



**ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ
ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΩΝ ΓΕΩΠΟΝΩΝ
ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ
«ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΣΥΣΣΩΡΕΥΣΗΣ ΝΙΤΡΙΚΩΝ ΣΕ ΝΕΑΡΑ ΦΥΤΑ
ΣΠΑΝΑΚΙΟΥ ΣΕ ΣΧΕΣΗ ΜΕ ΤΟ ΣΤΑΔΙΟ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΤΟΥΣ»**

**Αδάμος Δημήτριος
Αλεξιάδης Αλέξανδρος**

**Επιβλέπων: ΧΑΡΑΛΑΜΠΟΣ ΚΑΡΙΠΙΔΗΣ,
Καθηγητής ΤΕΙ ΗΠΕΙΡΟΥ**

ΑΡΤΑ, Νοέμβριος 2017

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο:ΣΠΑΝΑΚΙ	5
1.1 Γενικά στοιχεία	5
1.2 Βοτανική περιγραφή-ταξινόμηση	5
1.3 Εδαφοκλιματικές απαιτήσεις	6
1.4 Θρεπτική αξία	6
1.5 Ιδιότητες	7
1.6 Παράγωγη-συγκομιδή-οικονομική σημασία	9
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2^ο:ΣΤΟΙΧΕΙΟ ΑΖΩΤΟ (N)	11
2.1 Άζωτο ως απαραίτητο θρεπτικό συστατικό στα φυτά	11
2.2 Μορφές του ανόργανου αζώτου που προσλαμβάνονται από τα φυτά	12
2.3 Παράγοντες που επηρεάζουν την πρόσληψη και τις μεταβολές του αζώτου στα φυτά	12
2.3.1 Παράγοντες που επηρεάζουν την συγκέντρωση NO⁻³ στα φυτά	13
2.3.2 Κλιματικοί παράγοντες	13
2.3.3 Γενετικοί παράγοντες	14
2.4 Νιτρικά και προβλήματα υγείας	15
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3^ο:ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	16
3.1 Σκοπός του πειράματος	17
3.2 Υλικά και μέθοδοι	20
3.3 Αποτελέσματα	26
3.4 Συζήτηση	29
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	32

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Φυτά σπανακιού καλλιεργήθηκαν στο θερμοκήπιο μέσα σε γλάστρες με μείγμα τύρφης-περλίτη. Η λίπανση των φυτών έγινε με την χορήγηση θρεπτικών διαλυμάτων. Σκοπός του πειράματος ήταν να μελετηθεί η μεταβολή της συγκέντρωσης των νιτρικών ανιόντων στους υπέργειους ιστούς (κυρίως φύλλα), νεαρών φυτών σπανακιού κατά την διάρκεια των πρώτων μηνών της ανάπτυξής τους, για να διαπιστωθεί η σχέση μεταξύ χρόνου-σταδίου ανάπτυξης αλλά και η επίδραση της παροδικής διακοπής της χορήγησης ανόργανου αζώτου, στην περιεκτικότητα των νεαρών φυτών του σπανακιού σε νιτρικά. Η ποσότητα των νιτρικών στους υπέργειους ιστούς των φυτών προσδιορίστηκε φασματοφωτομετρικά με την μέθοδο του χρωμοτροπικού οξέος. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα νεαρά φυτά του σπανακιού αυξάνουν σταθερά την ποσότητα των νιτρικών που συσσωρεύουν, όσο αυξάνεται η ηλικία τους. Επίσης, η έγκαιρη διακοπή της παροχής αζώτου στα φυτά μπορεί να περιορίσει σημαντικά τα νιτρικά που συσσωρεύονται στα σπανάκια.

ABSTRACT

Spinach plants were cultivated in a greenhouse in pots filled with peat-perlite mixture. The fertilization of the plants was done by nutrient solutions. The purpose of the experiment was to study the change in the concentration of nitrate anions in the spinach leaves during the first months of their development to establish the relationship between time and stage development and the effect of temporary interruption of nitrogen fertilization on the nitrate content of young plants of spinach. The nitrate content was measurement photometrical by chromotropic acid method. The results showed that the young plants of the spinach steadily increase the amount of nitrates that accumulate, as their growing stage increases. Also, pause of nitrogen supply to plants can significantly reduce nitrates that accumulate in spinach.



Εικ.1.1,1.2 Φυτά καλλιέργειας σπανακιού

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο : ΣΠΑΝΑΚΙ

1.1 Γενικά στοιχεία

Το σπανάκι (*Spinacia oleracea*) ανήκει στην οικογένεια Chenopodiaceae. Είναι φυλλώδες πράσινο λαχανικό και καταναλώνεται αφού μαγειρευτεί. Εν τούτοις όμως χρησιμοποιείται και νωπό σε σαλάτες. Διατίθεται στην αγορά νωπό, κονσερβοποιημένο ή κατεψυγμένο. Καλλιεργείται σε πολλές χώρες του κόσμου σε εποχές κατά την διάρκεια των οποίων το κλίμα είναι ψυχρό και υγρό, δηλ. οι θερμοκρασίες είναι χαμηλές. Στην περιοχή της Ασίας, όπου αποτελεί και το κέντρο διασποράς του σπανακιού, καλλιεργείται σε μεγάλη κλίμακα (75% της παγκόσμιας παραγωγής). Το υπόλοιπο 25% καλλιεργείται στην Ευρώπη.

1.2 Βοτανική περιγραφή-Ταξινόμηση

<u>Βασίλειο:</u>	<u>Φυτά</u> (Plantae)
<u>Συνομοταξία:</u>	<u>Αγγειόσπερμα</u> (Magnoliophyta)
<u>Ομοταξία:</u>	<u>Δικοτυλήδονα</u> (Magnoliopsida)
<u>Υποομοταξία:</u>	<u>Καρυοφυλλίδες</u> (Caryophyllidae)
<u>Τάξη:</u>	<u>Καρυοφυλλώδη</u> (Caryophyllales)
<u>Οικογένεια:</u>	<u>Χηνοποδιοειδή</u> (Chenopodiaceae)
<u>Γένος:</u>	Spinacia
<u>Είδος:</u>	<i>S. oleracea</i>

1.3 Εδαφοκλιματικές απαιτήσεις

Καλλιεργείται σε πολλές χώρες του κόσμου σε εποχές κατά την διάρκεια των οποίων το κλίμα είναι ψυχρό και υγρό, δηλ. οι θερμοκρασίες είναι χαμηλές. Ευδοκίμει σε περιοχές με μέση θερμοκρασία 16 - 18°C, αλλά αποδίδει ικανοποιητικά και σε χαμηλότερες μέσες θερμοκρασίες, γύρω στους 10°C. Νεαρά φυτά μπορούν να ανεχθούν θερμοκρασίες παγετού μέχρι και -9°C, χωρίς να υποστούν σημαντικές ζημιές. Η άριστη θερμοκρασία εδάφους για τη βλάστηση του σπόρου κυμαίνεται από 10 - 15°C. Τα εδάφη μέσης σύστασης, όπως τα αμμοπηλώδη, πλούσια σε οργανική ουσία, είναι τα πλέον κατάλληλα για την καλλιέργεια του σπανακιού. Σε περιοχές, όμως με υψηλές βροχοπτώσεις κατά τη διάρκεια της καλλιέργειας, τα ελαφρά αμμώδη εδάφη που στραγγίζουν ευκολότερα θεωρούνται ακόμη περισσότερο κατάλληλα. Το άριστο pH πρέπει να κυμαίνεται μεταξύ 6-7. Η καλλιέργεια του σπανακιού γίνεται με απευθείας σπορά στο χωράφι. Στην Ελλάδα οι σπόροι ή σπέρνονται στα "πεταχτά" ή φυτεύονται με σπαρτικές μηχανές σε γραμμές με απόσταση 20-30cm. Το βάθος σποράς πρέπει να είναι περίπου 1-2cm. Η σπορά στην Ελλάδα γίνεται από το τέλος του καλοκαιριού μέχρι τις αρχές της άνοιξης.

1.4 Θρεπτική Αξία

Το σπανάκι είναι ένα από τα πλουσιότερα σε θρεπτικά συστατικά πράσινα φυλλώδη λαχανικά. Ένα φλιτζάνι βρασμένο σπανάκι υπερκαλύπτει τις ημερήσιες ανάγκες του οργανισμού μας σε βιταμίνες Α και Κ. Επίσης, το σπανάκι είναι πλουσιότατη πηγή μαγγανίου και φυλλικού οξέος, ενώ παρέχει μαγνήσιο και σίδηρο (αν και στη λιγότερο απορροφήσιμη από τον οργανισμό μας μορφή του), βιταμίνη C και βιταμίνες του συμπλέγματος Β. Είναι λογικό, λοιπόν, που οι επιστημονικές έρευνες αποδεικνύουν πόσο ωφέλιμο είναι για την υγεία μας.

