

Avtorji prispevka:

Alenka Hmelak Gorenjak, IC Piramida Maribor, Slovenija, alenka_hg@yahoo.com

Urška Rižman Kolečnik, KGZS Zavod Maribor, Slovenija, urska.rizman@kmetijski-zavod.si

Tomaž Langerholc, Univerza v Mariboru, Fakulteta za kmetijstvo in biosistemske vede, Maribor, Slovenija, tomaz.langerholc@uni-mb.si

Avrelija Cencič, Univerza v Mariboru, Fakulteta za kmetijstvo in biosistemske vede/Medicinska fakulteta, Maribor, Slovenija avrelija.cencic@uni-mb.si

Ocena vnosa nitratov z uživanjem solate (*Lactuca sativa*) v različnem letnem času

Izvleček

Intenziven način kmetovanja je prispeval k povečani akumulaciji nitratov v pridelkih. Nitratni ion ima nizko stopnjo akutne toksičnosti. Zdravstveni problem vnosa nitratov predstavlja transformacija nitrata do nitrita, ki se lahko v človeškem organizmu pretvori do nitrozirajočih agensov; ti s sekundarnimi amini tvorijo kancerogene nitrozamine. Visok vnos nitratov je povezan s tveganjem gastrointestinalnega raka. Leta 1995 določen sprejemljiv dnevni vnos nitrata je v naši prehrani pogostokrat presežen. Z zelenjavo zaužijemo od 70 do 80 % vsega nitrata. Najvišje koncentracije nitratov so bile določene v listnati zelenjavi – v solati in špinači. V raziskavi smo spremljali spreminjanje vsebnosti nitratov v zeleni solati (*Lactuca sativa*) na lokalnem tržišču v različnih letnih časih. Vsebnost nitratov smo določali z metodo segmentne analize konstantnega pretoka in z reverzno-fazno HPLC z UV detekcijo na 71 vzorcih zelene solate konvencionalne in ekološke pridelave. Ugotovljene so bile velike razlike glede vsebnosti nitratov v solati v različnih letnih časih in pri različni vrsti pridelave. Vsebnost nitratov v solati je znašala od 85 do 3.280 mg nitrata/kg. Dnevni vnos nitratov s 100 g solate lahko znaša manj kot 5 % in vse do 150 % sprejemljivega dnevnega vnosa. Nujna je večja osveščenost potrošnika o možnostih zmanjšanja vnosa nitratov v človeški organizem in upoštevanje načel dobre kmetijske prakse (GAP).

Ključne besede: nitrati, solata, *Lactuca sativa*, letni časi, vnos

Assessment of nitrate intake with lettuce consumption (*Lactuca sativa*) in different seasons

Abstract:

Intensive agriculture has contributed to the increased accumulation of nitrates in crops. Nitrate ion has a low acute toxicity. Health problem represents the transformation of nitrate to nitrite, which can be converted to nitrosating agents; with secondary amines these may form carcinogenic nitrosamines. A high nitrate intake is associated with risk for gastrointestinal cancer. The acceptable daily intake (ADI) for nitrate, established in 1995, is often exceeded in our diet. We may consume 70 – 80% of the nitrate intake by vegetables. The highest nitrate concentrations were determined in leafy vegetables, namely lettuce and spinach. In this study we followed changes in nitrate concentration in lettuce (*Lactuca sativa*) on local market in different seasons. Nitrate levels were determined using continuous flow analysis and reverse-phase HPLC with UV detection in 76 samples of conventionally and organically cultivated lettuce. A high variation in nitrate content in lettuce has been found according to different seasons and different types of cultivation. Nitrate content in lettuce ranged from 50 to 3250 mg/kg. Consumption of 200 g of lettuce may result in daily nitrate intake, ranging from less than 5% to 290 % of ADI. Therefore increased consumers' awareness of ways for nitrate intake reduction, as well as GAP (Good Agriculture Practice), is of great importance.

