

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

Fakulta chemická

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Brno, 2018

Petr Fiala



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

STANOVENÍ DUSIČNANŮ V KOŘENOVÉ ZELENINĚ

DETERMINATION OF NITRATE IN ROOT VEGETABLES

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Petr Fiala

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. Ing. Pavel Diviš, Ph.D.

BRNO 2018

Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1286/2017
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií
Student: **Petr Fiala**
Studijní program: Chemie a technologie potravin
Studijní obor: Potravinářská chemie
Vedoucí práce: **doc. Ing. Pavel Diviš, Ph.D.**
Akademický rok: 2017/18

Název bakalářské práce:

Stanovení dusičnanů v kořenové zelenině

Zadání bakalářské práce:

1. vypracování literární rešerše k tématu práce
2. provedení analýz obsahu dusičnanů ve vybrané kořenové zelenině v běžné kvalitě a v bio-kvalitě
3. zpracování naměřených výsledků

Termín odevzdání bakalářské práce: 21.5.2018

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí bakalářské práce.

Petr Fiala
student(ka)

doc. Ing. Pavel Diviš, Ph.D.
vedoucí práce

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2018

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
Děkan

ABSTRAKT

Bakalářská práce se zabývá studiem koncentrace dusičnanů v různých druzích kořenové zeleniny. Cílem je porovnání těchto koncentrací v zelenině běžné kvality oproti zelenině bio-kvality. Teoretická část bakalářské práce se věnuje obecnému popisu kořenové zeleniny a dusičnanů a rovněž jejich vlivu na lidské zdraví a přírodu. V dalších kapitolách teoretická část rozebírá problematiku používání různých druhů hnojiv a také způsoby organického zemědělství. V poslední kapitole je popsána použitá analytická metoda.

Měření v experimentální části je prováděno metodou iontové chromatografie. Naměřené koncentrace dusičnanů v obou typech zeleniny jsou porovnány a diskutovány. Výsledné hodnoty ukazují na vyšší koncentraci dusičnanů v zelenině bio-kvality.

ABSTRACT

The Bachelor thesis deals with the study of nitrates occurring in different species of root vegetables. The aim is to compare the amount of nitrates in common type of vegetables to bio-vegetables. The theoretical part of the Bachelor thesis is devoted to root vegetable in general and also to nitrates and their influence to human health and nature. Fertilizers and organic agriculture are also mentioned. The last chapter focuses on the analytical method.

The measurement is carried out by the ion chromatography and the outcome of nitrate concentrations in both types of vegetables is compared and discussed. The results point out higher concentration of nitrates in bio-quality vegetables.

KLÍČOVÁ SLOVA

kořenová zelenina, dusičnany, methemoglobinémie, hnojiva, iontová chromatografie

KEYWORDS

root vegetable, nitrates, methemoglobinemia, fertilizers, ion chromatography

FIALA, P. *Stanovení dusičnanů v kořenové zelenině*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2018. 44 s. Vedoucí bakalářské práce doc. Ing. Pavel Diviš, Ph.D.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracoval samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citoval. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

.....

Podpis studenta

Poděkování

Na tomto místě bych rád poděkoval vedoucímu práce panu doc. Ing. Pavlu Divišovi, Ph.D. a rovněž jeho kolegovi panu Ing. Jaromíru Pořízkovi, Ph.D. za jejich odborné vedení, věnovaný čas a také za velmi cenné rady a připomínky.

OBSAH

1	ÚVOD	7
2	TEORETICKÁ ČÁST	8
2.1.	Kořenová zelenina	8
2.1.1.	Chemické složení kořenové zeleniny.....	8
2.1.1.1.	Voda	9
2.1.1.2.	Sacharidy.....	9
2.1.1.3.	Vláknina	10
2.1.1.4.	Bílkoviny.....	10
2.1.1.5.	Vitaminy.....	10
2.1.1.6.	Ostatní látky	10
2.1.2.	Význam kořenové zeleniny pro člověka.....	11
2.2.	Charakteristika dusičnanů.....	11
2.2.1.	Vlastnosti dusičnanů	11
2.2.2.	Výskyt dusičnanů.....	12
2.2.3.	Nitrifikace a koloběh dusíku	12
2.3.	Dusičnany v kořenové zelenině.....	13
2.3.1.	Přijímání dusičnanů	13
2.3.2.	Výskyt dusičnanů v zelenině	14
2.3.3.	Obsah dusičnanů v zelenině.....	14
2.3.4.	Vliv dusičnanů v zelenině.....	15
2.4.	Vliv dusičnanů na člověka.....	15
2.4.1.	Methemoglobinémie	16
2.4.2.	N-nitrosoaminy	16
2.4.3.	Pozitivní vliv na zdraví člověka.....	17
2.5.	Vliv dusičnanů na přírodu	17
2.5.1.	Znečištění vody.....	17
2.5.2.	Znečištění vzduchu	18
2.6.	Hnojení	18
2.6.1.	Organická (statková) hnojiva	18
2.6.2.	Minerální (průmyslová) hnojiva	19
2.6.2.1.	Dusíkatá hnojiva.....	19

2.6.3. Ostatní hnojivé hmoty	20
2.6.4. Pesticidy	20
2.7. Organické zemědělství	21
2.7.1. Principy	22
2.7.2. Kritika biopotravín	22
2.7.3. Limity obsahu dusičnanů	22
2.8. Analytické metody stanovení dusičnanů	23
2.8.1. Chromatografie	23
2.8.2. Iontově výměnná chromatografie	23
2.8.2.1. Čerpadla	25
2.8.2.2. Dávkovací zařízení	25
2.8.2.3. Kolony	25
2.8.2.4. Detektory	25
2.8.2.5. Využití	26
3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	27
3.1. Popis vzorků	27
3.2. Laboratorní vybavení	29
3.2.1. Pomůcky	29
3.2.2. Chemikálie	29
3.2.3. Parametry iontového chromatografu	29
3.3. Příprava vzorků	29
4 VÝSLEDKY A DISKUZE	30
4.1. Porovnání s výsledky udávanými literaturou	33
4.2. Porovnání bio vzorků z České republiky a z jiných zemí	34
4.3. Porovnání s přijatelnou a bezpečnou denní dávkou	35
4.4. Výsledky stanovení ve vzorcích zeleniny pro vlastní spotřebu	36
4.5. Shrnutí výsledků	38
5 ZÁVĚR	39
6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ	40
7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	44

1 ÚVOD

Jedním ze zásadních problémů současného světa je nutnost produkce velkého množství potravin na malé ploše obhospodařované půdy. Největší zemědělské podniky se proto snaží získat maximum ze svých polí a ideální možností ke zvýšení produkce je použití minerálních hnojiv. Tato minerální hnojiva jsou schopna zvyšovat odolnost potravin a tím pádem také nutriční hodnotu a produkci. Avšak látky pocházející z tohoto typu hnojiv se staly pro některé konzumenty nepřijatelnými, a tudíž našli alternativu v bio potravinách.

Zdravotní nezávadnost potravin se stala v posledních letech často zmiňovaným tématem. Se zvyšující se životní úrovní narostla větší poptávka po kvalitních a zdravých potravinách. Moderní země již nemusí řešit existenční otázky v oblasti jídla a mohou se tedy více zabírat kvalitou potravin, což má za následek zvýšení trendu produkce a konzumace bio potravin. Konzumenti mají na tyto potraviny vysoké nároky, a to zejména na jejich vysokou nutriční hodnotu a zdravotní nezávadnost. Ovšem vypěstovat takovouto plodinu není zcela jednoduché a jedná se o poměrně energeticky náročný proces. Výsledkem by měla být kvalitnější potravina než běžně dostupné potraviny, avšak ne vždy tomu tak je.

Je téměř nemožné vypěstovat absolutně nezávadnou potravinu. S výskytem kyselých dešťů dochází u všech potravin pěstovaných na venkovních prostranstvích k nárůstu koncentrací nežádoucích látek. Je však snaha o co největší regulaci těchto škodlivých látek. Proto se v polovině minulého století začal svět více zajímat o organické zemědělství, které má za cíl nepoužívat minerální hnojiva a vytvořit soběstačný systém, kdy se místo zmíněných hnojiv používají obyčejná statková hnojiva. Výhodou organického zemědělství je nepoužívání diskutabilních pesticidů. I přesto potraviny nejsou zcela zdravotně nezávadné, a to zejména kvůli vysokému obsahu dusíku v statkových hnojivech, které zelenina nemusí být schopná zcela využít.

Zelenina pěstovaná organickým zemědělstvím obsahuje vyšší koncentrace dusičnanů, které se následně dostávají do těla člověka, kde zejména u kojenců a malých dětí jsou schopny vyvolávat vážné choroby. Dusičnany jsou však pouhým zprostředkovatelem a hlavní nebezpečí skýtají dusitany, které po redukci v těle člověka negativně ovlivňují hemoglobin a způsobují závažnou nemoc zvanou methemoglobinémií.

Je však nutné zmínit, že bio zelenina není jediným zdrojem dusičnanů. Podstatné množství se také nachází ve vodě, do které se dostává splavováním minerálních hnojiv z běžného zemědělství. Dalším zdrojem jsou masné výrobky, do kterých jsou přidávány dusičnany s cílem zvýšení sensorické kvality.

Tato bakalářská práce se zabývá porovnáním vlivu hnojení na koncentraci dusičnanů v kořenové zelenině. Jako reprezentativní vzorky jsou vybrány běžně zakoupené druhy kořenové zeleniny v supermarketech a kořenová bio zelenina pořízená z menších obchodů, které se specializují na zdravou výživu. Koncentrace dusičnanů všech vzorků je stanovena pomocí metody iontové chromatografie.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1. Kořenová zelenina

Kořenová zelenina je druh zeleniny, jejíž konzumní částí je kořen, bulva nebo hlíza – tedy podzemní části rostliny. V těchto podzemních částech si rostlina ukládá zásobní látky, barviva a látky poskytující charakteristickou chuť, vůni a barvu. Mezi nejtypičtější druhy kořenové zeleniny patří mrkev, petržel, řepa, celer, zázvor, křen či ředkvička [1].

Typické pro tento řád zeleniny je nenáročnost na teplo a sluneční svit. Naopak vyžaduje velice kvalitní půdu s drobovitou strukturou a dostatečnou výživou. Ve tvrdé, jílovité či kamenné půdě dochází ke špatnému růstu a deformaci kořenů [2].

Zelenina se dělí dle vegetačního období na jednorocní, dvouroční a trvalé. Jednorocní jsou schopny během roku dorůst do konzumní velikosti a zároveň poskytnout semena pro rozmnožování. Dvouroční (nejčastější) tvoří v prvním roce kořen, který se z půdy vyndává a po zimě znovu vysadí. Ve druhém roce se po opylení získává výsledná úroda a rovněž semena. Posledním druhem jsou trvalé druhy zelenin, které na jednom místě po dobu několika let rostou a také poskytují úrodu [1].

Růst se během vegetace dělí na 2 období. V prvním dochází k vyrovnanému růstu podzemních i nadzemních částí rostlin, kdy mírně převládá růst nadzemních orgánů (stonek, listy). Po získání potřebné velikosti nastává druhá fáze vegetace, při které dochází k většímu růstu kořenů [3].

Výhodou pěstování kořenové zeleniny je dobrá mechanizace při sklizni a možnost dlouhodobého skladování. Využívá se v čerstvém stavu, konzumuje se syrová nebo vařená. Je možné ji zamrazit a také se konzervuje k přípravě šťáv a džusů [4].

2.1.1. Chemické složení kořenové zeleniny

Základní živiny pro každou rostlinu jsou uhlík, kyslík a vodík. Ke příjmu uhlíku dochází ve formě CO_2 a organického substrátu, zatímco vodík a kyslík získávají rostliny z vody, resp. ze vzduchu. Dalšími důležitými prvky jsou dusík, fosfor, draslík a jiné makro či mikro prvky, které získává rostlina z půdy a z půdního roztoku. Do půdního roztoku se látky dostanou ve formě iontů poté, co jsou disociovány na kationty a anionty. Tyto ionty následně pronikají k povrchu buněk kořenových vlásků a dochází k aktivnímu příjmu a hromadění látek v buňkách. Z kořenů se posléze látky dostávají do celého těla rostliny.

Látky se do rostliny mohou dostat i mimokořenově, a to například listovými průduchy (CO_2) nebo postřiky. K dosažení kvalitního růstu rostlin je nutné, aby byl příjem látek zajištěn ve správném poměru a také čase. V tabulce 11 je uveden přehled látek, které jsou obsaženy ve vybraných druzích kořenové zeleniny. [3,5].

Tabulka 1 Hodnoty základních látek obsažených ve vybraných druzích kořenové zeleniny [6]

Plodina/Složka	Voda [g · kg ⁻¹]	Sušina [g · kg ⁻¹]	Sacharidy [g · kg ⁻¹]	Vláknina [g · kg ⁻¹]	Bílkoviny [g · kg ⁻¹]	Ostatní látky [g · kg ⁻¹]
Celer	893	107	99	37	17	3
Červená řepa	891	109	106	23	18	1
Mrkev	880	120	97	30	14	3
Petržel	877	123	122	18	29	6
Ředkvička	944	56	37	10	11	1
Křen	760	240	224	62	39	5

2.1.1.1. Voda

Voda má pro zeleninu mnoho významů. Tvoří její velkou procentuální část, zejména buňky. Při dostatku vody se vytváří vnitřní vodní tlak (turgor), který drží rostlinu vzpřímenou a umožňuje správný růst listů. Důsledkem je poté schopnost absorbovat sluneční svit pomocí listů na co největší ploše. Vnitřní pnutí dále zvětšuje buňky, a tím pádem celkový vzrůst rostlin. Další podstatnou vlastností vody v rostlině je tvorba vodného prostředí pro roztoky důležitých látek a jejich transport k rostlině. Rovněž slouží jako rozpouštědlo a při potřebě může ochlazovat zeleninu. Existují různé druhy vod, rostliny využívají zejména dešťové a podzemní, další možností je povrchová (pro zeleninu v blízkosti řek a jezer) a vodovodní při zalévání [7].

Kvalita je posuzována dle pH (ideálně slabě kyselé až neutrální) a celkové koncentrace solí (neměla by být více než 1 g · l⁻¹). Dalším faktorem je množství nežádoucích iontů a obsah rozpustných sloučenin vápníků a hořčiku, kvůli kterým při zvýšené koncentraci narůstá tvrdost vody [3].

2.1.1.2. Sacharidy

Sacharidy jsou nejdůležitější energetickou složkou ovoce a zeleniny. Zelenina obsahuje malé množství jednoduchých cukrů, a to glukosu a fruktosu a dále xylosu a arabinosu, která je přítomna ve vyloužených řepných řízciích. Ve větší míře se v zelenině vyskytují polysacharidy, a to zejména škrob a sacharosa. Sacharosa neboli řepný či třtinový cukr, má v kořenové zelenině největší obsah v mrkvi a řepě. Je nejdůležitějším neredukujícím disacharidem složeným z α-D-glukosy a β-D-fruktosy. Vyskytuje se zejména ve vegetativních částech a u zmíněných typů zeleniny dosahuje až 10 % celkové hmotnosti. Specifickým sacharidem pro kořenovou zeleninu je apiosa, která tvoří v celeru a petrželi glykosidy. Množství všech sacharidů v zelenině (a také v ovoci) určuje jejich stupeň zralosti [6,8].

