



UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Mateja SAMIDE

**NITRATI V LISTNATI ZELENJAVI – POMEN,
ZAKONODAJA IN VPLIV TEHNOLOGIJE GOJENJA**

DIPLOMSKI PROJEKT

Univerzitetni študij – 1. stopnja

Ljubljana, 2012

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Mateja SAMIDE

**NITRATI V LISTNATI ZELENJAVI – POMEN, ZAKONODAJA IN
VPLIV TEHNOLOGIJE GOJENJA**

DIPLOMSKI PROJEKT
Univerzitetni študij – 1. stopnja

**NITRATES IN LEAFY VEGETABLES: SIGNIFICANCE,
LEGISLATION AND INFLUENCE OF CULTIVATION SYSTEMS**

B. SC. THESIS
Academic Study Programmes

Ljubljana, 2012

Diplomski projekt je zaključek Univerzitetnega študija Kmetijstvo – agronomija – 1. stopnja. Projekt je bil opravljen na Biotehniški fakulteti Oddelka za agronomijo Katedre za sadjarstvo, vinogradništvo in vrtnarstvo.

Študijska komisija Oddelka za agronomijo je za mentorico diplomskega projekta imenovala doc. dr. Nino Kacjan Maršič, za recenzenta diplomskega projekta pa je imenovala doc. dr. Roka Miheliča.

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik: izr. prof. dr. Marina PINTAR
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Članica: doc. dr. Nina KACJAN MARŠIČ
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Član: doc. dr. Rok MIHELIC
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Datum zagovora: 27. september, 2012

Diplomski projekt je rezultat lastnega dela. Podpisana se strinjam z objavo svojega diplomskega projekta na spletni strani Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete. Izjavljam, da je projekt, ki sem ga oddala v elektronski obliki, identičen tiskani verziji.

Mateja SAMIDE

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Du1
DK UDK 635.4/.5:631.811.1:546.175(043.2)
KG listnata zelenjava/ nitrati/ dušik/ tehnologija gojenja/ vsebnost nitratov/ zakonodaja/ kakovost pridelka/ zdravje ljudi
AV SAMIDE, Mateja
SA KACJAN MARŠIČ, Nina (mentorica)
KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo
LI 2012
IN NITRATI V LISTNATI ZELENJAVI: POMEN, ZAKONODAJA IN VPLIV TEHNOLOGIJE GOJENJA
TD Diplomski projekt (Univerzitetni študij – 1. stopnja)
OP VII, 17, [1] str., 8 pregl., 22 vir.
IJ sl
JI sl/en
AI Vsebnost nitrata je pomembna lastnost, ki določa kakovost pridelka predvsem v listnati zelenjavi. Nitrat sam po sebi ni toksičen, medtem ko imajo njegovi presnovni produkti različne učinke na zdravje ljudi. Do nedavnega je nitrat veljal za škodljivo prehransko komponento, ki povzroča bolezenska stanja kot so methemoglobinemija in rakava obolenja. Raziskave v zadnjem času pa ugotavljajo njegovo pomembno vlogo pri obrambi organizma pred boleznimi prebavnega trakta. Kopičenje nitrata v rastlinah je odvisno predvsem od prehrane rastlin ter okoljskih in fizioloških dejavnikov. Gnojenje z dušikom in jakost osvetlitve sta dejavnika, ki odločilno vplivata na vsebnost nitratov v zelenjadnicah. V naši nalogi so predstavljene naslednje vsebine: razporeditev - klasifikacija zelenjadnic glede na kopičenje nitrata, kakšen delež prispeva zelenjava k vnosu prehranskega nitrata v človeški organizem; uredba evropske komisije št. 563/2002, ki določa zgornje dopustne vrednosti nitrata v solati in špinači; maksimalne vrednosti za vsebnost nitrata v nekaterih vrstah zelenjadnic, ki so predpisane v nekaterih evropskih državah in strategije za zmanjšanje vsebnosti nitrata v zelenjavi. Prav tako so priporočena nekatera navodila z namenom, da bi zmanjšali tveganje vnosa nitrata v človeški organizem z uživanjem zelenjave, kot so npr. spravilo zelenjave sredi dneva – opoldne, ko je vsebnost nitratov v listih najmanjša, odstranjevanje tistih rastlinskih delov, ki vsebujejo največ nitratov in kuhanje zelenjave v vodi z nizko vsebnostjo nitratov.

KEY WORDS DOCUMENTATION

ND Du1
DC UDC 635.4/.5:631.811.1:546.175(043.2)
CX leafy vegetables/ nitrates/ nitrogen/ production technology/ nitrate contents/ regulations/
crop quality/ human health
AU SAMIDE, Mateja
AA KACJAN MARŠIČ, Nina (supervisor)
PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Agronomy
PY 2012
TI NITRATES IN LEAFY VEGETABLES: SIGNIFICANCE, LEGISLATION AND
INFLUENCE OF CULTIVATION SYSTEMS
DT B. Sc. Thesis (Academic Study Programmes)
NO VII, 17, [1] p., 8 tab., 22 ref.
LA sl
AL sl/en
AB Nitrate content is an important quality characteristic in leafy vegetables. Nitrate itself is relatively non-toxic but its metabolites may produce a number of health effects. Until recently nitrate was perceived as a harmful dietary component which causes methaemoglobinaemia and carcinogenesis. Recent studies suggest that nitrate is actually a very important part of our bodies' defenses against gastroenteritis. The factors responsible for nitrate accumulation in plants are mainly nutritional, environmental and physiological. Nitrogen fertilization and light intensity have been identified as the major factors that influence the nitrate content in vegetables. In our thesis are reported: vegetable classification as a function of nitrate accumulation, the contribution of vegetables towards dietary nitrate intake by humans; European Commission Regulation No. 563/2002 which set limits for nitrate in lettuce and spinach; the maximum levels set in some European countries for some of the vegetables species and the strategies that may be followed to minimize the nitrate content in plants. Some instructions such as the harvesting vegetables at noon, removal of organs rich in nitrate content and cooking of vegetables in water with low nitrate content was set in order to minimize the risk of nitrate to human health due to the vegetable consumption.

