

Consecințele sanogenetice ale nitraților din alimente. Metode de reducere a N-NO_3^- din produsele vegetale.

Cătălina BUZDUGAN, Alexei SAVIN

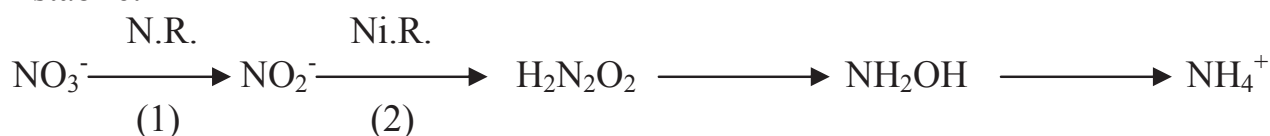
1. Introducere

Nitrații sunt săruri minerale care se găsesc pretutindeni: sol, apă și aer, în concentrații variabile, de la foarte scăzute la extrem de ridicate sub aspectul implicațiilor lor sanogenetice.

Referindu-ne la efectele nedorite ale nitraților asupra organismului uman, de departe, sursa cea mai semnificativă de ioni NO_3^- o constituie produsele vegetale, care consumate perioade de timp mai îndelungate, chiar dacă nu conțin cantități supărătoare ca doză zilnică, pot fi implicați în diferite transformări metabolice nesănătoase.

Consumul zilnic de nitrați la o persoană variază, în funcție de sezon, preferințe alimentare, sursa de apă potabilă, consumul de diferite medicamente, între 30-120 mg NO_3^- . În dietele alimentare preponderent vegetariene consumul zilnic poate ajunge chiar la 300 mg/zi, depinzând de sortimentul, condițiile de creștere și depozitare ale legumelor consumate. Se apreciază că la un consum zilnic de nitrați, circa 70% provin din legume, 20% din apa potabilă, 7% din produsele carnatate și restul de 3% provine din: fructe, fulgi, cereale și produse lactate (Prigar, 1994). Ionii NO_3^- absorbiți radicular de plante sunt supuși unor reacții de reducere biochimică la forma amoniacală care apoi poate fi inclusă în compușii organici cu azot în principal prin reacții de aminare și transaminare.

Între NO_3^- și NH_4^+ există câteva forme intermediare de reducere, unele total instabile:



