‌دهد (شمام و ساعدی، ۱۳۶۲). گاوهای تحت مسمومیت ملایم نیتريت، به‌خودی‌خود بهبود می‌یابند. سقط جنین در موارد ملایم و یا تحت درمانگاهی مسمومیت نیز در عرض ۵ روز بعد از دریافت نیترات دیده می‌شود (مبین، ۱۳۵۴).

## ۲-۴-۴- یافته‌های آزمایشگاهی و کالبدگشایی

تأیید آزمایشگاهی مسمومیت ناشی از نیترات با استفاده از نمونه‌های گیاهان مشکوک، آب مصرفی دامها و محتویات شکمبه، سرم، خون کامل هپارینه، ادرار دامهای مسموم و نیز مایعات مغزی - نخاعی، زلالیه و زجاجیه چشم دامهای تلف شده صورت می‌گیرد. محتویات شکمبه‌ی دامهای تلف شده فقط تا ۲ ساعت اول بعد از مرگ آنها قابل استفاده است. آنالیز شیمیایی نیترات و نیتريت با روش های رنگ سنجی و HPLC انجام می‌شود (کریمی، ۱۳۷۴). برای تشخیص نیتريت در خون و نیز بافت گیاه، تست آبی دی فنیل آمین (که آزمایشی حساس بوده ولی چندان اختصاصی نیست) کاربرد دارد. این آزمایش توسط گسترش خون با قرار دادن چند قطره از محلول دی‌فنیل‌آمین صورت می‌گیرد و پیدایش رنگ آبی نشان‌دهنده‌ی حضور نیترات است. بر روی مقطع گیاهان نیز آزمایش مشابهی قابل انجام است (Adams, 1990).

همچنین در سطح دامپروری ها تشخیص مسمومیت با استفاده از نوارهای ادراری و تشخیص حضور نیترات در مایعات بدن از جمله مایع زلالیه چشم تا ۲۴ ساعت بعد از مرگ دام ممکن می‌باشد (Adam, 2001). علاوه بر این، اندازه‌گیری میزان مت هموگلوبین خون (در صورتی که یک تا ۲ ساعت پس از خون‌گیری انجام

شود) نیز می‌تواند به تشخیص کمک کند. مقدار طبیعی مت هموگلوبین خون گاوها ۰/۱۲-۰/۲ گرم بر دسی لیتر است و ۲/۹۷-۱/۶۵ گرم بر دسی لیتر با پیدایش نشانه‌های مسمومیت همراه است (Adams, 1990).

در کالبدگشایی دامهای تازه تلف شده، رنگ خون قرمز - تیره تا قهوه ای - شکلاتی است و به کندی منعقد می‌شود ولی بیش از ۵ ساعت بعد از مرگ، این تغییر رنگ به علت تبدیل مت هموگلوبین به هموگلوبین دیده نمی‌شود. مخاط شیردان و روده‌ها پر خون بوده و نقاط خونریزی در آنها وجود دارد. سطوح سروزی و سطح اپی‌کارد نیز نقاط پراکنده خونریزی را نشان می‌دهند. مایعی خونابه‌ای رنگ در آبشامه قلب از یافته‌های معمول این مسمومیت است. ریه‌ها نیز عمیقاً پر خون و به رنگ قرمز - قهوه‌ای هستند. ضایعه میکروسکوپی خاصی در این موارد دیده نمی‌شود (میرحیدری، ۱۳۷۴).

مسمومیت با نیترات و نیتريت از نظر درمانگاهی با مسمومیت ناشی از اسید سیانیدریک، کلرات سدیم (موجب مت هموگلوبینمی می‌شود) مشابه می‌باشد که پاسخ سریع به درمان با متیلن بلو می‌تواند به تشخیص درمانگاهی کمک نماید (شمام و ساعدی، ۱۳۶۲).

## ۲-۴-۵- درمان و پیشگیری

برای درمان دامهای مسموم منبع مسمومیت را باید سریعاً از دسترس دام‌ها خارج نمود. تزریق آرام داخل وریدی و یا زیرجلدی یک منقبض‌کننده عروق مانند اپی نفرین یک در هزار به مقدار ۲/۵ میلی‌لیتر برای رفع کاهش فشار خون بسیار موثر است و حتی در دامهای نزدیک به مرگ کارایی دارد (کریمی، ۱۳۷۴). پادزهر اختصاصی مسمومیت با نیتريت، متیلن بلو است که موجب برگشت مت هموگلوبین به هموگلوبین می‌شود ولی در دزهای بالا خود باعث مت هموگلوبینمی می‌گردد (Adams, 1990). متیلن بلو در خون به لکومتیلن بلو تبدیل شده و این ترکیب جدید موجب احیاء مت هموگلوبین و تبدیل آن به هموگلوبین می‌شود (Ali, 1987). ۱ تا ۲ میلی‌گرم برای هر کیلوگرم وزن بدن، دوز استاندارد متیلن بلو است محلول یک درصد آن (که ایزوتونیک است) از طریق داخل وریدی به آرامی تزریق می‌گردد (Adams, 1990).