Keywords: Nitrate, *Lactuca sativa*, season, intake

1. Uvod

Nitrat je v naravi običajna oblika dušika. Najdemo ga v naravnih in umetnih gnojilih, razpadlih rastlinah in drugih organskih ostankih. Nahaja se v zraku, zemlji, vodi in hrani ter se tvori tudi v človeškem organizmu. Že več kot 5000 let se dodaja hrani kot konzervans za konzerviranje surovega in predelanega mesa, sira, rib in ribjih proizvodov, kljub temu kar 70 do 80 % celokupnega vnosa nitratov v človeški organizem predstavlja zelenjava (Gangolli et al., 1994). Listnata zelenjava je poznana z najvišjo vsebnostjo nitratov, vendar po poročanju Thomson et al., (2007) največ nitratov zaužijemo s krompirjem (32 %) in nekoliko manj s solato (29 %). Na območjih z visoko vsebnostjo nitratov v pitni vodi (nad 50 mg/L) predstavlja pitna voda najvišji vnos nitratov v človeški organizem (Walker, 1990).

1. 1 Vpliv na zdravje

Nitrat se v medicini povezuje tako s pozitivnim kot negativnim delovanjem na človeški organizem. Sam po sebi je relativno netoksičen (Mensinga et al., 2003), vendar se okoli 4 do 7 % zaužitega nitrata v ustni votlini pod vplivom anaerobnih bakterij reducira do mnogo bolj toksičnega nitrita (Gangolli et al., 1994, Thomson et al., 2007). Nitrit se v kislem mediju želodca pretvori do dušikove kisline in drugih nitrozirajočih agensov. Ti lahko reagirajo s sekundarnimi amini do nastanka kancerogenih nitrozaminov (Walker, 1990, Mensinga et al., 2003). Zelo znan negativen učinek nitrata na človeški organizem je tudi vezava nitrita na hemoglobin z nastankom methemoglobina, ki nima sposobnosti prenašanja kisika. Bolezen imenovana methemoglobinemija (blue baby syndrome) je nevarna predvsem pri otrocih mlajših od šestih mesecev. Klinični simptomi so cianoza, ki v hujših oblikah lahko privede tudi do smrti dojenčka (Walker, 1990).

Številni avtorji (Bryan, 2006, Lundberg et al., 2008, Hord, 2009) poročajo tudi o pozitivnih fizioloških učinkih metabolizma nitrata in nitrita, kot so: preventivno delovanje proti patogenim mikroorganizmom v želodcu, vazodilatacija, znižanje krvnega tlaka in podpiranje kardiovaskularnega delovanja.

1. 2 Zakonodaja in sprejemljiv dnevni vnos (ADI)

Vsebnost nitrata v zelenjavi je pomemben pokazatelj kakovosti zelenjave. V EU se je leta 1997 z direktivo CR (EC) No 194/97⁸ prvič omejila vsebnost nitratov v listnati zelenjavi - špinači in solati. Za solato je maksimalna zgornja meja nitratov odvisna od časa spravila in

vrste pridelave in znaša od 2000 mg/kg (za solato ledenko zrastle na prostem v poletnem času) do 7000 mg/kg (za rukolo v zimskem času) (glej tabelo 1).

Tabela 1: Mejne vrednosti nitratov v živilih

Živila	Mjerne vrednosti (mg NO ₃ /kg)	
sveža špinača (<i>Spinaciaoleracea</i>)		3 500
konzervirana, globoko zamrznjena ali zamrznjena špinača		2 000
sveža zelena solata, (<i>Lactuca sativa L.</i>) gojena v rastlinjaku in gojena na prostem, razen zelene solate vrste „ledenka“	pridelana od 1. 10. do 31. 3.	
	zelena solata, gojena v rastlinjaku	5 000
	zelena solata, gojena na prostem	4 000
	pridelana od 1. 4. do 30. 9.	
	solata, gojena v rastlinjaku	4 000
	zelena solata, gojena na prostem	3 000
vrsta zelene solate „ledenka“	zelena solata, gojena v rastlinjaku	2 500
	zelena solata, gojena na prostem	2 000
rukola (<i>Eruca sativa</i> , <i>Diplotaxis sp.</i> , <i>Brassica tenuifolia</i> , <i>Sisymbrium tenuifolium</i>)	pridelana od 1. 10. do 31. 3.	7 000
	pridelana od 1. 4. do 30. 9.	6 000
žitne kašice ter otroška hrana za dojenčke in majhne otroke		200

Vir: Uredba Komisije (EU) št. 1258/ 2011, 2011

Sprejemljiv dnevni vnos (ADI) za nitrat je od 0 do 3,7 mg nitrata/kgtelesne teže/dan, za 60 kg osebo bi to znašalo 222 mg nitrata/dan. Za nitrit znaša ADI od 0 do 0,07 mg nitrata/kg telesne teže/dan (EFSA, 2008) .

