Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra kvality zemědělských produktů

Dusičnany v ovoci a zelenině

Bakalářská práce

Vedoucí práce: Ing. Poustková Ivana Ph.D.

Autor práce: Johana Černá

© Praha 2010

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma „Dusičnany v ovoci a zelenině“ vypracovala samostatně a použila jen pramenů, které cituji a uvádím v přiložené biblilografii.

V Praze dne …….

……

podpis studenta

Poděkování

Tímto bych chtěla poděkovat Ing. Ivaně Poustkové Ph.D. za její konzultace a vedení mé bakalářské práce. Zároveň děkuji rodině a přátelům za veškerou psychickou podporu při psaní práce.

Souhrn

Ve své bakalářské práci jsem se zabývala problematikou výskytu dusičnanů v ovoci a zelenině. Cílem práce bylo zjistit v jakém množství se dusičnany v potravinách pohybují a jak se do nich dostávají, zda lze jejich množství nějak omezit a co všechno má na hromadění dusičnanů vliv. Dále jsem se seznámila s metodami používanými pro stanovení dusičnanů. Obsah dusičnanů v ovoci je minimální a tudíž se jeho stanovením v dnešní době ani nezabývá legislativa. Obsahy dusičnanů v zelenině se však značně liší dle jednotlivých druhů. Největší množství obsahuje listová zelenina, a proto se na ni vztahuje řada vyhlášek a kontrol. Podle nejnovějších studií příjem dusičnanů z ovoce a zeleniny není ve většině případů nebezpečný, jelikož je těchto potravin konzumováno malé množství. Největší nebezpečí je u kojenců a malých dětí, kde hrozí riziko methemoglobinemie, proto je třeba kontrolovat obsahy dusičnanů v potravinách zejména u této skupiny.

Dusičnany se do našeho těla nedostávají jen z ovoce a zeleniny, ale i z masných výrobků, kde jsou používány jako konzervační prostředky a z vody, ve které je jejich obsah velmi přísně hlídán.

Problematika dusičnanů v ovoci a zelenině by se neměla přeceňovat, jak se tomu někdy v médiích děje. Nadále by se však obsahy dusičnanů hlavně v zelenině sledovat měly a také by měla být snaha o jejich snížení, zejména u již zmiňované listové zeleniny.

Klíčová slova: Dusík, Dusitany, Dusičnany, Zelenina, Ovoce

Summary

In my bachelors work I dealt with problems of presence of nitrates in fruits and vegetables. The aim of this work was to detect the level of nitrates content present in nutritives ad how do they get into nutritives. The aim was also to detect if it is possible to limit the amount and what are the main influences of cumulation of nitrates. I also focused on the methods of determintaion of nitrates that are commonly used. The content of nitrates in fruits is insignificant and therefore nowadays it is not a question considered in legislation. However the content in vegetables varies according to vegetable species. The highest content is present in greens and therefore many public notes cover it. According to new studies the reception of nutritives from vegetables and fruits is not dangerous in most cases because the consumption of these nutritives is at low level. The biggest threat is consumption by sucking infants and children bacaused they are threatened by methaemoglobinaemia and therefore the content of nitrates in fruits and vegetables must be under control when consumed by this groups.

Nitrates get into our body not only from nutritives but as well from meat products. Where they are used as preservatives. Water can also be source of nitrates but the content in water is very strictly policed.

Problems on nitrates content in fruits and vegetables should not be overestimated as sometimes this happens in media. Henceforth the nitrates content should be policed especially in vegetables. Likewise it should be made efforts to decrese the nitrates content primarily in the discussed greens.

Keywords: Nitrogen, Nitrite, Nitrate, Vegetables, Fruit

Obsah:

1 Úvod

2 Cíl práce

3 Přehled literatury

3.1 Dusičnany

3.1.1 Charakteristika dusičnanů

3.1.2 Vliv dusičnanů na organismus

3.1.3 Přeměna dusíku na dusičnany

3.2 Výskyt dusičnanů

3.2.1 Dusičnany v prostředí

3.2.2 Dusičnany v rostlinách a rostlinných produktech

3.2.3 Obsahy dusičnanů v ovoci

3.2.4 Obsahy dusičnanů v zelenině

3.3 Vliv vegetačních podmínek na průnik dusičnanů do zeleniny

3.3.1 Vliv světla

3.3.2 Vliv teploty

3.3.3 Vliv vodního režimu

3.3.4 Vliv hnojení

3.3.4.1 Košťálová zelenina

3.3.4.2 Cibulová zelenina

3.3.4.3 Kořenová zelenina

3.3.4.4 Plodová zelenina

3.3.4.5 Listová zelenina

3.3.4.6 Luskoviny

3.3.4.7 Ovoce

3.3.4.7.1 Jádroviny

3.3.4.7.2 Peckoviny

3.3.4.7.3 Drobné ovoce

3.4 Hromadění dusičnanů v rostlinách

3.4.1 Kořen

3.4.2 Plody

3.4.3 Listy

3.5 Omezení obsahu dusičnanů

3.5.1 Zelenina

3.5.2 Ovoce

3.6 Metody stanovení dusičnanů

3.6.1 Kolorimetrická stanovení

3.6.1.1 Reakce s 3,4 xylenolem

3.6.1.2 Reakce s kyselinou fenoldisulfonovou

3.6.1.3 Reakce s difenylaminem

3.6.1.4 Reakce se síranem železnatým

3.6.1.5 Reakce s pyrogalolem

3.6.2 Stanovení pomocí ISE (iontově selektivní elektrody)

3.6.3 Metoda HPLC/IC pro stanovení obsahu dusičnanů v zeleninových výrobcích a zelenině

3.6.4 Stanovení pomocí enzymově katalyzované reakce ve vodném extraktu vzorku

3.6.5 Metoda kontinuálního průtoku (CF)

3.7 Legislativní opatření

4 Závěr

5 Seznam literatury

1 Úvod

Dusičnany (nitráty) jsou přirozenou složkou životního prostředí a důsledkem koloběhu dusíku v přírodě i přirozenou součástí některých potravin, zejména zeleniny. Jejich množství v přírodě se však v posledních desetiletích vlivem člověka znatelně zvýšilo. K tomu došlo především díky používání vysokých dávek dusíkatých hnojiv, z kterých se dusičnany dostávají nejen do půdy, ale i do povrchových a podzemních vod.

Významným zdrojem dusičnanů je zelenina, z ní přijímáme přibližně 2/3 dusičnanů. V různých druzích zeleniny dochází k rozdílné akumulaci dusičnanů, nejvíce je hromadí listová zelenina a proto se na ní vztahuje řada vyhlášek a kontrol. Dalším významným zdrojem může být pitná voda zejména ze soukromých nekontrolovaných zdrojů, z ní pochází přibližně 20 % z celkového příjmu dusičnanů. Zbytek přijímaných dusičnanů pochází z ryb, masných výrobků, kde se používají ke konzervaci a uchování barvy masa, brambor, obilnin a ovoce, ve kterém je zvýšené množství pouze u několika málo druhů (např. jahody, melouny, banány).

Za toxické se nepovažují samotné dusičnany, ale dusitany a nitrosaminy z nich vznikající. Dusitany vznikají jejich redukcí a jsou nebezpečné zejména pro kojence a malé děti u kterých mohou působit jako tzv. krevní jed a vyvolávat methemoglobinemii. Nitrosaminy představují riziko i pro dospělé, protože se jedná o karcinogenní látky. Vznikají reakcí dusitanů se sekundárními aminy pocházejícími z potravy, některých léků nebo tabákového kouře. Nitrosaminy mohou způsobit vznik nádorových onemocnění např. žaludku, tlustého střeva nebo jater a mohou mít taktéž teratogenní účinky. Snížení tvorby nitrosaminů napomáhá zvýšený příjem vitaminu C, který pomáhá při přeměně dusitanů na oxid dusnatý. Naopak tvorbu nitrosaminů podporuje vyšší přítomnost tuků v žaludku a kyselé pH.

Díky legislativě je ve vodě a potravinách obsah dusičnanů kontrolován a jsou stanoveny konkrétní mezní hodnoty u komodit, ve kterých je jejich obsah vyšší. Není tedy třeba se negativního vlivu dusičnanů obávat, jen u malých dětí a kojenců je třeba věnovat příjmu rizikových potravin větší pozornost.

2 Cíl práce

Cílem práce bylo zpracování literární rešerše týkající se problematiky výskytu dusičnanů v ovoci a zelenině a analytických metod stanovení dusičnanů. Dalším cílem bylo seznámení se s aktuální legislativou týkající se obsahů dusičnanů v ovoci a zelenině.

