



Hochschule für Angewandte Wissenschaften Hamburg
Hamburg University of Applied Sciences

Fakultät Life Sciences

Department Ökotoxikologie

**Veränderungen der Nitrat- und Nitritgehalte
ausgewählter Gemüse- und Salatsorten in Abhängigkeit
von Lager- und Verarbeitungsbedingungen**

– Diplomarbeit –

vorgelegt am:

27. August 2009

von:

Ludmilla Heck

Referent:

Prof. Dr. Michael Häusler

Korreferent:

Dipl.-Ing. Klaus Kösling

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Michael Häusler bedanken für die interessante Themenstellung sowie für die stete Erreichbarkeit und Betreuung.

Außerdem möchte ich mich bei Herrn Kösling bedanken für die Übernahme des Korreferats sowie für die Unterstützung bei der Bearbeitung der Diplomarbeit.

Des Weiteren möchte ich mich ganz herzlich bei Frau Neugebauer, Frau Brohmann und Herrn Graß bedanken für die Hilfestellung bei der Durchführung der Untersuchungen.

Danken möchte ich auch meiner Familie, die mich während der gesamten Zeit mental unterstützt und mir viel Geduld entgegengebracht hat.

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	7
2.	Zielsetzung	9
Allgemeiner Teil		
3.	Nitrat	10
3.1	Nitratstoffwechsel im Boden und Pflanze	11
3.2	Nitratgehalte in verschiedenen Lebensmitteln	15
3.2.1	Nitratgehalt in Gemüse	15
3.2.2	Nitrat in Trinkwasser	26
3.2.3	Nitrat als Zusatzstoff	27
3.3	Nitrataufnahme und Stoffwechsel im menschlichen Körper	29
3.4	Toxizität von Nitrat	33
4.	Nitrit	34
4.1	Nitritgehalte in verschiedenen Lebensmitteln	34
4.1.1	Nitritgehalt in Gemüse	35
4.1.2	Nitrit als Zusatzstoff	35
4.2	Nitritaufnahme und Stoffwechsel im menschlichen Körper	37
4.3	Toxizität von Nitrit	41
4.4	positive Wirkungen von Nitrit im menschlichen Körper	43
5.	Nitrosamine	44
5.1	Nitrosamine in verschiedenen Lebensmitteln	44
5.2	Nitrosaminaufnahme und Stoffwechsel im menschlichen Körper	45
5.3	Toxizität von Nitrosaminen	47
6.	Bedeutung der Reaktionskette Nitrat-Nitrit-Nitrosamine als gesundheitliches Risiko	48
7.	Einfluss von Lagerung und Verarbeitung von Gemüse auf ihren Nitrat- und Nitritgehalt	49

7.1	Lagerung von Lebensmitteln	49
7.1.1	Lagerung bei Raumtemperatur	49
7.1.2	Lagerung bei Kühltemperatur	50
7.1.3	Lagerung bei Tiefkühltemperaturen	51
7.2	Verarbeitung von Lebensmitteln	51
7.2.1	Waschen	51
7.2.2	Schälen	52
7.2.3	Kochen	52
7.2.4	andere Verarbeitungsmethoden	54
8.	Hochleistungs-Flüssigchromatographie (HPLC)	55
8.1	Allgemeines	55
8.2	Grundlagen und Prinzip der Methode	58

Experimenteller Teil

9.	Experimentelle Durchführung	62
9.1	Reagenzien	62
9.2	Geräte	63
9.3	Durchführung der Bestimmung	66
9.3.1	Herstellung des Eluenten	66
9.3.2	Kalibrierung des Ionenchromatographen	66
10.	Probenauswahl	69
11.	Probenvorbereitung und Darstellung der Ergebnisse	70
11.1	Eisbergssalat	71
11.1.1	Untersuchung der Nitratverteilung im Salat	71
11.1.1.1	Probenvorbereitung	72
11.1.1.2	Ergebnisse	73
11.1.1.3	Erläuterung der Ergebnisse	74
11.1.2	Lagerversuch	75

11.1.2.1	Untersuchung des im Ganzen gelagerten Salats	77
11.1.2.1.1	Probenvorbereitung	77
11.1.2.1.2	Ergebnisse	77
11.1.2.1.3	Erläuterung der Ergebnisse	78
11.1.2.2	Untersuchung des zerkleinert gelagerten Salats	79
11.1.2.2.1	Probenvorbereitung	79
11.1.2.2.2	Ergebnisse	79
11.1.2.2.3	Erläuterung der Ergebnisse	81
11.1.2.3	Bestimmung des Stickstoffgehaltes nach Kjeldahl	83
11.1.2.3.1	Probenvorbereitung	84
11.1.2.3.2	Ergebnisse	85
11.1.2.3.3	Erläuterung der Ergebnisse	86
11.2	Broccoli	87
11.2.1	Vergleich des rohen und gekochten Broccoli	87
11.2.1.1	Probenvorbereitung	87
11.2.1.2	Ergebnisse	88
11.2.1.3	Erläuterung der Ergebnisse	89
11.2.2	Vergleich der gekochten und bei unterschiedlichen Bedingungen gelagerten Broccoli	90
11.2.2.1	Probenvorbereitung	90
11.2.2.2	Ergebnisse	90
11.2.1.3	Erläuterung der Ergebnisse	92
11.3	tiefgefrorener Blattspinat	93
11.3.1	Vergleich des rohen und gekochten Blattspinats (Tiefkühlprodukt)	93
11.3.1.1	Probenvorbereitung	94
11.3.1.2	Ergebnisse	94
11.3.1.3	Erläuterung der Ergebnisse	95

11.3.2	Vergleich der gekochten und bei unterschiedlichen Bedingungen gelagerten Blattspinats (Tiefkühlprodukt).....	96
11.3.2.1	Probenvorbereitung	96
11.3.2.2	Ergebnisse	97
11.3.2.3	Erläuterung der Ergebnisse	99
12.	Diskussion	99
12.1	Eisbergsalat	100
12.1.1	Nitratverteilung in den einzelnen Fraktionen eines Kopfes Eisbergsalat	100
12.1.2	Lagerversuch Eisbergsalat	101
12.2	Broccoli	103
12.2.1	Vergleich des rohen und gekochten Broccoli	103
12.2.2	Vergleich des gekochten und bei unterschiedlichen Bedingungen gelagerten Broccoli	104
12.3	tiefgefrorener Blattspinat	105
12.3.1	Vergleich des rohen und gekochten Blattspinats (Tiefkühlprodukt)	105
12.3.2	Vergleich des gekochten und bei unterschiedlichen Bedingungen gelagerten Blattspinats (Tiefkühlprodukt).....	106
13.	Fazit	108
	Zusammenfassung.....	110
	Abstract	113
	Abstract	114
	Abbildungsverzeichnis.....	115
	Tabellenverzeichnis.....	117
	Literaturverzeichnis.....	118
	Eidesstattliche Erklärung	125
	Anhang	126

1. Einleitung

Nitrat (NO_3^-) ist ein natürlich vorkommender Bestandteil unserer Erde, daher kommt es auch ohne menschlichen Eingriff im Boden und in den Pflanzen vor. Dabei ist es sowohl in lebenden als auch in verwesenden Pflanzen und Tieren, einschließlich den Menschen, enthalten (EFSA, 2008, S. 6). Außerdem wird Nitrat auch in der Landwirtschaft als Düngemittel und bei der Lebensmittelherstellung in bestimmten Fleischwaren, Käse- und Fischprodukten als Zusatzstoff eingesetzt (EFSA, 2008, S. 6; BfR, 2009, S. 1).

Für Pflanzen ist Nitrat essentiell, da sie diesen zum Wachsen und Aufbau von Eiweiß benötigen. Deshalb akkumulieren einige Gemüsearten Nitrat in höherem Maße. Jedoch ist die Nitratakkumulation neben den genetischen noch von vielen umweltbedingten Faktoren abhängig wie z.B. der Saison, Lichtintensität, Temperatur, Wachstumsbedingungen, Düngermiteinsatz und Lagerung von Gemüse (EFSA, 2008, S. 6).

Der Mensch nimmt das Nitrat hauptsächlich exogen durch Gemüse (besonders durch Blattgemüse), Trinkwasser und andere Lebensmitteln auf, allerdings wird Nitrat im beschränkten Umfang auch endogen im menschlichen Körper gebildet (EFSA, 2008, S. 6).

Nitrat selbst ist wenig giftig, jedoch kann es im Körper und während der Lagerung von Gemüse durch Bakterien zu Nitrit, das eine höhere Toxizität aufweist, umgebaut werden. Das entstandene Nitrit kann bei Säuglingen Blausucht (Methämoglobinämie) verursachen sowie sich mit Aminen zu N-Nitrosoverbindungen (wie z.B. Nitrosamine) verbinden. Einige dieser N-Nitrosoverbindungen stehen im Verdacht das Krebsrisiko zu erhöhen. Deshalb sollte die Nitrataufnahme nach Aussage des Bundesinstituts für Risikobewertung beschränkt werden (McKnight, 1999, S. 349 f.; BfR, 2009, S. 1). Andererseits zeigen einige neuere Studien, dass der Umbau von Nitrat zu Nitrit eine wichtige antibakterielle Rolle im Magen spielt, sowie andere Nitratmetaboliten auch positive physiologische und pharmakologische Wirkungen zeigen (EFSA, 2008, S. 6; McKnight, 1999, S. 352).

Die Weltgesundheitsorganisation (WHO) hat aufgrund der möglichen negativen Gesundheitswirkungen eine duldbare tägliche Aufnahmemenge (ADI-Wert) von 0 – 3,7 mg/ kg Körpergewicht für Nitrat und 0 – 0,07 mg/ kg Körpergewicht für Nitrit festgelegt (FAO/WHO, 2003 a, b, Kapitel 4).

Die vermeintlichen negativen Gesundheitswirkungen haben dazu geführt, dass viele Wissenschaftler sich mit dem Thema der Nitratreduktion in Gemüse beschäftigen sowie die Einflüsse auf den Nitratgehalt in Gemüse erforschen. Dabei wurde in einige Studien entdeckt, dass der Nitrat- und Nitritgehalt im Gemüse durch die Lagerung und küchentechnische Verarbeitung beeinflusst werden kann. Zum Beispiel können Bakterien das im Gemüse enthaltene Nitrat während der Lagerung in Nitrit umbauen, das eine höhere Toxizität aufweist (Chung *et al.*, 2004, S. 319 ff.; Phillips, 1971, S. 224; Phillips, 1968, S. 89). Daneben kann durch das Waschen von Gemüse oder durch den Kochprozess der Nitrat- und Nitritgehalt gesenkt werden, da die Verbindungen sich gut im Wasser lösen (Rytel *et al.*, 2005, S. 881 f.; Huarte-Mendicoa *et al.*, 1997, S. 40 f.; Wiebe *et al.*, 1987, S. 136; Kampe, 1984, S. 401). Diese Erkenntnisse haben zur Aufgabenstellung dieser Diplomarbeit beigetragen.

Die vorliegende Arbeit besteht aus zwei in sich abgeschlossenen Teilen.

Im ersten Teil werden allgemeine Informationen über Nitrat in Gemüse und deren Metaboliten Nitrit sowie Nitrosamine gegeben. Dabei wird auf die Entstehung der Stoffe in der Umwelt und im menschlichen Körper sowie auf deren Vorkommen in Lebensmitteln eingegangen. Nitrat und Nitrit können sowohl in pflanzlichen als auch in tierischen Lebensmitteln sowie im Trinkwasser in unterschiedlichen Konzentrationen vorkommen, jedoch wird in dieser Arbeit hauptsächlich auf das Gemüse eingegangen, da sie die größte Nitratquelle darstellen.

Um einen Überblick über die gesundheitliche Wirkung von Nitrat, Nitrit und Nitrosamine zu geben, wird kurz auf die Aufnahme der Stoffe in den menschlichen Körper und deren Stoffwechsel sowie auf ihre Toxizität eingegangen.

Schließlich wird dargestellt welche Ergebnisse bezüglich der Veränderungen der Nitrat- und Nitritgehalte im Gemüse durch Lagerung und küchentechnische Verarbeitung in einigen Studien erzielt wurden.

Im zweiten Abschnitt der Arbeit werden die Methode zur Bestimmung von Nitrat und Nitrit in Gemüse, die durchgeführten Versuche und die analysierten pflanzlichen Lebensmitteln beschrieben sowie die erhaltenen Ergebnisse dargestellt und erläutert.

2. Zielsetzung

Ziel dieser Arbeit ist es den Nitrat- und Nitritgehalt einiger pflanzlicher Lebensmittel (Eisbergsalat, Broccoli und tiefgefrorener Blattspinat) zu analysieren sowie die Auswirkungen von Lagerung und küchentechnische Verarbeitung auf diese herauszufinden.

Als Methode zur Bestimmung von Nitrat und Nitrit in Gemüse wird die Ionenchromatographie (IC) gewählt. Dabei wird das Nitrat bzw. Nitrit durch aufgekochtes Reinstwasser aus dem pflanzlichen Material herausgelöst. Anschließend wird der Gehalt an Nitrat bzw. Nitrit mit einem Ionenchromatographen durch Leitfähigkeitsdetektion bestimmt.

Bei der IC-Methode werden die analysierten Ione zuerst mithilfe einer Ionenaustauschsäule aus der Probelösung getrennt und hinterher durch Messung der elektronischen Leitfähigkeit erfasst (= detektiert).

Als erstes wird am Beispiel des Eisbergsalats untersucht, ob die Nitratverteilung innerhalb des Salates gleich ist oder der Gehalt in den einzelnen Salatfraktionen (Außenblätter, Innenblätter, Salatherz und Blattrippen) variiert.

Dann werden die Auswirkungen von Lagerung auf den Nitratgehalt im Salat untersucht. Dabei wird der Eisbergsalat bis zu sieben Tage lang unter zwei verschiedenen Temperaturen (Raumtemperatur bei 20°C und Kühltemperaturen bei 7°C) gelagert und untersucht. Die unterschiedlichen Bedingungen sollen zeigen, ob die Veränderung im Nitratgehalt abhängig von der Temperatur ist. Außerdem soll analysiert werden, ob während dieser Lagerung aus dem enthaltenen Nitrat hohe Mengen an Nitrit gebildet werden.

Um zu sehen, ob es Unterschiede gibt zwischen der Lagerung von Gemüse im rohen oder gekochten Zustand, wird der frische Broccoli und der tiefgefrorene Blattspinat gekocht und anschließend unter den gleichen Lagerbedingungen wie der Salat 18 Stunden gelagert. Auch hier wird zwischen zwei verschiedenen Temperaturen unterschieden (Raumtemperatur bei 20°C und Kühltemperaturen bei 7°C), um zu sehen ob die Veränderung temperaturabhängig ist.

Schließlich wird untersucht, inwieweit die Nitratkonzentration vom frischen Broccoli und tiefgefrorenen Blattspinat durch den Kochprozess beeinflusst werden kann.

ALLGEMEINER TEIL

3. Nitrat

Nitrat (NO_3^-) ist ein natürliches Produkt und Bestandteil unserer Erde, deshalb kommt es auch ohne menschlichen Eingriff im Boden und in den Pflanzen vor. Denn seine Anwesenheit in der Atmosphäre ist eine Folge der Oxidation von Stickstoffverbindungen durch Sauerstoff der Luft. Diese Reaktion findet statt, weil die Stickstoffverbindungen wie andere nicht metallische Elemente (z.B. Kohlenstoff, Schwefel und Phosphor) die stabilste, d.h. die am höchsten oxidierte Form, anstreben (Zakosek *et al.*, 1993, S. 138).

Dabei muss erwähnt werden, dass nahezu 80 % der Erdatmosphäre aus Stickstoff (N) besteht und dass es ein essentieller Bestandteil vieler Biomoleküle wie z.B. Aminosäuren, Vitamine, Enzyme, Hormone und Nukleotide ist. Deshalb stellt Stickstoff (N) im lebenden Organismus auch die viertgrößte Komponente nach Kohlenstoff (C), Sauerstoff (O) und Wasserstoff (H) dar (EFSA, 2008, S. 6).

Außerdem ist Stickstoff ein wesentlicher Bestandteil des Stickstoffkreislaufs und steht im ständigen Austausch zwischen Organismen und der Umwelt (EFSA, 2008, S. 6). Denn wenn der Organismus (Pflanze, Tier, Mensch) stirbt, werden ihre stickstoffhaltigen organischen Substanzen wie z.B. die Aminosäuren im Erdboden zu reduzierten Stickstoffformen, vor allem Ammonium (NH_4^+) und Ammoniak (NH_3), abgebaut. Dabei wird ein Teil dieser Ammoniumverbindungen im Boden zu Nitrat oxidiert. Wie groß dieser Teil ist, hängt von vielen Faktoren ab z.B. wie viele dieser Verbindungen bereits umgewandelt wurden und wie viele Bakterien, mit der Fähigkeit Stickstoffverbindungen zu Nitrat umzusetzen, im Boden vorhanden sind. Dabei wird die Umsetzung durch gute Belüftung, eine nicht saure Umgebung und mittlere Temperaturen gefördert oder anders ausgedrückt durch die bekannten Eigenschaften eines fruchtbaren Bodens (Zakosek *et al.*, 1993, S. 138 f.).

Stickstoff ist für Pflanzen essentiell zum Wachstum bzw. speziell zur Synthese von Eiweiß, Nukleinsäuren und anderen Substanzen und kann mithilfe der Wurzeln aus dem Boden aufgenommen werden. Deshalb ist es wichtig, dass der Erdboden genügend Stickstoff enthält. Durch Dünger kann der Stickstoffgehalt eines Bodens erhöht werden. Dabei ist es für die Pflanze irrelevant ob der Stickstoff aus organischen Düngemitteln (Jauche, Gülle, Mist) oder aus Mineraldünger entstammt (Weiß, 2008 a, S. 236).

Seitdem der Zusammenhang zwischen dem Stickstoffangebot und dem Wachstum der Pflanze im 19. Jahrhundert entdeckt wurde, wird durch verstärkten Einsatz von Stickstoffdüngern das Pflanzenwachstum gefördert. Während in den letzten 100 Jahren die Bevölkerung der Erde teilweise exponentiell zunahm und die Ansprüche mit dem höheren Lebensstandard der Bevölkerung stiegen, wuchs der Einsatz von Stickstoffdüngemitteln, um die Nachfrage nach Nahrungsmitteln zu decken und die Bodenfruchtbarkeit in dieser intensiven Landwirtschaft zu erhalten. Diese vermehrte Verwendung von Stickstoffdüngern führte zu einer erheblichen Steigerung der Stickstoffgehalte im Boden und damit zu einer problematischen Anreicherung von Nitrat in Nahrungsmitteln, Oberflächengewässern und im Grundwasser (Zakosek *et al.*, 1993, S. 139).

3.1 Nitratstoffwechsel im Boden und Pflanze

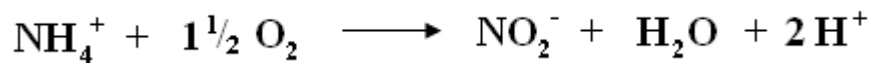
Wie schon erwähnt ist Stickstoff der primäre wachstumslimitierende Faktor und auch der Hauptbestandteil in den meisten Pflanzen (EFSA, 2008, S. 7). Somit ist es wichtig, dass die Stickstoffversorgung der Pflanzen sichergestellt wird, damit sie richtig wachsen und gedeihen können.

Die meisten Pflanzen sind in der Lage Nitrat, Ammonium und Harnstoff aus dem Dünger bzw. Boden aufzunehmen und zu Stickstoff abzubauen. Dabei beeinflusst die Höhe des Stickstoffangebotes den Stickstoff-Metabolismus der Pflanze, denn diese ist nicht in der Lage, ihre Aufnahme mengenmäßig zu begrenzen. D.h. die Pflanze neigt bei einer Stickstoffübersorgung dazu, den essentiellen Stickstoff über ihren aktuellen Bedarf aufzunehmen und in Form von Nitrat (NO_3^-) oder Ammonium (NH_4^+) zu speichern. Somit kann ein hoher Einsatz von Düngemitteln zu hohen Nitratgehalten in der Pflanze führen (Zakosek *et al.*, 1993; S. 155; Bäcker-Haase, 1990, S. 12).

Mehr als 95 % des Gesamtstickstoffs im Boden liegt in organisch gebundener Form vor, d.h. in der abgestorbenen Bodenfauna und -flora (= Humus). Jedoch kann durch mikrobiellen Abbau dieser gebundene Stickstoff teilweise in Form von Ammoniak (NH_3^+) bzw. Ammonium (NH_4^+) freigesetzt und anschließend von der Pflanze aufgenommen werden. Diese Überführung des organischen Stickstoffs in anorganischen wird Mineralisation genannt und hängt von vielen Faktoren wie Bodenfeuchte, Bodentemperatur sowie pH-Wert des Bodens ab (Zakosek *et al.*, 1993, S. 56 – 75).

Das frei verfügbare Ammoniak (NH_3^+) bzw. Ammonium (NH_4^+) wird im Boden unter Vorhandensein von Sauerstoff durch Bakterien der Gattung Nitrobacteriaceae zuerst von Nitrosomonas zu Nitrit und anschließend von Nitrobacter zu Nitrat oxidiert (Abb. 1). Diese Umwandlung wird auch Nitrifikation genannt und ist ebenfalls von vielen Faktoren abhängig wie z.B. Substratverfügbarkeit, Bodenfeuchte und Durchlüftung, Bodentemperatur, pH-Wert, Pflanzenschutzmitteln sowie Nitrifikationshemmer (Zakosek *et al.*, 1993, S. 56 – 75; Bäcker-Haase, 1990, S. 12 f.).

Die **Ammoniumoxidation** von Ammonium zu Nitrit verläuft nach folgender Gleichung:



Die **Nitritoxidation** von Nitrit zu Nitrat wird in der folgenden Gleichung beschrieben:

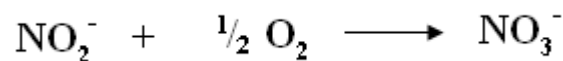


Abb. 1: Biochemie der Ammonium- und Nitritoxidation (Quelle: Zakosek *et al.*, 1993, S. 66)

Die Pflanze kann das nötige Nitrat (NO_3^-) zu einem Teil aus dem im Boden mineralisierten Stickstoffvorrat, zum anderen Teil aus der Düngung aufnehmen. Die Aufnahme des Nitrats aus der Bodenlösung durch die Wurzeln erfolgt über einen aktiven Transportmechanismus gegen einen elektrochemischen- und Konzentrationsgradienten. Dies führt in der Regel zu einer Erhöhung der Nitratkonzentration in der Pflanze gegenüber der Bodenlösung. Voraussetzung für den aktiven Transport von Nitrat ist ein in der Plasmamembran lokalisiertes Trägerprotein, dessen Aktivität vom Energiestatus des Wurzelgewebes abhängt (Bäcker-Haase, 1990, S. 13; Wiebe *et al.*, 1987, S. 135).

Ein Teil des Nitrats (NO_3^-) wird in der Wurzel assimilatorisch zu Ammonium (NH_4^+) reduziert, das als Baustein für stickstoffhaltige Substanzen der Pflanzen (z.B. Aminosäuren) dient. Es wird in den Transpirationsstrom¹ des Xylems (ein holziges Gewebe bei höheren Pflanzen, das Wasser und anorganische Salze durch die Pflanze leitet und diese gleichzei-

¹ Höhere Pflanzen geben über die Blätter Wasser in Form von Wasserdampf ab (Transpiration = Verdunstung), dadurch entsteht ein sogenannter Transpirationssog, der die Leitung des Wassers von den Wurzeln in die Blätter ermöglicht. Quelle: Biologie-Lexikon URL: <http://www.biologielexikon.de/startseite.html?Woerterbuch/startwoerterbuch.html~mainFrame> (17.06.09)

tig stützt)² aufgenommen und zum Spross transportiert. Die Fähigkeit der Wurzel Nitrat zu reduzieren sowie der Umfang dieser Modifikation ist abhängig von der Pflanzenart, -sorte, -alter, Wurzeltemperatur, pH-Wert, Kohlenhydratversorgung und Tageszeit. Zum Beispiel reduzieren Erbsen, Radieschen und Rettich das Nitrat vorwiegend oder ausschließlich in der Wurzel. Daneben reduzieren Zuckerrüben und rote Beete das Nitrat im Blatt. Bei den meisten landwirtschaftlichen Nutzpflanzen jedoch liegt die Nitratreduktion zwischen diesen beiden Extremen und zwar überwiegend im Spross (Bäcker-Haase, 1990, S. 13; Zakosek *et al.*, 1993, S. 151).

Die Reduktion von Nitrat zu Ammonium in der Pflanze wird durch zwei Enzyme ermöglicht. Das erste Enzym, die Nitratreduktase, ist im Zytoplasma lokalisiert und reduziert Nitrat zu Nitrit (Abb. 2).

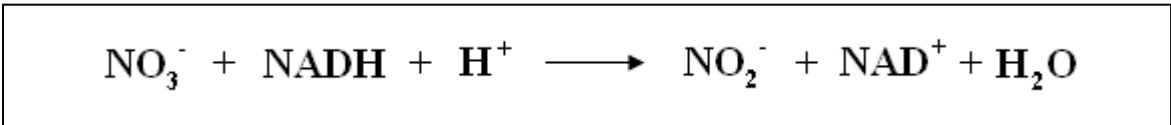


Abb. 2: Reduktion des Nitrats zu Nitrit durch das Enzym Nitratreduktase (Quelle: Zakosek *et al.*, 1993, S. 141)

Das zweite Enzym, die Nitritreduktase, ist in den Chloroplasten lokalisiert und reduziert das gebildete Nitrit weiter zu Ammonium (Abb. 3).



Abb. 3: Reduktion des Nitrits zu Ammonium durch das Enzym Nitritreduktase (Quelle: Zakosek *et al.*, 1993, S. 142)

In der Regel erfolgt die Nitritreduktion in den Pflanzen schneller als die Nitratreduktion, somit reichert sich kaum Nitrit im Pflanzengewebe an. Das ist auch wichtig, denn Nitrit ist sehr toxisch für die Pflanze, da es mit vielen organischen Verbindungen wie Aminogruppen heftig reagiert. Nitrat hat dagegen eine niedrigere Toxizität als Nitrit und dient der Pflanze als Stickstoffvorrat, infolgedessen speichert die Pflanze Nitrat in relativ hohen Konzentrationen ab (Zakosek *et al.*, 1993, S. 140).

² MSN Encarta Enzyklopädie URL: http://de.encarta.msn.com/encyclopedia_761559712/Xylem.html (27.04.09)

Der Gehalt an Nitratreduktase in den Zellen der Pflanze ergibt sich aus der Bilanz zwischen Synthese und Abbau des Enzyms und wird von dem Nitratgehalt, Licht, Wachstumsregulatoren und der Energieverfügbarkeit der Pflanze beeinflusst (Zakosek *et al.*, 1993, S. 145).

In höheren Pflanzen (Sprosspflanzen)³ wird die Nitratreduktase durch Nitrat gefördert und ist besonders aktiv, wenn die Pflanze vorher unter Stickstoffmangel gelitten hat und anschließend mit Nitrat in Überfluss ernährt wird.

Darüber hinaus fördert Licht die Aktivität der Nitratreduktase, denn Licht stimuliert den Nitrattransport und führt zu einer erhöhten Nitratinduktion. Außerdem fördert Licht durch die Photosynthese die Energieversorgung der Zellen mit ATP und liefert dadurch die Voraussetzung für die Eiweißsynthese. Jedoch ist die Eiweißsynthese nicht nur von Licht abhängig sondern ist das Ergebnis einer Vielzahl miteinander verknüpfter Reaktionen.

Schließlich benötigt das Enzym für die Nitratreduktion Energie in Form von NADH, das beim Abbau von Kohlenhydraten entsteht (Zakosek *et al.*, 1993, S. 145 ff.).

Der Nitratreduktasegehalt einer Pflanze ist nicht immer gleich sondern verändert sich während der Entwicklung der Pflanze und der eines Organs. Die höchste Nitratreduktaseaktivität wurde in schnell wachsendem Gewebe entdeckt. Zum Beispiel zeigen Blätter am Anfang ihrer Entfaltung die höchste Enzymaktivität pro Einheit Frischgewicht auf, jedoch lässt diese Aktivität mit Beginn des Alterungsprozesses nach. Dabei treten je nach Pflanzenart diese Alterungserscheinungen relativ früh (z.B. bei Maisblättern) oder eher in späteren Stadien (z.B. bei Weizenblättern) auf (Zakosek *et al.*, 1993, S. 148).

Ferner wurde bei vielen Pflanzen Tagesschwankungen der Nitratreduktaseaktivität beobachtet. Während der Nacht nimmt die Aktivität des Enzyms ab, steigt in der Morgendämmerung und erreicht zur Mittagszeit ihren Maximalwert. Dagegen bleibt die Nitratreduktaseaktivität bei kontinuierlicher Dunkelheit auf gleichem Niveau (Zakosek *et al.*, 1993, S. 148).

Neben dem Abbau von Nitrat zu Stickstoff über Ammonium kann ein Teil des Nitrats in den Zellvakuolen der Pflanzen gespeichert werden, um zu einem späteren Zeitpunkt in Stickstoff überführt zu werden. Dieser Vorgang wird Nitratakkumulation genannt und hat vielfältige Ursachen. Denn die Höhe der Nitratkonzentration in einer Pflanze ist einerseits von dem Nitratreduktasesystem abhängig, andererseits von der Fähigkeit der Wurzel zur

³ Wissen Digital Lexikon URL: <http://www.wissen-digital.de/lexikon/Pflanzen> (14.06.09)

Nitrataufnahme sowie von dem Assimilationsprozess im Spross. Dieser hängt seinerseits von der Transportkapazität für die benötigten Substanzen ab (Bäcker-Haase, 1990, S. 15).

3.2 Nitratgehalte in verschiedenen Lebensmitteln

3.2.1 Nitratgehalt in Gemüse

Nach der Weltgesundheitsorganisation (WHO = World Health Organisation) wird Gemüse und Obst als essbare Pflanzennahrung ausgenommen Getreidesaat, Nüsse, Körner, Teeblätter, Kaffeebohnen, Kakaobohnen, Kräuter und Gewürze definiert. Speziell Gemüse sind essbare Pflanzenteile einschließlich Stängel, Stiel, Wurzel, Knolle, Zwiebel, Blätter, Blüten und Früchte. Häufig werden auch Meeresalgen und Zuckermais dazugezählt sowie Pilze und Hülsenfrüchte mit einbezogen (EFSA, 2008, S. 9).