1.5 Ιδιότητες

(α) Αντικαρκινική προστασία

Οι επιστήμονες μελετούν εκτενώς τις αντικαρκινικές ιδιότητες του σπανακιού, κυρίως λόγω της μεγάλης περιεκτικότητάς του σε φλαβονοειδή και πολυφαινόλες (αντιοξειδωτικές ουσίες). Σε μια πρόσφατη μελέτη, που δημοσιεύτηκε στην έγκυρη επιστημονική επιθεώρηση «International Journal of Cancer» (Νοέμβριος 2007), βρέθηκε ότι ορισμένα είδη φλαβονοειδών που υπάρχουν στο σπανάκι συσχετίζονται με μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου των ωοθηκών. Συγκεκριμένα, διαπιστώθηκε ότι η αυξημένη πρόσληψη λουτεολίνης (φλαβόνης), καθώς και κεπερόλης (φλαβονόλης), πηγή των οποίων είναι το σπανάκι, συσχετίζεται με μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης αυτής της μορφής καρκίνου κατά 34% και κατά 40% αντίστοιχα. Επιπλέον, σε μια ακόμη έρευνα, που δημοσιεύτηκε στο ίδιο περιοδικό το Δεκέμβριο του 2007, διαπιστώθηκε μια ακόμη ιδιότητα του σπανακιού: Ότι προστατεύει σημαντικά από την εμφάνιση καρκίνου του οισοφάγου.

(β) Φιλικό με την καρδιά

Το σπανάκι είναι ιδιαίτερα πλούσιο σε αντιοξειδωτικά - μέχρι σήμερα έχουν βρεθεί σε αυτό 13 διαφορετικά είδη φλαβονοειδών, τα οποία έχουν αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Το σπανάκι θωρακίζει τα αγγεία και παρέχει προστασία από τα καρδιαγγειακά νοσήματα και τα εγκεφαλικά επεισόδια. Αυτό επιβεβαιώνεται από ευρύτατες επιδημιολογικές μελέτες του Πανεπιστημίου του Harvard, οι οποίες απέδειξαν ότι τα πράσινα φυλλώδη λαχανικά, όπως το σπανάκι, μαζί με τα φρούτα, που είναι πλούσια σε βιταμίνη C, είναι ιδιαίτερα καρδιοπροστατευτικά. Επιπλέον, σύμφωνα με τις ίδιες μελέτες, τα πράσινα φυλλώδη λαχανικά (όπως το σπανάκι), τα κραμβοειδή (όπως το μπρόκολο) και τα εσπεριδοειδή συσχετίζονται με μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης εγκεφαλικού. Ακόμη, σύμφωνα με έρευνα σε ποντίκια, που δημοσιεύτηκε στην επιθεώρηση «Journal of Agriculture and Food Chemistry», έχει διαπιστωθεί ότι το σπανάκι περιέχει 4 πεπτίδια που συμβάλλουν στη μείωση της αρτηριακής πίεσης.

(γ) Προφυλάσσει τα μάτια

Σε έρευνα που δημοσιεύτηκε στην επιθεώρηση «Archives of Ophthalmology» παρατηρήθηκε ότι η πρόσληψη λουτεΐνης -του αντιοξειδωτικού που το σπανάκι περιέχει σε αφθονία- καθώς και βιταμίνης Ε συσχετίζονται με σημαντική μείωση του κινδύνου εμφάνισης καταρράκτη στις γυναίκες. Σε παρόμοια συμπεράσματα είχαν καταλήξει παλαιότερα και ερευνητές του Πανεπιστημίου του Harvard. Οι τελευταίοι διαπίστωσαν ότι η κατανάλωση σπανακιού, τουλάχιστον δύο φορές την εβδομάδα, μειώνει στο μισό την πιθανότητα να γίνει επέμβαση καταρράκτη στους άνδρες.

(δ) Ωφέλιμο για τα οστά

Το σπανάκι αποτελεί μία από τις καλύτερες πηγές βιταμίνης Κ - ένα φλιτζάνι φρέσκο σπανάκι καλύπτει το 200% των ημερήσιων αναγκών μας. Η βιταμίνη Κ ενεργοποιεί την οστεοκαλσίνη, μια πρωτεΐνη που συμμετέχει στην εναπόθεση ασβεστίου στα οστά. Έχει παρατηρηθεί ότι η βιταμίνη Κ επενεργεί θετικά στην οστική πυκνότητα και μειώνει τον κίνδυνο καταγμάτων. Πρόσφατη έρευνα που δημοσιεύτηκε στην επιθεώρηση «Nutrition in Clinical Practice» προτείνει την αύξηση της πρόσληψης βιταμίνης Κ στο πλαίσιο της προστασίας των οστών.

(ε) Δυναμώνει το μυαλό

Η κατανάλωση σπανακιού φαίνεται ότι μπορεί να καθυστερήσει τον εκφυλισμό των νευρικών κυττάρων του εγκεφάλου που επέρχεται με την πάροδο των χρόνων. Αυτό ήταν το συμπέρασμα έρευνας που δημοσιεύτηκε στην επιθεώρηση «Journal of Neuroscience» και πραγματοποιήθηκε σε ποντίκια. Οι ερευνητές πειραματίστηκαν με το σπανάκι, τη φράουλα και τη βιταμίνη Ε, αλλά παρατήρησαν ότι η δράση του σπανακιού ήταν η πλέον εντυπωσιακή.

1.6 Παράγωγή-Συγκομιδή-Οικονομική σημασία

Η συγκομιδή αρχίζει όταν τα φυτά αποκτήσουν εμπορεύσιμο μέγεθος. Το χρονικό διάστημα που μεσολαβεί από τη σπορά μέχρι τη συγκομιδή διαρκεί από 35-70 ημέρες, ανάλογα με τον ρυθμό ανάπτυξης του φυτού, που επηρεάζεται από την εποχή και το κλίμα που επικρατεί. Οι περισσότερες φυτείες είναι έτοιμες για συγκομιδή μετά από 40-50 ημέρες. Το φυτό συγκομίζεται όταν έχει αναπτύξει πλήρως 5-6 μεγάλα φύλλα. Κατά τη συγκομιδή το φυτό κόβεται ολόκληρο κάτω από τη ροζέτα και μεταφέρεται έτσι στην αγορά. Όταν η καλλιέργεια προορίζεται για κονσερβοποίηση, η συγκομιδή γίνεται με μηχανικά μέσα και η κοπή γίνεται στη βάση των φύλλων. Στη περίπτωση αυτή, το φυτό αναβλαστάνει και ακολουθεί δεύτερη συγκομιδή. Το σπανάκι μπορεί να συγκομίζεται αφού αποκτήσει εμπορεύσιμο μέγεθος μέχρι λίγο πριν αναπτύξει ανθικό στέλεχος. Πρώιμες ποικιλίες σπανακιού, οι οποίες φυτεύονται για πρώιμη συγκομιδή κινδυνεύουν να σχηματίσουν ανθικά στελέχη καθώς οι ημέρες μεγαλώνουν αργά την άνοιξη και τις αρχές του καλοκαιριού. Κατά τη συγκομιδή στην Ελλάδα τα φυτά εκριζώνονται και το ρίζωμα πλένεται και στη συνέχεια τα φυτά δένονται σε δεσμίδες του 1/2 έως 1/4 του κιλού ή σε μεγαλύτερα δέματα των 5kg ή τοποθετούνται σε σειρές χύμα στα κιβώτια ή το ρίζωμα κόβεται κάτω από το σημείο της ροζέτας και παραμένει ένα πολύ μικρό τμήμα ρίζας μήκους περίπου 1cm. Στην πράξη η συγκομιδή γίνεται το απόγευμα και μεταφέρονται την ίδια νύχτα ή πολύ νωρίς την επόμενη ημέρα στην αγορά. Για να διατηρηθεί η ποιότητά του, θα πρέπει η θερμοκρασία του προϊόντος να μειωθεί αμέσως και γρήγορα μετά τη συγκομιδή για να αποφευχθεί η μάρανση και απώλεια βάρους.

