

Convegno Provinciale
“Direttiva Nitrati: un’opportunità per l’agricoltura campana”
Avellino 21 giugno 2006

NITRATI: SICUREZZA ALIMENTARE E RISCHI PER LA SALUTE



Antonio Malorni
**Istituto di scienze
dell’Alimentazione**
Consiglio Nazionale delle Ricerche
Via Roma 52 a/c, 83100 Avellino
e-mail: malorni@isa.cnr.it

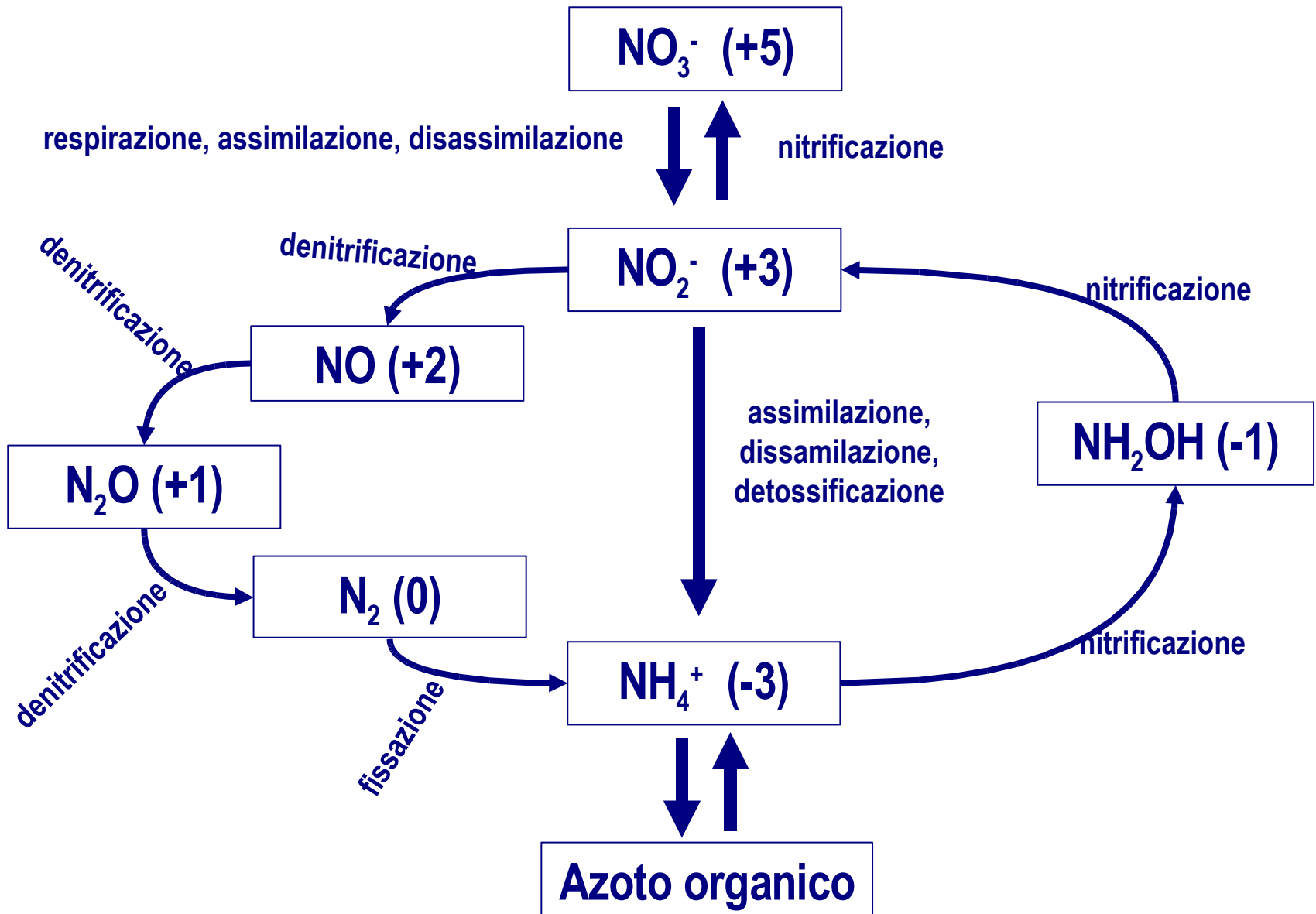
PERCHE' BISOGNA ALLERTARSI?

- 1. Perchè i nitrati sono i contaminanti più comuni;**
- 2. Perchè una esposizione anche breve può essere pericolosa, specialmente per i bambini;**
- 3. Perchè gli effetti cronici e riproduttivi non sono ancora ben noti.**

PRINCIPALI COMPOSTI INORGANICI DELL'AZOTO

Composto	Formula	Stato di ossidazione	Forma nel terreno
Ammonio	NH_4^+	-3	Salina, disciolta; in fase gassosa: ammoniaca (NH_3)
Idrossilamina	NH_2OH	-1	non rilevata
Azoto gassoso	N_2	0	gas
Sottossido di azoto	N_2O	+1	gas, disciolto
Ossido di azoto	NO	+2	gas, disciolto
Nitrito	NO_2^-	+3	salina, disciolta
Nitrato	NO_3^-	+5	salina, disciolta

CICLO NATURALE DELL'AZOTO



CONSIDERAZIONI PRELIMINARI

- I nitrati (NO_3^-) sono sali presenti naturalmente nel suolo e sono essenziali per la vita.
- I nitrati sono formati per azione dei microorganismi su fertilizzanti, su piante in decomposizione, su concimi o altri residui organici.
- ❖ I nitrati sono anche sintetizzati nel nostro organismo in determinate condizioni.
- ❖ I nitrati possono essere agevolmente ridotti *in vivo* e *in vitro* a nitriti (NO_2^-).

