

**ZÁPADOČESKÁ UNIVERZITA V PLZNI**  
**FAKULTA PEDAGOGICKÁ**  
**KATEDRA CHEMIE**

DIPLOMOVÁ PRÁCE

**Obsah dusitanů a dusičnanů ve vybraných potravinách  
a jejich předpokládaný denní příjem v naší populaci**

**Bc. Martina Bártová**

*Učitelství pro SŠ, obor chemie - biologie*

Vedoucí práce: doc. Ing. Zdeněk Zloch, CSc.

**Plzeň, 2014**

Prohlašuji, že jsem práci vypracovala samostatně s použitím uvedené literatury a zdrojů informací.

*V Plzni, ..... 2014*

.....  
*podpis*

### *Poděkování*

Ráda bych touto větou poděkovala panu doc. Ing. Zdeňku Zlochovi, CSc. za výborné vedení, odborné znalosti, ochotu a především za trpělivost, které mi byly při psaní této práce poskytnuty.

Velice děkuji své rodině a svému partnerovi za velkou podporu po celou dobu studia a za to, že při mně stáli v dobrém i ve zlém.

## **Klíčová slova**

Dusičnany, dusitany, testování potravin, laboratorní metody

## **Key words**

Nitrates, nitrites, testing of foodstuffs, laboratory methods

## **Anotace**

### **Obsah dusitanů a dusičnanů ve vybraných potravinách a jejich předpokládaný denní příjem v naší populaci**

Tato diplomová práce se zabývá rolí dusitanů a dusičnanů v potravinách. Je zde popsán vliv těchto sloučenin na lidské zdraví, jejich výskyt v potravinách, v půdách nebo ve vodách. Část diplomové práce je věnována hodnocení denního příjmu dusitanů a dusičnanů v naší populaci.

## **Summary**

### **The content of nitrites and nitrates in selected foods and their estimated daily intake in our population**

This diploma thesis deals with the role of nitrites and nitrates in food. The effect of these compounds on human health, their occurrence in foodstuffs, soils or waters are described here. Part of the diploma thesis is devoted to a evaluation of the daily intake of nitrites and nitrates in our population.

ZÁPADOČESKÁ UNIVERZITA V PLZNI

Fakulta pedagogická

Akademický rok: 2012/2013

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: Bc. Martina BARTOVÁ  
Osobní číslo: P12N0207P  
Studijní program: N7504 Učitelství pro střední školy  
Studijní obory: Učitelství biologie pro střední školy  
Učitelství chemie pro střední školy  
Název tématu: Obsah dusitanů a dusičnanů ve vybraných potravinách a jejich předpokládaný denní příjem v naší populaci  
Zadávací katedra: Katedra chemie

### Zásady pro vypracování:

1. Charakterizovat toxické účinky dusitanů a dusičnanů, jejich původ v potravinách, a problematiku kontaminace těmito látkami v České republice.
2. Seznámit se s dosud používanými laboratorními metodami stanovení dusitanů a dusičnanů v potravinách a vybrat reálnou metodu pro aplikaci ve vlastní diplomové práci.
3. Analyzovat vybrané vzorky ovoce, zeleniny, obilnin, uzenářských výrobků, pitné vody a nápojů na obsah dusitanů a dusičnanů.
4. S použitím statistických údajů o spotřebě potravin v České republice provést odhad průměrného denního příjmu těchto látek a jeho pravděpodobného dopadu na zdraví.

Rozsah grafických prací:

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Davídek J., Janíček G., Pokorný J.: Chemie potravin. SNTL/ALFA 1983.

Velíšek J. a kol.: Chemie potravin III. Osis, Tábor 1999.

Hamilton E. M., Whitney E. N., Sizer F. S.: Nutrition. Concepts and Contraversies. West Publ. Comp., St. Paul 1988.

Turek B., Hrubý S., Černá M.: Nutriční toxikologie. Knih. Indy pro další vzděl. lék. farm., Praha 1994.

Prokeš J. a kol.: Základy toxikologie. Obecná toxikologie a ekotoxikologie. Galén, Karolinum, Praha.

Hord N. G.: Dietary nitrates, nitrites and cardiovascular diseases. Curr. Atheroscl. Rep. 2011, 13: 484-492.

Bryan N. S. et al.: Ingested nitrate and nitrite and stomach cancer risk: An update review. Food and Chem. Technol. 2012, 50: 3646-3665.

Lammarimo M., Di Garanti A.: Nitrite and nitrate in fresh meats: A contribution to the estimation of admissible maximum limits to introduce in directive 95/2/EC. Int. J. Food Sci. Technol. 2012, 47: 1852-1858.

Vedoucí diplomové práce:

**Doc. Ing. Zdeněk Zloch, CSc.**

Katedra chemie

Datum zadání diplomové práce: **15. prosince 2012**

Termín odevzdání diplomové práce: **31. března 2014**

  
Doc. PaedDr. Jana Coufalová, CSc.  
děkanka



  
Doc. Mgr. Václav Řeřtr, CSc.  
vedoucí katedry

V Plzni dne 2. ledna 2013

V Plzni dne 7. února 2014  
č.j. ZČU-002635/2014/Vo

## Rozhodnutí

Dle ust. čl. 55 odst. 3 Studijního a zkušebního řádu v platném znění (dále jen studijní a zkušební řád) rozhodla děkanka

takto:

Studentce **Martině Bartové**, nar. 13. prosince 1989, bytem **Poděvousy 18**, studující ve studijním programu **Učitelství pro střední školy**, studijní oborová kombinace **biologie-chemie** se určuje náhradní termín odevzdání diplomové práce s názvem „Obsah dusitanů a dusičnanů ve vybraných potravinách a jejich předpokládaný denní příjem v naší populaci“ na **30. června 2014**.

*Odůvodnění:*

Studentka je povinna odevzdat kvalifikační práci dle jejího zadání nejpozději do 15. dubna 2014. Studentka, aniž by odevzdala kvalifikační práci, podala k děkance fakulty včas podle čl. 55 odst. 2 studijního a zkušebního řádu žádost o stanovení náhradního termínu odevzdání kvalifikační práce s odůvodněním, že do termínu původně určeného pro odevzdání diplomové práce není schopna práci zpracovat z důvodu časové náročnosti sběru dat a zpracování práce.

Děkanka s ohledem na důvody uvedené v žádosti vyhověla žádosti studentky a v souladu s ust. čl. 55 odst. 3 studijního a zkušebního řádu stanovila studentce náhradní termín pro odevzdání kvalifikační práce.

*Poučení:*

Proti tomuto rozhodnutí není opravného prostředku.

  
Doc. PaedDr. Jana Coufalová, CSc.  
děkanka FPE ZČU v Plzni



## OBSAH

<b>1</b>	<b>ÚVOD .....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>TEORETICKÁ ČÁST .....</b>	<b>4</b>
2.1	Dusičnany a dusitany v lidském těle .....	4
2.2	Dusičnany, dusitany a nitrososloučeniny .....	6
2.3	Dusitany a methemoglobinémie .....	7
2.4	Dusíkatá hnojiva .....	8
2.5	Dusičnany ve vodě .....	11
2.6	Dusičnany v potravinách .....	11
2.7	Laboratorní metody .....	13
2.7.1	Iontově selektivní elektrody pro stanovení koncentrace dusičnanových iontů v pitné a povrchové vodě .....	14
2.7.2	Elektroforéza.....	14
2.7.3	Nitrační metody .....	15
2.7.4	Semikvantitativní stanovení dusičnanů brucinem .....	15
<b>3</b>	<b>PRAKTICKÁ ČÁST .....</b>	<b>16</b>
3.1	Popis laboratorní metody.....	17
3.1.1	Příprava vrstvy elementárního amorfního kadmia a kadmiového sloupce.....	17
3.1.2	Stanovení obsahu dusičnanů .....	18
3.1.3	Stanovení obsahu dusitanů .....	19
3.1.4	Příprava kalibrační křivky .....	19
3.2	Výpočty .....	21
3.2.1	Množství dusičnanů u pevných vzorků .....	21
3.2.2	Množství dusičnanů u kapalných vzorků .....	22
3.2.3	Množství dusitanů u pevných vzorků.....	23
3.2.4	Množství dusitanů u kapalných vzorků.....	23
3.3	Výsledky a diskuze .....	24
3.3.1	Dusičnany .....	25
3.3.2	Dusitany.....	29
3.3.3	Vyhodnocení celkového průměrného příjmu dusičnanů potravinami .....	30
<b>4</b>	<b>DIDAKTICKÁ ČÁST .....</b>	<b>40</b>
4.1	Didaktika chemie .....	40
4.1.1	Semikvantitativní stanovení dusičnanů brucinem .....	41

4.1.2	Úkol č. 1: Tajenka .....	42
4.1.3	Úkol č. 2: Doplnovací cvičení .....	44
<b>5</b>	<b>ZÁVĚR .....</b>	<b>45</b>
<b>6</b>	<b>SEZNAM LITERATURY.....</b>	<b>47</b>
<b>7</b>	<b>RESUMÉ .....</b>	<b>49</b>
	<b>SEZNAM OBRÁZKŮ.....</b>	<b>50</b>
	<b>SEZNAM TABULEK .....</b>	<b>51</b>
	<b>SEZNAM GRAFŮ.....</b>	<b>52</b>

# 1 ÚVOD

Výživa obyvatelstva by měla být jedním ze základních úkolů, který bychom se měli snažit lidské populaci co nejvíce přiblížit. Dospělý člověk by měl mít určitou představu o tom, co je zdravé a co není, jaké látky určitá potravina obsahuje, jaký je vliv těchto látek na lidský organismus. Kdo jiný by měl své děti učit zdravým zásadám již od útlého dětství než sám rodič. Informace o potravinách si každý člověk může vyhledat kdekoliv. Existuje obrovské množství literatury, jak tištěné, tak i literatury v digitální podobě, která se stravou zabývá. I přes to dochází v naší populaci k narůstajícímu počtu obézních lidí. Nejen obezita, ale i jiné nemoci (kardiovaskulární nemoci, rakovina) mohou být způsobeny neuváženými činy, za které si ve velkém počtu případů může sám člověk. Za neuvážené činy můžeme považovat nevyváženou stravu s velkým obsahem sacharidů a lipidů, kouření, potraviny nízké kvality, nekvalitní pitnou vodu (obsahující kontaminanty), ale také málo pohybu, sedavý způsob života, lenost, narušenou psychiku apod.

Zdravý člověk, ale i člověk trpící určitými obtížemi by se o sebe měl v rámci svých možností starat. Můžeme se dočíst, že lidský věk se neustále prodlužuje. Podle statistik je to pravda. Na druhou stranu, když se rozhlídneme kolem sebe, vidíme mnoho starých lidí v důchodu a bohužel i mladých lidí, kteří trpí různými chorobami. Někdy jsou tyto choroby tak vážné, že si tito lidé o vysokém věku mohou nechat jen zdát. Prevence je velice důležitá. Většina lidí žije celý svůj život v nevědomosti a v osvobozujícím pocitu bezstarostnosti. Následně se takoví jedinci nesmí udivovat nad tím, proč tahle nemoc nebo určitá potíže postihla právě je. Přiznejme si, že ve vyšším věku již nelze vše napravit. Organismus začíná stárnout již po pětadvacátém roku života, a proto si každý z nás musí uvědomit, že není žádoucí, abychom k sobě byli lhostejní.

Jak jsme se již dozvěděli, lidská strava může obsahovat značné množství cizorodých látek, různých příměsí dodávajících chuť, barvu, příměsí proti škůdcům. Mnohé přirozené látky v potravinách jsou zdravé a lidskému organismu neškodí, ale naopak pomáhají (vitamíny, minerály, vláknina). Bez těchto látek se organismus neobejde, člověk by je měl přijímat pravidelně. Některé látky řadíme mezi škodlivé,

kteřé v nízkých koncentracích lidskému organismu nemusí škodit. Problém ovšem nastává, pokud je člověk požívá dlouhodobě. Mezi zmiňované látky můžeme zařadit dusičnany a dusitany. Je zřejmé, že se těmto látkám nemůžeme stoprocentně vyhnout. Vždy tu byly a vždy tu i budou. Záleží pouze na nás, s jakým úsilím se budeme zabývat otázkami kontaminujících látek ve stravě. Budeme-li mít přehled, co jaká potravinu může obsahovat, co nám její pravidelný příjem může způsobit, pomůže nám to si vybírat kvalitní potraviny, u kterých budeme mít větší jistotu zdravotní nezávadnosti než v opačném případě. Je pravda, že kvalitní potraviny koupíme v obchodech většinou za vyšší cenu. Je na každém z nás, jestli tuto daň podstoupí a kvalitnější suroviny a produkty si zakoupí. Velice často se v obchodech objevují potraviny s označením BIO. Při pěstování těchto produktů se nepoužívají minerální hnojiva, žádné pesticidy, růst plodin je přísně sledován. Jedinými využívanými hnojivy jsou hnojiva stájová. Výrobní procesy by měly být šetrnější než při klasickém zpracování. Bioprodukty můžeme považovat za produkty ekologického zemědělství.

Dusičnany ( $\text{NO}_3^-$ ) a dusitany ( $\text{NO}_2^-$ ) patří mezi denně konzumované složky potravy. Jejich příjem je pro mnohé velmi diskutovatelným tématem i v dnešní době. Velká část studií se zabývá množstvím dusičnanů a dusitanů v potravě, jejich vlivem na lidský organismus, jejich vznikem a výskytem. Před rokem 1970 se lidská společnost nezabývala otázkou dusičnanů a dusitanů v půdě, jejich přenosem do rostlinného materiálu a vlivem na zdraví člověka tak intenzivně. Společnost se neustále vyvíjí a věda je opět o krok dále než minulé století. V dnešní době existují i názory, že dusičnany a dusitany dodávané tělu v přiměřeném množství mohou být i užitečné. Hovoří se o tom, že dusitany a dusičnany mohou mírně snižovat krevní tlak. Bohužel negativa, které dusitany a dusičnany přinášejí, převažují.

Nadměrné hnojení (zejména průmyslové hnojení), špatné umístění průmyslových podniků, průmyslové havárie, lidská nevědomost vedly v minulosti, ale bohužel i dnes, ke zvýšenému obsahu dusičnanů v půdách, v povrchových a podpovrchových vodách a bohužel i v potravinách. Dusičnany snadno pronikají do podzemních vod, protože půdy mají malou absorpční schopnost. Existují oblasti po celé České republice, kde se dusičnany vyskytují v nadměrném množství. V některých případech se lidé v těchto oblastech brání tím, že pijí balenou pitnou vodu. Otázka je zde na místě: „Jaký je obsah dusičnanů právě v těchto balených vodách?“ Dusitany se v přírodě vyskytují v malém množství, ale o to jsou škodlivější pro lidský

organismus. Většinou vznikají v těle redukcí právě dusičnanů. Problém nastává, pokud se dusitany mění na další produkt metabolismu - nitrosaminy.

Naším cílem je zjistit obsah dusitanů a dusičnanů ve vybraných běžně konzumovaných potravinách a jejich předpokládaný denní příjem v naší populaci. Získané poznatky by měly přinést přehled o průměrném konzumovaném množství dusitanů a dusičnanů v lidské populaci a o míře, v jaké se toto množství přibližuje přijatelnému dennímu příjmu nebo zda ho dokonce nepřekračuje. V této práci se budeme zabývat různými otázkami. Seznámíme se s tím, proč je nutné se zabývat obsahem dusitanů a dusičnanů v potravě, proč je důležité řešit maximální přijatelnou denní dávku dusitanů a dusičnanů u člověka, jaký je účinek těchto látek na zdraví člověka, zda opravdu dusičnany a dusitany mohou způsobit závažná onemocnění jako je rakovina gastrointestinálního traktu, methemoglobinémie u kojenců, různá kardiovaskulární onemocnění. Popíšeme zde několik laboratorních metod stanovení obsahu dusitanů a dusičnanů v různých potravinách rostlinného i živočišného původu. Uvedeme výsledky analýz potravin na obsah  $\text{NO}_3^-$  (a v malé míře  $\text{NO}_2^-$ ) a provedeme odhad průměrného celkového příjmu  $\text{NO}_3^-$  v naší populaci. Tento odhad bude vycházet z oficiálních údajů o průměrné celkové spotřebě základních druhů potravin v ČR.