Allgemein wird Gemüse folgendermaßen unterteilt:

- Blätter z.B. Salat
- Stängel z.B. Spargel
- Wurzeln z.B. Karotten
- Blume z.B. Broccoli
- Knolle z.B. Knoblauch
- Samen z.B. Erbsen und Bohnen
- pflanzliche Früchte z.B. Gurke, Zucchini, Kürbis und Paprika (EFSA, 2008, S. 9)

Die Mittelwerte der Nitratkonzentrationen verschiedener Gemüsesorten können natürlicherweise um Faktoren von zwei und 60 variieren. Auch die Einzelwerte innerhalb einer Gemüsesorte können sehr stark schwanken und um das fünf- bis 70-fache auseinander liegen (BfR, 2004 a, S. 3). Diese relativ hohen Schwankungen kommen dadurch zustande, dass der Nitratgehalt in Gemüse von vielen verschiedenen genetischen bzw. morphologischen sowie geographischen und jahreszeitlichen Faktoren abhängt. Im Folgenden werden diese im Einzelnen erklärt.

Gemüseart:

Genetische Faktoren wie Art und Vielfalt haben große Auswirkungen auf den Nitratgehalt von Gemüse (EC, 1997, S. 5). Es wurde z.B. anhand von Kopfsalat gezeigt, dass die Intensität der Nitrataufnahme gesteuert ist, denn einige Kopfsalatsorten reichern weniger

Nitrat an als andere (Abb. 4). Der geringere Nitratgehalt einiger Kopfsalatsorten ist dabei meist an ein dominantes Gen gekoppelt (Bäcker-Haase, 1990, S. 15; Zakosek *et al.*, 1993, S. 177). Nach diesem Befund werden vermehrt Sorten gezüchtet vor allem Kopfsalat, Spinat und Radieschen, die weniger Nitrat akkumulieren (Zakosek *et al.*, 1993, S. 178 f.). Außerdem haben Salate mit offenen Blättern z.B. Kopfsalat generell höhere Nitratgehalte als Sorten mit engen Köpfen wie Eisbergsalat (EC, 1997, S. 5).

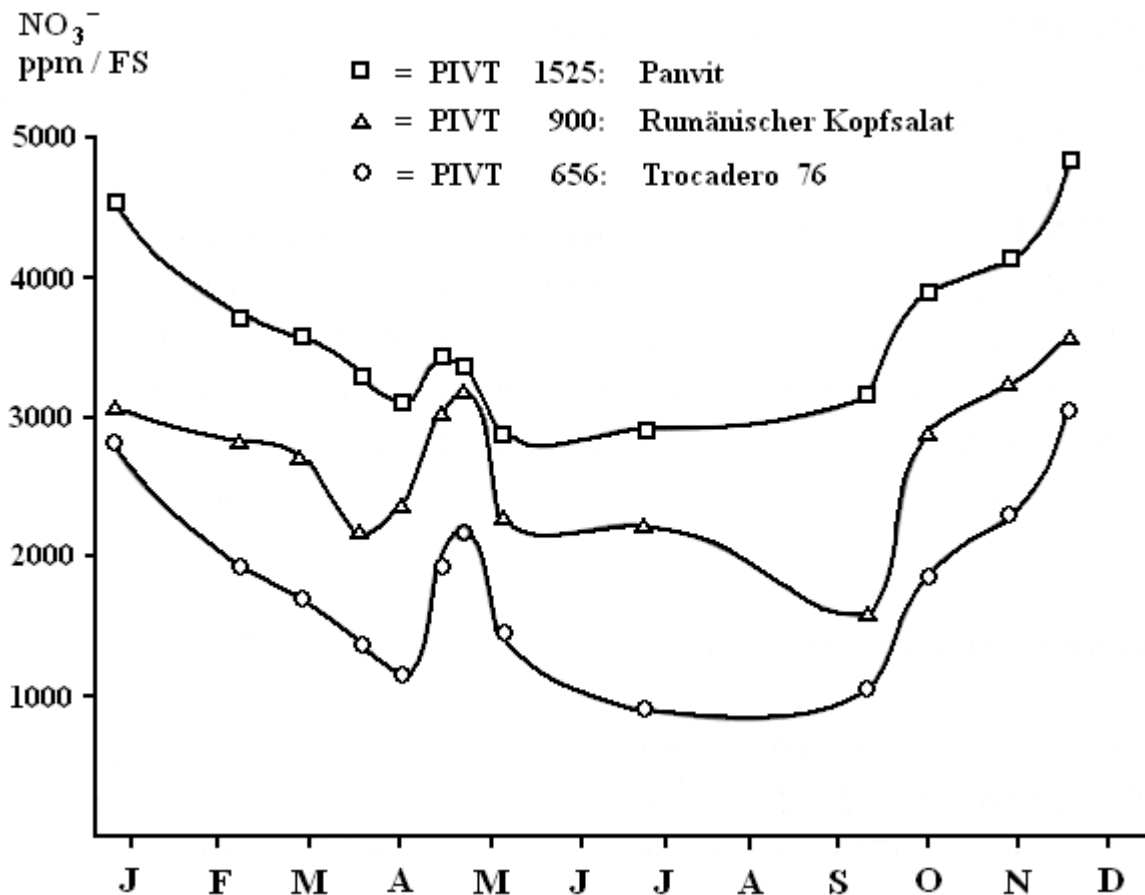


Abb. 4: Nitratgehalte in verschiedenen Kopfsalatsorten (Quelle: Zakosek *et al.*, 1993, S. 177)

Neben diesen genetischen Faktoren unterscheiden sich verschiedene Gemüsesorten durch ihre Morphologie, d.h. durch ihre Zell-, Gewebe- und/ oder Körperform. Zum Beispiel enthalten Pflanzen mit ausgeprägten Stängeln, Rippen oder Blattstielen mehr Nitrat als Pflanzen mit weniger Transportgefäßen. Darüber hinaus ist die Nitratkonzentration in den Blattspalten niedriger als in den Blattstielen, weil dort die Nitratreduktaseaktivität höher ist (Bäcker-Haase, 1990, S. 15; Zakosek *et al.*, 1993, S. 175 ff.).

Des Weiteren ist der Stoffwechsel der Gemüseart ausschlaggebend für den Nitratgehalt. Nitrat befindet sich hauptsächlich in den Zellvakuolen und wird mithilfe des Xylems zusammen mit Wasser und anderen Nährstoffen von den Wurzeln zu den Blättern transportiert. Im Gegensatz dazu transportiert das Phloem (Gefäßsystem höherer Pflanzen)⁴ Endprodukte der Photosynthese von den Blättern zu den wachsenden Teilen der Pflanze. Diese Gegebenheit beeinflusst die Verteilung des Nitrats zwischen den Blättern und den Speicherorganen (Stängel und Wurzelknolle). Das bedeutet, dass Blattgemüse wie Kohl, Salat und Spinat höhere Nitratgehalte aufweisen als Speicherorgane wie Kartoffeln, Karotten, Lauch, Zwiebeln und Samen, sowie Erbsen und Bohnen, die sich überwiegend aus dem Phloem ernähren (EFSA, 2008, S. 13).

Eine andere Konsequenz dieses Transportsystems ist, dass junge Blätter niedrigere Nitratkonzentrationen aufzeigen als ältere. Dieser Zusammenhang wurde im Kohl entdeckt, denn die äußeren Blätter wiesen die höchsten Nitratgehalte auf und die Innenblätter die niedrigsten (EFSA, 2008, S. 13).

Boden:

Die Nitratbewegung im Boden erfolgt überwiegend als konvektiver Transport, d.h. das im Bodenwasser gelöste Nitrat benötigt das Wasser als Transportmedium und wird mit der Bodenlösung verlagert. Somit ist die Verteilung des Nitrats abhängig von der anfallenden Sickerwassermenge und der Wasserbewegung im Boden (Zakosek *et al.*, 1993, S 24 f.).

Das Bodenwasser wiederum kann sich nur in den Poren des Bodens bewegen, d.h. die Form und Größe der Poren, die je nach Bodentyp variiert, beeinflusst die Weiterleitung sowie Speicherung von Wasser und somit auch von Nitrat im Boden (Zakosek *et al.*, 1993, S 24 f.).

Aus diesem Zusammenhang erschließt sich, dass Wasserknappheit die Nitrataufnahme von Pflanzen begrenzen. Ein Überfluss an Wasser bewirkt dagegen eine Verdünnung des Nitrats in der Bodenlösung. Dies hat zur Folge, dass das Wachstum der Pflanzen begrenzt wird und Nitrat durch Denitrifikation (Abbau von Nitrat zu gasförmigen Stickstoffverbindungen)⁵ hauptsächlich als gasförmiger Stickstoff (N₂) in die Atmosphäre abgegeben wird. Meistens erfolgt die Denitrifikation bei Sauerstoffmangel (also unter anaeroben Bedingungen) in nassen, schlecht durchlüfteten Böden (EFSA, 2008, S. 13).

⁴ MSN Encarta Enzyklopädie URL: http://de.encarta.msn.com/encyclopedia_761577253/Phloem.html (30.04.09)

⁵ Biologie-Lexikon URL: <http://www.biologielexikon.de/startseite.html?Woerterbuch/startwoerterbuch.html~mainFrame> (17.06.09)

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass der Bodentyp und sein Mineralstoffgehalt die Nitratakkumulation im Gemüse beeinflusst (EFSA, 2008, S. 13).

Lichtintensität:

Da die Assimilation von Nitrat an die Photosynthese (genauer an den Elektronentransport) der Blätter gekoppelt ist, ist die Lichtintensität eines der ausschlaggebendsten Faktoren für die Konzentration an Nitrat im Blattgemüse (EFSA, 2008, S. 13). Denn anhand dieser Beziehung können Nitratgehalte im gleichen Gemüse und bei gleichen Anbaubedingungen von Jahr zu Jahr unterschiedlich hoch sein, je nachdem wie die jeweilige Globalstrahlung bzw. Anzahl an Sonnenscheinstunden war. Die sich im Jahresverlauf verändernde Lichteinstrahlung führt vor allem zu einem typischen Jahresgang der Nitratgehalte (s. Abb. 4) (Zakosek *et al.*, 1993, S. 182). Dabei können die Gehalte von Monat zu Monat z.B. im Salat um Faktor drei variieren (EFSA, 2008, S. 13). Aufgrund der unterschiedlichen Lichtintensität innerhalb eines Jahres ist der Nitratgehalt in Gemüse, das im Winter gesät wurde, generell höher als im „Sommergemüse“ unabhängig von den übrigen Wachstumsfaktoren. Somit kann die Wahl des Aussattermins für die spätere Nitratkonzentration im geernteten Gemüse ausschlaggebend sein. Bei Bohnen wurde nachgewiesen, dass bei frühen Saatterminen (Mai) und einer Entwicklung der Pflanze im Frühsommer eine fast vollständige Assimilation des aufgenommenen Nitratstickstoffs in der Pflanze erfolgt. Dadurch ist der Nitratgehalt im geernteten Gemüse gering. Im Spätsommer und Herbst nimmt das Gemüse dagegen mehr Nitratstickstoff auf als durch die zurückgehende Globalstrahlung assimiliert werden kann, deshalb entstehen im Gemüse höhere Nitratgehalte (EC, 1997, S. 5; Zakosek *et al.*, 1993, S. 182; EFSA, 2008, S. 13).

Des Weiteren kann der Lichtgenuss und damit auch der Nitratgehalt eines Pflanzenbestands durch anbautechnische Maßnahmen beeinflusst werden. Zum Beispiel weisen Kopfsalat und Karotten bei engen Pflanzabständen höhere Nitratgehalte auf. Denn durch die engen Abstände gelangt weniger Licht auf die Pflanze, demzufolge kann weniger Nitrat assimiliert werden als bei weitem Standraum (Zakosek *et al.*, 1993, S. 182).

Auch bei Glashaushausgemüse kann die Lichtverfügbarkeit den Nitratgehalt senken, deshalb sollten Abschattungen über den Kulturpflanzen vermieden werden (EFSA, 2008, S. 13).

Darüber hinaus hat die geographisch bedingte Lichteinstrahlung ebenfalls Einfluss auf den Nitratgehalt. Denn Gemüse aus Nordeuropa zeigt generell höhere Nitratkonzentrationen auf als Gemüse aus dem Mittelmeerraum. Dies lässt sich durch die höhere Wachstumsrate

erklären, die mit den Perioden hoher Beleuchtungsdichte und warmen Temperaturen übereinstimmt. Jedoch wurden bei Spinat, Kartoffeln und Karotten nur geringe geographische Differenzen nachgewiesen (EFSA, 2008, S. 13; EC, 1997, S. 5).

Die EFSA hat die Auswirkungen auf den Nitratgehalt in Salat bei unterschiedlichen Lichtintensitäten untersucht (Abb. 5). Dabei wurde nach der Saison in Sommer und Winter unterschieden, sowie nach der Region, in der der Salat angebaut wurde, und nach den Anbaubedingungen, d.h. ob der Salat im Gewächshaus oder auf dem Feld gewachsen ist.

Bei der regionalen Aufteilung wurden drei Kategorien definiert: Nordeuropa, Zentraleuropa und Südeuropa. Zur Region „Nordeuropa“ zählen die Länder Finnland, Schweden, Norwegen, Island, Dänemark, Großbritannien, Irland, Estland, Lettland und Litauen.

„Zentraleuropa“ fasst Polen, Deutschland, die Niederlande, Belgien, Luxemburg, Tschechische Republik, Slowakei, Österreich und Ungarn zusammen.

Schließlich stellt „Südeuropa“ Frankreich, Portugal, Spanien, Italien, Malta, Griechenland, Slowenien, Rumänien und Bulgarien dar (EFSA, 2008, S. 21 f.).

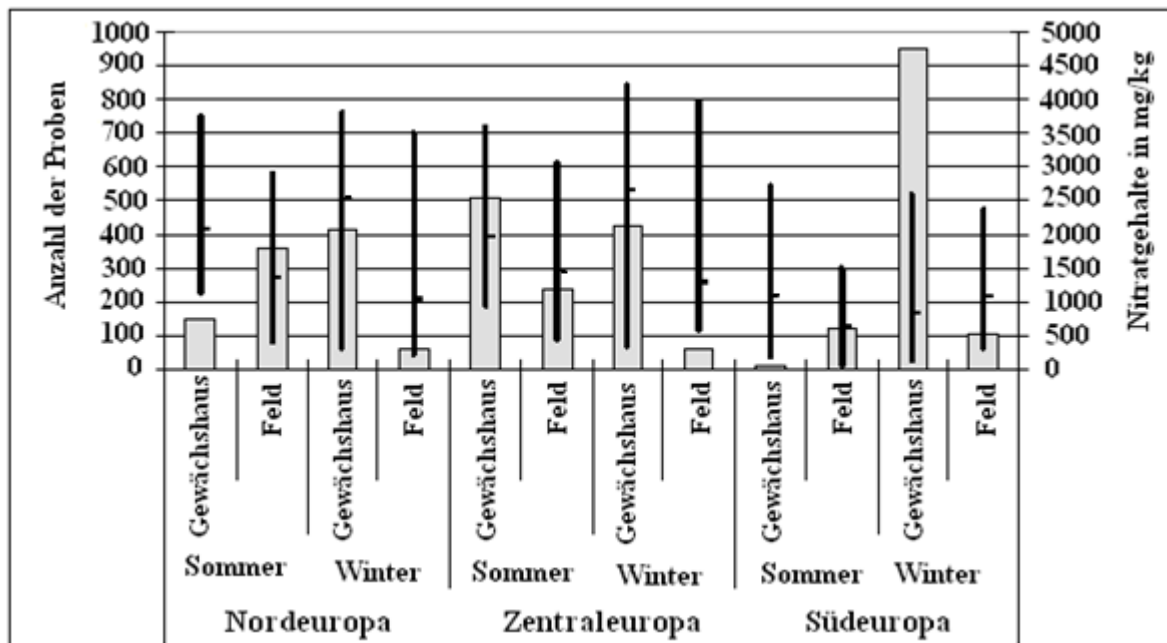


Abb. 5: Nitratgehalte im Salat mit den Einflussfaktoren Saison, Produktion und Region. Die Balken zeigen die Anzahl der Proben (linke y-Achse) und die Striche zeigen das 5., 50. (waagerechter Strich) und das 95. Perzentil der Nitratgehalte in mg/kg (rechte y-Achse) an. (Quelle: EFSA, 2008, S. 22)

Anhand der Abb. 5 wird deutlich, dass Salat vom Feld meist niedrigere Nitratgehalte aufweist als Salat aus dem Gewächshaus unabhängig von der Saison und Region, wo er ge-

wachsen ist. Außerdem ist die Nitratkonzentration im „Sommersalat“, wahrscheinlich aufgrund der höheren Lichtintensität, geringer als im „Wintersalat“. Darüber hinaus sind die Nitratgehalte im Salat aus Südeuropa unabhängig von den Anbaubedingungen und der Saison niedriger als in Zentral- und Nordeuropa.

Stickstoffdüngung:

Stickstoffdünger kann Stickstoff (N) in Form von Nitrat (NO_3^-), Ammonium (NH_4^+) oder Harnstoff ($\text{CO}[\text{NH}_2]_2$) und gelegentlich auch in anderen Formen enthalten. Im Boden werden diese Formen von Bakterien hauptsächlich zu Nitrat (NO_3^-) umgebaut (EFSA, 2008, S. 14).

Einige Studien haben gezeigt, dass durch steigende Stickstoffdüngung höhere Erträge bei Gemüse erzielt werden können, jedoch steigt damit auch die Nitratkonzentration im Xylem der Pflanzen. Besonders bei Blatt- und Kohlgemüsen (Spinat, Eisbergsalat und Weißkohl) wurde eine positive Korrelation zwischen dem Einsatz von Stickstoffdünger sowie hohen Flächenerträgen, hohen Stückgewichten und hohen Nitratgehalten entdeckt. Bei Spross-, Knollen- und Wurzelgemüse tritt diese Beziehung nur teilweise oder in abgeschwächter Form auf. Im Fruchtgemüse (mit Ausnahme von Tomaten) sowie im Broccoli und Blumenkohl wurden sogar negative Korrelationen verzeichnet. Auch Speicherorgane wie Erbsen und Bohnen zeigen nur geringe Erhöhung der Nitratgehalte nach einer Stickstoffdüngung, denn sie ernähren sich aus dem Phloem, der keine steigende Nitratkonzentration gegenüber Düngung aufweist (EFSA, 2008, S. 14; Zakosek *et al.*, 1993, S. 183).

Bei einigen Gemüsearten wie Kopfsalat und Kohlrabi enthalten größere Köpfe bzw. Knollen weniger Nitrat als kleinere. Dies lässt sich mit dem Verdünnungseffekt und der längeren Entwicklungsdauer mit einer fortschreitenden Entleerung des Nitrats im Boden erklären. Im Kohlrabi entsteht der niedrigere Nitratgehalt mit zunehmendem Gesamtgewicht durch den sinkenden Anteil an Xylem im Vergleich zum Gesamtvolumen (Zakosek *et al.*, 1993, S. 183; Wiebe *et al.*, 1987, S. 136).

Rauter *et al.* (1982, S. 124) haben gezeigt, dass auch bei der Verwendung von organischen Düngern (Jauche, Gülle, Mist) beim biologischen Anbau hohe Nitratgehalte im Gemüse auftreten können (Abb. 6). Dadurch kann geschlossen werden, dass der Nitratgehalt durch einen hohen Düngereinsatz erhöht wird, gleichgültig ob Mineraldünger oder organischer Dünger verwendet wurde. Wenn beim biologischen Anbau nur wenig gedüngt wird, dann enthält das Gemüse im Mittel etwa ein Drittel weniger Nitrat als Gemüse aus dem Feldbau.

Denn das biologisch angebaute Gemüse wächst langsamer und hat dadurch mehr Zeit das Nitrat zu assimilieren sowie Inhaltsstoffe einzulagern (BLE, 2003, S. 61). Das Gemüse aus dem Gewächshaus hatte dagegen immer höhere Nitratgehalte (manchmal sogar doppelt so hohe Werte) als das Feldgemüse (Rauter *et al.*, 1982, S. 124).

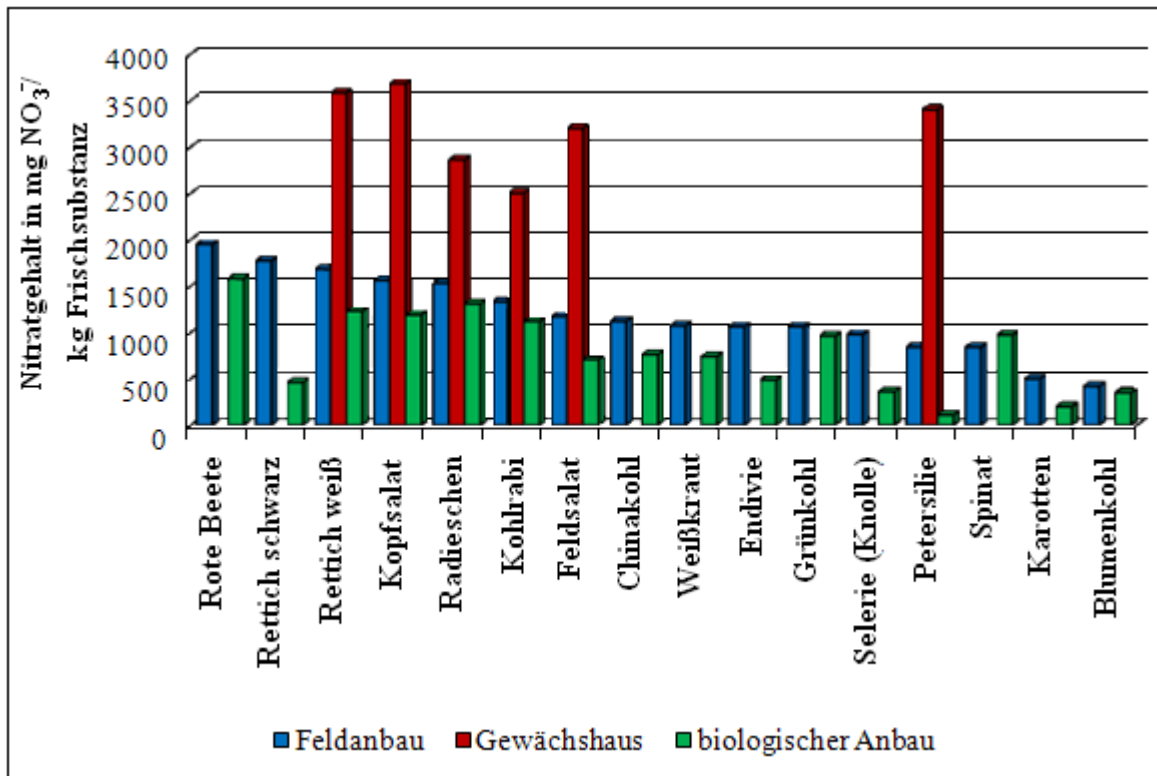


Abb. 6: Der mittlere Nitratgehalt von verschiedenen Gemüsearten bei unterschiedlichen Anbaumethoden wie Feldbau, Gewächshaus und biologischer Anbau (Quelle: Rauter *et al.*, 1982, S. 123)

Zusammenfassend kann man sagen, dass die Anwendung von (Kunst-) Dünger den Nitratgehalt in Gemüse erhöhen kann, jedoch ist die Beziehung nicht einfach und von der Gemüseart abhängig. Zum Beispiel wurde in der Roten Beete und dem Kohl nach der Düngung erhöhte Nitratkonzentrationen im unreifen Stadium entdeckt, jedoch fiel diese mit zunehmendem Reifegrad des Gemüses. Bei anderen Kulturpflanzen (Karotten, Lauch, Zwiebeln, Kartoffeln) hatte die optimale Düngieranwendung keinen signifikanten Effekt auf die Nitratakkumulation zum Zeitpunkt der Ernte (EC, 1997, S. 5 f.).

Gewächshaus:

Gewächshausgemüse weist immer höhere Nitratgehalte als Freilandpflanzen auf auch bei gleichen regionalen und saisonalen Bedingungen (Abb. 5 und Abb. 6) (EC, 1997, S. 5 f.).

Dies lässt sich unter anderem damit begründen, dass Gewächshausböden höhere Humus- und Nährstoffgehalte aufweisen. D.h. das Mineralisierungspotential im Gewächshaus ist sehr hoch und stellt eine ständige unkontrollierbare Stickstoffquelle dar. Besonders Winterkulturen reichen bei einem Überangebot von Stickstoff und geringerer Lichtintensität mehr Nitrat an. Die Einflussmöglichkeiten auf die Stickstofffreisetzung im Gewächshausboden und damit auf die Nitrataufnahme und –anreicherung in der Pflanze sind äußerst gering. Denn auch bei völligem Verzicht auf jede mineralische Stickstoffdüngung kann eine optimale Stickstoffversorgung nicht garantiert werden (Zakosek *et al.*, 1993, S. 178 f.). Denn ein weiterer Grund für die höheren Nitratgehalte in Gewächshausgemüse ist die Abschirmung der Sonnenstrahlung durch die verwendete Plastikabdeckung. Dadurch kann weniger Nitrat in der Pflanze assimiliert werden, folglich sind höhere Nitratkonzentrationen im Gemüse enthalten (Amr *et al.*, 2001, S. 65).

Ein weiteres Problem bei dem Gewächshausbau ist, dass das Grundwasser durch die Auswaschung des Nitrats aus dem Boden unter dem Gewächshaus sehr belastet werden kann (Zakosek *et al.*, 1993, S. 178 f.).

Einteilung von Gemüse nach seinem Nitratgehalt:

Allgemein können die Gemüsearten nach ihren Nitratgehalt in drei Kategorien eingeteilt werden. In der Kategorie „niedriger Nitratgehalt“ werden nur Gemüsearten mit einem Nitratwert unter 300 mg/ kg Frischsubstanz aufgeführt, zur Kategorie „mittlere Nitratgehalte“ zählen Gemüsearten mit unter 1000 mg Nitrat/ kg Frischsubstanz und stark belastete Gemüsearten (über 1000 mg Nitrat/ kg Frischsubstanz) werden in die Kategorie „hoher Nitratgehalt“ eingestuft.

In Tabelle 1 sind einige Gemüsearten in diese drei Kategorien eingestuft worden. Alle aufgeführten Gemüsearten zeigen mehr oder minder großen Schwankungen in ihren Nitratgehalt, deshalb wird nach dem Mittelwert sortiert und die Streuwerte (das 5. und 95. Perzentil) in der Tabelle aufgeführt.

Tabelle 1: Nitratgehalte in verschiedenen Gemüsearten (Angabe jeweils in mg NO₃⁻/kg Frischsubstanz)

Niedriger NO ₃ ⁻ -Gehalt bis max. 300 mg/ kg	Mittlerer NO ₃ ⁻ -Gehalt bis max. 1000 mg/kg	Hoher NO ₃ ⁻ -Gehalt über 1000 mg/ kg
Kohlgemüse: Rosenkohl 1 – 100 Sauerkraut 37 – 215 Blumenkohl 7 – 390 Broccoli 16 – 758	Kohlgemüse: Weißkohl 47 – 833 Rotkohl 35 – 704 Grünkohl 19 – 1846 Wirsing 1 – 1144 Chinakohl 77 – 1928 Kohlrabi 142 – 1830	
Fruchtgemüse: Gurke 22 – 409 Paprika 1 – 476 Chili 4 – 120 Tomate 1 – 144	Fruchtgemüse: Aubergine 29 – 572 Kürbis 8 – 4617 Zucchini 11 – 1060	
Blattgemüse: Wasserkresse 4 – 174 Chicorée 10 – 3305* ¹	Blattgemüse: Eisbergsalat 210 – 1537 Radicchio 5 – 829	Blattgemüse: Endivie 63 – 3063 Romanasalat 167 – 2200 Eichblattsalat 16 – 3400 Kopfsalat 56 – 3660 Feldsalat 10 – 4125* ¹ Rucola 1528 – 7340 Mangold 178 – 3685 Spinat 64 – 3048
Wurzel- und Knollengemüse: Artischocke 1 – 375 Schwarzwurzel 1 – 230 Pastinake 2 – 349 Kartoffeln 10 – 340 Karotten 21 – 1574	Wurzel- und Knollengemüse: Knollensellerie 20 – 975	Wurzel- und Knollengemüse: Rote Beete 110 – 3670 Radieschen 115 – 2515 Rettich 135 – 3488

Stängelgemüse: Spargel 1 – 1459		Stängelgemüse: Sellerie 18 – 3319 Fenchel 25 – 3047 Rhabarber 28 – 6550
Hülsenfrüchte: Erbsen 1 – 100	Hülsenfrüchte: Bohnen 6 – 810 Grüne Bohnen 9 – 735	
Zwiebelgemüse: Zwiebel 1 – 638 Knoblauch 8 – 161	Zwiebelgemüse: Lauch 5 – 975 Porree 10 – 1678* ¹	
Sonstige: Pilze 31 – 100 Zuckermais 10 – 23* ¹		

Quelle: EFSA, 2008, S. 17 – 20

*¹ Quelle: ZEBS, 1986, S. 32 – 37

Wie man anhand der Tabelle 1 sehen kann, sind die meisten Blattsalate hoch mit Nitrat belastet. Da sie in relativ hohen Mengen verzehrt werden, können sie zu einer erhöhten Nitrataufnahme beitragen. Einen besonders hohen Nitratgehalt weist Rucola auf (4677 mg/kg Frischsubstanz), dabei enthalten 56 % der untersuchten Proben über 4500 mg NO₃⁻/kg Frischsubstanz (EFSA, 2008, S. 17 – 20). Auch das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) hat im Jahre 2003 speziell den Nitratgehalt von Rucola untersucht und herausgefunden, dass etwa die Hälfte von knapp 350 Proben Nitratgehalte von über 5000 mg/kg aufweisen. Die oberen Perzentile lagen dabei zwischen 7000 mg NO₃⁻/kg und 8000 mg/kg. Aufgrund dieser hohen Nitratgehalte fordert das Bundesinstitut aus Vorsorgegründen die Festlegung einer Höchstmenge für Nitrat in Rucola (BfR; 2004 a; S. 2 und 6).

