

Avtorica prispevka:

Nataša Šink, Biotehniški center Naklo, Slovenija, [natasa.sink@quest.arnes.si](mailto:natasa.sink@quest.arnes.si)

# Dušikovi izotopi v zelenjavi glede na način gojenja

## Izvleček

Uporaba različnih gnojil ima vpliv na ostanek nitratov v rastlinah. Pri uporabi organskih gnojil pretvorba amonijskega dušika v nitrat poteka počasneje kot pri mineralnih lahko topnih gnojilih. Zaradi počasnejše pretvorbe ne prihaja do presežkov nitrata v rastlinah, kar pa se lahko zgodi pri predoziranju lahko topnih mineralnih gnojil. V gnojilu, v tleh in v rastlini se pojavljajo različni izotopi dušika (glede na vrsto gnojila), kar nam pomaga pri preverjanju izvora zelenjave. To je pomembno pri preverjanju ekološke zelenjave. Prisotnost težjih izotopov v rastlinah kaže na zelenjavo ekološkega izvora, prisotnost lažjih izotopov kaže na prisotnost gnojil anorganskega izvora. Pri raziskavi smo uporabili deskriptivno metodo in komparativno metodo dveh načinov pridelovanja zelenjave. Organsko gnojilo je bil kompostiran prašičji gnoj, urea pa je bila mineralno gnojilo. Rastline, ki so rasle na s kompostom pognojnih tleh, so vsebovale 27,2 % iz  $\text{NH}_4^+$  dušika, z ureo gnojene pa 8,7 % iz  $\text{NH}_4^+$  dušika. Z merjenjem dušikovih izotopov ne moremo sklepati o načinu gojenja. Visoke pozitivne vrednosti  $\delta^{15}\text{N}$  sicer kažejo na gnojenje z organskimi gnojili, nizke vrednosti  $\delta^{15}\text{N}$  ali celo negativne vrednosti  $\delta^{15}\text{N}$  pa kažejo na močno gnojenje z lahko topnimi dušikovimi gnojili, ki vsebujejo večjo količino lažjih izotopov dušika.

Ključne besede: gnojilo, dušik, nitrat, nitrit, izotop dušika

## NITROGEN ISOTOPES IN VEGETABLES WITH REGARD TO THE CULTIVATION METHOD

### Summary

The usage of different fertilizers has an influence on the content of nitrate residues in plants. The conversion of ammoniac nitrogen into nitrate is slower by using organic fertilizers than using synthetic ones. Due to slower conversion there is no nitrate abundance in plants, which may occur when overdosing synthetic fertilizers. Various nitrogen isotopes can be traced in a fertilizer, the soil and plants after using a certain fertilizer, which helps verifying the plants growing location. This is important for authenticating organic vegetables. The usage of organic fertilizers is confirmed by the presence of heavier isotopes in plants. On the other hand, the usage of synthetic fertilizers shows the presence of lighter isotopes. In our study we used the descriptive method and the comparative method of two cultivation method. The pig manure was the organic fertilizer and urea was the mineral fertilizer. Plants growing soil fertilized with compost contained 27,2% from  $\text{NH}_4^+$  nitrogen, but plants fertilized with

urea contained 8.7‰ from  $\text{NH}_4$ -nitrogen. By measuring the isotopes of nitrogen we cannot conclude in the manner of cultivation. High positive values  $\delta^{15}\text{N}$  indicate fertilization with organic fertilizers, low or even negative values  $\delta^{15}\text{N}$  shows the usage of synthetic fertilizers, which contain a larger amount of lighter isotopes of nitrogen.

*Key words: fertilizer, nitrogen, nitrate, nitrite, nitrogen isotope*

## 1 Uvod

Hrano lahko pridelujemo na različne pridelovalne načine: konvencionalno po načelih dobre kmetijske prakse, ekološko, integrirano, biodinamično. Konvencionalna pridelava z nepravilno uporabo pesticidov in gnojil onesnažuje vodo in tla ter povzroča splošno onesnaženje ekosistema. Poveča tudi erozijo tal in povečuje stroške pridelave. Ekološka pridelava rastlin temelji na organskih gnojilih in bioloških sredstvih za varstvo rastlin brez uporabe sintetičnih gnojil in sintetičnih pesticidov. Glavna razlika med ekološko in konvencionalno pridelavo je v gnojenju, gospodarjenju s tlemi kar vpliva na vsebnost in sestavo hranilnih snovi v rastlinah.