2.1.1.3. Vlákna

Do skupiny vlákniny se řadí mnoho polysacharidů, mezi které patří celulóza, hemicelulóza, lignin, pektin a polysacharidy s aditivní funkcí. Zelenina je důležitým zdrojem vlákniny, poněvadž obsahuje velké množství pektinu a také celulózy a hemicelulózy. Vlákna se dělí na rozpustnou (např. hemicelulóza, pektin) a nerozpustnou (celulóza, lignin). Význam nerozpustné vlákniny je zejména v zažívacím traktu, kde zlepšuje peristaltiku. Rozpustná vlákna naopak slouží ke zvyšování viskozity potravy v žaludku, regulaci trávicího procesu, upravení střevní mikroflóry a také ke snížení krevního tlaku a cholesterolu. V potravinách mají důležitou funkci při formování textury a v organoleptických vlastnostech [4,8,9].

2.1.1.4. Bílkoviny

Bílkoviny tvoří pro zeleninu důležitý zdroj dusíku a dále poskytují zelenině aminokyseliny a peptidy. Velký význam mají enzymy, které se aktivují při zpracování a přispívají ke vzniku charakteristického aroma. Dokáží však fungovat i negativně, a to při enzymatickém hnědnutí, kdy dochází k tvorbě nežádoucích aromatických látek, které mají za následek měknutí pletiv, ztrátu vitamínů či diskoloraci [9].

Kořenová zelenina nepatří mezi hlavní zdroje bílkovin pro člověka, přesto jsou v ní přítomny přibližně v rozmezí 10-40 g · kg⁻¹. Pro rostlinu však mají zásadní vliv na správné fungování biologických funkcí, mezi které patří správný růst, funkčnost katalytických procesů, transport živin a ochrana rostliny [6,8].

2.1.1.5. Vitaminy

Vitaminy jsou hlavní součástí ovoce a zeleniny a jejich význam je především v ochraně lidského organismu v různých směrech [6]. V zelenině se vyskytují hlavně vitaminy A, K, C a některé vitaminy skupiny B.

Vitamin A – zdrojem vitamínu A jsou karotenoidy, které se dělí na karoteny a xantofyly. Obsah karotenoidů určuje druh rostliny, klimatické podmínky a stupeň zralosti. Nejběžnějšími karotenoidy jsou β-karoten a lykopen. V zelenině se vitamin A nevyskytuje, vyskytuje se však ve formě provitaminu A, a to zejména v mrkvi, kapustě či rajčatech. Provitamin A se po přijetí v těle přemění na vitamin A, který je důležitý pro své protiinfekční účinky. Zlepšuje také funkci zraku, vývin a růst.

Vitamin C – nejvíce je uložen v čerstvé zelenině a jeho obsah se odvíjí od odrůdy, způsobu pěstování a hnojení. Nepatří mezi stálé vitaminy, oxidací a výluhem dochází ke ztrátám. Největší množství vitamínu C v kořenové zelenině je obsaženo v petrželi. Napomáhá prevenci proti kurdějím a avitaminózám a také má antioxidační účinky.

Mezi nejčastější vitaminy skupiny B patří thiamin (B₁), riboflavin (B₂), niacin (B₃) a pyridoxin (B₆). Tyto vitaminy jsou zodpovědné za správnou funkci nervového systému a ochranu cév. Vitamin E posiluje činnost nervů a mozku a vitamin K podporuje srážlivost krve [4,9].

2.1.1.6. Ostatní látky

Mezi látky s nižší koncentrací se řadí minerální látky, ke kterým patří například železo, vápník, fosfor, hořčík a draslík. Zelenina je velice důležitým zdrojem těchto prvků a jejich obsah se odvíjí od složení a kvality půdy, druhu hnojení a zralosti suroviny. Význam

minerálních látek je v regulaci fyziologické a biochemické funkce, při tvorbě enzymů a hormonů. Jsou velmi důležité pro udržování acidobazické rovnováhy. K největším změnám v obsahu minerálních látek dochází při zpracování [4].

Mezi látky s nižším obsahem se řadí také lipidy, jejichž množství je velmi malé. Přesto mají v zelenině určitou funkci, a to při tvoření aromatických vlastností zeleniny. Také jsou důležité pro vitaminy, které se v nich rozpouští. Dalšími látkami s nižší koncentrací jsou organické kyseliny, které slouží ke zvyšování chuti potraviny. Patří zde kyselina jablečná a citronová.

Z biologicky aktivních látek jsou pro zeleninu potřebné flavonoidy. Nejvýznamnější jsou anthokyaniny, které zahrnují velké množství přírodních barviv. Na výslednou barvu anthokyaninů má vliv pH, kdy v kyselém prostředí dochází spíše k tvorbě červeného zbarvení a v zásaditém k modrému [4,9].

2.1.2. Význam kořenové zeleniny pro člověka

Nejdůležitější význam kořenové zeleniny je shrnutý v těchto bodech:

- Jsou zdrojem vitamínu a minerálních látek
- Pomocí organoleptických vlastností (chuť a vůně) podporují vylučování žaludečních šťáv
- Dodávají lidskému organismu vodu a podporují tak její cirkulaci v těle, čímž snižují krevní tlak
- Vlákniinou snižují vstřebávání škodlivých látek a upravují střevní mikroflóru
- Energetickou hodnotou potlačují pocit hladu

Oproti ovoci má zelenina výhodu, že neobsahuje tak velké množství sacharidů, což vede k prevenci obezity a cukrovky.

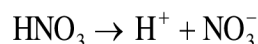
Konzumace zeleniny při vysokých dávkách může vést k plynatosti a syrové produkty mohou být původcem alergenních reakcí. Největší nebezpečí pro člověka však tvoří aditivní látky, které se do půdy mohou dostat při hnojení nebo při ošetření zeleně pesticidy [4,10].

2.2. Charakteristika dusičnanů

2.2.1. Vlastnosti dusičnanů

Dusičnany jsou soli kyseliny dusičné a obsahují dusičnanový ion. Jedná se o oxidační činidla, která jsou málo reaktivní, avšak mikrobiálně či chemicky se redukují na reaktivní dusitanové ionty. Během denitrifikace podléhají redukci na elementární dusík, oxid dusný a oxid dusnatý. Další možností redukce je chemickou cestou pomocí různých kovů (Cd, Zn, Fe, Al), amoniakálním dusíkem nebo hydrazinem. Dochází ke vzniku směsi produktů a převaha některého z nich se dosáhne správně nastavenými fyzikálními podmínkami. Dusičnany netvoří přímé riziko pro člověka, avšak jejich redukováná forma, dusitany, tvoří potenciální nebezpečí.

Vodná fáze dusičnanů, kyselina dusičná, je silná jednosytná kyselina, která disociuje dle rovnice:



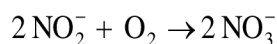
Při běžných hodnotách pH v přírodě je rovnováha posunuta vpravo a hlavní výskyt je tedy ve formě dusičnanových iontů [11,12].

2.2.2. Výskyt dusičnanů

Největší výskyt dusičnanů v potravinách je rostlinného původu, menší část se také nachází v potravinách živočišného původu. Významný zdroj představuje rovněž voda, do které putují podzemní vody z půdy, odpadní voda z průmyslu a kyselé deště. V pitné vodě je mnohem větší obsah dusičnanů oproti dusitanům, ty se vyskytují spíše ve znečištěné a stojaté vodě. Dalším zdrojem dusičnanů jsou minerály, které se nejvíce vyskytují ve formě chilského ledku (NaNO_3) [11,13].

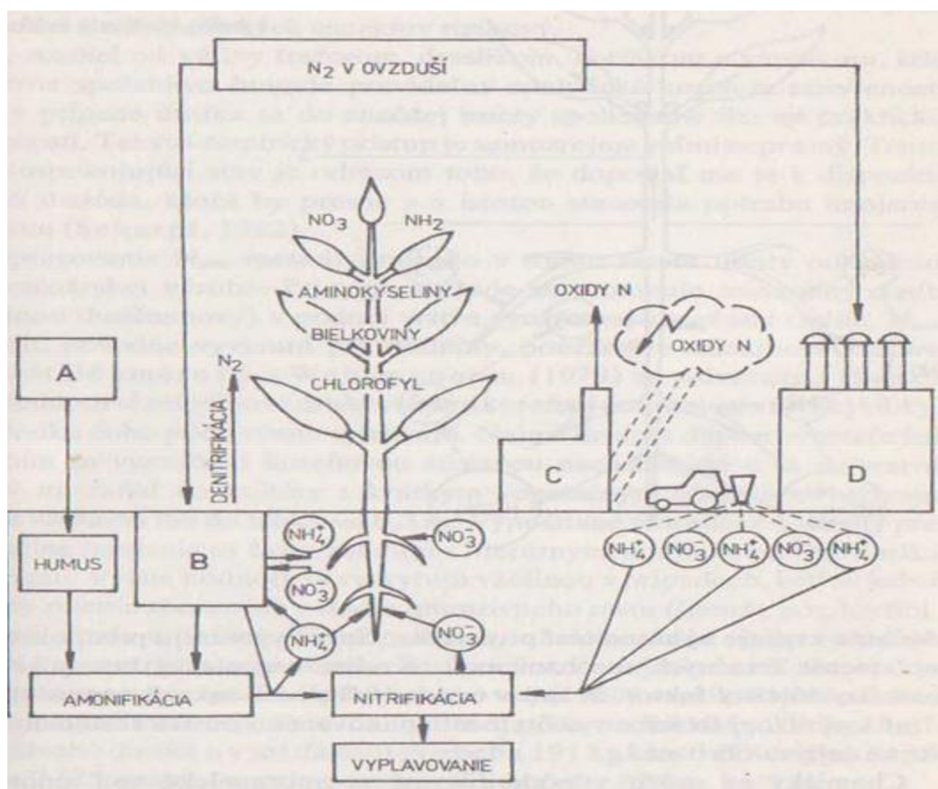
2.2.3. Nitrifikace a koloběh dusíku

Na koloběhu sloučenin dusíku se nejvíce podílejí mikroorganismy, zejména bakterie rodu Nitrosomas a Nitrobacter. Tyto bakterie jsou schopné vázat atmosférický dusík a redukovat jej na amoniak. Konverze amoniaku na dusitany a dusičnany se nazývá nitrifikace, která probíhá ve 2 stupních. V prvním stupni dochází k přeměně amoniaku na dusitany a ve druhém k oxidaci dusitanů na dusičnany [13]:



Opačným procesem je degradace dusičnanů a dusitanů, tzv. denitrifikace, při které dochází pomocí fakultativně anaerobních bakterií k postupné redukcii dusičnanů až na molekulový dusík. K tomuto ději dochází v půdě a ve vodě a rostliny tím ztrácí potřebné živiny pro růst. Důležité podmínky pro denitrifikaci jsou vysoký obsah dusičnanů, přístup vody a uhlíku [11,14].

Dále při koloběhu dusíku probíhají u heterotrofních mikroorganismů paralelně 2 protichůdné reakce, a to mineralizace a imobilizace. Mineralizace je proces konverze organického dusíku na NH_4^+ dvěma reakcemi, a to aminizací a amonifikací. Během aminizace dochází k rozpadu proteinů na aminokyseliny, aminy, močovinu, CO_2 a energii. V procesu amonifikace se aminy ve vodném prostředí přemění na amoniak a alkohol. Při reakci je opět uvolňována energie. Opačný proces nazývaný imobilizace je konverze anorganického dusíku ve formě NH_4^+ a NO_3^- na organický dusík [12].



Obrázek 1 Koloběh dusíku v přírodě [15]

A-rostlinné a živočišné produkty, kompost; B – vázání dusíku mikroorganismy; C – emise;
D – výroba dusíkatých hnojiv

2.3. Dusičnany v kořenové zelenině

2.3.1. Přijímání dusičnanů

Dusičnany se mohou dostávat do půdy přirozenou cestou, nebo pomocí hnojiv. Z půdy jsou poté pomocí kořenů vsakovány do rostliny. Esenciální dusík absorbují ve formě amoniových nebo dusičnanových solí. Dusičnany zde tvoří dusíkatou rezervu, kterou rostlina potřebuje pro syntézu aminokyselin a proteinů [13].

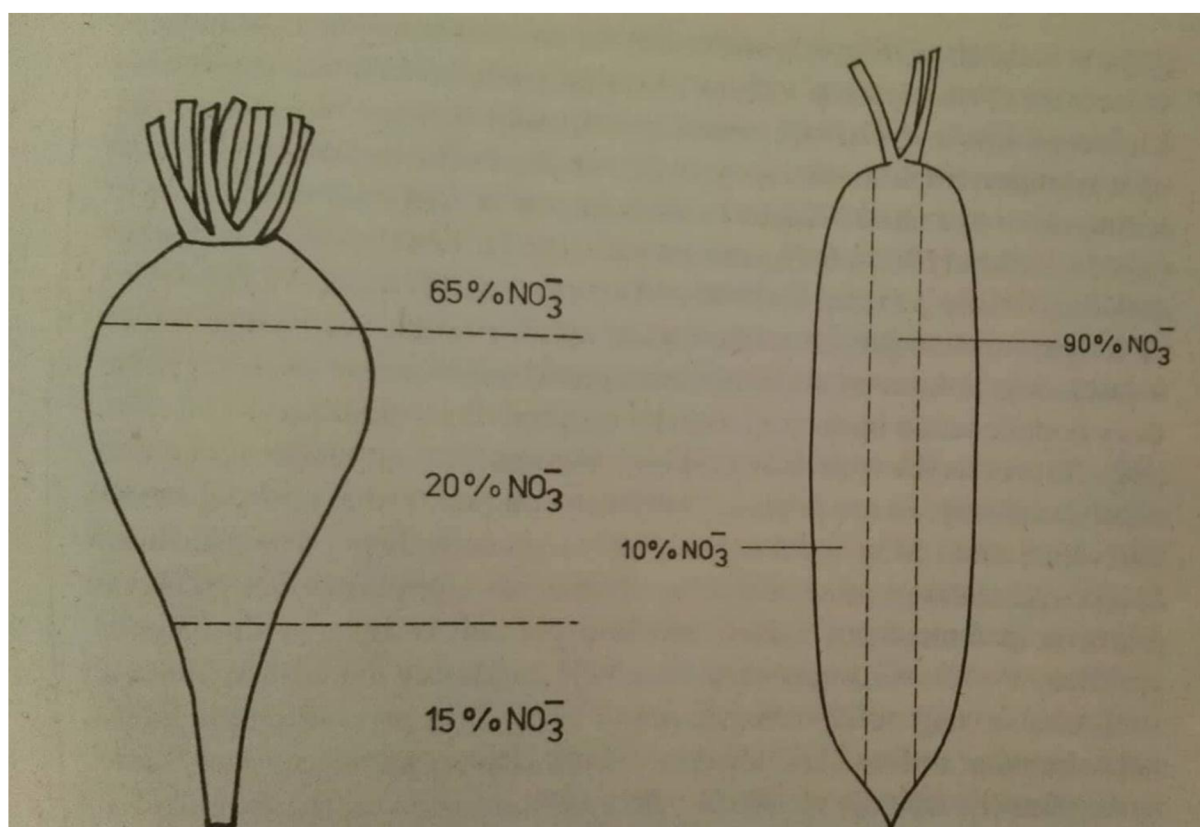
Z vodných roztoků se látky ve formě kationtů či aniontů dostávají pomocí vodivých pletiv z kořenů do ostatních částí rostliny. Vodné roztoky musí být v tzv. rhizosféře, tedy v oblasti obklopující kořeny. Do rostliny se poté ionty dostávají různými způsoby. Jeden z nich je označován jako pohyb půdního roztoku neboli hmotový tok. Je založen na rozdílném vodním potenciálu. Rostlina čerpá vodné roztoky iontů pomocí kořenů a v jejich okolí tak dochází ke snížení vlhkosti. Toto vede k přisunu nových živin z jiných zón půdy. Množství přijatých živin se tedy odvíjí od schopnosti rostliny čerpat živiny. Jiná možnost transportu živin je difuze, při které dochází k přesunu iontů z koncentrovanějších míst do méně koncentrovaných. Další možností je rozrůstání kořenů, kdy je rostlina schopna čerpat živiny i z hůře dostupných míst. Poslední způsob se označuje jako mimokořenová výživa rostlin, kdy se živiny přijímají všemi orgány (listy, stonky, květy, příp. větvemi, kmenem). Živiny většinou ulpívají na orgánech a poté pronikají do těla přes kutikulu [3].