Einige Kohlgemüse wie Chinakohl (933 mg NO₃⁻/kg) und Kohlrabi (987 mg NO₃⁻/kg) weisen auch relativ hohe Nitratgehalte auf. Jedoch liegt ihr mittlerer Nitratgehalt knapp unter 1000 mg, so dass sie wie andere Kohlarten in die Kategorie „mittlerer Nitratgehalt“ fallen. Einen sehr geringen Nitratgehalt weist dagegen Rosenkohl (24 mg NO₃⁻/kg) auf.

Das häufig verzehrte Fruchtgemüse wie Gurken, Tomaten und Paprika enthält meist geringe Nitratgehalte. Dagegen zeigen Auberginen, Zucchini und Kürbis mittlere Nitratgehalte auf. Hülsenfrüchte und Zwiebelgemüse enthalten meist auch wenig Nitrat.

Stängelgemüse wie Sellerie und Fenchel können sehr hohe Nitratkonzentrationen aufweisen, wobei der Rhabarber mit einem Mittelwert von 2943 mg NO₃⁻/kg heraussticht.

Das Wurzel- und Knollengemüse enthält meist wenig Nitrat, jedoch gilt das nicht für Rote Beete, Rettich und Radieschen, denn sie akkumulieren Nitrat in höherem Maße. Da sie nicht übermäßig verzehrt werden, haben sie eine relativ geringe Bedeutung für die Nitrataufnahme. Kartoffeln, eine der Hauptkomponenten der deutschen Ernährung, enthalten relativ wenig Nitrat (im Mittel 100 mg/kg) und gelten somit nicht als primäre Nitratquelle.

Zusammenfassend kann man sagen, dass eine hohe Variation in den Nitratgehalten der verschiedenen Gemüsearten vorliegt von sehr geringen Gehalten wie 1 mg NO₃⁻/kg in Erbsen und Rosenkohl bis hin zu sehr hohen Gehalten wie 4800 mg NO₃⁻/kg in Rucola (EFSA, 2008, S. 20).

Im Vergleich zum Gemüse weisen Früchte sehr geringe Nitratgehalte auf, die im Mittel häufig sogar unter 20 mg NO₃/kg Frischsubstanz liegen. Außer Erdbeeren und Bananen, diese haben einen Mittelwert von 138 bzw. 153 mg NO₃/kg Frischsubstanz (ZEBS, 1986, S. 37).

Gesetzliche Regelungen für Nitrat in Gemüse

Die Maximalgehalte an Nitrat in Gemüse wurden in Europa erstmalig 1997 von der Europäischen Kommission in der EU-Verordnung Nr. 194/97 festgelegt. Seit dieser Regelung wurden die immer wieder geändert (EFSA, 2008, S. 10). Die aktuellen Höchstmengen für Nitrat in Salat und Spinat sowie Beikost für Säuglinge sind in der EG-Verordnung Nr. 1881/2006 vom 19. Dezember 2006 festgelegt (s. Tabelle 2).

Da der Nitratgehalt in Gemüse den klimatischen Bedingungen unterliegt, wurden die Maximalwerte in Abhängigkeit von der Saison (Sommer und Winter) und der Anbaumethode (Freiland und Gewächshaus) festgelegt.

Für Feldsalat und Rucola sind bisher noch keine Grenzwerte festgelegt worden.

Tabelle 2: Höchstgehalte für Nitrat in Gemüse

Erzeugnis		Höchstgehalt (mg NO ₃ / kg)	
1.1	frischer Spinat (<i>Spinacia oleracea</i>)	Ernte vom 1. Oktober bis 31. März	3000
		Ernte vom 1. April bis 30. Sept.	2500
1.2	haltbar gemachter, tiefgefrorener oder gefrorener Spinat		2000
1.3	frischer Salat (<i>Lactuca sativa</i> L.) (unter Glas/ Folie angebauter Salat und Freilandsalat) ohne unter Nr. 1.4 aufgeführter Salat	Ernte vom 1. Oktober bis 31. März:	
		unter Glas/ Folie angebauter Salat	4500
		im Freiland angebauter Salat	4000
		Ernte vom 1. April bis 30. Sept.:	
		unter Glas/ Folie angebauter Salat	3500
		im Freiland angebauter Salat	2500
1.4	Salat des Typs „Eisberg“	unter Glas/ Folie angebauter Salat	2500
		im Freiland angebauter Salat	2000
1.5	Getreidebeikost und andere Beikost für Säuglinge und Kleinkinder (3) (4)		200

(Quelle: EG-Verordnung Nr. 1881/ 2006, Anhang Abschnitt 1: Nitrat)

3.2.2 Nitrat in Trinkwasser

Nitrat ist gut wasserlöslich und kann mit versickerten Niederschlägen aus dem Boden in das Grundwasser ausgewaschen werden. Demzufolge hängt der Nitratgehalt des Grundwassers von dem landwirtschaftlichen Nutzungsgrad einer Region ab (Weiß, 2008 a, S. 236). Damit auf diesem Wege so wenig Nitrat ins Grundwasser übergehen kann wie möglich, wurde die sogenannte „Gute Landwirtschaftliche Praxis“ (GAP = Good Agricultural Practice) entwickelt. Sie besagt, dass falls mit organischen Düngemitteln (Stallmist oder -gülle, Klärschlamm, Biokompost) gedüngt werden soll, diese so auszubringen sind, dass die Nährstoffe den Pflanzen zeitgerecht und in einer dem Nährstoffbedarf der Pflanzen entsprechenden Menge zur Verfügung stehen, damit keine Nährstoffverluste auftreten (Bundesgesundheitsblatt, 2004, S. 1019).

In der Europäischen Union wurde erstmals 1975 in der Richtlinie der EU 75/440/EEC ein einheitlicher Standard entwickelt für die Qualität von Oberflächenwasser, das als Trinkwasser genutzt wird (EFSA, 2008, S. 7). Die aktuellen Höchstwerte für Nitrat in Trinkwasser sowie Mineral- und Tafelwasser in Deutschland sind in Tabelle 3 dargestellt.

Tabelle 3: Höchstwerte an Nitrat und Nitrit nach Trinkwasserverordnung sowie Mineral- und Tafelwasser-Verordnung

Wasser	Höchstwert Nitrat	Höchstwert Nitrit
Trinkwasser	50 mg/l*	0,5 mg/l* am Ausgang des Wasserwerkes max. 0,1 mg/l
	* Die Summe aus Nitratkonzentration in mg/l geteilt durch 50 und Nitritkonzentration in mg/l geteilt durch 3 darf nicht größer als 1 mg/l sein	
Mineral- und Tafelwasser	50 mg/l	0,1 mg/l
Mineral- und Tafelwasser mit Hinweis auf eine Eignung für die Säuglingsernährung	10 mg/l	0,02 mg/l

(Quelle: Trinkwasserverordnung, 2001, Anlage 2 Abschnitt I und II;
Mineral- und Tafelwasser-Verordnung, 2004, Anlage 4 und Anlage 6)

3.2.3 Nitrat als Zusatzstoff

Allgemein enthalten Lebensmitteln tierischen Ursprungs geringe Nitratgehalte, da der tierische Körper kein Organ besitzt, das Nitrat speichert. Jedoch wird bei einigen tierischen Lebensmitteln wie Fleischwaren, Käse und Fischwaren (Anchosen) Nitrat aus technologischen und/ oder lebensmittelhygienischen Gründen zugesetzt (ZESB, 1986, S. 9).

Dabei wird Nitrat z.B. in Form von Natrium- (NaNO_3) und Kaliumnitrat (KNO_3) als Konservierungs- und Umrötungsmittel vor allem für die Herstellung von Pökelerzeugnissen wie roher Schinken oder Rohwurst eingesetzt. Die erwünschte Pökewirkung wird jedoch erst durch das entstehende Nitrit, das während der Reifung durch Bakterien aus Nitrat gebildet wird, erzielt (Weiß, 2008 a, S. 236 f.; Wirth, 1990, S. 136).

Neben der Umrötungswirkung verhindert ein Nitratzusatz bei der Herstellung von Käse eine durch Buttersäurebakterien verursachte Gasbildung, die sogenannte Spätblähung. Aus diesem Grund wird Nitrat im gereiften Käse (halbfeste Schnittkäse, Schnittkäse und Hartkäse) zur Vermeidung von Reifungsfehlern eingesetzt (Weiß, 2008 a, S. 236 f.; BVL, 2006, S. 24).

Darüber hinaus wird Nitrat als Zusatzstoff für eingelegte Heringe und Sprotten verwendet (Weiß, 2008 a, S. 236 f.).

Der Zusatz von Nitrat in Lebensmitteln unterliegt Höchstmengen und ist durch Vorschriften geregelt (s. Tabelle 4).

Tabelle 4: Höchstmengen für den Zusatz an Nitrat in Lebensmitteln

E-Nummer	Zusatzstoff	Lebensmittel	verwendete Höchstmenge
E 251 E 252	Kaliumnitrat (KNO ₃) Natriumnitrat (NaNO ₃)	Nicht wärmebehandelte Fleischerzeugnisse	150 mg/ kg* (berechnet als NaNO ₂)
		Hartkäse, halbfester und halbweicher Käse sowie Käseanaloge auf Milchbasis	150 mg/ kg (berechnet als NaNO ₂) in der Käsereimilch oder gleichwertige Menge bei Zusatz nach Entzug von Molke und Zusatz von Wasser
		eingelegte Heringe und Sprotten	500 (berechnet als NaNO ₂)

* Eine Reihe von Sonderregelungen gelten für traditionelle Fleischerzeugnisse mit Höchstmengen bis zu 300 mg/ kg Natrium- oder Kaliumnitrat.

(Quelle: Zusatzstoffzulassungsverordnung ZZuV, Stand 30.09.2008, Anlage 5 Teil C Liste I)

3.3 Nitrataufnahme und Stoffwechsel im menschlichen Körper

Die durchschnittliche Nitratzufuhr durch Lebensmittel liegt in Europa bei 52 – 156 mg pro Tag. Dabei sind die Hauptaufnahmequellen von Nitrat Gemüse und Obst (ca. 50 – 75 % der täglichen externen Nitrataufnahme), Wasser und andere Lebensmittel. Die Verwendung von Nitrat als Zusatzstoff ist für die Gesamtaufnahme dagegen von untergeordneter Bedeutung. Daneben wird ein kleiner Teil an Nitrat auch endogen im menschlichen Körper gebildet (Weiß, 2008 a, S. 237; EFSA, 2008, S. 7).

In Abb. 7 ist die geschätzte tägliche Nitrataufnahme aus verschiedenen Lebensmitteln in Prozent dargestellt. Dabei wurde Großbritannien repräsentativ für die nordeuropäischen Länder genommen und Frankreich als Repräsentant für Zentral- und Südeuropa.

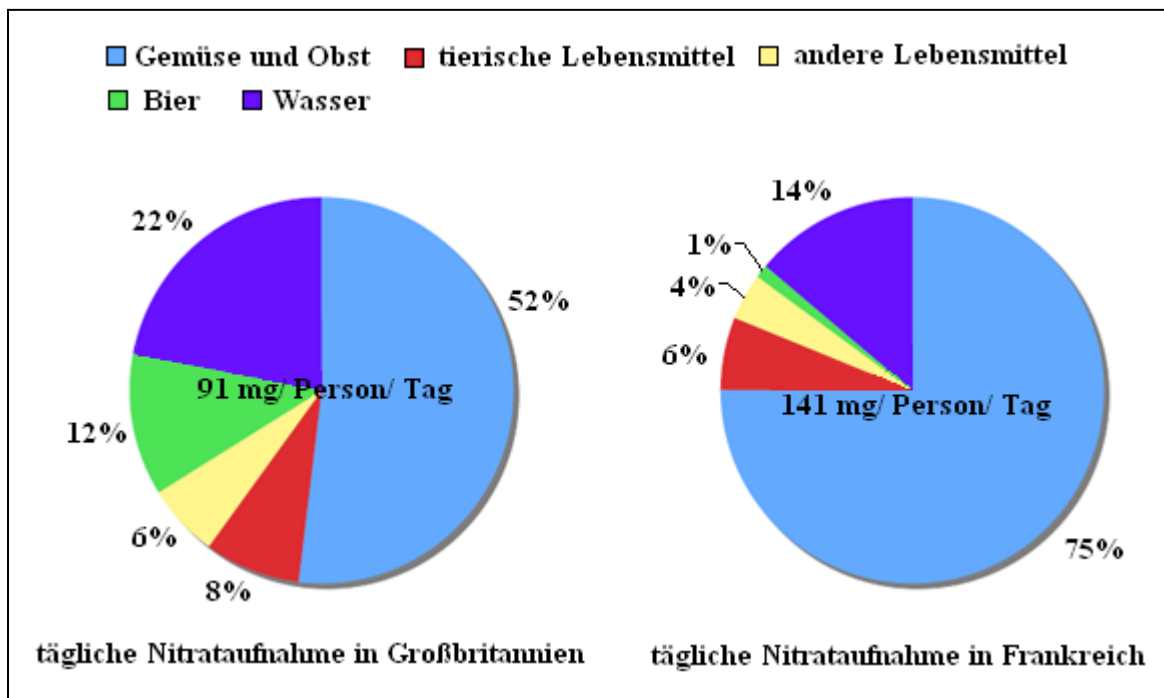


Abb. 7: geschätzte tägliche Nitrataufnahme aus verschiedenen Lebensmitteln in Großbritannien und Frankreich (Quelle: EFSA, 2008, S. 8)

Anhand der Darstellung kann man sehen, dass in den mediterranen Ländern, wo viel Gemüse verzehrt wird, auch die tägliche Nitrataufnahme höher ist. Somit hängt die Nitrataufnahme stark mit dem Gemüseverzehr zusammen. Bei geringem Gemüsekonsum (bis 150 g/ Tag) liegt die Nitrataufnahme im Mittel um 61 mg, bei mittlerem Konsum (151 – 300 mg Gemüse pro Tag) erhöht sich die Aufnahme auf 115 mg und bei hohem Gemüseverzehr (> 300 g/ Tag) auf 152 mg Nitrat pro Person und Tag (Diehl, 1998, S 80). In einer Studie in Großbritannien wurde für Vegetarier eine durchschnittliche Zufuhr von 185 –

195 mg Nitrat pro Tag ermittelt. Auch Personen mit einem hohen Salatverzehr haben ähnlich hohe Nitrataufnahmemengen, denn Salat ist besonders nitratreich (Weiß, 2008 a, S. 237).

Auch in Deutschland ist die Haupteinnahmequelle für Nitrat das Gemüse (60 % der Gesamtaufnahme) und das Wasser (26 % der Gesamtaufnahme). Die prozentuale Verteilung der Nitrataufnahme aus Lebensmitteln in Deutschland ist in Abb. 8 dargestellt (Wirth, 1990, S. 138).

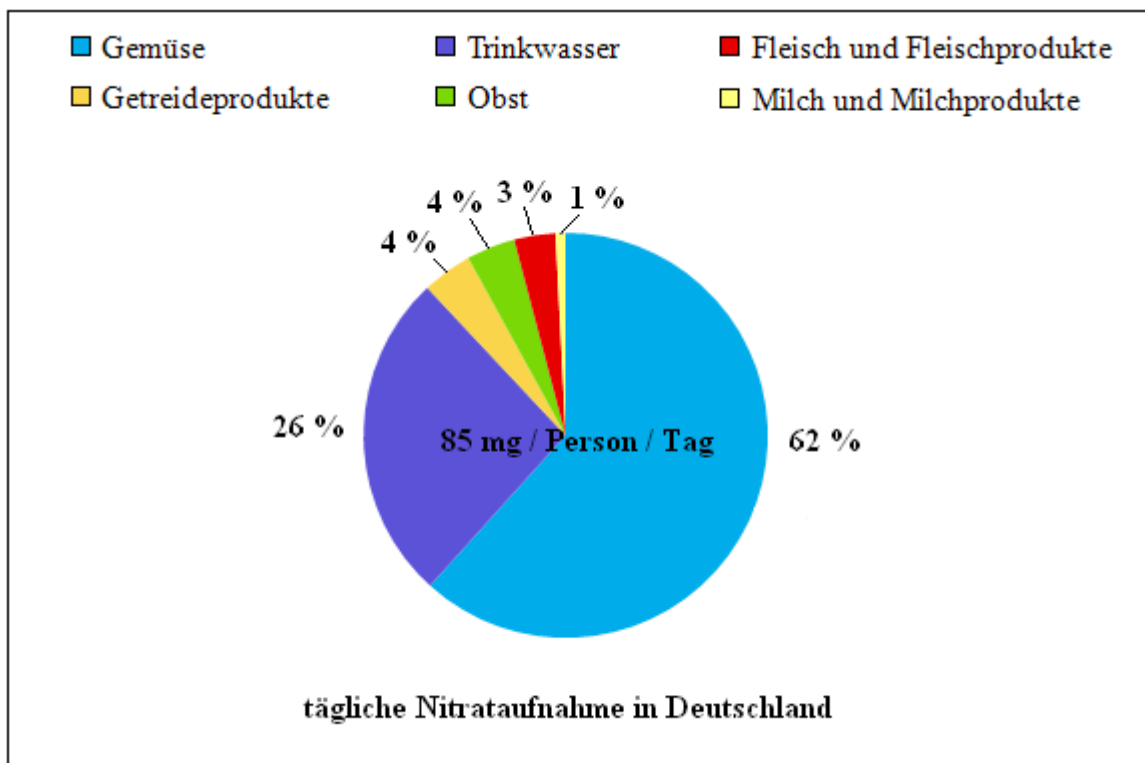


Abb. 8: geschätzte tägliche Nitrataufnahme aus verschiedenen Lebensmitteln in Deutschland (Werte wurden gerundet) (Quelle: Wirth, 1990, S. 138)

Neben den Lebensmitteln kann der Mensch durch Inhalation Nitrat aus der Luft, dem Zigarettenrauch und den Autoabgasen aufnehmen. Jedoch ist diese Aufnahmemenge von geringer Bedeutung im Vergleich zu der oralen Nitrataufnahme aus der Nahrung (EFSA, 2008, S. 36).

Nach der Aufnahme von nitrathaltigen Lebensmitteln oder Wasser wird das enthaltene Nitrat schnell, effektiv und nahezu vollständig (ca. 98 %) aus dem oberen Dünndarmabschnitt des Menschen ins Blut absorbiert. Denn Studien zufolge steigt der Plasmanitrat-

gehalt beim Menschen nach 10 Minuten der Speiseaufnahme um das 25-fache an und erreicht nach 40 Minuten einen Höchstzustand im Blut (EFSA, 2008, S. 36).

Folglich transportiert das Blut das Nitrat zu den Speicheldrüsen und zu anderen exogenen Drüsen. Der größte Teil (25 %) des aufgenommenen Nitrats wird jedoch von den Speicheldrüsen absorbiert und im Vergleich zum Plasma 10-fach konzentriert. Dadurch gelangen 25 % des aufgenommenen Nitrats in den Speichelkreislauf. Somit ist der endgültige Nitratgehalt im gebildeten Speichel abhängig von der Verzehrsmenge an nitratreichen Lebensmitteln und erreicht nach einer bis drei Stunden der oralen Nitrataufnahme einen Maximalwert (EFSA, 2008, S. 36; McKnight *et al.*, 1999, S. 350).

Die Speichelnitratsekretion wird durch ein aktives Transportsystem vermittelt, das mit Jodid und Thiocyanate geteilt werden muss (EFSA, 2008, S. 36). Somit konkurriert das Nitrat im Blut mit dem Transport von Jodid in die Schilddrüse (s. Kapitel 3.4, S. 33).

Das im Speichel konzentrierte Nitrat wird von den auf dem hinteren Abschnitt der Zunge lebenden Bakterien unter anaeroben Bedingungen zu Nitrit reduziert. Diese spezielle nitratreduzierende Bakterienflora wird durch hohe Nitrataufnahme und unhygienische Bedingungen gefördert. Schätzungsweise 20 % des aufgenommenen Nitrats wird durch diesen Mechanismus zu Nitrit umgewandelt und durch Schlucken in den Magen transportiert. Daneben wird Nitrat auch endogen im Magen aus Stickstoffmonoxid gebildet (EFSA, 2008, S. 37; McKnight *et al.*, 1999, S. 350).

Zusammenfassend kann man sagen, dass ca. 25 % des aufgenommenen Nitrats im Speichel abgesondert wird und ungefähr 20 % dieses Speichelnitrats durch Mikroorganismen auf der Zunge zu Nitrit umgewandelt wird. Im Endeffekt wird bei normalen Erwachsenen somit etwa 5 – 7 % des aufgenommenen Nitrats in Speichelnitrit reduziert. In Einzelfällen kann bei einer hohen Umwandlungsrate bis zu 20 % Nitrit aus dem aufgenommenen Nitrat gebildet werden. Daraus folgt, dass die Bildung von Speichelnitrit direkt mit der oralen Nitrataufnahme sowie mit der Anzahl an nitratreduzierenden Bakterien auf der Zunge verbunden ist. Jedoch kann diese Umwandlung bei sehr hohen Nitrataufnahmen auch gesättigt werden (EFSA, 2008, S. 37).

Nicht nur in der Mundhöhle, sondern auch im Magen können Bakterien das Nitrat in Nitrit umwandeln. Jedoch verhindert bei gesunden Menschen der tiefe pH-Wert im Magen eine starke Kolonisierung mit Bakterien, somit ist die dort synthetisierte Menge an Nitrit vernachlässigbar. Das aus dem Magen-Darm-Trakt resorbierte Nitrit wird im Blut innerhalb

von ca. 30 Minuten durch Hämoglobin wieder zu Nitrat oxidiert (s. Kapitel 4.2, S. 37) (Schmid, 2006, S 490).

Der größte Teil (60 – 70 %) des adsorbierten Nitrats wird unverändert über die Niere mit dem Urin ausgeschieden. Neben den 25 % des aufgenommenen Nitrats, das zur Speichelsekretion verwendet wird, werden weitere 5 – 15 % im Dickdarm sezerniert. In Abb. 9 ist der gesamte Nitrat-Stoffwechsel mit gerundeten Werten dargestellt. Bei Vegetariern sind höhere Nitratmengen möglich (Schmid, 2006, S 490).

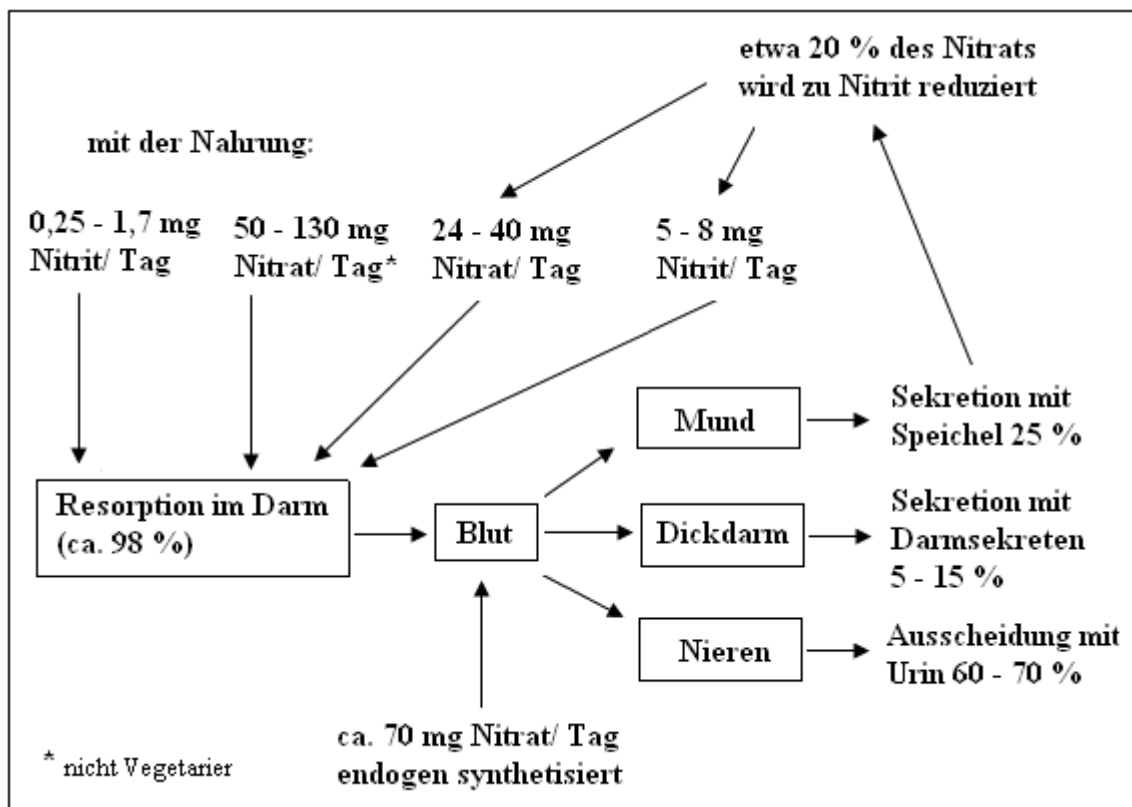


Abb. 9: Stoffwechsel von Nitrat und Nitrit im menschlichen Organismus (die Mengen sind gerundet) (Quelle: Schmid, 2006, S 490)

In vielen Studien wird berichtet, dass bei geringer Nitrataufnahme mehr Nitrat mit dem Urin ausgeschieden wird. Dies kann damit zusammenhängen, dass Nitrat aus der Luft bzw. von Zigarettenrauch inhaliert wird, jedoch wurde der Hauptteil wahrscheinlich endogen gebildet (EFSA, 2008, S. 38).

Bei der endogenen Nitratbildung wird die Aminosäure L-Arginin zu Stickstoffmonoxid (NO) und Citrullin umgewandelt. Das entstandene Stickstoffmonoxid (NO) wird zu Distickstofftrioxid (N₂O₃) oxidiert und reagiert anschließend mit Wasser zu Nitrit (NO₂⁻).

Auf diesem Wege entstehen schätzungsweise 69 mg Nitrit pro Tag ausgedrückt in Natriumnitrit (NaNO_2). Das entstandene Nitrit wird schnell durch Hämoglobin zu Nitrat oxidiert und hauptsächlich in dieser Form ausgeschieden (Weiß, 2008 a, S. 238; Schmid, 2006, S 490; Diehl, 1998, S. 80). Auch das mit dem Nahrungsprotein aufgenommene Arginin kann bei dieser Reaktion als Stickstoffquelle dienen (Diehl, 1998, S. 80).

Etwa 1 mg Nitrat pro Kilogramm Körpergewicht (insgesamt 54 – 85 mg Nitrat pro Tag; berechnet als NaNO_3) wird endogen aus Stickstoffmonoxid (NO) gebildet.

3.4 Toxizität von Nitrat

In den üblichen Verzehrsmengen gilt Nitrat für den Menschen als unbedenklich. Die duldbare tägliche Dosis (ADI-Wert), die ein Leben lang täglich ohne gesundheitliche Wirkung verzehrt werden kann, liegt für Nitrat bei 3,7 mg pro kg Körpergewicht. Dies entspricht einer täglichen Nitrataufnahme von 259 mg für einen 70 kg schweren Mann und 215 mg Nitrat pro Tag für eine 58 kg schwere Frau. Dabei werden gelegentliche Überschreitungen des ADI-Wertes durch Verzehr nitratreicher Gemüse als gesundheitlich unbedenklich betrachtet. Dieser aus Tierversuchen abgeleitete ADI-Wert gilt jedoch nicht für Säuglinge unter 3 Monaten, denn sie reagieren besonders empfindlich auf das aus Nitrat gebildete Nitrit (Weiß, 2008 a, S. 238; FAO/ WHO, 2003 a, S. 1).

Die tödliche Dosis von Nitrat liegt bei 15 g (Weiß, 2008 a, S. 238).

Auch eine hohe Nitratzufuhr wie bei den Vegetariern (mit 185 – 195 mg NO_3^- / Tag) zeigt keine gesundheitsschädliche Wirkung. Im Gegenteil zeichnen sich Vegetarier häufig durch eine besonders gute Gesundheit aus, was sicherlich vielerlei Gründe hat. Auch die Epidemiologie gibt keine Anhaltspunkte für eine gesundheitsschädliche Wirkung hoher Nitratgehalte in Gemüse. Es wurde sogar eine Korrelation zwischen hohem Gemüseverzehr und niedrigem Krebsrisiko entdeckt. Diese Wirkung ist auf den hohen Gehalt an Vitamin C und E, Polyphenole und andere Nitrosierungs-Inhibitoren im Gemüse zurückzuführen (Diehl, 1998, S. 80).

Da Nitrat im Organismus mit Jod konkurriert, kann es dessen Aufnahme in die Schilddrüse hemmen. Jodid ist jedoch wichtig, denn es wird für die Synthese des essentiellen Hormons Thyroxin benötigt. Bei normaler Zufuhr von Jodid kann die Schilddrüse ein Überwiegen des Konkurrenten Nitrat ausgleichen. Ist jedoch die Jodversorgung mangelhaft und die Nitrataufnahme über längere Zeit erhöht ($> 3,65 \text{ mg NO}_3^- / \text{kg Körpergewicht}$), versucht die

Schilddrüse den durch Nitrat künstlich verstärkten Jodidmangel durch Vergrößerung und Neubildung thyroxinbildender Zellen auszugleichen. Als Folge dieses Mechanismus kann ein Jodmangelkropf (Struma) entstehen (Bundesgesundheitsblatt, 2004, S. 1020; BfR, 2004 b, S. 4 f.).

Die eigentliche toxikologische Problematik liegt nicht in der direkten Toxizität des Nitrats für den Menschen, sondern bei möglichen endogenen Produkten wie die Umwandlung zu Nitrit. Denn dieses kann beim Säugling Blausucht (s. Kapitel 4.3, S. 41) verursachen und in Lebensmitteln oder im menschlichen Körper zur Bildung krebserregender Nitrosamine (s. Kapitel 5.2, S. 45) beitragen (Weiß, 2008 a, S. 238). Die FAO/ WHO Joint Expert Committee hat auf Basis zahlreicher Tierversuche und epidemiologischer Studien jedoch festgestellt, dass keine Anzeichen für einen Zusammenhang zwischen Nitratexposition und Krebsrisiko gibt, sowie Nitrat als nicht genotoxisch eingestuft (Diehl, 1998, S. 80; Weiß, 2008 a, S. 238).