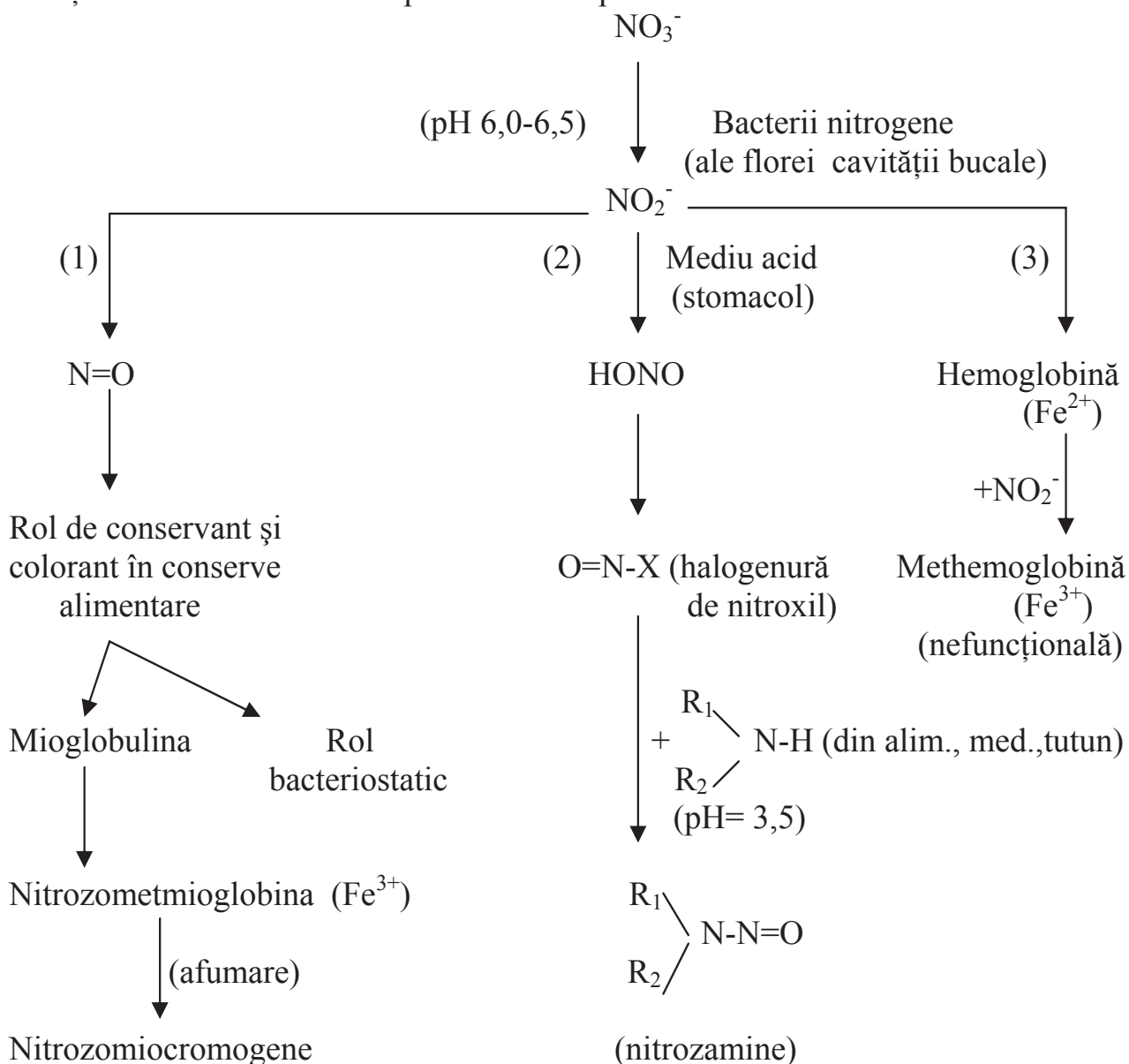
Prima reacție de reducere se face sub acțiunea unui complex enzimatic numit nitratoreductază (NR), iar în continuare nitriții sunt reduși tot enzimatic de nitritoreductază (NiR); ambele enzime funcționează în serie, produsul de reacție al primei enzime este preluat imediat de cea de a doua. Se apreciază că etapele următoare de reducere, respectiv formarea hipoazotiților, a hidroxilaminei și a ionului amoniu au loc cu viteze mult mai mari decât primele reacții reductive (Lixandru, 1993).

Nitratoreductaza plantelor superioare este o enzimă citoplasmatică, o oxidoreductază de natură: molibdo-flavo-hemo-proteică, care îndeplinește funcția de transportator de electroni de la sursa cu putere reducătoare, care este în principal NADH (coenzima „nicotinamid adenin dinucleotid”, forma redusă) și

NADPH (coenzima „nicotinamid adenin dinucleotid fosfat”, forma redusă), la gruparea NO_3^- , respectiv la atomul de oxigen al anionului nitrat. Procesul reductiv este deci posibil guvernat atât fotochimic cât și respirator (Lillo, 1996).

Nitratoreductaza se întâlnește preponderent în citoplasma celulelor meristemice, frunzele tinere și vârful rădăcinilor fiind cele mai bogate în această enzimă; depinzând de specie, organele plantei (rădăcină sau frunze) în care se desfășoară mai intens procesul reductiv guvernat de această enzimă.