QUALI SONO LE FONTI DI ESPOSIZIONE AI NITRATI?

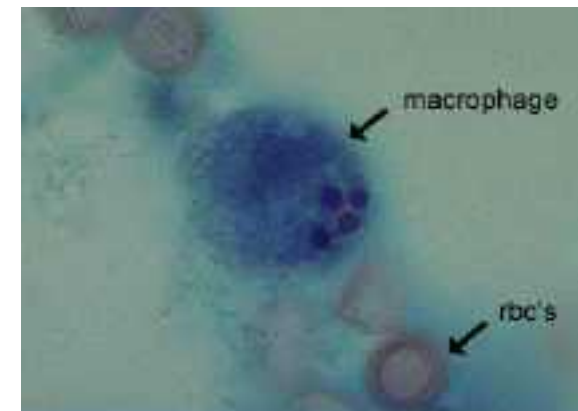
ACQUA



ALIMENTI



SORGENTI ENDOGENE



INQUINAMENTO IDRICO DA NITRATI

La contaminazione delle acque di falda da parte dell'azoto nitrico è dovuta prevalentemente a fattori di origine antropica:

- dilavamento delle superfici agricole trattate con fertilizzanti azotati o con concimi organici;**
- smaltimento di reflui zootecnici;**
- perdita da discariche;**
- scarichi di reflui urbani e/o industriali.**

INQUINAMENTO IDRICO DA NITRATI

- **è stato favorito dai metodi di produzione agricola intensiva, che hanno portato ad un maggiore impiego di fertilizzanti chimici, e alla concentrazione di capi di bestiame in piccoli appezzamenti.**
- **le fonti di tale inquinamento sono diffuse (emissioni in molteplici località, di difficile localizzazione);**
- **dagli anni '80 ha fatto registrare un aumento medio annuo di 1 mg/l nella concentrazione di nitrati nelle acque, riconducibile all'allevamento fuori terreno (polli, suini) in aree già saturate, e a colture intensive, che comportano il ricorso al chemiodiserbo e alla sovraconcimazione;**
- **suscita problemi e preoccupazioni in tutti i Paesi della Comunità, per cui si è arrivati all'adozione della direttiva sul trattamento delle acque reflue urbane e della direttiva sui nitrati.**

AUMENTO DI NITRATI NEI VEGETALI

Attraverso le radici le piante assorbono azoto dal terreno sottoforma di: 1) **nitrato** per ridurlo ad **ammonio** (*nitrato reduttasi*); 2) aminoacidi e altri composti, utili per la sintesi delle proteine nelle foglie mediante la fotosintesi.

Condizioni sfavorevoli di crescita e stress interferiscono con il normale utilizzo dei nitrati da parte della pianta e causano un accumulo di questi composti. Esse sono:

- a) siccità, gelo, grandine e basse temperature (condizioni climatiche sfavorevoli interferiscono con la crescita);
- b) carenza di luce (essenziale per la fotosintesi e la conseguente sintesi proteica);
- c) malattie della pianta (interferiscono con il normale sviluppo della pianta e inibiscono la *nitrato reduttasi*);
- d) carenza di macro e microelementi;
- e) utilizzo di erbicidi (interferiscono con i normali processi metabolici della pianta e causano temporaneo accumulo di nitrati).

CONTENUTO DI NITRATI NEI VEGETALI

Il contenuto di nitrati nei tessuti della pianta dipende anche da:

Specie: i legumi generalmente non accumulano nitrati, mentre sorgo, frumento, segale, graminacee, lino, orzo e avena sono i prodotti che causano i maggiori problemi di accumulo.

Stadio di crescita: le concentrazioni di nitrati sono solitamente maggiori nelle piante giovani rispetto a quelle mature.

Parti della pianta: le parti più vicine al suolo contengono le maggiori concentrazioni di nitrati.

Fertilizzazioni azotate.

Irrigazione con acque ad alto contenuto di nitrati.

INTOSSICAZIONE CRONICA DA NITRATI NEGLI ALLEVAMENTI

Negli ultimi anni, la frequenza dei casi di intossicazione cronica da nitrati e nitriti negli allevamenti da latte ha assunto un andamento crescente a seguito delle pratiche di coltivazione delle piante foraggere e di inquinamento per percolazione delle falde acquifere.

A. Ubaldi
Università di Parma

CONSUMO DI NITRATI IN SOGGETTI ADULTI SANI

Il consumo moderato di nitrati da parte di adulti sani non è pericoloso dati i normali valori di pH dello stomaco e data l'alta solubilità in acqua dei nitriti.