4. Nitrit

Nitrit (NO_2^-) ist ebenfalls ein natürliches Produkt, das durch mikrobielle Reduktion aus Nitrat (NO_3^-) im Boden und Pflanze sowie in Lebensmitteln und im menschlichen Körper gebildet werden kann.

4.1 Nitritgehalte in verschiedenen Lebensmitteln

Lebensmittel enthalten normalerweise nur geringe Mengen an Nitrit (NO_2^-), dabei sind die wesentlichen Quellen hierfür gepökelte Fleischerzeugnisse. Die weitaus größere Bedeutung hat die endogene Bildung von Nitrit aus Nitrat (Weiß, 2008 a, S. 238).

Außerdem können Bakterien nicht nur im menschlichen Körper sondern auch in nitrathaltigen Lebensmitteln, in fertig zubereiteten Mahlzeiten und in bakteriologisch nicht einwandfreiem Trinkwasser das Nitrat in Nitrit umwandeln. Dadurch nimmt der Nitritgehalt in Lebensmitteln mit steigender Keimzahl und der Lagerdauer zu. Weitere Einflussfaktoren auf die Nitratreduktion sind Temperatur, pH-Wert, Sauerstoffgehalt des Lebensmittels sowie die fermentative Ausstattung der enthaltenen Mikroorganismen (Weiß, 2008 a, S. 239). Näheres zu diesem Thema wird in Kapitel 7 (S. 49) beschrieben.

4.1.1 Nitritgehalt in Gemüse

Nitrit ist toxisch für die Pflanze, deshalb reichert sich auch kaum Nitrit in Gemüse an. Nur wenn infolge geringer Lichtintensität die Reaktionsgeschwindigkeit von Nitrat (NO_3^-) zu Nitrit (NO_2^-) und anschließend zu Ammonium (NH_4^+) etwas träger verläuft, kann das als Zwischenprodukt auftretende Nitrit zur Zeit der Bestimmung im Gemüse erfasst werden (ZEBS, 1986, S. 60). Aus diesem Grund ist Nitrit in Gemüse häufig nicht nachweisbar (n.n.) bzw. nur in sehr geringen Mengen enthalten, wie anhand der Tabelle 5 gezeigt wird.

Tabelle 5: Nitritgehalte in einigen Gemüse (Angaben in mg NO_2^- / kg Frischsubstanz)

Lebensmittel	Nitritgehalt in mg NO_2^- / kg Frischsubstanz	Lebensmittel	Nitritgehalt in mg NO_2^- / kg Frischsubstanz
Grüne Bohnen	n.n.	Tomate	n.n. – 4
Eisbergsalat	n.n. – 1	Sellerie	n.n. – 8
Grünkohl	n.n. – 2	Rote Beete	n.n. – 8
Karotten	n.n. – 2	Kopfsalat	n.n. – 11
Gurke	3	Kartoffeln	n.n. – 19
Broccoli	2 – 4	Spinat	n.n. – 26

Quelle: EC, 1997, S. 11

4.1.2 Nitrit als Zusatzstoff

Die Bildung von Nitrit im Lebensmittel kann auch gewünscht sein z.B. beim Pökeln mit Nitrat, denn die Voraussetzung für die Pökelnwirkung ist, dass das Nitrat durch nitratreduzierende Bakterien in Nitrit umgewandelt wird. Ursprünglich wurde nur Nitrat (Salpeter) zum Pökeln eingesetzt, da dieser Zusammenhang nicht bekannt war. Heutzutage wird häufig Nitrit direkt zugesetzt und zwar als Zusatzstoff in Form von Nitritpökelsalz. Es ist ein Gemisch aus Speisesalz und 0,4 – 0,5 % Natriumnitrit (NaNO_2), das den Fleischerzeugnissen zugesetzt wird. Diese geringe Nitritmenge reicht aus für die technologischen und mikrobiologischen Erfordernisse beim Pökeln (Weiß, 2008 a, S. 239; Wirth, 1990, S. 136 ff. und S. 140). Unter der Pökelnwirkung des Nitrits wird die Umrötung von Fleisch

verstanden, d.h. die ursprüngliche Fleischfarbe wird in die charakteristische, licht-, sauerstoff- und hitzestabile, rote Pökelfarbe umgewandelt.

Neben der Pökelfarbe besitzt das Nitrit auch eine konservierende Wirkung, denn es hemmt das Wachstum pathogener Keime wie z.B. Clostridium botulinum, Salmonellen und Staphylokokken (Wirth, 1990, S. 137 f.).

Darüber hinaus hemmt Nitrit die Oxidation von Fettsäuren durch die Bildung eines Komplexes mit prooxidativen Substanzen wie Kupfer und Eisen und verzögert damit das Ranzigwerden der Fette (Weiß, 2008 a, S. 239; Wirth, 1990, S. 138).

Der Zusatz von Nitrit in Lebensmitteln als Zusatzstoff unterliegt wie auch Nitrat Höchst- mengen und wird in der Zusatzstoffzulassungsverordnung (ZZuLV) geregelt. Für die meisten Fleischerzeugnisse gelten die Werte in Tabelle 6, jedoch gibt es für traditionelle Fleischerzeugnisse zahlreiche Sonderregelungen mit Höchstmengen von bis zu 180 mg/ kg Natrium- (NaNO_2) oder Kaliumnitrit (KNO_2). Darüber hinaus wurden für bestimmte tradi- tionelle Erzeugnisse Rückstandshöchstmengen statt der Beschränkung des Nitritzusatzes festgelegt (Weiß, 2008 a, S. 239).

Tabelle 6: Höchstmengen für den Zusatz an Nitrit in Lebensmitteln

E-Nummer	Zusatzstoff	Lebensmittel	verwendete Höchstmenge
E 249	Kaliumnitrit (KNO_2)	Fleischerzeugnisse	150 mg/ kg* ¹ (berechnet als NaNO_2)
E 250	Natriumnitrit (NaNO_2)	sterilisierte Fleischer- zeugnisse ($F_o > 3$)* ²	100 mg/ kg* ¹ (berechnet als NaNO_2)

*¹ Eine Reihe von Sonderregelungen gelten für traditionelle Fleischerzeugnisse.

*² F_o -Wert 3 entspricht 3 Minuten Erhitzung auf 121°C

Quelle: Zusatzstoffzulassungsverordnung ZZuLV, 1998 (zuletzt geändert am 30.09.2008), Anlage 5 Teil C Liste I

4.2 Nitritaufnahme und Stoffwechsel im menschlichen Körper

Die mittlere Aufnahme von Nitrit in Europa liegt bei 0,7 – 4,2 mg/ Tag. Die Haupteinahmequelle dabei sind Lebensmittel tierischen Ursprungs und andere Lebensmittel (Weiß, 2008 a, S. 239). Für Deutschland werden in der Literatur Werte zwischen 0,25 und 1,7 mg Nitrit pro Person und Tag angegeben, wobei vor dreißig Jahren die Menge mit 4,9 mg NO_2^- / Tag deutlich höher lag (Schmid, 2006, S 490).

In Abb. 10 ist die geschätzte tägliche Nitritaufnahme aus verschiedenen Lebensmitteln in Prozent dargestellt. Auch hier wurde wie bei der Nitrataufnahme Großbritannien repräsentativ für die nordeuropäischen Länder genommen und Frankreich als Repräsentant für Zentral- und Südeuropa.

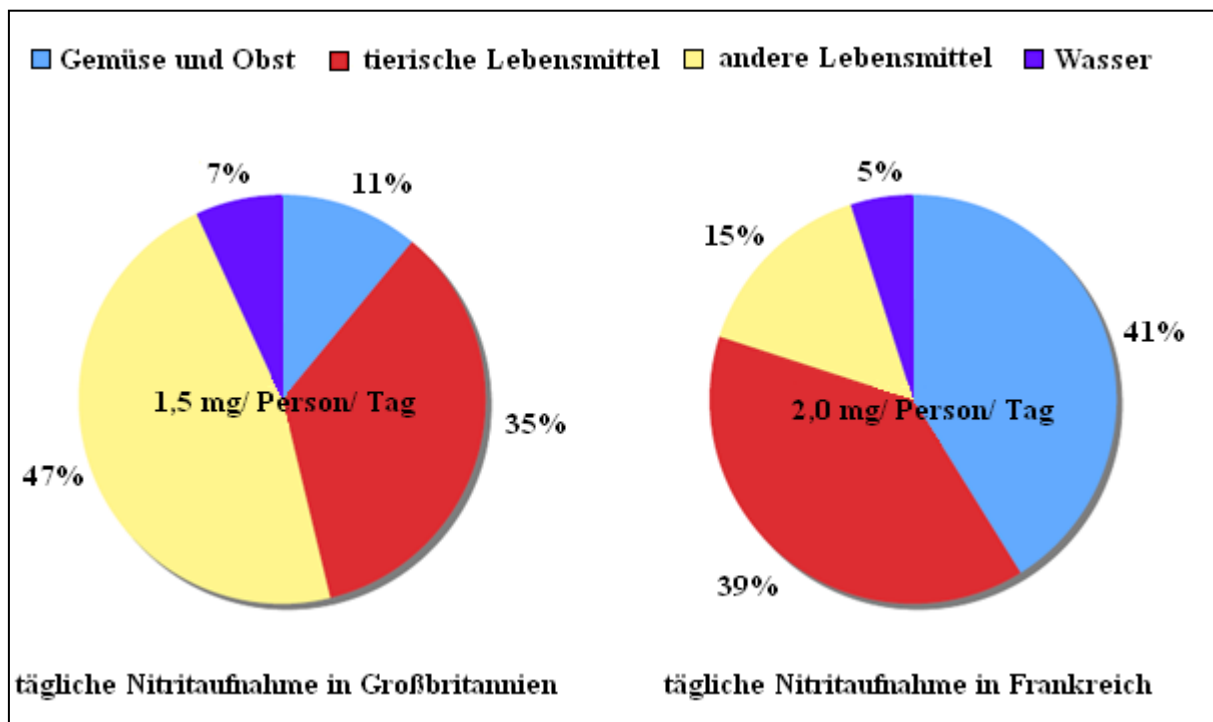


Abb. 10: geschätzte tägliche Nitritaufnahme aus verschiedenen Lebensmitteln in Großbritannien und Frankreich (Quelle: EFSA, 2008, S. 8)

In Deutschland beträgt die Nitritaufnahme 1,72 mg pro Person und Tag. Die Haupteinahmequellen sind dabei Frischfleisch und Fleischprodukte (zusammen 53,50 %), sowie Getreideprodukte (39 %) und Gemüse (7,50 %) (Abb. 11) (Wirth, 1990, S. 139).

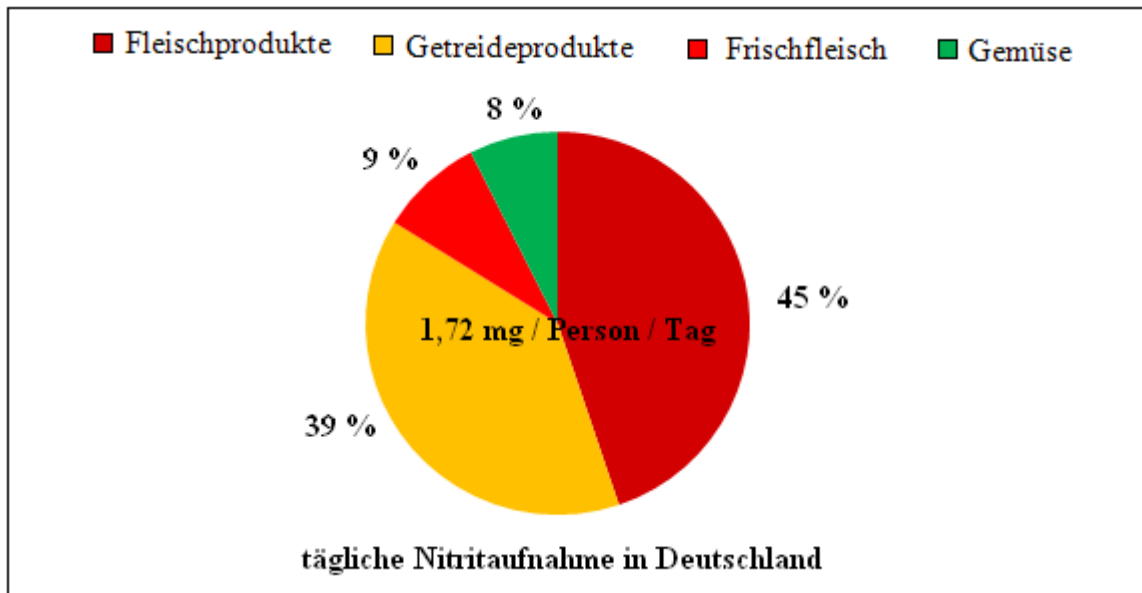


Abb. 11: geschätzte tägliche Nitritaufnahme aus verschiedenen Lebensmitteln in Deutschland (Werte sind gerundet) (Quelle: Wirth, 1990, S. 139)

Wie schon in Kapitel 3.3 (S. 29) erwähnt, wird Nitrat, das in Nahrungsmitteln enthalten ist, durch Bakterien in der Mundhöhle und der Darmflora teilweise zu Nitrit reduziert. Somit ist die orale Reduktion von Nitrat (NO_3^-) zu Nitrit (NO_2^-) die wichtigste Quelle für Nitrit beim Menschen und beträgt ca. 70 – 80 % der gesamten humanen Nitritaufnahme (EFSA, 2008, S. 37 f.). Zur Verdeutlichung wird in Abb. 12 die gesamte Nitritexposition einschließlich der endogenen Bildung dargestellt.

Das Ausmaß der endogenen Nitratreduktion weist individuelle Unterschiede auf, jedoch steigt der Gehalt an Nitrat und Nitrit generell nach Verzehr eines nitratreichen Lebensmittels schlagartig an und bleiben mehrere Stunden erhöht (Weiß, 2008 a, S. 238). Bestimmte Faktoren wie Ernährungsstatus, Infektion, Mangel an Magensalzsäure (Achlorhydrie), Umgebungstemperatur und Alter können die orale Mikroflora und somit die Nitritbildung beeinflussen. Zum Beispiel haben ältere Probanden höhere Raten an Speichelnitrit als jüngere, obwohl erhebliche Schwankungen zwischen den Individuen beobachtet wurden. Darüber hinaus können antibakterielle Mundspülungen die Anzahl an Mikroorganismen im Mund und somit die Umwandlung von Nitrat zu Nitrit senken (EFSA, 2008, S. 37 f.).

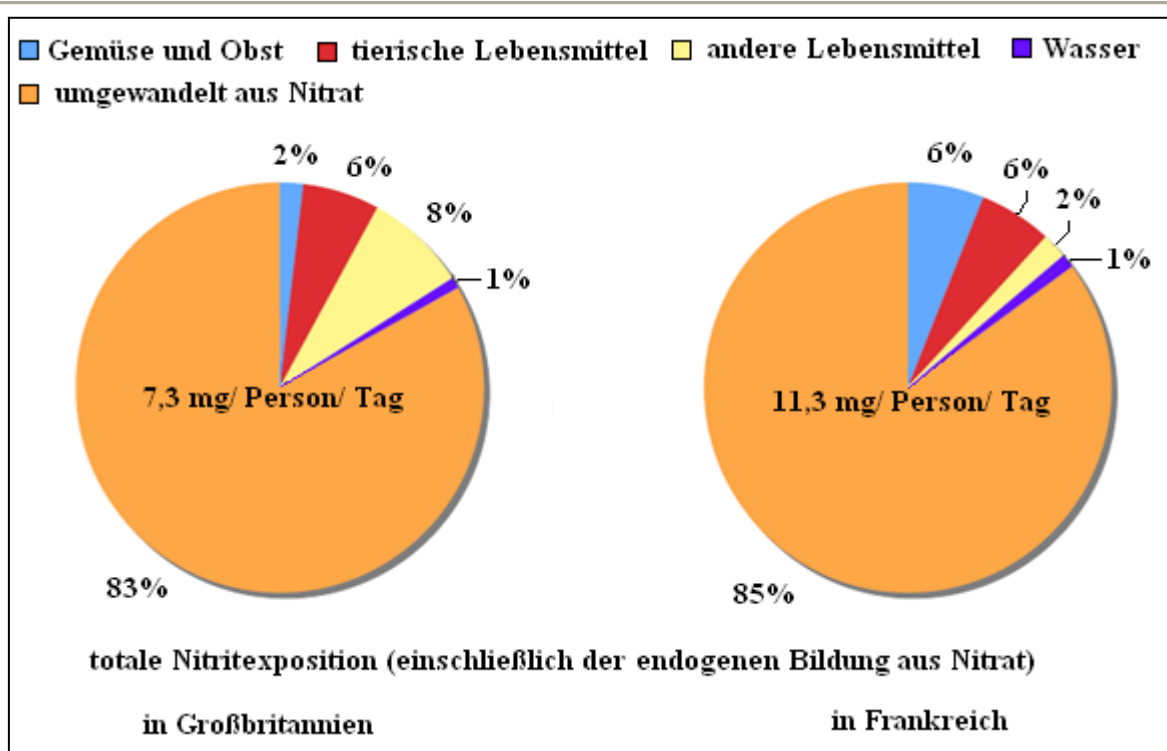


Abb. 12: geschätzte totale Nitritexposition aus verschiedenen Lebensmitteln (einschließlich der endogenen Bildung aus Nitrat) in Großbritannien und Frankreich (Quelle: EFSA, 2008, S. 8)

Ein niedriger pH-Wert im Magen (pH 1 – 2) ist zu tief für das Wachstum von Bakterien, deshalb findet hier keine bakterielle Nitratreduktion statt. Jedoch hat bei normalen und gesunden Erwachsenen ein signifikanter Anteil (30 – 40 %) der Bevölkerung einen relativ hohen pH-Wert (> 5) im Magen, der steigende Bakterienaktivität und somit höhere Nitritgehalte bewirkt. Säuglinge unter 3 Monaten sind hoch empfindlich gegenüber bakterieller Nitratreduktion zu Nitrit im Magen, da sie eine geringe Magensäureproduktion haben. Zusätzlich kann die Reduktion von Nitrat zu Nitrit bei Kindern mit gastrointestinalen Infektionen erhöht sein (EFSA, 2008, S. 38).

Nach dem Transport von Nitrit in den Magen bewirken die sauren Bedingungen eine rasche Umwandlung von Nitrit zu salpetrige Säure (HNO_2). Diese kann spontan in stickstoffhaltige Oxide wie Distickstofftrioxid (N_2O_3) und Stickstoffmonoxid (NO) zerfallen (Weiß, 2008 a, S. 239; McKnight *et al.*, 1999, S. 350). Weitere mögliche Reaktionen von Nitrit im Magen sind in Abb. 13 dargestellt.

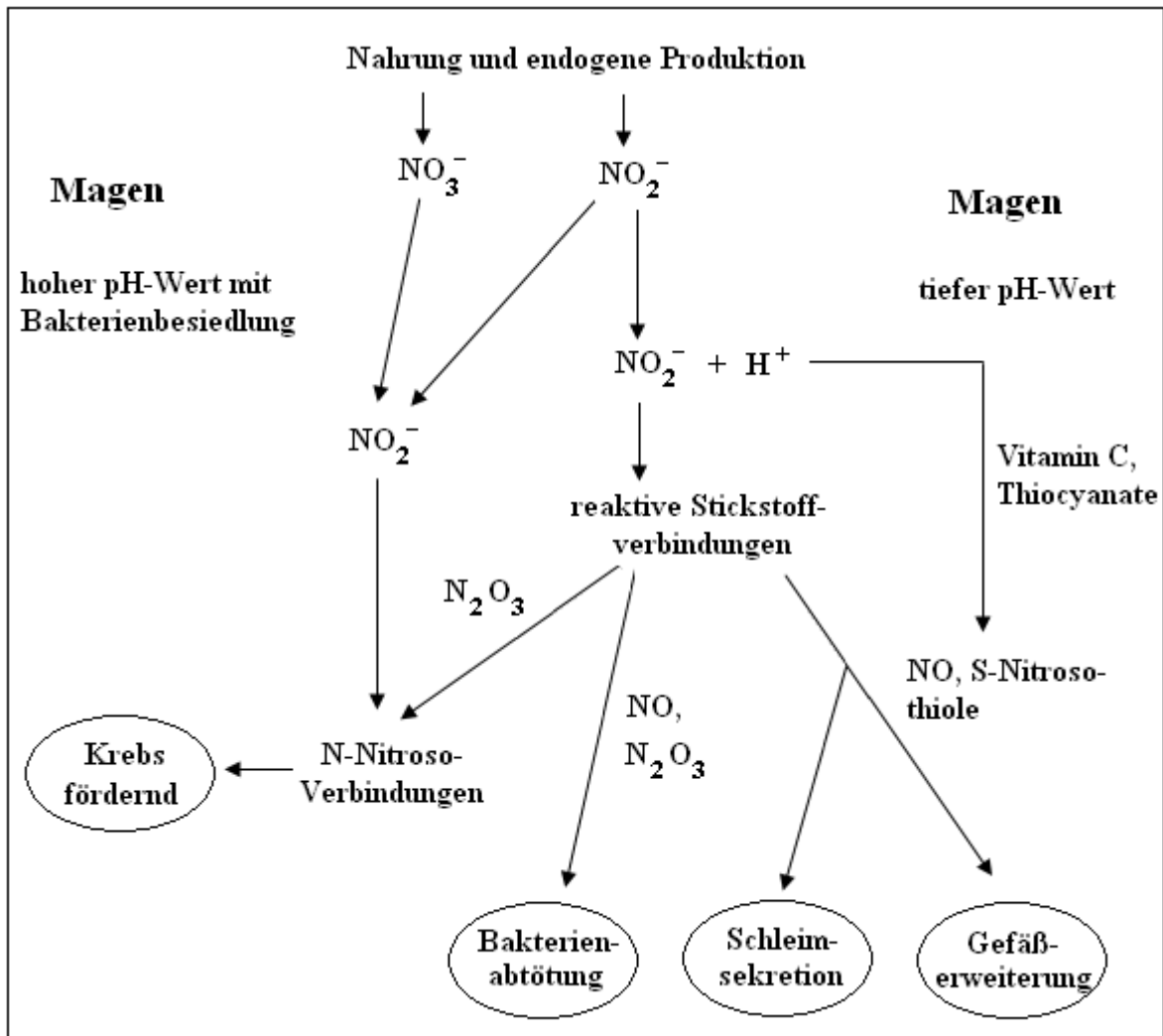


Abb. 13: Mögliche Reaktionen von Nitrit im Magen (Quelle: Schmid, 2006, S. 492)

Wie anhand der Abb. 13 zu sehen ist, kann das Nitrit sich mit Vitamin C zu gesundheitsfördernden Stickstoffverbindungen reagieren. Das Vitamin C ist dabei meist im Magen vorhanden, denn es kann sowohl aus der Nahrung aufgenommen als auch in der Magenschleimhaut gebildet werden. Jedoch ist dieser Prozess sehr komplex und unterliegt vielen individuellen Faktoren (McKnight *et al.*, 1999, S. 350).

Das mit den Lebensmitteln aufgenommene Nitrit wird im Magen-Darm-Trakt innerhalb von kurzer Zeit resorbiert und anschließend im Blut durch Hämoglobin zu Nitrat oxidiert (s. Kapitel 4.3, S. 41). Durch diesen Mechanismus wird das toxische Nitrit mit einer Halbwertszeit von durchschnittlich 30 Minuten eliminiert (Weiß, 2008 a, S. 239).

4.3 Toxizität von Nitrit

Nitrit wirkt in hohen Dosierungen (> 2 g) akut toxisch. Bereits 1 – 2 g Nitrit können bei Erwachsenen schwere Vergiftungserscheinungen hervorrufen und 4 g Nitrit sind tödlich (Schmid, 2006, S. 491). Denn das Nitrit wird schnell aus dem Darm absorbiert und reagiert dann mit dem roten Blutfarbstoff Hämoglobin zu Methämoglobin (MetHb). Genau genommen wird das zweiwertige Eisen des Hämoglobins im Blut zu dreiwertigem Eisen oxidiert, so dass Methämoglobin entsteht (Abb. 14). Dabei wird Nitrit zu Nitrat oxidiert. (Schmid, 2006, S. 491; McKnight *et al.*, 1999, S. 350).

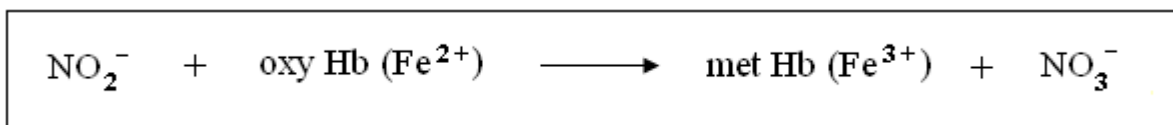


Abb. 14: Umwandlung von Nitrit zu Nitrat mithilfe des Hämoglobins (Quelle: McKnight *et al.*, 1999, S. 350)

Das entstandene Methämoglobin bindet kein Sauerstoff mehr und kann diesen somit nicht in die Gewebe transportieren. Bei gesunden Erwachsenen wird diese Reaktion mithilfe des Enzyms Methämoglobinreduktase (Diaphorase) umgekehrt, indem das dreiwertige Eisen wieder in zweiwertiges überführt wird. Bei einer extrem hohen Nitritzufuhr (ab 2 g NO_2^-) wird jedoch die Kapazität des Enzyms überschritten, d.h. das Enzym kann das Hämoglobin nicht schnell genug zurückbilden. Dadurch kommt es zu Störungen im Sauerstofftransport und Vergiftungserscheinungen treten auf. Sobald wegen eines zu hohen Anteils an Methämoglobin ($> 60\%$) nicht mehr genügend Hämoglobin zum Transport des Sauerstoffs zur Verfügung steht, kann ein Mensch an innerer Erstickung sterben (Weiß, 2008 a, S. 240; Bundesgesundheitsblatt, 2004, S. 1020; Schmid, 2006, S. 491).

Im Allgemeinen liegt die Konzentration an Methämoglobin im Blut bei 1 – 2 % des Totalhämoglobins. Eine Methämoglobinkonzentration von 10 % bewirkt einen leichten Sauerstoffmangel im Blut mit Blauverfärbungen der Lippen und Haut (Schmid, 2006, S. 491). Jedoch wird ein Methämoglobinanteil von bis zu 20 % von einem Erwachsenen meist noch symptomlos vertragen, bei 50 % tritt aber lebensbedrohender Sauerstoffmangel auf („Blausucht“ = Zyanose; Methämoglobinämie).

Besonders empfindlich gegenüber Nitrit und Methämoglobinämie sind Säuglinge im Alter von bis zu drei Monaten, da die Methämoglobinreduktase noch wenig aktiv ist. Außerdem

reagiert das Hämoglobin des Neugeborenen besonders leicht mit Nitrit zu Methämoglobin, dadurch können viel schneller als beim Erwachsenen gesundheitsschädliche Konzentrationen auftreten (Weiß, 2008 a, S. 240; Schmid, 2006, S. 491).

Die Ursache solcher Vergiftungen können neben stark nitratreichen Trinkwasser in ländlichen Gebieten (200 – 500 mg NO_3^-/L) auch unsachgemäß gelagerte Breie aus nitratreichem Gemüse (z.B. Spinat) sein, denn in solchen Breien kann durch nitratreduzierenden Bakterien Nitrit entstehen (Weiß, 2008 a, S. 240; Schmid, 2006, S. 491). Jedoch tritt dies meist auf, wenn der Säugling zusätzlich an einer Magen-Darm-Infektion („Ernährungsstörungen“, Brechdurchfälle) erkrankt ist. Denn durch die Infektion kann die endogene Nitrat- und Nitritproduktion erhöht sein. Das exogen hinzukommende Nitrat bzw. Nitrit führt zu einer starken Erweiterung der Blutgefäße und löst dadurch eine Verschlechterung des Gesundheitszustandes aus. Kreislaufschock und unzureichende Versorgung lebenswichtiger Organe mit methämoglobinreichem und entsprechend sauerstoffarmem Blut sind die Folge (Bundesgesundheitsblatt, 2004, S. 1020).

Aufgrund dieser akut toxischen Wirkung hat die Weltgesundheitsorganisation (WHO) für Nitrit einen ADI-Wert von 0,07 mg pro kg Körpergewicht festgelegt (FAO/ WHO, 2003 b, Kapitel 4). Dies entspricht einer täglichen Nitritaufnahme von 4,9 mg für einen 70 kg schweren Mann und 4,1 mg Nitrit pro Tag für eine 58 kg schwere Frau. Auch dieser ADI-Wert ist nicht für Säuglinge unter drei Monaten geeignet.

Neben dieser akuten Toxizität hat Nitrit die Eigenschaft im Magen mit (nitrosierbaren) Nahrungsbestandteilen wie z.B. sekundären Aminen zu kanzerogen wirkenden Nitrosoverbindungen reagieren zu können (s. Kapitel 5.2, S. 45). Solche N-Nitroso-Verbindungen entstehen bei der Reaktion von sekundären Aminen oder N-substituierten Amiden mit reaktiven Stickstoffverbindungen (N_2O_3 , N_2O_4 , NO), die im sauren Milieu aus Nitrit bzw. salpetriger Säure (HNO_2) entstehen können (Schmid, 2006, S. 492). Jedoch ist die Bedeutung des Reaktionsweges für die Gesundheit des Menschen noch unklar. Denn epidemiologische Studien lieferten bisher widersprüchliche Ergebnisse, so dass ein Zusammenhang zwischen der Höhe der Nitrat- bzw. Nitritzufuhr und der Häufigkeit von Krebserkrankungen nicht nachgewiesen werden konnte (Weiß, 2008 a, S. 240).

4.4 positive Wirkungen von Nitrit im menschlichen Körper

In neuerer Literatur werden auch positive Wirkungen von Nitrit beschrieben, vor allem die Schutzfunktion im Magen. Wie in Abb. 13 dargestellt, entstehen im sauren Milieu des Magens aus Nitrit spontan reaktive Stickstoffverbindungen, unter anderem Stickstoffmonoxid (NO), die antibakteriell wirken. Diese können die mit der Nahrung aufgenommenen pathogenen Keime inaktivieren. Zumindest wurde diese Wirkung gegenüber *Yersinia*, *Salmonella*, *Shigella*, *E.coli* und *Helicobacter pylori* gezeigt, wobei die erwähnten Bakterien unterschiedlich sensibel sind. Dabei wirken Stickstoffverbindungen und Magensäure synergistisch (Weiß, 2008 a, S. 240; Schmid, 2006, S. 492).