## 2 TEORETICKÁ ČÁST

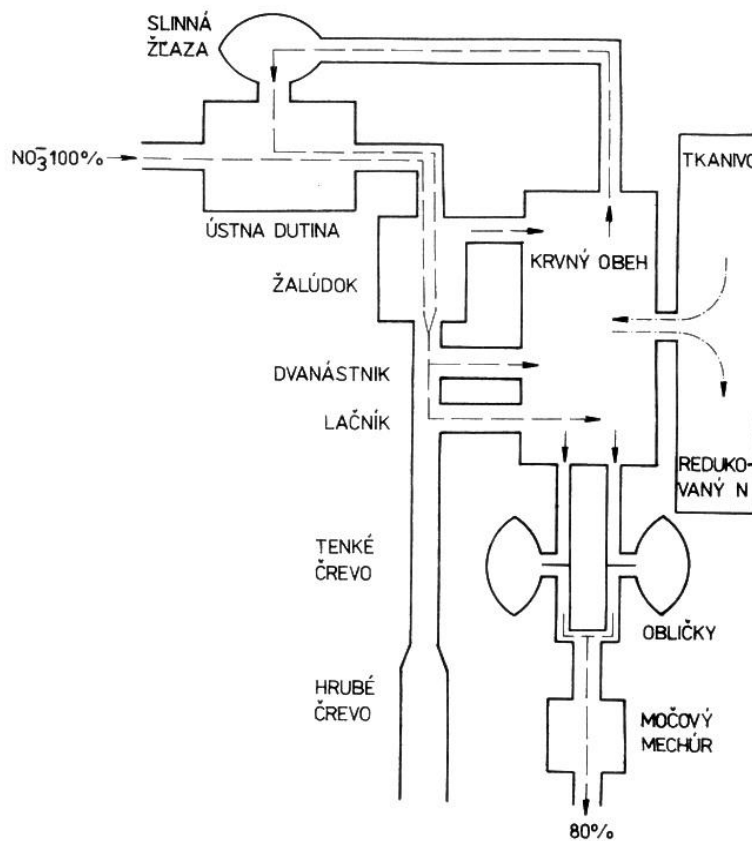
### 2.1 Dusičnany a dusitany v lidském těle

Dusičnany ( $\text{NO}_3^-$ ) můžeme řadit mezi přísady v potravě nebo kontaminující látky<sup>1</sup>. V malé koncentraci jsou pro člověka neškodné. Lze je nalézt v potravinách rostlinného původu, ve všech typech vod, či v půdách. Lidský faktor, k němuž docházelo zejména ve 2. pol. 20. století, může za neustálé zvyšování obsahu těchto látek v podzemních a podpovrchových vodách. Za příčinu můžeme považovat průmyslovou výrobu a chemizaci v zemědělství<sup>2</sup>. Vyhláška Ministerstva zemědělství č. 252/2004 Sb. ve znění pozdějších předpisů stanovuje mezní hodnotu dusičnanů v pitné vodě na 50 mg/l a mezní hodnotu dusitanů na 0,50 mg/l<sup>cit.2</sup>. Dusičnany jsou reprezentativní neoddelitelné složky v přírodě. Jejich zvýšený výskyt v pitné vodě je nežádoucí, protože se mohou přeměnit na dusitany a někdy až na nitrosaminy, které jsou známé svými kancerogenními účinky<sup>3</sup>. Dusičnany jsou produktem oxidačního metabolismu, zejména mineralizace přírodních i uměle připravených organických látek v přírodě.

Možná rizika vyššího obsahu dusičnanů v potravinách spočívají v tom, že se mohou redukovat na dusitany. Ty mohou být původci různorodých zdravotních obtíží jak u dětí, tak i u dospělých osob. Dusičnany se mohou redukovat na dusitany exogenně i endogenně. Děje se to prostřednictvím enzymů nitrátreduktas mikrobiální cestou v trávicím ústrojí i v samotných potravinách. Exogenní vznik dusitanů nastává např. při uskladňování, transportu nebo zpracování zemědělských produktů a potravin. Za velmi nebezpečné lze považovat nevhodné uskladňování hotových zeleninových produktů obsahujících vyšší obsah dusičnanů, zejména pokud se tyto pokrmy udržují v teplém stavu po delší dobu. Druhou cestou je cesta endogenní. Při tomto ději vznikají dusitany v trávicím traktu, a to hlavně v žaludku a ve střevěch. U dětí i dospělých osob může redukce dusičnanů na dusitany probíhat již v ústní dutině. Vývoj mikroflóry v ústní dutině způsobuje zvyšující se trend intenzity této reakce během života. Ústní mikroflóra se neustále vyvíjí. Nitrátreduktasy, které se vyskytují v této mikroflóře, mají různou aktivitu. U každého jedince je tato aktivita jiná, ale zároveň značně stálá. V ústní dutině a ve střevě se vyskytují různé druhy mikroorganismů. Mikroflóra se liší rozdílným podílem mikrobů, které potřebují dusičnany jako zdroj dusíku, kdy ho využívají jako stavební materiál pro vlastní bakteriální bílkovinu nebo jim dusičnany slouží pouze jako zdroj energie<sup>4</sup>.

Dusičnany, které člověk přijme potravou, se vstřebávají ve dvanáctníku (lat. duodenum) a v lačníku (lat. jejunum). Poté přechází do krevního oběhu a do tkání. Z větší části (asi 80 %, u starších lidí 50 %) se vyloučí ledvinami za čtyři až dvanáct hodin. Zbylé množství dusičnanů zůstává v lidském organismu. Lékaři předpokládají, že ve střevě dochází k přeměně dusičnanů na sloučeniny amoniaku (přes dusitany, oxid dusnatý, event. elementární dusík)<sup>4</sup>.

Dusičnany mají i vedlejší okruh. Tímto okruhem se dostávají dusičnany zpět do slinných žláz v ústní dutině. Člověku, který přijme v potravě nové dusičnany, se ze slinných žláz vyplaví sliny obohacené dusičnany. Člověk přijímá do trávicího traktu zvýšené množství dusičnanů než za normálních okolností. Tyto důvody mohou opět vést až ke vzniku dusitanů<sup>4</sup>.



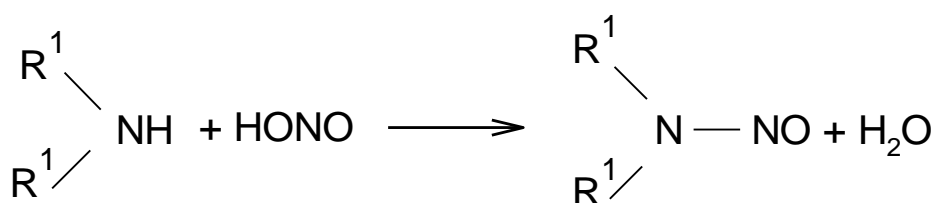
Obrázek 1: **Metabolismus dusičnanů v lidském organismu** (převzato z literatury<sup>4</sup>)

## 2.2 Dusičnany, dusitany a nitrososloučeniny

Karcinogenní účinky nitrososloučenin byly prokázány v roce 1956. Od té doby se této otázce věnují vědci značně intenzivně. Nitrososloučeniny mají původ z různorodých organických látek. Kontaminace potravin může probíhat více způsoby. Jednou z příčin je technologické zpracování potravin, kdy jsou do potravin přidávány aditiva, a to dusitany, které se stávají prekurzory nitrososloučenin. Další možností je sušení potravin, kdy dochází k přímému ohřevu pomocí kouře, ve kterém se vyskytují oxidy dusíku. Možná je i kontaminace z exogenních zdrojů (obaly)<sup>5</sup>.

Výzkumy v oblasti medicíny prokázaly schopnost konverze dusitanů na nitrososloučeniny. Mnohé z nich lze zařadit mezi karcinogenní látky, tedy látky schopné vytvářet zhoubné nádory. Pokusy byly provedeny na více druzích laboratorních zvířat<sup>4</sup>.

N – nitrososloučeniny vznikají reakcí dusitanu se sekundárními, terciárními, ale i kvarterními aminy. Reagující skupinou je zde skupina  $\text{NO}^+$ . Za substituenty  $\text{R}_1$  lze doplnit alkyly, aryly nebo heterocyklické sloučeniny<sup>4</sup>.



Obrázek 2: **Vznik N-nitrososloučenin ze sekundárních aminů** (převzato z literatury<sup>4</sup>)

Bylo dokázáno, že N – nitrososloučeniny mohou vyvolávat nádory ve všech orgánech kromě kostí. Velké množství nitrosaminů působí na lidský organismus hepatotoxicky, způsobuje tedy onemocnění jater. Další zástupci jako je N – nitrosomethylmočovina a N – nitrosoethylmočovina mají silné teratogenní účinky na embryo<sup>4</sup>.

Reakce mezi dusitany a aminy probíhá optimálně při pH 2 – 3. V určitých případech může díky katalyzátorům (halogenidové ionty, rhodanid) reakce probíhat i při nižším pH. Rhodanid je látka vyskytující se ve slinách. Kuřáci mají ve slinách až čtyřnásobně vyšší množství rhodanidu než lidé, kteří nekouří<sup>4</sup>.



Dusitany tvoří nitrosaminy zejména v žaludku. Dusitany se získávají buď hotové z potravy, nebo vznikají v těle redukcí dusičnanů. Aminy můžeme nalézt všude. Vyskytují se v masových výrobcích, ve vejcích, v mléku, v zelenině, v tabáku, v pivě, ve víně apod. Nitrosaminy mohou vznikat i mimo lidský organismus. Jejich výskyt byl zjištěn ve vzduchu, v různých surovinách, v průmyslových exhalátech. Dlouhodobé podávání menších dávek nitrosaminů je daleko nebezpečnější než jednorázové dávky. Ochranou před těmito reakcemi může být kyselina L-askorbová (vitamin C), tokoferol (vitamin E) nebo vláknina<sup>4</sup>.

Kyselina L - askorbová (vitamin C) patří mezi nejdůležitější látky, které musíme lidskému tělu dodávat. Působí na organismus člověka značně pozitivně, posiluje stěny vlásečnic, buněčné stěny a pojivovou tkáň. Působí preventivně proti různým druhům rakoviny, chrání před srdečními chorobami, podporuje hojení ran. Vitamin C zvyšuje činnost fagocytů, tím posiluje obranyschopnost lidského těla. Pokud nedochází pravidelnému příjmu vitamínu C, v těle vzniká vyšší množství volných radikálů. Dochází tak k oslabení imunity. Mezi osoby, které mají v těle nízkou koncentraci vitamínu C, patří hlavně kuřáci, osoby s pankreatitidou, osoby postižené těžkými infekcemi<sup>6</sup>.

Vitamin E (tokoferol) je látkou rozpustnou v tucích (lipofilní charakter). Je to typický membránový antioxidant. Ovlivňuje růst organismu, pomáhá hojit rány. Nedostatek vitamínu E se může projevat snížením plodnosti, anémií u novorozenců, nedostatečnou schopností distribuce tuků<sup>6</sup>.

Vlákninu můžeme rozdělit na vlákninu rozpustnou a nerozpustnou. Právě nerozpustná vláknina umožňuje v tlustém střevě rychlý posun exkrementů, a tak zabraňuje vstřebávání nitrosaminů<sup>4</sup>.

### **2.3 Dusitany a methemoglobinémie**

Často se můžeme dočíst o toxicitě dusitanů pro živočišný organismus. Dusitany se mohou vstřebat střevní stěnou a vyvolat tzv. *methemoglobinémii*. Tento proces vzniká oxidací dvojmocného železnatého iontu  $Fe^{2+}$  na trojmocný železitý  $Fe^{3+}$  v hemu, který je částí hemoglobinu nebo myoglobinu. Červené krevní barvivo hemoglobin se tak změní na tmavohnědý methemoglobin. Oxidovaná forma  $Fe^{3+}$  není schopná přenášet kyslík. Za normálních podmínek jsou v lidském organismu této oxidované formy pouhá 2 %. Methemoglobin lze přeměnit zpět na hemoglobin, a to pomocí redukčních enzymů.

Tyto reduktázy jsou obsaženy v červených krvinkách (erytrocytech) u dospělého člověka<sup>4</sup>.

Velice nebezpečné jsou dusitany pro kojence. Enzymatický systém v erytrocytech u těchto dětí není během druhého až čtvrtého měsíce života dostatečně vyvinut, proto nelze redukci správně regulovat. V krvi novorozenců se nachází plodový hemoglobin „F“ (85 %). Hemoglobin tohoto typu podléhá snadněji oxidaci dusitany než hemoglobin „A“ u dospělého člověka. Po prvním roce života poklesne obsah hemoglobinu „F“ na 1 – 2 %<sup>cit. 4</sup>.

Žaludek kojenců obsahuje velmi nízkou koncentraci kyseliny chlorovodíkové (vyšší pH). Tento stav umožňuje namnožení mikroorganismů v žaludku i v dalších částech GIT (gastrointestinální trakt), které za normálních podmínek nejsou patogenní. Dusičnany se nestačí vstřebat normálním způsobem, protože mikroorganismy přemění dusičnany na dusitany o dost rychleji. Tak se mohou dusitany vstřebat do krve a negativně působit na různé tkáně v těle. Největším problémem je ale možnost vzniku methemoglobinémie<sup>4</sup>.

U osob postižených touto chorobou nalezneme šedomodré až modrofialové zbarvení pokožky, sliznic a okrajových částí těla (rty). Toto zmodránění bývá označeno jako cyanóza. Doprovází ji pokleslý krevní tlak, zvýšená tepová frekvence a dýchavičnost. Při koncentraci 6 -7 % methemoglobinu v krvi se ve většině případů objevují první příznaky, nad 40 % hemoglobinu hrozí smrt jedince<sup>4</sup>.

Methemoglobinémie byla dříve považována za chorobu, která se vyskytuje pouze u kojenců. Studie však prokázaly, že se tato choroba může objevit i u starších dětí, ale i u dospělých jedinců. Jedná se o bezpříznakovou (asymptomatická) formu. Může tím být ovlivněn trávicí trakt nebo i štítná žláza<sup>4</sup>.

## **2.4 Dusíkatá hnojiva**

Průmyslová hnojiva mohou způsobovat různá ekologická rizika, kdy může dojít až k poškození životního prostředí<sup>3</sup>. Mezi hlavní živiny rostlin řadíme prvky H, O, C, P, N, K, Mg, Ca, S. Vodík, kyslík a uhlík rostliny přijímají ze vzduchu, ostatní prvky se v zemědělství intenzivně doplňují<sup>7</sup>.

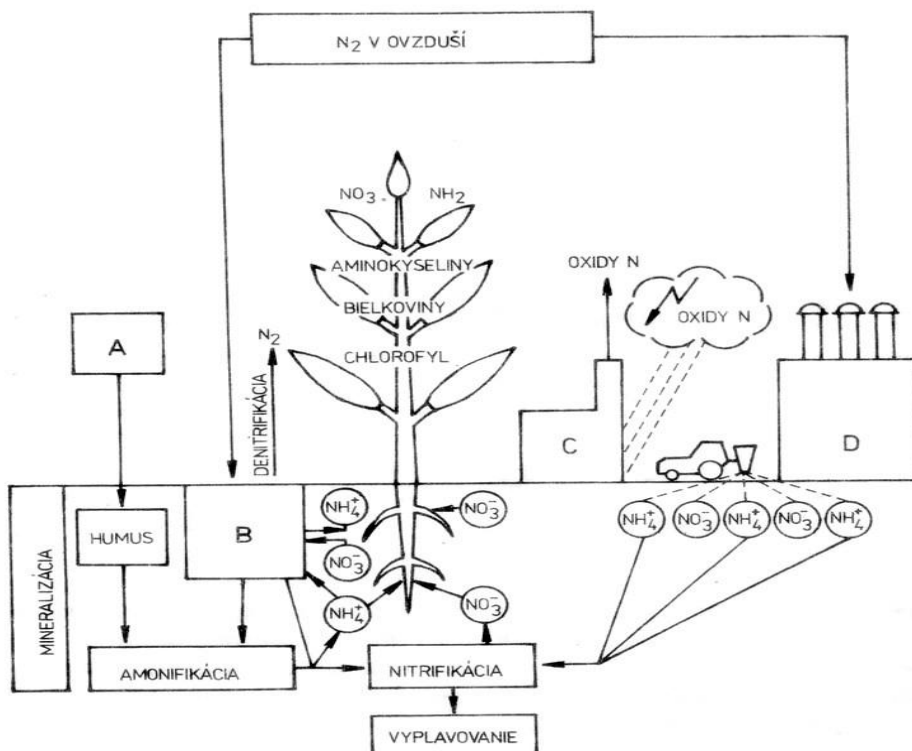
Dusíkatá hnojiva řadíme mezi synteticky připravená hnojiva. Základem je dusíkatá složka, díky které může za určitých podmínek dojít ke zvyšování zemědělské produkce a také k ovlivnění životního prostředí dusičnany. Rizika mohou být jak

pozitivní, tak i negativní. Nadbytečné množství dusíku může způsobovat nadměrné ukládání dusičnanů v potravinách rostlinného původu. Jestliže chceme minimalizovat vliv dusíkatých hnojiv, musíme hnojit předepsaným způsobem, zajistit potřebná protierozní opatření, hnojit nejlépe kapalnou formou dusíkatých hnojiv. Dusičnany obsažené v půdě, v zemědělské produkci nebo ve vodě jsou v dnešní době trvalým zájmem zemědělských, hygienických a vodohospodářských institucí<sup>3</sup>.