1.3 Akumulacija nitratov v zelenjavi in solati

Na vsebnost nitratov v zelenjavi vplivajo številni faktorji, ki jih lahko razdelimo v tri večje skupine: genetski, okoljski in kmetijski. Med pomembnejše faktorje vpliva akumulacije nitratov v zelenjavi spadajo letni čas, intenziteta svetlobe, temperatura, metode pridelave, uporaba gnojil in skladiščenje pridelka (Dich et al., 1996). Uporaba dušikovih gnojil in intenziteta svetlobe sta po navedbah Santamaria et al., (2006) najpomembnejša faktorja vpliva koncentracije nitratov v zelenjavi.

Vsebnosti nitratov v solati variirajo v zelo širokem razponu, odvisno od vrste solate in načina pridelave in lahko znašajo od 23 do 5800 mg nitrata/kg (EFSA, 2008). Na splošno velja, da vrste solat z odprtimi glavami akumulirajo višjo vsebnost nitratov kot solata s tesno rastočimi listi (npr. ledenka) (CR (EC) No 194/97⁸). Nadalje, solata pridelana na prostem vsebuje nižje koncentracije nitratov kot solata, pridelana v toplih gredah. Ysart et al. (1999) pojasnjuje dejstvo zaradi nižje intenzitete svetlobe pri pridelavi v toplih gredah in z različnimi vrstami solate: mehkolistne vrste se vzgajajo v glavnem na toplih gredah in so znane po višji akumulaciji nitratov, solate vrste ledenka (Iceberg) pa rastejo na prostem. Med vrstami solat, ki akumulirajo najvišje vsebnosti nitratov, sodita motovilec in rukola (EFSA, 2008). Regrat, znan v Sloveniji kot priljubljena pomladanska solata, spada s povprečno vsebnostjo nitratov 195 mg/kg med vrsto solat z nizko vsebnostjo nitratov (Hmelak Gorenjak et al., 2012).

Po priporočilih WHO bi moral jedilnik zdrave prehrane vsebovati 400 g zelenjave in sadja. Pri oceni dnevnega vnosa nitratov moramo upoštevati tako vrsto in količino zaužite zelenjave kot tudi sezonsko spreminjanje vsebnosti nitratov v določeni vrsti zelenjave. V članku podajamo rezultate spremljanja vsebnosti nitratov v mehkolistni in krhkolistni solati konvencionalne in ekološke pridelave in oceno vnosa nitratov s solato v različnem letnem obdobju. Rezultati raziskave imajo velik pomen za načrtovanje zdrave hrane, predvsem za skupine ljudi s povečanim rizikom gastrointestinalnega raka.

2. Material in metode dela

V zimskem in poletnem času leta 2010 in 2011 smo izvedli raziskavo o vsebnosti nitratov v vzorcih solate, odvzetih na različnih prodajnih mestih v Mariboru. V raziskavo je bilo zajetih 57 vzorcev solate konvencionalne pridelave in 14 vzorcev solate ekološke pridelave.

2.1 Priprava vzorcev

Vzorci solate (min 1 kg vsakega vzorca) smo takoj po zbiranju očistili, odstranili neužitne dele, oplaknili najprej pod tekočo vodo, potem še z destilirano vodo, posušili s papirnato brisačo, narezali na manjše koščke in takoj zamrznili na -20°C do priprave ekstraktov za analizo vsebnosti nitratov.

2.2 Priprava ekstraktov

10 g zamrznjenega vzorca smo dodali 90 mL vode in homogenizirali s sekljalnikom. Nato smo 10 mL homogenizata prenesli v 100 mL bučko, dodali 40 mL destilirane vode in segrevali na vodni kopeli na 70°C , 15 minut. Po ohlajitvi ekstrakta smo bučke dopolnili z destilirano vodo in filtrirali z uporabo filter papirja Whatman No. 40. Vsebnost nitratov smo določali z metodo segmentne analize konstantnega pretoka in z reverzno-fazno HPLC z UV detekcijo.