Ve vlhkém, teplém a dobře provzdušněném prostředí převládá příjem NO_3^- před NH_4^+ . Přesto pro většinu rostlin je výhodnější, pokud obsahuje obě tyto látky, než pouze dusičnany samotné [12].

2.3.2. Výskyt dusičnanů v zelenině

Obsah dusičnanů není stejný ve všech částech rostliny. Nejvíce se nacházejí ve xylémových vodivých pletivech a vakuolách. Patří zde tedy orgány, které zabezpečují transport živin v rostlině, jmenovitě žilky listů a stopky. Naopak nejnižší koncentrace dusičnanů je v listových čepelích a plodech. Přimo v nadzemních vrstvách plodů je však zvýšená koncentrace NO_3^- .

U kořenové zeleniny je podstatné období vegetace, kdy dle vegetačního období se liší koncentrace dusičnanů v nati a v kořeni. Při intenzivní dusíkaté výživě dochází k většímu zvyšování poměru dusíku ku dusičnanům. Důvodem je okamžitá redukce dusičnanu na amoniak a vytváření aminokyselin. Pokud jsou ale dávky dusíku příliš velké, nestačí jej rostlina zpracovat a dochází ke kumulaci dusičnanů [15].



Obrázek 2 Rozložení dusičnanů v kořeni řepy a mrkve [15]

2.3.3. Obsah dusičnanů v zelenině

Zelenina je největším zdrojem dusičnanů v potravě člověka. Množství NO_3^- je ovlivňováno klimatickými podmínkami, přístupem světla a tepla, druhem půdy, přístupem hnojiv a

v neposlední řadě také druhem rostliny. Koncentrace se rovněž liší v různých částech rostliny a dosahuje až $10\,000\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ [13].

Jiné vyjadřování obsahu dusičnanů v zelenině se udává pomocí poměru hodnot jejich příjmu z prostředí a schopností je redukovat. Tato schopnost se odvíjí od aktivity enzymu nitrareduktázy. V případě nadměrného množství dusičnanů dochází k jejich transportu z kořenových částí do nadzemních částí pomocí xylemových pletiv a zde se využívají jako zásoba dusíku pro osmotické jevy.

Určitý vliv na jejich obsah hraje také forma hnojiva, kdy ledková hnojiva způsobují větší hromadění dusičnanů než amoniakální. Amoniakální ledek se totiž v půdě rychle přeměňuje v nitrát. Tato vlastnost nabízí úvahu o snížení množství dusičnanů použitím amoniakálního ledku. Avšak problém tvoří neochota rostlin reagovat s amoniakální výživou, což má za následek pokles úrody a senzorických vlastností. O poměru příjmu iontů rozhoduje pH. V kyselé oblasti převažuje příjem NO_3^- , zatímco v neutrální až alkalické příjem NH_4^+ . Další faktorem je teplota. Pokud je teplota nižší, poté bude i nižší příjem a využití dusičnanů [3,16].

2.3.4. Vliv dusičnanů v zelenině

Kromě vody, tepla, světla a vzduchu potřebují rostliny i další látky, které se obecně nazývají živinami. Mezi živiny patří rovněž dusík a jeho sloučeniny, které mají důležitou úlohu v růstu všech rostlin. Při nedostatečném množství dochází ke špatným vegetativním pochodům, které se projevují pomalým růstem listů, případně k jejich žloutnutí a opadávání. Dalším projevem je nedostatečná velikost a množství plodů [1].

Pokud na začátku vegetace nemá rostlina dostatek dusíku, dochází u ní ke zpomalení tvorby stavebních a funkčních bílkovin, což má za následek omezení růstu orgánů. Rostliny tak jsou slabší a nízké. Světlá barva listů a stonku je důsledkem nedostatku chlorofylu. Při nedostatku dusíku totiž dochází k jeho odbourávání z chlorofylu a využívá se v jiných částech [3].

Nadbytek dusíku má za následek bujný růst listů, řídkost pletiv a jejich špatné dozrávání. Dále dochází k růstu hlavního kořene na úkor vedlejších a zhoršuje se tak možnost přijímat dostatek živin. Při výrazném nadbytku dochází na okrajích listů k nekrotám a zasychání. Důvodem je toxicita dusíku v pletivech. Vysoký obsah také láká škůdce, kteří napadají rostlinu [3,17].

2.4. Vliv dusičnanů na člověka

Obsah dusičnanů v malé koncentraci není pro dospělého a zdravého člověka nebezpečný. Problémem většího množství dusičnanů v těle je redukce na dusitany, které způsobují vážné zdravotní poruchy. Tato redukce může proběhnout exogenně nebo endogenně. U prvně zmíněného dochází k redukci kvůli špatným podmínkám, ve kterých je potravinu uchovávána (například teplo, vlhko, dlouhá doba). Endogenně vznikají dusitany v těle člověka, a to přímo v trávicí soustavě, ze které se dostávají do krve.

Nejčastějšími exogenními zdroji dusičnanů ve výživě člověka jsou různé druhy zeleniny, a to především ty, které jsou pěstovány v nepříznivých podmínkách na hnojené půdě. Tyto špatné podmínky mají za důsledek nedostatek uhlíkatých sloučenin a hromadění dusičnanů, které

nejsou schopny se bez uhlíků přeměňovat na aminokyseliny a bílkoviny. Dalším zdrojem těchto látek jsou živočišné produkty, do kterých jsou dusičnany či dusitany přidávány s cílem udržení barvy a také slouží k inhibici růstu bakterií. Obsah dusičnanů vyskytujících se v pitné vodě musí být rovněž regulován [18].

2.4.1. Methemoglobinémie

Toxický účinek dusitanů je ve vyvolání nemoci zvané methemoglobinémie, při které dochází k poruše funkce hemoglobinu. Hemoglobin je důležitý transportní metaloprotein, který se vyskytuje v červených krvinkách. Transportní funkce spočívá v přenosu kyslíku z plic do tkání a opačným směrem putování oxidu uhličitého. Je tvořen bílkovinou částí, tzv. globinem a na něm napojenou prostetickou částí – hemem [19].

Dusitany se váží na hemoglobin a způsobují oxidaci porfyrinového kruhu hemoglobinu, kdy dochází k oxidaci dvojmocného železa na trojmocné a vzniká tak methemoglobin. Mezi látky způsobující tuto oxidaci patří také různé formy aminosloučenin a jiných oxidačních látek. Methemoglobin je tedy oxidovaná forma hemoglobinu. Nejedná se však o oxy-hemoglobin, který je naopak redukován hemoglobinem, jenž nese kyslíkatou molekulu připojenou ke dvojmocnému železu disociovanou vazbou [20,21]

Tvorba nadměrného methemoglobinu může v organismu nastat 2 způsoby. První z nich je vlivem neschopnosti redukčních systému tento vzniklý methemoglobin redukovat zpět na hemoglobin, tzv. symptomatická methemoglobinémie. Druhým důvodem je slabá schopnost redukčních systémů nazývaná primární methemoglobinémií.

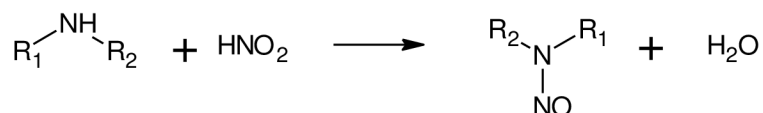
Príznaky prvně zmíněného typu jsou cyanosa a tachykardie. K cyanose dochází při obsahu methemoglobinu nad 15 %, kdy tělo přestává reagovat na podání kyslíku. Při koncentraci methemoglobinu kolem 30 % dochází ke změně barvy krve z červené na hnědou. Důvodem je zvyšující se množství trojmocného železa, které se projevuje hnědým zbarvením. Při obsahu dosahujícím 50 % dochází k dušnosti a závratím a také k únavě a bolesti hlavy. V nejvyšším stadiu dochází k tachykardii a při obsahu nad 70 % poté k smrti [19]. Léčení probíhá pomocí látek zvyšující účinnost oxydoredukčního systému, a to například methylenovou modří či kyselinou askorbovou. Další možností léčby lehčích případů je příjem nezávadné vody a přívod kyslíku společně s infusí vedoucí ke zrychlenému vyloučení dusitanů [20,22].

Zvyšující se hladina methemoglobinu na úkor hemoglobinu způsobuje problémy přenosu kyslíku a oxidu uhličitého zejména u kojenců. Důvodem častějšího výskytu u kojenců je nižší koncentrace žaludečních kyselin a vyšší pH, při kterém může docházet k množení nepatogenních mikroorganismů, které mají schopnost redukce dusičnanů na dusitany. Dalším důvodem většího nebezpečí je množství fetálního hemoglobinu, které u novorozenců tvoří 85 %, u kojenců ve věku 3 měsíců 15 % a u dětí po 1 roce asi 1-2 % z celkového hemoglobinu. Zmíněná procenta mají za následek snadnější oxidaci fetálního hemoglobinu dusitany. Posledním důvodem je nízká aktivita enzymu methemoglobinreduktázy, která není u kojenců tak aktivní a nedokáže rychle převádět methemoglobin na hemoglobin [21].

2.4.2. N-nitrosoaminy

Dusičnany a dusitany také podléhají přeměně na nitrosaminy, které obsahují karcinogeny a zvyšují nebezpečí tvorby zhoubných nádorů. Nitrosaminy vznikají při nitrosaci sekundárních

aminů, které jsou přirozenou složkou potravin (ve formě aminokyselin, lipidů či vitaminů) a také vznikají při metabolismu aminokyselin nebo jsou produkty Maillardových reakcí. Do potravin se však dostávají rovněž skrz cizorodé látky, a to například ve formě pesticidů. Nitrosací činidla vznikají z dusitanů a dusičnanů. Schéma tvorby nitrosaminů ze sekundárních aminů:



Nebezpečí N-nitrosaminů je v jejich karcinogenních a mutagenních účincích. Působí negativně ve slepém střevě a také v játrech. Mezi nejběžnější N-nitrosaminy patří N-nitrosodimethylamin, jehož prekurzory jsou alkaloidy hordenin a gramin vyskytující se v klíčícím ječmeni. Proto je obsah N-nitrosodimethylaminu v pivě limitován [18].

2.4.3. Pozitivní vliv na zdraví člověka

Dusičnany také dokáží přinést pozitivní účinky na lidské zdraví. Nízký obsah dusičnanů v těle napomáhá snižovat krevní tlak, inhibovat funkci krevních destiček a zabraňovat endotheliální dysfunkci (raná fáze aterosklerózy – kornatění tepen). Rovněž snižuje množství spotřebovaného kyslíku během fyzické námahy a dále ovlivňuje fundamentální funkce mitochondrií [23,24].

2.5. Vliv dusičnanů na přírodu

Dusičnany mají významný vliv na okolní přírodu a její znečišťování. Tyto látky jsou určitým způsobem nebezpečné nejen pro rostliny, ale také zvířata. V zemědělství může docházet k příliš velkým dávkám hnojiva, kdy rostlina již není schopna zpracovat takové množství a ponechává tak dusíkaté látky v půdě, ze které se následně mohou dostat do vody nebo do vzduchu. Kromě zemědělství přispívá ke zvýšené koncentraci dusičnanů také průmysl [25].

2.5.1. Znečištění vody

Důsledkem nevhodného zacházení s chemikáliemi a komerčními aktivitami lidí je značné znečištění vody v mnoha státech. Některé látky ve zvýšené koncentraci mohou přispět ke ztrátě biologické rovnováhy ve vodním ekosystému. Nejzávažnějším problémem je eutrofizace, což je proces extrémního obohacování vody o živiny, které umožňují bujný růst řas. Současně začne ve vodě docházet kyslík a přítomnost toxických látek produkovaných řasami může negativně ovlivnit ostatní organismy. Dalším problémem zvýšeného výskytu řas je zarůstání vodní hladiny a snížení slunečního svitu pro rostliny na dně, a tedy zamezení jejich fotosyntézy. Při odumírání řas dochází k jejich napadení bakteriemi, které začínají spotřebovávat kyslík a dochází k úhynu ryb. Tento jev se nazývá hypoxie.

K eutrofizaci vody nedochází pouze vlivem zvýšené hladiny dusíku, ale je nutná také přítomnost fosforu. Poněvadž množství dusíku je značně větší, je spíše snaha o kontrolování přítomnosti fosforu, který pochází z průmyslového odpadu a kanalizací [7,26].

2.5.2. Znečištění vzduchu

Některé odpadní dusičnany pocházející ze zemědělství jsou těkavé a odpařují se do atmosféry. Jakmile se zde dostanou, stávají se významnou součástí znečištěného vzduchu. K tomuto dochází zejména v průmyslových státech, ve kterých je největší výskyt kyselých dešťů. Zvýšené množství dusíkatých sloučenin ve vzduchu mohou také ovlivňovat hospodářská zvířata, kdy byl v minulosti nalezen zvýšený výskyt amoniaku v tělech těchto zvířat, který se rozkládal za vzniku kyseliny dusité a odcházel z těla ven.

Dalším význačným znečišťovatelem vzduchu je oxid dusičitý, který se tvoří bakteriální činností na dusíkatých hnojivech (ty vypouštějí 2x-10x více oxidu dusičitého než nehnojené půdy). Tento oxid poté hraje hlavní roli v kyselých deštích [25].

2.6. Hnojení

Výživa rostlin je velmi zásadní pro jejich růst a vývoj. Aby byla tato výživa co nejkvalitnější, přidávají se do půdy nejen přírodní, ale také syntetická hnojiva. Hnojení už od pradávna mělo důležitý význam, který se zvýšil po průmyslové revoluci možností tvořit kvalitnější látky pro výživu. Existují různé způsoby hnojení. Mezi základní typy patří hnojení přímo do půdy a hnojení na rostliny. Prvně zmíněné se provádí ještě před vegetační fází, kdy se hnojivo rozmělní po celém poli a poté se při rytí zapraví do půdy. Při nezpracování do půdy dochází ke snížení kvality hnojiva. Druhý typ se provádí postřikem, kdy je možné do rozstřikovače namíchat několik přísad pro správné dodání živin.