Koloběh dusíku zahrnuje půdy, zvířata, potravní řetězce, potravní produkty. Je dobře známo, že se dusík vyskytuje v plynném stavu v atmosféře. Dusitany a dusičnany jsou pouze meziprodukty koloběhu dusíku v přírodě<sup>8</sup>.

Koloběh dusíku zahrnuje rozklad různých dusíkatých látek a hlavně rozklad bílkovin. Tímto rozkladem je uvolňován amoniak, který je nitrifikačními bakteriemi oxidován na dusičnany. Naopak denitrifikační bakterie mohou za uvolňování dusíku právě z dusičnanů. Uvolněný dusík je vrácen zpět do atmosféry<sup>5</sup>.

Nitrifikace je ve vodách a v půdě značně významným procesem. Dochází k přeměně amoniakálního dusíku na dusík dusičnanový, který mohou rostliny přijímat. Nitrifikaci napomáhají svou činností bakterie rodu Nitrosomonas a Nitrobacter. Při denitrifikaci dochází k redukci dusičnanů na různé plyny, které obsahují hlavně dusík (hlavně  $N_2$ ). Tento proces je využíván při čištění odpadních vod<sup>7</sup>.



Obrázek 3: Koloběh dusíku v přírodě (převzato z literatury<sup>4</sup>)

Zelené hnojení, posklizňové zbytky, průmyslová hnojiva, stájové hnoje mohou za výskyt dusíku v půdě především ve sloučeninách, jako jsou amonné soli a dusičnany. Půda má určitou sorpční schopnost, která je pro různé sloučeniny dusíku rozdílná. Díky tomu může být dusík z dusičnanů vyplavován do spodních vod na rozdíl od amonných solí. Tyto soli jsou v půdě zadržovány. Dusičnany se dostávají z půdy do rostlin, které poté mohou konzumovat lidé. Množství dusičnanů je velice ovlivňováno prostředím, kde rostlina roste. Dusičnany jsou v rostlinách shromažďovány tehdy, kdy dusík nemůže být rostlinou využitý. Je to většinou způsobeno nepříznivými vnějšími podmínkami (teplota, vlhkost, nedostatek světla)<sup>5</sup>.

Dusík je velmi důležitý pro správný růst rostliny. V rostlinném organismu se z něj tvoří aminokyseliny. Z těch se následně tvoří bílkoviny. Nadbytek i nedostatek dusíku rostlině škodí. Pokud je rostlina nedostatečně vyživována dusíkem, tak má nízký vzrůst a žluté listy. Nedostatek celkově snižuje výnos a kvalitu. Nadměrný růst, náchylnost k chorobám, poléhání rostlin jsou příznaky nadměrného příjmu dusíku<sup>9</sup>.

Tabulka 1: **Příklady dusíkatých hnojiv** (převzato z literatury<sup>9</sup>)

Hnojivo	Vzorec	Obsah živin (%)
<b>Ledek vápenatý</b>	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	15 % N, 28 % CaO
<b>Ledek hořečnato-vápenatý</b>	$\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 + \text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	14 % N, 9,5 % MgO, 13,2 % CaO
<b>Ledek sodný (chilský)</b>	$\text{NaNO}_3$	16,5 % N, 27 % Na
<b>Síran amonný</b>	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	20 % N, 24 % S
<b>Kapalný amoniak</b>	$\text{NH}_4\text{OH}$	82 % N
<b>Dusičnan amonný</b>	$\text{NH}_4\text{NO}_3$	34 % N z toho 17% amonná forma, 17 % nitrátová forma
<b>Močovina</b>	$\text{CO}(\text{NH}_2)_2$	46 % N

## 2.5 Dusičnany ve vodě

V dřívějších dobách byla pitná, užitková i závlahová voda zdrojem mnoha virových a bakteriálních chorob. V dnešní době pitné vodě hrozí riziko hlavně v podobě kontaminace cizorodými látkami (chemické látky). Rozsah využívání těchto látek se neustále zvyšuje. Povrchové vody mohou být znečištěny např. komunální kanalizací, zemědělskými hnojivy, různými haváriemi. Cizorodé látky se tak usazují v korytech řek<sup>7</sup>.

Pitná voda musí plnit zdravotnické požadavky. Neměla by obsahovat takové složky, které by negativně ovlivňovaly zdraví člověka i při delším požívání. Obsah těchto látek (dusíkaté, humusové složky, těžké kovy) je přesně vymezen. Obsah dusičnanů je ve vodě ovlivňován mnoha zdroji. Mezi tyto zdroje můžeme zařadit vodní eroze, spady (emise, dešťové srážky), různé roční období a průběh počasí během něho, způsob hnojení, mineralizaci humusu<sup>3</sup>. Dusičnany na druhé straně dodávají vodám dobrou chuť.

Ve vodách se nachází mnoho druhů anorganických iontů. Mezi zásadní můžeme jmenovat dusičnany a orthofosforečnany, dále  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ . Jak již bylo uvedeno, dusičnany se ve vodě vyskytují v podobě  $\text{NO}_3^-$ . Atmosférické srážky, kde jsou obsaženy dusičnany z automobilové dopravy, a především průmyslová hnojiva (nadměrná spotřeba) jsou hlavním zdrojem dusičnanů ve vodách. Dusičnany se z lidského těla poměrně rychle vylučují močí. V přijatelném množství jsou pro lidský organismus málo škodlivé. Obsah dusičnanů v povrchových vodách se pohybuje okolo 10 – 40 mg/l. Koncentrace dusičnanů v podzemních vodách se liší v rámci celé České republiky. V některých oblastech mohou koncentrace dusičnanů dosahovat až 70 mg/l (Jihomoravský kraj), avšak v mnoha studních vybudovaných na venkově překračují hodnotu 100 mg/l<sup>cit.10</sup>.

## 2.6 Dusičnany v potravinách

Denní dávka příjmu dusitanů a dusičnanů se na celém světě liší. Závisí to na stravovacích návycích, na složení půdy, přístupnosti potravin bohatých na tyto látky, na kvalitě pitné vody<sup>11</sup>.

Existuje mnoho studií, které se zabývají rolí dusičnanů a dusitanů v lidském těle. Zkoumá se, zda dusičnany a dusitany přinášejí člověku i nějaká pozitiva. Asi 80 % dusičnanů člověk požije ve formě rostlinné stravy. Dusitany lze nalézt nejčastěji

u zpracovaného masa, ovoce a zeleniny. Je možné, že dusitany a dusičnany ze zeleniny a ovoce mohou mít za následek snížení krevního tlaku. Tato skutečnost vyvolává u lidské společnosti různorodé otázky a zpochybňují se tak zásady, které byly dříve uznávané a které byly považovány za pravdivé. Vědci se shodují na tom, že by bylo dobré znovu přezkoumat roli dusitanů a dusičnanů v potravě a jejich účinky na lidský organismus<sup>12</sup>. Byly prokázány pozitivní ochranné účinky dusitanů podávaných v nízkých dávkách. Jednalo se o částečnou prevenci infarktu myokardu a ischemie jater. Výzkumy byly prováděny na laboratorních myších<sup>13</sup>.

Ovoce a zelenina patří mezi zdravotně velmi významnou složku potravy. Člověku pomáhají svým složením udržovat kondici, mohou být prevencí před různými typy onemocnění (obezita, rakovina trávicího traktu, srdeční onemocnění). Jedná se o potraviny, které neobsahují cholesterol, mají minimum tuku a sodíku. Mají nízkou kalorickou hodnotu. Ovoce a zelenina obsahuje řadu vitamínů (vitamín C, vitamín A, vitaminy skupiny B), minerálních látek, vlákniny<sup>6</sup>. Světelné poměry při pěstování (délka a intenzita slunečního záření), odrůdy zeleniny, konzumovaná část zeleniny patří mezi faktory, které určují obsah dusičnanů v zelenině a konzumních bramborách. Nejvyšší hodnoty dusičnanů obsahuje listová zelenina, nejnižší obsah lusková a plodová zelenina<sup>4</sup>. Pokud se jedná o dusitany, jejich obsah je v čerstvé zelenině poměrně nízký až zanedbatelný. Jestliže je zelenina poškozena, dochází v ní ke kontaminaci bakteriemi obsahujícími nitrátreduktasy. Proto by se měla zelenina správně skladovat a později i zpracovávat<sup>14</sup>.

Obecně lze tedy říci, že nejvyšší obsah dusičnanů se vyskytuje u zeleniny a brambor. Jedlé rostliny jsou podle obsahu dusičnanů rozděleny do tří skupin<sup>5</sup>.

Tabulka 2: **Rozdělení jedlých rostlin** (převzato z literatury<sup>5</sup>)

<b>Druhy s:</b>	<b>Množství (mg/kg)</b>	<b>Jedlé rostliny</b>
<b>Vysoký obsah dusičnanů</b>	> 1000	špenát, mangold, salát, ředkev, pekingské zelí, celer, kukuřice cukrová, ředkvička
<b>Střední obsah dusičnanů</b>	250 - 1000	kapusta, lilek, zelí, květák, brambory, česnek, mrkev, petržel, brokolice

<b>Nízký obsah dusičnanů</b>	< 250	rajčata, artyčoky, okurky, růžičková kapusta, cibule, hrách, chřest
------------------------------	-------	---

Oproti zelenině je množství dusičnanů v ovoci podstatně nižší, někdy až v minimálním množství. Vyšší obsahy bývají v jahodách, melounech a banánech (až 800 mg/kg)<sup>5</sup>.

V některých případech se dusičnany a dusitaný přidávají do potravin a různých produktů k zlepšení chuti, vzhledu a k zabránění nežádoucích pochodů způsobených např. mikroorganismy. Většinou se používá dusitan draselný (KNO<sub>2</sub>) a dusičnan draselný (KNO<sub>3</sub>). Tyto látky mohou za červenou barvu uzeného masa. Za normálních okolností se myoglobin (hemové barvivo) obsažený v maso mění vařením na šedý metmyoglobin. Díky dusitanům se ale přemění po tepelné úpravě až na červený metmyochromogen (nitroxyhemochrom), který je nositelem typické barvy uzeného masa a je v lidském trávicím ústrojí nestravitelný, a proto neškodný. Maso je tak stabilnější proti působení vzdušného dusíku a varem se jeho červená barva nemění<sup>4</sup>. Přidávání dusitanů a dusičnanů do výrobků bylo schváleno u nakládaných masných výrobků, nakládaných sýrů, ryb apod. U dusitanů a dusičnanů byl zjištěn antimikrobiální účinek. Nejčastěji tyto dvě látky působí proti bakteriím rodu *Clostridium botulinum* a *Staphylococcus aureus*<sup>8</sup>. „*Látky zabraňující nežádoucí činnosti mikroorganismů v potravinách nazýváme konzervačními prostředky.*“ (cit. 15). Tyto látky buď potlačují enzymové dráhy, které jsou značně důležité pro růst mikroorganismů, nebo dokonce dané organismy usmrcují. Jestliže dojde k usmrcení veškerých organismů, mluvíme o tzv. baktericidních účincích.

Druhým případem mohou být bakteriostatické účinky. Zde dochází k smrti určité části mikroorganismů a k omezení růstu dané populace. Je zjištěno, že dusičnany a dusitaný působí nejlépe při pH 5,0 – 5,5. Co však není známo, je další osud dusičnanů a dusitanů. Nejspíše vznikají produkty, které nejsou metabolizovány při anaerobních podmínkách<sup>15</sup>.

## 2.7 Laboratorní metody

Existuje celá řada metod, pomocí kterých lze určovat množství dusičnanových a dusitanových aniontů v analyzovaných vzorcích potravin. V praktické části diplomové

práce je využita Griessova metoda pro stanovení dusičnanů a dusitanů pomocí Griessova činidla. Metoda je v této práci podrobněji popsána v praktické části na str. 17.

Následujících několik metod lze využít pro stanovování nejen dusičnanových iontů. Každá metoda je založena na jiném principu a má své specifické požadavky, za kterých měření probíhá. Je nutné si uvědomit, jaké vybavení v laboratoři máme a zda jsme schopni metodu kompletně realizovat.

### **2.7.1 Iontově selektivní elektrody pro stanovení koncentrace dusičnanových iontů v pitné a povrchové vodě**

Měření je vhodné pro zjišťování koncentrace dusičnanových aniontů v pitné a povrchové vodě. Metoda využívá iontově selektivní elektrody. Je založena na měření elektrického potenciálu. Tento potenciál je vytvářen na membráně dusičnanové elektrody, a to v závislosti na aktivitě dusičnanových iontů<sup>16</sup>. Do roztoku se přidá tlumivý roztok a následně se měří potenciál proti elektrodě referentní (standardní kalomelová elektroda).

Koncentrační rozsah dusičnanových aniontů se má pohybovat v rozmezí 10 mg/l - 500 mg/l. Tato elektroda je velmi citlivá na vliv ostatních iontů. Za interferující ionty lze v tomto případě považovat ionty  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Br}^-$ ,  $\text{ClO}_4^-$ ,  $\text{ClO}_3^-$ ,  $\text{CH}_3\text{COO}^-$  aj. Dusičnanovou elektrodou není vhodné měřit obsah dusičnanů v odpadních vodách<sup>16</sup>.

### **2.7.2 Elektroforéza**

Při této metodě dochází k separaci iontů na základě rozdílné pohyblivosti ve stejnosměrném elektrickém poli. Děj probíhá v úzké kapiláře, která je naplněna elektrolytem. Oba konce kapiláry je nutné připojit ke stejnosměrnému zdroji napětí (až 30 kV). Pokud mluvíme o elektrolytu, měl by splňovat určité požadavky. Prvním požadavkem je pohyblivost iontů, které obsahuje. Ta by měla být podobná pohyblivosti zkoumaných iontů. Za druhé je nutné, aby elektrolyt neinterferoval při stanovování iontů v analytu<sup>10</sup>.

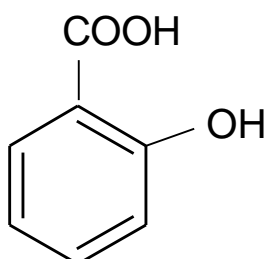
Velmi často se v této metodě využívá spektrofotometrický detektor. Z části kapiláry procházející detektorem se odstraní polyamidová vrstva. Po odstranění této vrstvy je tavený křemen připraven propouštět UV záření. Metoda je přijatelná i pro stanovování složitějších směsí a roztoků s nízkou koncentrací stanovovaných iontů<sup>10</sup>.