3 Přehled literatury

3.1 Dusičnany

3.1.1 Charakteristika dusičnanů

Dusík má v přírodě zvláštní postavení: vstupuje do různých sloučenin, které v životních pochodech a metabolických dějích hrají rozdílné úlohy. Vazba s kyslíkem v některých jednoduchých anorganických sloučeninách představuje pro vyšší živočichy abiogenní složku, v některých případech toxickou. Dusičnany jsou přirozenou složkou životního prostředí jako součást koloběhu dusíku v přírodě. Ve zvýšených koncentracích se pak vyskytují v půdě a z ní přecházejí do vody a do rostlin (Hlavsová a kol., 1980).

Prugar a Hadačová (1995) uvádějí, že v půdě se dusičnany tvoří díky činnosti mikroorganismů přes amonné sloučeniny z organické hmoty a v této formě jsou rostlinami přijímány. Výživa rostlin dusíkem je nejzávažnějším faktorem, který ovlivňuje hromadění dusičnanů v rostlinách a jejich zvýšená koncentrace je většinou důsledkem nadměrné nabídky dusíku v půdním prostředí.

Naproti tomu nedostatek dusíku vede k slabým zeleným vybarvením rostlin, tvrdým listům, příliš slabému růstu, omezenému kvetení a nedostatečnému nasazování plodů (Stein, 1999).

L´hirondel and J.-L. L´hirondel (2002) uvádí, že dusičnany jsou základem života, protože jsou hlavním zdrojem dusíku pro rostliny.

3.1.2 Vliv dusičnanů na organismus

Prugar a Prugarová (1985) uvádějí, že v mnohých státech na celém světě už několik let věnují především zdravotníci pozornost výskytu dusičnanů a dusitanů v zemědělských surovinách a potravinářských výrobcích. Důvodem jsou vyskytující se případy onemocnění kojenců tzv. methemoglobinemií, která je způsobená změnami v krevním barvivu hemoglobinu v důsledku jeho chemické reakce s dusitany. V poslední době se připojil i další vážný rizikový faktor, kterým je možnost vzniku karcinogenních nitrosaminů reakcí dusitanů

se sekundárními či terciálními aminy vyskytujícími se v potravě. Předmětem zkoumání jsou zejména některé zeleninové druhy, ve kterých se dusičnany kumulují ve velkém množství vlivem zvyšující se chemizace výroby, zejména používáním nadměrných dávek dusíkatých hnojiv.

Prugar (2008) uvádí, že nitrátový (dusičnanový) aniont NO^-_3 je pro rostlinný metabolismus esenciální a jakožto jedna z významných forem dusíku se účastní mnohých biochemických a fyziologických procesů. Je proto z přírodovědeckého hlediska protismyslné hovořit o dusičnanech jako o „cizorodých, škodlivých a dokonce toxických" látkách, stejně jako o jimi „zatěžované" půdě. Nežádoucími se ovšem stávají v okamžiku, kdy se jejich koncentrace zvýší nad přijatelnou mez a jakmile se redukují na dusitany (nitrity). Dusičnany přijímané v obvyklých množstvích s potravou nejsou pro člověka nebezpečné. V zažívacím traktu se vstřebávají do krve a v ledvinách převážně vylučují do moče. Zdravotní rizika mohou vznikat redukcí dusičnanů na toxické dusitany. Tuto redukci zajišťuje enzym nitrátreduktasa, který produkují některé běžné, většinou neškodné mikroorganismy přítomné v potravinách a ve střevní mikroflóře člověka. Ty se rovněž vstřebávají do krve a v ní oxidují krevní barvivo hemoglobin na methemoglobin, který nemá schopnost přenášet kyslík. Tím vzniká nebezpečí tzv. dusičnanové methemoglobinemie. U zdravého dospělého člověka se tento stav rychle likviduje obranným enzymovým oxidoredukčním systémem, jehož součástí je methemoglobinreduktasa přítomná v erytrocytech. Díky aktivitě tohoto systému je zdravý člověk schopen vyrovnat se i se zvýšeným příjmem dusičnanů anebo přímo dusitanů. Jiná je situace u kojenců (do cca 4 měsíců věku), kteří nemají dosud dostatečně vyvinutý a aktivovaný obranný enzymový systém a mimoto v jejich krvi převládá ještě tzv. fetální hemoglobin, přinesený z matčina těla. Ten je mnohem citlivější na dusitany než hemoglobin dospělého člověka, kterým je až později postupně nahrazován. Kromě methemoglobinemie existuje však další neméně závažné riziko, spojené se zatížením člověka dusičnany a dusitany z potravy, a to je možnost vzniku N - nitrosloučenin (nitrosaminů a eventuálně i nitrosamidů), které jsou kancerogenní, mutagenní a teratogenní. V tomto případě nejde o omezení jen na malé děti, nebezpečí ohrožuje celou populaci, jak bylo experimentálně mnohokrát ověřeno na několika druzích zvířat.

Bezpečnost dusičnanů potvrzují Velíšek a Hajšlová (2009) kteří uvádějí, že dusičnany nejsou pro dospělého člověka nebezpečné, neboť se relativně rychle vyloučí močí asi z 80 %

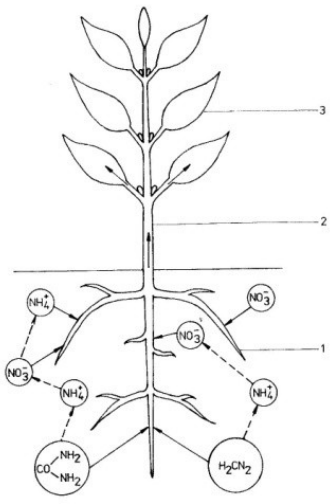
za 4 - 12 hodin (u starších lidí 50 %). Předpokládá se, že se v zažívacím traktu zbylé dusičnany převážně přemění na amonné soli.

3.1.3 Přeměna dusíku na dusičnany

Dusičnany a dusitany jsou přirozenou složkou životního prostředí a podílejí se na koloběhu dusíku v přírodě. V rámci tohoto koloběhu se rozkladem bílkovin a jiných dusíkatých látek živých organismů uvolňuje amoniak. Nitrifikační bakterie oxidují amoniak na dusitany a ty se dále oxidují na dusičnany. Denitrifikační bakterie z dusičnanů uvolňují dusík, který se vrací znovu do atmosféry. Do půdy se dusík dostává z posklizňových zbytků, ze zeleného hnojení, stájového hnoje, průmyslových hnojiv (amonných solí a dusičnanů). V půdě se dusík vyskytuje především ve formě dusičnanů a amonných solí. Amonné ionty se v půdě zadržují sorpčními schopnostmi půdy, dusičnanový dusík se naopak z půdy lehce vyplavuje a může kontaminovat vodu. Z půdy přecházejí dusičnany do rostlin (viz Obr.1) a odtud se dostávají do lidské potravy. Vysokým hnojením dochází k zvýšení obsahu dusičnanů v půdě a tím i v potravinových surovinách a potravinách (Velíšek, Hajšlová, 2009).

Do lidského těla se dusičnany dostávají převážně z vnějšího prostředí, prostřednictvím vody a potravin. Ale mohou se zde tvořit i endogenně (Lundberg et. al, 2004).

Obr.1 Metabolismus dusíku v rostlině



1. Kořen - redukce dusičnanů, syntéza aminokyselin a bílkovin
2. Stonek - transport a ukládání dusičnanů, aminokyselin a amidů

3. Listy - redukce dusičnanů, syntéza aminokyselin, bílkovin a chlorofylu

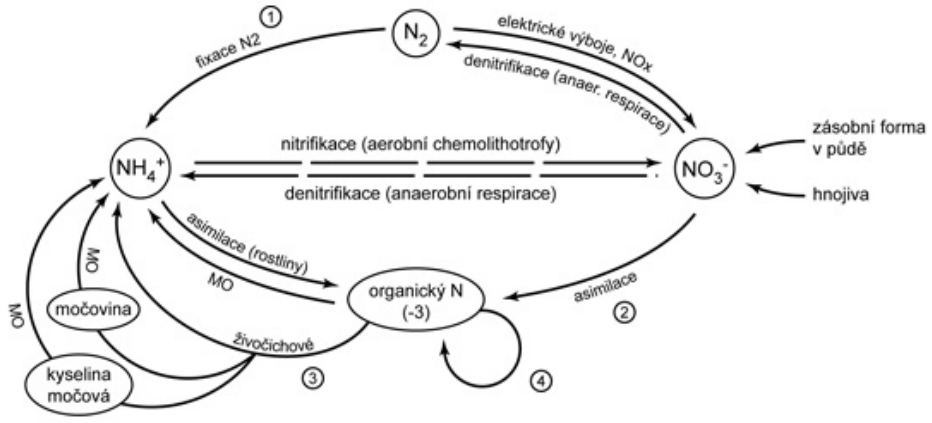
Co se týká koloběhu dusíku, v přírodě největší zásoba dusíku je v atmosféře, kde je ve formě molekulárního dusíku. Z atmosféry pomocí elektrických výbojů vznikají oxidy dusíku, ty se oxidují na dusitany a dále na dusičnany, ty se dostávají do půdy srážkami. Atmosférický dusík jsou schopny vázat i některé mikroorganizmy, např. hlízkové bakterie rodu Rhizobium, Clostridium pasteuiranum, jedná se o tzv. fixaci dusíku.