2.3 Metodo segmentne analize konstantnega pretoka

Koncentracija nitratov v ekstraktih se je določala z metodo segmentne analize konstantnega pretoka po standardnem protokolu (EN 12014-7 1998) z uporabo CF (continuous flow) analizatorja v KGZS Zavod Maribor, Pedološki laboratorij. Vsi reagenti so bili pripravljeni po priporočilih Alliance Instruments in so bili p. a. kvalitete. Uporabljena je bila ultra čista deionizirana voda TKA-GenPure. Vse raztopine so bile pripravljene po standardnem protokolu. Absorbanca je bila izmerjena na 520 nm, koncentracija nitrita/nitrata je bila določena iz umeritvene krivulje ($R > 0,9990$). Metoda je verificirana v okviru Wepal (Wageningen Evaluating Program for Analytical Laboratories).

2.4 Tekočinska kromatografija visoke ločljivosti (HPLC)

Del vzorcev se je analiziral s HPLC (Waters International, ZDA) na FKBV v Mariboru, Katedra za mikrobiologijo, biokemijo, molekularno biologijo in biotehnologijo. Ekstrakte smo analizirali s kolono Symmetry C18 ($3,5\ \mu\text{m}$ $4,6 \times 150\ \text{mm}$) in izokratsko mobilno fazo, ki je vsebovala 0,01 M oktilamin-ortofofosforno kislino v 30 % metanolu. Volumen injiciranja je bil 10 μL , pretok mobilne faze pa 0,5 mL/min. Nitrat smo detektirali z UV fotodiodnim detektorjem z merjenjem absorbance na valovni dolžini 213 nm. (metoda prirejena po Chou, 2003). Uporabljeni so bili reagenti p. a. kvalitete in ultra čista deionizirana voda. Standardi so bili pripravljeni v koncentracijskem območju od 0,5 do 50 $\mu\text{g/mL}$, koncentracija nitratov je bila odčitana iz umeritvene krivulje ($R > 0,9995$).

3 Rezultati

Vsebnosti nitratov v vzorcih solate odvzetih na različnih prodajnih mestih v Mariboru se gibljejo v širokem razponu in znašajo od 85 do 3276 mg/kg, s povprečno vrednostjo 1393 mg/kg, ki je za 30 % višja kot je poročal Sušin et al. (2006). Najvišje vsebnosti nitratov so bile določene v mesecu januarju, znašale so od 1705 do 3276 mg/kg. Aprila in maja so povprečne vsebnosti nitratov v solati padle na polovico. Najnižje vsebnosti nitratov pa so bile določene meseca julija z vrednostmi od 348 do 711 mg/kg, ki so bile kar za petino nižje od zimskih vrednosti (glej tabelo 2). O podobnih variacijah o vsebnosti nitratov v solati poročata tudi Petersen and Stoltz (1999) in EFSA (2008).

Tabela 2: Vsebnost nitratov (v mg/kg sveže solate) v vzorcih solate v različnem obdobju

Statistični parametri	Vsebnost nitratov mg/kg					
	vsi vzorci	jan	marec	april	maj	julij
povprečna vrednost	1393	2621	1826	1100	1243	520
razpon	85-3276	1705-3276	305-3237	151-2863	85-2694	348-711
standardni odmik	954	622	1048	828	8145	157
koeficient variacije (%)	68	24	57	75	66	30
N	71	8	10	18	30	5