Οι αποδόσεις ποικίλλουν σημαντικά, ανάλογα με την περιοχή και την εποχή καλλιέργειας από 1.000-3.000Kg/στρέμμα. Οι φθινοπωρινές καλλιέργειες δίνουν υψηλότερες αποδόσεις, ενώ οι ανοιξιάτικες χαμηλότερες. Η παραγωγή είναι μειωμένη όταν οι θερμοκρασίες είναι πολύ χαμηλές, όπως επίσης όταν επικρατούν υψηλές θερμοκρασίες και μεγάλη φωτοπερίοδος κατά την ανάπτυξη της καλλιέργειας, γιατί ενθαρρύνουν την ανάπτυξη ανθοφόρων βλαστών σε βάρος της ανάπτυξης

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΣΤΟΙΧΕΙΟ ΑΖΩΤΟ (N)

2.1 Άζωτο ως απαραίτητο θρεπτικό συστατικό στα φυτά

Το άζωτο είναι το στοιχείο που απαιτείται σε μεγάλες ποσότητες από τα φυτά. Οι συνήθεις περιεκτικότητες σε ολικό άζωτο κυμαίνονται από 1% και 5% κατά βάρος. Τα ευρέα αυτά όρια οφείλονται σε διαφοροποιήσεις ανάλογα με το είδος του φυτού, αλλά και την εποχή δειγματοληψίας, που σχετίζεται με το στάδιο ανάπτυξης και τις αντίστοιχες ανάγκες. Απορροφάται από τα φυτά ως NO_3^- , ως NH_4^+ και πιθανά σε μικρές ποσότητες ως μικρομοριακές οργανικές μορφές. Στα υγρά, θερμά και καλώς αεριζόμενα εδάφη με $\text{pH} > 5$ η κυρίαρχη μορφή είναι η NO_3^- .

Όταν το άζωτο απορροφάται από το φυτό υπό NO_3^- μορφή, αυτή για να μετάσχει στη μεταβολική διαδικασία πρέπει πρώτα να αναχθεί σε μορφή NH_3 μέσω μιας ενεργοβόρας αναγωγικής διαδικασίας. Η αναγωγή των νιτρικών περιλαμβάνει 2 ενζυμικές αντιδράσεις που, ανάλογα με το είδος του φυτού, συμβαίνουν στα φύλλα ή και στις ρίζες.

Μικρή και μάλλον προσωρινή αποθήκευση του NO_3^- σε χυμοτόπια μπορεί να συμβεί μόνο υπό ακραίες συνθήκες υπερσυγκέντρωσης NO_3^- στο εδαφικό διάλυμα και απορρόφησής του από τις ρίζες. Διαφορετικά το NO_3^- θα ανάγεται γρήγορα και η αμμωνιακή μορφή NH_4^+ που παράγεται, θα πρέπει να ενσωματωθεί αμέσως σε οργανικές ενώσεις, διότι η συσσώρευσή του στους φυτικούς ιστούς σε ανόργανη μορφή είναι τοξική. Η παραγόμενη NH_3 μετατρέπεται λοιπόν άμεσα σε NH_4^+ που αφομοιώνεται στους φυτικούς ιστούς κυρίως σε μορφή πρωτεΐνης, αμινοξέος ή νουκλεϊκού οξέος.

Το άζωτο υπάρχει επίσης στο μόριο της χλωροφύλλης και συγκεκριμένα στο δακτύλιο της πορφυρίνης. Η επαρκής θρέψη των φυτών με άζωτο, συμβάλλει στην υψηλή φωτοσυνθετική δραστηριότητα και στην ανάπτυξη των φυτών, τα οποία παρουσιάζουν έντονο σκούρο πράσινο χρώμα. Εν τούτοις, περίσσεια αζώτου σε σχέση με άλλα **θρεπτικά στοιχεία**, προκαλεί καθυστέρηση της ωρίμανσης. Αντίθετα, έλλειψη αζώτου προκαλεί κιτρίνισμα του ελάσματος ιδιαίτερα των

παλαιότερων φύλλων αφού είναι ευμετακίνητο στοιχείο, λόγω της απώλειας πρωτεϊνικού αζώτου στους χλωροπλάστες

2.2 Μορφές του ανόργανου αζώτου που προσλαμβάνονται από τα φυτά

Οι ανόργανες μορφές του αζώτου είναι τα ιόντα NH_4^+ , NO_3^- και NO_2^- (το τελευταίο σε αμελητέα ποσά) που προέρχονται κυρίως είτε από την αποικοδόμηση των οργανικών υλικών, είτε από τα χημικά λιπάσματα, που προστίθενται στο έδαφος. Οι μορφές αυτές του αζώτου είναι αφομοιώσιμες από τα φυτά, σε αντίθεση με τις οργανικές ενώσεις του αζώτου. Το NH_4^+ -N κατά ένα μεγάλο ποσοστό απαντάται προσροφημένο στη στερεή φάση του εδάφους ως ανταλλάξιμο και σε ισορροπία με μικρότερες ποσότητες στο εδαφικό διάλυμα. Ένα μικρό ποσοστό του NH_4^+ -N είναι δεσμευμένο στους διαστοιβαδικούς χώρους των ορυκτών της αργίλου με τύπο κρυσταλλικού πλέγματος 2:1, όπως ο βερμικουλίτης και ο ιλλίτης. Το άζωτο αυτό δεν είναι άμεσα προσιτό στα φυτά και το ποσοστό του αυξάνει σημαντικά σε σχέση με το βάθος του εδάφους. Οι άλλες μορφές ανόργανου αζώτου, κυρίως το NO_3^- - N, δεν συγκρατούνται από τη στερεή φάση και κατά κύριο λόγο βρίσκονται στο εδαφικό διάλυμα, μέσω του οποίου κυρίως συντελούνται και οι μεγαλύτερες απώλειες αζώτου.

2.3 Παράγοντες που επηρεάζουν την πρόσληψη και τις μεταβολές του αζώτου στα φυτά

2.3.1 Παράγοντες που επηρεάζουν την συγκέντρωση NO_3^- στα φυτά

- Είδος φυτού
- Ποικιλία
- Όργανα φυτού

- Μέθοδος συγκομιδής

- Ακτινοβολία (εποχή)

- Απόδοση ασθένειας

- Μηχανική σύσταση

- Λίπανση

- Θερμοκρασία και υγρασία

- Διεργασία αποθήκευσης

- Εποχή συγκομιδής

2.3.2 Κλιματικοί παράγοντες

Οι κλιματικοί παράγοντες επηρεάζουν την συγκέντρωση NO_3^- τόσο σε μακροπρόθεσμη βάση, όσο και βραχυπρόθεσμα. Ελάχιστη συγκέντρωση παρατηρείται στις 4 το απόγευμα. Μέγιστο σε νιτρικά εμφανίζεται από τις 4 το απόγευμα ως 8 το πρωί. Η συγκέντρωση NO_3^- στους φυτικούς ιστούς βρίσκεται πάντα σε δυναμική ισορροπία, διότι αντιπροσωπεύει τη διαφορά μεταξύ απορρόφησης και αναγωγής μέσα στο φυτό. Επίσης μπορεί να λάβει χώρα μεταφορά από και προς ένα φυτικό τμήμα, μετά την απορρόφηση NO_3^- . Έτσι η συγκέντρωση NO_3^- μπορεί να μεταβληθεί με τροποποίηση μιας τουλάχιστον από τις πιο πάνω διεργασίες.

Σύμφωνα με τα σημερινά δεδομένα οι κλιματικοί παράγοντες που επηρεάζουν τη συγκέντρωση νιτρικών στα φυτά είναι:

- 1) Φως
- 2) Θερμοκρασία
- 3) Συγκέντρωση CO_2

2.3.3 Γενετικοί Παράγοντες

Οι ποικιλίες σπανακιού με λεία φύλλα περιέχουν πολύ λιγότερα NO_3^- σε σύγκριση με τις ποικιλίες που έχουν σγουρά φύλλα, επίσης μεγαλύτερες συγκεντρώσεις βρέθηκαν σε ποικιλίες μαρουλιών κεφαλόμορφου (Butter head) τύπου. Οι διαφορές στις συγκεντρώσεις NO_3^- μπορεί να σχετίζονται με διαφορές στην απορρόφηση, αφομοίωση ή μεταφορά των NO_3^- . Στις ποικιλίες με λεία φύλλα η δραστηριότητα του ενζύμου της ρεδουκτάσης των νιτρικών (NR) είναι πολύ μεγαλύτερη, σε σύγκριση με τις σγουρές ποικιλίες. Πολλές φορές παρατηρείται συγκέντρωση NO_3^- στους μίσχους, διότι η δραστηριότητα του ενζύμου NR είναι μικρή. Η επιλογή γονότυπων με υψηλή δραστηριότητα NR τόσο στο υπέργειο τμήμα όσο και στις ρίζες, εξασφαλίζει την αναγωγή των NO_3^- .