KAZALO VSEBINE

	Str.
Ključna dokumentacijska informacija (KDI)	III
Key words documentation (KWD)	IV
Kazalo vsebine	V
Kazalo preglednic	VI
Okrajšave in simboli	VII
1 UVOD	1
2 PREGLED LITERATURE	2
2.1 POMEN DUŠIKA ZA RASTLINE	2
2.1.1 Sprejem dušika v rastline	2
2.1.2 Vgradnja dušika v rastlino in njegovo premeščanje	3
2.1.3 Izkoristek dušika v rastlinah NUE (Nitrogen Use Efficiency)	3
2.2 NITRAT	4
2.2.1 Fiziološka vloga nitrata v rastlini	4
2.2.2 Toksičnost nitrata	4
2.2.2.1 Metemoglobinemija	4
2.2.2.2 Toksičnost nitrozaminov	5
2.2.3 Pozitivni učinki nitrata na človeški organizem	5
2.2.4 Nitrat v rastlinah	6
2.3 ZAKONODAJA	6
2.3.1 Dopustni dnevni vnos (ADI-Acceptable Daily Intake) nitrata	6
2.3.2 Vir nitrata v prehrani človeka	7
2.3.3 Vsebnost nitrata v zelenjadnicah	8
2.4 RAZPOREDITEV NITRATA V LISTIH RASTLINSKE ODEJE	10
2.5 DEJAVNIKI, KI VPLIVAJO NA VSEBNOST NITRATOV V ZELENJAVI	10
2.5.1 Vpliv tehnologije gojenja na vsebnost nitratov v pridelku zelenjadnic	12
2.5.2 Vpliv okoljskih dejavnikov	13
2.5.3 Vpliv genotipa na kopičenje nitrata v listnatih zelenjadnicah	13
3 SKLEPI	14
4 VIRI	15
ZAHVALA	

KAZALO PREGLEDNIC

	Str.
Preglednica 1: Znaki in simptomi metemoglobinemije (Anjana in sod., 2007)	5
Preglednica 2: JECFA, SCF in EPA so postavile vrednosti za ADI in RfD (Santamaria, 2006)	7
Preglednica 3: Ocenjene vsebnosti vnesenega NO ₃ iz različnih virov (Santamaria, 2006)	7
Preglednica 4: Ocena dnevnega vnosa nitratov (pitna voda ni vključena) in prispevek zelenjave k dnevni vnosu nitrata v organizem, v različnih državah (Santamaria, 2006)	8
Preglednica 5: Poraba hrane in dnevni vnos nitratov v nekaterih državah Evropske Unije (Santamaria, 2006)	8
Preglednica 6: Maksimalna dovoljena vsebnost nitrata (mg/kg sveže mase) v zeleni solati in špinači v skladu z Uredbo Evropske Komisije, 563/2002 (Santamaria, 2006)	9
Preglednica 7: Maksimalne dovoljene vrednosti za NO ₃ (mg/kg sveže teže) v tržnem pridelku nekaterih vrst zelenjadnic v nekaterih Evropskih državah (Santamaria, 2006)	10
Preglednica 8: Klasifikacija zelenjave glede na vsebnost nitratov (mg/kg sveže snovi) (Santamaria, 2006)	11

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

NO ₂	Nitrit
NO ₃ ⁻	Nitratni ion
NH ₄ ⁺	Amonijev ion
N ₂	Molekularni dušik iz zraka
N	Organski dušik
O ₂	Kisik
CO ₂	Ogljikov dioksid
NR	Nitrat reduktaza
NUE	Koeficient uspešnosti izkoristka dušikovega gnojila
NupE	Vhodna učinkovitost
NUtE	Dušikova učinkovitost uporabe
NAE	Dušikova asimilacijska učinkovitost
NRE	Dušikova remobilizacijska učinkovitost
ADI	Sprejemljiv dnevni vnos (Acceptable daily intake)
JECFA	Odbor za prehrano in kmetijstvo (Joint Expert Committee of the Food and Agriculture)
WHO	Organizacija združenih narodov in Svetovna zdravstvena organizacija (Organization of the United Nations/World Health Organization)
SCF	Zdravstveni odbor za hrano (Scientific Committee on Food)
EPA	Agencija za zaščito okolja (Environmental Protection Agency)
RfD	Referenčna doza

1 UVOD

Nitrat je naravna spojina dušika in sestavni del dušikovega kroženja v naravi. Nitrat se nahaja v zraku, zemlji, vodi in hrani (posebej v zelenjavi) in nastaja tudi po naravni poti znotraj človeškega telesa. Nitrat sestavlja mineralna gnojila, ustvarja se s trohnenjem ali gnitjem rastlin, ter se proizvaja tudi preko drugih organskih ostankov. Uporablja se ga kot dodatek k hrani za konzerviranje in tudi kot sredstvo proti mikrobom, kar pomeni, da preprečuje razpad hrane (Santamaria, 2006).

Nitrat je izredno pomemben kakovostni parameter v zelenjavi. Vsebnost nitratov v listnati zelenjavi je zakonsko opredeljena, predvsem zaradi pomembnega vpliva na zdravje ljudi. Nitrat v zelenjavi je do nedavnega veljal za škodljivega, ker naj bi povzročal metemoglobinemijo, imel naj bi rakotvorne učinke in povzročal nekatere dedne spremembe. Po drugi strani pa nekatere raziskave prikazujejo nitrat kot ključen del obrambe proti želodčnim razjedam (Santamaria, 2006).

Listnata zelenjava predstavlja zelo velik delež v prehrani ljudi, vendar predstavlja tudi skupino hrane, ki največ prispeva k vnosu nitratov v človeško telo. Zaradi pretirane uporabe dušičnih gnojil lahko ta vrsta zelenjave vsebuje visoke količine nitratov in posledično predstavlja veliko tveganja za zdravje ljudi, ki jo uživajo. Zaradi tega je vloženega veliko truda v zmanjšanje vsebnosti nitratov v listnati zelenjavi, ki jo ljudje uživajo (Anjana in sod., 2007).

Namen diplomske naloge je opisati nitrat kot del dušikovega kroženja v naravi in njegov pomen za rastlino. Omenili bomo zakonodajo glede vsebnosti nitratov v rastlinah in talni vodi, ter prikazali vpliv okoljskih dejavnikov in tehnologije gojenja na vsebnost nitratov v zelenjavi. Prikazali bomo različne pozitivne in negativne učinke nitrata na človekovo zdravje. Prikazana bo tudi klasifikacija zelenjadnic glede na sposobnost kopičenja nitratov ter kakšen delež prispeva zelenjava k dnevnom vnosu nitrata v človeški organizem. Podali bomo nekatera navodila za zmanjšanje vsebnosti nitrata v listnati zelenjavi, ki so usmerjena v zmanjšanje tveganja za vnos nitrata v človeški organizem z uživanjem zelenjave.

2 PREGLED LITERATURE

2.1 POMEN DUŠIKA ZA RASTLINE

Dušik je mineralno hranilo, ki predstavlja sestavni del nekaterih esencialnih sestavin rastlin, kot so aminokisliline, beljakovine, nukleinske kisline in klorofil (Lešić in sod., 2004). Pravijo mu tudi motor za rastline, saj rastline sprejmejo dušik iz gnojil v relativno kratkem času (Leskošek, 1993).

Dušik je ena izmed najpomembnejših hranil za rastline, dušikova gnojila pa predstavljajo največji strošek v rastlinski pridelavi. Izgube dušika v kmetijski pridelavi, ki se pojavijo zaradi nepopolnega sprejema in slabe mineralizacije, predstavljajo resen problem, ki vodi v onesnaževanje tal in talne vode (Masclaux-Daubresse in sod., 2010).