Makrophagen bilden Stickstoffmonoxid in größeren Mengen zur Bekämpfung von Krankheitserregern (z.B. Bakterien). Besonders bei fiebrigen Erkrankungen wird es in hohen Mengen freigesetzt. Stickstoffmonoxid ist jedoch nicht nur für die Immunabwehr verantwortlich sondern auch für die Zellkommunikation, denn es dient als Neurotransmitter im Nervensystem. Darüber hinaus hat Stickstoffmonoxid einen schützenden Effekt auf die Magenwand, indem es die Blutzirkulation in der Magenschleimhaut anregt und somit die Dicke der Schleimschicht an der Magenwand fördert. Außerdem wirkt Stickstoffmonoxid gefäßerweiternd und kann dadurch den Blutdruck senken. Deshalb wird es auch endogen aus der Aminosäure L-Arginin mithilfe von Enzymen gebildet (McKnight *et al.*, 1999, S. 350; Weiß, 2008 a, S. 238; Schmid, 2006, S. 490).

Vermutlich sind diese positiven Effekte der Grund dafür, dass beim Menschen epidemiologisch bisher keine direkte krebsfördernde Wirkung durch die Zufuhr von Nitrat und Nitrit über die Nahrung belegt werden konnte. Darüber hinaus wird hohem Gemüseverzehr trotz damit eingehender Nitratzufuhr (und damit verbundener Nitritmenge im Speichel) sogar oft eine positive Wirkung bestätigt. Dies könnte an obigen Mechanismen liegen oder auch am meist hohen Gehalt an Antioxidantien in Gemüse (Schmid, 2006, S. 492).

5. Nitrosamine

Nitrosamine bzw. N-Nitrosoverbindungen entstehen bei der Nitrosierung von Aminen, Amiden oder Aminosäuren, die in nahezu allen Lebensmitteln natürlicherweise vorkommen, denn sie sind Abbauprodukte von Eiweißen. Dabei bilden Nitrit oder Stickoxide das Nitrosierungsmittel. Da viele Nitrosamine sich in Tierversuchen als kanzerogen erwiesen haben und es Anhaltspunkte für eine solche Wirkung auch beim Menschen gibt, ist diese Nitrosaminbildung in der Nahrung unerwünscht und unbeabsichtigt (DGE, 1996, S. 142).

5.1 Nitrosamine in verschiedenen Lebensmitteln

Die Hauptquellen für Nitrosamine sind neben Lebensmitteln vor allem Tabakerzeugnisse, aber auch Kosmetika und Bedarfsgegenstände wie Schnuller und Luftballons. Zusätzlich können sie endogen im menschlichen Körper gebildet werden (Weiß, 2008 b, S. 304).

Aus analysetechnischen und toxikologischen Gründen werden in Lebensmitteln überwiegend flüchtige Nitrosamine bestimmt. Die wichtigsten dabei sind Nitrosodimethylamin (NDMA), Nitrosopyrrolidin (NPYR) und Nitrosopiperidin (NPIP) (s. Abb. 15). Jedoch enthalten Lebensmittel neben diesen flüchtigen auch nichtflüchtige Nitrosamine, dessen Konzentration mindestens 10-fach höher ist. Aber die meisten nichtflüchtigen Nitrosamine sind nicht kanzerogen und werden unverändert mit dem Urin ausgeschieden (DGE, 1996, S. 142).

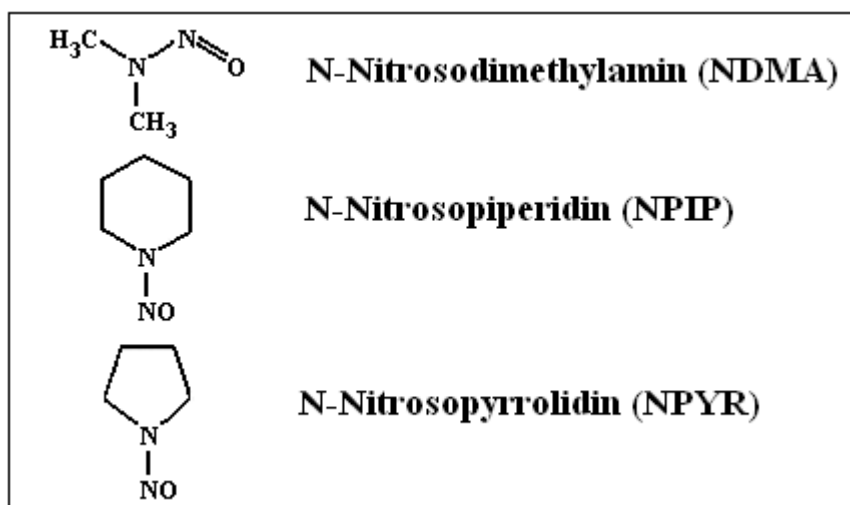


Abb. 15: Die wichtigsten flüchtigen N-Nitrosamine in der Nahrung (Quelle: Weiß, 2008 b, S. 305)

Hauptsächlich enthalten gepökelte Fleischwaren, Fisch, Käse, Gewürze und Bier Nitrosamine in unterschiedlichen Konzentrationen. Die Ursache der Nitrosaminbildung in diesen Lebensmitteln liegt häufig beim Verarbeitungsprozess. Zum Beispiel fördern hohe Temperaturen ($> 180^{\circ}\text{C}$) bei der Zubereitung von Fleischerzeugnissen wie Speck oder Schinken die Bildung von Nitrosopyrrolidin (NPYR). Denn diese Zubereitung führt zu einem wasserfreien Produkt. Lebensmittel mit einem höherem Wassergehalt und niedrigeren Zubereitungstemperaturen wie Pizza oder Toast Hawaii weisen dagegen einen geringen NPYR-Gehalt auf (Weiß, 2008 b, S. 305; DGE, 1996, S. 143). Auch andere Trocknungsprozesse, Räuchern und das Pökeln können die Nitrosaminbildung erhöhen. Jedoch wurden diese Verfahren in den letzten Jahren verbessert, so dass heutzutage nur geringe Mengen an Nitrosaminen bei der Herstellung von Lebensmitteln entstehen (DGE, 1996, S. 143 f.; Diehl, 1998, S. 81; Wirth, 1990, S. 139).

5.2. Nitrosaminaufnahme und Stoffwechsel im menschlichen Körper

Nitrosamine können exogen mit der Nahrung (gepökelte Fleisch- und Fischerzeugnisse, Meeresfrüchte, Käse, Bier) durch den Verdauungstrakt, über Zigarettenrauch durch die Lunge und über die Haut aufgenommen werden (Weiß, 2008 b, S. 306; Schmid, 2006, S. 492). Die geschätzte mittlere Aufnahme aus Lebensmitteln beträgt dabei $0,3 \mu\text{g}$ pro Tag, im Jahr 1970 lag die Nitrosaminaufnahme in Deutschland noch bei $1 \mu\text{g}$ / Person und Tag (Diehl, 1998, S. 81). Durch Rauchen kann die Belastung stark erhöht werden und auch das Verwenden von Kosmetika kann zum kleinen Teil zur Nitrosaminbelastung beitragen (Weiß, 2008 b, S. 306). Jedoch wird der große Teil (40 – 75 %) an Nitrosaminen endogen gebildet (Schmid, 2006, S. 492).

Die oral aufgenommenen Nitrosamine werden im oberen Teil des Dünndarmabschnittes effizient resorbiert und in der Leber metabolisiert. Dabei werden kleinere Mengen sofort und vollständig verstoffwechselt. Außerdem werden Nitrosamine substanzabhängig in unterschiedlichem Ausmaß unverändert mit dem Urin ausgeschieden. Die Ausscheidung von NDMA liegt bei $0,035 \mu\text{g}$ pro Tag. Jedoch kann sie bei Erkrankungen aufgrund einer verstärkten endogenen Synthese von Nitrosaminen auf über $2 \mu\text{g}$ pro Tag ansteigen (Weiß, 2008 b, S. 306).

Für die endogene Nitrosaminsynthese wird Nitrit benötigt, das oral aufgenommen oder in der Mundhöhle aus Nitrat gebildet wird. Im sauren Milieu des Magen entsteht aus Nitrit salpetrige Säure (HNO_2), die mit sekundären Aminen zu Nitrosaminen reagiert (Abb. 16). Durch Krankheit oder Einnahme bestimmter Medikamente kann die endogene Nitritbildung erhöht sein und dazu führen, dass auch mehr Nitrosamine entstehen. Außerdem wird die Nitrosaminsynthese unter erhöhten pH-Werten im Magen durch Mikroorganismen wie z.B. *Helicobacter pylori* katalysiert (Schmid, 2006, S. 492; Zakosek *et al.*, 1993, S. 14).

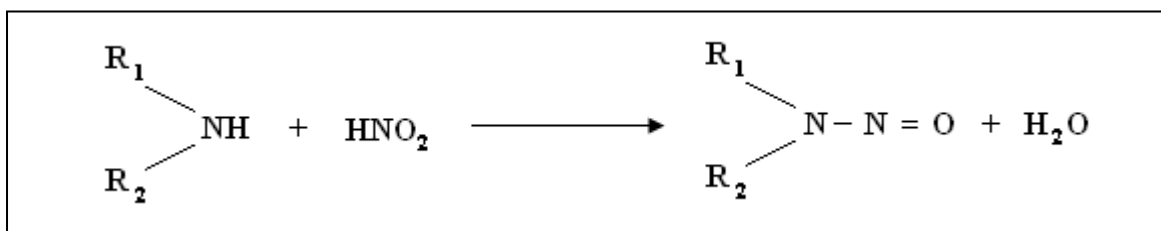


Abb. 16: Bildung von Nitrosaminen aus Nitrit und sekundären Aminen (Quelle: Weiß, 2008 b, S. 304)

Bei niedrigen Nitritkonzentrationen werden nur wenige Nitrosamine gebildet, jedoch steigt die Nitrosaminbildung durch hohe Nitritgehalte überproportional an. Somit hängt die endogene Bildung von Nitrosaminen hauptsächlich von der Konzentration an Nitrit ab und steht unter dem Einfluss verstärkender und hemmender Faktoren. Zum Beispiel liegt das pH-Optimum für die Nitrosaminbildung bei einem pH-Wert von 3 – 4, d.h. dass bei einem stark saurem pH-Wert nur geringe Mengen an Nitrosamine gebildet werden können. Darüber hinaus haben Antioxidantien wie Vitamin A, C und E, Carotinoide sowie sekundäre Pflanzenstoffe (Polyphenole) und Selen eine hemmende Wirkung auf die Reaktion. Im Gegensatz dazu wird die Reaktion durch das Fehlen von Magensäure aufgrund Erkrankungen des Magens mit reduzierter Säurebildung und bakterieller Besiedlung gefördert (Weiß, 2008 b, S. 304; Bundesgesundheitsblatt, 2004, S. 1020; Zakosek *et al.*, 1993, S. 16).

Eine weitere Quelle für endogen gebildete Nitrosamine ist das im Körper entstehende Stickstoffmonoxid. Denn vor allem im Krankheitsfall, wenn die Bildung von Stickstoffmonoxid stark ansteigt, erhöht sich auch die endogene Synthese von Nitrosaminen (Weiß, 2008 b, S. 304).

Da die Menge an endogen gebildeten Nitrosaminen vielen individuellen Einflussfaktoren unterliegt, ist eine sichere Abschätzung dieser zurzeit nicht möglich (Weiß, 2008 b, S. 304).

5.3 Toxizität von Nitrosaminen

Die akut toxische Wirkung einer hohen Nitrosaminzufuhr äußert sich vor allem in einer schweren Schädigung der Leber (Verfettung, Nekrosen). Jedoch treten diese Vergiftungserscheinungen nur bei Unfällen auf. Die für den Menschen tödliche Dosis Nitrosodimethylamin (NDMA) liegt bei 20 – 25 mg/ kg Körpergewicht (Weiß, 2008 b, S. 306).

Eine weitaus größere Bedeutung hat die kanzerogene Wirkung, denn Nitrosamine sind Präkanzerogene. Sie werden in der Leber und in anderen Geweben wie Dünndarm, Lunge sowie Ösophagus in einer katalysierten Reaktion (α -Hydroxylierung) zu den kanzerogenen Wirkformen aktiviert. Danach führen diese Formen durch Alkylierungsreaktionen zu Schäden an DNA, RNA und Proteinen (Weiß, 2008 b, S. 306).

Etwa 90 % der untersuchten Nitrosamine zeigten im Tierversuch schon in niedrigen Dosierungen eine krebserregende Wirkung. Dabei ist die Organspezifität charakteristisch für kanzerogene N-Nitrosoverbindungen und ist hauptsächlich von der chemischen Struktur der Substanz abhängig. Andere beeinflussende Faktoren sind Dosierung, Applikationsart und Expositionsdauer. Im Tierversuch induzierten Nitrosamine Tumore in Gehirn- und Nervensystem, im blutbildenden System, Mund, Speiseröhre, Magen, Darm, Leber, Niere, Pankreas, Harnblase, Herz und Haut (Zakosek *et al.*, 1993, S. 19; Weiß, 2008 b, S. 306).

Mit großer Sicherheit ist anzunehmen, dass Nitrosamine auch beim Menschen zu Krebserkrankungen führen können. Jedoch ist noch nicht geklärt in welchem Ausmaß die Belastung mit Nitrosaminen zur Krankheitsentstehung beiträgt. Das gesundheitliche Risiko für die mit der Nahrung aufgenommenen geringen Mengen an Nitrosaminen wird als niedrig eingeschätzt. Jedoch kann für Nitrosamine wie bei anderen kanzerogenen, genotoxischen Substanzen keine tolerierbare Tagesdosis (ADI-Wert) abgeleitet werden. Deshalb sollte grundsätzlich das Minimierungsprinzip verfolgt werden, denn die mutmaßliche kanzerogene Wirkung nimmt mit der Aufnahmemenge ab (Weiß, 2008 b, S. 306; DGE, 1996, S. 142).

6. Bedeutung der Reaktionskette Nitrat-Nitrit-Nitrosamine als gesundheitliches Risiko

Zurzeit ist noch unklar in welchem Ausmaß im menschlichen Körper eine Nitrosaminbildung aus den Vorläufern Nitrat und Nitrit stattfindet, denn die endogene Synthese unterliegt vielen fördernden und hemmenden Einflussfaktoren. Somit lässt sich das Risiko einer kanzerogenen Wirkung derzeit nicht quantitativ einschätzen (Weiß, 2008 b, S. 306 f.).

Bisher konnte in epidemiologischen Studien kein Zusammenhang zwischen der Höhe der Nitratzufuhr und der Häufigkeit von Krebserkrankungen nachgewiesen werden, zum Teil zeigte eine erhöhte Aufnahme sogar positive Langzeiteffekte. Einige epidemiologische Studien sprechen dafür, dass das Ausmaß der Nitrosaminbildung nach Aufnahme nahrungüblicher Mengen an Nitrat deutlich geringer ist als bisher angenommen. Denn Gemüse als wichtigste Nitratquelle kann die Nitrosaminbildung gleichzeitig durch weitere Inhaltsstoffe wie Vitamin C und E sowie Polyphenole hemmen. Möglicherweise überwiegen die Wirkungen gesundheitsfördernder Inhaltsstoffe in Gemüse die Nachteile einer erhöhten Nitrataufnahme. Auch die antibakterielle und magenschützende Wirkung von Nitrit kann dazu beitragen (Weiß, 2008 b, S. 307).

Zum Beispiel hat trotz steigender Nitratbelastung die Häufigkeit von Magenkrebs in den letzten Jahrzehnten in Deutschland sogar abgenommen. Darüber hinaus behaupten einige Studien gar zu belegen, Nitrat schütze vor Krebserkrankungen, jedoch ist es wahrscheinlicher, dass der Nitratgehalt nur als Anzeiger eines hohen Gemüseverzehr und damit einer hohen Aufnahme von Antioxidantien darstellt (Bundesgesundheitsblatt, 2004, S. 1020).

Die generelle Empfehlung an Verbraucher, den Verzehr von Gemüse mit höheren Nitratgehalten einzuschränken, scheint nach dem aktuellen Wissenstand nicht gerechtfertigt. Vor allem sollten solche Empfehlungen nicht dazu führen, dass der Gemüseanteil in der Ernährung reduziert wird. Nach derzeitigen Kenntnissen ist davon auszugehen, dass die positiven Wirkungen gesundheitsfördernder Inhaltsstoffe von Gemüse die potenziellen Nachteile einer hohen Nitrataufnahme überwiegen (Weiß, 2008 b, S. 307).

Ein hygienischer Umgang mit nitratreichen Lebensmitteln ist jedoch erforderlich, um ein starkes Mikroorganismenwachstum zu verhindern, das unter anderem zu einer erhöhten Bildung von Nitrit und Nitrosaminen führen kann. Dies gilt insbesondere für die Herstellung von Säuglingsnahrung, da Kinder in den ersten Lebensmonaten besonders empfindlich gegenüber Nitrit sind (Weiß, 2008 b, S. 307).

7. Einfluss von Lagerung und Verarbeitung von Gemüse auf ihren Nitrat- und Nitritgehalt

Die Nitrat- und Nitritgehalte in den pflanzlichen Produkten können durch viele Faktoren wie Lagerdauer und -bedingungen (z.B. bei Raum-, Kühl bzw. Tiefkühltemperatur) sowie Verarbeitung (z.B. Waschen, Schälen, Blanchieren und Kochen) beeinflusst werden (EFSA, 2008, S. 24). Im nächsten Abschnitt wird auf diese Einflüsse genauer eingegangen.

7.1 Lagerung von Lebensmitteln

7.1.1 Lagerung bei Raumtemperatur

Im frischen und unbeschädigten Gemüse ist die Nitritkonzentration sehr gering. Jedoch kann diese während des Welkprozesses und bei einer erhöhten Anzahl an Mikroorganismen während der Lagerung bei Raumtemperatur ansteigen. Denn unter diesen Bedingungen können Bakterien das vorhandene Nitrat in Nitrit umbauen. Somit ist der Nitritanstieg von der spezifischen endogenen Nitratreduktaseaktivität der Pflanze und der Anzahl an Mikroorganismen abhängig (EFSA, 2008, S. 25).

In Spinat, Chinakohl und Kronen Wucherblume (eine Chrysantheme-Art, die in China und Japan häufig als Salat verzehrt wird)⁶ (Chung *et al.*, 2004, S. 319 ff.) wurden nach der Lagerung bei Raumtemperatur niedrige Nitrat- und erhöhte Nitritgehalte gefunden. Die Forscher stellten fest, dass der Nitratgehalt im untersuchten Gemüse erst nach drei bzw. bei der Kronen Wucherblume erst nach vier Lagertagen schlagartig zurückging (im Mittel um 87 %), bis er ab den fünften Tag nicht mehr nachgewiesen werden konnte. Im Gegensatz dazu erhöhte sich die Nitritkonzentration ab den dritten Tag stark im Spinat und Chinakohl. Bei der Kronen Wucherblume kam es zu einem minimalen Nitritanstieg am fünften Tag, ansonsten war in dieser Salatsorte während der gesamten Lagerung kaum Nitrit vorhanden. Somit ist der Nitritanstieg im Gemüse zusätzlich von der Gemüsesorte und deren Anfangskeimgehalt abhängig. Darüber hinaus wird die Nitratreduktase anscheinend erst nach einer bestimmten Lagerdauer aktiviert.

⁶ Quelle: Lebensmittel-Lexikon von Prof. Dr. Mechthild Busch-Stockfisch, S. 644, URL: http://books.google.de/books?id=_3qNbZeXMW4C&pg=PA644&dq=kronen+Wucherblume#v=onepage&q=kronen%20Wucherblume&f=false (01.08.09)

Phillips (1971, S. 224) beschrieb, dass bei der Lagerung von frischem Spinat bei Raumtemperatur nach der Ernte der Nitritgehalt nach zwei Tagen signifikant anstieg. Dabei traten besonders beim gedüngten Spinat höhere Nitritwerte auf. Somit hat die Menge des Düngemittels nicht nur auf den Nitratgehalt sondern auch auf den späteren Nitritgehalt Einfluss. Auch Ezeagu (1996, S. 78) entdeckte im fermentierten Mais eine Nitratreduktion von bis zu 80 % nach acht Tagen Lagerung bei Raumtemperatur. Dabei war der Nitritgehalt innerhalb von fünf Tagen um bis zu 200 % des anfänglichen Gehalts gestiegen.

Zusammenfassend kann man sagen, dass bei Raumtemperatur gelagertes Gemüse nach einer bestimmten Lagerdauer einen signifikanten Nitratrückgang und einen Nitritanstieg aufweist. Das Ausmaß dieser Nitratreduktion bzw. des Nitritanstiegs ist von der Gemüsesorte, deren endogenen Nitratreduktaseaktivität, dem Anfangsgehalt und der Lagerdauer abhängig.

7.1.2 Lagerung bei Kühltemperatur

In der Studie von Chung *et al.* (2004, S. 319 ff.) wurde das Gemüse (Spinat, Chinakohl und die Kronen Wucherblume) auch im Kühlschrank bei 5°C bis zu sieben Tagen gelagert. Dabei blieben die Nitratgehalte annähernd gleich und auch die Nitritkonzentrationen (5 mg NO_2^-/kg) stiegen während der gesamten Lagerung nicht an. Diese Ergebnisse zeigen, dass die kühlen Lagerbedingungen die endogene Nitratreduktase inaktivieren sowie vor der mikrobiellen Aktivität schützen.

Auch im Kühlschrank gelagerter Spinat weist nach Phillips (1968, S. 89) einen geringen Nitritgehalt innerhalb einer Woche auf und auch während der nächsten drei Wochen Lagerung ist der Gehalt nur minimal gestiegen.

Auf der anderen Seite wurden hohe Nitritgehalte in selbstgemachten Gemüsepulver auch während einer gekühlten Lagerung für 12 Stunden gefunden. Es wurde gefolgert, dass die endogene Nitratreduktase durch das Pürieren freigesetzt wird. Dabei führt sie bei nitratreichen Gemüsesorten wie Spinat und Mangold zur Entstehung von hohen Mengen an Nitrit. Darüber hinaus sind die hygienischen Bedingungen bei der Zubereitung der Speise wichtig, denn durch Kontamination mit Bakterien aus dem Speichel z.B. durch zwischenzeitliches Probieren der Speise kann das Nitrat schnell zu Nitrit umgewandelt werden. Deshalb wurde die Empfehlung abgeleitet Kindernahrung möglichst hygienisch zu zube-

reiten und sofort nach der Herstellung zu verzehren bzw. für den späteren Verzehr nicht länger als 12 Stunden im Kühlschrank zu lagern (EFSA, 2008, S. 25).

Es lässt sich schlussfolgern, dass bei Kühltemperatur die Nitratreduktion langsamer abläuft. Jedoch kann auch hier eine hohe bakterielle Belastung nach einer bestimmten Lagerdauer zu einem Nitritanstieg führen. Denn kühle Bedingungen können das Wachstum von Mikroorganismen nur verlangsamen und nicht hemmen.

7.1.3 Lagerung bei Tiefkühltemperaturen

Unter Tiefkühlbedingungen ist die Nitritakkumulation gehemmt, denn nach Phillips (1968, S. 90) wurden im tiefgefrorenen Spinat nur geringe Nitritgehalte bei einer Lagerung von über fünf Monaten entdeckt. Auch in Rote Beete, Karotten, Sellerie oder Kartoffeln wurden keine signifikanten Unterschiede im Nitrat- und Nitritgehalt während einer Lagerung von bis zu 12 Wochen beobachtet (EFSA, 2008, S. 25).

Jedoch können die Auftaubedingungen zu einer Nitritanreicherung im Produkt führen. Phillips (1968, S. 90) beschrieb, dass während einer Auftauzeit von bis zu 15 Stunden bei Raumtemperatur der Nitritgehalt im Produkt gleich blieb. Jedoch stieg dieser an, als die Auftauzeit auf 39 Stunden erhöht wurde. Dies kann durch die steigende Anzahl an Mikroorganismen im Spinat während dem Auftauen erklärt werden. Daraus folgt, dass nitratreiche Lebensmittel nicht länger als 15 Stunden bei Raumtemperatur aufgetaut werden sollten oder besser im Kühlschrank, denn kühle Bedingungen verlangsamen das Bakterienwachstum.

7.2 Verarbeitung von Lebensmitteln

7.2.1 Waschen

Nitrat ist sehr gut wasserlöslich und kann beim Waschen von Gemüse und Salaten leicht ins Waschwasser übergehen. Nach Kampe (1984, S. 401) kann durch die Reinigungsvorgänge der Nitratgehalt in Kopfsalat um bis zu 20 %, in Endivien und Chinakohl um 7 – 15 % reduziert werden. Warschewske *et al.* (2009, S. 76) hatten den Nitratgehalt in verschiedenen Salatsorten (Kopfsalat, Eisbergsalat und Römischer Salat) im gewaschenen und ungewaschenen Zustand untersucht. Dabei wurde ein Nitratrückgang von 12 – 18 %

entdeckt. Auch der Nitrat- und Nitritgehalt von Kartoffeln kann durch Waschen, Schälen und Spülen um bis zu 18 – 40 % bzw. 25 – 75 % reduziert werden (EFSA, 2008, S. 25). Jedoch wurde bei den Versuchen meist Reinstwasser verwendet, das kein Nitrat enthält. Bei Verwendung von Leitungswasser mit hohem Nitratgehalt zum Waschen könnten andere Ergebnisse auftreten.

7.2.2 Schälen

In der Studie von Rytel *et al.* (2005, S. 881 f.) wurden die Veränderungen des Nitratgehaltes während der Produktion von Pommes frites untersucht. Dabei dienten zwei unterschiedliche Kartoffelsorten mit einem Nitratgehalt von 258 bzw. 349 mg NO₃⁻/ kg Trockenprodukt als Probenmaterial. Über 30 % des Nitrats wurde durch das Schälen entfernt, denn die höchste Nitratmenge befindet sich in bzw. knapp unter der Schale. Weitere 20 % des Nitrats entfielen durch das Vorwärmen und Schneiden der Kartoffeln. Nach dem Blanchieren und anschließendem Frittieren war in den verarbeiteten Kartoffeln nur noch 5 – 6 % des ursprünglichen Nitratgehalts geblieben.

In der Kohlrabi-Knolle verlaufen die am höchsten mit Nitrat belasteten Xylemstränge direkt unter der Schale, so dass durch großzügiges Schälen der Nitratgehalt um bis zu 55 % reduziert werden kann (Wiebe *et al.*, 1987, S. 136). Bei der Roten Bete wird 20 % des Nitrats und 6,60 % des Nitrits durch Schälen entfernt (EFSA, 2008, S. 26).

Bei Spinat und Salat (z.B. Rucola, Kopfsalat) kann das Entfernen der Stängel bzw. Blattrippen den Nitratgehalt um 30 – 40 % senken (EFSA, 2008, S. 26).

Folglich sollten Kartoffeln, Kohlrabi und Rote Beete vor dem Verzehr geschält werden, denn dadurch kann der Nitratgehalt reduziert werden. Salat sollte demnach vor dem Verzehr von den äußeren Blättern sowie von Stängeln und Blattrippen befreit werden.

7.2.3 Kochen

Viele Studien (Huarte-Mendicoa *et al.*, 1997, S. 40 f.; Bednar *et al.* 1991, S. 261; Kampe, 1984, S. 401; Meier-Ploeger *et al.*, 1984, S. 282; Richter *et al.*, 1969, S. 1 f.) haben gezeigt, dass der Nitratgehalt in Gemüse durch das Blanchieren oder Kochen gesenkt werden kann. Denn das Nitrat ist sehr gut wasserlöslich und kann leicht ins Kochwasser übergehen. Wenn jedoch das Kochwasser weiter genutzt wird wie z.B. bei Bednar *et al.*

(1991, S. 264) zum Einmachen von Rote Beete, dann weist das Gemüse anschließend höhere Nitratwerte auf als Einmachgemüse, das mit frischem und nitratarmem Wasser verschlossen wurde. Anscheinend geht das Nitrat während der Lagerung wieder in das Einmachgut über.

In Rosenkohl kann die Nitratkonzentration durch das Blanchieren um 47 % im Vergleich zur frischen Probe reduziert werden. Auch beim Blanchieren von Broccoli wurde der Nitratgehalt um bis zu 79 % gesenkt (Huarte-Mendicoa *et al.*, 1997, S. 40 f.).

Richter *et al.* (1969, S. 2) haben herausgefunden, dass der Nitratgehalt von Spinat durch das Blanchieren um bis zu 50 % gesenkt werden kann. Jedoch ist die Reduktion vom Anfangsgehalt des Nitrats im Spinat abhängig. Bei hohem Anfangsgehalt (bewirkt durch hohen Düngereinsatz) trat mehr Nitrat (bis 50 %) in das Kochwasser über als bei niedrigen Nitratgehalten (bis 14 %).

Kampe (1984, S. 401 f.) hat im gedämpften Spinat einen Nitratrückgang von 14 % festgestellt, wobei der Nitratgehalt nach dem Dämpfen im Schnellkochtopf eine höhere Reduktion (34 %) aufwies. Ebenso zeigte auch Phillips (1968, S. 89) im gekochten Spinat eine Nitratreduktion von 20 – 25 %.

Bei unterschiedlichen Zubereitungsverfahren von Kartoffeln (Kochen in Wasser, Dämpfen, Frittieren oder Zubereitung in der Mikrowelle) wurde ein Nitratrückgang von 16 – 62 % und ein Nitritrückgang von 61 – 98 % verzeichnet. Wobei die größte Nitrat- (36 – 58 %) bzw. Nitritreduktion (82 – 98 %) bei geschälten und im Wasser gekochten oder gedämpften Kartoffeln stattfand. Das Frittieren und Backen zeigten nur geringe Einflüsse auf den Nitratgehalt. Im Nitritgehalt traten im Vergleich zum Nitratgehalt häufig höhere Verluste bei den verschiedenen Erhitzungsverfahren auf (EFSA, 2008, S. 26).