2.4 Νιτρικά και Προβλήματα Υγείας

Η συγκέντρωση των νιτρικών ιόντων στους φυτικούς ιστούς αποτελεί ένα φυσιολογικό φαινόμενο, που συνδέεται άμεσα με το μεταβολισμό του αζώτου στα φυτά. Τα φυτά μπορούν να απορροφήσουν το άζωτο είτε υπό μορφή νιτρικών (NO_3^-), είτε υπό μορφή αμμωνιακών (NH_4^+) ιόντων και στη συνέχεια να το ανάγουν και να το ενσωματώσουν στα διάφορα όργανά τους. Ενώ όμως, η αμμωνιακή μορφή αζώτου δεν είναι συγκεντρώσιμη μέσα στους φυτικούς ιστούς, γιατί είναι τοξική για τα φυτά, η νιτρική μορφή συγκεντρώνεται στα χυμοτόπια των κυττάρων τόσο ως παρακαταθήκη αζώτου, αλλά επίσης χρησιμοποιείται από τα φυτά για να αντισταθμίσει τα θετικά φορτία των ιόντων καλίου, μαγνησίου, ασβεστίου, νατρίου, κ.λπ. επιτελώντας μια δράση ωσμωρυθμιστική (Blom-Zandstra and Lampe, 1983), αλλά και συμβάλλοντας στην αποκατάσταση τυχόν ελλείψεων των οργανικών συντελεστών στα μιτοχόνδρια.

Τα ιόντα NH_4^+ μόλις απορροφηθούν χρησιμοποιούνται στη σύνθεση των αμινοξέων και άλλων αζωτούχων ενώσεων (πουρίνες, πυριμιδίνες, ορισμένα συνένζυμα κ.α.).

Τα νιτρικά ιόντα (NO_3^-) όμως όταν απορροφηθούν από το φυτό θα πρέπει πρώτα να αναχθούν σε νιτρώδη (NO_2^-). Αυτό πραγματοποιείται μέσω του ενζύμου ρεδουκτάση των νιτρικών (NR) που συντίθεται και ενεργοποιείται από την παρουσία του υποστρώματος του, δηλαδή των νιτρικών ιόντων. Τα νιτρώδη ιόντα είναι και αυτά τοξικά για τα φυτά και αμέσως ανάγονται σε αμμωνιακά ιόντα μέσω του συμπλόκου ενζύμου της ρεδουκτάσης των νιτρωδών (NiR).

Σε αντίθεση με τα αμμωνιακά ιόντα, το ποσοστό των νιτρικών που δεν ανάγεται από τα ένζυμα μπορεί να συγκεντρωθεί στα κύτταρα, χωρίς να βλάψει το φυτό, αλλά παράλληλα αποτελεί και σημαντική πηγή αποθησαυρισμένων θρεπτικών ουσιών. Μάλιστα, το ποσοστό του νιτρικού αζώτου στους ιστούς, στα πρώτα στάδια ανάπτυξης των φυτών (διαπιστώνεται μέσω φυλλοδιαγνωστικής), αποτελεί σημαντικό δείκτη της υγιεινής κατάστασης της καλλιέργειας και συνδέεται άμεσα με το τελικό παραγωγικό αποτέλεσμα.

Το χαμηλό ποσοστό συγκέντρωσης των νιτρικών μέσα στο φυτό εκδηλώνεται με τα τυπικά συμπτώματα της έλλειψης αζώτου, ενώ η περίσσεια των αμμωνιακών ιόντων εκδηλώνεται με τα ίδια συμπτώματα της έλλειψης καλίου, γιατί υπάρχει υψηλός ανταγωνισμός μεταξύ των δύο αυτών στοιχείων. Ωστόσο, μόνο στις περιπτώσεις όπου η μοναδική πηγή αζώτου είναι η αμμωνιακή, μπορούν να εκδηλωθούν ζημιές στους ιστούς των φυτών.

Από όσα αναφέραμε παραπάνω, προκύπτει ότι τα νιτρικά αποτελούν διεργασία φυσικής σύνθεσης στα φυτά, η συσσώρευση των οποίων στους φυτικούς ιστούς επηρεάζεται από όλους τους παράγοντες που εμπλέκονται στην αφομοίωση του αζώτου.

Δυστυχώς, η παρουσία των νιτρικών στα βρώσιμα τμήματα των φυτών μπορεί να δημιουργήσει σοβαρά προβλήματα στους καταναλωτές, από τη στιγμή που τα νιτρικά, όταν φαγωθούν, μπορούν να αναχθούν σε νιτρώδη, τα οποία με τη σειρά τους, μπορούν να ενωθούν με τις ελεύθερες αμίνες και να σχηματίσουν νιτροζαμίνες, ενώσεις εξαιρετικά καρκινογόνες.

Τα κυριότερα προβλήματα υγείας που μπορούν να υπάρξουν είναι :

- 1)μεθαιμογλουβιναιμια (σύνδρομο κυάνωσης βρεφών)
- 2)γενετικές ανωμαλίες ,νεογνά με προβλήματα στο νευρικό σύστημα
- 3)αιφνιδια διακοπή κύησης
- 4)υπερταση
- 5)υπερτροφια θυρεοειδούς αδένα
- 6)γαστρεντερικος καρκίνος

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3₀: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

3.1 Σκοπός του πειράματος

Το πρόβλημα των νιτρικών στα λαχανικά απασχολεί την σύγχρονη κοινωνία, καθώς η συσσώρευσή τους στους ιστούς των φυλλωδών λαχανικών και η κατανάλωσή τους από τον άνθρωπο, θεωρείται ότι είναι επικίνδυνη για την υγεία των καταναλωτών. Σήμερα τα λαχανικά αποτελούν την κυριότερη πηγή εισροής νιτρικών στον οργανισμό των ενήλικων ανθρώπων. Εκτιμάται πως περισσότερο από 80% της μέσης ημερήσιας εισροής νιτρικών στον οργανισμό προέρχεται από τα λαχανικά. Έτσι στην Ευρωπαϊκή Ένωση έχουν ορισθεί μέγιστα αποδεκτά ποσοστά νιτρικών για διάθεση των νωπών προϊόντων στην κατανάλωση, τόσο σε προϊόντα από θερμοκήπια, όσο και σε υπαίθριες καλλιέργειες φυλλωδών λαχανικών.

Για τα σπανάκια στην Ε.Ε. έχουν καθοριστεί μέγιστα επιτρεπτά όρια για νιτρικά τόσο για τα νωπής κατανάλωσης όσο και ως κατεψυγμένο προϊόν (Κανονισμός Ε.Ε. 563/2002). Για τα νωπής κατανάλωσης σπανάκια οι επιτρεπτές τιμές νιτρικών ανέρχονται στα 3000 mg/kg νβ για τις χειμερινές καλλιέργειες και 2500 mg/kg νβ για τις εαρινές.

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η μεταβολή της συγκέντρωσης των νιτρικών ανιόντων στους υπέργειους ιστούς (κυρίως φύλλα), νεαρών φυτών σπανακιού κατά την διάρκεια των πρώτων μηνών της ανάπτυξής τους, για να διαπιστωθεί η σχέση μεταξύ χρόνου-σταδίου ανάπτυξης αλλά και η επίδραση της παροδικής διακοπής της χορήγησης ανόργανου αζώτου, στην περιεκτικότητα των νεαρών φυτών του σπανακιού σε νιτρικά.



Εικ. 2 φυτά σπανακιού σε πρώιμο στάδιο ανάπτυξης



Εικ. 3 φυτά σπανακιού έτοιμα για συγκομιδή και μέτρηση νιτρικών

3.2 Υλικά και Μέθοδοι

Η σπορά των φυτών του σπανακιού έγινε σε ομαδικά σε κιβώτια σποράς και σε υπόστρωμα ξανθιάς τύρφης στις 26/1/2017. Αμέσως μετά την σπορά έγινε πότισμα του υποστρώματος με νερό του δικτύου ύδρευσης χωρίς επιπλέον προσθήκη ανόργανων θρεπτικών στοιχείων. Ακολούθησαν άλλα δύο ποτίσματα με νερό του δικτύου και μόλις τα φυτά εμφάνισαν τα τρία πρώτα πραγματικά φύλλα έγινε η μεταφύτευση τους την 1/3/2017, σε ατομικά γλαστράκια ανάπτυξης χωρητικότητας 1 λίτρου, τα οποία είχαν γεμίσει με μείγμα ξανθιάς τύρφης και περλίτη σε αναλογία 1:1.