Dusičnany se do půdy dostávají nejen z atmosféry, ale i z půdy a hnojiv (viz Obr. 2). Jsou asimilovány rostlinami, přeměněny a ukládány v organické podobě. Stejně tak je rostlinami přijímán i amonný iont NH_4^+ vznikající při fixaci dusíku mikroorganismy.

Dusík se dostává zpět do půdy při mineralizaci odumřelých rostlin, živočichů a mikroorganismů, uvolněním z organických molekul bílkovin v anorganické podobě (jako NH_3). Tento proces probíhá díky amonizačním bakteriím.

V aerobních podmínkách mohou působit ještě nitritační bakterie, které převedou NH_4^+ na NO_2^- a dále nitratační, které oxidují NO_2^- na NO_3^-. Oba procesy dohromady se nazývají nitrifikace. V anaerobních podmínkách působí bakterie denitrifikační, které část dusíku z dusičnanů vrací zpět do atmosféry a část přeměňují na amonné ionty (Richter a Hlušek, 2006).

Obr. 2 Koloběh dusíku v přírodě



3.2 Výskyt dusičnanů

S přihlédnutím k průměrným obsahům dusičnanů se mohou naše plodiny a potraviny rozdělit zhruba do tří skupin: v první jsou produkty, které vykazují jen nevýznamné

koncentrace dusičnanů do 50 mg dusičnanů v kg čerstvé hmoty. Do této skupiny patří například obilniny a všechny cereální výrobky, ovoce, cukr, víno, z živočišných produktů pak mléko a mléčné výrobky, maso, vejce aj. Je třeba však brát v úvahu, že do některých potravin se dusičnany mohou dostat i s pitnou vodou. Ke druhé skupině jsou řazeny rostlinné produkty, především zelenina, kde se obsah dusičnanů pohybuje od 50 až do několika tisíc mg na kg čerstvé hmoty. Ve třetí skupině jsou suroviny a potraviny živočišného původu, při jejichž technologii se dusičnany (i dusitany) přidávají úmyslně, např. ve formě nakládacích solí při zpracování masa a při výrobě některých druhů sýrů (Prugar a kol., 2008).

3.2.1 Dusičnany v prostředí

V současné době je aktuální problematika dusičnanů a dusitanů, které jsou obsaženy ve vodě a v půdě následkem nadměrného hnojení. Z polí se dostávají do spodních vod, dešti jsou smývány do řek a odtud se dostávají do pitné vody. Je známo, že dusičnany a především nitrosaminy vznikající z dusitanů mají rakovinotvorné účinky (Ostrčil,Ostrčilová, 2006).

3.2.2 Dusičnany v rostlinách a rostlinných produktech.

Prugar a Prugarová (1985) uvádějí, že dusičnany se do naší stravy mohou dostávat z několika zdrojů. V nevelkých koncentracích jsou přirozenou složkou životního prostředí jako součást koloběhu dusíku v přírodě. Ve zvýšených koncentracích se v důsledku intenzifikace zemědělské výroby (hnojení, odpady, živočišná výroba, apod.) vyskytují v půdě a z ní přechází do vody a do rostlin. V oblastech se silnými průmyslovými imisemi kyslíkatých sloučenin do ovzduší se hromadí i v dešťové vodě. Při zpracování některých živočišných surovin v potravinářském průmyslu se dusičnany a dusitany přidávají jako aditiva na zlepšení senzorické hodnoty finálních výrobků a na zabránění určitých nežádoucích mikrobiálních pochodů. Zjednodušeně jsou někdy příčiny nadměrných obsahů dusičnanového aniontu v zeleninách, bramborách a jiných rostlinných produktech vztahovány pouze na aplikaci průmyslových dusíkatých hnojiv a mnozí praktici rozumějí intenzitou dusíkaté výživy intenzitu dusíkatého hnojení. Tato interpretace je ovšem nepřesná. Experimentálně podložené poznatky ukazují, že rostliny jsou schopny využít minerální dusík z půdy stejně jako z hnojiv a vzhledem k tomu, že půda může obsahovat velmi rozdílná množství dusíku, odpovídají tomu i rozdílné požadavky na dusík z hnojiv, aby bylo dosaženo optimální nabídky této živiny pro daný druh, odrůdu a konkrétní podmínky prostředí.

Marschner (1985) pokusy dokázal, že intenzita hromadění dusičnanů v jednotlivých orgánech jeví vzestupnou tendenci v řadě semena ‹ plody ‹ hlízy ‹ kořeny ‹ listy. Kolísání obsahu i v rámci určitého orgánu je velmi široké a může představovat až desetinásobek.

Obsah dusičnanů v rostlinných produktech ovlivňují všechny zdroje dusíku, které má rostliny k dispozici jak z půdní zásoby, tak i z organických a průmyslových hnojiv, z dešťových srážek, ze závlahové vody, vzdušných imisí a podobně (Prugar, Hadačová, 1995).

Závěry autorů potvrzují i Velíšek a Hajšlová (2009) tvrzením, že obsah dusičnanů je silně ovlivňován prostředím. V rostlině se hromadí dusičnany v době, kdy dusík nemůže být rostlinou využíván, tedy v době, kdy rostlina neredukuje dusičnany na snadněji asimilovatelné formy amonných solí. K takovým stavům dochází především za nepříznivých teplotních, vlhkostních a světelných podmínek, které zapříčiňují nedostatek uhlíkatých sloučenin nezbytných pro přeměnu nahromaděných dusičnanů na aminokyseliny a v konečné fázi na bílkoviny. V jednotlivých plodinách obsah dusičnanů kolísá v širokém rozmezí, což je způsobeno klimatickými a půdními podmínkami během vegetace (intenzitou osvětlení, množstvím srážek a především intenzitou hnojení).

3.2.3 Obsahy dusičnanů v ovoci

V ovoci a vinných hroznech se nalézá nepodstatné množství dusičnanů (Prugar, Prugarová, 1982).

Prugar (2008) také uvádí, že v ovoci se nitráty vyskytují většinou jen v zanedbatelných množstvích, poněkud vyšší koncentrace bývají čas od času zjišťovány v jahodách, banánech a v citrusovém ovoci. Velíšek a Hajšlová (2009) k tomu dodávají, že pouze v banánech a melounech mohou být koncentrace poněkud vyšší, kolem 600 - 800 mg/kg čerstvé hmoty. V ostatních druzích ovoce je obsah dusičnanů minimální.

3.2.4 Obsahy dusičnanů v zelenině

Pěstování zeleniny patří k významným odvětvím zemědělské výroby, neboť zelenina představuje nezbytnou součást lidské výživy. Zde má nezastupitelné místo pro vysokou biologickou a nízkou energetickou hodnotu. V posledních letech došlo ke změně v názorech na hodnocení jakosti zeleniny. Donedávna se pod zvýšením jakosti rozumělo obohacení produktů o složky, které jsou pro výživu člověka žádoucí (vitaminy, cukry, soli, bílkoviny).

V současné době se tímto pojmem rozumí také snížení obsahu látek cizorodých, které mohou za určitých podmínek rozhodnout o možnosti využití výpěstků ke konzumu (z hygienického hlediska). Jde zde v neposlední řadě i o snížení obsahu dusičnanů (Hlušek, 2004).

Prugar a kol.(2008) rozdělili zeleninu dle obsahu dusičnanů v jednotlivých druzích:

a) Vysoký obsah > 1000 mg/kg: listové, kořenové, košťálové, ale i cibulové zeleniny pěstované při vyšším obsahu přístupných dusíkatých živin v půdě a při nedostatku slunečního svitu (rychlené, skleníkové), salát, špenát, rukola, ředkvička, zelí čínské a pekingské, kedluben, celer, rebarbora, kopr, fenykl, řeřicha.

b) Střední obsah 250 - 1000 mg/kg: zelí hlávkové bílé a červené, kapusta, květák, pór, lilek, mrkev, celer, petržel, okurky salátové rychlené a nakládačky, meloun cukrový a vodní, tykev, patizon, cuketa, brokolice, pažitka, česnek, tuřín, vodnice, křen, fazol, brambory. Řadí se sem i některé plodové zeleniny v případě, že byly pěstovány při vyšším obsahu přístupných dusíkatých živin v půdě a při nedostatku světla.

c) Nízký obsah < 250 mg/kg: plodové zeleniny pěstované v polních podmínkách, hlavně v letním období kapusta růžičková, cibule, paprika, rajče, hrách zahradní, artyčok, chřest, černý kořen, okurky, kukuřice cukrová, kozí brada.