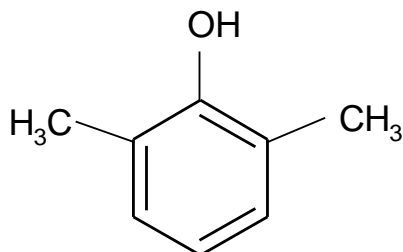
### 2.7.3 Nitrační metody

Tuto metodu můžeme považovat za další z metod, které slouží ke stanovení obsahu dusičnanů v potravinách pomocí fotometrického vyhodnocení. Je mnoho variant činidel, které lze v této metodě použít. Mezi velmi využívané fenolové látky můžeme zařadit kyselinu salicylovou (2 - hydroxybenzoová kyselina) nebo xylenol (2,6 - dimethylfenol).

Principem reakce je navázání  $\text{NO}_2$  - skupiny na příslušné činidlo. Vznikne tak kyselina nitrosalicylová nebo nitroxylenol, které mají žluté zbarvení. Metoda je časově poměrně náročná.



Obrázek 4: **Strukturní vzorec kyseliny salicylové**



Obrázek 5: **Strukturní vzorec xylenolu**

### 2.7.4 Semikvantitativní stanovení dusičnanů brucinem

Metoda je popsána v didaktické části na str. 41. Kromě demonstračního využití, které má rychlý průběh a je didakticky dobře využitelné, existují modifikace této metody, které stabilizují vzniklé červené zbarvení a umožňují tak následné fotometrické vyhodnocení.

### 3 PRAKTICKÁ ČÁST

Obsah dusičnanů a dusitanů v potravinách je v dnešní době značně diskutovaným tématem. Mnoho vědců se zabývá rolí dusičnanů a dusitanů v potravinách a jejich působením na lidské zdraví. V této práci se touto rolí také zabýváme.

Úkolem bylo analyzovat 40 vzorků potravin. Jednalo se o různé druhy uzenin, tvrdých sýrů, ovoce, zeleniny, o různé druhy pitných vod, čajů, alkoholických nápojů apod. Potraviny byly zakoupeny v různých obchodních řetězcích nebo byly získány z domácích zdrojů. Pokud se jednalo o potravinu z domácího zdroje, bylo možné zakoupit stejnou potravinu v obchodním řetězci a následně obě potraviny porovnat. Každá potravina se musela určitým způsobem zpracovat podle přesně stanoveného návodu. Díky tomu byla zaručena přesnost měření bez větších odchylek a nepřesností.

Nejdříve se musel připravit sloupec amorfního kadmia. Poté jsme mohli přejít k přípravě činidel o přesném složení a k přípravě samotných extraktů potravin. Tyto extrakty byly klíčové pro další zpracování. Pevné vzorky se zpracovávaly jiným způsobem než vzorky tekuté.



Obrázek 6: Příklady připravených extraktů

### 3.1 Popis laboratorní metody

Dusičnany extrahované ze vzorku byly redukovány na dusitany elementárním kadmíem ve slabě zásaditém prostředí. Poté došlo k reakci s *Griessovým činidlem*, které je tvořeno kyselinou sulfanilovou (p – aminobenzensulfonová kyselina) a  $\alpha$  – naftylaminem. Následně bylo obsažené množství dusičnanů stanoveno spektrofotometricky (SPEKOL 11).

Původní obsah dusitanů se stanovoval v extraktu vzorku bez předchozí redukce kadmíem. Dusitany se stanovovaly po diazotačně kopulační reakcí s Griessovým činidlem spektrofotometricky (SPEKOL 11).

Každá potravina se zpracovávala určitým způsobem. Výsledkem tohoto zpracování byly tekuté extrakty analyzovaných potravin. Vzorky tekutých potravin nebylo zapotřebí dalším způsobem upravovat. K dalšímu zpracování byly použity vzorky potravin z originálních obalů (lahve, plechovky). Pevné vzorky byly před zpracováním řádně očištěny a nakrájeny na menší kusy. Další postup zpracování těchto vzorků potravin je zobrazen v tabulce č. 3.

Tabulka 3: Postup zpracování potravin

Potravina	Postup zpracování
Pitná voda, minerálky	18 ml vzorku + 2 ml pufru (pH= 6,95) → promíchat → <b>hotový extrakt</b>
Pivo, víno, ovocné zeleninové šťávy apod.	15 ml vzorku + 4 ml pufru (pH= 6,95) + 0,5 ml Carezza I. + 0,5 ml Carreza II. → protřepat, po 10 min zfiltrvat → <b>hotový extrakt</b>
Pevné vzorky (maso, masné výrobky, ovoce, zelenina, luštěniny, sýry apod.)	1 g vzorku + 80 ml destilované vody + 18 ml pufru (pH= 6,95) → rozmixovat → poté přidat 1 ml Carezza I. + 1 ml Carreza II. → krátce mixovat → zfiltrvat → <b>hotový extrakt</b>

#### 3.1.1 Příprava vrstvy elementárního amorfního kadmia a kadmiového sloupce

Do roztoku 20 g síranu kademnatého v 80 ml destil. vody byly vloženy menší kusy pozinkovaného plechu. Roztok s plechem se nechal stát přes noc. Kadmium se na plechu do druhého dne vyloučilo a seškrábalo se z jeho povrchu. V misce se kadmium rozměnilo a několikrát se promylo vodou. Ve vodné suspenzi se vneslo do dvou chromatografických kolonek vhodné velikosti. Vyústění kolonek se zakrylo

zátkou z vaty. Výška kadmia musela být alespoň dva centimetry. Kadmium bylo aktivováno promytím jeho sloupce 2 x 10 ml 0,1 M HCl, 2 x 10 ml destil. vody a 1 x 10 ml pufru (pH = 6,95). Pufř se nechal uzavřený v kolonkách do dalšího stanovování vzorků. Sloupec kadmia bylo možné využít pro velké množství stanovení. Po každé sérii analýz bylo důležité kadmium aktivovat, aby nedocházelo k nepřesnostem ve výsledcích a byla zaručena správnost a spolehlivost měření.



Obrázek 7: Kolony s elementárním kadmíem

### 3.1.2 Stanovení obsahu dusičnanů

#### *Pracovní roztoky:*

Pufř o pH 6,95 (800 ml destil. vody + 20 ml konc. HCl + 50 ml konc.  $\text{NH}_4\text{OH}$  + destil. voda do 1 l), Carrezovo čířící činidlo I. (30 g  $\text{ZnSO}_4$  + 70 ml destil. vody), Carrezovo čířící činidlo II. (15 g ferrokyanidu draselného + 85 ml destil. vody), Griessovo činidlo (roztok kys. sulfanilové (600 mg kys. sulfanilové + 15 ml horké destil. vody + 40 ml konc. kyseliny octové) + roztok  $\alpha$  – naftylaminu (60 mg  $\alpha$  – naftylaminu + 50 ml horké

destil. vody + 50 ml kys. octové) v poměru 1:1), 0,1 M roztok HCl (10 ml konc. HCl + 1 l destil. vody)

***Pracovní postup:***

Na sloupec kadmia v kolonce dávkuje 5 ml (i jiný objem v závislosti na podmínkách) čirého extraktu vzorku. Eluát jímáme do 25 ml odměrné baňky. Následně promyjeme sloupec 2 x 5 ml destil. vody, abychom připravili kolonku na další stanovení. Odměrnou baňku doplníme po rysku. Do zkumavek pipetujeme 5 ml eluátu a 3 ml Griessova činidla (směs obou činidel 1:1). Obsah ve zkumavce dobře promícháme a po třiceti minutách fotometrujeme proti destil. vodě při 530 nm (SPEKOL 11). Měření absorbance se provádí duplicitně a následně se výsledné hodnoty přepočtou na hodnoty průměrné.

### **3.1.3 Stanovení obsahu dusitanů**

***Pracovní roztoky:***

Puf r o pH 6,95 (800 ml destil. vody + 20 ml konc. HCl + 50 ml konc. NH<sub>4</sub>OH + voda do 1 l), Carrezovo čirící činidlo I. (30 g ZnSO<sub>4</sub> + 70 ml destil. vody), Carrezovo čirící činidlo II. (15 g ferrokyanidu draselného + 85 ml destil. vody), Griessovo činidlo (roztok kys. sulfanilové (600 mg kys. sulfanilové + 15 ml horké destil. vody + 40 ml konc. kyseliny octové) + roztok  $\alpha$  – naftylaminu (60 mg  $\alpha$  – naftylaminu + 50 ml horké destil. vody + 50 ml kys. octové) v poměru 1:1), 0,1 M roztok HCl (10 ml konc. HCl + 1 l destil. vody)

***Pracovní postup:***

Při stanovení dusitanů neprovádíme redukci na kadmiovém sloupci. Použijeme zfiltrovaný, čirý extrakt vzorku. Do zkumavek pipetujeme 5 ml zfiltrovaného extraktu vzorku, 3 ml Griessova činidla (směs obou činidel 1:1). Zkumavku dobře promícháme a po třiceti minutách fotometrujeme při 530 nm (SPEKOL 11). Měření absorbance se provádí duplicitně a následně se výsledné hodnoty přepočtou na hodnoty průměrné.

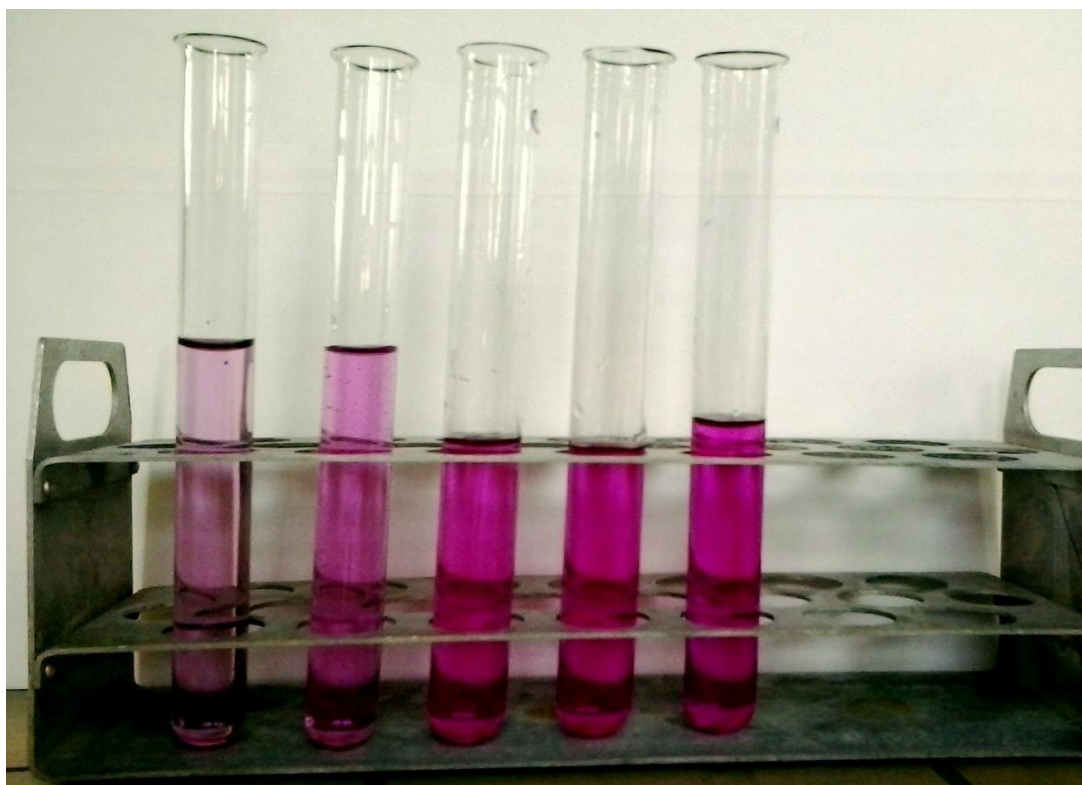
### **3.1.4 Příprava kalibrační křivky**

Pro naše stanovení a následné výpočty bylo nutné sestavit kalibrační křivku. Nejdříve se musel připravit standardní roztok NaNO<sub>3</sub>. Na analytických vahách jsme odměřili 0,1700 g NaNO<sub>3</sub>. Dané množství látky jsme vsypali do odměrné baňky objemu

200 ml, poté jsme přidali 1 ml pufru (pH = 6,95) a nakonec jsme baňku doplnili destil. vodou po rysku. Takto připravený standardní roztok jsme následně dobře promíchali. Z tohoto roztoku jsme odebrali 1 ml, který jsme následně prolili vrstvou elementárního kadmia. Eluát jsme jímali do odměrné baňky o objemu 25 ml. Dávkování do zkumavek probíhalo následujícím způsobem:

1. 0,2 ml eluátu + 4,8 ml destil. vody + 3 ml Griessova činidla (v poměru 1:1)
2. 0,4 ml eluátu + 4,6 ml destil. vody + 3 ml Griessova činidla (v poměru 1:1)
3. 0,6 ml eluátu + 4,4 ml destil. vody + 3 ml Griessova činidla (v poměru 1:1)
4. 0,8 ml eluátu + 4,2 ml destil. vody + 3 ml Griessova činidla (v poměru 1:1)
5. 1 ml eluátu + 4 ml destil. vody + 3 ml Griessova činidla (v poměru 1:1)

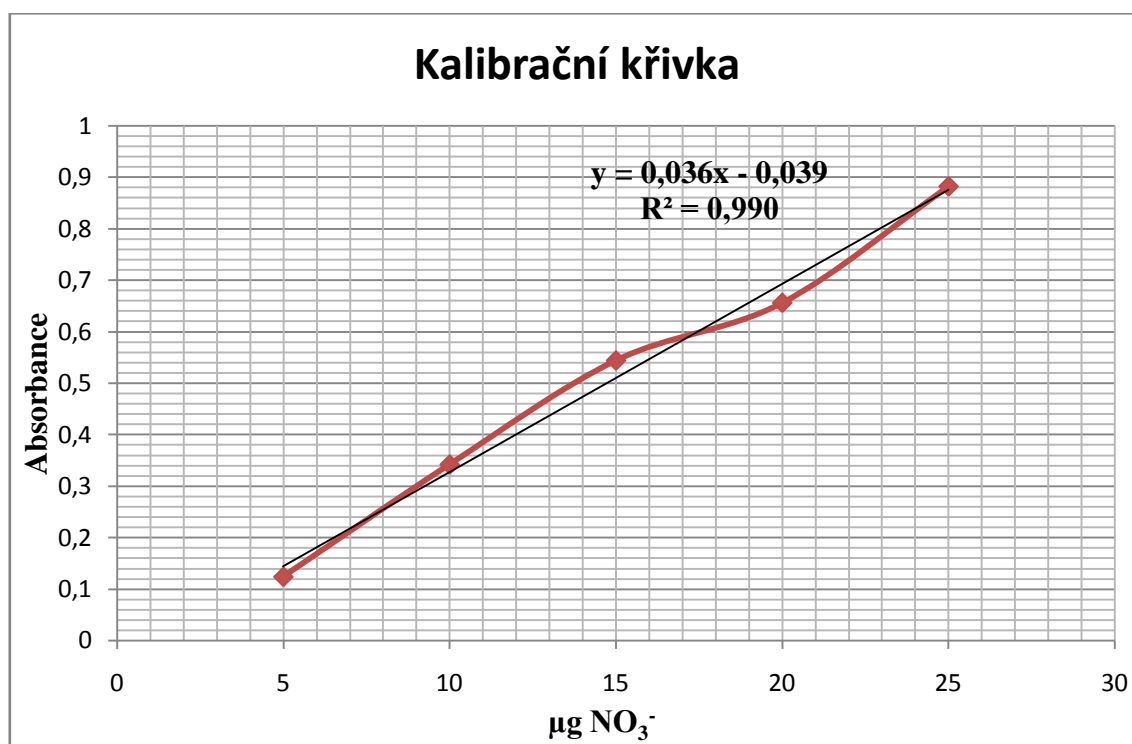
Po dokončení dávkování jsme vyčkali třicet minut a následně jsme intenzitu zbarvení změřili fotometricky proti destil. vodě (SPEKOL 11). Na následujícím obrázku č. 8 můžeme vidět jednotlivé nadávkované zkumavky. Zkumavky byly dávkované postupně zleva (zkumavka č. 1) doprava. Postupně dostávají z levé strany na stranu pravou stále tmavší barvu.