În general, semințele plantelor nu conțin cantități semnificative de nitrați (Buzdugan, 1998). Experți ai comitetelor mixte FAO / OMS au stabilit ca doza zilnică de alimente a unui adult, tot timpul vieții sale, să nu depășească 3,65 mg NO_3^- și 0,13 mg NO_2^- pe kg greutate corporală. Implicațiile toxicologice ale nitraților în sănătatea omului pot fi sumativ prezentate astfel :



(după Frietsch, 1985)

Nitrozaminele formate sunt absorbite în sânge la nivelul de 0,1 $\mu\text{g}/\text{kg}$. S-a demonstrat experimental pe animale de laborator că peste 80% din nitrozaminele

formate sunt substanțe de toxicitate medie, dar cu un potențial cancerigen uriaș. Funcție de natura radicalilor R, valoarea DL_{50} (mg/kg corp) este cuprinsă între 18 – 750 mg. Intoxicațiile acute cu nitrozamine determină leziuni și necroze hepatice, digestive și pulmonare, dar, în schimb, cele cronice determină cancer preponderent hepatic, dar și al căilor digestive superioare, plămâni, rinichi și chiar pancreas. Viteza de nitrozare este influențată de prezența unor substanțe care o accelerează: tiocianați, halogenuri, formaldehidă etc.; în schimb, acidul ascorbic, acidul galic, sulfiții, taninul, α -tocoferolul, alcaloizi de tipul amidonului, glutationului, pot bloca formarea compușilor nitrozo (vitamina C inhibă formarea nitrozaminelor oxidându-se la acid dehidroascorbic).

2. Motivații

Acumularea în plante de nitrați și nitriți are loc în numeroase situații de îmbinare neadecvată a condițiilor fizice (lumină, ca intensitate și durată, temperatură, umiditate a solului, etc.) și chimice (reacție, asigurare cu macro și microelemente) în mediul de cultură al plantelor. Insuficiența absolută sau relativă a macroelementelor (P și K) și microelementelor (Mo, B, Fe, Cu, ș.a.) stânjenește desfășurarea proceselor enzimatică care asigură reducerea în amoniac a formelor oxidate de azot și încorporarea $N-NH_4^+$ în aminoacizi, peptide și proteine.

Este de menționat faptul că în zona Sucevei primăverile sunt, în general, perioade ale anului cu nebulozitate mai accentuată, cu temperaturi ale solului și ale aerului cu câteva grade mai mici decât în alte zone ale țării, fapt care favorizează acumularea de nitrați în materialul vegetal (Buzdugan, 1994).

3. Materialul și metoda de cercetare

Experiențele au fost concepute pe două plante test (spanac și salată) cu potențial ridicat de acumulare de nitrați, la diferite nivele de fertilizare sau cu diferite agrofonduri create, cu diferite nivele de luminozitate (realizate prin umbrire cu tifon care diminuează intensitatea luminoasă cu ≈ 12.000 lx), utilizând inhibitori de nitrificare și preparate foliare special concepute pentru reducerea nitraților.

Experiențele s-au executat pe o perioadă de trei ani consecutivi, în casa de vegetație, în vase de tip Mitscherlich cu o capacitate de 7 kg, folosindu-se un sol de tip cernoziomoid argiloiluvial, cu textură lutoasă, pH slab acid, cu un conținut mediu în elemente nutritive și humus, cu valorile: pH=5,1; Ah=5,85 me/100g sol; SB=10,15 me/100g sol; $V_k=63,44\%$; h=2,94%; IN=1,87; Nt=0,144%; $P_{AL}=54,5$ ppm; $K_{AL}=111$ ppm; $Al^{3+}=0,18$ me/100g sol; $M_o=0,05$ ppm; B=0,19 ppm și fracțiunile granulometrice: Ng=5,11%; Nf=46,21%; P=24,81%; $A_c=23,87\%$; Af=37,13%. Umiditatea solului s-a menținut în toată perioada de vegetație la aproximativ 70% din capacitatea totală pentru apă, solul provenind din orizontul Ap.