3.3 Vliv vegetačních podmínek na průnik dusičnanů do zeleniny

Většina druhů zeleniny je náročná na agrotechniku a citlivá na všechny podmínky vnějšího prostředí včetně meteorologických vlivů. Výroba bývá někdy ztrátová a pěstování některých druhů v oblastech s méně vhodnými půdně klimatickými podmínkami je často neefektivní. Typickým znakem výroby zeleniny je její sezonnost (Prugar, Prugarová, 1985).

O obsahu dusičnanů rozhodují doby výsevu a sklizně (vyšší bývá při raném výsevu v říjnu a rané sklizni v lednu), rychlost vývoje, světelné podmínky a odrůda. Rychlejší průběh růstu vede k nižšímu obsahu dusičnanů (Junge a Handke, 1990).

Vnější podmínky ovlivňují fotosyntézu, což se může pozitivně projevit v koncentraci dusičnanů v rostlinných pletivech. Když funguje fotosyntetický mechanismus bez závad, nevytvářejí se podmínky pro nadměrnou kumulaci dusičnanů. Jakmile však něco v aparátu nefunguje, např. nevyhovují světelné, tepelné či vlhkostní podmínky, je nadbytek nebo nedostatek některé živiny, poté nastávají předpoklady pro zvýšené hromadění dusičnanů.

Jejich obsah je tedy vlastně současně i jakýmsi indikátorem zdravotního stavu rostliny. Nadměrný obsah netypický pro daný druh signalizuje, že podmínky, za kterých rostliny vegetují, se vzdalují od optima, dodávají Prugar a kol.(2008).

3.3.1 Vliv světla

Prugar a Prugarová (1985) uvádějí, že nedostatek světla je považovaný za hlavní důvod vyššího obsahu dusičnanů v zeleninách vypěstovaných pod skleníkovými nebo foliovými kryty. Podobný efekt má i zahuštěný porost. Druhy se zvýšenou schopností akumulovat dusičnany by se zásadně neměli pěstovat na zastíněných plochách.

Marschner (1985) uvádí, že světlo ovlivňuje obsah dusičnanů v rostlině přímo v zelených listech prostřednictvím redukovaného ferredoxinu v chloroplastech. Takové spojení redukce dusičnanů s osvětlením v zelených listech je v protikladu k redukci dusičnanů v kořenech, kde přísun potřebné energie pochází z dodýchávaných glycidů. V důsledku toho je proto kolísání koncentrace dusičnanů v kořenech během světelné a temnostní periody malé ve srovnání se značným kolísáním v lodyze a listech.

3.3.2 Vliv teploty

V rostlinných organismech v důsledku zvyšování teploty narůstá aktivita nitrátreduktasy, což se projeví snížením množství naakumulovaných dusičnanů. (Cantliffe, 1972)

Oertli (1987) upozornil na interakci teploty a světla. V pokusech se špenátem a řeřichou zahradní, které pěstoval při vyšších teplotách (18 ˚C, respektive 28 ˚C) a krátkém dni (8, respektive 16 hodin) zjistil ráno vysoké obsahy dusičnanů, které se v průběhu dne výrazně snížily, u špenátu až o 40 %. Čepele i řapíky listů jevily stejnou tendenci, přičemž hodnoty zjištěné v řapíku byly téměř dvojnásobné než v čepeli. Při nízkých teplotách a dlouhém dni byly obsahy dusičnanů nízké a neprojevovalo se žádné kolísání během dne ani velké rozdíly v obsahu dusičnanů mezi čepelí a řapíkem. V dalších pokusech s ředkvičkou, řeřichou, dvěma odrůdami špenátu, salátem a pažitkou byla při krátkém dni a optimální teplotě dosažena minimální koncentrace dusičnanů. Při dlouhém dni vykazovala pouze ředkvička a řeřicha zvýšený obsah dusičnanů s maximem při střední teplotě. Z toho autor vyvozuje, že pro

zajištění nízkého obsahu dusičnanů je výhodné provádět sklizeň po skončení světelné periody a během ní udržovat vysokou teplotu.

Plodiny sklizené v chladnějších podmínkách mají obecně vyšší koncentraci dusičnanů, než letní úroda ve stejném prostředí. Plodiny ze států severní Evropy (např. Norsko, Dánsko, Švédsko) mají vyšší obsah dusičnanů s porovnáním se stejnými plodinami jižní Evropy (Weightman et al. 2006).

3.3.3 Vliv vodního režimu

Vliv srážek na využití dusičnanů z půdy závisí na půdním typu. V lehčích půdách se při vyšší vláze snižuje akumulace dusičnanů v zeleninách v důsledku vyplavování dusičnanů do nižších vrstev půdního profilu. Půdní vláha, zvlášť v teplých oblastech, ovlivňuje chemické a biologické procesy v půdě, hlavně biologickou aktivitu a uvolňování živin do půdního roztoku (Polách, 1985).

Pechová (1990) pozorovala při rozborech souboru odrůd hlávkového zelí z podmínek velkovýroby výrazné zvýšení hodnot dusičnanů při dešťových srážkách v den odběru vzorků.

Prugar (1992) uvádí, že dostatek vláhy vytváří předpoklad pro nižší koncentraci dusičnanového aniontu v produktech, zatímco stresy, kterým jsou rostliny vystaveny v důsledku sucha, jej zvyšují. Změny vlhkosti půdního prostředí mohou však za určitých okolností působit na kumulaci dusičnanů nejednoznačně.

Zrůst a Holá (1994) vystavili v tříletém skleníkovém pokusu 4 odrůdy brambor rozdílnému nedostatku vody v jednotlivých vývojových fázích. Nejvyšší průměrné hodnoty obsahu dusičnanů vykazovala varianta zalévaná po celou vegetaci na 75 % relativní půdní vlhkosti. Sucho působící v kterémkoliv období vegetace snížilo v průměru 3 let jejich obsah. Nejnižší hodnoty byly stanoveny na variantách, u nichž sucho působilo v období sázení do vzejití rostlin a od vzejití do tvorby poupat.

3.3.4 Vliv hnojení

Hlušek (2004) uvádí, že jednou z chyb, která se stává při hnojení dusíkem, je přehnojení. V takovém případě dochází k počátečnímu bujnému růstu rostlin, tvoří se řídká a vodnatá pletiva, která snadněji napadají choroby a škůdci. Zeleniny přehnojené dusíkem poskytují méně kvalitní produkty. Listové zeleniny a košťáloviny obsahují méně vitaminu C,

při uskladnění rychleji podléhají hnilobě. U některých zelenin se při neúměrně vysokých dávkách dusíku hromadí nitráty (dusičnany) v rostlinách, které mohou překročit povolený limit pro konzumaci člověkem. S ohledem na hromadění dusičnanů v zelenině je nutné, aby dávka dusíku byla aplikována nejpozději 1 měsíc před ukončením vegetace. Použití dusíkatých hnojiv zvyšuje koncentraci dusičnanů v xylému, ale nemá prakticky vliv na jeho koncentraci ve floému. Listová zelenina, například salát nebo zelí tedy vykazují vyšší koncentraci dusičnanů než zelenina zásobená hlavně floémem jako jsou hrášek a fazole.

Podle nároků jednotlivých druhů na dusík se může zelenina dělit na :

a) silně náročné: květák, zelí, celer, kapusta

b) středně náročné: okurky, kedlubny, salát, mrkev, petržel špenát, rajčata, cibule

c) málo náročné: fazol, hrách, ředkvička

Využití dusíku z hnojiv je ovlivněno celou řadou podmínek, stanovištěm, dávkou a formou dusíku, dobou aplikace, stavem porostu a dalšími. Dusík z minerálních hnojiv se na výnosu plodin podílí přibližně z 35 - 70 %. Z 20 - 50 % je dusík vázán v půdě a k tomu se připojují i jeho ztráty vyplavením a erozí. Vždy je třeba posoudit vhodnost jednotlivých forem dusíku pro použití, jejich chování v půdě a schopnost zapojení se do metabolismu rostliny.

Nitrátová (dusičnanová) forma dusíku je v půdě velmi pohyblivá a rostlina ji přijímá už při teplotě nad 5 ˚C. V půdě je tato forma poutána pouze biologickou sorpcí, přibližně z 15 %. Při nízké úrovni dusičnanové výživy je větší redukce dusičnanů v kořenech. Naopak při vyšším příjmu je nejdůležitější pro redukci translokace dusičnanů do nadzemních částí (Hlušek a Richter, 2006).