3.1 Nitrati v mehkolistni in krhkolistni solati

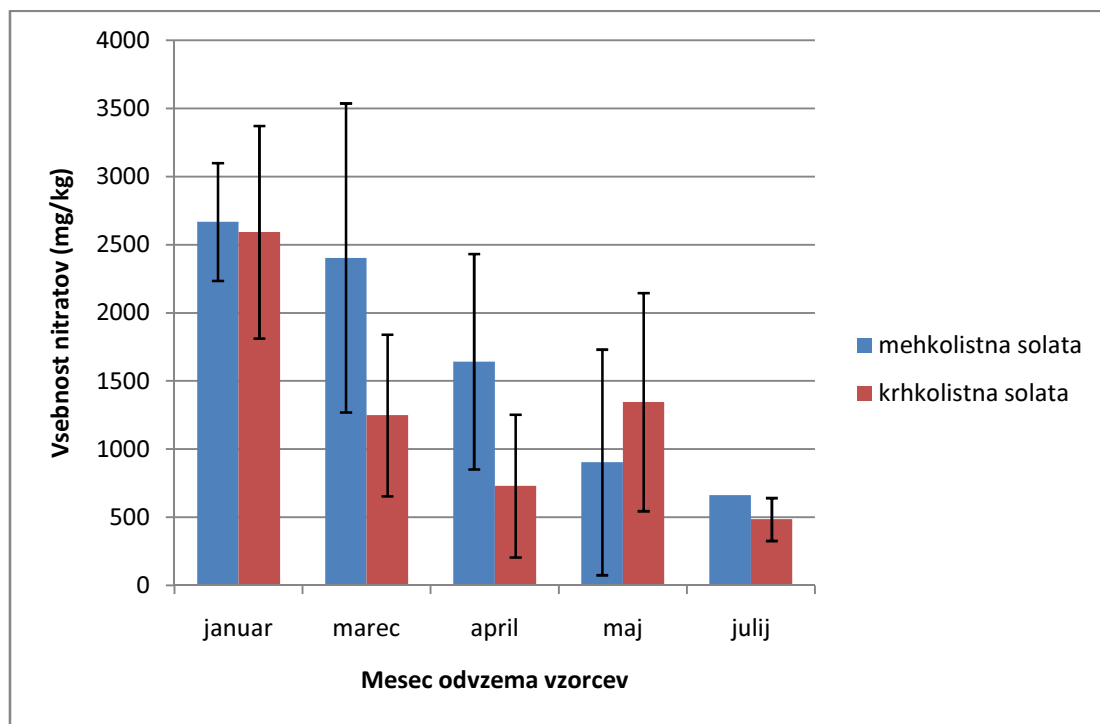
Vsebnosti nitratov v mehkolistni solati so od januarja do julija znatno padale - od maksimalne povprečne vrednosti 2668 mg/kg nitrata v januarju do minimalne povprečne vrednosti 661 mg/kg v mesecu juliju. Podoben padec vsebnosti nitratov je bil določen tudi v krhkolistni solati in je znašal od maksimalne povprečne vrednosti 2529 mg/kg nitrata v januarju do minimalne povprečne vrednosti 485 mg/kg v mesecu juliju (glej tabelo 3).

Tabela 3: Primerjava vsebnosti nitratov v mehkolistni in krhkolistni solati v različnem časovnem obdobju

Mesec	Vsebnost nitratov (mg/kg)					
	mehkolistna solata			krhkolistna solata		
	povprečna vrednost	s	N	povprečna vrednost	s	N
jan	2668	414	3	2529	780	5
mar	2403	1133	5	1249	592	5
april	1642	790	6	731	523	9
maj	904	828	7	1346	800	23
julij	661		1	485	157	4
vsi vzorci	1675	1058	22	1276	871	46

Po navedbah literature vsebujejo mehkolistne sorte solat višjo koncentracijo nitratov kot krhkolistne solate. V naši raziskavi smo določili znatno nižje vsebnosti nitratov v krhkolistni solati samo v mesecu marcu, aprilu in juliju. Med povprečnimi vrednostmi nitratov nismo

dokazali signifikantne razlike v mehkolistni in krhkolistni solati (glej graf 1). Rezultate razlagamo z dejstvom, da je bila vzorčena solata različnega izvora, ki se ni upošteval pri primerjavi obeh vrst solat. Izvor zelenjave pa ima po navajanju literature (EFSA, 2008) pomemben vpliv na vsebnost nitratov v solati.



Graf 1: Primerjava vsebnosti nitratov v mehkolistni in krhkolistni solati v različnem časovnem obdobju

3.2 Nitrati v konvencionalno in ekološko pridelani solati

Konvencionalno pridelana solata je v povprečju vsebovala 1526 mg/kg nitratov (v razponu 151-3276 mg/kg). Vsebnost nitratov v ekološko pridelani solati je bila s povprečno vrednostjo 851 mg/kg (85-2694 mg/kg) signifikantno nižja ($p < 0,05$) (glej tabelo 4).