Experiențele au fost concepute în așa fel încât s-au putut urmări în paralel și simultan o serie de factori (agrofond de fertilizare, sol, specii de legume,

intensitate luminoasă, preparate foliare corective și inhibitori de nitrificare) care au putut fi puși în evidență prin determinări chimice de material vegetal privind stimularea activității metabolice generale a plantelor cu formarea unei mase vegetale mari și o intensificare a încorporării azotului mineral în aminoacizi, amide, peptide și proteine, pe seama reducerii conținutului de nitrați.

Îngrășămintele complexe foliare (I.C.F.) tip ICPA au fost concepute în așa fel încât să determine creșteri de producție, sporind gradul de utilizare productivă a elementelor nutritive din sol, diminuând astfel disipările entropice ale ionilor nutritivi, îndeosebi a NO_3^- și, în același timp, să mărească permeabilitatea cuticulei, favorizând astfel condițiile optime de difuziune (Borlan, 1994).

Îngrășămintele foliare (I.C.F.) utilizate conțin cantități variabile de macroelemente (N,P,K) și microelemente (Mg, S, B, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Zn, V) alături de aminoacizi și amide rezultate din hidroliza acidă a colagenului (cleiului de oase), care sunt neutralizate diferit cu KOH și NH_4OH și adaosuri de tiamină hidroclorică, naftinați de potasiu, polifenoli, aldehydă maleică, etilen glicool, EDTA, polifosfați, etc. (Buzdugan, 1993).

Inhibitorul de nitrificare utilizat este DIDINUL (DCD); diciandiamida: $\text{H}_4\text{N}_4\text{C}_2$; în doze crescânde (10% din azotul de fertilizare a fost asigurat de DCD, care se comportă ca inhibitor de nitrificare cât și ca îngrășământ cu azot lent accesibil plantelor).

4. Rezultate și discuții

Rezultatele determinărilor analitice prezentate în tabelele 1 și 2 reprezintă media valorilor obținute în experiențe efectuate pe trei repetiții în trei ani consecutivi.

Analizele efectuate la probele de plante:

- determinarea azotului nitric (N-NO_3^- ppm) s-a efectuat în material vegetal proaspăt, prin extracție în soluție de acid acetic 2 %, dozare cu acid fenoldisulfonic în mediu bazic, după metoda Colorus;
- determinarea fosforului total P_2O_5 (%) și a potasiului total (K_2O %) s-a efectuat în material vegetal uscat la aer, prin mineralizare umedă, urmată de dozare colorimetrică – Nikolov și respectiv fotometrie de emisie în flacără;
- determinarea activității nitratreductazei (ANR, mg $\text{N-NO}_2^-/100$ g material proaspăt), după metoda Mulder, 1972, modificată tehnologic de Buzdugan C., 1997;
- determinarea proteinei pure (%), după metoda Barstein, urmată de mineralizare Kjeldahl și distilare Parnas-Wagner;
- determinarea activității glutamat-piruvat-amino-transferază (AGPT, μg acid piruvic/100 g material proaspăt), după metoda Franke, 1980, modificată tehnologic de Buzdugan, 1997.

Datele prezentate în tabelul 1 evidențiază următoarele:

- indiferent de agrofondul de fertilizare al solului cu îngrășămintă chimice minerale s-au remarcat reduceri ale conținutului de nitrați în materialul vegetal

studiat (frunze de spanac și salată) la toate variantele stropite cu soluții I.C.F., diferențele din punct de vedere statistic fiind semnificativ și chiar foarte semnificativ mai mici.

- I.C.F.-RN₉ (cel cu lignosulfonați de amoniu) determină cele mai mari reduceri ale conținutului de nitrați și în același timp determină cele mai ridicate nivele în ceea ce privește ANR, stimulând prin componentele sale biosinteza enzimatică, atât a N.R. , cât și a proteinei pure.