3.3.4.1 Košťálová zelenina

V sortimentu zelenin zahrnují košťáloviny téměř 40 % objemu tržní produkce. Nejvíce se pěstují zelí, květák, kapusta a kedlubny. Košťáloviny patří mezi rostliny nitrofilní (jsou náročné na nitrátovou formu dusíku), což z praktického hlediska znamená, že dusík výrazně ovlivňuje jejich výnos, na druhé straně však vzniká nebezpečí zvýšeného obsahu nitrátů v konzumních orgánech. Velmi opatrně je třeba volit dávku dusíku k brokolici, která ze všech košťálovin nejvíce kumuluje nitráty. Nejméně náročné na dusík jsou kedlubny, které však při nedostatečném hnojení touto živinou brzy stárnou a dřevnatí (Hlušek, 2004).

Obsahy dusičnanů v košťálové zelenině se pohybují mezi 250 - 1000 mg/ kg čerstvé hmoty (Prugar a kol., 2008).

3.3.4.2 Cibulová zelenina

Hlavními zástupci této skupiny jsou cibule a česnek. U cibule v první polovině vegetace převládá příjem dusíku nad ostatními prvky. Česnek je třeba hnojit dusíkem citlivě, protože zvýšená dávka dusíku snižuje jakost, skladovatelnost a odolnost proti chorobám (Hlušek, 2004).

Obsahy dusičnanů v cibuli bývají nižší než 250 mg/kg čerstvé hmoty, ale v česneku mohou dosáhnout i hodnot blížících se k 500 mg/kg čerstvé hmoty (Prugar a kol., 2008).

3.3.4.3 Kořenová zelenina

Hlušek (2004) uvádí, že při neúměrně vysoké dávce dusíku se zhoršuje kvalita kořenů (celer může trpět fyziologickými poruchami, mrkev se špatně vybarvuje a kumuluje dusičnany).

V této zelenině bývá obsah dusičnanů vysoký, přesahuje hodnoty 1000 mg/kg čerstvé hmoty (Prugar a kol., 2008).

3.3.4.4 Plodová zelenina

Základními druhy této skupiny jsou okurky, rajčata a paprika. U rajčat stejně jako u papriky se při přebytku dusíku opožďuje nasazování a dozrávání plodů (Hlušek, 2004).

Rajčata a papriky vykazují nízký obsah dusičnanů pod 250 mg/kg čerstvé hmoty. Pouze v případě, kdy jsou pěstovány při vyšším obsahu přístupných dusíkatých živin v půdě a při nedostatku světla se může obsah dusičnanů zvýšit až na dvojnásobek (Prugar a kol., 2008).

3.3.4.5 Listová zelenina

V této zelenině je obsah dusičnanů nejvyšší a proto při hnojení dusíkem je třeba respektovat schopnost rostlin kumulovat nitráty (Hlušek, 2004).

Obsah dusičnanů v listové zelenině je vysoký, může dosahovat až několika 1000 mg/kg čerstvé hmoty (Prugar a kol., 2008).

3.3.4.6 Luskoviny

Na dusík jsou nenáročné, protože mají schopnost osvojovat si dusík ze vzduchu pomocí hlízkových bakterií, se kterými žijí v symbióze (Hlušek, 2004).

Většinou se řadí mezi zeleninu s nízkým obsahem dusičnanů, hodnoty se pohybují pod 250 mg/kg čerstvé hmoty (Prugar a kol, 2008).

3.3.4.7 Ovoce

Dusík je důležitý pro podporu růstu, proto se jím hnojí stromy málo rostoucí a s bohatou násadou plodů. Po přehnojení dusíkem letorosty špatně vyzrávají, v zimě snadněji zmrznou, ovoce je méně kvalitní a hůře skladovatelné a stromy málo nasazují květ (Šrot, 1998).

Ovocné druhy jsou značně přizpůsobivé. Jsou schopny podřídit se různým podmínkám výživy a v určitém rozmezí její úrovně nemusí dojít k ovlivnění produkce, ani její kvality. Jakmile však tyto podmínky překročí určité hranice optima, dostaví se negativní důsledky jak nedostatku, tak i nadbytku živin (Hlušek, 2004).

3.3.4.7.1 Jádroviny

U jabloní rozkvět při vyšší hladině dusíku nastává dříve, a tím jsou květy vystaveny nebezpečí zmrznutí. Jabloně pěstované v půdách s vysokou hladinou dusíku trpí ke konci vegetace větším opadem listů. Byla také zjištěna závislost mezi červeným zbarvením plodů a obsahem dusíku v listech jabloní. Zvyšování obsahu dusíku v listech snižuje vybarvení plodů a naopak. Dusíkatá výživa má vliv rovněž na tuhost dužiny, a tím na skladování plodů a naopak (Hlušek, 2004).

Obsah dusičnanů bývá nízký, pod 250 mg/ kg čerstvé hmoty (Prugar a kol., 2008).

3.3.4.7.2 Peckoviny

Limitujícím růstovým a výnosovým prvkem je u peckovin dusík. U broskvoní ovlivňuje vybarvení plodů a obsah vitaminu C (při přehnojení se snižuje). Dobrá výživa dusíkem zvyšuje odolnost broskvoní proti mrazu. U meruněk při vysokém obsahu dusíku v pletivech plody pozdě dozrávají. Více dusíku potřebují višně (Hlušek, 2004).

Obsah dusičnanů bývá nízký, pod 250 mg/ kg čerstvé hmoty (Prugar a kol., 2008).

3.3.4.7.3 Drobné ovoce

Mezi obsahem dusíku v bobulích a kyselinou askorbovou existuje záporná závislost. Vyšší dávky dusíku snižují obsah kyseliny askorbové, ale i pektinů, cukrů a kyselin, bobule jsou měkké (Hlušek, 2004).

Obsah dusičnanů je zde nepatrně vyšší než u ostatních druhů ovoce, pohybuje se okolo 300 - 350 mg/kg čerstvé hmoty (Prugar a kol., 2008).

3.4 Hromadění dusičnanů v rostlinách

Obsah dusičnanů v rostlině je dán poměrem mezi hodnotami jejich příjmu z prostředí a intenzitou jejich redukce, určovanou především enzymem nitrátreduktasou. Pro vytrvalé rostliny je charakteristické že se v jejich kořenech redukuje vysoký podíl přijatých dusičnanů. U jednoletých rostlin nestačí redukce v samotných kořenech a tak se odehrává i v nadzemních orgánech. Nezredukované dusičnany se transportují do nadzemních částí hlavně xylémem (Maynard et al., 1976).

Dusík přijatý rostlinami je obyčejně dlouhodoběji navázaný v porovnání s imobilizací půdními mikroorganismy. K jeho uvolňování dochází většinou až při odumření rostlin (sklizni). Ani jedna z forem minerálního dusíku přijímaných rostlinami není přímo zabudovaná do bílkovin, ale musí být nejdřív transformovaná přes ketokyseliny do molekul aminokyselin. Tyto pochody jsou anabolické a endotermické a proto se váží na energii uvolňovanou především oxidací uhlíkatých organických látek produkovaných při fotosyntéze a asimilaci CO_2. Intenzita přeměn dusičnanů se tedy váže na intenzitu fotosyntézy. Rozdělení dusičnanů v různých částech rostlin není rovnoměrné. Nejvíc jsou nahromaděné tam, kde je vysoký podíl xylémových vodivých pletiv a kde jsou dokonale vyvinuté vakuoly. Orgány zabezpečující transport živin v rostlině se tedy vyznačují vyšším obsahem dusičnanů než části sloužící na asimilaci, generativní orgány a plody. Je tedy důležité, které části rostlin jsou určeny ke konzumaci (Prugar a Prugarová, 1985).

Potřebu energie potvrzuje i Procházka a kol. (1998) tvrzením, že asimilace dusičnanů může probíhat v kterémkoliv orgánu rostliny, jakmile obsahuje dostatek sacharidů, jejichž oxidací se uvolňuje energie potřebná na redukci dusičnanů.

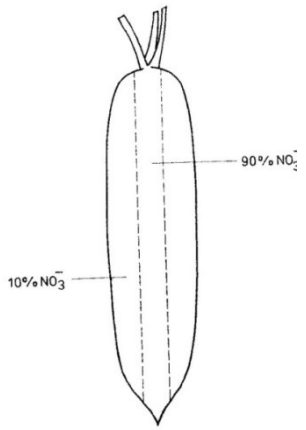
3.4.1 Kořen

V kořenové zelenině je podstatné, že během celé vegetace je koncentrace dusičnanů v naťové části vždy větší než v kořeni (Prugar a Prugarová, 1985).