Obrázek 8: Nadávkované zkumavky (zleva 1. až 5. zkumavka)

Ze získaných hodnot měření (SPEKOL 11) bylo možno sestavit následující kalibrační křivku, která udává závislost naměřené absorbance na obsahu dusičnanů ( $\mu\text{g NO}_3^-$ ). Hodnoty na kalibrační křivce slouží k zjišťování obsahu dusičnanů v analyzovaných vzorcích.

Graf 1: Kalibrační křivka



### 3.2 Výpočty

Výsledné hodnoty absorbance, které jsme měřením získali, bylo nutné přepočítat. Výpočty se lišily v závislosti na tom, zda původní analyzovaný vzorek byl v pevném či kapalném stavu, dále v jakém množství byly čiré extrakty aplikované na kadmiový sloupec. Uvedeme si zde čtyři základní postupy, podle kterých byla většina absorbancí analyzovaných vzorků přepočtena. Jednotlivé výpočty vycházejí z postupu laboratorní práce a z výsledků absorbancí standardního roztoku (1. – 5. zkumavka).

#### 3.2.1 Množství dusičnanů u pevných vzorků

V tabulce č. 4 jsou v levém sloupci zaznamenány hodnoty absorbancí různě nadávkovaného standardního roztoku a v pravém sloupci příslušné hodnoty obsahu

dusičnanů, které těmto absorpčním odpovídají. Následující údaje slouží k přepočtení hodnot absorpčních všech analyzovaných vzorků.

Tabulka 4: **Kalibrační hodnoty**

Absorbance	$\mu\text{g NO}_3^-$
0,124	<b>5</b>
0,342	<b>10</b>
0,544	<b>15</b>
0,656	<b>20</b>
0,882	<b>25</b>

*Příklad: Výpočet obsahu dusičnanů u bílé papriky*

**1 g bílé papriky** → objem 100 ml (80 ml destil. vody + 18 ml pufru + 1 ml Carezza I. + 1 ml Carreza II.)

→ z extraktu ( $V = 100$  ml) odebráno 5 ml (50 mg bílé papriky) → vloženo na sloupec Cd → jímáno do odměrné baňky velikosti 25 ml

→ z eluátu ( $V = 25$  ml) odebráno 5 ml (10 mg bílé papriky) → *absorbance* = 0,253

0,342..... 10  $\mu\text{g NO}_3^-$

0,253..... x  $\mu\text{g}$  → x = 7,39  $\mu\text{g NO}_3^-$

10 mg bílé papriky = 7,39  $\mu\text{g}$

10 g = 7,39 mg

1000 g = 739 mg  $\text{NO}_3^-$

### 3.2.2 Množství dusičnanů u kapalných vzorků

*Příklad: Výpočet obsahu dusičnanů ve vodě Magnesia*

**15 ml vody Magnesia** → objem 20 ml (15 ml + 4 ml pufru + 0,5 ml Carezza I. + 0,5 ml Carreza II.)

→ z extraktu ( $V = 20$  ml) odebráno 5 ml (3,75 ml vody Magnesia) → vloženo na sloupec Cd → jímáno do odměrné baňky velikosti 25 ml



→ z eluátu ( $V = 25$  ml) odebráno 5 ml (0,75 ml vody Magnesia) →  
*absorbance* – 0,126

$$0,124 \dots \dots \dots 5 \mu\text{g NO}_3^-$$

$$0,126 \dots \dots \dots x \mu\text{g} \rightarrow x = 5,08 \mu\text{g NO}_3^-$$

$$0,75 \text{ ml vody Magnesia} = 5,08 \mu\text{g}$$

$$750 \text{ ml} = 5,08 \text{ mg}$$

$$\underline{1000 \text{ ml} = 6,77 \text{ mg NO}_3^-}$$

### 3.2.3 Množství dusitanů u pevných vzorků

Zde neprobíhá redukce na kadmiovém sloupci.

*Příklad: Výpočet obsahu dusitanů u salámu Vysočina*

**1 g salámu Vysočina** → objem 100 ml (80 ml destil. vody + 18 ml pufru + 1 ml Carezza I. + 1 ml Carreza II.)

→ z extraktu ( $V = 100$  ml) odebráno 5 ml (50 mg vzorku) → *absorbance* – 0,121

$$0,124 \dots \dots \dots 5 \mu\text{g NO}_2^-$$

$$0,121 \dots \dots \dots x \mu\text{g} \rightarrow x = 4,88 \mu\text{g NO}_2^-$$

$$50 \text{ mg salámu Vysočina} = 4,88 \mu\text{g}$$

$$50 \text{ g} = 4,88 \text{ mg}$$

$$\underline{1000 \text{ g} = 97,6 \text{ mg NO}_2^-}$$

### 3.2.4 Množství dusičnanů u kapalných vzorků

*Příklad: Výpočet obsahu dusičnanů ve vodě Korunní jemně perlivá*

**15 ml vody Korunní jemně perlivá** → objem 20 ml (15 ml + 4 ml pufru + 0,5 ml Carezza I. + 1 ml Carreza II.)

→ z extraktu ( $V = 20$  ml) odebráno 5 ml (3,75 ml Korunní jemně perlivá) →  
*absorbance* – 0,035

$$0,124 \dots \dots \dots 5 \mu\text{g NO}_2^-$$

$$0,035 \dots \dots \dots x \mu\text{g} \rightarrow x = 1,41 \mu\text{g NO}_2^-$$

3,75 ml vody Korunní jemně perlivá = 1,41  $\mu\text{g}$

1000 ml = 376  $\mu\text{g NO}_2^-$

1000 ml = 0,376 mg NO<sub>2</sub><sup>-</sup>

### 3.3 Výsledky a diskuze

V následující tabulce jsou zaznamenány potraviny, které byly použity pro laboratorní analýzu. Jedná se o široké spektrum potravin. Liší se složením, konzistencí, výživovými látkami nebo způsobem jejich průmyslové výroby. Následující potraviny jsou lidmi běžně konzumované. Mnohé z nich jsou přijímány do organismu ve velkém množství, což nemusí být prospěšné lidskému zdraví. Potraviny byly seřazeny do skupin podle příbuznosti.

Tabulka 5: Testované vzorky potravin

	<b>POTRAVINA</b>	<b>Původ, značka, obchodní řetězec</b>
1.	<b>Pitná voda Poděvousy</b>	Vrt Poděvousy
2.	<b>Korunní jemně perlivá</b>	Billa
3.	<b>Voda Chrást</b>	Voda ze zavalené štoly z dolu sv. Víta v Chrástu
4.	<b>Magnesia perlivá</b>	Billa
5.	<b>Ice Tea citronový</b>	Lidl, Tanja
6.	<b>Voda Saguaro citronová</b>	Lidl
7.	<b>Džus Pomeranč 100%</b>	Lidl
8.	<b>Džus Hello Jablečná šťáva 100%</b>	Billa
9.	<b>Džus Multivitamin Hello 100%</b>	Billa
10.	<b>Pivo Gambrinus světlé</b>	Billa
11.	<b>Pivo Krušovice tmavé</b>	Billa
12.	<b>Rum Božkov tuzemský</b>	Tesco
13.	<b>Fernet Stock Citrus</b>	Tesco

14.	<b>Becherovka originál</b>	Tesco
15.	<b>Víno červené Frankovka</b>	Penny
16.	<b>Víno bílé Chenin Blanc</b>	Cimarosa, Penny
17.	<b>Jablko Rubín</b>	Česká Republika
18.	<b>Jablko Golden Delicious</b>	Česká Republika
19.	<b>Jahody červené</b>	Španělsko, Billa
20.	<b>Pomeranč</b>	Španělsko, Penny
21.	<b>Paprika bílá</b>	Španělsko
22.	<b>Paprika bílá domácí</b>	Poděvousy
23.	<b>Mrkev pozdní</b>	Španělsko, Tesco
24.	<b>Ředkvička</b>	Španělsko
25.	<b>Cherry rajčata</b>	Španělsko
26.	<b>Rajče keříčkové domácí</b>	Poděvousy
27.	<b>Brambory konzumní pozdní</b>	Španělsko
28.	<b>Česnek</b>	Španělsko
29.	<b>Cibule domácí</b>	Poděvousy
30.	<b>Petržel kořenová</b>	Slovensko, Billa
31.	<b>Sýr Eidam 30 %</b>	ZKD Sušice
32.	<b>Sýr Jihočeský eidam 45%</b>	ZKD Sušice
33.	<b>Sýr uzený horácký</b>	ZKD Sušice
34.	<b>Sýr Cabernet</b>	Billa
35.	<b>Vepřová šunka od kosti</b>	95 % masa, Le&Co, Billa
36.	<b>Salám Vysočina</b>	Baroni, Lidl
37.	<b>Libový párek</b>	ZKD Sušice
38.	<b>Klobása se sýrem</b>	ZKD Sušice
39.	<b>Salám Uherák</b>	Řezník Staňkov
40.	<b>Šumavská klobása</b>	ZKD Sušice

### 3.3.1 Dusičnany

Tabulka č. 6 udává výsledný obsah dusičnanů u různých druhů nápojů. Toto široké spektrum zahrnuje jak nealkoholické, tak i alkoholické nápoje. Obsah dusičnanů ve vodách je limitován lokalitou, ve které se pramenitá a pitná voda získávají. Je

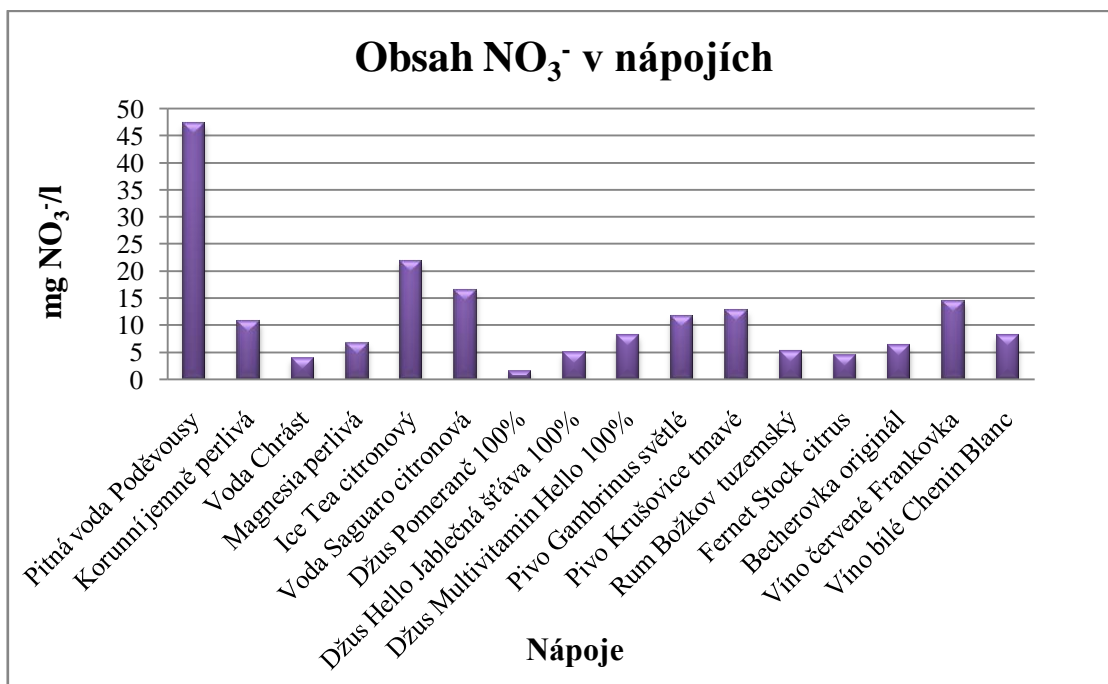
všeobecně známo, že pramenité vody mají oproti pitným vodám upraveným z povrchových toků vyšší obsah dusičnanů. U průmyslově zpracovaných vzorků záleží na obsahu dusičnanů ve vodách, jež jsou do nápojů přidávány při výrobě, u ovocných a zeleninových šťáv je zdrojem dusičnanů příslušná rostlinná složka. Z tabulky je zřejmé, že nejnižší obsah dusičnanů u analyzovaných vzorků se vyskytuje u pomerančového džusu, jablečné šťávy a u vody z Chrástu, která má kvalitu vody kojenecké, ale zároveň se nepije. Naopak nejvyšší obsah dusičnanů se nalézá u pitné vody z Poděvous. Jedná se o vrt, který je umístěn blízko zemědělského družstva a je ze všech stran obklopen ornou půdou, která je pravidelně hnojena. Je doporučeno nahrazovat část denního příjmu této vody vodou balenou. Vyšší obsah dusičnanů jsme našli u citronového ledového čaje Ice Tea, citronové vody Saguaro a u červeného vína Frankovka. V žádném z analyzovaných druhů vod obsah dusičnanů nepřekračoval hygienický limit pro dospělé (50 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/l).

Tabulka 6: **Obsah dusičnanů v nápojích**

<b>NÁPOJE</b>	<b>mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/l</b>
Pitná voda Poděvousy	<b>47,3</b>
Korunní jemně perlivá	<b>10,72</b>
Voda Chrást	<b>3,92</b>
Magnesia perlivá	<b>6,67</b>
Ice Tea citronový	<b>21,82</b>
Voda Saguaro citronová	<b>16,53</b>
Džus Pomeranč 100%	<b>1,6</b>
Džus Hello Jablečná šťáva 100%	<b>4,9</b>
Džus Multivitamin Hello 100%	<b>8,17</b>
Pivo Gambrinus světlé	<b>11,66</b>
Pivo Krušovice tmavé	<b>12,78</b>
Rum Božkov tuzemský	<b>5,32</b>
Fernet Stock citrus	<b>4,4</b>
Becherovka originál	<b>6,4</b>
Víno červené Frankovka	<b>14,45</b>
Víno bílé Chenin Blanc	<b>8,17</b>

Pro přehlednější srovnání výsledných hodnot obsahů dusičnanů v jednotlivých nápojích byl sestaven graf č. 2, ve kterém je zobrazeno všech šestnáct druhů analyzovaných nápojů. Je zřejmé, že nejvyšší obsah dusičnanů nalezneme ve vodě z Poděvous a naopak nejnižší obsah v pomerančovém džusu.

Graf 2: **Obsah dusičnanů v nápojích**



Tabulka č. 7 zobrazuje obsah dusičnanů v různých vzorcích ovoce. Toto množství je ve většině případů u ovoce velice nízké. Z následujících čtyř vzorků mají nejvyšší obsah dusičnanů jahody. Nejnižší obsah mají oba druhy jablek a pomeranč. Toto zjištění je pro populaci České republiky značně pozitivní. Právě jablka ale i citrusy patří v naší společnosti k nejvíce konzumovaným druhům ovoce.

Tabulka 7: **Obsah dusičnanů v ovoci**

OVOCE	mg NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /kg
Jablko Rubín	161
Jablko Golden Delicious	222
Jahody	962
Pomeranč	338

Následující tabulka č. 8 vyjadřuje obsah dusičnanů v zelenině získaný při analýzách vzorků potravin. Jak jsme se již dozvěděli, zelenina by měla být jednou

z komodit, která obsahuje vysoký obsah dusičnanů. Mezi zástupce s nejvyšším obsahem dusičnanů lze zařadit ředkvičky, dále pozdní brambory, pozdní mrkev nebo domácí bílou papriku. Nižší obsah dusičnanů nalezneme u cibule a u Cherry rajčat.

Tabulka 8: **Obsah dusičnanů v zelenině**

<b>ZELENINA</b>	<b>mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/kg</b>
Paprika bílá	<b>739</b>
Paprika bílá domácí	<b>1053</b>
Mrkev pozdní	<b>1018</b>
Ředkvička	<b>2494</b>
Cherry rajčata	<b>540</b>
Rajče keříčkové domácí	<b>883</b>
Brambory konzumní pozdní	<b>1160</b>
Česnek	<b>716</b>
Cibule domácí	<b>325</b>
Petržel kořenová	<b>990</b>

Tabulka č. 9 udává obsah dusičnanů v různých druzích sýrů a masných výrobcích, které jsou v naší populaci značně konzumovány. V dřívějších letech byly právě dusičnany přidávány do těchto výrobků ke zlepšení chuti a dále sloužily jako ochrana před nežádoucími mikrobiálními pochody. V dnešní době se dusičnany nahrazují dusitany. I přes toto tvrzení analýzy těchto vybraných vzorků prokázaly, že obsahují stále vysoké množství dusičnanů. Nejvyšší obsah dusičnanů byl nalezen u Šumavské klobásy, u Vepřové šunky od kosti (95 % masa) a u salámu Vysočina. Nižší obsah dusičnanů lze nalézt u tvrdých sýrů.