Umbrirea cu tifon determină o creștere a conținutului de nitrați și a ANR prin diminuarea fotosintezei (umbrirea reduce intensitatea luminoasă cu aproximativ 12000 lx).

Urmărind rezultatele prezentate în tabelul 2 se remarcă:

- DCD a determinat o stopare a creșterii conținutului de azot nitric din plante;

- ANR diferă în funcție de specia luată în studiu, nivelul ANR este „dictat” de cantitatea de nitrați din partea vegetativă aeriană;

- micșorarea conținutului de nitrați este mult mai accentuată sub influența efectului conjugat al DCD și al ICF – RN₉. Practic, se poate aprecia faptul că folosirea DIDIN-ului în doză relativ mică, împreună cu stropirile foliare cu ICF este de natură să elimine integral pericolul acumulării excesive de nitrați din legumele consumate verzi;

- ICF – RN₉ a exercitat o creștere accentuată a AGPT, atât în variantele umbrite, cât și în cele neumbrite, față de variantele care nu au beneficiat de tratamente foliare.

Este bine cunoscut faptul că așa cum culturile agricole intensive pot acumula cantități semnificative de nitrați, la fel și puietii diferitelor specii forestiere sunt afectați de excesul de NO₃⁻. Determinările preliminare efectuate de autori, au scos clar în evidență o interdependență semnificativă între cantitățile de nitrați și aluminiul mobil din sol și rata de creștere în înălțime a puietilor, a greutateii acelor și a lujerilor anuali.

5. Concluzii

În urma analizei prezentei lucrări se pot desprinde următoarele concluzii:

- sinteza și activitatea nitratreductazei este stimulată de apariția în mediu de nutriție a ionului NO₃⁻, intensitatea ANR fiind direct dependentă de nivelul de concentrație a nitraților din plantă, la momentul respectiv;
- îngrășămintele complexe foliare – tip ICPA (I.C.F. – RN₅ și I.C.F. – RN) stimulează ANR și AGPT, sporesc conținutul de proteină pură, determinând scăderea semnificativă a conținutului de nitrați din masa vegetativă luată în studiu, indiferent de agrofondul de fertilizare și de intensitatea luminoasă;
- diminuarea intensității luminoase mărește evident conținutul de nitrați atât în frunzele de salată, cât și în cele de spanac;

Tabelul 1. Variația conținutului de nitrați, a activității nitratreductazei (ANR), a conținutului de proteină pură, fosfor și potasiu, forme totale din frunzele de spanac și salată, sub influența stropirilor cu preparate foliare tip ICPA

Table 1. The variation of nitrates, of nitrate reductase, of pure protein, phosphorus and potassium, complete forms from spinach and lettuce leaves, under the influence of sprinkling with leaf preparations type ICPA