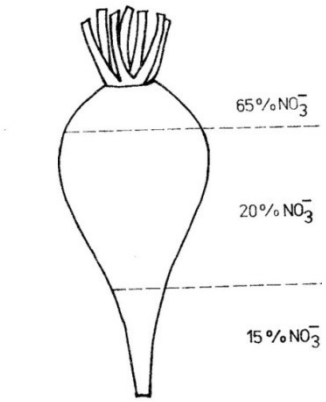
V kořeni mrkve se dusičnany nejméně koncentrují okolo střední osy a ve vrchní podlistové části (viz Obr. 3). Ve vnitřní části kořene je soustředěný podstatný podíl dusičnanů, až 80 - 95 % celkového množství (Tibenská a Synek, 1982).

Salátová řepa patří k rostlinám, které hromadí velké množství dusičnanů (viz Obr. 4). Při dostatečném zásobení vodou a stoupajících dávkách dusíkatého hnojiva roste obsah dusičnanů v bulvě (Greenwood and Hunt, 1986).

Obr. 3 Rozložení dusičnanů v kořeni mrkve



Obr. 4 Rozložení dusičnanů v kořeni řepy



3.4.2 Plody

V plodech bývá nižší koncentrace dusičnanů než v ostatních částech rostliny. Ve slupkách a povrchových vrstvách plodů bývá však koncentrace dusičnanů výrazně zvýšena (Prugar a Prugarová, 1985).

3.4.3 Listy

Nejvyšší koncentrace dusičnanů bývá v listových čepelích a žilkách. Hodnoty stanovené v listových čepelích a žilkách převyšovaly 2 - 8krát množství dusičnanů v listech (Prugar a Prugarová, 1985).

Dále Prugar (1992) doplnil, že listová zelenina je silným akumulátorem dusičnanů i při nízké hladině dusíku v půdě a je jí proto věnována značná pozornost. Se vzrůstajícími dávkami dusíku akumuluje dusičnany velmi silně.

3.5 Omezení obsahu dusičnanů

Výbor odborníků EFSA (European Food Safety Authority - Evropský úřad pro bezpečnost potravin) přišel s prohlášením, že výhody konzumace čerstvého ovoce a zeleniny převládají nad rizikem pro lidské zdraví, vyplývající z obsahu nitrátů v plodinách. Na základě studií došel výbor k závěru, že jen malá část obyvatel Evropské unie by mohla přesáhnout hodnotu přípustného denního příjmu (ADI) pro nitráty, který je 3,7 mg/kg tělesné hmotnosti na den. Průměrný obyvatel sní denně 400 g ovoce a zeleniny, proto nepřesáhne hodnotu ADI. I tak je ale žádoucí obsah nitrátů především v zelenině sledovat a snižovat (Suková, 2009).

3.5.1 Zelenina

Nařízení komise EU z 31. 1. 1997, které bylo upraveno v roce 1999, uvádí, že v závislosti na ročním období a konkrétním případu se maximální limity dusičnanů v salátu a špenátu pohybují mezi 2000 a 4500 mg NO_3^- /kg v čerstvých nebo zpracovaných produktech. Dále musí členské státy usilovat o zlepšení zásad správné zemědělské praxe s cílem snížit obsah dusičnanů v této zelenině (L´hirondel and J.-L. L´hirondel, 2002).

Hlavní příčinou nadměrného množství dusičnanů v zelenině je nedostatek světla, a proto se musí pěstovat na nezastíněných záhonech. V období nedostatku přirozeného světla v zimě, časně z jara a pozdě na podzim se omezí pěstování zeleniny pod sklem a fólií, které zvláště pokud jsou znečištěny, přísun světla rostlinám snižují.

Dusíkatými hnojivy se nehnojí jednorázově, ale raději několikrát během vegetace menšími dávkami. Dusíkem se přihnojuje naposledy jeden a půl až dva měsíce před sklizní. Zelenina s krátkou vegetační dobou, např. ředkvička se dusíkem vůbec nehnojí. Půda se hodně obohacuje kompostem bohatým na organické látky, které nadbytečný dusík v půdě poutají. Též zavlažování, které se ukončí 14 dní před sklizní, snižuje ve výpěstcích obsah dusičnanů.

Zelenina se nesklízí předčasně dokud ještě nedosáhla správné sklizňové zralosti, neboť dusičnany se v ní ještě v potřebném množství nepřeměnily v bílkoviny a jiné důležité sloučeniny. Nejvhodnější je sklízet zeleninu v podvečer po slunném dni, kdy je obsah dusičnanů ve výpěstcích nejnižší. Mrkev je nejlepší vyrýt dopoledne nebo po poledni a nechat aspoň 3 hodiny ležet na záhoně. Po této době, během níž se dusičnany do značné míry spotřebují, se odstraní nať a kořeny se uskladní. Také během skladování klesá v zelenině obsah dusičnanů.

Ke zmírnění nežádoucích účinků dusičnanů v lidském organismu přispívá zvýšený konzum vitaminu C a vlákniny, které jsou v zelenině obsaženy (Šrot, 2005).

Dusičnany a kyselina šťavelová se v mnoha rostlinách vyskytují ve zvýšených koncentracích. Obsah těchto látek lze snížit o více než polovinu pomocí fermentace. V červené řepě docházelo v důsledku fermentace ke snížení kyseliny šťavelové o 70 %, obsah dusičnanů klesl v červené řepě a kedlubnách o 50 %, v bílém zelí o 87 % (Suková, 2002).

Dusičnany se také více kumulují v nezralé zelenině, hlavně rajčatech, paprice a hrášku, proto se nedoporučuje sklízet tuto zeleninu předčasně. Listová zelenina by se měla sklízet večer, kdy je v ní obsah dusičnanů nejnižší. Krátké tepelné zpracování výrazně snižuje obsah dusičnanů, ale na druhou stranu ničí i cenné vitaminy. Zvláště vitamin C obsažený v zelenině omezuje rozvinutí rakovinových procesů, brání nitrosaci dusitanů (zredukovaných z dusičnanů) na karcinogenní nitrosaminy. Příjem čerstvé zeleniny tedy není z pohledu karcinogenity tak nebezpečný. Jinak je to ovšem se zeleninou, která se skladuje po uvaření (např. špenát). Varem ztratí vitamin C, při skladování redukuje část dusičnanů na dusitany a nic pak nebrání nitrosaci na karcinogenní nitrosaminy. U každé konkrétní potraviny je proto potřeba zvážit, čemu dáme přednost. Tepelně zpracovanou zeleninu bychom neměli dlouhodobě skladovat (Nováková, 2008).

3.5.2 Ovoce

Výskyt dusičnanů v ovoci je velmi nízký a zároveň je zde vysoký obsah vitaminu C, který nebezpečnost dusičnanů značně snižuje. Omezení konzumace ovoce, kvůli výskytu dusičnanů není nutné (Nováková, 2008).

K snížení příjmu dusičnanů dochází také při zpracování ovoce i zeleniny, např. mytí, loupání nebo vaření (EFSA, 2008).

3.6 Metody stanovení dusičnanů

Účinná kontrola obsahu dusičnanů ve velkém množství vzorků vyžaduje jednoduché, rychlé a dostatečně spolehlivé metody stanovení. Při volbě vhodné metody je třeba uvážit předpokládaný obsah stanovované složky, rušících složek a potřebného množství vzorku. Je třeba brát v úvahu rychlost a požadovanou přesnost analýzy, dostupnost chemikálií a přístrojovou vybavenost pracoviště (Prugar a Prugarová, 1985).

Na stanovení obsahu dusičnanů v biologických materiálech se používají různé analytické metody, zejména spektrofotometrické (kolorimetrická xylenová metoda), potenciometrické (iontově selektivní dusičnanová elektroda) a chromatografické. Dusičnany je možné stanovit i s využitím polarografie, atomové absorpční spektrofotometrie, kapilární isotachoforézy atd. (Prugar a kol., 2008).

3.6.1 Kolorimetrická stanovení

3.6.1.1 Reakce s 3,4 xylenolem

Dusičnany v prostředí H_2SO_4 nitrují xylenol, který se z reakční směsi izoluje destilací s vodní párou a zachytává se do boritanového pufru. Vznikne žlutý až oranžový nitroxynolát, jehož absorpční maximum je při 430 nm ten se dále stanoví polarograficky nebo plynovou chromatografií (nitrované izomery xylenolu se extrahují do hexanu). Metoda je vhodná na stanovení nižších koncentrací dusičnanů. Hranice průkaznosti je 10 - 20 mg/kg čerstvé hmoty (Barthová, 1983).