Ekološka proizvodnja potrebuje odlično oskrbo. Pridelovalci morajo več skrbí posvetiti gnojenju z organskimi gnojili, ker so možne okužbe z mikroorganizmi (največkrat *Escherichia coli*, koliformnimi bakterijami, mikotoksini) in paraziti. Pogosto nastanejo okužbe zato, ker za kompost ni bilo pravilno poskrbljeno. Uporaba ne kompostiranega gnoja govedi lahko vodi do okužbe zelenjave. Pri ekološki zelenjavi lahko kombinacija hlevskega gnoja in zmanjšana poraba fungicidov povzročita večje onesnaženje z mikroorganizmi (Lima in Vianello, 2011).

Ekološko pridelana zelenjava vsebuje več suhe snovi (predvsem v listih, korenih in gomoljih) kot konvencionalno pridelana zelenjava, več antioksidativnih mikrohranil, 94 do 100 % ekološko pridelane hrane ne vsebuje ostankov pesticidov, ekološko pridelana zelenjava vsebuje 50% manj nitratov, posledično pa tudi manj proteinov (Lairon, 2009).

Uporaba različnih gnojil rast zelenjave lahko zelo pospeši in poveča pridelek. V ekološki pridelavi vsa gnojila niso dovoljena. Ali je bilo uporabljeno nedovoljeno gnojilo se da preveriti.

V ekološko pridelani zelenjavi (v listih, korenih in gomoljih) so našli več suhe snovi kot v konvencionalno pridelani zelenjavi, medtem, ko v plodovih ni bilo razlik, proteinov pa je v ekološki zelenjavi nekoliko manj kot v konvencionalni. Najpomembnejši minerali v zelenjavi so: Ca, Mg, K, Zn, Cu, Mn, Se, I, P, Na (Lairon, 2009).

## 2 Metoda dela

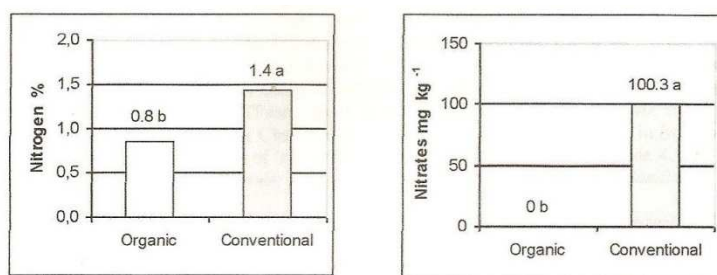
Način dela je potekal z deskriptivno in komparativno metodo ter metodo analize in sinteze. Pregledali smo literaturo na temo ekološke, integrirane in konvencionalne pridelave hrane, predvsem korenčka (*Daucus carota* sp. *Sativus* Hoff.). Pregledali smo literaturo, kjer so predstavljene teme gnojenja z mineralnimi in organskimi gnojili in rezultati, ki so pokazatelj določenega načina gnojenja. Primerjali smo različne načine pridelovanja korenčka ter pregledali vsebnost različnih izotopov dušika v korenčku, ki je različna glede na način pridelave. Ugotavljali smo ali se z prisotnostjo dušikovih izotopov lahko ugotovi izvor korenčka.