In einer neueren Studie von Chetty *et al.* (2009, S. 564) reduzierte sich beim Kochen von verschiedenen Kartoffelsorten und Karotten der Nitratgehalt um 23 – 43 %. Dagegen wurde beim Backen (um 2 – 8 %) und vor allem beim Frittieren (um 205 – 299 %) von Kartoffeln bzw. Karotten ein Anstieg des Nitratgehalts verzeichnet. Dieser Nitratanstieg wurde mit dem Verlust an Feuchtigkeit und der hohen Menge an Öl im Vergleich zur Probemenge erklärt.

In anderen Studien wurde bei Karotten eine Nitrat- bzw. Nitritreduktion um bis zu 50 % angegeben. Dabei wurde erklärt, dass die Diffusion von Nitrat und Nitrit aus Karotten von der Wassertemperatur, der Dicke der Karotte und dem Verhältnis von Wasser zu den

blanchierten Karotten abhängig ist. Denn die Summe des Nitrats in der Karotte mit dem Nitratgehalt im Wasser bleibt konstant (EFSA, 2008, S. 26).

Bei der Nitratreduktion im gekochten Gemüse ist zu beachten welchen Nitratgehalt das zum Kochen verwendete Wasser aufweist. Denn Meier-Ploeger *et al.* (1984, S. 282) haben gezeigt, dass in nitratarmen Wasser (7,8 mg NO₃⁻/L) gekochter Kohlrabi einen geringeren Nitratgehalt (58 mg NO₃⁻ pro Portion) im verzehrfertigen Produkt aufweist als in nitratreichen Wasser (160,6 mg NO₃⁻/L) gekochter Kohlrabi (118 mg NO₃⁻ pro Portion).

Außerdem ist die Reduktion noch von der Kochwassermenge abhängig.

Auch Huarte-Mendicoa *et al.* (1997, S. 41) weisen darauf hin, dass in nitratreichem Wasser gekochter Broccoli einen höheren Nitratgehalt aufweisen kann, denn Broccoli nimmt beim Kochen etwas Wasser auf, so dass ihr Feuchtigkeitsgehalt nach dem Prozess höher ist.

Schlussfolgernd lässt sich sagen, dass durch Kochen von Gemüse ein Nitratrückgang im Gemüse erzielt werden kann. Dabei ist die Reduktion von dem Nitratgehalt des Wassers und des verwendeten Volumens abhängig. Außerdem sollte das Kochwasser anschließend nicht zum Verzehr verwendet werden, denn dadurch wird das Nitrat wieder aufgenommen.

7.2.4 andere Verarbeitungsmethoden

Durch Fermentation kann in roten Bohnen und Kohlrabi ein Nitratverlust von bis zu 50 % auftreten und bei Weißkohl sogar bis zu 87 % (EFSA, 2008, S. 27). Deshalb weist Sauerkraut im Mittel (66 mg NO₃⁻/kg) einen viel geringeren Nitratgehalt im Vergleich zum frischen Weißkohl (311 mg NO₃⁻/kg) auf (EFSA, 2008, S. 17).

Zusammenfassend kann man sagen, dass Bearbeitung, Lagerung und Verarbeitung inklusive Waschen, Schälen und Kochen den Nitratgehalt in Gemüse signifikant reduzieren kann. Häufig wird bei gekocht verzehrten Gemüsearten wie Kartoffeln, Spinat und Kohl mehr Nitrat durch die Verarbeitung reduziert als bei roh verzehrtem Gemüse.

Bei Salaten, die hauptsächlich roh gegessen werden, kann nur durch die Bearbeitung, d.h. die Entfernung von Außenblättern, Stängeln und Stielen, sowie durch die Lagerung die Nitrat- und Nitritgehalte beeinflusst werden.

Außerdem kann durch einen hygienischen Umgang mit nitrathaltigen Lebensmitteln die Nitritbildung minimiert werden.

8. Hochleistungs-Flüssigchromatographie (HPLC)

8.1 Allgemeines

Es gibt neben der Hochleistungs-Flüssigchromatographie (**H**igh **P**erformance **L**iquid **C**hromatography) vielfältige andere Methoden zur Bestimmung von Nitrat und Nitrit in Gemüse, auf die hier nicht näher eingegangen wird. Die HPLC-Methode wird ausgewählt, weil sie kein umfangreiches Proben-Clean-up benötigt und durch schnellen, präzisen und relativ störungsfreien Verlauf zur Routineanalytik herangezogen werden kann (Bäcker-Haase, 1990, S. 40).

Die Chromatographie ist ein physikalisch-chemisches Verfahren zur Trennung von Substanzgemischen. Dabei wird der Trenneffekt durch eine wiederholte Verteilung der Substanz zwischen zwei Phasen erzielt. Eine Phase ist bei diesem Vorgang stationär (ruhend), meist an einen Träger gebunden, und die andere mobil, d.h. sie bewegt sich in eine bestimmte Richtung (Eith *et al.*, 2001, S. 8 f.). Die mobile Phase wird an der stationären vorbeigeführt und die zu trennenden Stoffe aufgrund ihrer unterschiedlichen Affinität zu den beiden Phasen getrennt.

Chromatographische Techniken können nach dem Aggregatzustand der beiden Phasen eingeteilt werden (Abb. 17) sowie nach den grundlegenden Vorgängen während der Trennung wie Adsorption oder Verteilung (Eith *et al.*, 2001, S. 8 f.).

		mobile Phase	
		flüssig	gasförmig
stationäre Phase	fest	Flüssig-Fest-Chromatographie (LSC)	Gas-Fest-Chromatographie (GSC)
	flüssig	Flüssig-Flüssig-Chromatographie (LLC)	Gas-Flüssig-Chromatographie (GLC)

Abb. 17: Einteilung chromatographischer Methoden nach dem Aggregatzustand von stationärer und mobiler Phase (Quelle: Eith *et al.*, 2001, S. 9)

Im Allgemeinen existieren folgende flüssigchromatographische Trennverfahren:

Verteilungschromatographie

Bei der Verteilungschromatographie wird das Stoffgemisch aufgrund unterschiedlicher Löslichkeit in der stationären und mobilen Phase getrennt. Dabei sind die stationäre und mobile Phase nicht miteinander mischbare Flüssigkeiten, d.h. dass die zu trennenden Stoffe sowohl in der stationären als auch in der mobilen Phase löslich sein müssen, jedoch unterschiedlich gut. Die stationäre Phase wird meist an einen festen Träger wie Papier, Stärke oder Kieselgel gebunden. Als mobile Phase werden organische Lösungsmittel oder –gemische herangezogen (Eith *et al.*, 2001, S. 16; Skript Praktikum Lebensmittelchemie, 2007, S. 35 f.).

Adsorptions-Chromatographie

Bei der Adsorptions-Chromatographie wird das Stoffgemisch aufgrund unterschiedlicher Polaritäten getrennt, denn die verschiedenen Analysekomponenten werden unterschiedlich stark von der stationären Phase absorbiert. Als stationäre Phase dient dabei relativ polares Material mit hoher spezifischer Oberfläche wie Kieselgel aber auch Aluminium- oder Magnesiumoxid. Die mobile Phase ist dann relativ apolar z.B. Pentan oder Tetrahydrofuran (Meyer, 2004, S. 6 f.; Bäcker-Haase, 1990, S. 40).

Umkehrphasen-Chromatographie (Reversed-phase-Chromatographie)

Bei der Umkehrphasen-Chromatographie erfolgt die Trennung des Stoffgemisches durch unterschiedlich starke van-der-Waals'sche Anziehungskräfte zwischen der stationären Phase und des Untersuchungsmaterials. Hierbei ist die stationäre Phase im Gegensatz zur Adsorptions-Chromatographie sehr apolar und die mobile Phase polar (z.B. Wasser) (Meyer, 2004, S. 7; Bäcker-Haase, 1990, S. 41).

Gelchromatographie

Bei der Gelchromatographie erfolgt die Trennung des Stoffgemisches durch unterschiedliche Molekülgrößen (Molekülmasse) der Analysekomponenten aufgrund von Siebeffekten. Dabei werden die größten Moleküle am schnellsten eluiert und die kleinsten am langsamsten: Wichtig ist jedoch, dass sich die Molekülmassen der untersuchten Stoffe mindestens um 10 % unterscheiden (Meyer, 2004, S. 8; Bäcker-Haase, 1990, S. 41).

Ionenaustausch-Chromatographie (IEC = Ion Exchange Chromatography)

Bei der Ionenaustausch-Chromatographie enthält die stationäre Phase ionische Gruppen wie z.B. $-\text{NR}_3^+$ oder $-\text{SO}_3^-$, diese treten mit den ionischen Gruppen aus der Probelösung in Wechselwirkungen und trennen somit die Analysekomponenten. Diese Methode eignet sich für stark polare, Ionen bildende Verbindungen wie Aminosäuren, organische Ionen und Stoffwechselprodukten (Meyer, 2004, S. 8; Bäcker-Haase, 1990, S. 41).

Ionenchromatographie (IC = Ion Chromatography)

Die Ionenchromatographie ist ein Spezialfall der Ionenaustausch-Chromatographie und unterscheidet sich durch apparative Besonderheiten von dieser. Die Trennung der Analysekomponenten erfolgt wie bei der IEC durch eine Ionenaustauschsäule.

Die Ionenchromatographie eignet sich für die Trennung von anorganischen Ionen (wie Cl^- , NO_3^- , Na^+ , K^+) und organischen Säuren (Meyer, 2004, S. 8). Die Detektion (= Erfassung) der Ionen erfolgt durch Messung der elektronischen Leitfähigkeit.

Das Verfahren findet Anwendung zur Analyse von z.B.:

- Anionen in Trink- und Brauchwasser (meist Cl^- , NO_3^- , SO_4^- , HCO_3^-)
- Nitrat in Gemüse
- Organische Säuren in Getränken
- Ammonium (NH_4^+), Kalium (K^+), Nitrat (NO_3^-) und Phosphat (PO_4^-) in Boden und Dünger (Meyer, 2004, S. 204)

In der vorliegenden Arbeit werden der Nitrat- und Nitritgehalt in den ausgewählten pflanzlichen Lebensmitteln (Eisbergsalat, frischer Broccoli und tiefgefrorener Blattspinat) mithilfe der Ionenchromatographie (IC) bestimmt.

8.2 Grundlagen und Prinzip der Methode

In Abb. 18 sind die wichtigsten Komponenten eines HPLC- bzw. IC-Systems dargestellt: Hochleistungspumpe mit Vorrat für die mobile Phase (Eluent), Injektor (Probenaufgabe), Trennsäule und Detektionssystem (inklusive Derivatisierung, Datenerfassung und Datenverarbeitung).

Die Pumpe ist neben der Trennsäule das Kernstück des HPLC-Systems, denn sie muss in der Lage sein, den Eluenten sehr konstant und pulsationsfrei auch gegen hohe Staudrücke zu fördern (Eith *et al.*, 2001, S. 15).

Die Säule ist das wichtigste und meist das kleinste Element in dem System (Meyer, 2004, S. 9). Sie ermöglicht die Trennung des Stoffgemisches in die einzelnen Bestandteile.

Die anschließende Datenerfassung und -verarbeitung erfolgt heutzutage computergesteuert (Eith *et al.*, 2001, S. 16).

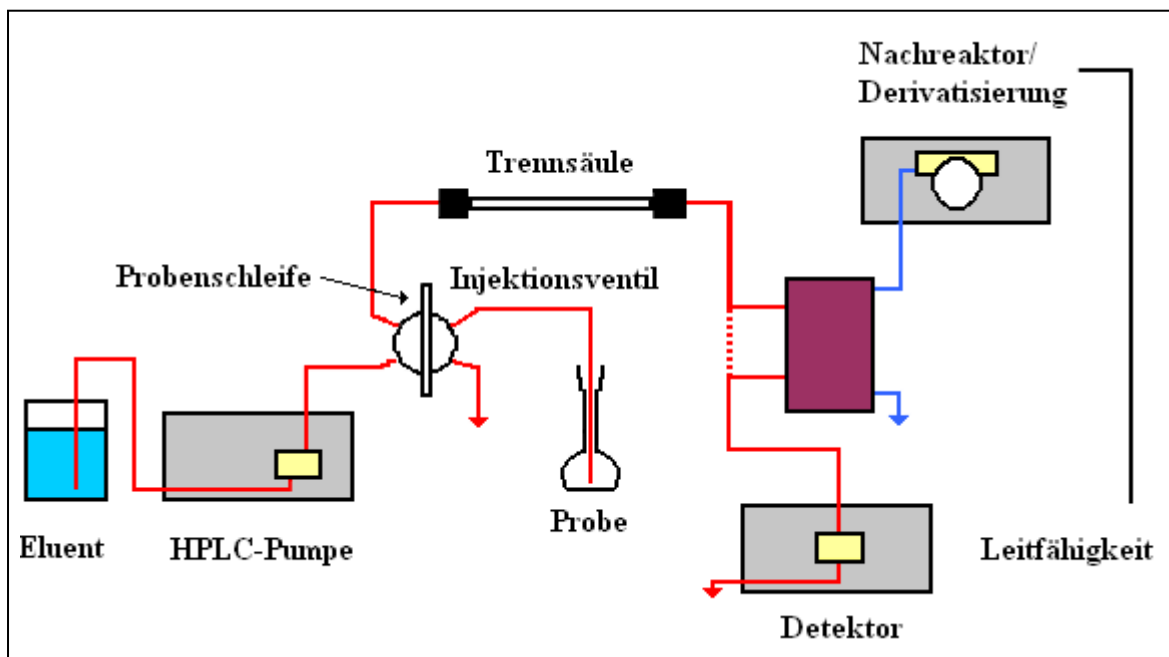


Abb. 18: Aufbau einer HPLC- bzw. IC-Anlage mit den wichtigsten Komponenten
(Quelle: Eith *et al.*, 2001, S. 15)

Detektor:

Zur Nitrat- und Nitritbestimmung in den ausgewählten Proben wird ein Leitfähigkeitsdetektor mit Suppressor verwendet. Es ist ein klassischer Detektor für die IC und misst die Leitfähigkeit des Eluats. Denn nach dem Kohlrausch-Gesetz gilt, dass die Leitfähigkeit einer verdünnten Lösung proportional zur Summe der Leitfähigkeiten aller Ionen multipli-

ziert mit deren Konzentrationen ist. Somit ist die Leitfähigkeitsänderung durch den Analyten proportional zu dessen Konzentration im Eluat und kann mit dem Leitfähigkeitsdetektor erfasst werden (Meyer, 2004, S. 98; Eith *et al.*, 2001, S. 30).

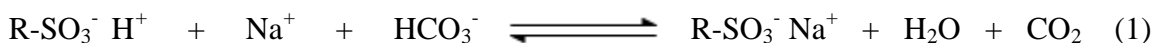
Als Laufmittel (mobile Phase) werden für die Ionenchromatographie meist wässrige Elektrolyte verwendet, dadurch muss der Detektor auf relativ geringe Veränderungen des Eluenten, die durch die Analytionen verursacht werden, ansprechen. Damit dieser die geringen Veränderungen erfassen kann, wird durch sogenannte Suppressionstechniken die Eigenleitfähigkeit bestimmter Eluenten reduziert (Eith *et al.*, 2001, S. 29).

Vor allem für die Anionenchromatographie ist es wichtig, dass die Grundleitfähigkeit des Eluats möglichst gering ist, denn bei hohen Grundleitfähigkeiten treten nur geringe Leitfähigkeitsänderungen auf, die schwerer erfasst werden können (Eith *et al.*, 2001, S. 30). Damit der Detektor bei den durchgeführten Messungen empfindlich genug ist, wird für die Nitrat- und Nitritbestimmung ein Leitfähigkeitsdetektor mit Suppressor verwendet.

Suppressor:

Bei der Suppressortechnik wird zwischen Trennsäule und Detektor ein sogenannter Suppressor geschaltet. Im Suppressor werden sowohl der Eluent als auch die Analyten chemisch modifiziert, dies ist von großer Bedeutung für die nachfolgende Leitfähigkeitsdetektion. Allgemein hat der Suppressor die Aufgabe die Eigenleitfähigkeit des Eluenten zu reduzieren und die Detektierbarkeit der Analyten zu erhöhen.

Das Prinzip der chemischen Suppression ist in Gleichung 1 und 2 am Beispiel einer Anionenchromatographie dargestellt. Dabei wird Natriumhydrogencarbonat (NaHCO_3) als Eluent verwendet und als Analyt dient das Chloridion (Cl^-). Die Suppression erfolgt mit einem stark sauren Kationenaustauscher in der H^+ -Form (Eith *et al.*, 2001, S. 42).



Im einfachsten Fall besteht die Suppressoreinheit aus einer Säule, die der Trennsäule nachgeschaltet ist. Der Eluent Natriumhydrogencarbonat wird, wie in Gleichung 1 dargestellt, neutralisiert, denn die Natriumionen werden durch Protonen ersetzt. Durch diese Reaktion

wird die Eigenleitfähigkeit des Eluenten drastisch herabgesetzt. Der Analyt Cl^- selbst wird dabei nicht verändert (Gleichung 2), nur sein Gegenion Na^+ gegen H^+ ausgetauscht, welches eine deutlich höhere Äquivalentleitfähigkeit besitzt. Da der Detektor die Summe der Leitfähigkeiten von Analyt- und Gegenion als Signal registriert, erfolgt durch die beiden ablaufenden Reaktionen ein deutlicher Empfindlichkeitsgewinn (Eith *et al.*, 2001, S. 42). Denn die Grundleitfähigkeit wird herabgesetzt (Gleichung 1).

Als Kationenaustauscher werden heute überwiegend kontinuierlich arbeitende Suppressor-Module verwendet. Diese müssen fortlaufend regeneriert werden, um die zuvor dargestellten Gleichungen zu ermöglichen. Zur Regeneration wird meist verdünnte Schwefelsäure genutzt (Eith *et al.*, 2001, S. 42).

Bei den verwendeten Ionenchromatographen (Basic IC 792 der Firma Metrohm) enthält das Suppressor-Modul eine Revolverausführung bestehend aus drei gleichartigen Einheiten (Abb. 19) und ist ein quasi-kontinuierlich arbeitendes System. Denn jeweils eine Einheit dient für die Messung als Suppressor, die zweite wird inzwischen mit verdünnter Schwefelsäure regeneriert und die dritte Suppressoreinheit mit Reinstwasser gespült. Nach Ablauf einer Analyse wird der Revolver um 120° gedreht und die zuvor gespülte Säule wird als Suppressor genutzt (Eith *et al.*, 2001, S. 32).

Die Umschaltung der Einheiten erfolgt dabei automatisch, so dass bei jeder Messung mit frisch regeneriertem Suppressor gearbeitet wird.

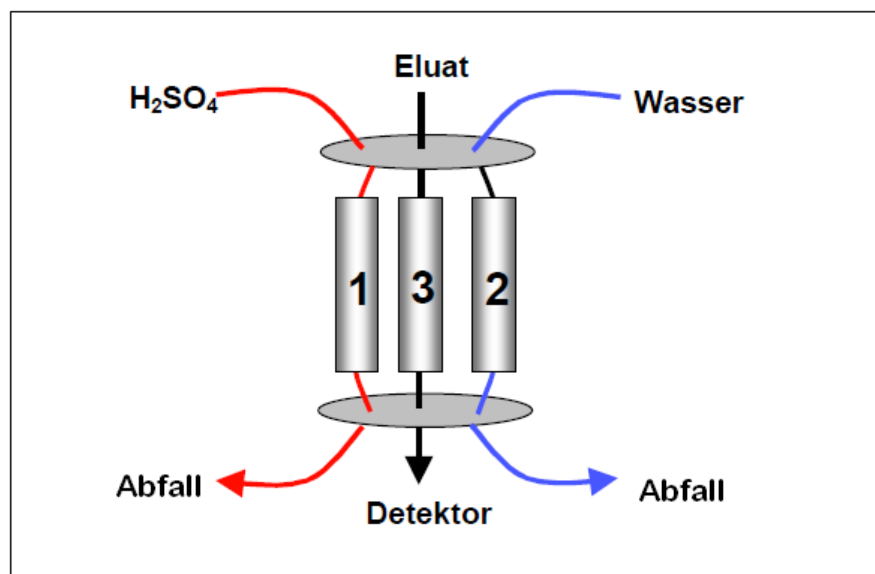


Abb. 19: Schematischer Aufbau eines Suppressors mit einer quasi-kontinuierlichen Arbeitsweise (Quelle: Eith *et al.*, 2001, S. 32)

Eluent:

Bei der Anionenchromatographie können nur Eluenten auf Basis von Alkalicarbonaten und -hydrogenkarbonaten erfolgreich supprimieren. Denn beide Verbindungen (HCO_3^- und CO_3^{2-}) liegen nach der Suppression als Kohlensäure (H_2CO_3) vor, die nur zu einem sehr geringen Anteil dissoziiert ist. Das Hydrogencarbonat besitzt eine geringe Elutionskraft im Gegensatz zum Carbonat, der einen relativ starken Eluenten darstellt. Üblicherweise werden beide Anionen zusammen verwendet, denn dadurch entsteht ein Eluent mit Pufferwirkung. Darüber hinaus kann die Elutionskraft leicht über die Konzentration der beiden Komponenten und durch ihr Konzentrationsverhältnis gesteuert werden (Eith *et al.*, 2001, S. 43).

In dieser Arbeit wird für die Nitrat- und Nitritbestimmung als Eluent 1,8 mmol/ L Natriumcarbonat (Na_2CO_3) und 1,7 mmol/ L Natriumhydrogencarbonat (NaHCO_3) verwendet, um die oben genannte Pufferwirkung zu erhalten sowie um eine ausreichende Detektionsempfindlichkeit zu erzielen.

EXPERIMENTELLER TEIL

9. Experimentelle Durchführung

9.1 Reagenzien

Chemikalien:

Hersteller:

Fließmittel:

1,8 mmol/ L Natriumcarbonat (Na_2CO_3)
wasserfrei zur Analyse Gehalt 99,8 %

Riedel – de Haën AG

1,7 mmol/ L Natriumhydrogencarbonat (NaHCO_3)
zur Analyse Gehalt: min. 99,5 %

Merck, Darmstadt

Spülmittel:

Reinstwasser durch Umkehrosmose gereinigt
Leitwert: 0,055 $\mu\text{S}/\text{cm}$

Gerät: Ultra Clear, SG

Regenerierungslösung:

50 mmol/ L Schwefelsäure
Molarität: 0,5 mol/ L; Normalität: 1 N

Merck KGaA, Darmstadt

Standards (Fertigstandards):

Nitrit-Standardlösung NaNO_2 in H_2O
Konzentration: 1000 mg/ L $\text{NO}_2^- \pm 5$ mg/ L

Merck KGaA, Darmstadt

Nitrat-Standardlösung NaNO_3 in H_2O
Konzentration: 1002 mg/ L $\text{NO}_3^- \pm 5$ mg/ L

Merck KGaA, Darmstadt

Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl:

Schwefelsäure zur Analyse, Konzentration: 98 %
Katalysatortabletten (5 g, quecksilber- und selenfrei)
2,8 % Titandioxid; 1,8 % Kupfersulfat;
47,7 % Natriumsulfat; 47,7 % Kaliumphosphat

Geyer GmbH & Co. KG
Merck KGaA, Darmstadt

Experimentelle Durchführung

Wägeschiffchen aus Pergament, zur Stickstoffbestimmung

Natronlauge, 32 %ig (selbst hergestellte Konzentration) Merck KGaA, Darmstadt

Borsäure, 4 %ig (selbst hergestellte Konzentration) Merck KGaA, Darmstadt

Misch-Indikator Nr. II nach Sher

Salzsäure-Maßlösung, Molarität: 0,1 mol/ L Merck KGaA, Darmstadt

9.2 Geräte

Gerät:

Hersteller:

Vakuumpumpe:

Handy Aspirator WP – 15

Yamato Scientific America

Reinstwasseranlage: Ultra Clear

SG GmbH, Barsbüttel

Wasser Leitwert: 0,055 $\mu\text{S}/\text{cm}$

Waage: Sartorius BP 221

Sartorius AG, Göttingen

Wasserbad

GFL mbH, Burgwedel

Heizplatte: Heidolph MR Hei-Standard

Heidolph, Schwabach

230/ 240 V; 50/ 60 Hz; 825 W; 100 – 1400 l/ Min.

Küchenmaschine

Quigg

Eluentfilter: ME 25 Membranfilter 0,45 μm

Whatman GmbH, Dassel

Filterpapierscheibe: Grade 3 hw stedim biotech

Sartorius AG, Göttingen

Durchmesser: 150 mm; 65 g/m^2 ; Qty: 100

HPLC-Filter: 25 mm Spitzenvorsatzfilter

VWR International, Darmstadt

w/ 0,45 μm Nylon Membran-Filter

Ionenchromatograph:

792 Basic IC Metrohm (Abb. 20)

Software: 792 Basic IC 1.0

Hersteller:

Metrohm AG, Herisau

Säule:

Metrosep A Supp 4

Metrohm AG, Herisau

Eigenschaften⁷:

- Säulenhardware: Polyetheretherketon (PEEK)
- Trennphase: Polyvinylalkohol-Partikeln (Durchmesser: 9 µm) mit quaternären Ammoniumgruppen belegt
- Ionenaustauschkapazität: mittel (Sulfat eluiert nach 12 Minuten)
- hohe Stabilität und größere Toleranz gegenüber Feinstpartikeln

Detektor: Leitfähigkeitsdetektor mit Suppressor

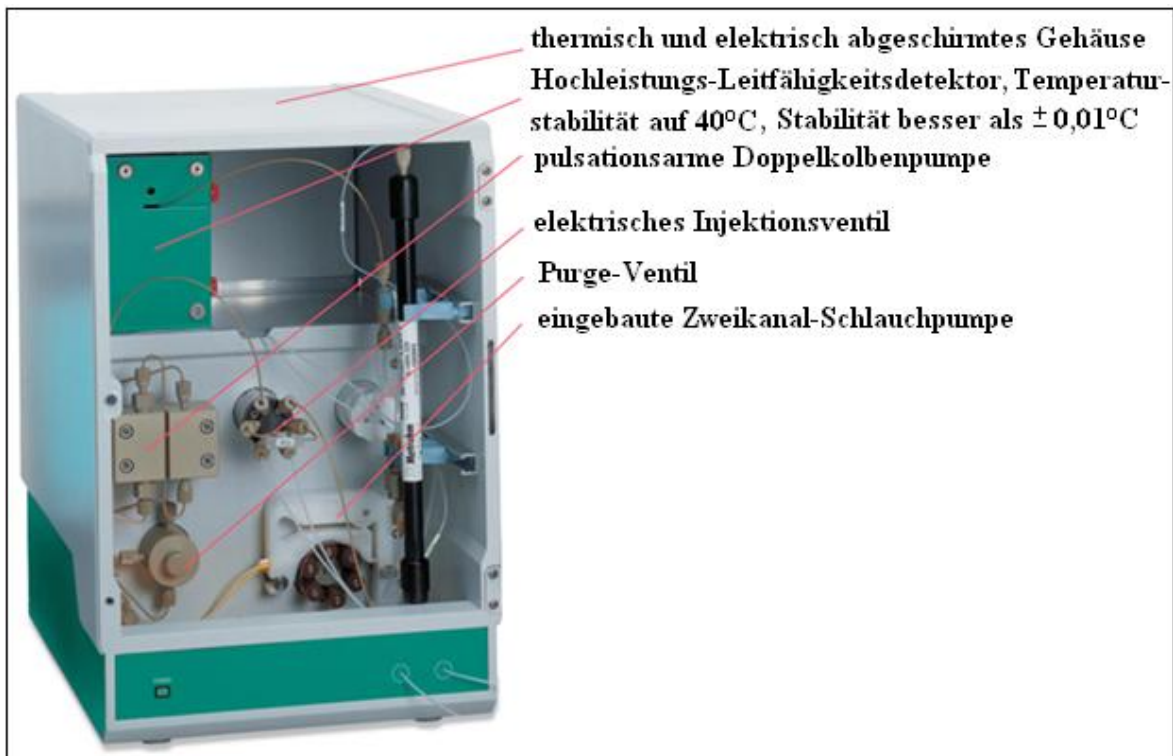


Abb. 20: Ionenchromatograph Basic IC 792 der Firma Metrohm (Quelle: Metrohm Basic IC 792, S. 5)⁸

⁷ Quelle: Metrohm Produkte Metrosep A Supp 4 - 250 URL: http://produkte.metrohm.com/prod-61006430.aspx#ctl00_ctl00__cphContentData__cphContent_PrdtDetail1__prdtDetailIntro_ctl03_DropDown (23.06.09)

⁸ Quelle: Metrohm Basic IC 792 URL: <http://katalog.metrohm.de/getAttachment.axd?attaName=2d7fb34b-0169-4431-8e3d-dff4c7e5cf7a> (10.07.09)

Gerät:

Hersteller:

Bechergläser

VWR International, Darmstadt

Messkolben 500 ml und 10 ml mit Stopfen

Merck KGaA, Darmstadt

Mikropipetten

Eppendorf, Hamburg

Einwegspritzen aus Kunststoff 10 ml

Syringe

Glasstab

Einmalhandschuhe Nitrile puderfrei

VWR International, Darmstadt

Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl:

Aufschlussgerät K-424

BÜCHI Labortechnik GmbH

Destillationsapparatur B-324

BÜCHI Labortechnik GmbH

Analysenwaage KERN 770 (d = 01 mg)

Kern & Sohn GmbH

Kjeldahl-Kolben 300mL

Messzylinder

300 ml-Weithals-Erlenmeyerkolben

Glasperlen

Bürette 50 ml \pm 0,05 Ex + 30s 20°C

Hirschmann Technicolor

9.3 Durchführung der Bestimmung

9.3.1 Herstellung des Eluenten

Zur Herstellung des Eluenten werden 0,28562 g Natriumhydrogencarbonat (NaHCO_3) und 0,38155 g Natriumcarbonat (Na_2CO_3) in ein zwei Liter Messkolben eingewogen und mit Reinstwasser bis zur Marke aufgefüllt. Um Blasenbildung beim Eluenten zu verhindern sowie Schwebestoffe zu entfernen, wird er durch einen Membranfilter (Whatman, ME 25 Membranfilter 0,45 μm) mithilfe einer Vakuumpumpe (Yamato, Handy Aspirator WP – 15) filtriert und entgast. Ein Liter des Eluenten wird für die Ionenchromatographie als Eluent verwendet und der Rest zum Ansetzen von Standards.