Nr. crt.	Agrofond de fertilizare*	Intensitate lumină	Tratament foliar	spanac					salată								
				Producția (g)	N-NO ₃ ⁻		P.P. (%) (S.U.)	P ₂ O ₅ % (S.U.)	K ₂ O % (S.U.)	ANR mg nitrit/100g m.p	Prod. (g)	N-NO ₃ ⁻		P.P. (%) (S.U.)	P ₂ O ₅ % (S.U.)	K ₂ O % (S.U.)	ANR mg nitrit/100g m.p
					(ppm) (m.p.)	DL						(ppm) (m.p.)	DL				
0	I	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
1	I	Normală	Apă (M ₁)	63,2	161,4		11,12	0,87	1,92	2,30	86,2	201,2		13,02	0,97	2,01	2,11
2	N 0,5		ICF- RN ₅	69,5	90,2	°°	12,73	0,96	1,97	2,47	89,2	101,7	°°°	13,98	1,01	2,11	2,23
3	P 0,5		ICF- RN ₆	76,4	133,6	°	12,90	1,01	2,09	2,83	92,7	111,8	°°	14,73	1,08	2,16	2,17
4	K 0,5	Redusă	Apă	65,1	177,1		10,42	0,91	1,97	2,11	85,2	277,9		11,02	1,02	2,14	2,01
5			ICF- RN ₅	71,2	157,1	°	11,70	1,05	2,00	2,31	88,9	216,8	°°	12,60	1,05	2,20	2,07
6			ICF- RN ₉	74,3	140,3	°°	11,97	1,08	2,07	2,50	93,8	199,7	°°	12,97	1,09	2,18	2,02
7	II	Normală	Apă (M ₂)	116,2	367,7		19,16	1,18	3,15	3,77	144,1	517,2		20,44	1,31	4,01	4,80
8	N 2,0		ICF- RN ₅	129,2	266,6	°°°	22,13	1,26	3,04	3,80	156,8	366,7	°°°	21,17	1,34	4,11	4,13
9	P 1,0		ICF- RN ₆	133,9	316,7	°°°	23,08	1,37	3,11	3,98	160,7	311,8	°°°	21,81	1,41	4,08	4,21
10	K 1,0	Redusă	Apă	123,7	974,7		15,43	1,32	3,34	2,59	143,2	1187,1		17,31	1,44	4,16	4,60
11			ICF- RN ₅	128,7	680,1	°°°	18,30	1,42	3,28	2,60	157,8	709,3	°°°	17,98	1,45	4,18	4,68
12			ICF- RN ₉	135,5	625,0	°°°	19,77	1,51	3,31	2,47	159,9	719,8	°°°	19,02	1,50	4,09	4,77

DL 5% = 46,5

DL 1% = 62,7

DL 0,1% = 83,2

* Pentru diferențierea agrofondurilor s-au folosit îngrășăminte minerale de tipul: azotat de amoniu, superfosfat concentrat și sulfat de potasiu; pentru neutralizarea acidității s-a folosit carbonat de calciu în doze moderate.

P.P. – proteină pură; S.U. - substanță uscată.

Tabelul 2. Variația conținutului de nitrați, a activității nitratreductazei (ANR), a activității glutamat-piruvat-amino-transferazei (AGPT) și a conținutului de proteină pură, fosfor și potasiu, forme totale din frunzele de spanac și salată, sub influența inhibitorului de nitrificare DIDIN și a stropirilor cu preparate foliare tip ICPA

Table 2. The variation of nitrates, of nitratereductase, of glutamat-piruvat-amino-transferase and of pure protein, phosphorus and potassium, complete forms from spinach and lettuce leaves, under the influence of DIDIN nitrification inhibitors and of sprinkling with leaf preparations type ICPA

Nr. crt.	Graduarea inhibării cu DIDIN (ppm N)*	Tratament foliar cu I.C.F.	spanac						salată							
			N-NO ₃ ⁻		ANR mg nitrit/100g m.p	AGPT (μg acid peruvic m.p.)	P.P. % S.U.	P ₂ O ₅ % S.U.	K ₂ O % S.U.	N-NO ₃ ⁻		ANR mg nitrit/100g m.p	AGPT (μg acid peruvic m.p.)	P.P. % S.U.	P ₂ O ₅ % S.U.	K ₂ O % S.U.
			(ppm)	DL (m.p.)						ppm (m.p.)	DL					
0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1	maritor	-	1270		1,40	11,8	11,17	1,56	4,38	1137		1,57	12,4	12,30	1,36	3,90
2	5,0	-	1182	∞	1,88	12,7	14,88	1,57	4,17	1098		2,04	12,6	16,44	1,51	4,00
3	10,0	-	1054	∞∞	1,90	12,9	15,08	1,60	4,21	1050	∞	1,97	12,9	16,87	1,55	3,97
4	20,0	-	909	∞∞∞	1,92	13,4	15,17	1,57	4,27	990	∞∞	1,93	13,8	18,01	1,54	3,91
5	5,0	RN ₅ -U	778	∞∞∞	3,08	22,3	19,97	1,60	4,39	872	∞∞∞	2,72	23,7	20,44	1,38	4,17
6	10,0	RN ₅ -U	756	∞∞∞	2,97	22,9	20,44	1,66	4,30	801	∞∞∞	2,64	24,8	21,02	1,44	4,28
7	20,0	RN ₅ -U	720	∞∞∞	2,98	23,5	20,83	1,68	4,29	752	∞∞∞	2,71	24,9	21,80	1,47	4,57
8	5,0	RN ₅ -N	582	∞∞∞	2,88	27,8	24,01	1,69	4,67	529	∞∞∞	2,47	28,3	22,90	1,39	4,90
9	10,0	RN ₅ -N	530	∞∞∞	2,66	28,7	23,17	1,72	4,55	511	∞∞∞	2,51	29,8	24,01	1,50	4,80
10	20,0	RN ₅ -N	501	∞∞∞	2,73	27,9	24,83	1,81	4,69	403	∞∞∞	2,56	28,9	23,87	1,53	4,77