Rastline potrebujejo dušik v zelo velikih količinah in ga sprejemajo v obliki nitratnega iona (NO_3^-), v tleh, kjer je nitrifikacija otežena, pa v obliki amonijevega iona (NH_4^+). Rastline, ki živijo v simbiozi z dušikovimi fiksirajočimi simbionti (N-fiksirajoče bakterije, modro-zelene ceppljivke), lahko kot vir dušika uporabljajo tudi molekularni dušik iz zraka (N_2) (Vodnik, 2012).

Ko rastlinam primanjkuje dušika, rastejo počasneje, pojavijo se kloroze in to najprej na starih listih. Rastline, ki jim primanjkuje dušika manj cvetijo, tudi plodovi so majhni. Višek dušika pa povzroči pospešeno rast listov, ki so temno zelene barve. Rastline, ki so pregnojene z dušikom so krhke in neodporne na bolezni in na poleganje. So slabšega okusa, predvsem zaradi manjše sinteze sladkorja. V listnati zelenjavi pride do prekomernega kopičenja nitratov (predvsem v špinači, zimski solati, motovilcu) (Lešić in sod., 2004).

2.1.1 Sprejem dušika v rastline

Rastline potrebujejo dušik v zelo velikih količinah in ga sprejemajo v obliki nitratnega iona (NO_3^-), v tleh, kjer je nitrifikacija otežena, pa v obliki amonijevega iona (NH_4^+). Rastline, ki živijo v simbiozi z dušikovimi fiksirajočimi simbionti (N-fiksirajoče bakterije, modro-zelene ceppljivke), lahko kot vir dušika uporabljajo tudi molekularni dušik iz zraka (N_2) (Vodnik, 2012).

Sprejem dušika v rastline je največkrat določen s sprejemom nitratnega (NO_3^-) in amonijskega iona (NH_4^+), čeprav rastline iz tal sprejmejo tudi organski dušik N, ki lahko predstavlja pomemben delež sprejema dušika v posebnih ekoloških razmerah (kisla prst, nizka temperatura v okolju). Na sprejem dušika v rastline vplivajo različni parametri, med njimi tudi razporeditev dušika v talnem profilu in globina korenin rastlin. V talnem profilu je delež

mineralnega dušika večji v zgornjem sloju tal glede na spodnji sloj, verjetno zaradi ugodnejših razmer za mineralizacijo, ki prevladujejo v zgornjem sloju, kar je povezano z večjim deležem organske snovi in večjo prisotnostjo kisika. Na sprejem dušika vpliva tudi globina korenin, ki določa zmožnost rastlin, da prestrežejo tisti dušik, ki bi se med obdobjem največjega spiranja (v zimskem času) spral v podtalje. To je pomembno predvsem za rastline, ki rastejo v jesensko zimskem času (Gastal in Lemaire, 2002).

2.1.2 Vgradnja dušika v rastlino in njegovo premeščanje

Rastline sprejemajo dušik v nitratni ali amonijski obliki, v izjemnih talnih razmerah pa tudi v obliki aminokislin. Presnova dušika in vgradnja anorganskega dušika v organsko spojino zahteva najprej redukcijo nitrata do amonijske oblike, temu sledi vezava amonija v aminokislino. Presnova nitrata se lahko potem kaže v koreninah, bolj pogosto pa v nadzemnih delih rastlin, vendar sta redukcijski reakciji nitrata do nitrita in nitrita do amonija prostorsko ločeni: redukcija nitrata, ki jo katalizira encim nitrat reduktaza (NR) poteka v citoplazmi, redukcija nitrita, ki jo katalizira nitrit reduktaza (NiR) pa v kloroplastu (Masclaux-Daubresse in sod., 2010).

Premeščanje dušika v rastlini je raziskano na različnih rastlinah s pomočjo posebne tehnike sledenja dušika po rastlini z označenim izotopom ^{15}N , s katerim lahko ugotovimo, koliko dušika je prisotnega v različnih delih rastlin, skozi različna obdobja razvoja. Dušik se v rastlini premešča iz starih listov, ko začno ti odmirati, v nove, mlade liste in v semena. V času senescence pride do razgradnje fotosintetskih proteinov v plastidih starih listov, ki predstavljajo bogat vir dušika za novo rastoče dele rastlin (liste in plodove). Remobilizacija dušika je hitrejša, če je dotok nitratov iz okolja omejen, manjši (Masclaux-Daubresse in sod., 2010).

Zmožnost remobilizacije dušika je pomembna tako za enoletnice kot tudi za trajnice. Za enoletnice je dušikova remobilizacija pomembna za proizvodnjo semen in za vsebnost dušika v semenu. Od vsebnosti dušika v semenu je odvisno preživetje mladih kalčkov (Masclaux-Daubresse in sod., 2010).

2.1.3 Izkoristek dušika v rastlinah NUE (Nitrogen Use Efficiency)

Izkoriščenost dušika v rastlinah merijo s koeficientom izkoristka dušikovih gnojil (Nitrogen use efficiency – NUE). Za žita je indeks izkoristljivosti dušika definiran s pridelkom zrnja na enoto dušika, ki ga rastlina sprejme iz tal in gnojil. Pri rastlinah, kjer pridelek ni zrnje pa je indeks izkoristljivosti dušika izražen z razmerjem med svežo ali suho maso in vsebnostjo dušika v rastlini (Hirel in sod., 2001).

Sposobnost rastline za sprejem dušika iz tal je odvisen od tipa tal, okolja in rastlinske vrste. Približno 50-70 % dušika, ki ga damo v zemljo, je izgubljenega, zato je mnogo raziskav usmerjenih v povečanje NUE pri rastlinah, saj bi s tem zmanjšali možnost spiranja nitrata in onesnaženja okolja ter podtalne vode. Za doseganje produktivnega in trajnostnega kmetijstva je zelo pomembno, da pri rastlinah izboljšamo indeks dušikove učinkovitosti in omejimo vnos dušikovih gnojil (Masclaux-Daubresse in sod., 2010).

Izboljšanje izrabe dušika v rastlinah so proučevali tudi na genetskem nivoju, zato so najprej locirali gene, za katere so predvidevali, da so odgovorni za NUE, in jih nato modificirali ter preizkušali njihov vpliv na vsebnost dušika v rastlinah in na pridelek (Masclaux-Daubresse in sod., 2010).

2.2 NITRAT

2.2.1 Fiziološka vloga nitrata v rastlini

Po sprejemu v rastlino se nitrat v rastlini premika s transpiracijskim tokom po ksilemu do rastnega vršička, le pri nekaterih rastlinah se nitrat vgradi v organsko spojino že v koreninah. V celicah se nitrat porazdeli na dva dela: prvi je »metaboličen del« in se nahaja na sredini citoplazme, drugi pa je »skladišni del«, ki ima vlogo kopičenja rezervnih snovi in se nahaja v vakuoli. Metabolični del nitrata je vgrajen v proteine. Koncentracija nitrata je na »metaboličnem delu« nizka, če ga primerjamo z večjo koncentracijo v »skladiščnem delu«. Nakopičeni nitrati v »skladiščnem delu« rastlini ni takoj razpoložljiv. Študije sledenja nitrata po rastlini z izotopom ^{15}N so pokazale, da rastline najprej uporabijo nitrat, ki ga na novo sprejmejo iz okolice kot tistega, ki je uskladiščen v vakuoli (Blom-Zandstra, 1989).