با این حال در نشخوارکنندگان دوزهای بالاتر از ۸/۸ تا ۲۰ میلی‌گرم برای هر کیلوگرم وزن بدن نیز توصیه شده است. نیمه عمر متیلن بلو در بدن تقریباً ۲ ساعت است و تکرار تزریق در صورت نیاز ۶-۸ ساعت بعد باید صورت گیرد (مبین، ۱۳۶۴؛ کریمی، ۱۳۷۴). برای پیشگیری از مسمومیت با نیترات در نشخوارکنندگان باید کربوهیدرات کافی در جیره تأمین گردد و از طرفی از دسترسی دام‌های گرسنه به گیاهان غنی از نیترات جلوگیری کرد. همچنین سیلو کردن علوفه از مقدار نیترات آنها می‌کاهد. اضافه کردن کلرتراسیکلین به مقدار ۳۰ میلی‌گرم برای هر کیلوگرم غذای دام و یا تنگستات سدیم به جیره‌ی دام‌ها به مدت حدود دو هفته، تا حدی از فعالیت میکروبی شکمبه و تبدیل نیترات به نیتريت جلوگیری می‌نماید (کریمی، ۱۳۷۴).



## ۲-۵- اهمیت نیترات و نیتريت در مواد غذایی

سطح نیترات یک پارامتر بسیار مهم بخصوص در رژیم غذایی نوزادان و کودکان است. نیتراتها موادی هستند که به طور طبیعی غلظت آنها در حداقل است و بنابراین خطرناک نیستند اما سطح بیش از حد این ترکیب نیتروژن دار می تواند مانعی جدی در انتقال اکسیژن در خون باشد و نتایج خطرناکی را بخصوص برای نوزادان داشته باشد. به همین دلیل در تولید آبهای معدنی استانداردهای دز نیترات در نظر گرفته می شود که به صورت زیر می باشد:

– ۴۵ میلی گرم بر لیتر در آبهای معدنی معمولی

– ۱۰ میلی گرم بر لیتر آبهای معدنی ویژه مصرف کودکان

توصیه می شود که میزان نیترات موجود در آب مورد مصرف کودکان نباید بالاتر از ۲۵ میلی گرم در لیتر باشد.

نیترات و نیتريت مواد شیمیایی مورد استفاده در کودها و عوامل کشنده جانوران و همچنین به عنوان ماده نگهدارنده غذاها می باشند (U.S.EPA, 1991<sup>۴</sup>, 2006; U.S.ATSDR<sup>۵</sup>, 2001). نیترات و نیتريت به شکل های متعددی وجود دارند اما بعد از اینکه خشک شدند، بصورت پودر کریستالی سفید دیده می شوند. نیترات و نیتريت تولیدات متابولیکی ناشی از هضم میکروبی مانند کود حیوانی یا کودهای نیتروژنه هستند (U.S.EPA, 2006). نیتريت سدیم یک نوع افزودنی غذایی است که به عنوان نگه دارنده گوشت مورد استفاده قرار می گیرد (WHO, 2006).

## ۲-۵-۱- نیترات و سازمان جهانی بهداشت

سازمان بهداشت جهانی در سال ۱۹۷۰ استانداردهای آب آشامیدنی را تعیین و خطرات ناشی از حضور نیترات بیش از این استانداردها را به شرح زیر اعلام کرده است:

سطح استاندارد نیترات ( $\text{NO}_3$ ) برای جلوگیری از بروز مشکلات در آبهای معدنی و آشامیدنی معمولی:

<sup>۴</sup> آژانس حفاظت محیطی

<sup>۵</sup> آژانس ثبت بیماری ها و مواد سمی

- توصیه شده: زیر ۵۰ میلی گرم در لیتر

- قابل قبول: در فاصله ۵۰ تا ۱۰۰ میلی گرم در لیتر

- خطرناک: بالاتر از ۱۰۰ میلی گرم در لیتر

در سال ۱۹۶۲، انجمن بهداشت عمومی آمریکا: حد مجاز نیترات در آب آشامیدنی را بر حسب نیتروژن ۱۰ میلی گرم در لیتر (بر حسب نیترات ۵۰ میلی گرم در لیتر) توصیه نمود. در طی دوره‌ی سال‌های ۱۹۷۰-۱۹۹۲ ایالات متحده، در بررسی زمین‌شناسی، میزان نیتروژن نیتراتی ۹ درصد از چاه‌های خصوصی را بیشتر از حد مجاز ۱۰ میلی گرم در لیتر اعلام نمود.