Hnojení vyžaduje správné dávkování, díky kterému dochází ke kvalitnímu rozvoji biologických vlastností. V současnosti se dbá na ekologický směr, aby hnojiva byla šetrná k životnímu prostředí, hospodářským zvířatům a jiným živočichům. Rovněž je podstatné získávání hnojiv z půdy, zejména po sklizni ze zbytků rostlin, čímž se zvyšuje efektivita [16,17].

Specifikum kořenové zeleniny je ve volbě správného období hnojení, kdy se musí koncentrovat v první fázi vegetace do nadzemní část, poněvadž podzemní část roste jen mírně. V druhé fázi je už naopak potřeba používat hnojiva využitelná v podzemní části [3].

V současnosti se používá velké množství různých hnojiv. Pro lepší orientaci se dělí dle většího obsahu určité živiny, která je důležitá pro rostlinu. Kromě živin je možné také v hnojivu najít humusotvorné a jiné látky. Základní dělení je na hnojiva organická (statková), minerální (průmyslová) a ostatní hnojivé hmoty [5].

2.6.1. Organická (statková) hnojiva

Organická hnojiva jsou obvykle vyráběna již v zemědělském podniku a jejich vlastnosti tedy odpovídají konkrétním podmínkám dané lokality. Dodávají půdě rostlinné živiny, organické látky, mikroorganismy a dále látky stimulační, růstové a hormonální látky. Půda tím získává lepší fyzikální vlastnosti a je odolnější vůči změnám pH. V období sucha je hnojená půda schopna lépe absorbovat živiny, přijímat vodu a udržovat teplo. Základní dělení organických hnojiv je na stájová (hnůj, močůvka, kejda), rostlinná (sláma, zelené hnojení) a komposty. Moderním typem je kompost zvaný Vitahum, který dokáže nahradit klasický hnůj [3,5].

Kořenová zelenina špatně reaguje na nadměrné hnojení zvířecím hnojivem. Dochází k negativnímu ovlivnění životních procesů a tvorbě podmínek pro šíření škůdců. Místo zvířecího hnoje se používá uležený kompost.

Špatné zacházení s organickými hnojivy, například snížená péče při ošetřování mrvy a hnoje, způsobuje narušení zemědělské soustavy a ekologické důsledky. Dochází k poklesu obsahu humusu v půdě, a tedy ke zhoršení jejich vlastností a narušení mikrobiálního života a k celkovému poklesu úrodnosti [27].

2.6.2. Minerální (průmyslová) hnojiva

Minerální hnojiva mají chemický původ. Dělí se na běžná, která jsou univerzální pro všechny rostliny po celou dobu vegetace. Tato univerzální hnojiva mohou být jednosložková (s vyšší účinností) nebo vícesložková (možnost dávkování více druhů živin). Dalším typem jsou hnojiva speciální, která se používají například pro konkrétní plodinu případně v různé vegetační době. Minerální hnojiva oproti organickým mají daleko větší procentuální obsah živin, a proto se nemusí používat v tak velkém množství. Tvoří však větší nebezpečí pro přírodu a člověka.

Mezi klasická minerální hnojiva patří dusíkatá a fosforečná hnojiva. Pro zvýšení obsahu fosforu se využívá trojitý superfosfát, hyperfosfát a mletý fosfát. Další typy hnojiv se používají pro zvýšení obsahu draslíku. Mezi tato hnojiva patří draselná sůl a chlorid či síran draselný. Pro zvýšení obsahu vápníku se využívá pálené vápno či mletý vápenec, zatímco pro větší množství hořčíku v půdě se nejčastěji vpravuje hořká sůl. Pro zvýšení koncentrace ostatních prvků se používají další hnojiva, často zakomponována ve směsích obsahující více druhů látek [3,5].

Používání minerálních hnojiv obsahujících dusík, fosfor, draslík a další látky umožňují vyvíjet techniky hnojení, které zajišťují vysokou produkci při nízkých nákladech. Oproti statkovým hnojivům však může mít tato technika negativní dopad na životní prostředí, poněvadž dusíkaté sloučeniny jsou lehce zplavovány vodou do půdy a podzemních vod [28].

2.6.2.1. Dusíkatá hnojiva

Pro zásobení rostliny dusíkem se využívá směs ledku amonného s vápencem ($\text{NH}_4\text{NO}_3 + \text{CaCO}_3$), která je univerzální pro všechny plodiny a obsahuje dusík ve formě amonné i dusičnanové. Dalším typem je směs ledku amonného ve spojení s dolomitem ($\text{NH}_4\text{NO}_3 + \text{MgCO}_3$). Neopomenutelná je močovina, která má obsah dusíku téměř 50 % a je třeba ji dávkovat opatrně. Zvláštním případem je dusíkaté vápno, které v půdě tvoří meziprodukty. Ty jsou schopny půdu očišťovat od škůdců, ale zároveň škodí rostlinám (z důvodu přítomnosti kyanamidu) [3,17].

Při ekologickém a ekonomicky příznivém působení v souladu s biologickými potřebami rostlin dochází ke zkvalitnění růstu. Toho se dosáhne malými dávkami. Při přechodu na jednorázové vyšší dávky dochází k náhlému zvýšenému příjmu dusíku a rostlina začne přijímat tuto látku na úkor ostatních. Tím dochází k vertikálnímu růstu rostliny a pohybu nitrátové formy do spodní části rostliny [27].

Obsah dusíku se může razantně změnit s jedním vegetačním cyklem, kdy je ovlivněn pěstovanou rostlinou, typem půdy, ročním obdobím či klimatickými podmínkami. V kyselé půdě a v nižších hladinách půdy převažují amonné sloučeniny nad dusíkatými [29].

2.6.3. Ostatní hnojivé hmoty

Kromě výše zmíněných hnojiv se dále používají takové hmoty, které mají v sobě vysoký obsah živin, nebo zlepšují jejich přístupnost. Klasickým příkladem je rašelina, která se často využívá jako přísada do kompostů (sama se jako hnojení nehodí z důvodu nízké hodnoty živin). Dalším typem je šáma, což jsou vápenaté odpady z cukrovarů, které se nejčastěji využívají ke zvýšení vápníku v rostlinách. Mezi další hojně využívaná hnojiva patří popel rostlin, nejčastěji dřeva [5].

2.6.4. Pesticidy

Pesticidy jsou látky, které chrání rostliny před hmyzem a jinými organismy (plísně, bakterie a jiné). Jejich použití je v dnešním zemědělství klasickým prostředkem, který pomáhá zvyšovat výnosnost a nutriční hodnotu plodin. Pesticidy však mají i negativní vlastnosti, které ovlivňují životní prostředí a také zdraví člověka. Nejpoužívanějšími druhy jsou insekticidy proti hmyzu, fungicidy proti plísním a herbicidy proti plevelnatým rostlinám [5].

Pesticidy jsou běžně aplikovány na listy, kdy cílem postřiku nemusí být rostlina, ale organismy na ní přebývající. Pesticidy poté penetrují kutikulou a dostávají se do rostliny, ve které jsou dále rozšiřovány. Jiné pesticidní látky naopak mají účinek pouze lokální v místě postřiku. Kromě rostlin se tyto látky také aplikují do půdy, odkud je rostlina získává pomocí kořenů. S vyšší rozpustností se pesticidy snáze dostávají do rostliny. Pesticidy se využívají jen zřídka jako čisté sloučeniny, častěji se k nim přidávají další látky, a to rozpouštědla či emulgátory, které zlepšují jejich kvalitu a účinnost.

Při degradaci pesticidů nejvíce působí z fyzikálních činitelů světlo a teplo a nejvýznamnějším procesem je fotolýza, která probíhá na povrchu listů či v půdě. Dalším důležitým procesem je hydrolýza, která má nejvyšší účinnost při vysokých hodnotách pH. Při degradaci pomocí mikroorganismů se nejčastěji podílejí bakterie a plísně, kdy se stane pesticid součástí jejich katabolické dráhy a využívají jej jako svůj substrát. Při běžném zpracování potravin se pesticidy odstraňují sušením, mytím a blanširováním, vařením či mletím se současným odstraňováním povrchových vrstev [30].

Využití pesticidů a dalších agrochemikálií přináší důležité omezení ztrát na výnosech, protože působí proti škůdcům, plevelům a chorobám. Postupným pěstováním a šlechtěním však u některých plodin došlo k situaci, kdy nejsou schopné růst bez přídavku těchto látek. Při použití agrochemikálií je třeba mířit cíleně a rovnoměrně tak, aby nedošlo k hromadění na jednom místě a poškozování plodu. Pesticidy představují v biosféře cizorodé látky, které narušují rovnováhu ekosystému a rovněž jsou rizikem pro člověka. Pesticidní látky jsou zastoupeny velkou škálou sloučenin s různými fyzikálními a chemickými vlastnostmi. Často používaným pesticidem je parathion, fenuron či paraquat a stále DDT, a to v rozvojových zemích [27].

2.7. Organické zemědělství

Organické neboli ekologické zemědělství poskytuje možnost pěstování bio potravin. Pojem organické zemědělství se začal rozšiřovat v 50. letech 20. století ve Spojených státech amerických. Tento dávno známý způsob zemědělství se začal dávat do souvislosti a porovnání s tehdy běžným zemědělstvím využívající průmyslová hnojiva, u kterého byla kvantita plodin na úkor kvality. Tento pojem se snažil šířit novinář a popularizátor J.J.Rodale, kterému se však nepodařilo přesvědčovat vysoce postavené úředníky, kteří byli naopak fascinováni použitím agrochemikálií, které vedly ke zvýšené produkci potravin.

Organické zemědělství je soubor procesů, které mají za cíl vytvořit udržitelný ekosystém, bezpečné a vysoce kvalitní potraviny a dobré podmínky pro hospodářská zvířata. Všechny tyto cíle by měly být provedeny kompatibilní prací s přírodními cykly, půdou a všemi živými organismy. Dalším podstatným principem je šetrné zacházení s vodou a dalšími prostředky, využívání obnovitelných zdrojů a snaha o zamezení tvorby odpadů. Od klasického zemědělství se liší snahou o zvyšování kvality bez použití agrochemikálií, i za cenu nižších výnosů. Důsledkem šetrného zacházení je dlouhotrvající úrodnost, biologická aktivita půdy a udržení genetické rozmanitosti [31].

V dnešní době je ve vyspělých státech organické zemědělství zcela běžné a zaujímá důležitou roli na obchodním poli. Pro tyto farmy však platí přísnější pravidla a jejich eko-farmy jsou pravidelně pod dohledem inspekce. Při dodržení všech norem získá producent možnost označovat své potraviny bio značkou [27].



Obrázek 3 Znamka bio produktu [32]

2.7.1. Principy

Organická půda by měla obsahovat zvířecí a rostlinné zbytky v různém stavu rozkladu. Rozlišují se 3 druhy půdy. Do prvního typu patří kořeny, mikroby a jiné organismy žijící v půdě. Ve druhém typu jsou části rostlin a zvířat, například spadlé listy, mrtvé organismy, zvířecí exkrementy nebo zbytky plodin. Třetí jsou residua v aktivním rozkladu a organické sloučeniny zůstávající v půdě, které se označují pojmem humus. Na kvalitu půdy mají vliv různé faktory, mezi které patří okolní vegetace, klima, půdní struktura, odvodnění a také způsob obdělávání [31].

Organická hmota a humus přináší do půdy vodu a nutričně bohaté látky a také jsou schopny je uchovávat, rovněž zlepšují půdní strukturu, jsou prevencí před erozí, zlepšují vodní a nutriční kapacitu. Pravidelné hnojení, konzervativní obdělávání půdy a změna pěstovaných plodů pomáhají zachovat organickou hmotu a půdní mikroorganismy.

Humus vzniká v procesu zvaném humifikace. Během něj dochází k rozkladu a úbytku labilních materiálů, zatímco látky typu lignin zůstávají. Tento lignin poté reaguje s dusíkem přirozeně přítomným v půdě a tvoří nové sloučeniny, větší a rezistentnější na útoky, avšak bohaté na dusík. Humus sám o sobě zadržuje nutričně důležité látky a postupně je uvolňuje. V tomto se velice liší od minerálních hnojiv [7].

Organické potraviny podléhají zákonem daným standardům. Pro plodiny to znamená, že musí být pěstovány bez přidání konvenčních pesticidů, umělých hnojiv, odpadních vod, potravinářských přísad a nesmí přijít do styku s radiací [31].

2.7.2. Kritika biopotravin

Produkce biopotravin má také nevýhody, které jsou často kritizovány. Tyto výrobky jsou cenově méně přijatelné, protože proces pěstování je finančně náročnější než běžné pěstování. Dle mnohých studií bylo také prokázáno, že množství pesticidů v běžných potravinách neohrožuje lidské zdraví a také je poukázáno na to, že v dnešním světě je téměř nemožné vypěstovat plodiny bez minimálního obsahu negativních složek. Tyto složky obsahují také organické potraviny. Spotřebitel rovněž musí být opatrnější při výběru bio produktů, protože s přibývajícím množstvím ekologických farem se vyskytují takové, které zcela nedodržují základní podstatu ekologického zemědělství. Přidávané pesticidy jsou totiž vždy důkladně zkoumány předtím, než jsou použity, zatímco obyčejná statková hnojiva nejsou podrobena tak důkladné analýze. Další nevýhodou ekologického zemědělství je energeticky náročnější proces opakovaného hnojení a zpracování a rovněž nižší výnosnost, kvůli které by nebylo možné zajistit potravu pro celosvětovou populaci [31].

2.7.3. Limity obsahu dusičnanů

O obsahu dusičnanů v kořenové zelenině se zmiňovala vyhláška Ministerstva zdravotnictví 53/2002, ve které se uvádělo nejvyšší přípustné množství $700 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. Tato vyhláška však roku 2004 byla zrušena a pro kořenovou zeleninu v současné době není stanovené žádné nejvyšší přípustné množství [33].

Směrnice Evropské unie pouze popisuje limity pro vybrané druhy plodin, a to listovou zeleninu. Zde jsou limity v rozmezí $2000\text{--}4500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ [30].

V červnu roku 2017 bylo provedeno Evropským úřadem pro bezpečnost potravin (EFSA) přezkoumání limitů. Cílem bylo zhodnotit rizikovost dusičnanů a dusitanů v zelenině, masu a dalších potravinách. Dle závěru dusičnany a dusitany přidávané do potravin při dodržení limitů nejsou nebezpečné pro dospělého člověka, avšak mělo by se dbát na menší dávky pro malé děti a kojence.

Současná přijatelná denní dávka dusičnanů je 3,7 mg na kilogram tělesné váhy za den. Avšak bezpečná denní dávka je 0,07 mg na kilogram tělesné váhy [34].

2.8. Analytické metody stanovení dusičnanů

Pro stanovení dusičnanů v potravinách a ve vodě se používá řada metod. V současnosti je nejčastěji využívanou metodou pro stanovení koncentrace dusičnanů chromatografie, konkrétně vysokoučinná a iontově výměnná. Její výhodou je větší rychlost než u klasických metod. Další možností stanovení dusičnanů je enzymatická metoda, při které dochází ke katalýze reakce a měří se úbytek koenzymu NADPH. Pro koncentrace dusičnanů vyšší než $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ se využívá metody kontinuálního průtoku po redukci kadmíem. Dochází zde k tvorbě azobarviva, u kterého se měří absorbance pomocí spektrofotometru [35].