In media un adulto consuma circa 75 mg/giorno di nitrati.

L'uomo elimina rapidamente nitrati e nitriti con le urine, sudore e lacrime a meno che non ci si trovi in presenza di ingestioni prolungate o massive.

CONSUMO DI NITRATI E NITRITI

In media un adulto consuma circa 75 mg/giorno di nitrati.

Per i nitriti l'OMS raccomanda un introito massimo giornaliero raccomandato (RDI = maximum recommended daily intake) di 0,2 mg/kg di massa corporea, cioè ad una persona di 50 kg è permesso di consumare massimo 10 mg/giorno, ad una di 75 kg massimo 15 mg/giorno. **Una quantità di 1-3 g di NO_2^- rappresenta una dose letale.**

I vegetariani possono arrivare a consumare anche 250 mg/giorno di nitrati dal momento che normalmente la maggior parte dei nitrati nella dieta viene dai vegetali e solo una piccola parte dall'acqua.

Altre sorgenti alimentari di nitrati e nitriti sono gli insaccati e la birra.

NITRATI E NITRITI COME CONSERVANTI ALIMENTARI

Infatti, i sali di sodio e di potassio di nitrati e nitriti, identificati con le sigle E249-252, sono utilizzati come conservanti nelle carni lavorate, per esempio nei wurstel, e per mantenere la sicurezza dei prodotti impedendo la crescita di quei batteri (*Clostridium botulinum*) che producono la tossina botulinica.

Un forte consumo di questi alimenti trattati con tali conservanti alimentari aumenta il rischio di esposizione.

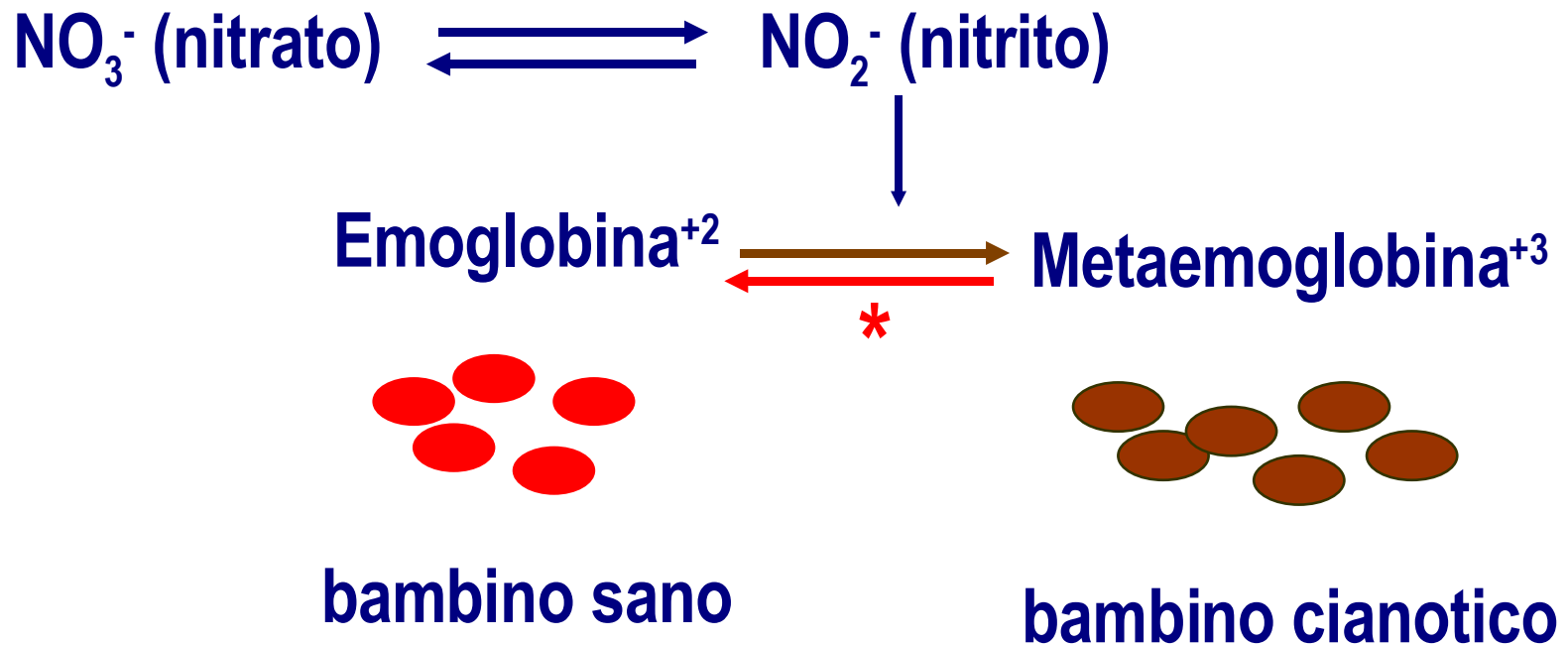
NITRATI:

La quantità di nitrati e di nitriti ingeriti con gli alimenti di origine naturale è, comunque, molto più alta di quella relativa all'ingestione di alimenti trattati con conservanti E249-252.