Η λίπανση των φυτών πραγματοποιείτο μαζί με το νερό της άρδευσης. Για τον σκοπό αυτό στο νερό του ποτίσματος προστίθεντο και οι εξής ποσότητες ανόργανων αλάτων: 1) 0,632g/lit φωσφορικό μονοκάλιο (KH_2PO_4), 2) 0,35g/lit νιτρικό κάλιο (KNO_3), 3) 0,42g/lit νιτρική αμμωνία (NH_4NO_3) και 4) 0,36g/lit θειικό μαγνήσιο (MgSO_4). Συνεπώς η αναλογία των βασικών θρεπτικών στοιχείων (N-P-K) που ποτίζονταν τα φυτά ήταν: (10-7-15 + 4 Mg) και οι συγκεντρώσεις των παραπάνω στοιχείων ήταν:

N \approx 200 mg/L

P \approx 140 mg/L

K \approx 300 mg/L

Mg \approx 70 mg/L

Επιπλέον των παραπάνω ποσοτήτων έγινε και σε ορισμένα ποτίσματα προσθήκη 0,2 γρ/lit από πλήρες μείγμα ιχνοστοιχείων για την κάλυψη των θρεπτικών αναγκών των φυτών σε αυτά.

Κατά την διάρκεια των πρώτων μηνών της ανάπτυξης των φυτών έγιναν πέντε προσδιορισμοί (δειγματοληψίες) νιτρικών στους υπέργειους ιστούς των φυτών του πειράματος. Η πρώτη μέτρηση πραγματοποιήθηκε 20 ημέρες μετά την μεταφύτευση. Η Δεύτερη μέτρηση πραγματοποιήθηκε μετά από μία εβδομάδα στις 27/3/17. Ακολούθως στα επόμενα ποτίσματα και μέχρι την τρίτη δειγματοληψία, η οποία πραγματοποιήθηκε 35 ημέρες μετά την μεταφύτευση των φυτών, χρησιμοποιήθηκε μόνο νερό του δικτύου χωρίς την προσθήκη λιπασμάτων. Αμέσως μετά ακολουθήσαν άλλες δύο δειγματοληψίες όπου στα φυτά μαζί με το νερό του ποτίσματος επαναλήφθηκε η χορήγηση λιπασμάτων, σύμφωνα με τις ποσότητες που

αναφέρθηκαν προηγούμενα. Η τέταρτη 50 ημέρες μετά την μεταφύτευση των φυτών και η πέμπτη 60 ημέρες.



Εικ. 4 φυτό στο στάδιο εμφάνισης 2-3 φύλλων έτοιμο για μεταφύτευση

Κατά την διενέργεια των δειγματοληψιών γινόταν αρχικά προσδιορισμός του νωπού βάρους των δειγμάτων και ακολούθως τα δείγματα μεταφέρονταν σε θάλαμο ξήρανσης όπου γινόταν η ξήρανση τους σε θερμοκρασία 70° C για 48 ώρες. Αμέσως μετά τα ξηρά δείγματα ζυγίζονταν για να προσδιορισθεί το ξηρό βάρος τους και αλέθονταν σε πορσελάνινη κάψα κονιοποίησης. Τα κονιοποιημένα δείγματα σφραγίζονταν σε πλαστικά φιαλίδια Errendorf και τοποθετούνταν σε κατάψυξη ψυγείου για να διατηρηθούν μέχρι να γίνει ο προσδιορισμός των νιτρικών.

Ο προσδιορισμός των νιτρικών στους ιστούς του σπανακιού στα πλαίσια της παρούσας εργασίας έγινε με την φωτομετρική μέθοδο του χρωμοτροπικού οξέος (Kowalenko, C.G. and. Lowe, L.E., 1973) επί εκχυλίσματος νιτρικών ιόντων από δείγματα ξηρών ιστών σπανακιού. Η επιλογή της ξήρανσης των δειγμάτων- φυτικών ιστών πριν την διαδικασία εκχύλισης και όχι η άμεση εκχύλιση των νιτρικών από νωπούς ιστούς, έγινε καθώς οι ξηροί ιστοί μπορούν να αποθηκεύουν στο ψυγείο για

αρκετό διάστημα χωρίς την αλλοίωση της σύστασης των ανόργανων συστατικών τους, διευκολύνοντας έτσι την εκτέλεση του πειράματος.

Η διαδικασία των πειραματικών μετρήσεων ολοκληρωνόταν σε δύο στάδια:

1. Εκχύλιση των νιτρικών από τα ξηρά δείγματα

A. Αντιδραστήρια:

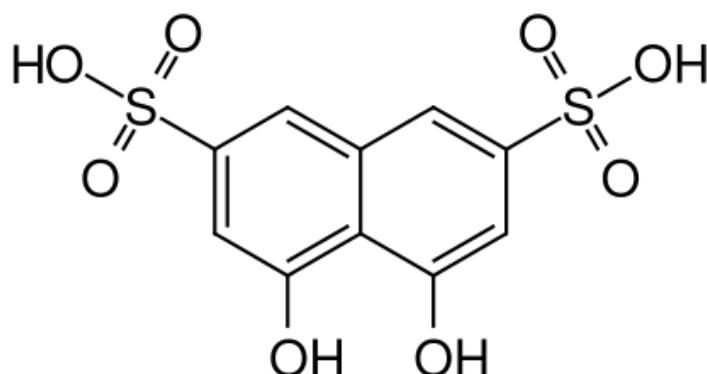
- Εκχυλιστικό διάλυμα. Παρασκευάζεται διαλύοντας 25 gr θεικού χαλκού ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) και 3,3 gr θεικού αργύρου (Ag_2SO_4) σε 5lt. Καλύτερα ο θεικός άργυρος να διαλύεται σε ζεστό νερό.
- Μίγμα υδροξειδίου του ασβεστίου ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) και ανθρακικού μαγνησίου- υδροξειδίου μαγνησίου ($\text{MgCO}_3 + \text{Mg}(\text{OH})_2$). Παρασκευάζεται με ένα μέρος ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) και δύο μέρη $\text{MgCO}_3 + \text{Mg}(\text{OH})_2$ μέσα σε γουδί με πάρα πολύ καλό ανακάτεμα.
- Ενεργός άνθρακας (Carcoal activated). Χρησιμοποιείται για τον αποχρωματισμό των εκχυλισμάτων.

B. Εκτέλεση της διαδικασίας εκχύλισης

- Ποσότητα 100 mg ξηρών ιστών από το κάθε δείγμα προστίθεται σε ποτήρι ζέσεως των 50 ml.
- Στη συνέχεια προσθέτουμε 10 ml εκχυλιστικού διαλύματος [$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$] + (Ag_2SO_4)] και μια μικρή ποσότητα ενεργού άνθρακα (περίπου 20 mg).
- Ακολούθως γίνεται προσθήκη 100 mg μίγματος [$\text{Ca}(\text{OH})_2 - \text{MgCO}_3$],
- Ακολουθεί ανάδευση για 1 λεπτό με μηχανικό αναδευτήρα και το αφήνουμε στη συνέχεια σε ηρεμία για 20 min.
- Το διάλυμα διηθείται με ηθμό *Whatman No 2* ή κάποιο αντίστοιχο.

2. Ανάπτυξη χρώματος - Μέθοδος χρωμοτροπικού οξέος

Το χρωμοτροπικό οξύ (4,5-διυδροξυναφθαλίνο-2,7-δισουλφονικό οξύ) (εικ....), είναι μια χημική ένωση, η οποία σε έντονα όξινο περιβάλλον αντιδρά εκλεκτικά με τα νιτρικά ανιόντα προς παραγωγή κίτρινου προϊόντος, το οποίο απορροφά το φως στα 410 nm και παραμένει σταθερό για 24 h περίπου. Η αντίδραση είναι ποσοτική και σε συγκεντρώσεις νιτρικού αζώτου από 1 έως 30-35 mgL^{-1} έχει γραμμική σχέση με την απορρόφηση στο παραπάνω μήκος κύματος.



Συντακτικός τύπος του χρωμοτροπικού οξέος (4,5-dihydroxynaphthalene-2,7-disulfonic acid).