2.8.1. Chromatografie

Jedna ze základních separačních technik je chromatografie. Smyslem je vytvoření rovnovážného stavu mezi 2 fázemi, kdy jedná fáze je nepohyblivá (tzv. stacionární) a druhá je pohyblivá (mobilní). K tomuto stavu dochází v případě interakcí mezi analytem a jednou z těchto fází. Analyt musí být rozpustný v mobilní fázi, která jej dopravuje systémem a dochází k opakovanému transportu mezi oběma fázemi. Distribuce analytu je řízena mnoha faktory: teplotou, typem sloučeniny a typem stacionární a mobilní fáze. Podle mechanismů interakcí se dělí chromatografie na adsorpční, rozdělovací, iontově výměnnou, gelovou permeační a afinitní [36].

Dalším podstatné rozdělení je na kapalinovou a plynovou a v poslední době často využívanou chromatografii s nadkritickou mobilní částí. Z geometrického hlediska se dále chromatografie dělí na kolonovou a plošnou.

Chromatografie umožňuje separaci a analýzu různých směsí či sloučenin. U kolonových technik jsou separované analyty unášeny do detektoru, kde dochází k vyhodnocování signálů a tvorbě chromatogramu. V chromatogramu se zaznamenávají chromatografické píky, které slouží k identifikaci látek (pomocí polohy píku) nebo ke kvantitativnímu stanovení (pomocí výšky píku) [36,38].

2.8.2. Iontově výměnná chromatografie

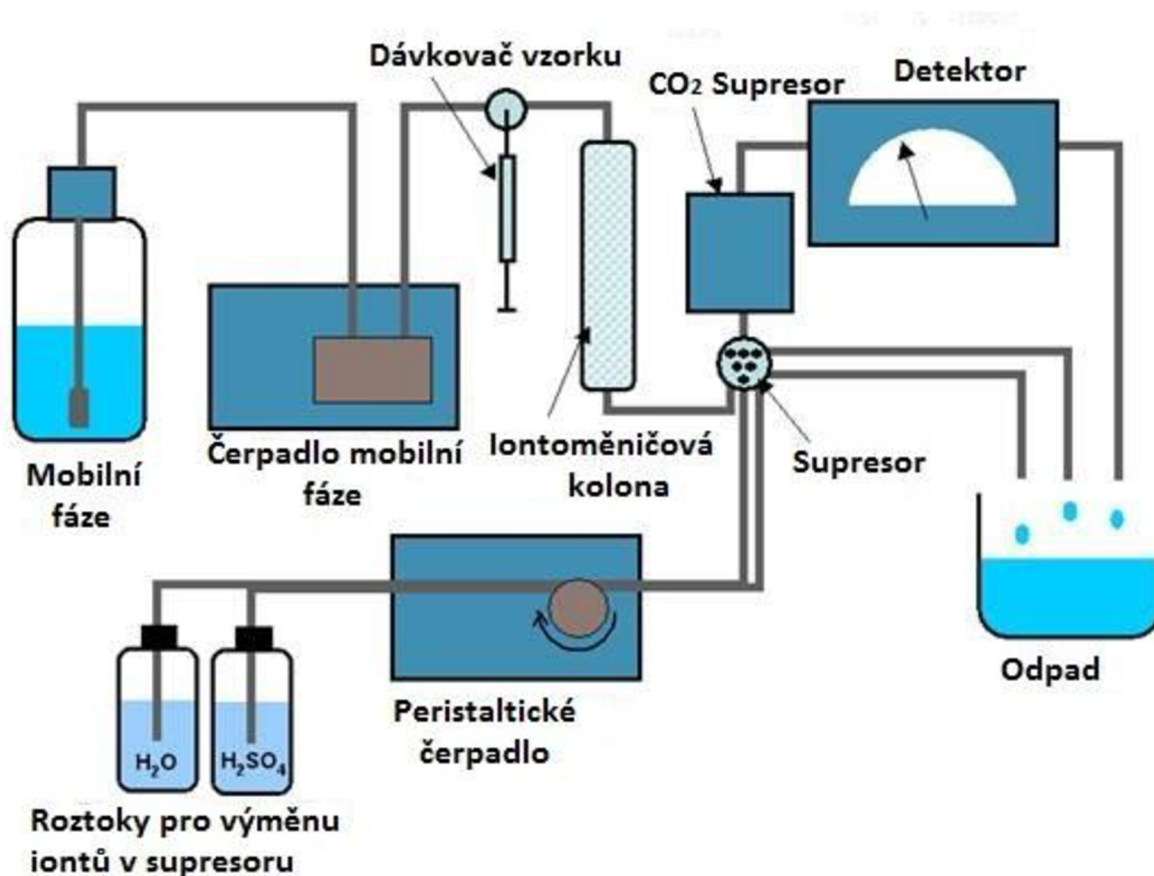
Iontově výměnná chromatografie je typ výměnné adsorpce, při které probíhají interakce mezi hydratovanými ionty v roztoku a opačně nabitými funkčními skupinami iontoměničů nebo stacionární fázi, které jsou pevně umístěny v koloně. Dle náboje se rozlišuje na aniontovou a kationtovou. Iontoměniče se dělí na katexy a anexy dle jejich navázané funkční skupiny. Katexy jsou kyseliny uvolňující kationty, anexy jsou naopak báze uvolňující anionty.

Základem iontoměníčů je vlastní vázaný ion a dále protiiont, který se během prostupu kolonou vyměňuje za jiný ion.

Pro stanovení aniontů se jako mobilní fáze využívá roztok shodný s protiionty na iontoměníči, soli kyselin, hydroxidy nebo komplexotvorné činidlo, které má schopnost vázat separované ionty do komplexů. Konkrétně se používá hydroxid sodný či draselný, uhličitan sodný a dále také alifatické karboxylové kyseliny. Pro stanovení kationtů se využívají zředěné organické i anorganické kyseliny.

Instrumentaci tvoří tzv. uzavřený systém, který obsahuje tyto části [36,38,39]:

- čerpadlo mobilní fáze
- zařízení pro odplynění mobilní fáze
- dávkovací zařízení
- kolonu se stacionární fází
- detektor a supresor
- vyhodnocovací zařízení



Obrázek 4 Schéma iontového chromatografu [40]

2.8.2.1. Čerpadla

Čerpadla pomocí tlaku dodávají mobilní fázi do systému. Kvalitní čerpadla jsou rozpoznatelná dlouhodobou konstantností průtoku, inertností a také širokým rozsahem možnosti regulace průtoku. Dalším důležitým faktorem je pracovní tlak, který by měl být vyšší než 10 MPa. Materiál čerpadla by neměl podléhat korozi. Základní dělení čerpadel je na pneumatická, bezpulsní (tzv. lineární) a pulsni neboli reciproční. Moderní chromatografy využívají vysokotlaká dvoupístová čerpadla [36].

Současné iontové chromatografy obsahují tzv. supresor, který snižuje vodivost pozadí eluátu (mobilní fáze vycházející z kolony). Eluát je obvykle tvořen analyzovanými ionty a zředěnou kyselinou nebo bází a právě toto pozadí může negativně ovlivňovat výsledky. K eliminaci tohoto pozadí dochází přes kationtové membrány. Eluátové ionty – např. Na^+ a OH^- – se eliminují výměnou za H_3O^+ (disociovaným z H_2SO_4) a jednoduše vytvoří eluát tvořený analyzovanými ionty a vodou, který putuje dále do detektoru. Pokud se v systému používá jako mobilní fáze Na_2CO_3 , využívá se přídavný supresor, který eliminuje vznikající CO_2 po reakci na membránách [36,38,39].

V případě využití supresního roztoku je nutné zapojení peristaltického čerpadla na čerpání roztoků. Využívá se rotačního peristaltického čerpadla, ve kterém je hadička s kapalinou vložena do kruhové dráhy mezi stěnou a rotorem. Na obvodu rotoru jsou umístěny kladky, které při pohybu tlačí na hadičku a vytlačují tak kapalinu ven ze systému [41].

2.8.2.2. Dávkovací zařízení

Pomocí dávkovacího zařízení se vnáší vzorek do toku mobilní fáze. Provádí se ve formě úzkého koncentračního pulzu, aby nedocházelo k rozmývání. Klasickými dávkovacími zařízeními jsou septové dávkovače, které vnáší vzorek pomocí injekční stříkačky. Dalším typem jsou dávkovací kohouty, které jsou schopné nadávkovat vzorek ve velice přesném objemu. Kohouty mohou být vícecestné a v moderních přístrojích jsou ovládány elektricky a jsou součástí automatických dávkovačů [36].

2.8.2.3. Kolony

V koloně probíhá hlavní fáze chromatografie, a to interakce analytu mezi mobilní a stacionární fází. V iontové chromatografii se kolony dělí dle stanovení aniontů a kationtů. Kromě běžně používaného silikagelu se jako stacionární fáze aniontové kolony v současnosti využívá organický polymetakrylát a polyvinylalkohol, které jsou stabilní v alkalických roztocích. Tato vlastnost je důležitá z důvodu rozpustnosti slabých kyselin v alkalických roztocích a v následné tvorbě aniontů. Nevýhodou organickým kolon je malá mechanická stabilita, která zapříčiňuje krátkou délku a malou velikost částic. Kolony pro kationty nejčastěji nesou funkční skupiny sulfonové, karboxylové a fosforečné kyseliny [39,42].

2.8.2.4. Detektory

Detektory slouží k indikaci látek, které vycházejí z chromatografické kolony. Pomocí snímače sledují určitou vlastnost eluátu, zesílí přijímaný signál a zaznamenávají jej do chromatogramu jakožto záznam intenzity signálu na čase. Požadované vlastnosti detektoru jsou na vysokou citlivost, lineární koncentrační odezvu, nízký šum, minimální vliv změny okolních podmínek a minimální příspěvek k rozšiřování zóny. Celá detekce by měla probíhat v co nejkratším

čase. Používanými detektory jsou fotometrické a spektrofotometrické, fluorimetrické, refraktometrické, voltametrické a hmotnostní.

2.8.2.5. Využití

Iontově výměnná chromatografie se využívá v analýze běžných anorganických iontů se širokou mezí detekce. V průmyslu se využívá pro stanovení aniontů v jídle a nápojích. Typické jsou vzorky z dětské stravy, ve kterých se sledují dusitany a dusičnany. Dále sulfáty ve formě konzervantů. Velké využití má také ve stanovení organických kyselin, které jsou přítomny ve víně, pивě a ovocných džusech.

Potenciálně největší využití iontově výměnné chromatografie je v oblasti životního prostředí, kde se sleduje obsah aniontů v půdě a v podzemních vodách. Rovněž se analyzuje znečištění pitné vody z průmyslových továren.

Neopomenutelný význam je také pro nabitě biologické sloučeniny, a to aminokyseliny, peptidy, proteiny a polynukleotidy [39,43].

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1. Popis vzorků

Pro analýzu byly použity vzorky kořenové zeleniny v běžné kvalitě a v bio kvalitě. Vzorky byly zakoupeny v supermarketech, na trzích a také v menších obchodech prodávajících bio zeleninu. Pro lepší porovnání výskytu dusičnanů jsou vybrány vzorky ze 2 států, u většiny vzorků je jednou ze zemí původu Česká republika a také jiná země. Zelenina byla před měřením skladována v lednici, k měření byly použity nepoškozené kusy. V tabulce číslo 2 jsou uvedeny údaje o vzorcích běžné kvality, a to konkrétně druh a země původu. V následující tabulce číslo 3 jsou poté uvedeny stejné informace o bio vzorcích.

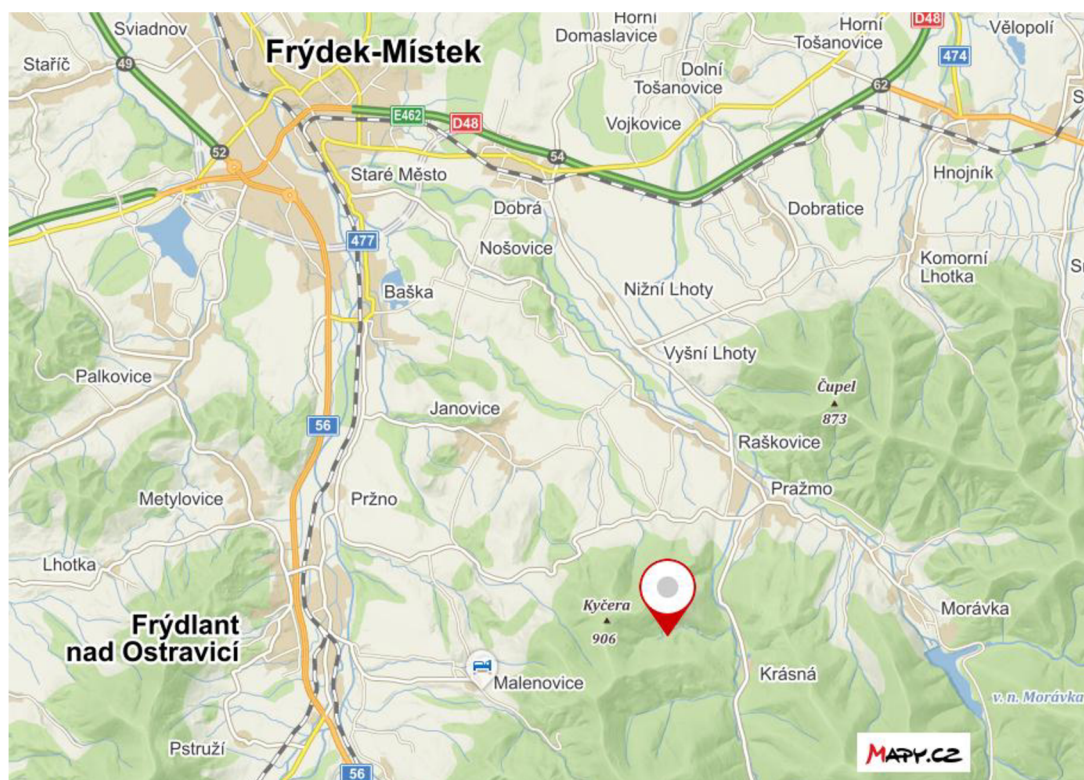
Tabulka 2 Vzorky zeleniny běžné kvality

Číslo vzorku	Plodina	Země původu
1	Mrkev	Česká republika
2	Mrkev	Itálie
5	Řepa	Česká republika
6	Řepa	Polsko
9	Petržel	Česká republika
10	Petržel	Polsko
13	Celer	Česká republika
14	Celer	Rakousko
17	Křen	Maďarsko
19	Ředkvička	Itálie
21	Zázvor	Čína
22	Zázvor	Thajsko

Tabulka 3 Vzorky zeleniny bio kvality

Číslo vzorku	Plodina	Země původu
3	Mrkev	Česká republika
4	Mrkev	Rakousko
7	Řepa	Česká republika
8	Řepa	Holandsko
11	Petržel	Česká republika
12	Petržel	Rakousko
15	Celer	Česká republika
16	Celer	Slovensko
18	Křen	Česká republika
20	Ředkvička	Portugalsko
23	Zázvor	Čína
24	Zázvor	Peru

Dalším analyzovaným vzorkem je zelenina pěstovaná pro vlastní spotřebu. Tyto vzorky byly vypěstovány v oblasti Beskyd. Mezi stanovované druhy kořenové zeleniny patří mrkev, petržel, ředkvička a řepa. Před zasetím bylo do půdy aplikované běžné statkové hnojivo a půda ani zelenina již dále nebyly přihnojovány.