2.2.2 Toksičnost nitrata

Prisotnost nitrata v zelenjavi, vodi in drugih živilih je resna grožnja človekovemu zdravju. Nitrat sam po sebi ni strupen, toda približno 5% vsega nitrata, ki ga zaužijemo, se v prebavnem traktu (slini in želodcu) pretvori v nitrit, ki je strupen. Nitrit in dušikove nitrozospojine, ki nastanejo z vezavo nitrita na različne snovi, npr. amine, ki nastanejo iz beljakovin, so toksični in lahko vodijo v človeškem organizmu do resnih bolezenskih obolenj (Santamaria, 2006).

2.2.2.1 Metemoglobinemija

Najbolj znano škodljivo delovanje nitrita je njegova sposobnost reagiranja s hemoglobinom, kjer nastane methemoglobin, ki ima močno zmanjšano sposobnost prenosa kisika po telesu.

Bolezensko stanje imenujemo metemoglobinemija in je zelo nevarna pri dojenčkih, kjer lahko povzroči tudi smrt. Metemoglobinemija se pojavlja tudi pri ljudeh nad 45 let starosti, kjer lahko povzroči srčno aritmijo, težave z ožiljem in progresivne učinke na centralnem živčnem sistemu (Anjana in sod., 2007).

Preglednica 1: Znaki in simptomi metemoglobinemije (Anjana in sod., 2007)

Koncentracija methemoglobina (%)	Medicinski izsledki
10–20	Osrednja modrikavost/ vijoličnost okončin/ trupa; običajno asimptomatično
20–45	Depresija centralnega živčnega sistema (glavobol, omotica, utrujenost, lenobnost, izguba zavesti), težko dihanje
45–55	Koma, aritmija, šok, mišični krči
Do 70	Visoko tveganje smrti

2.2.2.2 Toksičnost nitrozaminov

Dušikove nitrozo spojine so dokazano rakotvorne pri več kot štiridesetih testiranih živalskih vrstah med katerimi so sesalci, ptiči, plazilci in ribe ter tudi pri ljudeh. Endogeno oblikovani prosti radikali dušika in kisika naj bi bili vzročno povezani z nastankom raka pri ljudeh. Avtorji poročajo o povečanem tveganju raka na sečnem mehurju, požiralniku, nosnem delu žrela in prostati zaradi visokega uživanja nitratov z rastlinami. Ostali zdravstveni problemi povezani s škodljivostjo nitrata vključujejo ustnega raka, rak debelega črevesa, danke in ostalih prebavnih področij, Alzheimerjevo bolezen, žilno demenco ali več manjših vrst kapi, multiplo sklerozo, spontan s plav ali prirojene napake (Anjana in sod., 2007).

2.2.3 Pozitivni učinki nitrata na človeški organizem

Rezultati nekaterih raziskavah pa kažejo, naj bi bil nitrat neškodljiv, oziroma celo koristen za človeški organizem. Skupina raziskovalcev Dykhuizen in sod. (1996) ugotavljajo, da naj bi bil nitrat koristno hranilo. Bjorne in sod. (2004) so ugotovili, da naj bi imel nitrat zaščitno funkcijo v želodcu, saj naj bi se nitrat iz živila spremenil v nitrit s pomočjo simbiotičnim bakterij, ki se nahajajo na površini jezika gostitelja (človeka) in omogočajo redukcijo nitrata v nitrit. To simbiotsko razmerje zagotavlja po eni strani zaščito gostitelja pred patogenimi mikroorganizmi v ustih in prebavnem traktu. Gostitelj pa zagotavlja nitrat, ki je pomembno hranilo za veliko aerobnih bakterij. V zameno bakterije pomagajo gostitelju z ustvarjanjem nitrita, ki ga telo potrebuje za proizvodnjo nitritnega oksida v želodcu. Visoka koncentracija nitrata prisotnega v slini lahko ob zakisevanju proizvede nitritov oksid v želodcu. Iz nitrita izhajajoč oksid in z njim povezane spojine imajo pomembno vlogo pri obrambi in krepitvi želodca pred zaužitimi patogeni (Anjana in sod., 2007).

Ugodni vplivi nitrata na človeški organizem vključujejo tudi nižanje visokega krvnega tlaka in bolezni srca in ožilja. Različne učinke nitrata na človeško telo sta podrobno proučila L'hirondel in L'hirondel (2002) v svoji knjigi »Nitrat in človek: strupen, neškodljiv ali koristen?« (Anjana in sod., 2007).

Literatura navaja nasprotno učinke nitrata na človeka, tako pozitivne kot negativne, zato je potrebno, da smiselno in premišljeno upoštevamo preventivne ukrepe za znižanje kopičenja nitrata v rastlinah in njegovo poznejše uživanje s hrano (Anjana in sod., 2007).

2.2.4 Nitrat v rastlinah

Sprejem nitrata v rastline se spreminja iz leta v leto, glede na letni čas (pomlad, jesen, zima, poletje), razlikuje se tudi med samimi rastlinskimi vrstami. V primeru, da so tla dobro založena z dušikom, je sprejem dušika v rastline v veliki meri odvisen od stopnje prirasta pridelka. Naraščanje vsebnosti dušika v pridelku in mase pridelka ni linearno, ampak se zaradi naraščanja mase pridelka dodaten sprejem dušika zmanjšuje na enoto prirasta biomase.

Kritična koncentracija dušika v rastlinah je definirana kot minimalna koncentracija dušika v pridelku, ki je potrebna za doseganje maksimalne stopnje rasti pridelka. Kritična koncentracija dušika je pomembna predvsem zato, da med rastjo ocenimo, kako prehranjene so rastline. Razlika med dejansko koncentracijo dušika in odgovarjajočo kritično koncentracijo, pri isti biomasi, kaže na pomanjkanje ali pa presežek dušika, kar se vidi v pridelku (Gastal in Lemaire, 2002).