A. Αντιδραστήρια

- Διάλυμα Θεικής ουρίας: Παρασκευάζεται διαλύοντας 5 gr ουρίας και 4 gr Na_2SO_3 σε 100 ml απεσταγμένο νερό. Προστίθεται για την οξείδωση τυχών νιτρωδών (NO_2) ανιόντων στο εκάστοτε δείγμα, σε νιτρικά.
- Αντιδραστήριο χρωμοτροπικού οξέος: Παρασκευάζεται διαλύοντας 0,1 gr χρωμοτροπικού οξέος σε 100 ml θεικού οξέος (H_2SO_4). Διατήρηση για 2 εβδομάδες σε σκούρα φιάλη.
- Standard Νιτρικών (με μορφή N στα νιτρικά): Παρασκευάζεται διάλυμα 1.000 ppm με την προσθήκη 0,720 gr νιτρικού καλίου (KNO_3) σε 100 ml νερό. Στη συνέχεια το διάλυμα αυτό αραιώνεται δέκα φορές ώστε να προκύψει διάλυμα των 100 mgL^{-1} . Με κατάλληλη αραιώση γίνεται η παρασκευή των *standards* διαλυμάτων. Χρησιμοποιούνται για την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς.
- Πυκνό-θερμό Θειικό οξύ (H_2SO_4)

B. Εκτέλεση της διαδικασίας ανάπτυξης χρώματος

- ✓ Το εκάστοτε δείγμα εκχυλίσματος φυτικών ιστών αραιώνεται κατάλληλα έτσι ώστε η απορρόφηση του φασματοφωτόμετρου να βρίσκεται κάτω από την τιμή 1,5 που αντιστοιχεί σε συγκεντρώσεις αζώτου που

βρίσκονται μέσα στο γραμμικό μέρος της καμπύλης αναφοράς (κάτω από 30 mgL⁻¹ N), όπως φαίνεται παρακάτω.

- ✓ Παίρνουμε 200 μl από το εκχύλισμα κάθε δείγματος (μετά από την αραίωση) και τα τοποθετούμε σε δοκιμαστικό σωλήνα.

- ✓ Προσθέτουμε μία σταγόνα από το αντιδραστήριο της θειικής ουρίας με συνεχή ανάδευση.

- ✓ Αφήνουμε το δείγμα σε ηρεμία για 4 min.

- ✓ Τοποθετούμε τον δοκιμαστικό σωλήνα μέσα σε υδατόλουτρο με παγωμένο νερό για την απορρόφηση της εκλυόμενης θερμότητας κατά την προσθήκη των οξέων που ακολουθεί.

- ✓ Προσθέτουμε 100 μl από το αντιδραστήριο του χρωμοτροπικού οξέος με συνεχή ανάδευση.

- ✓ Στη συνέχεια προσθέτουμε προσεκτικά 700 μl πυκνού θειικού οξέος (H₂SO₄).

- ✓ Αναδεύουμε για λίγο.

- ✓ Τοποθετούμε το δείγμα σε υδατόλουτρο με θερμοκρασία 10-20° C για 45 min.

- ✓ Το δείγμα τοποθετείται στο φασματοφωτόμετρο για την μέτρηση της απορρόφησης του, σε μήκος κύματος 410 nm.



Φασματοφωτόμετρο για την μέτρηση της απορρόφησης των δειγμάτων, σε μήκος κύματος 410 nm.

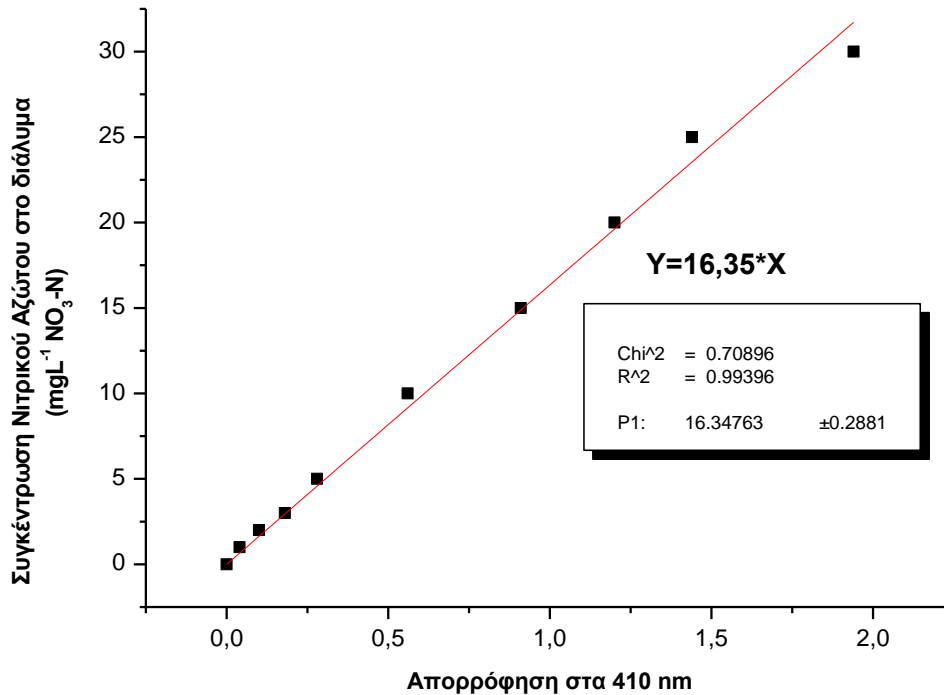
Γ. Κατασκευή καμπύλης αναφοράς

Αυτή αφορά την γραμμική σχέση μεταξύ της απορρόφησης του φασματοφωτόμετρου στα 410 nm και της συγκέντρωσης του νιτρικού αζώτου στα διαλύματα από 0 έως 30 mgL⁻¹. Σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις δεν ισχύει η γραμμική σχέση. Για την κατασκευή της χρησιμοποιούνται διαλύματα γνωστών συγκεντρώσεων NO₃-N (παρασκευασμένο από νιτρικό κάλιο – KNO₃) με διαβάθμιση από 0 έως 30 mgL⁻¹ και προσδιορίζεται η απορρόφησή τους από το όργανο.

Αντιστοίχιση τιμών απορρόφησης του φασματοφωτόμετρου σε μήκος κύματος 410 nm, με τις πρότυπες συγκεντρώσεις νιτρικού (NO₃-N) αζώτου από 1 έως 30 mgL⁻¹.

Συγκέντρωση NO ₃ -N (mgL ⁻¹)	Απορρόφηση οργάνου	Συγκέντρωση NO ₃ -N (mgL ⁻¹)	Απορρόφηση οργάνου
0	0	10	0,56
1	0,04	15	0,91
2	0,1	20	1,2
3	0,18	25	1,44
5	0,28	30	1,94

Στο παρακάτω διάγραμμα παρουσιάζεται η καμπύλη αναφοράς που προσδιορίστηκε με βάση τα *standard* διαλύματα του πειράματός μας



Καμπύλη αναφοράς νιτρικού αζώτου στα 410 nm.

Η παραπάνω καμπύλη αναφοράς αφορά την γραμμική σχέση, η οποία προκύπτει από την στατιστική επεξεργασία της γραμμικής παλινδρόμησης της συγκέντρωσης του νιτρικού αζώτου, πάνω στις ενδείξεις του φασματοφωτόμετρου και η οποία είναι :

$$Y = 16,35 \times X \quad (R^2=99,4\%)$$

όπου Y είναι η συγκέντρωση του νιτρικού αζώτου σε ppm που αντιστοιχεί στην τιμή X της ένδειξης του φασματοφωτόμετρου.

Επειδή στο εκάστοτε διάλυμα που εισάγεται προς μέτρηση στο φασματοφωτόμετρο η τιμές Y αφορούν τις συγκεντρώσεις του νιτρικού N σε mgL⁻¹, ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης των NO₃⁻ στα φύλλα του σπανακιού και η επεξεργασία των αποτελεσμάτων, έγινε ύστερα από αναγωγή των mgL⁻¹ νιτρικού N σε mg NO₃/kg νωπού βάρους.

Για την μετατροπή των mgL^{-1} νιτρικού N σε $\text{mg NO}_3^-/\text{kg}$ νωπού βάρους, υπολογίσθηκε αρχικά η περιεκτικότητα σε mg νιτρικών του δείγματος των 100mg ξηρών ιστών, τα οποία ανάγονται σε βάρος νωπών ιστών λαμβάνοντας υπόψη τον συντελεστή αφυδάτωσης. Από την τιμή αυτή αναλογικά προσδιορίζεται η περιεκτικότητα σε νιτρικά ανά χιλιόγραμμο νωπού βάρους.

$$\text{Δηλαδή } Y=N \times d \times D \times 4,4$$

Όπου:

Y: Νιτρικά (mg/kg νβ) στο κάθε φυτό

N: νιτρικό άζωτο (mgL^{-1}) σε κάθε δείγμα μετά την κατάλληλη αραίωση (ένδειξη οργάνου $\times 16,35$)

d: βαθμός αραίωσης του κάθε δείγματος

D: ποσοστό % της ξηρής ουσίας του εκάστοτε δείγματος

4,4: συντελεστής αντιστοίχισης του βάρους του νιτρικού αζώτου με το βάρος των νιτρικών ανιόντων.