Tabela 4: Vsebnost nitratov (mg/kg sveže solate) v konvencionalno in ekološko pridelani solati

Statistični parametri	Vsebnost nitratov (mg/kg)	
	vrsta pridelave	
	konvencionalna	ekološka
povprečna vrednost	1526	851
razpon	151-3276	85-2694
standardni odmik	926	898
koeficient variacije (%)	61	106
število meritev	57	14

Gnojenje spada med pomembnejše faktorje vpliva vsebnosti nitratov v zelenjavi. Rezultati naše raziskave se ujemajo s poročanji, ki navajajo, da ekološko pridelana solata vsebuje nižje vsebnosti nitratov od konvencionalno pridelane solate (Guadagnin et al., 2005 in Merino et al., 2006) in so si v nasprotju z zaključki Malmauret et al. (2002) in De Martin and Restani (2003), ki navajajo obratno.

3.3 Ocena vnosa nitrata in nitrita s solato

Sprejemljiv dnevni vnos (ADI) za nitrat 222 mg (za osebo s 60 kg) v zimskem času presežemo že ob zaužitju 100 g, tako mehkolistne kot krhkolistne solate. Če upoštevamo minimalno stopnjo pretvorbe nitrata do nitrita (5 %) z isto količino solate, ne presežemo ADI vrednosti pri obeh vrstah solate samo v poletnem mesecu juliju (glej tabelo 5).

Tabela 5: Vnos nitratov z zaužitjem 100 g solate, pridobljene z lokalnega tržišča v različnem časovnem obdobju

100 g solate	Solata v različnem časovnem obdobju									
	januar		marec		april		maj		julij	
	M	K	M	K	M	K	M	K	M	K
Vsebnost nitrata (mg/kg)	2668	2529	2403	1249	1642	731	904	1346	661	485
Vnos nitrata (mg)	267	253	240	125	164	73	90	135	66	49
Vnos nitrita* (mg)	13,4	12,6	12,0	6,3	8,2	3,7	4,5	6,8	3,3	2,5
Dnevni sprejemljiv vnos (ADI)	Nitrat: 3,7 mg/ kg telesne teže/dan (oz. 222 mg za osebo s 60 kg) Nitrit: 0,07 mg/ kg telesne teže/dan (oz. 4,2 mg za osebo s 60 kg)									

(*upoštevajoč 5 % povprečno pretvorbo nitrata do nitrita v človeškem organizmu (po Gangolli et al. (1994), Thomson et al. (2007))

M – mehkolistna solata

K – krhkolistna solata

Vnos nitrata s 100 g zaužite solate s povprečno vsebnostjo nitrata v solati znaša 53 % ADI, z minimalno vrednostjo nitrata v solati znaša 3,8 % ADI in z maksimalno vsebnostjo nitrata v solati kar 148 % ADI. Povprečen vnos nitrata z ekološko pridelano solato znaša pri zaužitju 100 g solate 85 mg nitrata in je skoraj za polovico nižji od povprečnega vnosa nitratov z konvencionalno pridelano solato, ki znaša 153 mg nitrata.

Po poročanju različnih študij (Zhong et al., 2002, Du et al., 2007, Sobko et al., 2009, Hord et al., 2009) iz različnih predelov sveta, z različnimi prehranskimi navadami je pogostokrat sprejemljiv dnevni vnos, tako za nitrate kot tudi za nitrite, znatno presežen. Naša raziskava vsebnosti nitratov v solati nas privede do podobnega zaključka. Na jedilniku slovenskih družin je zelena solata tudi v zimskem času nepogrešljiva, zato lahko sklepamo, da je v tem času ADI vrednost za nitrate presežena tudi pri slovenski populaciji.

4 Zaključek

Pri načrtovanju zdravega načina prehranjevanja je nujno potrebno posvečati večjo pozornost tudi dnevni vnosu nitrata in nitrita v naš organizem. Priporočila WHO o zdravem prehranjevanju, ki vključuje zelenjavo in sadje, upoštevajmo z uživanjem raznolike zelenjave in sadja. S sezonskim uživanjem zelenjave znatno znižamo vnos nitrata v naš organizem. Za populacijo iz rizične skupine za obolenost z gastrointestinalnim rakom priporočamo uživanje ekološko pridelane zelenjave. Upoštevanje načel dobre kmetijske prakse gotovo prispeva k znižanju akumulacije nitratov v zelenjavi.