### 3 Rezultati

Ljudje 80% nitratov zaužijemo iz zelenjave. Nitrati so naravno prisotni v rastlinah. Absorbirajo se skozi korenine, uporabijo pa se tudi pri tvorbi aminokislin. Nitrati se akumulirajo v rastlinskem tkivu. Rezultati primerjave ekološko in konvencionalno gojenega korenčka so različni. V Nemčiji so v primerjavi ekološkega in konvencionalnega korenčka ugotovili 61% manj nitratov v ekološkem korenčku, v Provansi je bilo v ekološkem korenčku 22 % manj nitratov kot v konvencionalnem. Poskusa v Izraelu in na Norveškem nista pokazala razlik v vsebnosti nitratov glede na način gojenja korenčka. Nivo nitrata v rastlinah je odvisen od razpoložljivosti dušika rastlinam, temperature, sorte ter izpostavljenosti svetlobi. Uporaba organskih gnojil s počasnim sproščanjem dušika (npr. komposta) je ključ do razlage za nizko tvorbo nitratov v ekološko gojenem korenčku (30 do 50 % manj nitrata) (Lairon, 2009).

Dopustna dnevna količina zaužitega nitrata je 5 mg/kg telesne teže in 0,2 mg nitrita /kg telesne teže. Kemična dušik vsebujoča gnojila, ki se uporabljajo v konvencionalni pridelavi in hidroponiki povzročajo kopičenje nitrata v rastlinskem tkivu (Lima in Vianello, 2011).

Nitrati sami velike škode ne povzročajo, vendar se v telesu transformirajo v toksične nitrite. Nitriti so 6 do 10-krat bolj škodljivi od nitratov. Nitrati se v nitrite lahko pretvorijo že med samo pridelavo, med skladiščenjem in med transportom. Nitrati reagirajo z amini in tvorijo nitrozamine, ki so rakogeni in mutageni ter povzročajo tumorje in levkemijo (EMÜ, 2011).



Slika 1: Vsebnost dušika in nitrata v ekološkem in konvencionalnem korenčku (Bender in sod., 2009)

V raziskavi (slika 1) je bilo v ekološkem korenčku manj dušika in manj nitratov (ekološki korenček ga je imel 0,8 % dušika, konvencionalni 1,4 %, ekološki korenček nitratov ni vseboval, konvencionalni pa jih je imel 100,3 mg/kg). Tudi druge raziskave so pokazale, da je imel ekološki korenček manj nitratov (Leclerc 1991, Warman in Havard 1997, Rembialkowska 2000, 2003 in 2007) (Bender in sod., 2009).

Za ugotavljanje izvora zelenjave se preverjajo izotopi dušika v zelenjavi. Rastlina sprejme  $\text{NH}_4^+$  in  $\text{NO}_3^-$  iz tal, nato ju prenese na mesto asimilacije, sledi pa pretvorba anorganskega dušika v organski dušik. Dušik se v naravi pojavlja v dveh izotopih,  $^{15}\text{N}$  in  $^{14}\text{N}$ . V zelenjavi se pojavljajo različni izotopi dušika, glede na to s katero vrsto gnojila je bila kultura pognojena.

Z rastjo rastline raste tudi vsebnost  $\text{NO}_3^-$  v rastlini. Vsebnost  $\delta^{15}\text{N}$  v rastlini je različna zaradi vremenskih pogojev (hladno, toplo, suho, vlažno), zaradi tal ali načina gojenja (hidroponsko ali v substratu). Vsebnost  $\delta^{15}\text{N}$  je različna tudi v različnih delih rastlin (Evans, 2001).

Ta razlika  $\delta^{15}\text{N}$  v rastlini nastane zaradi različne asimilacije  $\text{NH}_4^+$  v primerjavi z  $\text{NO}_3^-$ . Amonij se takoj po prevzemu asimilira v korenino, nitrat se lahko takoj po prevzemu asimilira v korenino in v liste. Nitrat, ki je v listih se obogati v  $^{15}\text{N}$ , zato je vrednost  $\delta^{15}\text{N}$  dušika v listih večja kot v koreninah (Bateman, Kelly, 2006 (4)).