از آن زمان به بعد سازمان حفاظت محیط زیست (EPA) حداکثر سطح مجاز نیترات در آب آشامیدنی را بر حسب نیتروژن ۱۰ میلی گرم در لیتر (بر حسب یون نیترات ۵۰ میلی گرم در لیتر) و سطح مجاز نیتروژن نیتروژنی را ۱ میلی گرم در لیتر (بر حسب یون نیتريت ۳ میلی گرم در لیتر) پذیرفت.

## ۲-۶- منابع نیتريت در گیاهان

اسفناج و کاهو مقدار بالای ۲۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم، کلم پیچ ۳۰۲ میلی گرم بر کیلوگرم و گل کلم سبز ۶۱ میلی گرم بر کیلوگرم و مارچوبه کمتر از ۱۳ میلی گرم بر کیلوگرم نیتريت دارند. سطوح نیتريت در ۳۴ نوع سبزی متنوع شامل اسفناج، کاهو، کلم، جعفری و شلغم بین ۱/۱ و ۵۷ میلی گرم بر کیلوگرم و در گل کلم سفید و سبز به ترتیب ۳/۴۹ و ۱/۴۷ میلی گرم بر کیلوگرم می‌باشد (Leszczynska et al., 2009; Correia et al., 2010). گوشت تازه شامل ۰/۴-۰/۵ میلی گرم بر کیلوگرم نیتريت و ۷-۴ میلی گرم بر کیلوگرم نیتريت است (Dennis and Wilson, 2003).

## ۲-۷- کاربرد نیتريت سدیم

کاربرد اصلی آن برای تولید صنعتی ترکیبات نیتروژن آلی است. همچنین به عنوان افزودنی غذایی از رشد باکتری کلوستریدیوم بوتولینوم (که باعث بوتولیسم می‌شود) جلوگیری می‌کند. نیتريت سدیم رنگ ماهی کنسرو شده و گوشت را تغییر می‌دهد، علاوه بر آن می‌تواند در مقادیر بالا برای انسان و حیوانات (LD<sub>50</sub> در رت) سمی باشد. نیتريت سدیم مخلوط شده با نمک به عنوان افزودنی غذا به رنگ صورتی روشن به فروش می‌رسد (Leszczynska et al., 2009).

تحقیقات اخیر گزارش کرده است که ارتباطی بین مصرف بالای گوشت فرآوری شده و سرطان کولون وجود دارد که احتمالاً به علت وجود نیتريت سدیم بوده است (Susanna and Larsson, 2006). اخیراً مشخص شده است که نیتريت سدیم با افزایش جریان خون در رگ‌های متسع‌کننده اثر گذاشته و به عنوان متسع‌کننده عروق عمل می‌کند. مطالعات در حال پیشرفت، کاربرد نیتريت سدیم را برای درمان کم‌خونی داسی شکل، مسمومیت سیانیدی، حملات قلبی و افزایش فشارخون ریوی در کودکان بررسی می‌کند (Roxanne khamsi, 2006).

## ۲-۸- مسمومیت نیتراتی در حیوانات

مسمومیت نیتراتی به طرق مختلف در حیوانات بررسی گردیده است. Kociba and Sleight (۱۹۷۰) گزارش کردند که تزریق زیرجلدی ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیتريت سدیم باعث ایجاد سطوح بالاتر مت هموگلوبین در خوک می‌شود. در آزمایش این محققین، مرگ و میر ناشی از تزریق نیترات با مصرف ویتامین C کاهش یافت.

در آزمایشی دیگر توسط همین محققین، تزریق زیرجلدی ۴۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیتريت سدیم در هفته آخر آبستنی باعث سقط جنین گردید ولی مصرف سطوح بالاتر از ۰/۴ میلی‌گرم بر ۱۰۰ میلی‌لیتر ویتامین C در این خوک‌ها باعث رفع سقط جنین گردید (Kociba and Sleight, 1970).

همچنین این محققین نشان دادند که تزریق ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیتريت سدیم به صورت زیرجلدی منجر به کاهش میزان هموگلوبین و حجم توده سلولی و ویتامین C نوزادان حاصل از این خوک‌ها گردید (Kociba and Sleight, 1970). سطوح مت هموگلوبین در خوک‌های دچار کمبود ویتامین C (۳۵/۲ درصد) بیشتر از خوک‌های شاهد (۲۵/۹ درصد) بود (Kociba and Sleight., 1970).