Obrázek 5 Geografická mapa znázorňující oblast získaných vzorků zeleniny pro vlastní spotřebu

3.2. Laboratorní vybavení

3.2.1. Pomůcky

Varná deska, hrnec, analytické váhy, prkénko, nůž, laboratorní sklo (kónické baňky, odměrné baňky, filtrační nálevky), injekční stříkačka, filtrační plastové kroužky, plastové zkumavky, fix.

3.2.2. Chemikálie

Destilovaná voda, kyselina sírová, uhličitan sodný

3.2.3. Parametry iontového chromatografu

Tabulka 4 Nastavení iontového chromatografu

Název	Metrohm 850 Professional Ion Chromatograph
Detekce	Vodivostní detektor
Doba zpracování	38 minut
Dávkování	Automatické
Kolona	Metrosep A Supp 7 – 250/4.0
Průtok	0,8 ml · min ⁻¹
Tlak	11,69 MPa
Teplota	45,0 °C
Mobilní fáze	3,6 mmol·l ⁻¹ Na ₂ CO ₃
Supresní roztok	100 mmol·l ⁻¹ H ₂ SO ₄
Limit detekce pro dusičnany	0,25 mg·kg ⁻¹

3.3. Příprava vzorků

Zelenina byla nejprve umyta vodou a nakrájena na malé kousky. Při krájení se odebíraly vzorky z vnitřní části zeleniny, kde byla předpokládána nejvyšší koncentrace dusičnanů. Následně byly odváženy přibližně 2 gramy na analytických vahách. Navážka byla kvantitativně převedena do kónické baňky a bylo přidáno 50 ml destilované vody. Zelenina se následně extrahovala po dobu 20 minut v hrnci s vařící vodou. Po ochlazení byl roztok přefiltrován přes filtrační nálevku se skládaným filtračním papírem do odměrné baňky. Tento roztok byl poté doplněn destilovanou vodou po rysku na 100 ml. Získaný roztok byl posléze převeden do plastové zkumavky pomocí injekční stříkačky, kdy se vzorek pročistil přes filtrační kroužek a potenciální nečistoty zůstaly na tomto kroužku. Připravené vzorky ve zkumavkách byly zanalyzovány na iontovém chromatografu.

Tento postup vychází z normy ČSN EN 12014-2: 1998. *Potraviny – Stanovení obsahu dusičnanů a/nebo dusitanů – Část 2.*

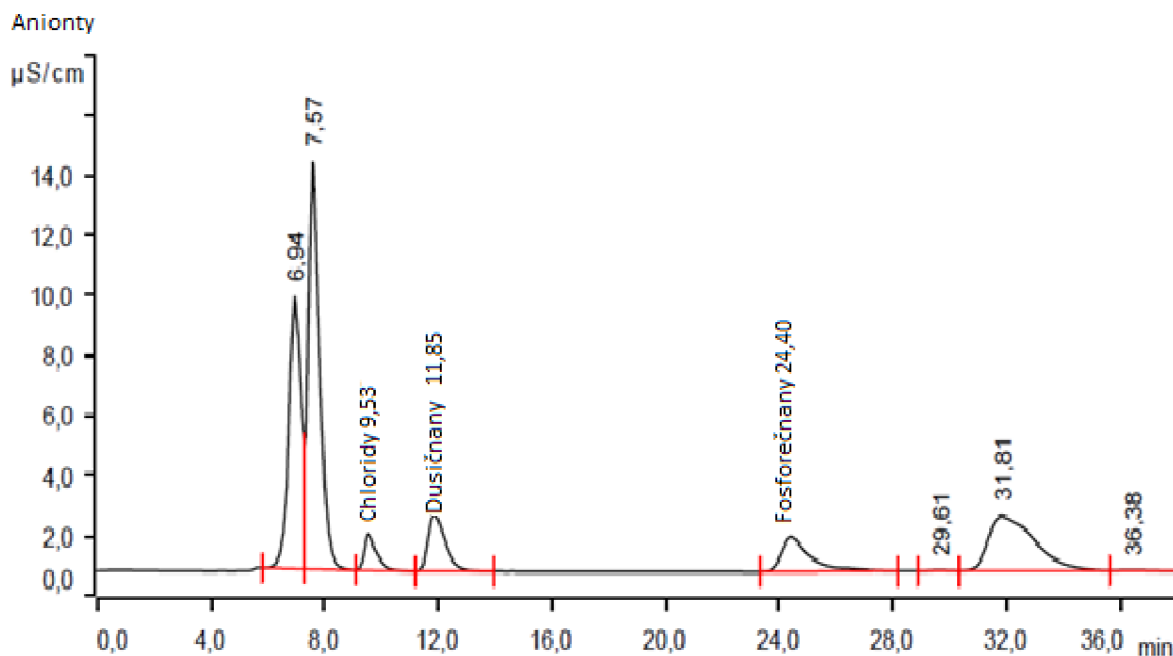
4 VÝSLEDKY A DISKUZE

Naměřené koncentrace dusičnanů v různých vzorcích zeleniny, a to v běžné i bio kvalitě, jsou uvedeny v tabulkách 5 a 6. Při měření bylo vždy provedeno kontrolní stanovení a výsledné koncentrace dusičnanů byly dány do průměru a dále zhodnoceny. Koncentrace stanovovaných aniontů se pohybovala v rozmezí $5,7\text{--}2366,0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ v závislosti na druhu zeleniny a zemi původu. Některé vzorky vykazovaly koncentraci nižší než limit detekce, který činil $0,25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$.

Z uvedených výsledků je patrné, že zelenina běžné kvality obsahuje daleko nižší koncentrace dusičnanů než zelenina v bio kvalitě. Ve většině případů byly stanovené koncentrace dusičnanů ve vzorcích zeleniny běžné kvality pod limitem detekce a nebylo tedy možné zjistit jejich přesné koncentrace. Výjimku tvořil vzorek řepy a petržele původem z Polska. Zde však byly nalezeny velmi nízké koncentrace sledovaných aniontů oproti zelenině bio kvality.

Nižší koncentrace dusičnanů byly stanoveny u bio mrkve a také u bio řepy z České republiky. Bio řepa původem z Holandska měla však koncentraci dusičnanů vyšší. Nižší koncentrace dusičnanů byly rovněž nalezeny u bio křenu a bio ředkvičky, které se pohybovaly v rámci jednotek $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. Vyšší koncentraci dusičnanů vykazoval bio zázvor, u kterého byl stanoven obsah dusičnanů v rozmezí $176,9\text{--}440,7 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. Nejvyšší koncentrace dusičnanů byly nalezeny u bio celeru a bio petržele. Pro bio petržel bylo rozmezí stanovení koncentrace dusičnanů $906,8\text{--}2366,0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, zatímco pro bio celer $1286,3\text{--}1530,2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$.

Příklad z analýzy reálného vzorku je uveden v grafu 1.



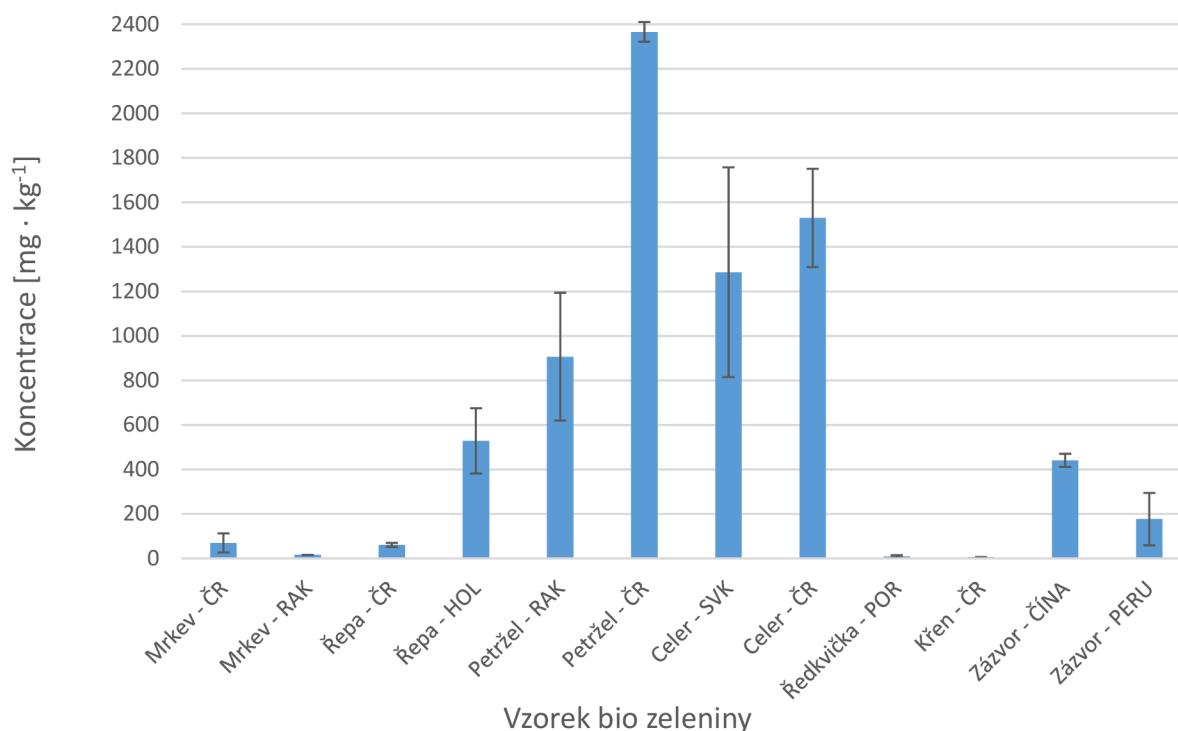
Graf 1 Chromatogram stanovení dusičnanů ve vzorku bio celeru z České republiky

Tabulka 5 Naměřené koncentrace dusičnanů, značka SD značí směrodatnou odchylku

Číslo vzorku	Druh zeleniny	BIO	Země původu	Koncentrace [mg · kg ⁻¹]	Průměr	SD
1	Mrkev	-	Česká republika	< LOD	-	-
2	Mrkev	-	Itálie	< LOD	-	-
3	Mrkev	X	Česká republika	26,9	69,8	43,0
				112,8		
4	Mrkev	X	Rakousko	16,0	16,0	0
				< LOD		
5	Řepa	-	Česká republika	< LOD	-	-
6	Řepa	-	Polsko	16,6	16,6	0
				< LOD		
7	Řepa	X	Česká republika	51,7	60,8	9,1
				69,9		
8	Řepa	X	Holandsko	381,7	528,4	146,6
				675,0		
9	Petržel	-	Česká republika	< LOD	-	-
10	Petržel	-	Polsko	8,5	8,5	0
				< LOD		
11	Petržel	X	Rakousko	619,6	906,8	287,2
				1194,0		
12	Petržel	X	Česká republika	2334,6	2366,0	44,3
				2397,3		

Tabulka 6 Pokračování naměřených koncentrací dusičnanů

Číslo vzorku	Druh zeleniny	BIO	Země původu	Koncentrace [mg · kg ⁻¹]	Průměr	SD
13	Celer	-	Rakousko	< LOD	-	-
14	Celer	-	Česká republika	< LOD	-	-
15	Celer	X	Slovensko	815,2	1286,3	471,1
				1757,4		
16	Celer	X	Česká republika	1686,4	1530,2	220,9
				1374,0		
17	Ředkvička	-	Itálie	< LOD	-	-
18	Ředkvička	X	Portugalsko	4,1	8,3	6,0
				12,5		
19	Křen	-	Maďarsko	< LOD		
20	Křen	X	Česká republika	5,7	5,7	0
				< LOD		
21	Zázvor	-	Čína	< LOD	-	-
22	Zázvor	-	Thajsko	< LOD	-	-
23	Zázvor	X	Čína	419,7	440,7	29,6
				461,6		
24	Zázvor	X	Peru	93,6	176,9	117,8
				260,2		



Graf 2 Uvedené koncentrace dusičnanů s chybovými úsečkami v bio zelenině

4.1. Porovnání s výsledky udávanými literaturou

Stanovením dusičnanů v zelenině se již zabývalo mnoho vědeckých prací. V porovnání se studií ze 70. let od Walkera [44] se tato bakalářská práce shoduje se vzorky u mrkve, u které Walker stanovil koncentraci dusičnanů v rozmezí 18-198 mg · kg⁻¹ se střední hodnotou 101 mg · kg⁻¹. Srovnatelnou koncentraci sledovaných aniontů také stanovil v řepě, a to 682-1672 mg · kg⁻¹ se střední hodnotou 1210 mg · kg⁻¹. Výsledky se naopak zcela liší ve stanovení koncentrace dusičnanů v ředkvičce, u které střední hodnota činila 1817 mg · kg⁻¹.

Gruszecka-Kosowska [45] se ve své práci obdobně zabývala porovnáním různých druhů zelenin pěstovaných běžným způsobem a způsobem organického zemědělství. Při porovnání 24 vzorků různých druhů zeleniny došla k závěru, že u poloviny z nich je vyšší koncentrace dusičnanů u zeleniny pěstované způsobem organického zemědělství. Konkrétně u kořenové zeleniny stanovila vyšší koncentraci dusičnanů v bio řepě a srovnatelné koncentrace dusičnanů udává také u bio mrkve a bio ředkviček. Naopak u celeru a petržele pěstované běžným způsobem stanovila vyšší koncentrace NO₃⁻. Při stanovení koncentrace dusičnanů v bio řepě a bio mrkvi získala podobné hodnoty jako v této bakalářské práci, a to 731 mg · kg⁻¹ v bio řepě a 70 mg · kg⁻¹ v bio mrkvi. V bio petrželi Gruszecka-Kosowska stanovila koncentraci dusičnanů 650 mg · kg⁻¹, což je srovnatelné pouze s bio petrželi z Rakouska. Bio celer a bio ředkvička se již zcela liší od výsledků této bakalářské práce, kdy u bio celere stanovila koncentraci dusičnanů 304 mg · kg⁻¹ a u bio ředkvičky 1065 mg · kg⁻¹.

Koncentraci dusičnanů v zelenině pěstované organickým zemědělstvím uvádí ve své práci také Colla [46], který sesbíral data různých jiných studií a uvádí 3 různé koncentrace dusičnanů v řepě, které odpovídají koncentracím dusičnanů bio řepy z Holandska uvedené

v této bakalářské práci, a to $249 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, $452 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ a $507 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. Také stanovil koncentraci dusičnanů v mrkvi, která je rovněž srovnatelná.

Centrum pro bezpečnost potravin v Hong-Kongu [47] provádělo v roce 2010 kontrolu potravin na koncentraci dusičnanů v zelenině a stanovili v 10 vzorcích zázvoru koncentrace dusičnanů v rozmezí $790\text{-}1800 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ se střední hodnotou $1300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. Nejnižší naměřená hodnota je srovnatelná s naměřenou koncentrací dusičnanů v této bakalářské práci.