DL 5 % = 87,1

DL 1 % = 117,6

DL 0,1 % = 156,9

U- umbrit, N-neumbrit.

* 10 % din N provine din DIDIN, agrofondul de fertilizate a fost constant: N 1,5 + P 1,0 + K 1,0; îngrășământul chimic cu azot utilizat a fost ureea;

- tratamentele aplicate solului cu diciandiamidă determină scăderi evidente ale conținutului de nitrați din produsele vegetale studiate, dar folosirea împreună a inhibitorului de nitrificare și a stropirilor foliare cu RN_9 este de natură să elimine aproape integral pericolul acumulării excesive de nitrați în țesuturile plantelor legumicole ce se consumă proaspete, cu benefice consecințe sanogenetice.

Bibliografie

- Borlan, Z., ș.a., 1994. Fertilitatea și fertilizarea solurilor. Ed. Ceres, București.
- Buzdugan, C. și col., 1993. Procedee și compoziții fertilizante pentru reducerea conținutului de nitrați în furaje și legume. Dosar O.S.I.M. 93-001043.
- Buzdugan, C., col., 1994. Nitrații în legumele verzi și în furaje. Posibilități agrochimice de diminuare a acumulării acestora în plante. Conferința națională S.N.R.S.S, Tulcea.
- Buzdugan, C., 1998. Studiul condițiilor optime de activitate a nitratoreductazei în metabolizarea azotului mineral absorbit de plante. Teză de doctorat.
- Lillo, C., ș.a., 1996. Regulation of nitrate reductase and phosphoenolpyruvate carboxylase activities in harley leaf protoplasts. *Planta*, vol. 200, p. 181, Speinger-Verlag.
- Fritsch, P., 1985. La pollution par les nitrate. *La Recherche*, 169, p. 1106, Paris.
- Lixandru, Gh., Buzdugan, C., ș.a., 1993. Consecințe sanogenetice ale nitraților din hrana oamenilor. *Revista științifică „V. Adamache”* II, p. 184, Iași.
- Prigar, J., 1994. The effect of nitrate accumulation in vegetables, Praha.

Abstract

The Sanogenetic Consequences of Nitrates in Feeds. Methods of Reducing N-NO_3 from Vegetal Products

Preventing accumulation and degreasing the nitrate and nitrite contents in freshly consumed vegetables (and also in green feeds) are of permanent concern of agronomists involved in agricultural production.

Complex soluble fertilizers used for supplementary foliage fertilization of crops, stimulate the metabolic processes in plants and intensify the incorporation of mineral nitrogen in protein substances. The effect of corrective foliage fertilizers on diminution of nitrates content is very active in leafy vegetables.

Keywords: vegetables, nitratoreductase, nitrates.