Potrebno je širše osveščanje ljudi o problematiki previsokega vnosa nitratov v organizem in obveščanje o možnostih njegovega zniževanja. Pomen naše raziskave je v podajanju konkretne ocene vnosa nitratov s solato v slovenskem prostoru, ki bi jo bilo smiselno razširiti

na večjem številu vzorcev tekom celega leta in jo dopolniti z živili, ki prav tako predstavljajo visok vnos nitratov v naš organizem.

Literatura in viri

Bryan, N.S. Nitrite in nitric oxide biology: Cause or consequence? A systems-based review. *Free Radical Biology & Medicine*, 2006, 41, str. 691-701.

Chou, S.S., Chung, J.C. and Hwang, D.F. A High Performance Liquid Chromatography Method for Determining Nitrate and Nitrite Levels in Vegetables. *Journal of Food and Drug Analysis*, 2003, 11(3), str. 233-238.

De Martin S and Restani, P. Determination of nitrates by ion chromatographic method: occurrence in leafy vegetables (organic and conventional) and exposure assessment for Italian consumers. *Food Addit Contam*, 2003, 20 (9), str. 787-792.

Dich, J., Järvinen, R., Knekt, P. & Penttilä, P.L. Dietary intakes of nitrate, nitrite and NDMA in the Finnish Mobile Clinic Health Examination Survey. *Food Addit Contam*, 1996, 13, str. 541–552.

Du, S.T., Zhang, Y.S., Lin, X.Y. Accumulation of Nitrate in Vegetables and its Possible Implications to Human Health. *Agric Sci China*, 2007, 6(10), str. 1246-1255.

EC (European Commission). Opinion on nitrate and nitrite. Reports of the Scientific Committee for Food (SCF) 38th, Series:1-33. 1997. (citirano 15. 1. 2012). Dostopno na naslovu: http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/reports/scf_reports_38.pdf.

EFSA (European Food Safety Authority). Nitrate in vegetables. Scientific opinion of the panel on contaminants in the food chain. EFSA Journal, 689, 1e79. 2008. (citirano 15. 1. 2012). Dostopno na naslovu: http://www.efsa.europa.eu/EFSA/Scientific_Opinion/contam_ej_689_nitrate_en.pdf.

EN 12014-7. Foodstuffs-Determination of nitrate and/or nitrite content –Part 7: Continuous Flow method for the determination of nitrate content of vegetables and vegetable products after Cadmium reduction. 1998.

Gangolli, S.D., Van den Brandt, P.A., Feron, V.J., Janzowsky, C., Koeman, J.H., Speijers, G.J.A., Spiegelhalter, B., Walker, R., Wishnok, J.S. Assessment of nitrate, nitrite and N-nitroso compounds. *Eur J Pharmacol Environ Toxicol Pharmacol Section*, 1994, 292, str. 1–38.

Guadagnin, S.G., Rath, S., Reyes, F.G.R. Evaluation of the nitrate content in leaf vegetables produced through different agricultural systems. *Food Addit Contam*, 2005, 22(12), str. 1203–1208.

Hord, N.G., Tang, Y., Bryan, N.S. Food sources of nitrates and nitrites: the physiologic context for potential health benefits. *Am J Clin Nutr*, 2009, 90(1) str.1-10.

Hmelak Gorenjak, A., Rižman Kolečnik, U., Cencič, A. Nitrate content in dandelion (*Taraxacum officinale*) and lettuce (*Lactuca sativa*) from organic and conventional origin; intake assessment. *Food Addit Contam: Part B: Surveillance*, 2012, (citirano 20. 1. 2012). Dostopno na

naslovu:<http://www.tandfonline.com/action/doSearch?type=simple&filter=multiple&stemming=yes&searchText=Alenka+Hmelak+Gorenjak&publication=40001490>

Lundberg, J.O., Weitzberg, E., Gladwin, M.T. The nitrate-nitrite-nitric oxide pathway in physiology and therapeutics. *Nat Rev Drug Discov*, 2008,7, str. 156-167.

Malmauret, L., Parent-Massin, D., Hardy, J.L. and Verger, P. Contaminants in organic and conventional foodstuffs in France. *Food Addit Contam*, 2002,19, str. 524-532.

Merino, L., Darnerud, P.O., Edberg, U., Aman, P., Castillo, M.D. Levels of nitrate in Swedish lettuce and spinach over the past 10 years. *Food Addit Contam*, 2006,23(12), str. 1283-9.