2.3 ZAKONODAJA

2.3.1 Dopustni dnevni vnos (ADI –Acceptable Daily Intake) nitrata

Koncept dopustnega dnevnega vnosa (ADI) je definiran pri Odboru za prehrano in kmetijstvo (JECFA), Organizacije združenih narodov in Svetovne zdravstvene organizacije (WHO) za snovi, ki so dodane k hrani ali pa za ostanke strupov, ki so v zemlji (pesticidi, herbicidi in ostanki gnojil). ADI predstavlja količino snovi, ki bi jo človek smel vse življenje zaužiti vsak dan, ne da bi s tem ogrozil svoje življenje. JECFA in Zdravstveni odbor za hrano (SCF) sta postavili omejitev za ADI za nitrat in sicer 0-3,7 mg/kg telesne teže. Ameriška agencija za zaščito okolja (EPA) je postavila Referenčne vrednosti (RfD) za nitrat - 1,6 mg nitratnega dušika (NO₃-N)/kg telesne teže na dan (ustreza 7,0 mgNO₃/kg telesne teže na dan) (Santamaria, 2006).

V preglednici 2 so predstavljene vrednosti za dopustni dnevni vnos (ADI) in za referenčne vrednosti (RfD) za nitrat in nitrit ki so jih postavili JECFA in EPA (Santamaria, 2006).

Preglednica 2: JECFA, SCF in EPA so postavile vrednosti za ADI in RfD (Santamaria, 2006)

ADI (JECFA in SCF)	RfD (EPA)	ADI (JECFA)	ADI (SCF)	RfD (EPA)
0-3,7 mg/kg telesne teže	1,6 mg NO ₃ -N/kg telesne teže na dan (ustreza 7,0 mgNO ₃ /kg telesne teže na dan)	0-0,07 mgNO ₂ /kg telesne teže	0-0,06 mgNO ₂ /kg telesne teže	0,1 mg NO ₂ -N / kg telesne teže na dan (to pa ustreza vrednosti 0,33 mgNO ₂ /kg telesne teže na dan)

2.3.2 Vir nitrata v prehrani človeka

Človeku predstavljajo glavni vir nitrata zelenjava, voda in predelano meso. Z zelenjavo dobimo od 300-940 mg/g dnevnega prehranskega vnosa (Preglednici 3 in 4). Nitrit najdemo v hrani rastlinskega izvora, in sicer v povprečju 1-2 mgNO₂/kg sveže mase zelenjave. Krompir lahko vsebuje do 60 mgNO₂/kg sveže mase. Večjo vsebnost nitritov lahko zasledimo v kontaminirani hrani ali pa v uničenem, poškodovanem tkivu rastlinske hrane, če zelenjavo skladiščimo več dni pri sobni temperaturi (Santamaria, 2006).

Preglednica 3: Ocenjene vsebnosti vnesenega NO₃ iz različnih virov (Santamaria, 2006)

Regionalna prehrana v /na	Vnosi (mg/dan)	ADI ^a (g/kg)	Prispevek k skupnemu vnosu (g/kg)			
			Zelenjava	Voda	Žita	Sadje
Srednji Vzhod	40	200	650	200	100	50
Daljni Vzhod	28	100	450	300	150	100
Afrika	20	100	300	400	150	100
Latinska Amerika	55	250	650	150	50	100
Evropa	155	700	900	50	<50	50

^a temelji na 60 kg telesne teže

Ob upoštevanju trenutnih vrednosti za ADI lahko z zaužitjem 100 g sveže zelenjave z koncentracijo nitrata 2500 mg/kg vnesemo v telo 250 mg NO₃. Če bi pojedli samo to, kar smo navedli in predpostavljamo, da je oseba težka 60 kg, bi ADI za nitrat presegli za 13%. Glede na to, da se 5% nitrata pretvori v nitrit, bi po SCF-ju ADI- za nitrit (0,06 mg/kg telesne teže) presegli za 247% (Santamaria, 2006).

Preglednica 4: Ocena dnevnega vnosa nitratov (pitna voda ni vključena) in prispevek zelenjave k dnevnemu vnosu nitrata v organizem, v različnih državah (Santamaria, 2006)

Država	NO ₃ (mg na osebo)	Prispevek zelenjave (g/kg)
Belgija	148 ^a	93
Evropska unija	18-131 ^b	100
Finska	77	92
Francija	121	85
Nemčija	68	72
Italija	149	90
Poljska	65-85	NZ
Španija	60	NZ
Švedska	50	NZ
Nizozemska	52	NZ
UK	95	94
USA	73	90

^a Vključuje samo zelenjavo in sadje, ^b Vključuje samo zelenjavo, ^c Ni zaznavno

Preglednica 5: Poraba hrane in dnevni vnos nitratov v nekaterih državah Evropske Unije (Santamaria, 2006)

	Država	Poraba nitratov (g/ osebo)	Povprečna koncentracija (mg/kg sveže snovi)	NO ₃ vnos (mg/osebo)	Prispevek nitratnega vnosa (g/kg)
Zelenjava (brez krompirja)	Nemčija	73	721	52,6	564
	Danska	114	440	50,2	697
	Nizozemska	150	800	120,0	857
	UK	162	136	22,0	393

2.3.3 Vsebnost nitrata v zelenjadnicah

Da bi zavarovali zdravje ljudi so države članice EU v sodelovanju z Znanstvenim komitejem za prehrano (SCF) leta 1997 podpisale Uredbo Evropske skupnosti, ki določa zgornje meje nitratov v špinaci in solati (Predpis evropske komisije (194/97)). Glavni namen tega predpisa je bila uskladitev zgornje meje dovoljene količine nitratov v zelenjavi, saj so bile omejitve nitrata v zelenjavi po različnih državah različne in je to povzročalo težave pri mednarodnem prometu z zelenjavo. Uredba je bila 2. aprila 2002 dopolnjena z amandmajem (EC Regulation No. 563/2002), ki velja še danes (Santamaria, 2006).

Zgornje meje vsebnosti nitratov v zelenjadnicah so prikazane v preglednici 6.

Preglednica 6: Maksimalno dovoljena vsebnost nitrata (mg/kg sveže mase) v zeleni solati in špinači v skladu z Uredbo Evropske komisije, 563/2002, (Santamaria, 2006)

Živila	Mejne vrednosti (mgNO ₃ /kg sveže mase)	
Sveža špinača ^a (<i>Spinacia oleracea</i> Lđ.)	Pridelana od 1. oktobra do 31. marca	3000
	Pridelana od 1. aprila do 30. septembra	2500
Konzervirana, globoko zamrznjena ali zamrznjena špinača		2000
Sveža zelena solata (<i>Lactuca sativa</i> L.), gojena v rastlinjaku ali na prostem	Pridelana od 1. oktobra do 31. marca	
	Zelena solata, gojena v rastlinjaku	4500
	Zelena solata, gojena na prostem	4000
	Pridelana od 1. aprila do 30. septembra	
	Zelena solata, gojena v rastlinjaku	3500
	Zelena solata, gojena na prostem	2500
Vrsta zelene solate »ledenka«	Zelena solata, gojena v rastlinjaku	2500
	Zelena solata, gojena na prostem	2000

^a Mejne vrednosti se ne uporabljajo za svežo špinačo, ki je namenjena predelavi in se neposredno prevaža v razsutem tovoru s polja v predelovalni obrat.