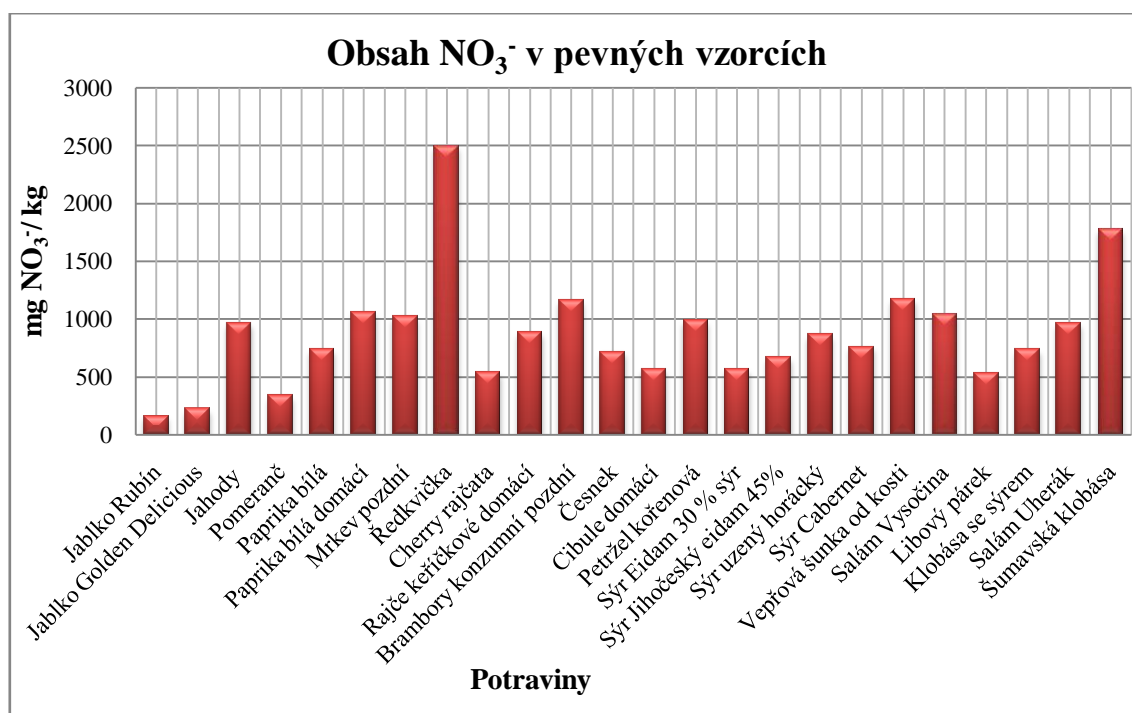
Tabulka 9: **Obsah dusičnanů v sýrech a uzeninách**

<b>SÝRY, UZENINY</b>	<b>mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/kg</b>
Sýr Eidam 30 %	<b>569</b>
Sýr Jihočeský eidam 45%	<b>667</b>
Sýr uzený horácký	<b>863</b>
Sýr Cabernet	<b>760</b>
Vepřová šunka od kosti	<b>1172</b>

Salám Vysočina	<b>1040</b>
Libový párek	<b>532</b>
Klobása se sýrem	<b>737</b>
Salám Uherák	<b>962</b>
Šumavská klobása	<b>1774</b>

Graf č. 3 zobrazuje výsledné hodnoty dusičnanů ve všech čtyřiaadvaceti pevných vzorcích. Je zřejmé, že nejvyšší obsah dusičnanů je prokázán u ředkvičky, dále u Šumavské klobásy, u Vepřové šunky od kosti a u konzumních pozdních brambor. Nejnižší množství dusičnanů bylo stanoveno u obou druhů jablka a u pomeranče.

Graf 3: **Obsah dusičnanů v pevných vzorcích**



### 3.3.2 Dusitany

Obsah dusitanů ve stanovovaných potravinách byl ve většině případů pod mezí detekce. Pouze několik procent z těchto potravin mírně přesahovalo mez detekce, díky čemuž bylo vhodné zařadit tyto hodnoty do výsledků. Jednalo se především o uzeniny a o jahody. Nízký obsah dusitanů v potravinách je velmi žádaný. Jak již bylo řečeno, v dnešní době se dusitany přidávají do uzenin nebo např. k uloveným rybám místo dusičnanů ke zlepšení chuti, vzhledu. Jejich největší předností je,

že mohou sloužit v jiných potravinách jako konzervační prostředky. Je nutné si uvědomit, že dusitany mohou vznikat v potravinách bakteriální redukcí dusičnanů.

Tabulka 10: **Potraviny s nejvyšším obsahem dusitanů**

POTRAVINY	mg NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> /l; mg NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> /kg
Jahody	89,4
Salám Vysočina	97,6
Salám Uherák	108,8
Šumavská klobása	105,6

Tabulka č. 11 zobrazuje potraviny s nejnižším obsahem dusitanů. Velmi důležité je zjištění, že voda z Poděvous, která má nejvyšší obsah dusičnanů, obsahuje zároveň velmi nízký obsah dusitanů. Stejný výsledek lze nalézt i u citronového ledového čaje.

Tabulka 11: **Potraviny s nejnižším obsahem dusitanů**

POTRAVINY	mg NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> /l; mg NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> /kg
Pitná voda Poděvousy	0,333
Korunní jemně perlivá	0,376
Voda Chrást	0,129
Ice Tea citronový	0,290
Jablko Rubín	20,16
Jablko Golden Delicious	17,74
Pomeranč	19,36
Rajče keříčkové domácí	0,130

### 3.3.3 Vyhodnocení celkového průměrného příjmu dusičnanů potravinami

V České republice dochází každoročně ke zjišťování množství spotřebovaných potravin na obyvatele za rok. Tyto statistiky slouží k porovnávání spotřebovaného množství těchto potravin v jednotlivých letech. Dokazují, zda je trend spotřeby těchto potravin na vzestupu či naopak. Pokud se jedná o pevné vzorky, jsou potraviny přepočteny na kg/osoba/rok. Jestliže se jedná o různé druhy nápojů, jsou tyto hodnoty přepočteny na l/osoba/rok.



V tabulce č. 12 je zaznamenáno dělení vybraných potravin podle databáze spotřeby potravin, které byly použity jako analyzované vzorky v této práci. Dále se zde nacházejí zjištěné statistické hodnoty spotřeby těchto potravin v kg/os./rok nebo l/os./rok.

Databázi spotřeby potravin nám poskytla paní Ing. Olga Štiková z Ústavu zemědělské ekonomiky a informací v Praze. Databáze je neúplná. Je rozdělena na základní skupiny potravin, a to na pekárenské výrobky, maso, mléko a mléčné výrobky, tuky, ovoce, zeleninu včetně luštěnin a brambor, cukr a cukrářské výrobky, ostatní potraviny, nealkoholické a alkoholické nápoje. V rámci každé z těchto skupin je jen omezený počet konkrétních potravin a ostatní potraviny jsou shrnuty do označení „ostatní“. Mnoho důležitých komodit chybí. Jedná se o uzeniny, různé druhy jogurtů, sýrů, ztužených tuků aj.

Do spotřeby masa v hodnotě na kosti jsou zařazeny všechny druhy masa (hovězí, vepřové, králičí, telecí, koňské, kozí, skopové, zvěřina, drůbež). Spotřeba uzenin se v České republice nesleduje. Do spotřeby sýrů patří sýry vyrobené z mléka kravského, ovčímho nebo kozímho. Jedná se o sýry tavené nebo sýry přírodní (měkké, tvrdé, plísňové). Čerstvé ovoce lze rozdělit do dvou skupin, a to na ovoce mírného pásma (peckovité, jádrovité, bobulovité druhy) a na ovoce jižních zemí (tropické a subtropické ovoce). Zelenina se dělí na zeleninu košťálovou, listovou, luskovou, cibulovou, plodovou a kořenovou. Je určena ke přímé spotřebě uživatelům nebo pro výrobu produktů ze zeleniny (např. nakládané okurky, kysané zelí). Do výsledné hodnoty spotřeby brambor jsou zařazeny všechny druhy brambor, které jsou určené k přímé spotřebě populace nebo k výrobě produktů z brambor (např. krokety, hranolky, hotová bramborová jídla, bramborové knedlíky v prášku apod.)<sup>17</sup>.

Do spotřeby minerálních vod a nealkoholických nápojů lze zařadit sodové a minerální vody, limonády, ovocné a zeleninové šťávy, sirupy. Mezi alkoholické nápoje řadíme nápoje s více než 0,5 % alkoholu. Patří sem ušlechtilé lihoviny s více než 22,5 % alkoholu, emulzní likéry (výčepní lihoviny, vaječné likéry) s 20 % alkoholu. Všechny lihoviny bývají přepočítávány na lihoviny se 40 % alkoholu. Do spotřeby vín se řadí všechny druhy vín (hroznové, sladové, šumivé, ovocné) a medovina. Dále se sleduje spotřeba všech druhů pív. Jedná se o pivo ležák, pivo výčepní, diapivo, nealkoholické pivo, pivo víceprocentní, dále pivo světlé a tmavé v sudech nebo lahvích<sup>17</sup>.

Tabulka 12: **Spotřeba potravin na obyvatele České republiky za rok 2012** (převzato z literatury<sup>17)</sup>)

<b>DĚLENÍ</b>	<b>POTRAVINY</b>	<b>kg/os./rok l/os./rok</b>
<b>Maso v hodnotě na kosti</b>	všechny druhy masa celkem	<b>77,4</b>
	vepřové maso	<b>41,3</b>
<b>Sýry</b>	tavené sýry	<b>2,2</b>
	přírodní sýry	<b>11,2</b>
<b>Ovoce v hodnotě čerstvého</b>	jablka	<b>19,1</b>
	pomeranče a mandarinky	<b>11,3</b>
<b>Zelenina v hodnotě čerstvého</b>	rajčata	<b>10,7</b>
	paprika	<b>5,2</b>
	cibule	<b>9,3</b>
	česnek	<b>0,9</b>
	mrkev	<b>6,1</b>
	petržel	<b>0,7</b>
	brambory	<b>68,6</b>
<b>Minerální vody, nealkoholické nápoje</b>	celkem	<b>278,0</b>
	minerální vody	<b>63,0</b>
	ostatní nápoje	<b>76,0</b>
<b>Alkoholické nápoje</b>	lihoviny 40%	<b>6,7</b>
	víno hroznové	<b>17,5</b>
	pivo celkem	<b>148,6</b>

Průměrná váha osoby žijící v České republice je stanovena na 70 kg. Ve světě se udává průměrná váha jedné osoby 60 kg. ADI (Acceptable Daily Intake – přípustný

denní příjem) pro dospělého člověka ve světě je stanoven na 3,7 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/kg/den. Jestliže je průměrná váha osoby žijící v České republice 70 kg, obsah NO<sub>3</sub><sup>-</sup> poté odpovídá 259 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/os./den. Pokud se jedná o dusitany, je ADI stanoven na 0,06 mg NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/kg/den což odpovídá limitu 4,2 mg NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/os./den<sup>18</sup>.

Výsledky výzkumů v Evropě a v USA jsou celkem srovnatelné. V Evropě se odhady příjmů dusičnanů z potravy pohybují v rozmezí 31 - 185 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/os. (60 kg)/den, v USA 40 - 100 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/os. (60 kg)/den. Příjem dusitanů z potravy se pohybuje v hodnotách 0 - 20 mg NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/os. (60 kg)/den<sup>18</sup>.

Analýzy potravin ve světě jsou založeny na analýze tisíců různých vzorků potravin (evropská databáze udává 46000 vzorků), kdy analyzované vzorky jedné komodity pochází z různých lokalit v odlišném čase, jsou jiné odrůdy a stáří<sup>18</sup>. Naše laboratorní práce se řídí pouze 40 různými vzorky.

Náš výběr těchto vzorků potravin byl náhodný. Je možné, že při pořizování některých vzorků mohl nastat případ, že právě námi vybraný vzorek mohl být určitým způsobem ovlivněn. Potravinu mohla vyrůst v oblasti, kde je prokázán zvýšený výskyt dusičnanů v půdě i ve vodních zdrojích. Do masných výrobků zpracovávaných technologickými postupy mohly být přidány místo dusitanů dusičnany. Pro přesnější měření a pro vyloučení chyb by bylo dobré analyzovat vždy alespoň deset vzorků jedné potraviny zároveň. Za našich laboratorních a časových podmínek bylo nutné analýzu provádět pouze jednou. Je zřejmé, že vybraných 40 vzorků potravin neobsáhne široké spektrum potravin nacházejících se na našem trhu.

Jednotlivé komodity jsme v maximální možné míře shrnuli do jednotlivých skupin, které udává tabulka č. 13. Odhadem či jinak (tabulka č. 12) jsme poté určili spotřebu v kg/os./rok nebo l/os./rok.

Jak jsme již zmínili, získaná databáze potravin není úplná. U analyzovaných potravin, u kterých jsme nezjistili průměrnou roční spotřebu, jsme pro výpočet velikosti příjmu NO<sub>3</sub><sup>-</sup> použili postup, který uvádíme na příkladu uzenin:

*Analýzováno šest druhů uzenin:*

Databáze poskytuje pouze údaj o celkové spotřebě vepřového masa (41,3 kg/os./rok).

*Naše úvaha:* Uzeniny se vyrábějí převážně z vepřového masa (není-li uvedeno jinak, např. drůbeží uzeniny). Asi ½ vepřového masa se prodá jako maso výsekové, druhá polovina (20,65 kg) se zpracuje na uzeniny.

Šest druhů uzenin, které jsme analyzovali, je konzumováno přibližně ve stejných množstvích, tj. po 3,4 kg/os./rok neboli 9,3 g/os./den. Zjištěný průměrný obsah  $\text{NO}_3^-$  v každém ze šesti druhů analyzovaných uzenin jsme přepočítali na jeho celkovou spotřebu - celkový příjem  $\text{NO}_3^-$  tímto druhem uzeniny. Hodnotu 3,4 jsme vynásobili námi zjištěnými obsahy dusičnanů (mg  $\text{NO}_3^-$ /kg; mg  $\text{NO}_3^-$ /l) u příslušných analyzovaných vzorků. Takto se postupovalo i při výpočtech příjmu dusičnanů sýry.

Nakonec se údaje o příjmu  $\text{NO}_3^-$  všemi analyzovanými potravinami sečetly, a tak se získal základní výsledek - celkový průměrný příjem dusičnanů všemi potravinami (v mg/os./rok nebo v mg/os./den).

Za předpokladu, že průměrná tělesná hmotnost jednoho člověka v České republice je 70 kg, spočítáme 1/70 podíl z předchozí hodnoty. Vznikne tak průměrný denní příjem dusičnanů na jeden kilogram tělesné hmotnosti na den (mg  $\text{NO}_3^-$ /kg/den).