3.3 Αποτελέσματα

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται αναλυτικά τα αποτελέσματα των μετρήσεων των δειγμάτων των φυτών του σπανακιού κατά την διάρκεια του πειράματος.

Τιμές νιτρικών (mg/kg νβ) στα φυτά σπανακιού κατά τις πέντε δειγματοληψίες του πειράματος.

Επανάληψη	1 ^η δειγ/ψια	2 ^η δειγ/ψια	3 ^η δειγ/ψια	4 ^η δειγ/ψια	5 ^η δειγ/ψια
1	325,66	757,37	195,82	1114,74	945,19
2	575,89	874,52	149,1	1136,91	1692,99
3	471,78	765,64	(555,1)	(1472,37)	1107,89
4	546,35	772,21	235,92	876,46	1832,32
5	601,65	(444,51)	187,54	1003,93	1304,56

Οι τιμές που βρίσκονται μέσα σε παρένθεση εξαιρέθηκαν από την παραπέρα αξιολόγηση-επεξεργασία καθώς ύστερα από στατιστικό έλεγχο κρίθηκαν ως ακραίες

(outliers). Για τον έλεγχο της ύπαρξης ακραίων τιμών εφαρμόστηκε η μέθοδος του διατεταρτημοριακού εύρους (interquartile range – IQR) του Tukey (Tukey, 1977).

Η ανάλυση της διασποράς των παραπάνω τιμών (εξαιρουμένων των «ακραίων») έγινε σύμφωνα με το εντελώς τυχαίοποιημένο σχέδιο (ΕΤΣ) με ένα παράγοντα (χρόνος ανάπτυξης των φυτών) με πέντε μεταχειρίσεις (δειγματοληψίες) και παρουσιάζεται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας ανάλυσης της διασποράς (ANOVA) των τιμών της περιεκτικότητας των φυτών του σπανακιού σε νιτρικά, για τις πέντε δειγματοληψίες του πειράματος.

Πηγή Παραλ/τητας	BE	Άθροισμα Τετραγώνων	Μέσο Τετράγωνο	F πειράματος	P
Μεταχειρίσεις (δειγματοληψίες)	4	3794468,82	948617,2	23,84	<0,001 ***
Υπόλοιπο (πειρ. Σφάλμα)	17	676350,86	39785,34		
Σύνολο	21	4470819,67			

$$R^2 = SS_{\text{model}}/SS_{\text{total}} = 0,85$$

$$\text{Root MS}_{\text{error}} = \sqrt{\text{MS}_{\text{error}}} = 199,46$$

$$\text{Mean } Y = 794,29$$

Συντελεστής παραλλακτικότητας (Coefficient of Variation):

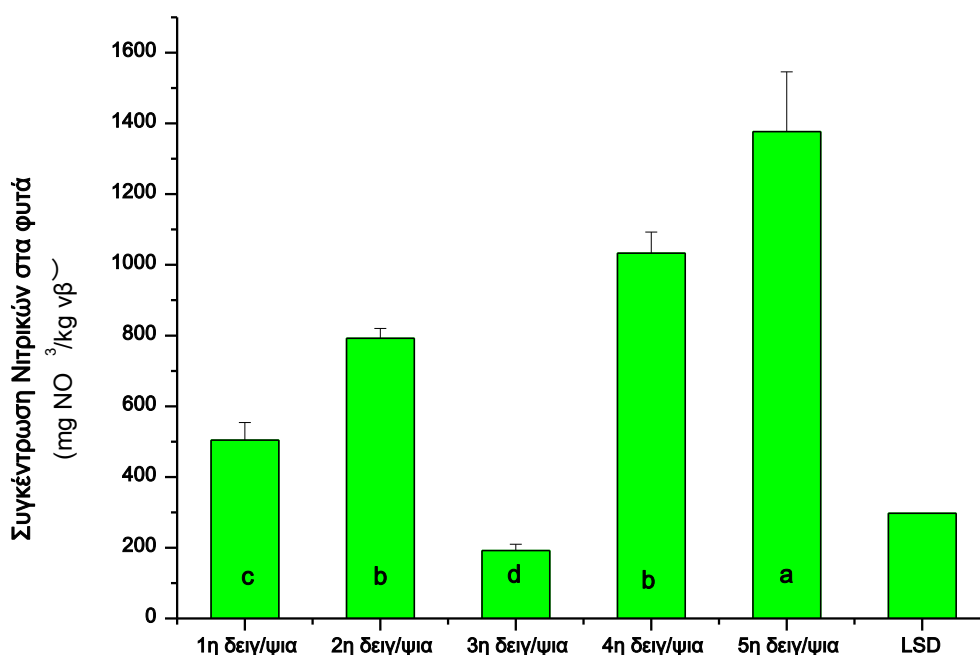
$$CV = 199,46/794,29 \times 100\% = 25,11\%$$

Από την παραπάνω ανάλυση της διασποράς είναι προφανές ότι μεταξύ των μέσων των πειραματικών επεμβάσεων (δειγματοληψίες) υπάρχουν σημαντικές διαφορές (F=23,84 με 4 και 17 BE, P<0,001). Οι συγκρίσεις των μέσων των πειραματικών επεμβάσεων παρουσιάζονται στο παρακάτω πίνακα.

Μέσοι και τυπικά σφάλματα (ΤΣ) της περιεκτικότητας των φυτών του σπανακιού σε νιτρικά (mg/kg νβ) κατά τις πέντε δειγματοληψίες του πειράματος. Οι μέσοι που συνοδεύονται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0,05$.

Επεμβάσεις	Μέσος \pm ΤΣ (mg/kg νβ)	n
1η δειγ/ψια (20 ημέρες από την μεταφύτευση)	504,26 \pm 49,67 (c)	5
2η δειγ/ψια (27 ημέρες από την μεταφύτευση)	792,44 \pm 27,53 (b)	4
3η δειγ/ψια (35 ημέρες από την μεταφύτευση)	192,09 \pm 17,8 (d)	4
4η δειγ/ψια (50 ημέρες από την μεταφύτευση)	1033,01 \pm 59,74 (b)	4
5η δειγ/ψια (60 ημέρες από την μεταφύτευση)	1376,59 \pm 169,01 (a)	5
LSD ($\alpha=0,05$)	297,57	

Τα παραπάνω αποτελέσματα παρουσιάζονται και στο γράφημα της παρακάτω εικόνας



Μεταβολή της συγκέντρωσης των νιτρικών στους υπέργειους ιστούς των φυτών του σπανακιού που καλλιεργήθηκε σε μείγμα τύρφης –περλίτη κατά την διάρκεια των δύο πρώτων μηνών από την μεταφύτευσή τους.

3.4 Συζήτηση

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η μεταβολή της συγκέντρωσης των νιτρικών ανιόντων στους υπέργειους ιστούς (κυρίως φύλλα), νεαρών φυτών σπανακιού κατά την διάρκεια των πρώτων μηνών της ανάπτυξής τους.

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα νεαρά φυτά του σπανακιού αυξάνουν σταθερά την ποσότητα των νιτρικών που συσσωρεύουν, όσο αυξάνεται η ηλικία τους και αυξάνεται και η βιομάζα τους, όταν μαζί με το νερό του ποτίσματος, τους χορηγείται και αζωτούχος λίπανση.

Πράγματι κατά τις δύο πρώτες δειγματοληψίες (20 και 27 ημέρες από την μεταφύτευση των φυτών), όταν στο το νερό του ποτίσματος προστίθετο και αζωτούχο λίπασμα, τα νιτρικά παρουσίασαν αύξηση και από 500 mg/kg vβ που μετρήθηκαν κατά την πρώτη δειγματοληψία, ανήλθαν στα 800 mg/kg vβ. Αντίθετα, αμέσως μετά την δεύτερη δειγματοληψία όταν στα φυτά χορηγήθηκε μόνο καθαρό

νερό για χρονικό διάστημα μιας εβδομάδας, κατά την τρίτη δειγματοληψία (35 ημέρες από την μεταφύτευση), οι τιμές των νιτρικών παρουσίασαν μεγάλη μείωση φθάνοντας τα 200 mg/kg νβ. Η επανάληψη της χορήγησης του αζώτου με το νερό του ποτίσματος αμέσως μετά την τρίτη δειγματοληψία, είχε σαν αποτέλεσμα την αύξηση της συγκέντρωσης των νιτρικών, και κατά την τέταρτη δειγματοληψία (50 ημέρες από την μεταφύτευση), οι τιμές των νιτρικών ανήλθαν σε επίπεδα αντίστοιχα με την δεύτερη δειγματοληψία (1000 mg/kg νβ). Τελικά, 60 ημέρες από την μεταφύτευση, οι τιμές των νιτρικών έφθασαν τα 1400 mg/kg νβ (πέμπτη δειγματοληψία).