Dovoljene zgornje meje vsebnosti nitrata se spreminjajo sezonsko, višji nivo nitratov je dovoljen v rastlinah, ki rastejo pozimi (pri zmanjšani jakosti osvetlitve) v primerjavi s tistimi, ki rastejo poleti (močnejša osvetlitev). Nižje vsebnosti so določene za solato pridelano na prostem v primerjavi s tisto, ki raste v rastlinjaku (manjša osvetlitev). Določitev zgornjih meja vsebnosti nitratov v zelenjavi velja le za nekatere države (Preglednica 7). Krompir so različne države predlagale kot nek vodič za koncentracijo nitratov (v Nemčiji samo gomolji lahko vsebujejo do 200 mg nitrata/kg sveže snovi), medtem ko je na Poljskem maksimalna vrednost 183 mg nitrata/kg sveže snovi. Rukola in druge Italijanske izvozne vrste zelenjave vsebujejo zelo natančne omejitve, npr. za Švico in Nemčijo, namreč zahtevano je, da vsebnost nitratov ne presega 2500-4000 mg/kg sveže snovi, kar je vrednost, ki jo je v jesensko zimskem času zelo težko doseči, zaradi močnega kopičenja nitrata v rukvici. ZDA ni uzakonila standardov za vsebnost nitratov v zelenjavi. Na Kitajskem pa je priporočen maksimalen nivo nitratov 3100 mg/kg. 7. aprila 2004 je Evropska komisija postavila maksimalne dovoljene nivoje nitratov v otroški hrani ter za predelano hrano na osnovi žit za dojenčke in majhne otrok, na 200 mg/kg gotovega produkta (Santamaria, 2006).

Preglednica 7: Maksimalne dovoljene vrednosti za NO₃ (mg/kg sveže teže) v tržnem pridelku nekaterih vrst zelenjadnic v nekaterih Evropskih državah (Santamaria, 2006)

Zelenjava	Avstrija	Belgija	Nemčija	Nizozemska	Švica
Korenček	1500				
Rdeča pesa	4500		3000	3500	3500
Endivija (zimsko)	2500	2000		2500	2500
Endivija (poletna)	3500	2000		3500	2500
Zelje	1500				
Radič					3500
Zelena (gomoljčna)		5000			
Zelena (belušna)		4000			
Motovilec		3500	2500		

2.4 RAZPOREDITEV NITRATA V LISTIH RASTLINSKE ODEJE

Razporeditev dušika v listih rastlinske odeje ni enakomerna, saj svetloba ne doseže vseh listov enako, spodnji listi so manj osvetljeni kot zgornji, poleg tega ima pomemben vpliv tudi starost listov. Različni listi se lahko v rastlinski odeji razvijajo v različnih rastnih razmerah tudi zaradi močnega nihanja razpoložljivega dušika v tleh. V listih rastlinske odeje prihaja nenehno do strukturnega in funkcionalnega prilagajanja fotosintetskega aparata različnim svetlobnim razmeram v obdobju rasti. Kot rezultat prilagajanja svetlobi, ko se intenziteta svetlobe spreminja glede na pozicijo listov ali pa mi umetno spreminjamo svetlobne razmere, imajo horizontalni listi večjo vsebnost dušika, kot pa vertikalni listi. Starost listov in ponovna remobilizacija dušika v listu pomembno vplivajo na prilagoditev rastlin svetlobnim razmeram (Gastal in Lemaire, 2002)

2.5 DEJAVNIKI, KI VPLIVAJO NA VSEBNOST NITRATOV V ZELENJAVI

Na koncentracijo nitrata v listih zelenjadnic vplivajo različni dejavniki – genetski in okoljski (vlaga v zraku, zaloga vode v tleh, temperatura, osvetlitev, dolžina dneva), kakor tudi agrotehnični ukrepi, kot je količina dušika in oblike dušika v gnojilih, dostopnost drugi hranil, uporaba herbicidov,... Od naštetih dejavnikov imata gnojenje z dušikom in jakost svetlobe najmočnejši vpliv. Do kopičenja nitrata pride pri različnih vrstah zelenjadnic iz družin križnic (rukvica, kitajski kapus, gorčica), metlikovk (rdeča pesa, blitva, špinača), ščirovk, pa tudi radičevk (zelena solata) in kobulnic (zelena, peteršilj) (Santamaria, 2006) (Preglednica 8).

Vsebnost nitratov se lahko spreminja tudi znotraj posamezne vrste glede na različen genotip. Vsebnost nitratov se razlikuje tudi v različnih delih posamezne rastline. Razporeditev organov glede na vsebnost nakopičenega nitrata (od najvišje do najnižje): listni pecelj > list > steblo, deblo > korenina > socvetje > gomolj > čebulica > plod > seme. Največ nitrata kopiči rukvica – to je listna zelenjava, ki je izredno popularna v Mediteranski regiji in spada v družino križnic (Santamaria, 2006).

Pridelava listnate zelenjave v hidroponskih sistemih ima prednost pred gojenjem v tleh predvsem zaradi možnosti uravnavanja in nadzorovanja hranil v hranilni raztopini glede na razvojne faze rastline. Z manjšanjem količine dušika v hranilni raztopini lahko pridelamo kakovosten pridelek listnate zelenjave z nizko vsebnostjo nitratov (Nicola in sod., 2005; Fontana in sod., 2004)

Preglednica 8: Klasifikacija zelenjave glede na vsebnost nitratov (mg/kg sveže snovi) (Santamaria, 2006)

Vsebnost nitratov v sveži zelenjavi (mg/kg sveže mase)				
Zelo nizko (<200)	Nizko (200-500)	Srednje (500-1000)	Visoko (1000-2500)	Zelo visoko (>2500)
Artičoke	Brokoli	Zelje	Gomoljčna zelena	Zelena
Beluši	Korenček	Koper	Kitajsko zelje	Krebuljica
Bob	Cvetača	Ohrovt	Endivija	Lambs solata
Jajčevci	Kumara	Repa	Koromač	Zelena solata
Česen	Buča		Por	Radič
Čebula	Radič		Peteršilj	Rdeča pesa
Zelen fižol				Rukola
Melona				Špinača
Gobe				Blitva
Grah				
Poper				
Krompir				
Sladki krompir				
Paradižnik				
Lubenica				

2.5.1 Vpliv tehnologije gojenja na vsebnost nitratov v pridelku zelenjadnic

Na vsebnost nitratov v listnati zelenjavi lahko vplivamo tudi s tehnologijo pridelovanja (Blom-Zandstra, 1989; Gastal in Lemaire, 2002; Masclaux-Daubresse in sod., 2010).