Tyto uvedené výsledky z jiných studií zabývajících se podobným tématem uvádějí pro stanovované druhy zeleniny srovnatelné výsledky, jako výsledky uvedené v tabulkách číslo 5 a 6. Široké rozmezí koncentrací dusičnanů je zapříčiněno sběrem dat z různých oblastí pěstování zeleniny.

4.2. Porovnání bio vzorků z České republiky a z jiných zemí

Tabulka 7 Srovnání bio vzorků dle země původu

Země původu	Česká republika	Jiná země	
Vzorek	Koncentrace [$\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$]	Koncentrace [$\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$]	Země
Mrkev	69,8	16,0	Rakousko
Řepa	60,8	528,4	Holandsko
Petržel	2366,0	906,8	Rakousko
Celer	1530,2	1286,3	Slovensko

V tabulce 7 jsou uvedeny koncentrace dusičnanů vybraných druhů bio zeleniny původem z České republiky a srovnány s koncentrací dusičnanů těch stejných druhů z různých států. Ve 3 ze 4 případů byla koncentrace dusičnanů stanovena vyšší v zelenině z České republiky, v 1 případě byla koncentrace dusičnanů vyšší u bio řepy z Holandska.

Růžek [48] analyzoval koncentraci dusičnanů ve vzorcích kořenové zeleniny z České republiky a Rakouska. Výsledky této bakalářské práce se shodují s Růžkovou prací zejména u mrkve, pro kterou uvádí koncentraci dusičnanů $64 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ a pro mrkev z Rakouska $231 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. Dále také stanovil koncentraci dusičnanů v petrželi, tyto výsledky se však značně liší. Pro petržel z tuzemska stanovil koncentraci dusičnanů $419 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, pro petržel z Rakouska udává hodnotu $79 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. Benedíková [49] na přelomu let 2006 a 2007 analyzovala koncentraci stanovovaných aniotnů v kořenové zelenině a její výsledky se u petržele z tuzemska pohybovaly v rozmezí $1437\text{-}2239 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. U řepy v červnu roku 2006 stanovila koncentraci dusičnanů v rozmezí $71\text{-}419 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. Výsledky této bakalářské práce se shodují s naměřenými hodnotami Benedíkové. Peštová [50] zjišťovala koncentraci dusičnanů v celeru v 19 vzorcích z České republiky a stanovila jejich koncentraci v rozmezí $33,52\text{-}904,81 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, a tedy horní hranice stanovení je srovnatelná s naší naměřenou koncentrací dusičnanů u vzorku z tuzemska.

Tamme [53] stanovoval dusičnany ve vybraných státech Evropské unie, a to konkrétně v Belgii, na Kypru, v Dánsku, Estonsku, Finsku, Francii, Německu, Velké Británii, Itálii, Slovinsku a dále také v Íránu, Jižní Korei a na Novém Zélandě. Nejnižší a nejvyšší zjištěné koncentrace dusičnanů jsou uvedeny v tabulce 8.

Tabulka 8 Koncentrace dusičnanů v zelenině v různých státech

Vzorek zeleniny	Nejnižší koncentrace dusičnanů [mg · kg ⁻¹]	Země původu	Nejvyšší koncentrace dusičnanů [mg · kg ⁻¹]	Země původu
Řepa	644	Francie	1800	Finsko
Mrkev	58	Nový Zéland	458	Írán
Celer	565	Francie	3135	Belgie
Petržel	966	Estonsko	2690	Belgie
Ředkvička	1309	Estonsko	2136	Belgie

4.3. Porovnání s přijatelnou a bezpečnou denní dávkou

Evropský úřad pro bezpečnost potravin udává přijatelnou denní dávku dusičnanů 3,7 mg na kilogram tělesné váhy za den. V tabulce 9 jsou vypsány různé druhy kořenové zeleniny, pro které stanovuje situační a výhledová zpráva ministerstva zemědělství z roku 2014 [51] spotřeby v kilogramech za rok. Tyto hodnoty jsou přepočteny na množství dusičnanů zkonsumovaných za den a poté porovnány s průměrnou hodnotou v Evropské unii za rok 2014 [52].

Tabulka 9 Vypočítané množství zkonsumovaných dusičnanů za den

Vzorek	Spotřeba v kilogramech za rok [kg]	Spotřeba v gramech za den [g]	Koncentrace dusičnanů ² [mg · kg ⁻¹]	Zkonsumované dusičnany za den ³ [mg]
Bio mrkev	6,9	18,9	42,9	0,8
Bio petržel	0,8	2,2	1636,4	3,6
Bio celer	2,1	5,7	1408,3	8,0
Celkově	9,8	26,8	1029,2	12,4
Evropská unie ¹	12,0	32,9	616,3	20,3

¹ U vzorku Evropské unie jsou započítávány koncentrace dusičnanů z veškeré stanovené bio zeleniny

² Koncentrace dusičnanů je vypočítána z průměrné koncentrace stanovovaných aniontů vzorku z tuzemska a ze zahraničí

³ Přepočítané množství zkonsumovaných dusičnanů za den z uvedené koncentrace

Dle vypočtených hodnot se v České republice zkonsumuje za den méně dusičnanů než v celoevropském průměru. Tyto hodnoty rovněž slouží k porovnání s přijatelnou denní dávkou dusičnanů.

Při váze 60 kg činí přijatelná denní dávka 222 mg dusičnanů. Vypočítané množství zkonsumovaných dusičnanů je pouze pro kořenovou zeleninu, která tvoří jenom část jídelníčku obsahující další zdroje dusičnanů. Mezi tyto zdroje patří jiné druhy zeleniny, pitná voda či maso. Colla [46] ve své studii uvádí, že dusičnany v zelenině zaujímají až 80 % celkového příjmu dusičnanů do těla člověka. Zbytek tvoří pitná voda (15 %), maso a cereálie. Tamme [53] zmiňuje koncentraci dusičnanů v zelenině dle druhu, kdy největší se nachází v řapíkatých, listnatých a kořenových druzích zeleniny. Menší koncentrace dusičnanů je u stonkové a hlíznaté zeleniny, velmi málo uvádí v ovoci. Nejvyšší koncentraci dusičnanů zmiňuje v listnatých rostlinách, z důvodu přítomnosti většího množství vodivých pletiv bohatých na dusičnany.

Vzhledem k naměřeným koncentracím dusičnanů v kořenové zelenině v této bakalářské práci lze konstatovat, že konzumace doporučené denní dávky ovoce a zeleniny, která činí 400 gramů, nepředstavuje významné riziko pro českého spotřebitele.

EFSA také určuje bezpečnou denní dávku, která činí 0,07 mg dusičnanů na kilogram tělesné váhy za den. Zde je bezpečné množství zkonsumovaných dusičnanů 4,2 mg při tělesné váze 60 kg. Tohoto limitu by dosáhly z uvedených druhů kořenové zeleniny pouze bio mrkev a bio petržel.

4.4. Výsledky stanovení ve vzorcích zeleniny pro vlastní spotřebu

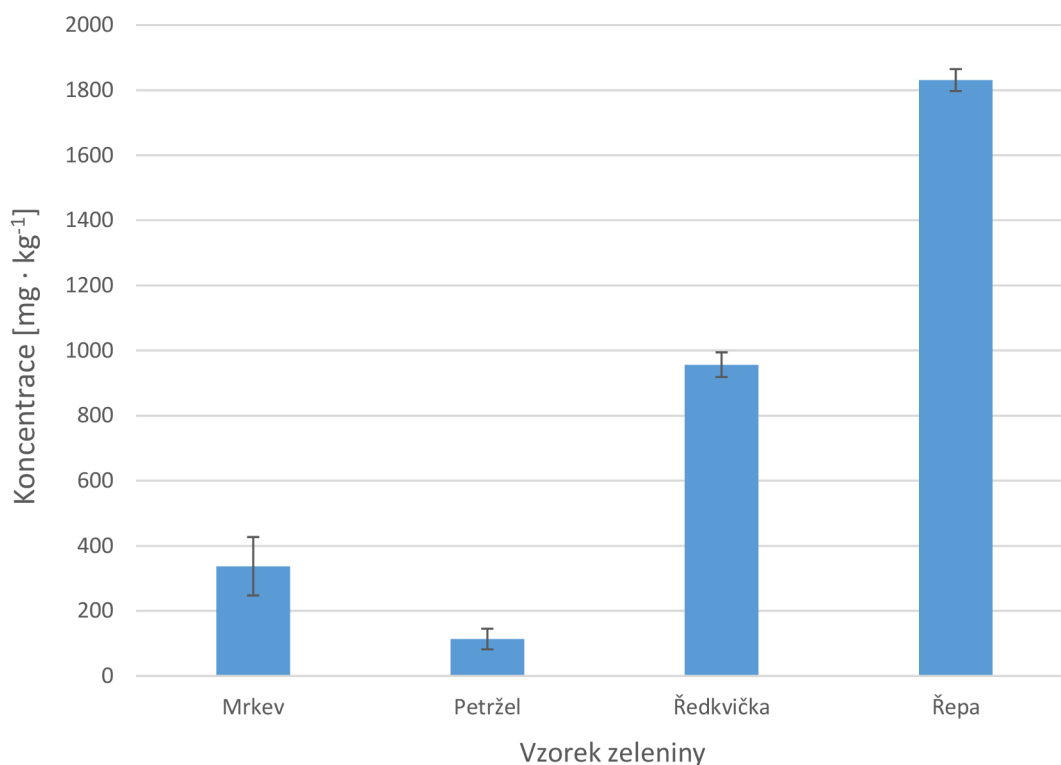
Kromě porovnání běžné a bio zeleniny bylo provedeno také měření koncentrace dusičnanů v zelenině pro vlastní spotřebu. Při měření bylo možné u všech vzorků stanovit koncentraci dusičnanů, která je uvedena v tabulce 10. V porovnání s naměřenými hodnotami koncentrace dusičnanů u bio zeleniny, se nejvíce blíží daným hodnotám vzorek mrkve. Ostatní naměřené koncentrace dusičnanů u vzorků zeleniny pro vlastní spotřebu se liší oproti vzorkům bio zeleniny.

Tabulka 10 Koncentrace dusičnanů ve vzorcích zeleniny pro vlastní spotřebu

Vzorek	Koncentrace [mg · kg ⁻¹]	Průměr	Směrodatná odchylka
Mrkev	247,5	337,2	89,7
	426,9		
Petržel	82,1	113,7	31,7
	145,4		
Ředkvička	918,5	956,5	38,0
	994,6		
Řepa	1864,8	1831,1	33,7
	1797,4		

Pěstování zeleniny pro vlastní spotřebu má stejný princip jako organické zemědělství, a tedy používání statkových hnojiv bez přídavku pesticidů či jiných přídatných látek. U 3 ze 4 vzorků byla koncentrace dusičnanů vyšší než u vzorků bio zeleniny. Důvodem bude pravděpodobně hnojivo, které se aplikovalo do půdy.

Dalším faktorem je oblast, ve které byly vzorky pro vlastní spotřebu pěstovány. Možným důvodem je také rychlé zpracování zeleniny poté, co byla sklizena. Anna Wrzodak [54] během let 2008-2011 zkoumala vliv skladování na koncentraci dusičnanů v běžné i bio mrkvi. Výsledkem jejího studování je skutečnost, že u obou druhů pěstování dochází během skladování ke snížení obsahu dusičnanů. Dle Terje Tamme [53] je důvodem snižování koncentrace dusičnanů vliv působení enzymu nitrát reduktázy, který je schopen přeměnit dusičnany na dusitany. Děje se tak zejména ve skladovacích prostorech s vysokou vlhkostí a nedostatečnou sanitací. Naopak ve vhodně chlazených prostorech dochází k inaktivaci tohoto enzymu a redukce se zastaví.



Graf 3 Naměřené koncentrace dusičnanů ve vzorcích pro vlastní spotřebu

Koncentraci dusičnanů v kořenové zelenině pro vlastní spotřebu stanovil také Croitoru [55], který ve 20 vzorcích čerstvě zpracované řepy stanovil koncentraci stanovovaných aniontů v rozmezí 39,4-600,9 mg · kg⁻¹ s průměrnou hodnotou 396,3 mg · kg⁻¹. Dále v 10 vzorcích uchovávané mrkve stanovil průměrnou koncentraci dusičnanů 62,3 mg · kg⁻¹ a ve 20 vzorcích čerstvé petržele 82,3 mg · kg⁻¹. U ředkvičky nezmiňoval stav zeleniny, avšak ve 22 vzorcích se naměřená koncentrace dusičnanů pohybovala v rozmezí 202,1-717,2 mg · kg⁻¹ s průměrnou hodnotou 413,4 mg · kg⁻¹. Výsledky této bakalářské práce jsou srovnatelné s uvedenými koncentraci dusičnanů zejména u mrkve a petržele.

4.5. Shrnutí výsledků

Dosažené výsledky ukazují, že v zelenině bio kvality se vyskytuje větší koncentrace dusičnanů než v zelenině běžné kvality. Důvodem zvýšené koncentrace dusičnanů v bio zelenině je používání organických hnojiv, která mají vyšší koncentrace dusičnanů a zejména se dokáží déle udržet v půdě. Na bio farmách se také hnojí pravidelně, čímž se rovněž zvyšuje tato koncentrace. Neméně podstatný faktor tvoří kvalita půdy, kdy u bio zeleniny je snaha měnit pravidelně druhy plodin, čímž nedochází ke snížení kvality půdy a ztrátám živin. Statková hnojiva jsou komplexnější a jsou schopna přivádět půdě více druhů živin.

V běžném zemědělství se také využívá minerálních hnojiv, avšak tyto látky působí spíše krátkodobě a nedokáží se udržet v zelenině po tak dlouho dobu, protože nemají možnost ulpívat na jiném materiálu než na rostlině samotné. Při deštích jsou poté splavovány pryč z polí a zelenina je tak není schopná dále využívat.

Stanovením koncentrace dusičnanů v běžné a také bio zelenině se zabývalo v historii mnoho studií, které poskytují široké rozmezí výsledků. Hlavním důvodem je různá oblast pěstování a s tím související také kvalita půdy a povolené limity používání hnojiv či přídatných látek v legislativě dané země. Rovněž se jedná o biologický materiál, u kterého není možné zajistit, aby totožně pěstované plodiny měly stejné obsahy různých látek.

5 ZÁVĚR

Bakalářská práce se zabývá stanovením rozdílných koncentrací dusičnanů ve vybraných druzích kořenové zeleniny běžné kvality oproti bio zelenině. Dále se věnuje vlivu dusičnanů na zdraví člověka a také na okolní přírodu a zaměřuje se na způsoby využívání hnojiv a principy organického zemědělství.

Prvotním předpokladem bylo stanovení vyšší koncentrace dusičnanů v kořenové zelenině běžné kvality. Toto tvrzení vycházelo z uvážení, že nadměrné množství dusičnanů škodí člověku, a tedy v bio výrobcích bychom očekávali nižší koncentrace stanovovaných aniontů. Během studování a měření se však jasně ukázalo, že daleko více se dusičnany vyskytují v bio zelenině.

Důvodem nalezení vyšší koncentrace dusičnanů v bio zelenině je paradoxně v používání hnojiv. Pro bio výrobky není možné používat pesticidy a mnoho dalších přídatných látek, ale je povoleno hnojit organickými neboli statkovými hnojivy. Tato hnojiva jsou bohatá na dusíkaté látky a jsou schopna se dlouho udržet v půdě a nesplavovat se během dešťů. Další důvody pro větší množství dusičnanů v bio zelenině byly uvedeny v shrnutí výsledků.