E' stato stimato che la quantità di nitrati ingerita con:

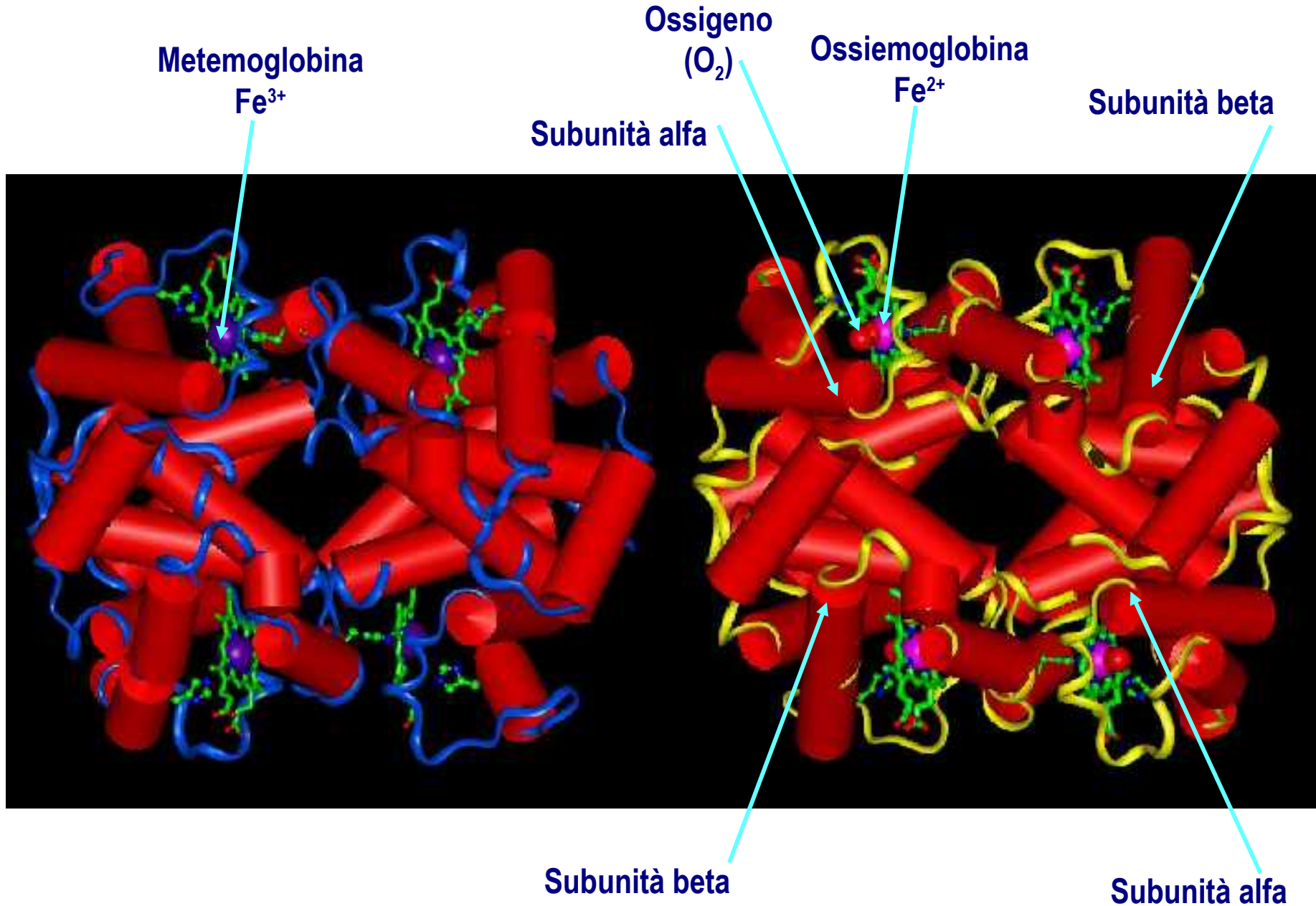
- 100 g di carne in scatola è di circa 50 mg;**
- 100 g di spinaci con alto contenuto di nitrati è di circa 200 mg.**