Tabulka 13: Velikosti příjmu dusičnanů potravinami

POTRAVINY	Průměrné spotřebované množství l/os./rok kg/os./rok	Výsledky analýzy mg $\text{NO}_3^-$ /kg mg $\text{NO}_3^-$ /l (průměrné hodnoty)	mg $\text{NO}_3^-$ /os. (70 kg)/rok	mg $\text{NO}_3^-$ /os. (70 kg)/den	mg $\text{NO}_3^-$ /kg/den
<b>Pitná voda Poděvousy</b>	356,0	47,3	17265,0	47,3 (nezapočítává se)	0,676
<b>Voda v ČR průměrně</b>	365,0	15,0	5475,0	<b>15,0</b>	<b>0,214</b>
<b>Minerální vody</b> (Magnesia perlivá, Korunní jemně perlivá)	63,0	8,7	548,1	<b>1,5</b>	<b>0,021</b>
<b>Ostatní nápoje</b> (Ice Tea citronový, voda Saguaro citron.)	76,0	19,2	1459,2	<b>4,0</b>	<b>0,057</b>

<b>Ovoce jižní</b> (pomeranč, džus Pomeranč 100%, džus Multivitamin 100%)	11,3	115,9	1309,7	<b>3,6</b>	<b>0,051</b>
<b>Jablka, Jableč. šťáva 100%</b>	19,1	129,3	2469,6	<b>6,8</b>	<b>0,097</b>
<b>Ostatní ovoce mírného pásma (jahody)</b>	0,9	962,0	866,0	<b>2,4</b>	<b>0,034</b>
<b>Pivo</b> (Gambrinus svět., Krušovice tmavé)	148,6	12,2	1812,9	<b>5,0</b>	<b>0,071</b>
<b>Lihoviny 40%</b> (Fernet Stock Citrus, Becherovka, Rum Božkov)	6,7	5,4	36,0	<b>0,1</b>	<b>0,001</b>
<b>Víno hroznové</b> (červené a bílé)	17,5	11,3	198,0	<b>0,5</b>	<b>0,007</b>
<b>Paprika bílá</b>	5,2	896,0	4659,0	<b>12,8</b>	<b>0,183</b>
<b>Mrkev pozdní</b>	6,1	1018,0	6210,0	<b>17,0</b>	<b>0,242</b>
<b>Rajčata</b> (keříčková, Cherry rajčata)	10,7	711,5	7613,0	<b>20,8</b>	<b>0,299</b>
<b>Brambory konzumní pozdní</b>	68,6	1160,0	79576,0	<b>218,0</b>	<b>3,114</b>
<b>Česnek</b>	0,9	716,0	644,0	<b>1,8</b>	<b>0,026</b>
<b>Cibule</b>	9,3	325,0	3022,5	<b>8,3</b>	<b>0,118</b>
<b>Petržel kořen.</b>	0,7	990,0	693,0	<b>1,9</b>	<b>0,027</b>

<b>Sýry celkem</b> (Eidam 30%, Eidam 40%, sýr Uzený horácký, sýr Cabernet)	13,4	<i>Jiný způsob výpočtů než u předchozích partií.</i>	<b>26,3</b>	<b>0,376</b>
<b>Uzeniny</b> (Vepřová šunka, Vysočina, Uherák, Lib. párek, Šum. klobása, Klobása se sýrem)	20,65		<b>58,0</b>	<b>0,829</b>
<b>Průměrný denní příjem NO<sub>3</sub><sup>-</sup> osoby o hmotnosti 70 kg:</b>			<b>403,8</b>	<b>5,767</b>
<b>ADI (pro 70 kg osobu)</b>			<b>259,0</b>	<b>3,7</b>

Mezi nejvýznamnější komodity, které ovlivňují denní příjem dusičnanů, patří zejména pitná voda, zelenina a uzeniny. Pitné vody by měl každý člověk vypít denně okolo tří litrů. Existují lokality (vrt Poděvousy), ve kterých se značně mění množství dusičnanů v závislosti na ročním období. Tento zdroj pitné vody se nachází pod zemědělským družstvem a z každé strany ho obklopují orná pole, která se na jaře pravidelně hnojí, což může mít za následek zvýšení obsahu dusičnanů v této vodě. Lidé tuto vodu z velké části nahrazují vodou balenou. Velmi důležitý je nízký obsah dusitanů v této vodě. Je pravděpodobné, že pitná voda z Poděvous se svým složením za vhodných podmínek může přibližovat složení plzeňské vody. Ve výsledcích jsme použili údaj o průměrném obsahu NO<sub>3</sub><sup>-</sup> v pitné vodě v ČR uvedený ve zprávě o Monitoringu v ČR v r. 2011 (15 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/l pitné vody<sup>19</sup>). Zároveň předpokládáme, že průměrná denní spotřeba pitné vody ke konzumním účelům je přibližně 1 l/os., zbývající spotřeba pitné vody je kryta balenou vodou. Z uvedených údajů vyplývá, že pitnou vodou přijímáme 15 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/os./den, tj. 15/70 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/kg/den.

Podle Monitoringu z roku 2011 se denní příjem dusičnanů přijímaný v pitné vodě podílí asi 6 % na celkové expozici dusičnanům. Dalším významným faktem je,

že 6,6 % pitné vody v České republice překračuje limit obsahu dusičnanů 50 mg/l. Zvýšené expozici dusitanům v pitné vodě je vystaveno asi 5 % populace<sup>19</sup>.

Voda ze zavalené štoly z dolu sv. Víta v Chrástu není ve výsledcích uvedena, neboť obyvatelé Chrástu a jeho okolí tuto vodu nepijí.

Minerální vody jsou u obyvatel České republiky velice oblíbené, neboť obsahují minerální látky důležité z různých hledisek pro lidský organismus.

Velice oblíbené jsou dále různé sladké nápoje a čaje. Průměrný Čech spotřebuje těchto nápojů až 76 l ročně<sup>17</sup>. Problém spočívá v obsahu dusičnanů ve vodě, která se při výrobě těchto nápojů využívá, a zároveň je velkým problémem obsah sacharidů a jiných přídatných látek. Zvýšené požívání těchto nápojů hlavně v mladém věku může vést k obezitě, v horším případě až k diabetes mellitus. Je velmi žádoucí učit malé děti již od útlého věku pít především čistou neperlivou vodu.

Zelenina představuje další významnou složku denního příjmu dusičnanů. Je všeobecně známo, že právě zelenina je jednou z komodit, které obsahují vysoká množství dusičnanů a zároveň patří mezi komodity, které jsou lidmi vysoce konzumované. Zeleninu řadíme mezi velmi zdravé potraviny s nízkou kalorickou hodnotou, vysokým obsahem vlákniny a vitamínů. Díky vysoké spotřebě zeleniny dochází i k příjmu vysokých dávek dusičnanů. Toto tvrzení představuje vyšší skryté riziko pro vegetariány na rozdíl od omnivorních jedinců. Obsah dusičnanů v zelenině je ovlivňován používanými dusíkatými hnojivy během sezóny. Zelenina sklizená na jaře má ve většině případů vyšší obsah dusičnanů než zelenina sklizená na podzim.

V různých částech rostlinného organismu se nachází různá množství dusičnanů. Nejvíce dusičnanů se vyskytuje v listech, řapících, stoncích, méně v kořenech a nejméně v semenech<sup>18</sup>.

Ovoce obsahuje na rozdíl od zeleniny podstatně nižší obsah dusičnanů. Vyšší obsah dusičnanů byl zjištěn pouze u jahod ze Španělska. Jablka a pomeranče patří v naší společnosti k vysoce konzumovaným druhům ovoce. Obsah dusičnanů v těchto dvou partiích je nízký, což je pozitivní pro zdraví populace.

Další partií lidmi hojně konzumovanou jsou brambory. Průměrný Čech spotřebuje ročně až 68,6 kg brambor<sup>17</sup>. Při našich laboratorních analýzách nám vyšel značně vysoký obsah dusičnanů u vzorku bramboru pocházejícího ze Španělska. Zde nastává případ, kdy jsme zřejmě vybrali vzorek, který se vymyká průměrným vzorkům. Zvýšený obsah dusičnanů mohl být způsoben přehnojením pole v dané oblasti výskytu.

Laboratorní metoda stanovování dusičnanů v bramborách byla naprosto totožná s laboratorní metodou u ostatních vzorků potravin.

Maso a masné výrobky jsou další významnou partií. Celkem se ročně spotřebuje 77,4 kg masa/os. (všechny druhy masa)<sup>17</sup>. Výsekové vepřové maso (41,3 kg/os./rok<sup>17</sup>) se z jedné poloviny využívá jako čerstvé maso určené spotřebitelům pro přímou spotřebu. Druhá polovina se využívá pro přípravu uzenin. Otázkou zůstává, jaký vliv mají masné výrobky na lidské zdraví. Jedná se o přesolené potraviny s vysokým obsahem cholesterolu. Jako prevence civilizačních chorob je možnost omezení masných výrobků na minimum. Již dříve bylo zmíněno, že se do těchto výrobků místo dusičnanů přidávají dusitany ke zlepšení chuti, vzhledu a pro potlačení mikrobiálních pochodů. V našich laboratorních analýzách nám ale vyšel i vyšší obsah dusičnanů. Metodický postup byl opět totožný s metodickými postupy laboratorní analýzy ostatních vzorků potravin. Jednou z možností tohoto zjištění je, že do uzenin byly přidány dusičnany. Dříve se do masných výrobků přidávaly právě dusičnany, které se poté ve výrobku zredukovaly na dusitany. Nové technologické postupy v dnešní době uplatňují dávkování již hotových dusitanů o přesně stanoveném množství do těchto potravin.

Celkový denní příjem dusičnanů z potravin nelze přesně stanovit, lze ho pouze nastínit. Našich 40 vzorků potravin neobsáhne celé široké spektrum potravin obsahující dusičnany a dusitany.

Ve výsledcích se nezabýváme stanovením průměrného denního příjmu dusitanů. Naprostá většina analyzovaných vzorků obsahuje nedetekovatelné množství dusitanů. Výjimkou jsou uzeniny a část ovoce (jahody). Jejich konzum v množství 100 g denně by byl spojen s příjmem 5 a více mg dusitanů, tzn. s dávkou překračující ADI (4,2 mg NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/os./den). Příčinou by opět mohl být náhodný odběr výjimečně kontaminovaných vzorků, ale také předávkování dusitanů výrobcí uzenin nebo zpětná redukce dusičnanů na dusitany ve výrobcích.

Pokud sečteme hodnoty dusičnanů v mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/os.(70 kg)/den u všech analyzovaných potravin v tabulce č. 13, získáme průměrný denní příjem dusičnanů jednou osobou. V našem případě nám vychází hodnota **403,8 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/os./den**. Hygienický limit je stanoven na 3,7 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/kg/den, což odpovídá 259 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/os./den. Z výsledných hodnot vyplývá, že námi zjištěný denní příjem převyšuje platné ADI o 55,9 %. Tato hodnota může být značně zkreslena okolnostmi, že při našich analýzách byl zpracován vždy jeden vzorek určité potraviny, u kterého vlivem zvláštních okolností byl obsah NO<sub>3</sub><sup>-</sup> značně zvýšený (v mezinárodních



přehledech výskytu  $\text{NO}_3^-$  v potravinách jsou vždy uváděny hodnoty až v několika řádových rozptylech). Při oficiálním stanovování obsahu  $\text{NO}_3^-$  v potravinách jsou zpracovány stovky až tisíce vzorků téže potraviny. V našem případě je zvýšené ADI dáno tím, že nám vyšel značně vysoký obsah dusičnanů u vzorku pozdního bramboru a zvýšený obsah dusičnanů u uzenin. Náš konečný výsledek  $403,8 \text{ mg NO}_3^-/\text{os.}/\text{den}$  by odpovídal skutečnosti pouze tehdy, pokud by jedna osoba konzumovala všechny námi analyzované vzorky během jednoho dne.

Laboratorní metoda, která byla námi využita, je časově velmi náročná. Abychom získali pozitivní výsledky, bylo by nutné několikrát opakovat paralelní analýzy různých vzorků téhož druhu potraviny (alespoň 10 krát).

## 4 DIDAKTICKÁ ČÁST

### 4.1 Didaktika chemie

Didaktiku chemie považujeme za vědní disciplínu. Již z názvu je zřejmé, že hlavním cílem bude vzdělávání žáků základních škol a studentů středních škol v oboru chemie. Žáci a studenti by měli objevovat nové postupy, díky kterým by měli mít možnost si kvalitně osvojit vzdělávací cíle z oboru chemie. Učivo si tak žáci mohou naučit během krátké doby s malou námahou. Učitel zastává v procesu vzdělávání velmi významnou roli. Mezi činnosti, které by každý učitel měl ovládat, patří např. organizační, plánovací nebo realizační a regulující schopnosti<sup>20</sup>.

Umění učit je jeden ze základních předpokladů každého zdatného učitele. Vzdělávat druhé by mělo každému učiteli přinášet uspokojení ze své práce. Kdysi byli učitelé považováni za velmi vážené osoby. V dnešní době by se o tomto tvrzení dalo polemizovat. Jen málokdo si dovede představit, co všechno toto povolání obnáší. Ať již mluvíme o znalostech, zodpovědnosti za druhé, stresu, povinnostech nebo např. o nedostatku času. Pokud si ale člověk toto povolání vybere, neměl by později litovat. Vidět kladné výsledky své práce, budit zájem u druhých lidí, vést děti k dospělosti, zodpovědnosti a pomáhat jim s různými problémy, by mělo učitele naplňovat.

V této části práce se nachází návrh demonstračního pokusu pro stanovení obsahu dusičnanů brucinem, dále dva úkoly, které souvisejí s tématem práce. Studentům středních škol by měly pomoci rozšířit znalosti a všeobecný přehled z problematiky dusitanů a dusičnanů a zároveň u nich vzbudit zájem o další zkoumání v této oblasti.

Demonstrační pokus byl vyzkoušen v laboratoři k upřesnění podmínek, za kterých pokus probíhá. Jedná se o pokus, který má motivační funkci. Žáci mohou na vlastní oči vidět stanovení obsahu dusičnanů ve svém vzorku pitné vody.

#### 4.1.1 Semikvantitativní stanovení dusičnanů brucinem

##### **Princip:**

Tento pokus by se měl provádět nejlépe v laboratoři. Jde o reakci dusičnanů s brucinem v silně kyselém prostředí. Je zde nutné upozornit, že se jedná pouze o demonstrační pokus (předvádí pouze učitel), neboť brucin patří mezi **velmi jedovaté látky**. Žáci základních škol a studenti středních škol nesmí s těmito látkami přijít do styku. Standardy, které si učitel připraví předem, slouží k porovnání zbarvení, a tedy i k porovnání množství dusičnanů se vzorkem. Je zřejmé, že standard 15 mg NaNO<sub>3</sub>/l bude mít slabší červené zbarvení než standard 50 mg NaNO<sub>3</sub>/l.

Brucin (C<sub>23</sub>H<sub>26</sub>O<sub>4</sub>N<sub>2</sub>) je látka patřící do skupiny alkaloidů. Jedná se o velmi jedovatou látku, která je příbuzná strychninu. Roku 1818 byl brucin spolu se strychninem izolován z kulčiby obecné (Strychnos nux – vomica). Již požití 2 mg brucinu člověka ohrožuje na zdraví<sup>21</sup>.

##### **Pomůcky:**

3 zkumavky (V = 20 ml), pipety (V = 1 ml, V = 2 ml), odměrná baňka (V = 1 l), lžička, analytické váhy, stojánek na zkumavky, skleněná tyčinka

##### **Chemikálie:**

brucin (C<sub>23</sub>H<sub>26</sub>O<sub>4</sub>N<sub>2</sub>), vzorek (pitná voda), dusičnan sodný (NaNO<sub>3</sub>), konc. kyselina sírová (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), destilovaná voda, voda z vodovodu

##### **Postup:**

1. Učitel předem zadá několika studentům úkol přinést si z domova pitnou vodu z vodovodu.
2. Učitel si předem připraví dva standardní roztoky NaNO<sub>3</sub> (1. 15 mg/l; 2. 50 mg/l).
3. Při hodině se do připravených zkumavek postupně dává:

##### **1. zkumavka:**

0,2 - 0,5 ml vzorku + 2 ml konc. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> → chladit pod tekoucí vodou + přibližně 10 mg brucinu → dobře promíchat

### **2. zkumavka:**

0,2 - 0,5 ml standardu (15 mg NaNO<sub>3</sub>/l) + 2 ml konc. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> → chladit pod tekoucí vodou + přibližně 10 mg brucinu → dobře promíchat

### **3. zkumavka:**

0,2 - 0,5 ml standardu (50 mg NaNO<sub>3</sub>/l) + 2 ml konc. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> → chladit pod tekoucí vodou + přibližně 10 mg brucinu → dobře promíchat

4. Pozor! Obsah zkumavky by mohl silně prskat!
5. Následně je ve zkumavkách možné detekovat červené zbarvení.
6. Zároveň lze porovnat zbarvení vzorku se zbarvením standardů a odhadnout tak množství dusičnanů ve stanovovaném vzorku žáka.