در آزمایشات بعدی Sinha and Sleight (۱۹۷۱) دزهای ۵۰، ۶۰ و ۷۰ میلی‌گرم نیتريت سدیم به ازای وزن بدن را به صورت زیرجلدی به خوک‌های آبستن تزریق کردند. تزریق ۶۰ میلی‌گرم نیتريت سدیم به ازای کیلوگرم وزن بدن منجر به سقط جنین ۱-۴ روز بعد از تزریق شد و دز بالای ۷۰ میلی‌گرم نیتريت سدیم نیز منجر به سقط جنین ۶۰ دقیقه بعد از تزریق گردید. همچنین تزریق نیتريت سدیم منجر به افزایش غلظت مت هموگلوبین در خوک‌ها شد. بعلاوه، سطوح نیتريت پلاسمای مادر بطور معنی‌داری بالاتر از سطوح نیتريت پلاسمای جنین بود ( $P < 0/01$ ). تزریق نیتريت سدیم منجر به کاهش فشار اکسیژن مادر و جنین گردید (Sinha and Sleight, 1971).

Shuval and Gruener (۱۹۷۲) هم مصرف ۳۰۰۰-۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نیتريت سدیم را در آب آشامیدنی بر رت‌های آبستن آزمایش کردند. وزن زندهٔ نتاج این رت‌ها مشابه بود ولی میانگین هموگلوبین به طور تقریبی در گروه مصرف‌کننده نیتريت سدیم ۲۰ درصد پایین‌تر از گروه شاهد بود.

در مطالعه‌ای دیگر تزریق ۶۰ میلی‌گرم نیتريت سدیم به ازای کیلوگرم وزن بدن به رت‌های آبستن منجر به مرگ یک ساعت بعد از تزریق شد در حالیکه تأثیری بر رت‌های غیر آبستن نداشت و همچنین مصرف ۲۰۰ تا ۲۵۰ میلی‌گرم نیتريت سدیم به ازای کیلوگرم در رت‌های آبستن به شدت باعث آنمی شد (Shuval and Gruener, 1972).

Van't Klooster و همکاران (۱۹۹۰) تزریق داخل وریدی دز های ۷، ۹/۵ و ۱۲ میلی‌گرم نیتريت سدیم به ازای کیلوگرم وزن بدن را بررسی کردند و مشاهده کردند که تزریق، تبدیل هموگلوبین به مت هموگلوبین را باعث گردید. هر دو فشارخون (سیستول و دیاستول) بلافاصله بعد از تزریق نیتريت متوقف شد. مدت زمان بازگشت تأخیری فشارخون با افزایش میزان دز نیتريت افزایش پیدا کرد. PH و فشار دی اکسیدکربن خون مادر تحت تأثیر تزریق نیتريت واقع نشد. تزریق نیتريت منجر به کاهش فشار اکسیژن شریانی شده و این کاهش فشار اکسیژن با افزایش دز نیتريت در ارتباط بود. ظهور نیتريت در گردش خون جنینی به دنبال تزریق نیتريت به گاو شیری (۷ و ۱۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) مشاهده شده است. بعلاوه میزان مت هموگلوبین جنین هم افزایش پیدا کرد (Van't Klooster et al., 1990).

افزایش سطوح مت هموگلوبین مادر و یا جنین در اثر مصرف نیتريت سدیم در خوک، رت و گاو شیری گزارش شده است (Gruener et al., 1973)، که این افزایش توسط اثرات آن بر مقدار اکسیژن قابل دسترس به بافت‌های جنین است. فشار اکسیژن جنین به طور معنی‌داری به دنبال تزریق نیتريت در خوک و گاو شیری، کاهش یافته است (Sinha and Sleight, 1971).

Gupta و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که مصرف آب آشامیدنی حاوی ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نیتريت در انسان باعث افزایش درصد مت هموگلوبین گردیده است.

Rodriguez-Estival و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نیتريت در آب آشامیدنی نسبت به غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نیتريت، سطوح مت هموگلوبین کبک قرمز را به میزان بیشتری کاهش داده است و پیشنهاد کردند که سیستم آنتی‌اکسیدانی در کبک قرمز مقاوم‌تر از سیستم آنتی‌اکسیدانی در انسان است. همچنین این محققان گزارش کردند که مصرف آب آشامیدنی حاوی ۵۰۰ میلی‌گرم نیتريت باعث افزایش سطح گلوکاتایون گلبول‌های قرمز کبک می‌گردد بعلاوه پراکسیداسیون لیپید گلبول‌های قرمز خون و سطح گلوکاتایون کبد نیز افزایش یافت. درصد مت هموگلوبین ارتباط منفی با سطح کل گلوکاتایون گلبول قرمز دارد که نقش گلوکاتایون را در جلوگیری از اکسیداسیون هموگلوبین بیان می‌کند (Chaney et al., 1981).