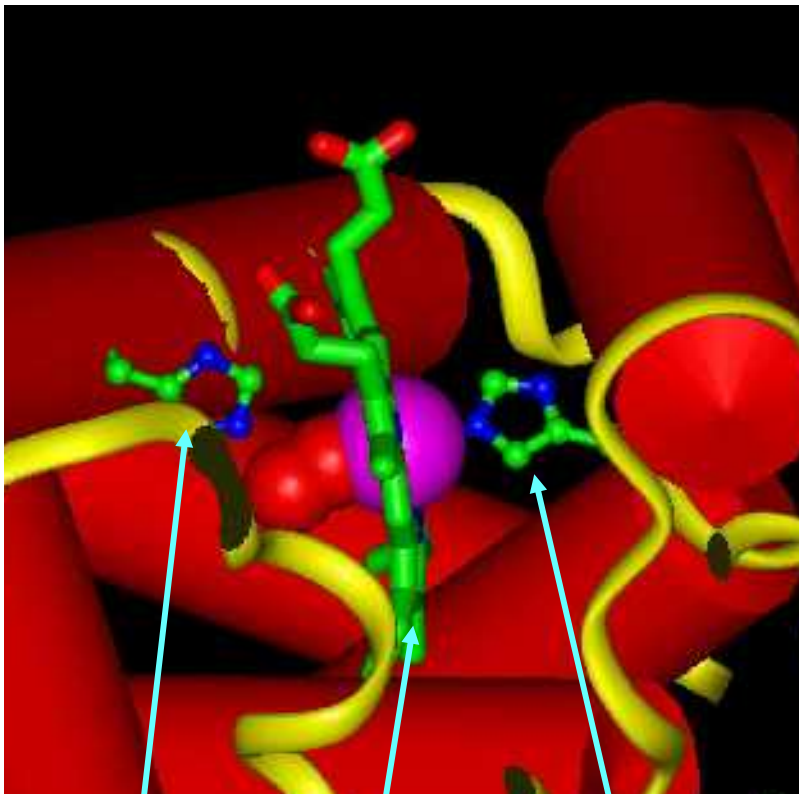
MECCANISMO DELLA TOSSICITA' ACUTA DI NITRATI E NITRITI



*** metaemoglobina reductasi presente negli eritrociti**

EMOGLOBINA / METAEMOGLOBINA





Istidina
distale

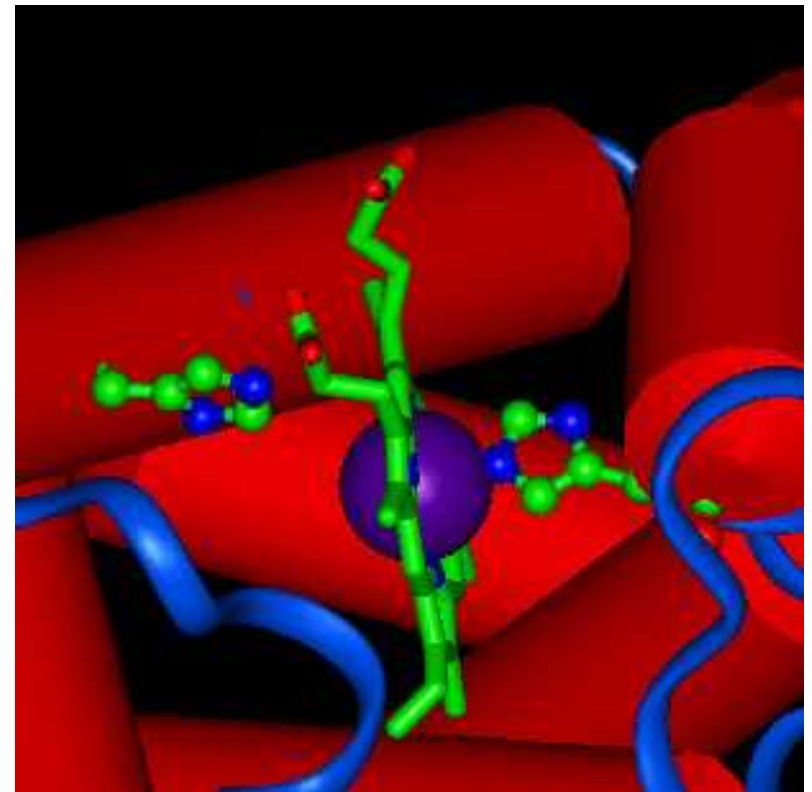
Eme

Istidina
prossimale



Ossiemoglobina:
il Fe^{2+} è in grado di legare
ossigeno e di trasportarlo.

Metemoglobina:
il Fe^{3+} non è più in grado
di legare ossigeno.



DANNI DA NITRATI IN ANIMALI

Ruminanti: specie più a rischio. I nitrati sono molto tossici in quanto vengono ridotti a nitriti nel rumine.

La pecora è il ruminante meno a rischio grazie alla sua spiccata capacità di ridurre il nitrito ad ammoniaca.

I giovani ruminanti sono più suscettibili di intossicazione rispetto ad animali maturi.

Monogastrici: i nitrati provocano fenomeni irritativi o, se molto concentrati, richiamano acqua con conseguente diarrea, vomito e coliche.

Può prevalere l'azione vasodilatatrice con conseguente ipotensione che nel cavallo può portare anche a morte dell'animale (depressione miocardica).

DOSI LETALI IN ANIMALI

Specie	NaNO ₂ (mg/kg p.v.)
Suini	88
Bovini	88-110
Ovini	40-50

Tossicosi acuta

Sintomi clinici

Ipossia, dispnea, tachicardia, tremori muscolari, midriasi, cianosi e difficoltà nella deambulazione.

Intensa vasodilatazione, ipotensione, depressione miocardica con eventuale collasso cardiocircolatorio.

TOSSICOSI CRONICA

Settore zootecnico: attenzione rivolta a sintomatologie croniche in quanto causa di riduzioni di *performances* produttive e riproduttive, con conseguente danno di tipo economico a causa del loro decorrere subclinico.