3.6.1.2 Reakce s kyselinou fenoldisulfonovou

Principem je nitrace fenolické skupiny, kdy rušivě působí chloridy a organické látky. Organické látky se odstraňují přídavkem kvalitního uhlí při extrakci a chloridy se odstraní vysrážením síranem stříbrným, s následným odstraněním přebytku stříbra $Ca(OH)_2$ a $MgCO_3$. Roztok se zfiltruje, definované množství filtrátu se odpaří na vodní lázni, přidá se roztok EDTA (diamintetraoctová kyselina) a roztok NH_4OH. Intenzita zbarvení se měří spektrofotometricky při vlnové délce 440 nm (Prugar a Prugarová, 1985).

3.6.1.3 Reakce s difenylaminem

Principem je oxidace organické sloučeniny difenylaminu. Dusičnany v prostředí kyseliny sírové reagují s difenylaminem za vzniku modrého zbarvení. Intenzita zbarvení se porovnává se zbarvením standardních roztoků. Výsledek ovlivňují chloridy a dusitany. Metoda je vhodná při koncentraci dusičnanů 1 - 5 mg/kg čerstvé hmoty (Prugar a Prugarová, 1985)

3.6.1.4 Reakce se síranem železnatým

Dusičnany reagují v kyselém prostředí (H_2SO_4) se síranem železnatým. Výsledek ovlivňují dusitany a thiosírany. Vzniká purpurově červená sloučenina stabilní několik hodin. Intenzita zbarvení se měří spektrofotometricky při 525 nm (Prugar a Prugarová, 1985).

3.6.1.5 Reakce s pyrogalolem

Reakcí pyrogalolu s dusičnany nebo dusitany v kyselém prostředí kyseliny sírové, vzniká červené zbarvení roztoku. Toto zbarvení může přecházet přes hnědou až do černa, podle obsahu dusičnanů ve vzorku. Intenzita zbarvení se vizuálně porovnává s intenzitou zbarvení série standardů (Prugar a Prugarová, 1985).

3.6.2 Stanovení pomocí ISE (iontově selektivní elektrody)

Rutinní orientační metoda potenciometrického stanovení dusičnanů pomocí iontově selektivní elektrody využívá změny potenciálu elektrod, způsobené změnami aktivity dusičnanových iontů v roztoku filtrovaného extraktu vzorku. Homogenizovaný vzorek se po protřepání s extrakčním roztokem přefiltruje, potom se měří elektromotorické napětí v roztoku filtrátu a z analytické přímky se odečte odpovídající množství dusičnanů (Prugar a Prugarová, 1985).

3.6.3 Metoda HPLC/IC pro stanovení obsahu dusičnanů v zeleninových výrobcích a zelenině

Metoda je použitelná pro obsah dusičnanů v rozsahu 50 – 3000 mg/kg čerstvé hmoty. Podstatou je extrakce dusičnanů ze vzorku horkou vodou a odstranění rušivých příměsí pomocí Carrezova činidla nebo přečištěním na SPE kolonce. Stanovení se provádí pomocí HPLC (vysokoúčinná kapalinová chromatografie) s reverzní fází s UV detekcí nebo pomocí metody IC (iontová chromatografie) s vodivostním detektorem (ČSN EN 12014).

3.6.4 Stanovení pomocí enzymově katalyzované reakce ve vodném extraktu vzorku

Stanovení slouží k zjištění obsahů dusičnanů v kojenecké a dětské výživě se zeleninou. Metoda je vhodná pro obsahy dusičnanů od 50 do 200 mg/kg čerstvé hmoty. Principem je měření množství spotřebovaného NADPH na následující reakci:

$$NO_3^- + NADPH + H^+ \rightarrow NO_2^- + NADP^+ + H_2O$$

Reakce probíhá za působení nitrátreduktasy. Množství spotřebovaného NADPH se přímo rovná množství obsažených dusičnanů (ČSN EN 12014).

3.6.5 Metoda kontinuálního průtoku (CF)

Metoda CF je automatizovaná verze manuálního postupu pro stanovení dusičnanů v listové zelenině. Automatizace umožňuje delší dobu využívat kadmium, které je potřeba k redukci dusičnanů na dusitany. Dusitany reagují se sulfanilamidem a N-(1-naftyl)ethylendiaminem za vzniku červenopurpurového azobarviva. Intenzita vzniklého zbarvení se měří spektrofotometricky při 520 - 540 nm. Metoda je vhodná pro stanovení dusičnanů v zelenině a zeleninových výrobcích v rozsahu 900 - 5200 mg/kg čerstvé hmoty. Byla prokázána jako vhodná i pro obsahy dusičnanů větší než 50 mg/kg čerstvé hmoty.

3.7 Legislativní opatření

Pokud jde o dusičnany, hlavním zdrojem jejich příjmu u člověka je zelenina. Vědecký výbor pro potraviny (SCF) uvedl ve svém stanovisku ze dne 22. září 1995, že celkový příjem dusičnanů je obvykle výrazně nižší než přijatelný denní příjem (ADI) 3,65 mg/kg tělesné hmotnosti. Doporučuje se nicméně i nadále vyvíjet snahu o omezení expozice dusičnanů z potravin a z vody.

V roce 2002 Komise EU přijala nařízení, které upravovalo přechodnou lhůtu pro dosahování limitů dusičnanů v salátu. Toto nařízení umožnilo, aby členské státy uznaly

přechodné období pro zvýšené limity dusičnanů pěstovaných pro export. Limity byly 2000 mg NO_3^-/kg čerstvé hmoty pro zmrazený špenát, 3000 mg NO_3^-/kg čerstvé hmoty pro čerstvý špenát sklizený v zimě, 4500 mg NO_3^-/kg čerstvé hmoty pro salát a zimní skleníkový salát a 2000 mg NO_3^-/kg čerstvé hmoty pro ledový salát pěstovaný venku. Povinností členských států je soustavně monitorovat obsah dusičnanů v salátu a špenátu, aby zjistily dopady opatření zavedených v rámci pravidel správné zemědělské praxe. Tyto informace předají každých 5 let Komisi EU, která posoudí výsledky a je oprávněna limity dusičnanů snížit (Suková, 2002).

Obsah dusičnanů v potravinách v současné době upravuje nařízení Komise ES (Evropské společenství) č. 1881/2006, které ovšem stanovuje limity pouze u špenátu (čerstvý a mražený), salátu (hlávkový a ledový) a u příkrmů určených pro kojence a malé děti. Před tímto nařízením platila Vyhláška Ministerstva zdravotnictví č. 53/2002, která tyto limity stanovovala u více druhů potravin. Dnes již neplatí. Toto nařízení uvádí, že by se měly stanovit různé maximální limity dusičnanů v závislosti na ročním období. Byly uděleny výjimky pro překročení maximální úrovně dusičnanů, ale pouze pro domácí trh. Výjimku dostali Belgie, Irsko, Nizozemsko a Spojené království pro čerstvý špenát, Irsko, Francie a Spojené království pro čerstvý hlávkový salát. Producenti salátu a špenátu ze členských zemí, kterým byla povolena výjimka, by měli postupně upravit své pěstitelské metody podle správné zemědělské praxe doporučené na vnitrostátní úrovni.

Maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách (mg NO_3^-/kg čerstvé hmoty)

Čerstvý špenát (sklizen od 1. 10. do 31. 3.)	3000
Čerstvý špenát (sklizen od 1. 4. do 30. 9.)	2500
Konzervovaný, hluboce zmrazený nebo zmrazený špenát	2000
Čerstvý hlávkový salát (sklizen od 1. 10. do 31. 3.)	
hlávkový salát pěstovaný pod ochranným krytem	4500
hlávkový salát pěstovaný na otevřených plochách	4000

Čerstvý hlávkový salát (sklizen od 1. 4. do 30. 9.)

hlávkový salát pěstovaný pod ochranným krytem	3500
hlávkový salát pěstovaný na otevřených plochách	2500

Salát typu "Iceberg"

hlávkový salát pěstovaný pod ochranným krytem	2500
hlávkový salát pěstovaný na otevřených plochách	2000

Dále jsou v nařízení (ES) č. 466/2001 novelizovaném nařízením (ES) č. 563/2002 stanoveny maximální koncentrace dusičnanů v určitých druzích zeleniny. Kvůli ochraně veřejného zdraví, zejména pokud jde o možné spojení s tvorbou karcinogenních látek jako jsou nitrosaminy, by měla být hladina dusičnanů tak nízká, jak jen lze rozumně dosáhnout. Pro ochranu zdraví kojenců a malých dětí, tj. citlivé skupiny populace, je vhodné stanovit nízkou maximální hladinu, kterou lze dosáhnout přímým výběrem surovin používaných pro výrobu zpracovaných potravin a potravin pro děti (Kvasničková, 2004).