Přijatelná denní dávka dusičnanů pro dospělého člověka podle studie Evropského úřadu pro bezpečnost potravin je 3,7 mg dusičnanů na kilogram lidské váhy za den, avšak bezpečná dávka je pouhých 0,07 mg dusičnanů na kilogram lidské váhy za den. Při uvážení faktu, že člověk konzumuje dusičnany také z jiných zdrojů než pouze ze zeleniny, a to zejména z pitné vody a masa, může při pravidelném překračování přijatelné denní dávky docházet k rozvoji nemocí, a to například zmíněné methemoglobinémie. Z uvedených výsledků je však patrné, že k závažnějším problémům u zdravých dospělých jedinců by mohlo docházet až při velmi vysoké denní konzumaci kořenové zeleniny. Větší nebezpečí v konzumaci zeleniny obsahující vysokou koncentraci dusičnanů je u kojenců a malých dětí. Snahou o zamezení zvýšeného obsahu dusičnanů v těle dětí je používání kojenecké výživy a kojenecké vody, ve které by neměla koncentrace dusičnanů přesahovat $50 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ [56].

Bio zelenina obsahovala dle výsledků větší koncentraci dusičnanů a mohlo by se tedy zdát, že pro lidské tělo může být škodlivá a její zdravotní nezávadnost by mohla být zavádějící. Světová zdravotnická organizace však určuje doporučené denní množství zeleniny a ovoce (bez rozdělení na běžné a bio), které je $400 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ a při běžné konzumaci má zelenina i přes obsah dusičnanů více pozitivních dopadů na lidské zdraví.

Dle výše zmíněných faktů by konzument neměl podléhat dojmu, že bio potraviny jsou zcela neškodné. Přesto větší důvěra společnosti panuje v tento druh potravin, které podléhají pravidelnějším a rozsáhlejšími kontrolám inspekce.

Možností dalšího studia této problematiky je mnoho. Je možné se zaměřit na konkrétní vliv množství dusičnanů na růst potravin nebo obsah dusičnanů v určitých částech rostliny. Také by bylo možné porovnávat jiné látky, a to například fosforečnany. Moderním trendem je rovněž studium pesticidů, a to zejména jejich koncentrací v potravinách a vliv na zdraví člověka a na životní prostředí.

6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] ŽILA, Leoš, Jiří MORAVEC a Dominik ADAMOVIČ. *Koreňová zelenina*. Bratislava: Slovenské vydavateľstvo pôdohospodárskej literatúry, 1966. Rastlinná výroba (Slovenské vydavateľstvo pôdohospodárskej literatúry).
- [2] JONES, J. Benton. *Plant nutrition and soil fertility manual*. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press, c2012. ISBN 978-1-4398-1609-7.
- [3] VANĚK, Václav. *Výživa zahradních rostlin*. Praha: Academia, 2012. ISBN 978-80-200-2147-2.
- [4] PEKÁRKOVÁ, Eva. *Zelenina: její pěstování a význam*. Praha: Aventinum, 2014. Artia (Aventinum). ISBN 978-80-7442-037-5.
- [5] ZAKOPAL, Jaroslav a Josef ŠEDIVÝ. *Chemie na zahrádce*. 4., dopl. vyd. Praha: SZN, 1990. Zahrádka (Státní zemědělské nakladatelství). ISBN 80-209-0140-X.
- [6] KOPEC, Karel. *Tabulky nutričních hodnot ovoce a zeleniny*. Praha: Ústav zemědělských a potravinářských informací, 1998. ISBN 80-86153-64-9.
- [7] PLASTER, Edward J. *Soil science and management*. 6th ed. Clifton Park: Delmar Cengage Learning, c2014. ISBN 978-0-8400-2438-1.
- [8] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin*. Vyd. 2. upr. Tábor: OSSIS, 2002. ISBN 80-866-5900-3.
- [9] SLUKOVÁ, Marcela. *Výroba potravin a nutriční hodnota*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2016. ISBN 978-80-7080-947-1.
- [10] BULKOVÁ, Věra. *Rostlinné potraviny*. Brno: Národní centrum ošetřovatelství a nelékařských zdravotnických oborů, 2011. ISBN 978-80-7013-532-7.
- [11] PITTER, Pavel. *Hydrochemie*. 4., aktualiz. vyd. Praha: Vydavatelství VŠCHT Praha, 2009. ISBN 978-80-7080-701-9.
- [12] HAVLIN, John. *Soil fertility and fertilizers: an introduction to nutrient management*. 8th ed. New Jersey: Pearson, c2014. ISBN 978-0-13-503373-9.
- [13] MOTARJEMI, Yasmine, Gerald MOY a E. C. D. TODD. *Encyclopedia of food safety*. Boston: Elsevier, Academic Press, 2014. ISBN 978-0-12-378612-8.
- [14] ED. MICHAEL HILL. *Nitrates and Nitrites in Food and Water*. Repr. Cambridge: Woodhead Pub, 1996. ISBN 978-185-5732-827.
- [15] PRUGAR, Jaroslav a PRUGAROVÁ, Anna. *Dusičnany v zelenine*. Vyd.1. Bratislava: s.n., 1985.
- [16] PRUGAR, Jaroslav. *Vliv výživy dusíkem na kumulaci dusičnanů v zelenině: (studijní zpráva)*. Praha: Ústav zemědělských a potravinářských informací, 1994. Studijní informace.
- [17] KALINA, Miroslav. *Hnojení půdy a kompostování v zahradě*. Praha: Grada Publishing, 2016. Česká zahrada. ISBN 978-80-247-5848-0.
- [18] MODRÁ, Helena. *Toxikologie potravin: vybrané kapitoly*. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2014. ISBN 978-80-7305-750-3.

- [19] HLOBILOVÁ, Veronika. *Dusitany a dusičnany ve stravě – jejich negativa a pozitiva*. Brno, 2013. Bakalářská práce. Masarykova univerzita, Lékařská fakulta.
- [20] TÖNZ, Otmar. *The congenital methemoglobinemias: physiology and pathophysiology of the hemoglobin metabolism*. Basel: S. Karger, 1968. Bibliotheca Haematologica.
- [21] MUSIL, Josef. *Experimentální methemoglobinémie*. Praha: Státní zdravotnické nakladatelství, 1969. Babákova sbírka.
- [22] KNOTEK, Zdeněk a Pavel SCHMIDT. *Dusičnanová alimentární methemoglobinémie kojenců*. Praha: Státní zdravotnické nakladatelství, 1965. Hemi. Sběrka prací z hygieny, epidemiologie, mikrobiologie a imunologie.
- [23] *ENDOTELIÁLNÍ DYSFUNKCE, MOŽNOSTI JEJÍ DETEKCE A VYUŽITÍ V KLINICKÉ PRAXI* [online]. [cit. 2017-12-19]. Dostupné z: <https://www.internimediceina.cz/pdfs/int/2004/09/06.pdf>
- [24] LUNDBERG, Jon O, CARLSTRÖM Mattias, LARSEN Filip J. Roles of dietary inorganic nitrate in cardiovascular health and disease. *Cardiovascular research*. 2011, roč. 89, č. 3, s. 525-532. doi 10.1093/cvr/cvq325
- [25] DUDLEY, Nigel. *Nitrates: the threat to food and water*. London: Green Print, 1990. ISBN 18-542-5012-4.
- [26] PAWELCZYK, Adam. *Study on basic indices of surface waters pollution on agricultural area*. In: Development in production and use of new agrochemicals. Czech-Pol Trade, 2005. ISBN 80-239-5360-5.
- [27] PETR, Jiří a Josef SCHMIDT. *Ekologické zemědělství*. Praha: Zemědělské nakladatelství Brázda, 1992. ISBN 80-209-0233-3
- [28] FOTYMA, Mariusz a Stanisław MERCIK. *Chemia rolna*. Wyd. 2 zm. Warszawa: Wydawnictwo Naukowe PWN, 1995. ISBN 83-011-1955-1.
- [29] FINCK, Arnold. *Fertilizers and fertilization: introduction and practical guide to crop fertilization*. Deerfield Beach, Fla.: Verlag Chemie, 1982. ISBN 35-272-5891-4.
- [30] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin*. Vyd. 2. upr. Tábor: OSSIS, 2002. ISBN 80-866-5902-X.
- [31] SOVJAK, Richard a Radka HUDEČKOVÁ. *Principles of organic farming and implementation in animal husbandry*. Prague: Czech University of Life Sciences, 2007. ISBN 978-80-213-1638-6.
- [32] *České bioloogo* [online]. [cit. 2018-04-25]. Dostupné z: <http://eagri.cz/public/web/mze/zemedelstvi/ekologicke-zemedelstvi/dokumenty-statistiky-formulare/loga-a-znacení/>
- [33] Vyhláška č. 53/2002 Sb. ze 15. února 2002, *kteou se stanoví chemické požadavky na zdravotní nezávadnost jednotlivých druhů potravin a potravinových surovin, podmínky použití látek přídatných, pomocných a potravních doplňků*. In: ASPI [právní informační systém]. Praha: Wolters Kluwer ČR [cit. 2018-05-17].

- [34] EFSA confirms safe levels for nitrites and nitrates added to food. *European Food Safety Association* [online]. [cit. 2018-04-25]. Dostupné z: <http://www.efsa.europa.eu/en/press/news/170615-0>
- [35] ČSN EN 12014-2: 1998. *Potraviny – Stanovení obsahu dusičnanů a/nebo dusitanů – Část 2: Metoda HPLC/IC pro stanovení obsahu dusičnanů v zeleninových výrobcích a zelenině*. Praha: Český normalizační institut, 1998. 20 s.
- [36] SOMMER, Lumír. *Základy analytické chemie*. Brno: VUTIUM, 2000. ISBN 80-214-1742-0.
- [37] CHURÁČEK, Jaroslav a Pavel JANDERA. *Separace látek: kapalinová vysokoúčinná kolonová chromatografie*. 2., nezm. vyd. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1986.
- [38] CHURÁČEK, Jaroslav. *Analytická separace látek: celostátní vysokoškolská učebnice pro vysoké školy chemickotechnologické*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1990. ISBN 80-030-0569-8.
- [39] FANALI, Salvatore. *Liquid chromatography: fundamentals and instrumentation*. Waltham: Elsevier, c2013. ISBN 978-0-12-415807-8.
- [40] Obrázek IC: www.sites.cord.edu/chem-330-lab-manual/experiments/ic [online]. [cit. 2017-12-18].
- [41] PESLAR, Jiří. *Konstrukce peristaltického čerpadla*. Brno, 2009. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství. Ústav konstruování.
- [42] NIELSEN, S. Suzanne. *Food analysis*. 4th ed. New York: Springer, 2010. ISBN 978-1-4614-2589-2.
- [43] RAMOS, Fernando, ed. *Liquid chromatography: principles, technology and applications*. 4th ed. New York: Nova, c2013. Chemical engineering methods and technology. ISBN 978-1-62618-678-1.
- [44] WALKER, Ronald. Naturally occurring nitrate/nitrite in foods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 1975, 26(11), 1735-1742. DOI: 10.1002/jsfa.2740261116. ISSN 00225142. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/jsfa.2740261116>
- [45] GRUSZECKA-KOSOWSKA, Agnieszka a Agnieszka BARAN. Concentration and health risk assessment of nitrates in vegetables from conventional and organic farming. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*. 2015, 23(4), 727-740. DOI: 10.1080/10807039.2016.1277414. ISSN 1080-7039. Dostupné také z: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10807039.2016.1277414>
- [46] COLLA, Giuseppe, Hye-Ji KIM, Marios C. KYRIACOU a Youssef ROUPHAEL. Nitrate in fruits and vegetables. *Scientia Horticulturae*. 2018, 237, 221-238. DOI: 10.1016/j.scienta.2018.04.016. ISSN 03044238. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304423818302656>

- [47] CENTRE FOR FOOD SAFETY, THE GOVERNMENT OF THE HONG KONG SPECIAL ADMINISTRATIVE REGION, ed. *Nitrate and Nitrite in Vegetables Available in Hong Kong* [online]. 2010 [cit. 2018-05-17]. Dostupné z: http://www.cfs.gov.hk/english/programme/programme_rafs/files/Nitrate_and_Nitrite_Vegetables_Available_HK_e.pdf
- [48] RŮŽEK, Marek. *Sledování, vyhodnocení a porovnání obsahu nitrátů v zelenině distribuované v obchodní síti vybrané oblasti ČR a přilehlé příhraniční oblasti Rakouska*. České Budějovice, 2013. Diplomová práce. JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH, ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA.
- [49] BENEDÍKOVÁ, Petra. *Sledování a vyhodnocení obsahu nitrátů ve vybraných druzích zeleniny distribuovaných obchodní síti města Plzně*. České Budějovice, 2007. Diplomová práce. JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH, ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA.
- [50] PEŠTOVÁ, Michaela. *Vyhodnocení obsahu nitrátů v základních druzích zeleniny distribuovaných obchodní síti města Prachatic*. České Budějovice, 2012. Diplomová práce. JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH, ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA.
- [51] *Situační a výhledová zpráva*. Praha: Ministerstvo zemědělství České republiky, 1995. ISBN 978-80-7434-406-0.
- [52] TOTAL GROSS SUPPLY AND RELATED PRODUCTION & TRADE TRENDS EU-28. [Http://www.freshplaza.com](http://www.freshplaza.com) [online]. 2014 [cit. 2018-05-17]. Dostupné z: <http://www.freshplaza.com/article/174837/Freshfel-report-shows-growth-in-EU-fruit-and-veg-consumption>
- [53] TAMME, Terje, Mari REINIK a Mati ROASTO. Nitrates and Nitrites in Vegetables. *Bioactive Foods in Promoting Health*. Elsevier, 2010, 2010, , 307-321. DOI: 10.1016/B978-0-12-374628-3.00021-9. ISBN 9780123746283. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780123746283000219>
- [54] WRZODAK, Anna, Justyna SZWEJDA-GRZYBOWSKA, Krystyna ELKNER a Irena BABIK. Comparison of the Nutritional Value and Storage Life of Carrot Roots From Organic and Conventional Cultivation. *Vegetable Crops Research Bulletin*. 2012, **76**(1), -. DOI: 10.2478/v10032-012-0010-5. ISSN 1898-7761. Dostupné také z: <http://content.sciendo.com/view/journals/vcrb/76/1/article-p137.xml>
- [55] CROITORU, Mircea Dumitru. Presence of nitrate and nitrite in vegetables grown for self-consumption. *Farmacia*. 2014, 63(4), 4. ISSN 0014-8237
- [56] Vyhláška č. 252/2004 Sb. ze dne 22. dubna 2004, *kerou se stanoví hygienické požadavky na pitnou a teplou vodu a četnost a rozsah kontroly pitné vody*. In: *ASPI* [právní informační systém]. Praha: Wolters Kluwer ČR [cit. 2018-05-17]

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

NO_3^- – dusičnanový aniont

NH_4^+ – amonný kationt

EFSA – Evropský úřad pro bezpečnost potravin

SD – směrodatná odchylka

WHO – Světová zdravotnická organizace