Riassorbimenti embrionali

Aborti

Ipogalassia

⇓ Progesterone

Ipovitaminosi A

↑↑ Sensibilità alle infezioni

**diminuzione
generalizzata
delle produzioni**

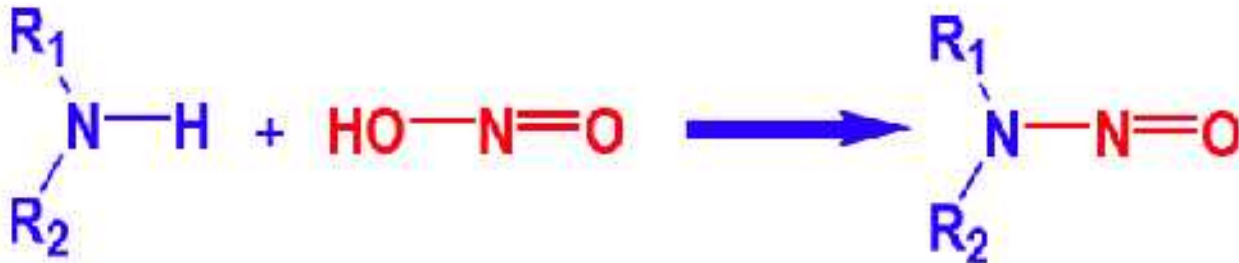
RIDUZIONE DI NITRATI IN NITRITI

I nitrati vengono trasformati in nitriti nella saliva e nello stomaco.

- Quando i nitrati entrano nella bocca una piccola quantità viene immediatamente trasformata in nitriti.**
- Se il pH dello stomaco è inferiore a 5.0 la conversione di nitrati in nitriti continua.**

NITRITI E NITROSAMMINE

I nitriti reagiscono in ambiente acido con ammine, ammidi, guanidine e uree per formare le nitrosammine.



Le nitrosammine sono sostanze mutagene e cancerogene

- Questa reazione avviene nel nostro stomaco in funzione del pH dello stomaco stesso.
- L'acido ascorbico (Vitamina C) può ridurre la nitrosazione nello stomaco.

NITROSAMMINE IN ALIMENTI AFFUMICATI

Analisi della Dimetilnitrosoammina (DMNA) in carni affumicate mediante spettrometria di massa in alta risoluzione

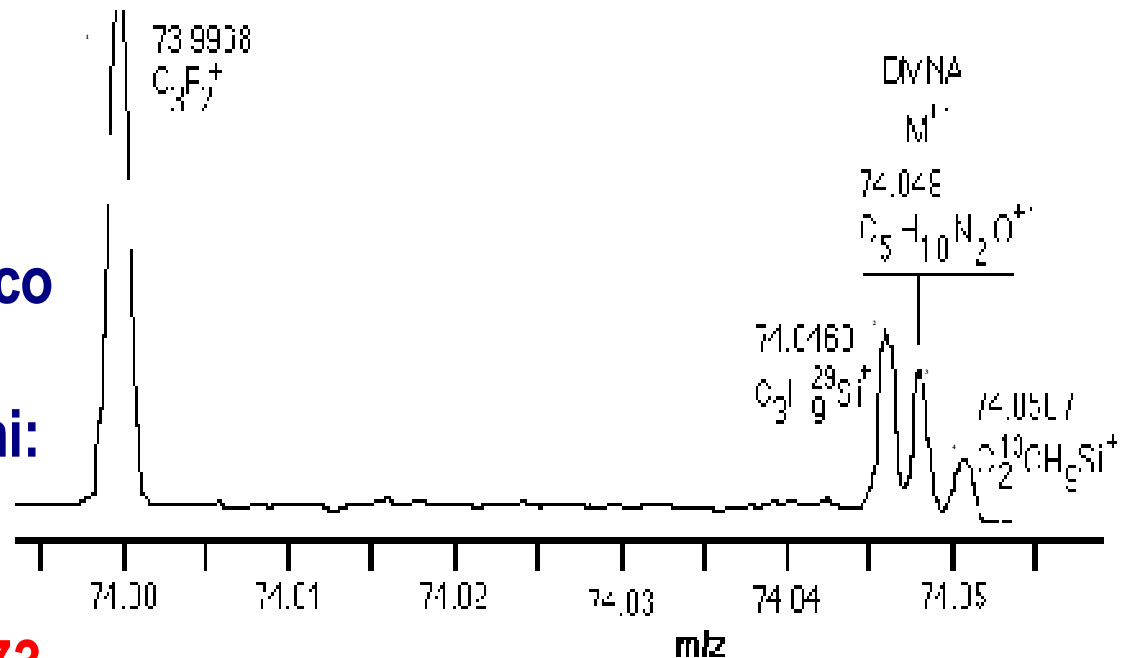
Potere risolutivo teorico necessario per la separazione degli ioni:

$$\Delta m (3-2) = 0.0011$$

$$R = 74 / 0.0011 = 67.273$$

$$\Delta m (3-4) = 0.0027$$

$$R = 74 / 0.0027 = 27.407$$

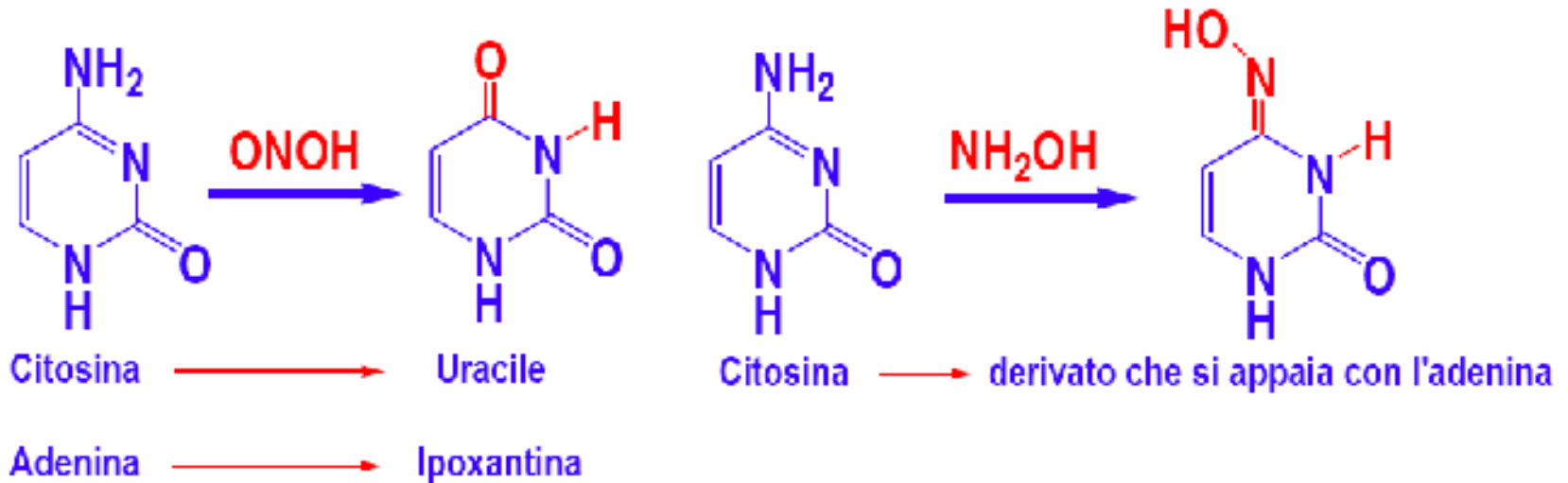


Potere risolutivo selezionato: $R = 70.000$

Picchi:

- picco 1 : perfluorocherosene (PFK)
- picco 2 : picco isotopico (^{29}Si) dello ione trimetilsilile
- picco 3 : picco ionico molecolare della DMNA
- picco 4 : picco isotopico (^{13}C) dello ione trimetilsilile

AZIONE MUTAGENA DI NITRITI E IDROSSILAMMINA



L'acido nitroso e l'idrossilammina esplicano una deamminazione ossidativa sulla Citosina convertendola rispettivamente in Uracile e in un composto che si appaia con l'Adenina. In questo modo si generano delle mutazioni puntiformi nel DNA con transizioni A·T→G·C e G·C→A·T

L'acido nitroso agisce anche sull'Adenina trasformandola in Ipoxantina che forma con la Citosina solo 2 legami idrogeno anzichè 3 come la Guanina.

I danni al DNA vengono generalmente riparati.

NITRATI ENDOGENI

I macrofagi attivati sintetizzano nitrati e nitriti a partire da

L-arginina



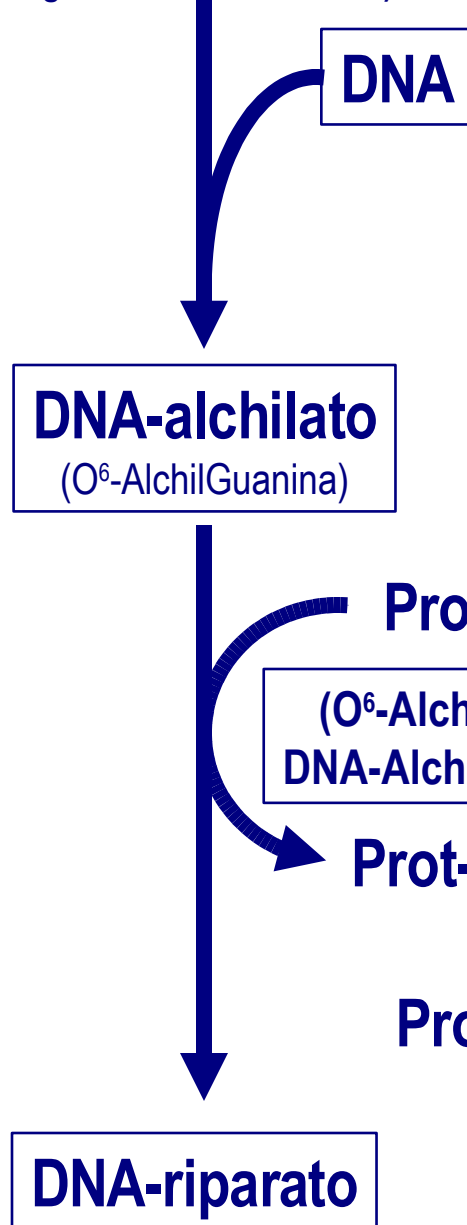
NO

NO viene sintetizzato nei macrofagi a partire da L-arginina ad opera dell'enzima *NO sintasi* (NOS).