Der Eluent wird alle drei Tagen frisch hergestellt.

9.3.2 Kalibrierung des Ionenchromatographen

Für die Auswertung der Nitrat- und Nitritgehalte in den Salat- und Gemüseproben wird eine Kalibriergerade benötigt, die vor der Analyse mithilfe von Nitrat- und Nitrit-Stammlösungen angefertigt wird. Dieser Schritt wird auch Kalibrierung genannt.

Zur Kalibrierung des Ionenchromatographen wird der Nitrit- bzw. Nitrat-Fertigstandard der Firma Merck KGaA (s. Kapitel 9.1, S. 62) mit einer Konzentration von jeweils 1000 mg/ L Nitrat bzw. Nitrit verwendet und im Eluenten täglich frisch angesetzt.

Es werden folgende Verdünnungen hergestellt:

Tabelle 7: Herstellung von Standards zur Kalibrierung des Ionenchromatographen

Standard	Verdünnung der Fertigstandardlösung in ml auf 100 ml	Konzentration (β) an Nitrat in mg/ L	Konzentration (β) an Nitrit in mg/ L
1	0,05	0,5	0,5
2	0,10	1,0	1,0
3	0,50	5,0	5,0
4	1,00	10,0	10,0

Diese vier Standards werden nacheinander in den Ionenchromatographen eingespritzt und ein Diagramm (Kalibriergerade) für Nitrat und Nitrit erstellt.

Zur Überprüfung der Stabilität des Systems über den gesamten Bestimmungszeitraum werden die gemessenen Werte der verwendeten vier Standards für Nitrat (Abb. 21) und Nitrit (Abb. 22) zusammengefasst und in einer Kalibriergerade dargestellt.

Die errechneten Mittelwerte sowie die Streuung (s) sind in Tabelle 8 dargestellt (Rohdaten s. Anhang A-1).

Tabelle 8: Die ermittelten Werte für die vier Standards von Nitrat und Nitrit

Anzahl der Bestimmungen (n)	Standard	Nitrat		Nitrit	
		Mittelwert (\bar{x}) in mg/ L	Standardabweichung	Mittelwert (\bar{x}) in mg/ L	Standardabweichung
10	1	0,463	± 0,022	0,454	± 0,021
10	2	0,934	± 0,032	0,919	± 0,013
10	3	4,935	± 0,049	4,880	± 0,034
10	4	10,041	± 0,029	10,067	± 0,017

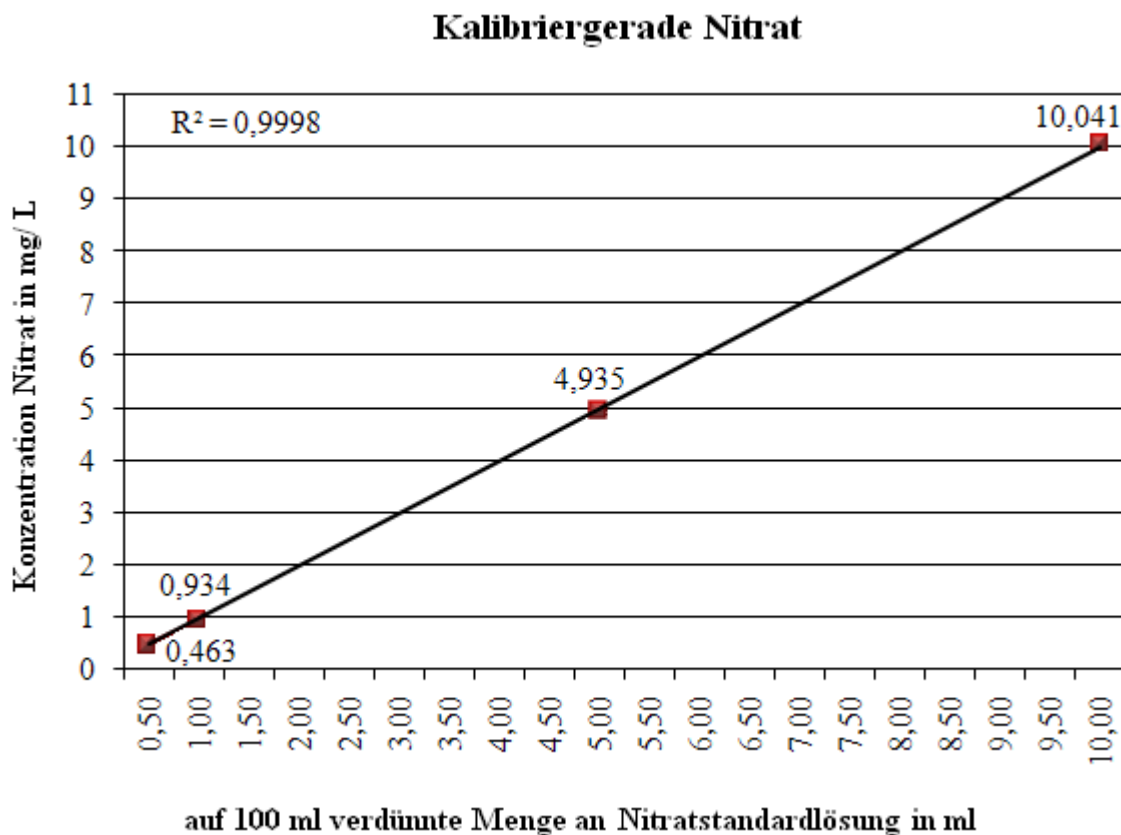


Abb. 21: Kalibriergerade für Nitrat aus den verwendeten vier Standards über den gesamten Bestimmungszeitraum

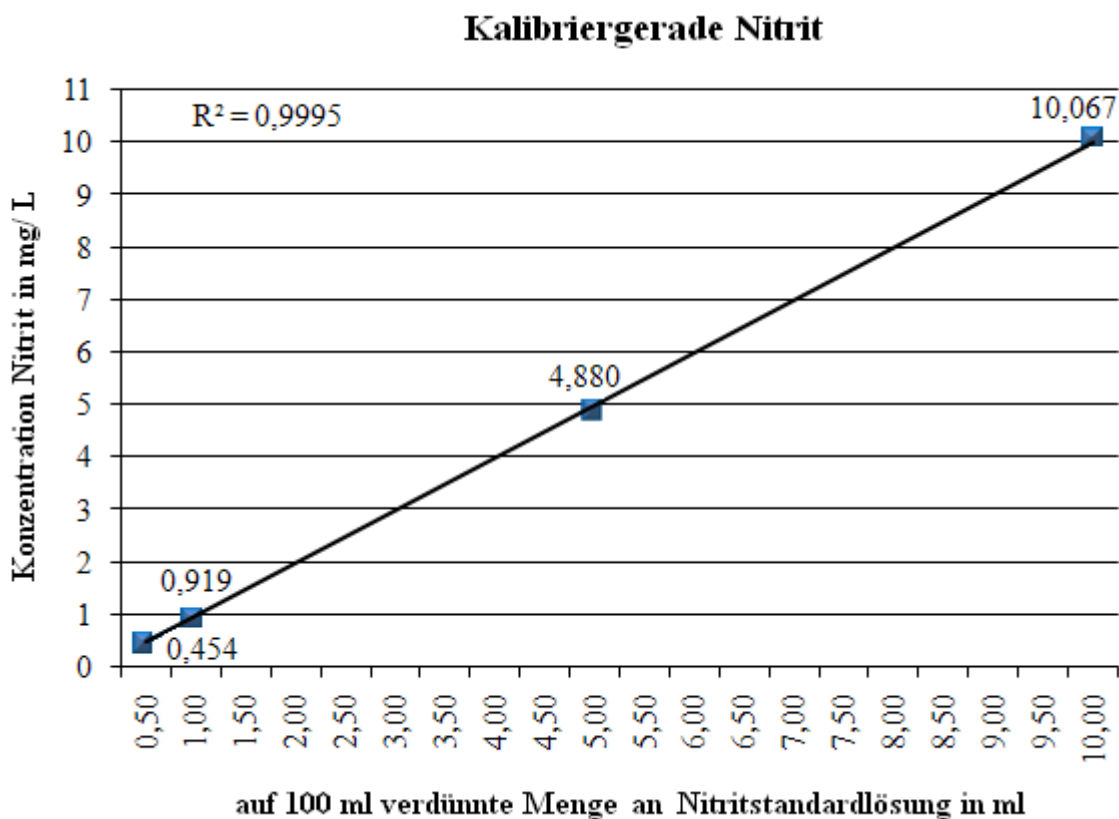


Abb. 22: Kalibriergerade für Nitrit aus den verwendeten vier Standards über den gesamten Bestimmungszeitraum

Sowohl für die Kalibrierung als auch für die Proben-Analyse gelten folgende Gerätedaten:

Arbeitsdruck: 6 – 7 bar

Flussrate: 1,0 ml/ Minute

Einspritzmenge: 20 μ l

Messtemperatur: 20°C

Zur Überprüfung der Nachweisbarkeit der Messwerte wird das Rauschen der Basislinie bei einigen Proben ($n = 3$) und einigen Standards ($n = 2$) (Rohdaten s. Anhang A-2) nachgemessen und die Nachweisgrenze nach Formel 1 berechnet.

Nachweisgrenze (NWG) = $\bar{x} + 3 \times s$ (Formel 1)

\bar{x} = Mittelwert des Rauschen

s = Standardabweichung des Rauschen

Berechnung der NWG für die durchgeführten Versuche: $0,011 + 3 \times 0,007 = \underline{0,032 \text{ mg/L}}$

10. Probenauswahl

Wie in Kapitel 3.2.1 (S. 15) erwähnt wird das Gemüse nach ihrem Nitratgehalt in drei Kategorien eingeteilt. Aus jeder dieser Kategorien (niedriger, mittlerer und hoher Nitratgehalt) wird eine Gemüse- bzw. eine Salatsorte für die Untersuchung ausgewählt.

Aus der Kategorie „niedriger Nitratgehalt“ wird der Broccoli ($\bar{x} = 279 \text{ mg NO}_3^-/\text{kg}$ Frischsubstanz) ausgesucht, da er im Vergleich zu anderen Kohlarten wie z.B. den Blumenkohl immer mehr an Bedeutung gewinnt (EFSA, 2008, S. 17; Statistisches Bundesamt, 2005, S. 508).

Einen mittleren Nitratgehalt von $875 \text{ mg NO}_3^-/\text{kg}$ Frischsubstanz weist Eisbergsalat (auch Eissalat genannt) auf (EFSA, 2008, S. 19). Er wird ausgewählt, weil er zusammen mit Kopfsalat einen pro Kopf Verbrauch von 4 kg pro Jahr (Stand 2007/ 2008) erreicht sowie diese beiden Salatsorten die Erzeugung von Blattgemüse in Deutschland bestimmen (LfL Ernährungswirtschaft, 2008, S. 16). Dabei ist der Anbautrend von Kopfsalat seit 1990 um 16% gesunken und der von Eisbergsalat um das Vierfache angestiegen (Statistisches Bundesamt, 2006, S. 20).

Schließlich wird aus der Kategorie „hoher Nitratgehalt“ der Spinat ($\bar{x} = 1066 \text{ mg NO}_3^-/\text{kg}$ Frischsubstanz) gewählt (EFSA, 2008, S. 19), denn er weist einen pro Kopf Verbrauch von knapp $0,9 \text{ kg}$ pro Jahr in Deutschland auf. Dabei greifen Verbraucher häufiger zum Tiefkühlprodukt, deshalb wird in dieser Arbeit der tiefgefrorene und nicht der frische Blattspinat untersucht (BOGK, 2008, S. 49).

Alle Gemüse- und Salatsorten sind in den Sommermonaten Juni und Juli 2009 gekauft und analysiert worden. Die Analyse der frischen Gemüse- und Salatsorten erfolgt am Tag des Kaufs. Alle für die Probenvorbereitung genutzten Geräte sind in Kapitel 9.2 (S. 63) beschrieben.

11. Probenvorbereitung und Darstellung der Ergebnisse

Zur Nitrat- und Nitritbestimmung wird frischer Eisbergsalat, frischer Broccoli und tiefgefrorener Blattspinat herangezogen. Bei der Probenahme und -verarbeitung wird mit Handschuhen (Einmalhandschuhe puderfrei, VWR International) gearbeitet, um eine Kontamination mit auf den Händen lebenden Mikroorganismen zu vermeiden. Die verwendeten Probemengen (20 g Eisbergsalat bzw. Blattspinat sowie 50 g Broccoli) sind so gewählt worden, dass sie voraussichtlich mindestens 15 mg Nitrat auf ein Volumen von 500 ml enthalten.

Die Probenvorbereitung und anschließende Probenextraktion wird in Anlehnung an die DIN EN 12014 – 2: 1997 Bestimmung des Nitrat- und/ oder Nitritgehaltes – Teil 2: HPLC/IC- Verfahren für die Bestimmung des Nitratgehaltes in Gemüse und Gemüseerzeugnissen aufbereitet. Bei der Probenextraktion werden die Proben, abweichend von der Norm, nicht in einem siedenden Wasserbad sondern in einem ca. 65°C heißen Wasserbad für 15 Minuten belassen. Dadurch ist eine kürzere Abkühlzeit und bessere Handhabung möglich.

Probenextraktion für die IC-Messung

Vom zerkleinerten Eisbergsalat sowie vom vorbereiteten Blattspinat werden jeweils 20 – 25 g in ein 600 ml-Becherglas eingewogen, vom zerkleinerten Broccoli 50 – 70 g, da dieser einen geringeren Nitratgehalt im Vergleich zu den Salatsorten aufweist und die untersuchte Probe voraussichtlich 15 mg Nitrat enthalten soll.

Die Bechergläser werden mit ca. 400 ml aufgekochten Reinstwasser gefüllt und für 15 Minuten in einem warmen Wasserbad (60 – 65°C) belassen. Die Extraktion erfolgt unter mehrfachem Rühren mit einem Glasstab.

Anschließend werden die Proben auf Raumtemperatur (ca. 23°C) heruntergekühlt und jeweils in ein 500 ml-Messkolben überführt. Dabei wird das Becherglas mindestens drei Mal mit Reinstwasser ausgespült.

Danach wird der Messkolben mit Reinstwasser bis zur Marke aufgefüllt, geschüttelt und durch eine Filterpapierscheibe (Grade 3 hw stedim biotech, Sartorius AG) filtriert.

Das entstandene Filtrat aus den Eisbergsalat-, Blattspinat- und Broccoli-Proben wird jeweils eins zu zehn verdünnt, danach membranfiltriert (Nylon Membran-Filter 0,45 µm, VWR International) und schließlich analysiert.

Durch die Kalibrierung mit Standardlösungen bekannter Konzentrationen an Nitrat (NO_3^-) und Nitrit (NO_2^-) in der mobilen Phase können die Nitrat- und Nitritgehalte in den Proben mithilfe des Computers ausgewertet werden.

11.1 Eisbergsalat

Insgesamt werden vier Köpfe Eisbergsalat (E 1 bis E 4) aus dem örtlichen Supermarkt untersucht. Alle Salate haben die Qualitätsstufe/ Klasse I und kommen aus Deutschland.

11.1.1 Untersuchung der Nitratverteilung im Salat

Ziel dieser Untersuchung ist es den Nitratgehalt von Eisbergsalat zu bestimmen sowie die Nitratverteilung innerhalb des Salates zu analysieren. D.h. es wird verglichen ob die Nitratgehalte in den einzelnen Salatfraktionen (Außenblätter, Innenblätter, Salatherz und Blattrippen) gleich sind oder Unterschiede aufweisen.

Dazu wird ein Kopf Eisbergsalat (E 3; Gewicht ca. 1 kg) als Ganzes in folgende Fraktionen aufgeteilt (Abb. 23) und am Tag des Kaufs frisch analysiert:

- Außenblätter = die drei äußeren dunkelgrüne Blätter
- Innenblätter = die folgenden hellgrüne Blätter, um das Herz gebogen
- Salatherz = hellgelbe, zarte kleine Blätter
- Blattrippen = alle dickeren Blattrippen der Innenblätter und des Salatherzes
- Strunk = Zentralzylinder (wird nicht analysiert)

Diese Aufteilung wird vorgenommen, um die Nitratverteilung in der zum Verzehr kommenden Bestandteilen des Salates zu verfolgen. Denn wie in Kapitel 3.2.1 (S. 15) beschrieben, wird das Nitrat von den Wurzeln im Xylem mit dem Transpirationsstrom zu den Blättern transportiert, wo es im Zytoplasma zu Ammonium (NH_4^+) und anschließend zu Stickstoff (N) reduziert wird. Aus diesem Grund müssten die Transportgefäße (Blattrippen) am stärksten mit Nitrat belastet sein, denn sie transportieren das Nitrat von den Wurzeln zu den Blättern. Darüber hinaus ist die Nitratassimilation in den Blättern an die Photosynthese gekoppelt, da diese die Energieversorgung der Zelle ermöglicht. Deshalb müssten die äußeren Blätter höhere Nitratgehalte im Vergleich zu den inneren Salatblättern aufweisen, denn sie werden direkt von der Sonne bestrahlt.

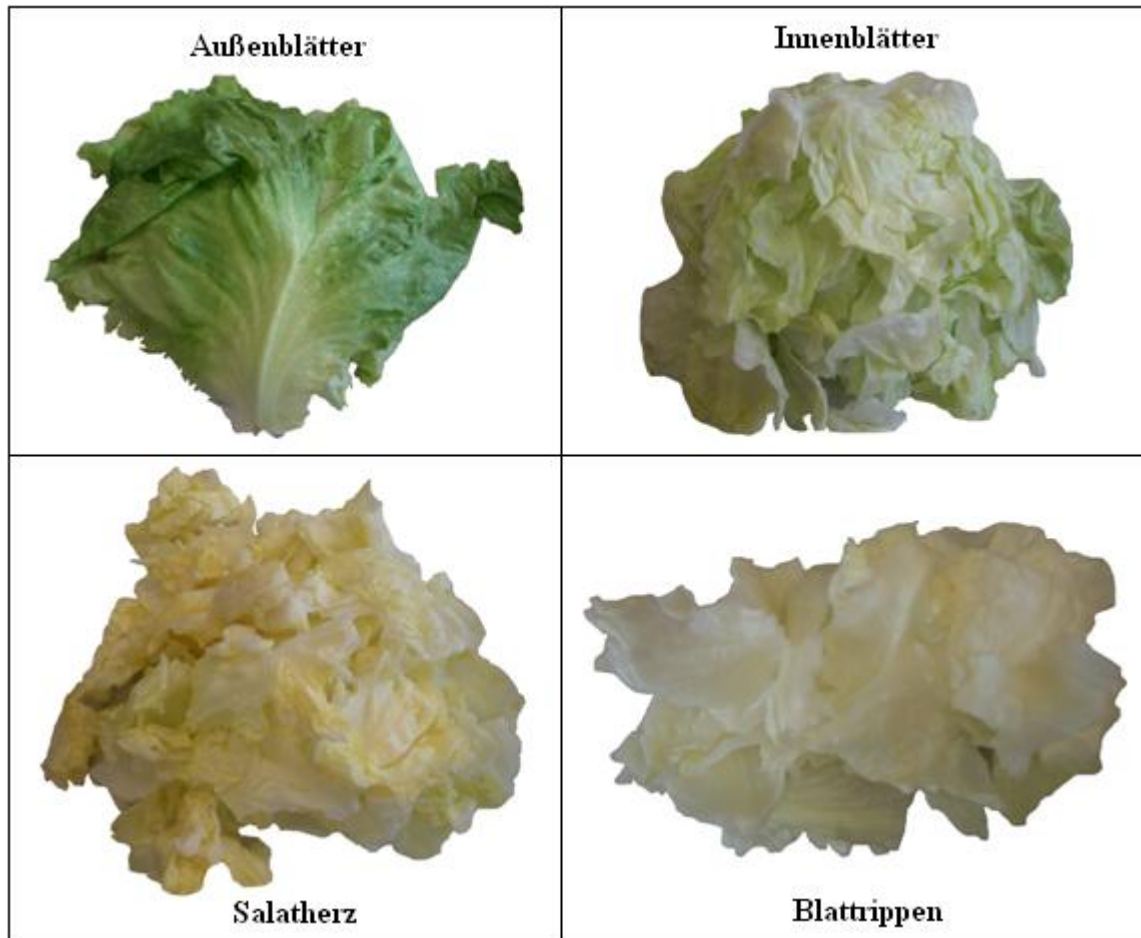


Abb. 23: Eisbergsalat aufgeteilt in einzelne Fraktionen

11.1.1.1 Probenvorbereitung

Die Außenblätter werden kurz (20 Sekunden) unter kaltem, fließendem Leitungswasser gewaschen, von den Blattrippen befreit und anschließend in einer Küchenmaschine (Firma: Quigg) auf ca. 0,5 cm Stückchengröße zerkleinert. Die Innenblätter und das Salatherz werden ebenfalls von den Blattrippen befreit jedoch ungewaschen jeweils in einer Küchenmaschine (Firma: Quigg) zerkleinert. Schließlich werden die gesammelten Blattrippen von den Innenblättern und des Salatherzes ungewaschen in einer Küchenmaschine (Firma: Quigg) zerkleinert.

Aus den entstandenen Gemischen wird je eine Doppelbestimmung durchgeführt. Dabei wird jeweils 20 g der entsprechenden Salatfraktion in je ein 600 ml-Becherglas eingewogen, für die IC-Messung aufbereitet (s. Kapitel 11, S. 70) und dann untersucht.

Der Strunk des Salats wird nicht verzehrt und deshalb in dieser Arbeit nicht analysiert.

11.1.1.2 Ergebnisse

Durch die verwendete Kalibrierung des Ionenchromatographen mit den vier Standards (Konzentration von 0,5 mg bis 10,0 mg NO_3^- bzw. NO_2^- / L) wird ein Eichbereich von 12 mg bis 2500 mg NO_3^- bzw. NO_2^- / kg Frischsubstanz für die Nitrat- und Nitritbestimmung ermöglicht. Die Nachweisgrenze liegt bei 0,032 mg NO_3^- bzw. NO_2^- / L.

Aufgrund der Übersichtlichkeit wird aus den ermittelten zwei Einzelwerten ein Mittelwert gebildet und die Standardabweichung berechnet. Dieses Vorgehen ist strittig, denn die Anzahl der Messwerte ist zu gering um deren Verteilung zu sehen. Aus diesem Grund wird auch die Bildung eines Vertrauensbereiches als nicht sinnvoll erachtet. Für eine deutliche Aussage sowie statistische Sicherheit werden mindestens fünf Einzelmessungen benötigt.

Die in Abb. 24 dargestellten Daten sind Mittelwerte einer Doppelbestimmung ($n = 2$) aus jeder Fraktion (Außenblätter, Innenblätter, Blattrippen und Salatherz) eines Eisbergsalatkopfes (E 3). Die Mittelwerte und die zugehörigen Standardabweichungen (s) sind in Tabelle 9 dargestellt.

Tabelle 9: Nitratgehalte in den einzelnen Fraktionen des Eisbergsalates im Vergleich

Probe	Anzahl der Bestimmungen (n)	Mittelwert (\bar{x}) in mg NO_3^- / kg	Standardabweichung (s) in mg NO_3^- / kg
Außenblätter	2	769	$\pm 3,60$
Blattrippen	2	582	$\pm 4,24$
Innenblätter	2	404	$\pm 20,52$
Herz	2	304	$\pm 1,00$

Anhand der Standardabweichung kann gesehen werden, dass der Nitratgehalt in den Innenblättern etwas stärker variiert als in den anderen Fraktionen. Jedoch bilden die Innenblätter auch den größten Anteil im Salat. Die Streuung kann damit erklärt werden, dass die weiter außen liegenden Innenblätter mehr Nitrat enthalten als die nahe dem Salatherz liegenden Blätter.

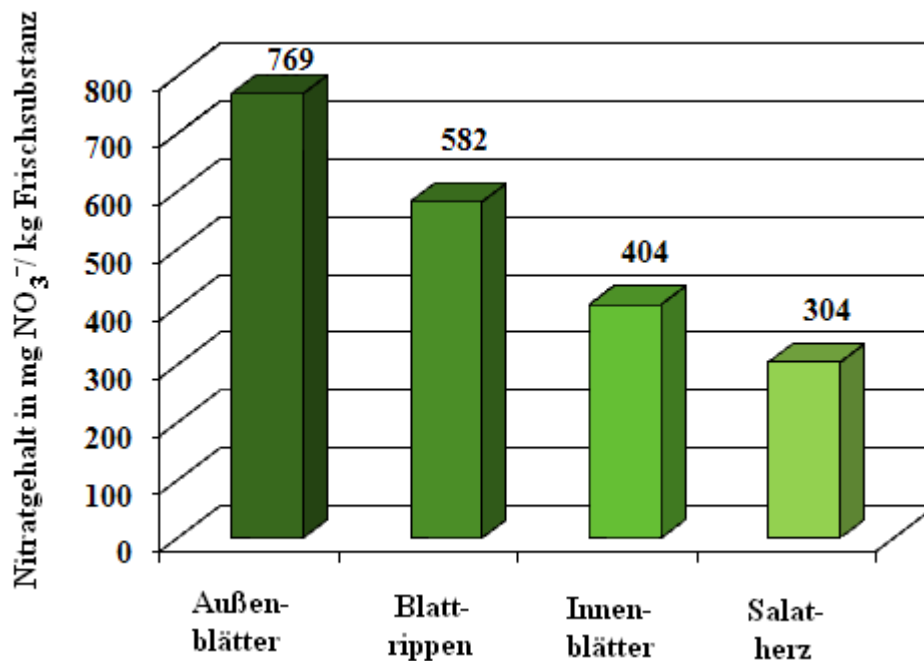


Abb. 24: Nitratverteilung innerhalb einzelner Fraktionen in einem Kopf Eisbergsalat

11.1.1.3 Erläuterung der Ergebnisse

Die Ergebnisse (Abb. 24 und Tabelle 9) zeigen, dass ein deutliches Nitratgefälle von den Außenblättern des Eisbergsalats über die Blattrippen zu den Innenblättern und dem Salatherz vorhanden ist. Dabei haben die Außenblätter den höchsten und das Salatherz den geringsten Nitratgehalt.

Nach den Ergebnissen zufolge enthalten die Innenblätter im Vergleich zu den Außenblättern 47 % und das Salatherz sogar 60 % weniger Nitrat. Diese Werte sind jedoch nicht statistisch gesichert und bilden nur Tendenzen, denn sie sind von einem einzigen Salatkopf abgeleitet worden.

Wenn davon ausgegangen wird, dass ein Eisbergsalat aus:

20 % Außenblätter = 154 mg NO₃⁻/kg

40 % Innenblätter = 162 mg NO₃⁻/kg

20 % Salatherz = 61 mg NO₃⁻/kg

15 % Blattrippen = 87 mg NO₃⁻/kg

und 5 % Strunk

besteht, kann für den vorliegenden Eisbergsalat ein Nitratgehalt von 464 mg NO₃⁻/kg Frischsubstanz aus den ermittelten Daten errechnet werden.

Die Diskussion dieser Ergebnisse erfolgt in Kapitel 12.1.1 (S. 100).

11.1.2 Lagerversuch

Das Ziel dieser Untersuchung ist es die Auswirkungen von Lagerung auf den Nitratgehalt des Salats zu ermitteln. Außerdem soll analysiert werden, ob während der Lagerung aus dem enthaltenen Nitrat hohe Mengen an Nitrit gebildet werden.

Zur Erreichung des Ziels wird der Salat bis zu sieben Tagen gelagert und zwischenzeitlich der Nitrat- und Nitritgehalt mit der Ionenchromatographie bestimmt.

Weiter soll untersucht werden, ob die Veränderung abhängig von der Lagertemperatur ist. Dafür wird der Eisbergsalat unter zwei verschiedenen Temperaturen (Raumtemperatur bei 20°C und Kühltemperaturen bei 7°C) gelagert.

Zusätzlich soll erforscht werden, ob Unterschiede auftreten, wenn der Salat im Ganzen oder geschnitten gelagert wird. Dazu wird der Salat in zwei Hälften geteilt, um die gleiche Ausgangssituation für beide Versuche zu erhalten. Danach wird die eine Hälfte zerkleinert und die andere im Ganzen bis zu sieben Tagen gelagert.

Schließlich wird überprüft, ob die Nitrat- und Nitritgehalte abhängig von der Verpackung sich anders verhalten. Dazu wird die zerkleinerte Salathälfte in zwei unterschiedlichen Verpackungen (im Plastikbeutel mit Wiederverschluss bzw. in einer Kunststoffschale mit Deckel) bis zu sieben Tagen gelagert.

Allgemein werden für die Untersuchung zwei Eisbergsalat-Köpfe (E 1 und E 2; Gewicht ca. 1 kg) verwendet, die bei unterschiedlichen Bedingungen (Raumtemperatur $20 \pm 1^\circ\text{C}$ und Kühltemperatur $7 \pm 1^\circ\text{C}$) bis zu sieben Tage lang gelagert und folglich untersucht werden. Zwischenzeitlich wird der Salat noch nach drei und vier Tagen Lagerung analysiert. Der Versuchsaufbau ist in Abb. 25 dargestellt.

In der Studie von Chung *et al.* (2004, S. 319 f.), wo vier Salatsorten (zwei Spinatsorten, Chinakohl und Kronen Wucherblume) sieben Tage lang bei Raum- sowie Kühltemperatur gelagert und täglich der Nitrat- bzw. Nitritgehalt bestimmt wurde, sind erst nach drei bzw. bei der Kronen Wucherblume erst nach vier Tagen Lagerung bei Raumtemperatur Veränderungen im Nitrat- und Nitritgehalt aufgetreten. Nach sieben Tagen Lagerung war in den Salatsorten kaum Nitrat jedoch relativ viel Nitrit enthalten.

Aufgrund dieser Erkenntnis wird beim Lagerversuch nach drei, vier und sieben Tagen Lagerung der Eisbergsalat untersucht. Es sollte herausgefunden werden, ob der Nitrat- und Nitritgehalt im Eisbergsalat sich ebenfalls so verhält wie oben beschrieben.