4 Závěr

Ovoce obsahuje dusičnanů minimum, nejvíce je jich v listové zelenině.

Vliv na hromadění dusičnanů nemají jen hnojiva, ale i vegetační podmínky a druh plodiny.

Velký vliv na kumulaci dusičnanů má denní doba ve které jsou plodiny sklízeny, ráno je v plodinách nahromaděno více dusičnanů než večer. Během dne rostlina využívává látky, které přes noc asimilovala a mezi ně patří i dusičnany, které jsou zabudovávány do rostlinných bílkovin. Proto jejich množství přes den ubývá.

Nebývá konzumováno tolik ovoce a zeleniny, aby to bylo z hlediska obsahu dusičnanů nebezpečné pro lidský organismus.

Hlídat obsahy dusičnanů je třeba hlavně u kojenců a malých dětí.

Dusík je jednou z biogenních látek pro rostliny a dusičnany jsou potřebné k jejich správnému vývoji. Hnojení dusíkem je pro zdárný vývoj rostlin žádoucí.

Dusičnany sami o sobě nejsou toxické, toxické jsou dusitany a nitrosaminy které z nich mohou vznikat.

Legislativa Evropské unie se zabývá výhradně dusičnany v listové zelenině. Tato zelenina jich kumuluje nejvíce a mezi obsahy dusičnanů ve stejných plodinách v jednotlivých státech jsou značné rozdíly, proto některé státy mají výjimky z limitů pro obsahy dusičnanů, ale pouze pro svůj domácí trh.

Dusičnany se dostávají do našeho metabolismu nejen prostřednictvím ovoce a zeleniny, ale také díky masu a vodě. Zdraví člověk nemívá s jejich příjmem problémy neboť se jejich většina vyloučí močí během několika hodin.

Stanovení dusičnanů se provádí hlavně chromatograficky a spektrofotometricky.

5 Seznam literatury

Česko. Vyhláška Ministerstva zdravotnictví ze dne 29. Ledna 2009, kterou se stanoví chemické požadavky na zdravotní nezávadnost jednotlivých druhů potravin a potravinových surovin, podmínky použití látek přídatných, pomocných a potravních doplňků [online]. Sagit, [cit. 2010-3-4]. Dostupné také z http://www.sagit.cz/pages/sbirkatxt.asp?zdroj=sb02053&cd=76&typ=r

ČSN EN 12014. Potraviny – Stanovení obsahu dusičnanů a/nebo dusitanů, 1999. Český normalizační institut, Praha

EFSA. Nitrate in vegetables – Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food chain. 10. April 2008[online]. EFSA [cit. 2010-3-4]. Dostupné z http://www.efsa.europa.eu/EFSA/efsa_locale-1178620753812_1178712852460.htm

ES. Nařízení Komise č. 1881/2006 ze dne 19. Prosince 2006, kterým se stanoví maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách[online]. EUR - Lex, [cit. 2010 -3 - 4]Dostupné také z http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2006:364:0005:01:CS:HTML

Greenwood, D. J. and Hunt, J. 1986. Effect of nitrogen fertilizer on the nitrate contents of field vegetables grown , Britain, Food Agriculture, p. 373

Hlavsová, D., Tuček, J, Turek,B. 1980. Závěrečná zpráva výzkumného ústavu č. P-17-335-234-02-02 OHS Klatovy a KHS Plzeň, (v Prugar, J.; Prugarová, A.1982. Nitráty, nitrity a nitrosaminy v potravinách, Výzkumný ústav potravinářského průmyslu, Praha, s. 4-6)

Hlušek, J. 2004. Základy výživy a hnojení zeleniny a ovocných kultur, Ústav zemědělských a potravinářských informací, Praha, s. 7-28; 37-54

Hlušek, J. a Richter, R. 2006. Využití dusíku rostlinami z aplikovaných hnojiv. Sborník vědeckých a odborných prací z konference Nové trendy v používání dusíkatých hnojiv. Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha, s 5-14

Junge, H.D.;Handke, S.1990. Zuchtziel "Nitratarmut bei Radies fűr den Winterbau", Detmold, s. 177-192

Kodíček, M. Koloběh dusíku, 2007. Z *Biochemické pojmy : výkladový slovník* [online]. Praha: VŠCHT Praha, [cit. 2010-03-11]. Dostupné z <http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-002/ebook.html?p=kolobeh_dusiku> (Obr. 2)

Kvasničková, A. Tři novely nařízení EU týkající se kontaminantů v potravinách [online]. Agronavigátor, 22. 4. 2004 [cit. 2010-3-4]. Dostupné z http://www.agronavigator.cz/default.asp?ids=158&ch=13&typ=1&val=25430

L´hirondel,J. and L´hirondel, J.-L. 2002. Nitrate and Man, Toxic, Harmless or Beneficial, Wallingford, UK, p. 78, 93

Lundberg, J.O., Weitzberg,E., Cole,J.A. and Benjamin,N. 2004. Nitrate, bacteria and human health. Nat.Rev.Microbiol. 2, 593-602.

Marschner, H.1985. Einfluss von Standort und Wirtschaftsbedingungen auf die Nitratgehalte in verschieden Pflanzenarten, Sonderdeft, s. 16-33

Maynard, D. N., Barker, A. V., Minotti P. L., Peck, N. H. 1976. Nitrate accumulation in vegetables, Agron, p. 71-118

Nováková, H. 2008. Před dusičnany v zelenině se můžeme bránit. Zdraví, XXXVI, 1, 70-75

Oertli, J.J.1987. Interaktive Wirkung von Temperatur und Lic ht auf den Nitratgehalt von Geműsepflanzen, Schweiz, s. 484-488

Ostrčil, J. a Odstrčilová M. 2006. Chemie potravin, Brno, s. 131

Pechová, B. 1990. Vplyv odrôdy a ročníka na obsah dusičnanov v hlávkovej kapuste, Zahradnictví, s. 219-222

Polách, J. 1985. Metodika hnojení zeleniny se zřetelem na snížení obsahu dusičnanů, Č. Budějovice

Procházka, S., Šebánek, J., Krekule, J., Macháčková, I. 1998: Fyziologie rostlin, Academia, s. 5-9

Prugar, J. 1992. Výživa listovej zeleniny dusíkom vo vzťahu k akumulácii dusičnanov, Bratislava, s. 128-135

Prugar, J., Hadačová, V. 1995. Vliv agrotechniky na obsah dusičnanů v zelenině a bramborách, Ústav zemědělských a potravinářských informací, s. 15

Prugar, J., Prugarová, A. 1985. dusičnany v zelenině, Príroda, s.10-11; 68-71; 94 -110, s. 72 (obr.1), s 107 (obr. 3 a 4)

Prugar, J.a Prugarová, A.1982. Nitráty, nitrity a nitrosaminy v potravinách, Výzkumný ústav potravinářského průmyslu, Praha, s. 6-8

Prugar,J., Polišenská, I., Dostálová,J., Hajšlová, J., Hrubý,J., Kalač, P., Vaculová, P.2008. Kvalita rostlinných produktů na prahu 3. Tisíciletí, Výzkumný ústav pivovarský a sladařský ve spolupráci s Komisí jakosti rostlinných produktů ČAZV, s. 49-52

Stein, S. 1999. Zelenina, praktický rádce, Príroda, a.s., s. 20

Suková, I. Vliv fermentace na nežádoucí složky zeleniny [online]. Agronavigátor, 29. 11. 2002 [cit. 2010 – 1 - 17]. Dostupné z http://www.agronavigator.cz/default.asp?ids=149&ch=13&typ=1&val=10189

Šrot, R. 1998. Ovoce, rady pro pěstitele, Aventinum s.r.o., s. 68

Šrot, R. 2005. Zelenina, rady pěstitelům, Aventinum s.r.o., s. 44-45

Tibenská, M. a Synek, M. 1982. Dusičnany a dusitany v mrkve z hradiska alimentárnej methemoglobinémie dojčiat, Bratislavské lekárské listy, 78, č.2, s. 179-187 (v Prugar, J. a Prugarová, A. 1985. dusičnany v zelenině, Príroda, s.106)

Velíšek, J. a Hajšlová,J. 2009. Chemie potravin 1-2, 3 vydání, OSSIS, s.482-483

Weightman, R.M., Dyer, C., Buxton, J. and Farrington, D.S. 2006. Effects of light level, time of harvest and position within field on the variability of tissue nitrate concentration in commercial crops of lettuce (Lactuca sativa) and endive (Cichorium endiva). Food Addit.Contam 23, 462-469

Zrůst, J. a Holá, Z. 1994. Vliv přechodného období sucha na obsah celkového a bílkovinného dusíku a dusičnanů v hlízách brambor, Rostlinná výroba, č. 3, s. 271-279