Razmerje dušikovih izotopov med lažjim  $^{14}\text{N}$  ( $\delta^{15}\text{N}$ ) in težjim izotopom  $^{15}\text{N}$  izražamo v promilih. Vrednost  $\delta^{15}\text{N}$  predstavlja relativno razliko izotopske sestave raziskovanega vzorca glede na standard. Kot standard za podajanje vrednosti se uporablja dušik, ki je v zraku. Vrednost standarda je 0,0036765. Pri dušiku obstajata dva stabilna izotopa:  $^{14}\text{N}$  in  $^{15}\text{N}$ . Pozitivno razmerje nam pove, da je v vzorcu več težkega izotopa kot v standardu, negativno razmerje pa pove, da je v vzorcu manj težkega izotopa kot v standardu. Razmerje med izotopi je podano kot razmerje težjega in manj pogostega izotopa proti lažjemu, a bolj pogostemu izotopu ( $\delta^{15}\text{N} = \{R_{\text{vzorec}}/R_{\text{standard}}\} \times 1000\text{‰}$ ) (Evans, 2001).

Različna dušik vsebujoča gnojila imajo različno izotopsko sestavo dušika. Vsebnost  $^{15}\text{N}$  ( $\delta^{15}\text{N}$ ) je pri kompostiranem hlevskem gnoju večja (vrednost  $> +8\text{‰}$ ) kot pri umetnih gnojilih (vrednost  $-3$  do  $+2\text{‰}$ ). To se zgodi zaradi hitrejšega izhlapevanja lažjega ( $^{14}\text{N}$ ) izotopa, ki izhlapeva v procesu kompostiranja. Uporaba kompostiranega hlevskega gnoja v področjih, kjer je prepovedana uporaba kemičnih gnojil oz. kjer se spodbuja ekološka pridelava narašča (Choi, Ro, Lee, 2003).

Atmosferski dušik ima stalno izotopsko vezavo. Nekaj dušika je vezanega tudi v tleh. Dušik v tleh sestavljajo težji izotopi, kot pa dušik v zraku. Kakšno je razmerje dušika v rastlinah je odvisno od načina pridelave in od vrste rastline. Metuljnice vežejo dušik iz zraka in ne moremo ugotoviti načina pridelave, ker imajo nižje vrednosti razmerja izotopov (Evans, 2001).

Razmerje izotopov v sintetičnih gnojilih je od  $-5$  do  $+5$ , v živalskih iztrebkih (hlevskem gnoju) pa od  $+10$  do  $+20$  (veliko težjega izotopa). Lažji izotop se v prehranjevalni verigi živali izloči v urin. Dušik v živalskih iztrebkih se hidrolizira v amonijak in nato pretvori v nitrat. V tako nastalih nitratih je več težjega izotopa kot v sintetičnih gnojilih (Petrović B., 2011).

Izotopi dušika se uporabljajo za ugotavljanje načina pridelave zelenjave (ekološko ali konvencionalno). Konvencionalno pridelana zelenjava ima nižjo vrednost  $\delta^{15}\text{N}$  v primerjavi z ekološko pridelano zelenjavo, ki je gnojena z organskimi gnojili.  $\delta^{15}\text{N}$  anorganskih gnojil je od  $-2$  do  $+2$  (blizu 0), ker so ta gnojila proizvedena iz atmosferskega dušika (KAN, UREA). Organska gnojila (kompost in hlevski gnoj) imajo višjo vrednost  $\delta^{15}\text{N}$ , ker amonijak hitreje izhlapeva pri izotopu  $^{14}\text{N}$ . Organska gnojila imajo vrednost  $\delta^{15}\text{N}$  od  $+2$  do  $+10\text{‰}$ . Nižja vrednost  $\delta^{15}\text{N}$  pomeni anorganski izvor dušika, višja vrednost  $\delta^{15}\text{N}$  pa organski izvor dušika (Petrović B., 2011).

Učinek  $\delta^{15}\text{N}$  na rastline, ko hočejo pridelovalci zakriti uporabo sintetičnih gnojil še ni dobro raziskan. Izotopsko razlikovanje pridelka lahko uporabimo za razlikovanje med ekološko in konvencionalno pridelanimi živili. Te metode ne moremo uporabiti pri rastlinah, ki vežejo dušik iz zraka (Šturm in sod., 2011).