#### **4.1.2 Úkol č. 1: Tajenka**

Prvním ze dvou úkolů je tajenka. Je vhodné ji předložit studentům na začátku hodiny jako opakování předešlé učební látky. Studenti mohou pracovat buď samostatně formou samostatné práce, nebo ve dvojicích formou práce skupinové. Jedná se o aktivizační metodu, která by u cílové skupiny měla vzbudit zájem. V zadání je přiložené správné řešení tajenky.

Úkol 1: Doplň následující tajenku:

1.								
2.								
3.								
4.								
5.								6.
7.								
8.								
9.								

1. Triviální název dusíkatého hnojiva  $\text{NaNO}_3$ .
2. Plyn, který se v atmosféře vyskytuje v nejvyšším množství.
3. Prvek, který leží v PSP v V. A skupině na 2. místě.
4. Dusitany jsou soli kyseliny ...
5. Triviální název amoniaku ( $\text{NH}_3$ ).
6. Latinský název dusíku.
7. Ledky se v zemědělství využívají jako ...
8. Značka dusíku.
9. Nitroglycerin je nažloutlá kapalina sloužící k výrobě ...

Úkol: Doplň následující tajenku (Řešení):

1.	L	E	D	E	K							
2.	D	U	S	Í	K							
3.	F	O	S	F	O	R						
4.	D	U	S	I	T	A						
5.	Č	P	A	V	E	K						
	N	I	T	R	O	G	E	N	I	U	M	6.
7.	H	N	O	J	I	V	A					
8.	N											
9.	D	Y	N	A	M	I	T					

1. Triviální název dusíkatého hnojiva  $\text{NaNO}_3$ .
2. Plyn, který se v atmosféře vyskytuje v nejvyšším množství.
3. Prvek, který leží v PSP v V. A skupině na 2. místě.
4. Dusitany jsou soli kyseliny ...
5. Triviální název amoniaku ( $\text{NH}_3$ ).
6. Latinský název dusíku.
7. Ledky se v zemědělství využívají jako ...
8. Značka dusíku.
9. Nitroglycerin je nažloutlá kapalina sloužící k výrobě ...

### 4.1.3 Úkol č. 2: Doplnovací cvičení

Následující úkol je vhodný spíše pro studenty středních škol. Jedná se o samostatnou nebo skupinovou práci ve dvojicích, ve které studenti získají další nové a zajímavé poznatky z probíraného učiva. Úkol je vhodný předložit dětem na začátku nebo na konci hodiny, neboť je důležité rozvíjet u žáků zájem o danou problematiku a o jejich následné samostatné bádání. Pod úkolem je přiloženo správné řešení úkolu.

**Úkol 2:** Vyber a doplň následující slova do textu:

Nitráty (neboli \_\_\_\_\_ a \_\_\_\_\_) můžeme nalézt v potravinách, v půdách nebo např. ve vodách. Nízký obsah  $\text{NO}_3^-$  je pro člověka \_\_\_\_\_. Jejich význam spočívá v tom, že  $\text{NO}_3^-$  se mohou \_\_\_\_\_ na  $\text{NO}_2^-$ . Dusitany mohou u dětí, ale i \_\_\_\_\_ osob, způsobovat tzv. \_\_\_\_\_ (modráni). Jde o proces, kdy se hemové dvojmocné železo  $\text{Fe}^{2+}$  mění na železo trojmocné \_\_\_\_\_. Forma  $\text{Fe}^{3+}$  není schopna přenášet \_\_\_\_\_. Vědci se dále zabývají rolí dusitanů na \_\_\_\_\_ člověka. U dospělých osob se dusitany mohou kondenzovat v trávicím ústrojí s aminy a vznikají N-nitrosoaminy, které jsou \_\_\_\_\_. Velmi výrazně jsou ohroženi \_\_\_\_\_. Jako ochrana před těmito procesy slouží např. vitamin C, \_\_\_\_\_ a \_\_\_\_\_.  $\text{NO}_2^-$  se v mnoha případech přidávají do masných výrobků (uzené maso, polotovary, šproty, aj.) ke zlepšení \_\_\_\_\_ a vzhledu. Dusičnany a dusitany mají také \_\_\_\_\_ účinek (př. Clostridium botulinum). Můžeme je tedy považovat za \_\_\_\_\_.

**Nabídka slov:**

<i>Kyslík</i>	<i>chuti</i>	<i>dospělých</i>	<i><math>\text{Fe}^{3+}</math></i>	<i>dusičnany</i>	<i>kuřáci</i>
<i>vláknina</i>		<i>redukovat</i>	<i>dusitany</i>	<i>karcinogenní</i>	
<i>antimikrobiální</i>		<i>stabilizátory</i>	<i>neškodný</i>	<i>vitamin E</i>	
<i>zdraví</i>		<i>methemoglobinémii</i>			

**Řešení:**

Slova jsou seřazena za sebou podle pořadí v textu: *dusičnany, dusitany, neškodný, redukovat, dospělých, methemoglobinémii,  $\text{Fe}^{3+}$ , kyslík, zdraví, karcinogenní, kuřáci, vitamin E, vláknina, chuti, antimikrobiální, stabilizátory.*

## 5 ZÁVĚR

Tato diplomová práce měla za úkol zjistit obsah dusičnanů a dusitanů u běžně konzumovaných potravin a stanovit jejich předpokládaný denní příjem v naší populaci. Seznámili jsme se s tím, proč je nutné zabývat se rolí dusičnanů a dusitanů v potravinách, jaké mohou mít dusitany a dusičnany účinky na zdraví při dlouhodobém užívání, kde všude můžeme obě složky v přírodě nalézt. Shrňeme-li výsledky, nalezneme určité, někdy až překvapivé závěry.

Tabulky č. 6 – 9 udávají výsledné obsahy dusičnanů u všech 40 analyzovaných vzorků ( $\text{mg NO}_3^-/\text{kg}$ ;  $\text{mg NO}_3^-/\text{l}$ ). Nejvyšší obsah dusičnanů u tekutých vzorků byl nalezen u pitné vody z Poděvous, u ledového čaje Ice Tea a citrónové vody Saguario. Nejnižší obsah dusičnanů byl stanoven u pomerančového džusu 100% a u Jablečné šťávy Hello 100%. Jestliže se jedná o pevné vzorky potravin, můžeme v grafu č. 3 vidět, že nejvyšší obsah dusičnanů byl nalezen u ředkvičky, pozdního bramboru, Šumavské klobásky a u Vepřové šunky od kosti, pozdní mrkve a bílé papriky.

Tabulky č. 10 – 11 demonstrují výsledné obsahy dusitanů ( $\text{mg NO}_2^-/\text{kg}$ ;  $\text{mg NO}_2^-/\text{l}$ ) u vybraných druhů analyzovaných vzorků potravin. Obsahy dusitanů v analyzovaných potravinách byly poměrně nízké, díky čemuž jsme se ve výsledcích nevěnovali stanovení průměrného denního příjmu dusitanů v potravinách. Zvýšený obsah dusitanů byl nalezen v uzeninách a v jahodách. Konzumování těchto potravin by bylo spojeno s příjmem 5 a více  $\text{mg NO}_2^-/\text{os.}/\text{den}$ , tzn. s dávkou překračující ADI ( $4,2 \text{ mg NO}_2^-/\text{os.}/\text{den}$ ).

V kapitole 3.3.3 jsme se podrobně věnovali stanovení průměrného denního příjmu dusičnanů v potravinách jednou osobou během jednoho dne. Je zřejmé, že našich 40 vzorků neobsáhne široké spektrum potravin na trhu. Jednotlivé partie potravin jsme co nejvíce shrnuli podle příbuznosti do skupin. Z údajů, které byly získány z databáze nebo pomocí logického odhadu (sýry, uzeniny), jsme určili spotřebu daných potravin za rok (tabulka č. 12). Díky našim výsledným hodnotám, které jsme získali pomocí laboratorních analýz ( $\text{mg NO}_3^-/\text{kg}$ ;  $\text{mg NO}_3^-/\text{l}$ ), bylo možné spočítat průměrný příjem dusičnanů v  $\text{mg NO}_3^-/\text{os. (70 kg)}/\text{rok}$ , poté v  $\text{mg NO}_3^-/\text{os. (70 kg)}/\text{den}$  a v  $\text{mg NO}_3^-/\text{kg}/\text{den}$ . Výsledné hodnoty udává tabulka č. 13.

Námi zjištěný celkový příjem dusičnanů u analyzovaných vzorků potravin (403,8 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/os. (70 kg)/den) překračuje oficiální údaj ADI (259 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/os. (70 kg)/den) o 55,9 %. Tento rozdíl je podrobně vysvětlen v kapitole 3.3.3.

V didaktické části této práce jsme se zabývali didaktickým zpracováním našeho tématu pro žáky středních škol. Navrhli jsme jeden demonstrační pokus s brucinem, jehož podrobné zadání nalezneme na str. 41. Dále jsme vypracovali dva samostatné úkoly. V prvním případě se jednalo o tajenku, ke které bylo přiloženo i správné řešení. V druhém případě jsme připravili doplňovací cvičení. Žáci vybírají slova z nabídky slov a poté je doplňují do textu. Opět bylo k doplňovacímu cvičení přiloženo správné řešení.



## 6 SEZNAM LITERATURY

1. Šalgovičová D., Krížová S.: Exposure of the population of the Slovak Republic to nitrates. In: *Journal of Food and Nutrition Research*, **2006**, 45, pp. 89-95.
2. Lhoták J.: Metody vyhodnocení kvality pitné vody. Bakalářská práce. Plzeň 2011.
3. Číhalík J., Hajšlová J., Penk J., Sedláček O., Svítíl J., Šindelářová J., Turek B., Zima S.: Zdravotní nezávadnost potravin. Zemědělské nakladatelství Brázda, Praha 1991, 144 s.
4. Prugar J., Prugarová A.: Dusičnany v zelenině. Příroda, Bratislava 1985, 150 s.
5. Velíšek J.: Chemie potravin 3. Osis, Tábor 1999, 368 s.
6. Bártová M.: Rozdíly v hodnotách vybraných ukazatelů antioxidačního potenciálu v různých částech ovoce a zeleniny. Bakalářská práce. Plzeň 2012.
7. Kalač P., Tříška J.: Chemie životního prostředí. JU ZF České Budějovice, České Budějovice 1998, 147 s.
8. Iammarino M., Di Taranto A., Cristino M.: Endogenous levels of nitrites in wide consumption foodstuffs: results of five years of official controls and monitoring. In: *Food chemistry*, **2012**, 140 (2013) 763 - 771.
9. Richter R., Hlušek J.: Průmyslová hnojiva, jejich vlastnosti a použití. Institut výchovy a vzdělávání MZe ČR, Praha 1996, 52 s.
10. Popl M., Fahnrich J.: Analytická chemie životního prostředí. Ediční a audiovizuální centrum VŠCHT, Praha 1995, 263 s.
11. Erkekoglu P., Sipahi H., Baydar T.: Evaluation of Nitrite in Ready-Made Soups. In: *Food Anal. Methods*. **2009**, 2:61-65.
12. G. Hord N., Tang Y., S. Bryan N.: Food sources of nitrates and nitrites: the physiologic context for potential health benefits. In: *The American Journal of Clinical Nutrition*. **2009**, 90:1 – 10.
13. Lundberg O. J., Carlström M., Larsen J. F., Weitzberg E.: Roles of dietary inorganic nitrate in cardiovascular health and disease. In: *Cardiovascular Research*. **2011**. 89, 525 – 532.
14. Chan, Thomas Y. K.: Vegetable-borne nitrate and nitrite and the risk of methaemoglobinaemia. In: *Toxicology letters*. **2011**, 107-108.
15. Davídek J., Janíček G., Pokorný J.: Chemie potravin. SNTL, Praha 1983.

16. Schindler J.: Iontově selektivní elektrody ve vodohospodářských laboratořích. MLVH ČSR, Praha 1985, 38 s.
17. Spotřeba potravin 2012, <http://www.czso.cz/csu/2013edicniplan.nsf/p/2139-13>, staženo 31. 5. 2014.
18. N. G. Hord, Y. Tang, N. S. Bryan: Food sources of nitrates and nitrites: the physiologic context for potential health benefits. In: *Am. J. Clin. Nutr.* **2009**, 90: 1-10.
19. Systém monitorování zdravotního stavu obyvatelstva České republiky ve vztahu životnímu prostředí. **Praha 2011**. Souhrnná zpráva za rok 2010.
20. Čípera J., Svoboda L.: Didaktika chemie I. JU ZF v Českých Budějovicích, České Budějovice 2000, 102 s.
21. Staněk J.: Alkaloidy. ČSAV, Praha 1957, 653 s.

## 7 RESUMÉ

In these days nitrites ( $\text{NO}_2^-$ ) and nitrates ( $\text{NO}_3^-$ ) in food are widely discussed topics. It is examined if these substances cause various diseases (cancer of the digestive tract, methaemoglobinaemia) or if they can be beneficial to the health. Therefore, it is important that the health limit of its intake was respected (ADI - Acceptable daily intake).

Our laboratory analysis confirmed the presence of nitrates and nitrites in all 40 analyzed samples of foods. The high content of nitrates occurred mainly in vegetables and potatoes, in strawberries but also in meat products. The increased occurrence of nitrates in meat products is notable because nitrites are added to meat products instead of nitrates. Nitrate content in vegetables is determined by the place where plants are grown and by methods of fertilization. The content of nitrates and nitrites in industrially produced foods depends on their concentration in added water. In our samples has nitrites occurred very rarely. Higher content of nitrites was found in sausages and strawberries. We pursue not to nitrite in the results of this diploma thesis.

It is desirable to pay attention to the intake of nitrates and nitrites by children and adults. We consider as very important to limit the intake of meat products and replace a part of the daily intake of drinking water with the bottled water.

## SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: <b>Metabolismus dusičnanů v lidském organismu</b> (převzato z literatury <sup>4</sup> ) ....	5
Obrázek 2: <b>Vznik N-nitrososloučenin ze sekundárních aminů</b> (převzato z literatury <sup>4</sup> ) .....	6
Obrázek 3: <b>Koloběh dusíku v přírodě</b> (převzato z literatury <sup>4</sup> ).....	9
Obrázek 4: <b>Strukturní vzorec kyseliny salicylové</b> .....	15
Obrázek 5: <b>Strukturní vzorec xylenolu</b> .....	15
Obrázek 6: <b>Příklady připravených extraktů</b> .....	16
Obrázek 7: <b>Kolony s elementárním kadmíem</b> .....	18
Obrázek 8: <b>Nadávkové zkumavky</b> (zleva 1. až 5. zkumavka).....	20

## SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: <b>Příklady dusíkatých hnojiv</b> (převzato z literatury <sup>9</sup> ).....	10
Tabulka 2: <b>Rozdělení jedlých rostlin</b> (převzato z literatury <sup>5</sup> ).....	12
Tabulka 3: <b>Postup zpracování potravin</b> .....	17
Tabulka 4: <b>Kalibrační hodnoty</b> .....	22
Tabulka 5: <b>Testované vzorky potravin</b> .....	24
Tabulka 6: <b>Obsah dusičnanů v nápojích</b> .....	26
Tabulka 7: <b>Obsah dusičnanů v ovoci</b> .....	27
Tabulka 8: <b>Obsah dusičnanů v zelenině</b> .....	28
Tabulka 9: <b>Obsah dusičnanů v sýrech a uzeninách</b> .....	28
Tabulka 10: <b>Potraviny s nejvyšším obsahem dusitanů</b> .....	30
Tabulka 11: <b>Potraviny s nejnižším obsahem dusitanů</b> .....	30
Tabulka 12: <b>Spotřeba potravin na obyvatele České republiky za rok 2012</b> (převzato z literatury <sup>17</sup> ).....	32
Tabulka 13: <b>Velikosti příjmu dusičnanů potravinami</b> .....	34

## SEZNAM GRAFŮ

Graf 1: Kalibrační křivka .....	21
Graf 2: Obsah dusičnanů v nápojích .....	27
Graf 3: Obsah dusičnanů v pevných vzorcích.....	29