In seguito all'attivazione dei macrofagi da parte dei lipopolisaccaridi batterici i livelli di nitrati in sangue e urina aumentano.

AGENTI ALCHILANTI

(chemioterapici antiblastici
o genotossine ambientali)



La proteina ripara il DNA trasferendo i gruppi alchilici presenti in posizione O⁶ di Guanina ed O⁴ di Timina su un gruppo tiolico nel suo sito attivo, prevenendo mutazioni promosse da genotossine alchilanti o la tossicità mediata da chemioterapici antiblastici alchilanti.

L'esposizione ad NO_x in condizioni aerobiche porta ad una inibizione *in vivo* della sua attività DNA-riparatrice.

NO_x

Prot-S-H

(O⁶-AlchilGuanina-
DNA-Alchiltransferasi)

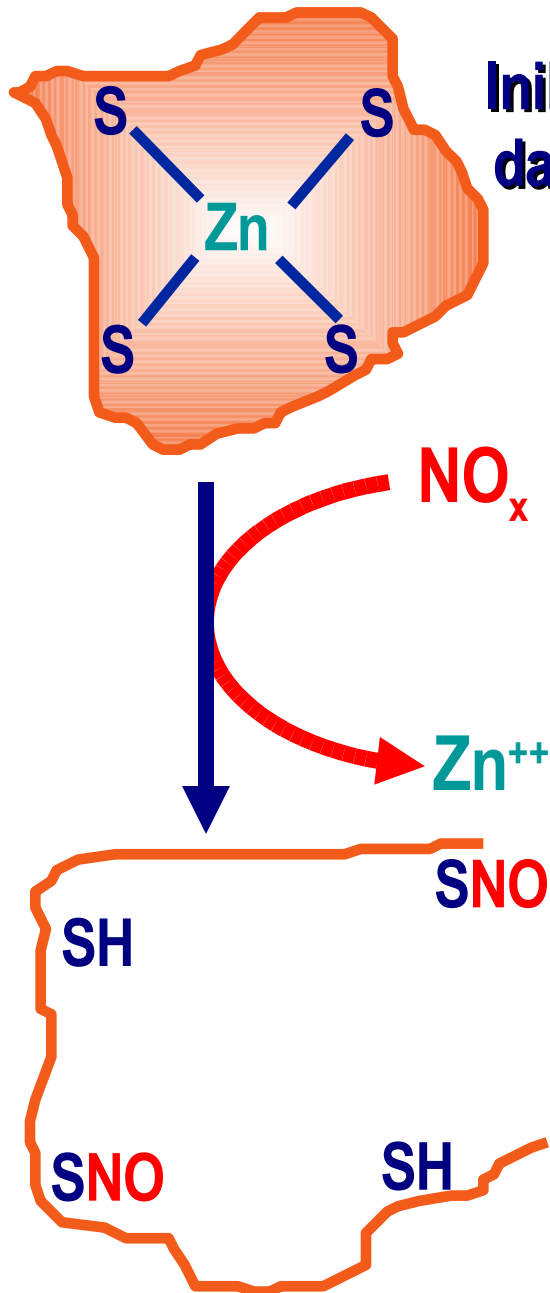
Prot-S-Alchile

Prot-S-NO

Inibizione della
riparazione del DNA

F. Lavallo and D. A. Wink
Inhibition by nitric oxide of the repair protein,
O⁶-methylguanine-DNA-methyltransferase
Carcinogenesis, 15, 443-447 (1994)

Inibizione della riparazione di danni ossidativi sul DNA da parte della FGP (Formamidopirimidina-DNA-glicoligasi)



La proteina ripara il DNA mediante:

1. Attività DNA-glicosilasica verso una varietà di basi puriniche che hanno subito l'apertura dell'anello imidazolico;
2. Attività DNA-ligasica verso siti apurinici/apirimidinici (AP ligasi);
3. Attività sull'escissione del deossiribosifosfato terminale in posizione 5'.

L'esposizione ad NO_x in condizioni aerobiche porta ad una inibizione dell'attività DNA-riparatrice.

L'inibizione degli enzimi di riparazione del DNA da parte di NO_x potrebbe amplificare gli effetti delle lesioni prodotte dall'alchilazione.

CHE COSA SI PUO' FARE RISPETTO AL PROBLEMA NITRATI?

- ❖ Limitare l'impiego in agricoltura di fertilizzanti che contengono azoto;
- ❖ Fissare restrizioni per l'impiego in agricoltura di effluenti di allevamento.
- ❖ Incentivare comportamenti di buona pratica agricola e gestione dell'uso del terreno, compreso la rotazione delle colture e la destinazione di parti di terreno a colture permanenti collegate a colture annuali, in modo anche da implementare sul mercato la presenza di prodotti vegetali a basso contenuto di nitrati.
- ❖ Compostare i rifiuti vegetali.
- ❖ Mangiare meno carne.



Grazie per l'attenzione