Ugotovljeno je bilo, da je pri hidroponskem gojenju vrtnin sprejem NO_3^- in NH_4^+ odvisen od koncentracije in razmerja med NO_3^- in NH_4^+ v hranilni raztopini in da lahko z uravnavanjem le-tega nadzorujemo vstop dušikovih ionov v rastlino. Kajti ko rastlini zmanjšamo dovod dušika iz hranilne raztopine, rastline za sintezo proteinov koristijo dušik, ki je nakopičen v vakuoli in vsebnost nakopičenega dušika v rastlini se tako zmanjšuje. To dejstvo uporabljajo pri zmanjševanju vsebnosti nitrata v listnati zelenjavi, ki jo pridelujejo na plavajočih sistemih, kjer nekaj dni pred pobiranjem pridelka zmanjšajo količino dušika v hranilni raztopini na minimum in s tem prisilijo rastline, da za presnovne procese uporabijo nakopičen nitrat v vakuoli. S tem se zmanjša vsebnost nitrata, količina pridelka pa pri tem ni zmanjšana. Drug način zmanjševanja nakopičenih nitratov je zamenjava nitrata v hranilni raztopini z enim od naslednjih ionov: s kloridnimi, sulfatnimi ali amonijevimi ioni, ki podobno kot nitrat v vakuoli opravljajo nalogo ozmotika (Santamaria, 1998, 2001).

Pri gojenju v tleh pa lahko na vsebnost nitratov v rastlinah vplivamo predvsem z zmanjševanjem vnosa dušikovih gnojil. Vendar pa obstaja nevarnost, da s tem ukrepom vplivamo tudi na zmanjšanje količine pridelka. Zato so razvili številne praktične modele za naravi prijazno gnojenje z dušikom, s katerimi lahko izračunamo količino neto sprejetega dušika in količino potrebnega dušika za asimilacijo (vgradnjo v organske spojine) (Scaife, 1989). Model omogoča zelo natančno uravnavanje dotoka dušika k rastlinam, glede na jakost osvetlitve. Problem modelov je v učinkovitosti njihove uporabe na terenu, saj se pedoekološke razmere na polju/njivi nenehno spreminjajo, kar neposredno vpliva tudi na mineralizacijo organske snovi v tleh in s tem na dostopnost dušika za rastline.

V zadnjem času so v Evropi razvili model EU-Rotate_N, ki upošteva ekonomski in okoljski vidik pri gnojenju z dušikom v kolobarju tako pri konvencionalni, kakor tudi pri ekološki pridelavi različnih vrst kmetijskih rastlin (Rahn in sod., 2008). Model za izračun potrebnih količin dušika upošteva globino korenin gojene rastline, mineralizacijo in sproščanje dušika iz tal in organske snovi ter rastlinskih ostankov, učinek zmrzali in gibanje vode v tleh. Model omogoča primerjavo relativnih učinkov različnih kolobarjev in sistemov gnojenja na količino pridelka in izgube dušika s spiranjem. Uporaba modela je namenjena izboljšanju učinkovitosti gnojenja z dušikom v zelenjadarskem kolobarju, ki je usklajeno vsaj z načeli dobre kmetijske prakse, širom po Evropi.

2.5.2 Vpliv okoljskih dejavnikov

Kopičenje nitratov v rastlinah je močno odvisno od različnih okoljskih dejavnikov, predvsem svetlobe in toplote. Santamaria in sod. (2001) so proučevali vpliv osvetlitve, temperature in dostopnosti dušika na količino nitrata v listih rukvice in ugotovili, da je pri zmanjšani jakosti osvetlitve in povečani temperaturi, vsebnost nitrata narasla. Ko pa so jakost osvetlitve povečali, se je pri povečani temperaturi vsebnost nitrata povečala le pri večjem odmerku dušika.

Na vsebnost nitrata v listnatih zelenjadnicah lahko vplivamo tudi z dosvetljevanjem rastlin v zimskem času. Tako so Chadjaa in sod. (2001) pri dosvetljevanju solate z natrijevimi visokotlačnimi lučmi dosegli večjo aktivnost nitrata reduktaze in s tem zmanjšanje količine nitrata v listih solate glede na rastline, ki niso bile dosvetljevane.

Grzebelius in Baranski (2001) sta ugotovila, da ima na vsebnost nitrata v listih zelenjadnic velik vpliv tudi vlaga oz. količina padavin v letu. V letih z večjo količino padavin so imele zelenjadnice manj nakopičenega nitrata kot v sušnih in toplih letih, kjer se je zaradi intenzivne mineralizacije sprostilo več rastlinam dostopnega dušika. Custic in sod. (2001) so ugotovili, da imajo vremenske razmere značilno večji vpliv na vsebnost nitratov v listnati zelenjavi kot količina in oblika dušika v dodanem gnojilu. Nitrati v rastlinah nihajo tudi glede na letni čas in jih je več v zelenjavi pridelani v jesensko zimskem času in manj v spomladi pridelanih vrtninah (Santamaria in sod., 2001; Gruda, 2005).

2.5.3 Vpliv genotipa na kopičenje nitrata v listnatih zelenjadnicah

Na kopičenje nitratov v rastlinah pomembno vpliva tudi genotipska variabilnost, tako med rastlinskimi vrstami, kot tudi med kultivarji iste vrste. Za kopičenje nitratov v rastnem vršičku je ugotovljeno, da je le-ta genetsko nadzorovana z več geni (QTL). V rastlinah je genetsko pogojeno delovanje encimov, ki sodelujejo pri presnovi nitrata v rastlinah (nitrata in nitrata reduktaze), aktivnost sprejema dušika in ostalih elementov, pomembnih pri presnovi dušika, kakor tudi razlike v nastajanju snovi (donorji elektronov), ki sodelujejo pri presnovi in vgradnji dušika v organske spojine (Harrison in sod., 2004).

V rastlinah je kopičenje nitratov obratno sorazmerno z vsebnostjo sladkorjev in suhe snovi. Tisti kultivarji, ki vsebujejo večji delež suhe snovi in sladkorja, lahko nakopičijo večjo količino ogljikovih hidratov v vakuoli, in zato nimajo velikih potreb po nitratu kot osmotiku (Anjana in sod., 2007).

3 SKLEPI

Zelenjava je glavni vir vnosa prehranskega nitrata pri ljudeh, nitrat pa v človeškem telesu deluje na različne načine, toksično – zaradi pretvorbe v nitrit in tvorbe nitrozaminov in koristno – varuje prebavni trakt pred patogenimi mikrobi. Prav zaradi pozitivnega in negativnega vpliva na človekovo zdravje je potrebno, da poudarimo nekatere ukrepe za zmanjšanje nitrata v listnati zelenjavi. Ti naj bi obsegali:

- Uravnotežen program gnojenja, ki bi zagotavljal količinsko zadosten pridelek. Hkrati pa mora biti dodajanje in sproščanje hranil usklajeno s potrebami rastlin, kar je eden od velikih izzivov za nadaljnje agronomske raziskave;
- Pri gojenju rastlin na hidroponskih sistemih naj bi nekaj dni pred pobiranjem pridelka del nitrata v hranilni raztopini zamenjali z drugimi hranili kot so amonij, urea, klorid, ali sulfat;
- Gojenje kultivarjev, ki so selekcionirani na manjše kopičenje nitrata;
- Proučiti bi bilo potrebno fiziološke mehanizme v rastlinah, ki so neposredno vključeni v kopičenje nitrata, predvsem v listnati zelenjavi.