Mensinga, T.T., Speijers, G.J.A., Meulenbelt, J. Health implications of exposure to environmental nitrogenous compounds. *Toxicol Rev*, 2003, 22, str. 41-51.

Petersen, A. and Stoltze, S. Nitrate and nitrite in vegetables on the Danish market: content and intake. *Food Addit Contam*, 1999, 16(7), str. 291-299.

Santamaria, P. Nitrate in vegetables: toxicity, content, intake and EC regulation. *J Sci Food Agric*, 2006, 86, str. 10-17.

Sobko, T., Marcus, C., Govoni, M., Kamiya, S. Dietary nitrate in Japanese traditional foods lowers diastolic blood pressure in healthy volunteers. *Nitric Oxide*, 2010, 22 str. 136-140.

Sušin, J., Kmecl, V., Gregorčič, A. A survey of nitrate and nitrite content of fruit and vegetables grown in Slovenia during 1996-2002. *Food Addit Contam*, 2006. 23(4), str. 385-390.

Thomson, B.M., Nokes, C.J., Cressey, P.J. Intake and risk assessment of nitrate and nitrite from New Zealand foods and drinking water. *Food Addit Contam*, 2007,24(2), str.113-21.

Uredba Komisije (EU) št. 1258/ 2011 z dne, 2. decembra 2011, o spremembi Uredbe Komisije (ES) št. 1881/2006 glede mejnih vrednosti nitratov v živilih, 2011, (citirano 3. 4. 2012). Dostopno na naslovu: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:320:0015:0017:SL:PDF>

Walker, R. Nitrates, nitrites and N-nitrosocompounds: a review of the occurrence in food and diet and the toxicological implications. *Food Addit Contam*, 1990, 7(6), str. 717-768.

Ysart, G., Clifford, R., Harrison, N. Monitoring for nitrate in UK-grown lettuce and spinach. *Food Addit Contam*, 1999, 16(7) str. 301-306.

Zhong, W., Hu, C., Wang, M. Nitrate and nitrite in vegetables from north China: content and intake. *Food Addit Contam*, 2002, 19(12), str. 1125-1129.

Alenka Hmelak Gorenjak, IC Piramida Maribor, Slovenia, alenka_hg@yahoo.com

Urška Rižman Kolečnik, Slovene Chamber of Agriculture and Forestry Institute
of Agriculture and Forestry Maribor, Slovenia, urska.rizman@kmetijski-zavod.si

Tomaž Langerholc, University of Maribor, Faculty of Agriculture and Life Sciences, Maribor,
Slovenia, tomaz.langerholc@uni-mb.si

Avrelija Cencič, University of Maribor, Faculty of Agriculture and Life Sciences/Medical Faculty,
Maribor, Slovenia, avrelija.cencic@uni-mb.si

Assessment of nitrate intake with lettuce consumption (*Lactuca sativa*) in different seasons

Abstract:

Intensive agriculture has contributed to the increased accumulation of nitrates in crops. Nitrate ion has a low acute toxicity. Health problem represents the transformation of nitrate to nitrite, which can be converted to nitrosating agents; with secondary amines these may form carcinogenic nitrosamines. A high nitrate intake is associated with risk for gastrointestinal cancer. The acceptable daily intake (ADI) for nitrate, established in 1995, is often exceeded in our diet. We may consume 70 – 80 % of the nitrate intake by vegetables. The highest nitrate concentrations were determined in leafy vegetables, namely lettuce and spinach. In this study we followed changes in nitrate concentration in lettuce (*Lactuca sativa*) on local market in different seasons. Nitrate levels were determined using continuous flow analysis and reverse-phase HPLC with UV detection in 71 samples of conventionally and organically cultivated lettuce. A high variation in nitrate content in lettuce has been found according to different seasons and different types of cultivation. Nitrate content in lettuce ranged from 85 to 3280 mg/kg. Consumption of 100 g of lettuce may result in daily nitrate intake, ranging from less than 5 % to 150 % of ADI. Therefore increased consumers' awareness of ways for nitrate intake reduction, as well as GAP (Good Agriculture Practice), is of great importance.

Keywords: Nitrate, lettuce, *Lactuca sativa*, season, intake