Η συσσώρευση νιτρικών στα φυλλώδη λαχανικά εξαρτάται από διάφορους παράγοντες οι κυριότεροι των οποίων είναι η υπερβολική αζωτούχος λίπανση (Blom-Zandstra, 1989) και η χαμηλή ένταση της ηλιακής ακτινοβολίας, (Steingrover *et al.*, 1993). Στην ΕΕ έχουν θεσπιστεί μέγιστα όρια για νιτρικά στα σπανάκια (νωπό προϊόν), τα οποία ανέρχονται στα 3000 mg/kg νβ για τις χειμερινές καλλιέργειες και 2500 mg/kg νβ για τις εαρινές (Κανονισμός Ε.Ε. 563/2002). Οι παραπάνω τιμές νιτρικών είναι αρκετά υψηλότερες από τις τιμές που προσδιορίστηκαν στα φυτά της παρούσας μελέτης. Αυτό είναι σαφής ένδειξη ότι κατά την διεξαγωγή του πειράματος δεν έγινε υπερβολική χρήση ανόργανου αζώτου για την λίπανση των φυτών και ότι η συγκέντρωση των 200 mg N L⁻¹ στο νερό του ποτίσματος δεν προκαλεί υπέρμετρη αύξηση των νιτρικών στα φυτά του σπανακιού (τουλάχιστο κατά τους πρώτους μήνες της ανάπτυξής τους).

Παρόλα αυτά, τα πειραματικά αποτελέσματα της μελέτης μας φανερώνουν ότι σε συνθήκες συνεχούς παρουσίας ανόργανου αζώτου (νιτρικών ανιόντων και αμμωνίου) στο υπόστρωμα ανάπτυξης των φυτών, η συσσώρευση των νιτρικών στα φύλλα τους παρουσιάζει συνεχή αύξηση, η οποία με την σειρά της είναι παράλληλη με την αύξηση των νεαρών φυτών.

Το φαινόμενο αυτό πιθανότατα σχετίζεται με την παράλληλη αύξηση του ριζικού συστήματος των φυτών, το οποίο καθώς διαριζώνει μεγαλύτερο ποσοστό του υποστρώματος είναι ικανό να απορροφά και μεγαλύτερες ποσότητες νερού για να καλύψει τις ολοένα και μεγαλύτερες ανάγκες διαπνοής των νεαρών και ταχέως αναπτυσσόμενων φυτών. Είναι γνωστό ότι τα νιτρικά (η κύρια μορφή αζώτου αναγκαίου για την ανόργανη διατροφή των φυτών) προσλαμβάνονται από τις ρίζες

των φυτών μη εκλεκτικά, μέσω του ρεύματος της διαπνοής των φυτών. Συνεπώς και με δεδομένη συγκέντρωση νιτρικών στο εδαφικό διάλυμα όσο περισσότερο νερό απορροφούν οι ρίζες των φυτών τόσο περισσότερα νιτρικά να προσλαμβάνονται από τα φυτά. Με άλλα λόγια τα φυτά δεν είναι σε θέση να ελέγξουν την ποσότητα του νιτρικού αζώτου που προσλαμβάνουν από το εδαφικό διάλυμα (μη εκλεκτική απορρόφηση) μέσω του ρεύματος της διαπνοής. Και δεν είναι αναγκαίο αυτό για τα φυτά, καθώς τα νιτρικά δεν είναι τοξικά ιόντα για τα φυτικά κύτταρα.

Επίσης έχει διαπιστωθεί ότι σε συνθήκες αυξημένης χορήγησης ανόργανου αζώτου οι ποσότητες των νιτρικών που συσσωρεύονται στα φυτικά κύτταρα αυξάνονται δυσανάλογα σε σχέση με την αύξηση του υπέργειου μέρους των φυτών (Ράπτη, 2009). Δηλαδή τα φυτά δεν παρουσιάζουν αντίστοιχη αύξηση στην ανάπτυξή τους όταν τους χορηγούνται αυξημένες ποσότητες ανόργανου αζώτου. Το πλεονάζον άζωτο συγκεντρώνεται στα χυμοτόπια των κυττάρων (κυρίως των φύλλων και της ρίζας) υπό μορφή των μη τοξικών νιτρικών ανιόντων. Υπό αυτή την μορφή έχει πλέον διπλό ρόλο για τα φυτά. Αποτελεί παρακαταθήκη αζώτου για μελλοντική χρήση στον μεταβολισμό και την βιοσύνθεση αζωτούχων οργανικών ουσιών για τα φυτά, όταν παραστεί σχετική έλλειψη αζώτου στο εδαφικό διάλυμα. Εξίσου όμως σημαντικός είναι ο ρόλος των νιτρικών που αποθησαυρίζονται και συσσωρεύονται στα κυτταρικά χυμοτόπια ως ρυθμιστικές ουσίες της σπαργής των κυττάρων (ωσμορυθμιστές) (Blom-Zandstra and Lampe, 1983). Αυτός είναι και ο λόγος που ακόμα και σε συνθήκες πλήρους απουσίας του αζώτου από το εδαφικό διάλυμα νιτρικά εξακολουθούν και ανιχνεύονται στους ιστούς των φυτών, όπως ακριβώς και κατά την τρίτη δειγματοληψία στα φυτά της παρούσας εργασίας.

Δύο είναι τα σημαντικά συμπεράσματα από τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας. α) Συγκεντρώσεις αζώτου στο νερό του ποτίσματος της τάξης των 200 mgL⁻¹ επαρκούν για να καλύψουν τις ανάγκες της ανόργανης διατροφής των φυτών του σπανακιού χωρίς να προκαλέσουν υπέρμετρη αύξηση στην συσσώρευση νιτρικών στα φύλλα τους και β) η έγκαιρη διακοπή της παροχής αζώτου στα φυτά μπορεί να περιορίσει σημαντικά τα νιτρικά που συσσωρεύονται στα σπανάκια.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Tukey, J. W., 1977. Exploratory data analysis. Reading, PA: Addison-Wesley.
- Κανονισμός Ε.Ε. 563/2002. Τροποποίηση του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 466/2001 για τον καθορισμό μέγιστων τιμών ανοχής για ορισμένες προσμείξεις στα τρόφιμα (νιτρικά άλατα). Επίσημη Εφημερίδα των Ευρωπαϊκών Κοινοτήτων. L86/5-L86/6.
- Kowalenko, C.G. and. Lowe, L.E., 1973. Determination of nitrates in soil extracts. Soil Sci. Soc. Am. Proc. 37:660.
- Blom-Zandstra, G., and Lampe, J., 1983. The effect of chloride and sulphate salts on the nitrate content in lettuce (*Lactuca sativa* L.). J. Plant Nutrition 6(7): 611-628.
- Steingrover, E.G., Steenhuizen, J.W., and Vander Boon, J., 1993. Effects of low light Intensities at night on nitrate accumulation in lettuce grown on a recirculating nutrient solution. Netherlands J. Agric. Sci. 41(1): 13-21.
- Ράπτη Βασιλική, 2009. Επίδραση της θειικής λίπανσης στη συσσώρευση νιτρικών στο μαρούλι και στο ραπάνι καλλιεργουμένων σε τεχνητό υπόστρωμα. Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, ΔΠΜΣ «Αγροχημεία και Βιολογικές Καλλιέργειες». Διπλωματική Εργασία. Ιωάννινα.
- Macz, O., Paparozzi, E. T. and W. W. Stroup.** (2001). *The effect of nitrogen and sulfur applications on pot chrysanthemum production and post-harvest performance I. Leaf nitrogen and sulfur concentrations.* J. Plant Nutrition 24(1):111-130
- <http://www.gaiapedia.gr/gaiapedia/index.php/%CE%A3%CF%80%CE%B1%CE%BD%CE%AC%CE%BA%CE%B9%CF%86%CF%85%CF%84%CF%8C>
- <http://www.herb.gr/index.php.sample/catalog/product/view/id/910/s/spanaki/category/24/>
- <https://www.c-gaia.gr/news/newscategories/entry/2014-09-05-11-54-35>
- <http://www.vita.gr/diatrofi/eating-healthy/article/5513/sto-mikroskopio-to-spanaki/>
- http://back-to-nature.gr/2015/03/blog-post_4719.html
- www.botany.ubc.ca/biol351/351h.htm
- www.scripps.edu/~stroupe/