V poskusu sta bila uporabljena kompostiran prašičji gnoj zmešan z žagovino kot organsko gnojilo in urea kot mineralno gnojilo. Uporabili so ju samostojno in v kombinaciji. Vsebnost  $\delta^{15}\text{N}$  so merili pri  $\text{NH}_4^+$  dušiku in  $\text{NO}_3^-$  dušiku. 20 dni po presajanju je bila vsebnost  $\delta^{15}\text{N}$  različna. Rastline, ki so rastle na negnojnih, kontrolnih tleh so vsebovale  $28,6\text{‰}$   $\delta^{15}\text{N}$  iz  $\text{NH}_4^+$  dušika, s kompostom pognojena tla  $27,2\text{‰}$  iz  $\text{NH}_4^+$  dušika, z ureo gnojena tla  $8,7\text{‰}$  iz  $\text{NH}_4^+$  dušika.  $\delta^{15}\text{N}$  iz  $\text{NO}_3^-$  dušika je bilo v rastlinah na kontrolnih tleh  $8,1\text{‰}$ , v rastlinah gojenih na s kompostom pognojnih tleh  $17\text{‰}$  in v rastlinah gojenih na tleh pognojnih z ureo  $-12\text{‰}$  (Yun in sod., 2006).

Učinek  $\delta^{15}\text{N}$  na rastline pri gnojenju po delih lahko omogoči pridelovalcem, da zakrijejo uporabo sintetičnih gnojil. V poskusu so gnojili na več načinov: enkratno gnojenje z

organskimi gnojili, enkratno gnojenje s sintetičnimi gnojili, gnojenje z organskim gnojilom po gnojenju s sintetičnim gnojilom, gnojenje s sintetičnim gnojilom po gnojenju z organskim gnojilom, dvakratno gnojenje s sintetičnimi gnojili in dvakratno gnojenje z organskimi gnojili. V vseh primerih je bilo vnesenega 40 mg N/kg tal, kar je tipično za slovenske pridelovalce (Šturm in sod., 2011).

Najvišje vrednosti  $\delta^{15}\text{N}$  so bile pri rastlinah enkratno gnojenih z organskim gnojilom (12,4‰). Visoke vrednosti  $\delta^{15}\text{N}$  so bile tudi pri kombinaciji organskega gnojenja z s sintetičnim ter organskega gnojila z organskim (v obeh primerih 10,4‰). To pomeni, če na začetku gnojimo z organskim gnojilom kasneje pa s sintetičnim se uporaba sintetičnega gnojila prekrije z organskim gnojilom). Kontrolne rastline so vsebovale 6,6‰  $\delta^{15}\text{N}$  (dušik so črpale iz tal). Rastline gnojene samo enkratno s sintetičnim gnojilom (5,8‰), dvakratno s sintetičnim gnojilom (5,6‰) in sintetičnim gnojilom, kasneje pa z organskim (5,6‰) so imele najnižje vrednosti  $\delta^{15}\text{N}$ . Kasnejše gnojenje z organskim gnojilom ne zakrije uporabe sintetičnega gnojila (Šturm in sod., 2011).

Vsebnost celotnega dušika in dušikovih spojin v tleh je različna glede na uporabo gnojila. Tla, ki so bila pognojena z umetnim gnojilom vsebujejo nizko vrednost skupnega dušika ter amonijevega iona. Tla, ki so bila gnojena s kompostom pa vsebujejo nizko vrednost  $\text{NO}_3^-$  dušika, več pa imajo skupnega dušika in dušika v obliki  $\text{NH}_4^+$  (Choi, Ro, Hobbie, 2003).

Mineralni dušik se zelo hitro pretvori v  $\text{NO}_3^-$  obliko ali je v tej obliki že dodan v tla. Pri gnojenju z organskimi gnojili se mora  $\text{NH}_4^+$  mineralizirati do  $\text{NO}_3^-$ . Pretvorba traja dlje časa, dušik se počasneje sprošča. Lažje ( $^{14}\text{N}$ ) oblike dušika v tem času že izhlapijo v zrak.

Ekološko gojene rastline so manj odvisne od vira dodanega dušika kot konvencionalno gojene rastline. Ekološka pridelava spodbuja vključevanje metuljnic v kolobar in uporabo zelenega gnojenja oziroma setvijo rastlin z globokimi koreninami. Na ta način imajo tla podaljšano rodnost in zmanjša se odvisnost kratkoročne vloge gnojila (Bateman, Kelly, 2006 (7)).