S pridobljenim znanjem o zmanjševanju vsebnosti nitrata v pridelkih vrtnin bi bilo potrebno seznaniti neposredne kmetijske pridelovalce in jim predstaviti z zdravstvenega stališča pomen prekomernega kopičenja nitrata v pridelkih. Prav tako bi morali biti s pomembnostjo vsebnosti nitratov v listnati zelenjavi in z rezultati tovrstnih raziskav seznanjeni oblikovalci dobrih kmetijskih praks, ki bi se morali pri svojem delu zavedati pomena nitrata za človekovo zdravje, kakor tudi njegove vloge pri obremenitvi okolja z dušikom.

K zmanjšanjem vnosa nitrata v človeški organizem pa pripomore lahko tudi potrošnik sam, če je dobro poučen s pomenom vsebnosti nitrata v zelenjavi in njegovim pozitivnim/negativnim delovanjem na človeški organizem. Hkrati pa lahko potrošnik sam zmanjša vnos nitrata v človeški organizem, če upošteva nekatera načela, kot je npr. pobiranje pridelka opoldne (ko je koncentracija nitrata v listih najmanjša); odstranjevanje delov rastlin, kjer se nitrati najbolj kopičijo (listni peclji); uporaba sveže - sezonske zelenjave.

Za doseganje količinsko in kakovostno zadovoljivih pridelkov listnate zelenjave z manjšo vsebnostjo nitratov in posledično manjšega vnosa nitratov iz rastlinske hrane v človeški organizem je potrebno sodelovanje tako agronomskih tehnologov, fiziologov, molekularnih biologov, kakor tudi pridelovalcev vrtnin in potrošnikov.

4 VIRI

- Anjana A., Umar S., Iqbal M. 2007. Nitrate accumulation in plants. Factors affecting the process, and human health implication. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 27: 45-53
- Bjorne H., Petersson J., Phillipson M., Weitzberg E., Holm L., Lundberg J.O. 2004. Nitrate in saliva increases gastric mucosal blood flow and mucus thickness. *Journal of Clinical Investigation*, 113: 106-114
- Blom-Zandstra M. 1989. Nitrate accumulation in vegetables and its relationship to quality. *Annals of Applied Biology*, 115: 553-561
- Chadjaa H., Vezina L.P., Dorais M., Gosselin A. 2001. Effects of lighting on the growth, quality and primary nitrogen assimilation of greenhouse lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Acta Horticulturae*, 559: 325-331
- Custic M., Poljak M., Coga L., Cosic T., Roth N., Pecina M. 2003. The influence of organic and mineral fertilization on nutrient status, nitrate accumulation and yield of head chichory. *Plant Soil and Environment*, 49: 218-222
- Dykhuisen R., Frazer R., Duncan C., Smith C.C. Golden M., Benjamin N., Leifert C. 1997. Antimicrobial effect of acidified nitrite on gut pathogens: importance of dietary nitrate in host defence. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 40: 1422-1425
- Fontana E., Nicola S., Hoeberechts J., Saglietti D., Piovano G. 2004. Managing Traditional and Soilless culture systems to produce corn salad (*Valerianella olitoria*) with low nitrate content and lasting postharvest shelf-life. *Acta Horticulturae*, 659: 763-768
- Gastal F., Lemaire G. 2002. N uptake and distribution in crops: an agronomical and ecophysiological perspective. *Journal of Experimental Botany*, 370, 53: 789-799
- Gruda N. 2005. Impact of environmental factors on product quality of greenhouse vegetables for fresh consumption. *Critical Review in Plant Science*, 24: 227-247
- Grzebelus D., Baranski R. 2001. Identification of accessions showing low nitrate accumulation in a germ plasm collection of garden beet. *Acta Horticulturae*, 563: 253-255
- Harrison J., Hirel B., Limani A.M. 2004. Variation in nitrate uptake and assimilation between two ecotypes of *Lotus japonicas* and their recombinant inbred lines. *Physiologia Plantarum*, 120: 124-131
- Hirel B., Bertin P., Quillere I. 2001. Towards a better understanding of the genetic and physiological basis for nitrogen use efficiency in maize. *Plant Physiology*, 125: 1258-1270

- Masclaux-Daubresse C., Daniel-Vedele F., Dechorgnat J., Chardon F., Gaufichon L., Suzuki A. 2010. Nitrogen uptake, assimilation and remobilization in plants: challenges for sustainable and productive agriculture. *Annals of Botany*, 105, 7: 1141-1157
- Leskošek M., 1993. Gnojenje: za velik in kakovosten pridelek, za izboljšanje rodovitnosti tal, za varovanje narave. Ljubljana, Kmečki glas: 197 str.
- Lešić R., Borošić J., Buturac I., Čustić-Herak M., Poljak M., Romić D. 2004. Povrčarstvo. Čakovec, Zrinski d.d.: 656 str.
- Nicola A., Hoeberechts J., Fontana E. 2005. Comparison between traditional and soilless culture systems to produce rocket (*Eruca sativa*) with low nitrate content. *Acta Horticulturae*, 697: 549-555
- Rahn R.C., Zhang K., Lillywhite R.M., Ramos C., Doltra J., de Paz J.M., Riley H., Fink M., Nendel C., Thorup-Kristensen K., Pedersen A., Piro F., Venezia A., Firth C., Schmutz U., Rayns F., Strohmeyer K. 2008. The development of the EU –rotate_ N model and its use to test strategies for nitrogen use across Europe. *Acta Horticulturae*, 852: 135-141
- Santamaria P. 2006. Nitrate in vegetables: toxicity, content, intake and EC regulation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86: 10-17
- Santamaria P., Elia A., Parente A., Serio F. 1998. Fertilization strategies for lowering nitrate content in leafy vegetables: Chichory and rocket. *Journal of Plant Nutrition*, 21: 1791-1803
- Santamaria P., Elia A., Gonella M., Parente A., Serio F. 2001. Ways of reducing rocket salad nitrate content. *Acta Horticulturae*, 548: 529-637
- Scaife A. 1989. A pump/leak/buffer model for plant nitrate uptake. *Plant and Soil*, 114: 139-141
- Vodnik D. 2012. Osnove fiziologije rastlin. Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo: 141 str.

ZAHVALA

Za nesebično pomoč in nasvete pri izdelavi diplomskega projekta se zahvaljujem mentorici doc. dr. Nini Kacjan Maršič.

Za pomoč in pregled diplomskega projekta se zahvaljujem doc. dr. Roku Miheliču.

Zahvaljujem se tudi staršem za njihovo podporo pri študiju ter sestrama in fantu za vsako tehnično pomoč.

Za pomoč pri prevajanju tujih člankov pa bi se iskreno zahvalila g. Jazbecu Petru.