#### 4 Zaključek

Okus ekološko pridelane zelenjave je boljši, ker zelenjava vsebuje manj vode in več suhe snovi zaradi manjše količine lahko topnega dušika iz gnojil. Lahko zraste popolnoma brez dodanih lahko topnih dušikovih gnojil. Taka zelenjava raste počasneje od konvencionalno gojene. Z merjenjem dušikovih izotopov ne moremo sklepati na kakšen način je bil korenček gojen. Pozitivne vrednosti  $\delta^{15}\text{N}$  sicer kažejo na gnojenje z organskimi gnojili, lahko pa so bila organska gnojila dodana le prekrivanju uporabe lahko topnih umetnih gnojil. Nizke vrednosti  $\delta^{15}\text{N}$  ali celo negativne vrednosti  $\delta^{15}\text{N}$  pa kažejo na močno gnojenje z lahko topnimi dušikovimi gnojili, ki vsebujejo večjo količino lažjih izotopov dušika.

## Literatura

- 1 Bateman A., Kelly S. 2006. Discriminating between organically and conventionally grown crops using stable isotope and multi-element analysis. Verifying the authenticity of organically grown crops using stable isotope analysis (Q01076) – Final Report. Section 4: Literature review, 14-24.
- 2 Bateman A., Kelly S. 2006. Discriminating between organically and conventionally grown crops using stable isotope and multi-element analysis. Verifying the authenticity of organically grown crops using stable isotope analysis (Q01076) – Final Report. Section 7: Soil, crop fertiliser  $\delta^{15}\text{N}$  relationships, 48-51.
- 3 Bender I., Ess M., Matt D., Moor U., Tönutare T., Luik A. 2009. Quality of organic

- and conventional carrots. *Agronomy research*, 7, 2: 572-577.
- 4 Choi W.-J., Ro H.-M., Hobbie E. A. 2003. Patterns of natural  $^{15}\text{N}$  in soil and plants from chemically and organically fertilized uplands. *Soil biology & biochemistry*. 35: 1493-1500.
  - 5 Choi W.-J., Ro H.-M., Lee S.-M. 2003. Natural  $^{15}\text{N}$  abundances of inorganic nitrogen in soil treated with fertilizer and compost under changing soil moisture regimes. *Soil biology & biochemistry*. 35: 1289-1298.
  - 6 Evans R.D. 2001. Physiological mechanisms influencing plant nitrogen isotope composition. *Trends in plant science*. 6, 3: 121-126.
  - 7 Lairon D. 2009. Nutritional quality and safety of organic food. Marseille, EDP Sciences, Agronomy for sustainable development. 9 str.  
[http://www.organicconsumers.org/artman2/uploads/1/ASD\\_Lairon\\_2009.pdf](http://www.organicconsumers.org/artman2/uploads/1/ASD_Lairon_2009.pdf) (8.11.2011)
  - 8 Lima P.P.G., Vianello F. 2011. Review on the main differences between organic and conventional plant-based foods. *International journal of food science and technology*. 46 (2011) 1-13
  - 9 Petrović B., 2011. Razlike v kemijski in izotopski sestavi konvencionalno in ekološko pridelanih jabolk. Diplomsko delo. Ljubljana. Biotehniška fakulteta. 98 str.
  - 10 Quality of organic vs. conventional food and effects on health. Report. Nutritional value of organic vs. conventional plant products. Fruits and vegetables. 2011. Estonian University of Life Sciences (EMÜ). 104 str.
  - 11 Šturm M., Kacjan-Maršič N., Lojen S. 2011. Can  $\delta^{15}\text{N}$  in lettuce tissues reveal the use of synthetic nitrogen fertiliser in organic production? *Journal of the science of food and agriculture*. 19, 2: 262-267.
  - 12 Yun S.-I., Ro H.-M., Choi W.-J., Chang S. X. 2006. Interactive effects of N fertilizer source and timing of fertilization leaves specific N isotopic signatures in Chinese cabbage and soil. *Soil biology & biochemistry*. 38: 1682-1689.