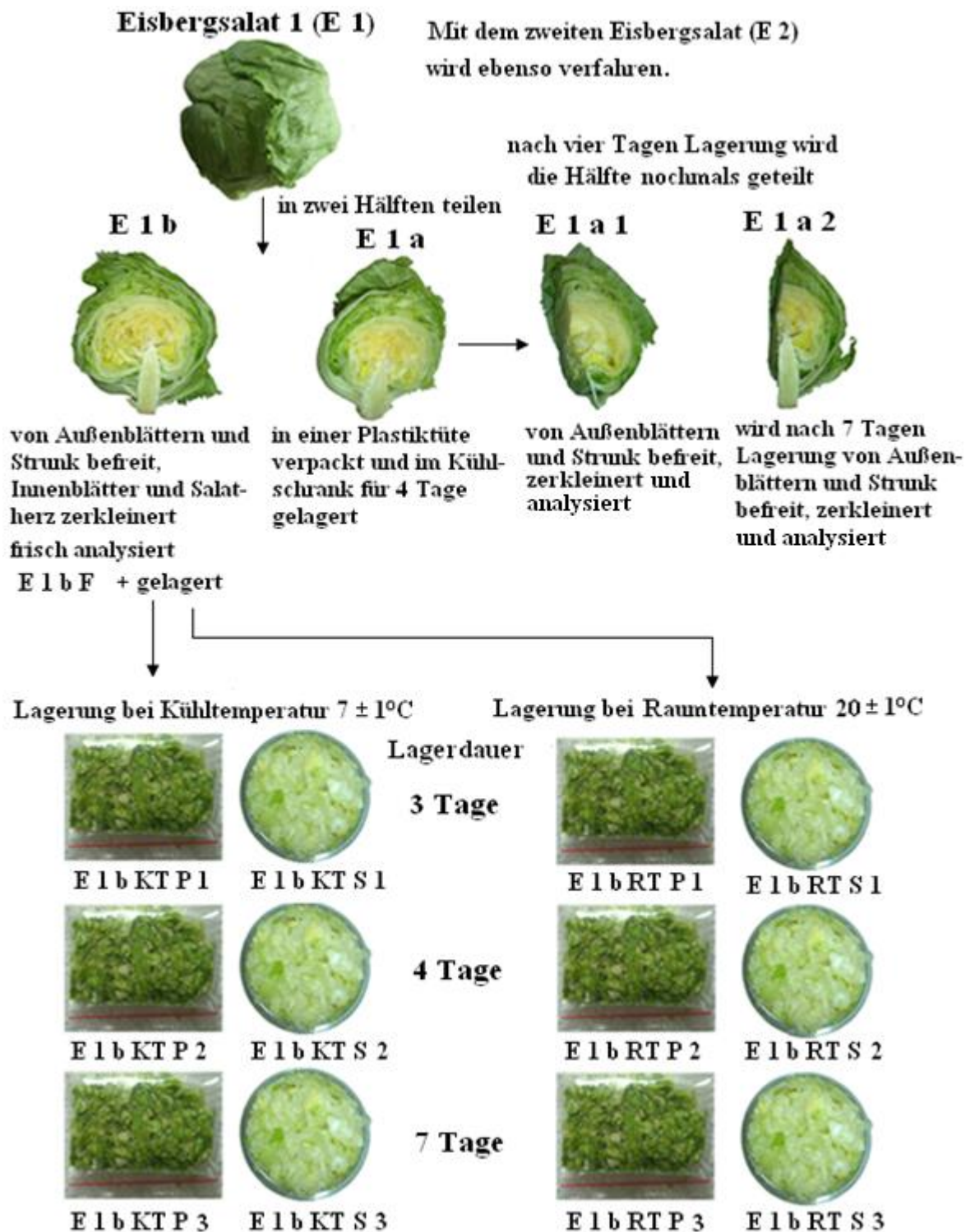


Abb. 25: schematische Darstellung vom Aufbau des Lagerversuchs von Eisbergsalat

Die beiden frischen Salatköpfe werden jeweils in zwei Hälften geteilt, dabei wird die eine Hälfte jedes Salatkopfes (E 1 a und E 2 a) sofort in eine Plastiktüte verpackt und im Kühlschrank bei 7°C bis zu sieben Tagen gelagert. Die andere Hälfte jedes Salats (E 1 b und E 2 b) wird von den äußeren zwei Blättern sowie den Strunk befreit und zur Untersuchung des zerkleinert gelagerten Salats vorbereitet (s. Kapitel 11.1.2.2, S. 79).

11.1.2.1 Untersuchung des im Ganzen gelagerten Salats

11.1.2.1.1 Probenvorbereitung

Die in einer Plastiktüte verpackt gelagerte Hälfte jedes Salatkopfes (E 1 a und E 2 a) wird nach vier Tagen Kühlschranklagerung bei 7°C nochmals geteilt, so dass jeweils zwei Vierteln entstehen. Das eine Viertel (E 1 a 1 und E 2 a 1) wird wieder in eine Plastiktüte verpackt und für weitere drei Tage im Kühlschrank bei 7°C gelagert. Das andere Viertel (E 1 a 2 und E 2 a 2) wird von den Außenblättern und den Strunk befreit, in einer Küchenmaschine (Firma: Quigg) auf Stückchengröße von ca. 0,5 cm zerkleinert, für die IC-Messung aufbereitet (s. Kapitel 11, S. 70) und untersucht.

Das verbliebene Salatviertel (E 1 a 1 und E 2 a 1) wird nach insgesamt sieben Tagen Kühlschranklagerung ebenfalls von den Außenblättern und den Strunk befreit, zerkleinert, für die IC-Messung aufbereitet (s. Kapitel 11, S. 70) und analysiert.

11.1.2.1.2 Ergebnisse

Durch die verwendete Kalibrierung des Ionenchromatographen mit den vier Standards (Konzentration von 0,5 mg bis 10,0 mg NO_3^- bzw. NO_2^- / L) wird ein Eichbereich von 12 mg bis 2500 mg NO_3^- bzw. NO_2^- / kg Frischsubstanz für die Nitrat- und Nitritbestimmung ermöglicht. Die Nachweisgrenze liegt bei 0,032 mg NO_3^- bzw. NO_2^- / L.

Die in Tabelle 10 dargestellten Ergebnisse sind Einzelmesswerte aus den beiden Salathälften, die als Ganzes im Kühlschrank gelagert wurden.

Tabelle 10: Nitratgehalte in den als Ganzes im Kühlschrank bei $7 \pm 1^\circ\text{C}$ gelagerten Salathälften (E 1 a und E 2 a)

Probe	Salat 1 (E 1 a)	Salat 2 (E 2 a)
	Nitratgehalt (w) in $\text{mg NO}_3^-/\text{kg Frischsubstanz}$	Nitratgehalt (w) in $\text{mg NO}_3^-/\text{kg Frischsubstanz}$
frisch	443	511
4 Tage Lagerung	395	359
7 Tage Lagerung	445	395

11.1.2.1.3 Erläuterung der Ergebnisse

Die Salathälfte des Salates 1 (E 1 a), die gleich nach dem Einkauf in eine Plastiktüte verpackt und im Kühlschrank gelagert wird, weist nach vier Tagen Lagerung 10 % und nach sieben Tagen Lagerung sogar geringfügig mehr Nitrat ($2 \text{ mg NO}_3^-/\text{kg}$) auf als der frisch analysierte Salat. Diese Schwankungen können natürlicher Herkunft sein, denn in Voruntersuchungen wurde festgestellt, dass der Nitratgehalt innerhalb einer Salathälfte um bis zu 15 % variieren kann.

Bei der gelagerten Salathälfte des zweiten Salates (E 2 a), sind etwas höhere Nitratverluste aufgetreten. Nach vier Tagen Kühllagerung weist die Probe einen Nitratrückgang von 30 % auf und nach sieben Tagen hat das verbliebene Salatviertel 23 % weniger Nitrat als die frische Probe. Diese Schwankungen sind etwas höher als die natürliche Variation (ca. 15 %) der Nitratgehalte in einem Kopf Eisbergsalat. Es kann daran liegen, dass in der Referenzprobe ein höherer Anteil an Blatttrippen gewesen ist und somit ein höherer Nitratgehalt als Ausgangssituation vorliegt. Ein weiterer Grund für diese Schwankung könnte eine höhere Anzahl an Mikroorganismen beim Kauf des Salates sein. Denn diese könnten das Nitrat während der Lagerung geringfügig in andere Stickstoffverbindungen umbauen. Jedoch ist bei diesen Salatproben kein Nitrit nachgewiesen worden.

Die Diskussion dieser Ergebnisse erfolgt in Kapitel 12.1.2 (S. 101).

11.1.2.2 Untersuchung des zerkleinert gelagerten Salats

11.1.2.2.1 Probenvorbereitung

Die zweiten frischen Salathälften (E 1 b und E 2 b) werden am Tag des Kaufes für den zerkleinerten Lagerversuch vorbereitet. Die weiteren Verarbeitungsschritte werden für beide Salathälften analog durchgeführt.

Die gesamten Innenblätter der frischen Salathälfte werden in einer Küchenmaschine (Firma: Quigg) portionsweise zerkleinert (Stückchengröße ca. 0,5 cm) und anschließend miteinander vermischt. Aus diesem Gemisch werden jeweils drei mal 20 g zerkleinerten Eisbergsalat in je eine kleine Plastiktüte mit Wiederverschluss (E 1 b KT-P 1 bis 3) und drei mal 20 g in je eine Kunststoffschale (4 × 3 cm) mit Deckel (E 1 b KT-S 1 bis 3) eingewogen. Diese Proben werden im Kühlschrank bei $7 \pm 1^\circ\text{C}$ für drei, vier und sieben Tage gelagert. Daneben wird derselbe Vorgang für weitere sechs Proben (E 1 b RT-P 1 bis 3 sowie E 1 b RT-S 1 bis 3) wiederholt und diese bei Raumtemperatur ($20 \pm 1^\circ\text{C}$) für drei, vier und sieben Tage in einem Karton (unter Lichtabschluss) gelagert (s. Abb. 25).

An den jeweiligen Analysetagen werden die gelagerten Salatproben aus den Plastiktüten bzw. Kunststoffschalen mithilfe von aufgekochten Reinstwasser (aus der Umkehrosmose; Gerät: SG Ultra Clear; Wasserleitwert: $0,055 \mu\text{S}/\text{cm}$) in ein 600 ml-Becherglas überführt und dabei drei Mal gespült. Danach wird die Probe für die IC-Messung aufbereitet (s. Kapitel 11, S. 70) und untersucht.

Aus dem verbliebenen zerkleinerten Eisbergsalat wird je eine 20 g Probe von jedem Salatkopf entnommen und frisch analysiert (E 1 b F bzw. E 2 b F). Sie dienen als Referenz für die Lagerproben.

11.1.2.2.2 Ergebnisse

Durch die verwendete Kalibrierung des Ionenchromatographen mit den vier Standards (Konzentration von 0,5 mg bis 10,0 mg NO_3^- bzw. NO_2^- / L) wird ein Eichbereich von 12 mg bis 2500 mg NO_3^- bzw. NO_2^- / kg Frischsubstanz für die Nitrat- und Nitritbestimmung ermöglicht. Die Nachweisgrenze liegt bei $0,032 \text{ mg } \text{NO}_3^-$ bzw. NO_2^- / L.

Die in Abb. 26 abgebildeten Daten sind Einzelmesswerte und stellen den Nitratgehalt im frischen Eisbergsalat sowie nach drei, vier und sieben Tagen Lagerung im Kühlschrank bei $7 \pm 1^\circ\text{C}$ dar.

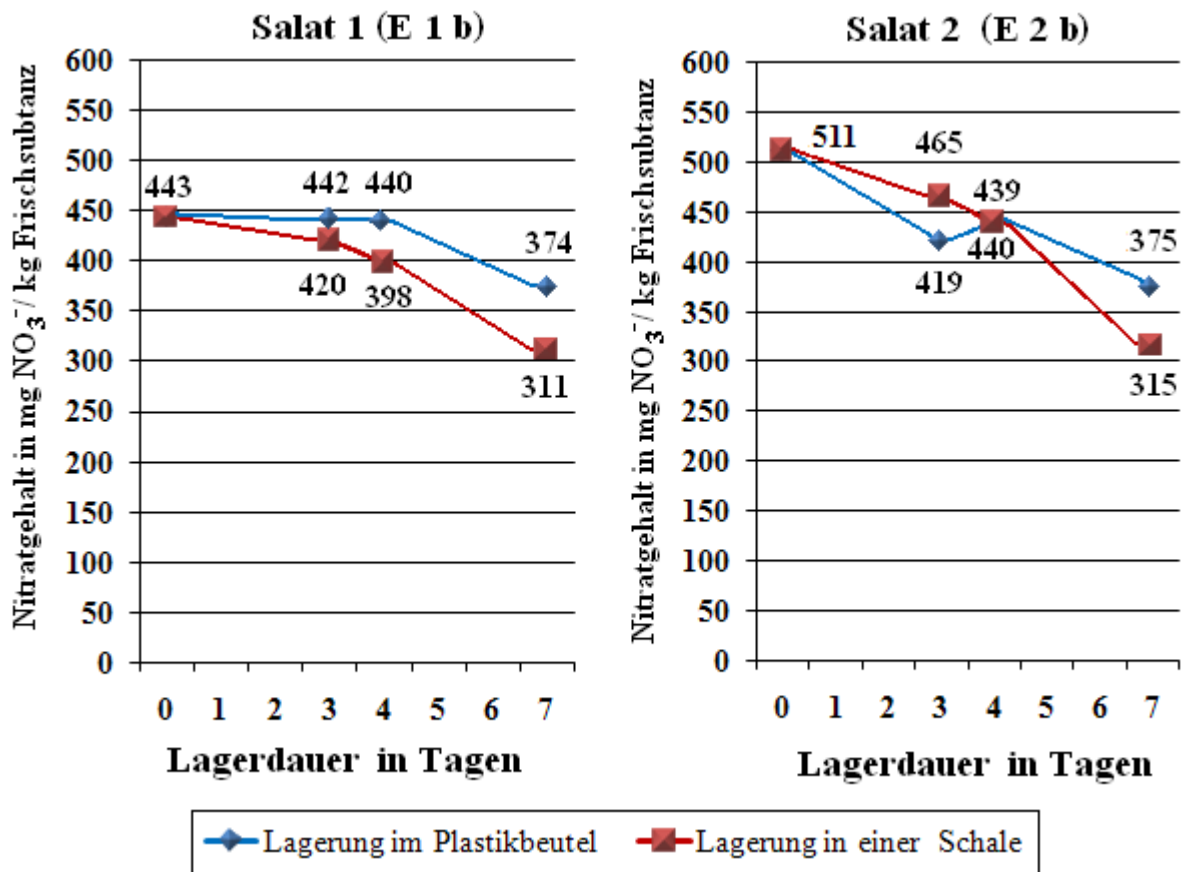


Abb. 26: Nitratgehalte des frischen und zerkleinert bei Kühltemperatur ($7 \pm 1^\circ\text{C}$) gelagerten Eisbergsalates

Zum Vergleich wird ein weiterer Teil des zerkleinerten Salates in je einem Plastikbeutel mit Wiederverschluss und in einer Kunststoffschale mit Deckel bei Raumtemperatur $20 \pm 1^\circ\text{C}$ drei, vier und sieben Tage lang gelagert sowie untersucht. Die Ergebnisse sind ebenfalls Einzelmesswerte und werden in Abb. 27 dargestellt.

Jeweils zwei der bei Raumtemperatur gelagerten Salatproben aus beiden Salaten weisen einen Peak für Nitrit auf, jedoch sind diese so gering, dass sie unter den untersten Eichwert von $12 \text{ mg NO}_2^-/\text{kg}$ liegen sowie unter die Nachweisgrenze ($0,032 \text{ mg NO}_2^-/\text{L}$) fallen. Deshalb werden sie hier nicht weiter aufgeführt, jedoch bei den Rohdaten (s. Anhang A- 4) dargestellt. Nur bei der Probe E 2 b RT S 3 ist der Nitritpeak knapp über der Nachweisgrenze.

Die Salatproben haben sich nach einer Woche Lagerung bei Raumtemperatur stark verändert, denn sie sind breiartig, braun gefärbt und riechen angefault. Anscheinend werden die Salatstückchen während der Lagerung stark abgebaut, dabei tritt vermehrt Flüssigkeit auf.

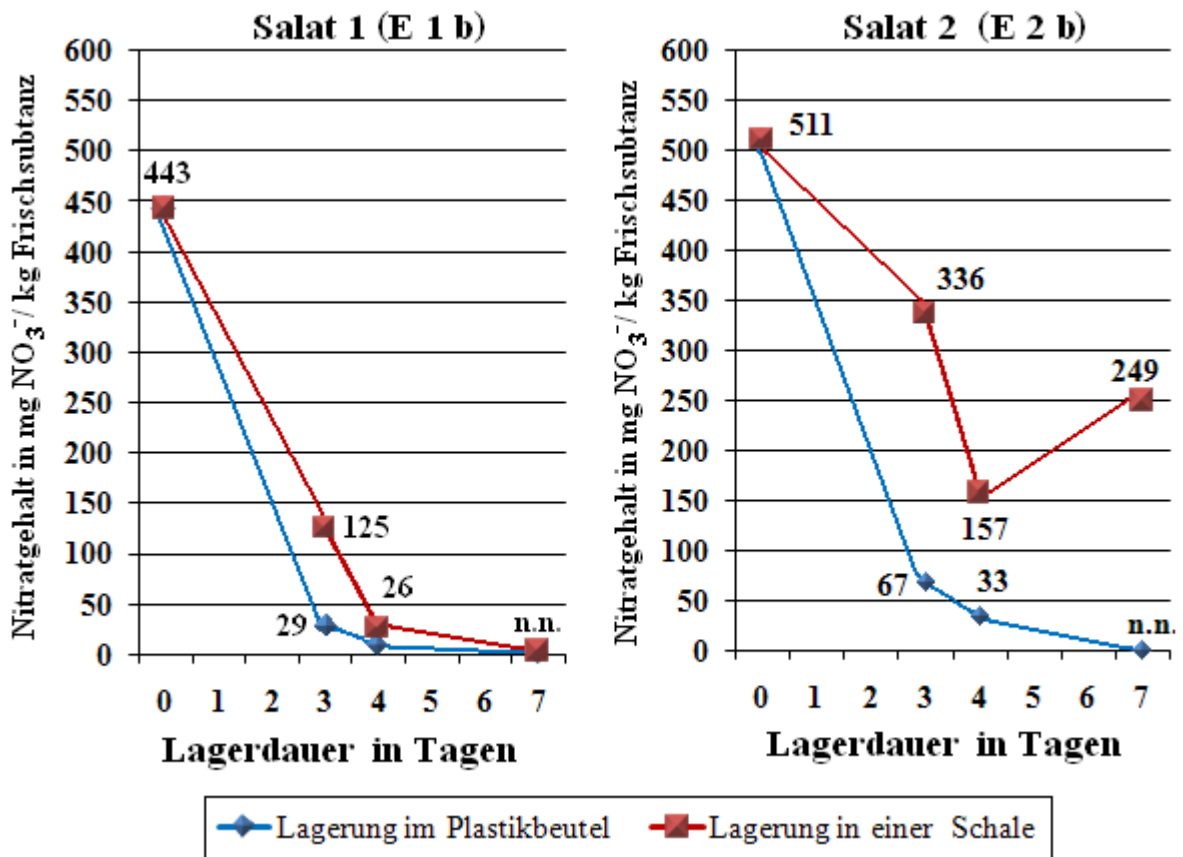


Abb. 27: Nitratgehalte des frischen und zerkleinert bei Raumtemperatur ($20 \pm 1^\circ\text{C}$) gelagerten Eisbergsalates

11.1.2.2.3 Erläuterung der Ergebnisse

Allgemein zeigt der zerkleinert bei Kühltemperatur gelagerte Eisbergsalat (Abb. 26) über die gesamte Lagerdauer nur geringe Veränderungen im Nitratgehalt auf. Auch zwischen den beiden unterschiedlichen Verpackungsformen (Plastiktüte und Kunststoffschale) sind nur leichte Schwankungen aufgetreten (bis max. 15 %). Diese könnten auch natürlichen Ursprungs sein, denn innerhalb einer Salathälfte kann der Nitratgehalt um bis zu 15 % variieren. Diese Schwankung hängt unter anderem damit zusammen wie hoch der Anteil an Blattrippen in der analysierten Probe ist.

Zwischen den beiden Salatköpfen sind auch nur geringe Schwankungen vorhanden. Der Anfangsgehalt an Nitrat ist im ersten Salat (E 1 b) um 13 % geringer als im zweiten (E 2 b), dies kann ebenfalls daran liegen, dass in der Probe E 2 b ein höherer Gehalt an Blattrippen und somit auch an Nitrat gewesen ist.

Nach sieben Tagen Kühlschrankschlagerung ist im ersten Salat (E 1 b KT) der Nitratgehalt um 23 % und im zweiten (E 2 b KT) um 32 % gesunken. Dabei ist der Nitratgehalt bei der in

der Schale gelagerten Proben etwas stärker gesunken als in der Plastiktüte. Diese Tendenz wird beim ersten Salat deutlich. Ein Grund dafür könnte ein undichter Verschluss der Probe in der Schale sein, so dass dort andere Bedingungen vorgelegen haben als in der Plastiktüte. Jedoch wird bei keiner der gelagerten Proben Nitrit nachgewiesen.

Die aufgetretenen Schwankungen könnten aber auch natürlichen Ursprungs sein. Für eine genauere Aussage müssten mehr Proben Eisbergsalat untersucht werden.

Im Vergleich dazu verändern sich die Nitratgehalte im Eisbergsalat stark während der Lagerung bei Raumtemperatur ($20 \pm 1^\circ\text{C}$) wie in Abb. 27 gezeigt wird. Denn die Nitratgehalte in Salat 1 (E 1 b RT) reduzieren sich schon nach drei Tagen Lagerung um 72 % (in der Schale) bzw. 93 % (in der Plastiktüte) im Vergleich zur Referenz. Während der folgenden Lagerung sinkt der Nitratgehalt weiter ab, wobei nach sieben Tagen kaum Nitrat nachgewiesen werden kann, denn die Werte liegen unter den untersten Eichwert von $12 \text{ mg NO}_3^-/\text{kg}$ bzw. unter der Nachweisgrenze ($0,032 \text{ mg NO}_3^-/\text{L}$).

Auch beim zweiten Salat (E 2 b RT) sind gleiche Tendenzen zu sehen. Jedoch sinkt der Nitratgehalt in der Kunststoffschale deutlich weniger ab (Differenz bis 80 %) als in der Plastiktüte. Denn nach drei Tagen Lagerung bei Raumtemperatur ist der Nitratgehalt in der Schale im Vergleich zur Referenz um 34 % gesunken und in der Tüte um 87 %. Nachdem der Salat einen weiteren Tag gelagert wird, weist er einen Nitratrückgang von 69 % in der Schale und um 93 % in der Plastiktüte auf. Nach sieben Tagen Lagerung des Salats bei Raumtemperatur kann in der Tüte kein Nitrat mehr nachgewiesen werden. In der Schale ist bei der sieben Tage gelagerten Probe im Vergleich zu der vier Tage gelagerten sogar eine Erhöhung der Nitratkonzentration (um 37 %) zu sehen. Im Vergleich zu der Referenzprobe sinkt der Nitratgehalt in der Lagerprobe jedoch um 51 % ab. Bei dieser Probe ist auch etwas Nitrit ($1,12 \text{ mg NO}_2^-/\text{kg}$ Frischsubstanz) enthalten, aber der Wert liegt unterhalb des untersten Eichwertes ($12 \text{ mg}/\text{kg}$) und knapp oberhalb der Nachweisgrenze ($0,032 \text{ mg}/\text{L}$).

Es fällt auf, dass bei beiden Salaten die in der Plastiktüte bei Raumtemperatur gelagerten Proben einen stärkeren Nitratrückgang aufzeigen als die in der Schale gelagerten. Es könnte daran liegen, dass die Proben in der Tüte luftdicht verschlossen wurden und dadurch anaerobe Bedingungen herrschten. Nach Phillips (1971, S. 224) fungiert das Nitrat unter anaeroben Bedingungen als Sauerstoffgeber und wird somit in Nitrit reduziert. In der folgenden Lagerung wird auch das entstandene Nitrit abgebaut.

Jedoch kann die bei der Untersuchung entstandene Differenz auch eine natürliche Schwankung des Salates sein. Für eine sichere Aussage müssten mehr Proben untersucht werden. Somit bedarf es weiterer Forschung, um den Einfluss der Verpackung auf die Nitratreduktion im Salat herauszufinden.

Die Diskussion dieser Ergebnisse erfolgt in Kapitel 12.1.2 (S. 101).

11.1.2.3 Bestimmung des Stickstoffgehaltes nach Kjeldahl

In Kapitel 11.1.2.2.2 (S. 79) wurde festgestellt, dass nach sieben Tagen Lagerung des Eisbergsalats bei Raumtemperatur der Nitratgehalt kaum nachweisbar ist. Jedoch trat bei dem beschriebenen Versuch während der Zeit kein Nitrit in nennenswerten Mengen auf.

Somit wird vermutet, dass das Nitrat während der Lagerung in andere Stickstoffverbindungen umgebaut wird, die nicht mit der Ionenchromatographie erfasst werden können.

Um herauszufinden, ob das Nitrat bzw. der Stickstoff aus dem Nitrat weiterhin im Salat verbleibt, wird eine Stickstoffbestimmung nach der Kjeldahl-Methode durchgeführt.

Bei der Kjeldahl-Methode wird der Stickstoffgehalt von Lebensmitteln bestimmt. Mit dem Kjeldahl-Aufschluss können Stickstoffverbindungen aus Proteinen, freien Aminosäuren, Ammoniumsalzen und auch organisch gebundener Stickstoff wie z.B. aus Nitrat und Nitrit erfasst werden.

Das Prinzip der Methode beruht darauf, dass im ersten Schritt die organische und stickstoffhaltige Analysesubstanz mit konzentrierter (98 %) Schwefelsäure bei 360 – 410°C in Gegenwart von geeigneten Katalysatoren oxidativ aufgeschlossen wird. Dabei wird der Stickstoff quantitativ in Ammoniumionen (NH_4^+) überführt.

Im zweiten Schritt wird das Ammonium (NH_4^+) durch Zugabe von Natronlauge als Ammoniak (NH_3) freigesetzt und mithilfe einer Wasserdestillation in eine Vorlage aus 4 % iger Borsäure geleitet. Dabei entsteht Ammoniumborat, das H^+ -Ionen bindet. Durch Titration mit Salzsäure wird die schwächere Borsäure durch die stärkere Salzsäure verdrängt. Der Verbrauch an Salzsäure ist dann der gebildeten NH_3 -Menge äquivalent (Skript Praktikum Lebensmittelchemie, 2007, S. 13).

11.1.2.3.1 Probenvorbereitung

Für diesen Versuch wird ein weiterer Kopf Eisbergsalat (E 4 Gewicht ca. 1 kg) von den Außenblättern und dem Strunk befreit und in einer Küchenmaschine (Firma: Quigg) auf Stückchengröße von ca. 0,5 cm zerkleinert. Dann wird ein Teil des zerkleinerten Salats frisch vorbereitet und analysiert sowie ein Teil in einer Plastiktüte mit Wiederverschluss sieben Tage bei Raumtemperatur $20 \pm 1^\circ\text{C}$ im Karton (unter Luftabschluss) gelagert.

Bei dem zerkleinerten Eisbergsalat wird zum einen der Nitratgehalt mit der IC-Methode und zum anderen der Stickstoffgehalt mit der Kjeldahl-Methode bestimmt. Beide Versuche werden parallel sowohl für die frischen als auch für die gelagerten Proben durchgeführt.

Probenvorbereitung für die Ionenchromatographie:

Für die Nitrat- und Nitritbestimmung wird drei mal 20 g des frisch zerkleinerten Eisbergsalats in je ein 600 ml-Becherglas eingewogen, für die IC-Messung vorbereitet (s. Kapitel 11, S. 70) und analysiert.

Probenvorbereitung für die Stickstoffbestimmung:

Für die Stickstoffbestimmung wird drei Mal 2 g des frisch zerkleinerten Eisbergsalats in je ein Wägeschiffchen auf 0,1 mg genau eingewogen (Analysewaage KERN 770) und in je einen Kjeldahl-Kolben gegeben. Neben den drei Proben wird auch ein Blindwert bestimmt. Das weitere Vorgehen wird standardgemäß durchgeführt. Dabei werden quecksilber- und selenfreie Katalysatortabletten der Firma Merck sowie konzentrierte Schwefelsäure (98 %) verwendet. Bei der anschließenden Titration wird Salzsäure-Maßlösung (0,1 mol/ L) herangezogen.

Nach sieben Tagen Lagerung bei Raumtemperatur im Plastikbeutel wird der zerkleinerte Salat wie oben beschrieben für die IC-Messung und die Stickstoffbestimmung vorbereitet. Da die Salatprobe relativ flüssig gewesen ist und kaum Salatstückchen vorhanden sind, wurde die Einwaage für die Stickstoffbestimmung auf 3 g erhöht.

11.1.2.3.2 Ergebnisse

Mit der Kjeldahl-Methode wird neben den Nitrat- bzw. Nitrit-Stickstoff auch der Proteinstickstoff des Salats bestimmt. D.h. der ermittelte Stickstoffgehalt ist die Summe des Proteinstickstoffs und des Stickstoffs aus dem Nitrat bzw. Nitrit.

Der Eiweißgehalt eines Eisbergsalats beträgt ca. 1 g pro 100 g Salat (entspricht 1600 mg N/ kg Salat).

Der entsprechende Nitrat- bzw. Nitritgehalt des Eisbergsalats wird mit der Ionenchromatographie gemessen. Durch die verwendete Kalibrierung des Ionenchromatographen mit den vier Standards (Konzentration von 0,5 mg bis 10,0 mg NO_3^- bzw. NO_2^- / L) wird ein Eichbereich von 12 mg bis 2500 mg NO_3^- bzw. NO_2^- / kg Frischsubstanz für die Nitrat- und Nitritbestimmung ermöglicht. Die Nachweisgrenze liegt bei 0,032 mg NO_3^- bzw. NO_2^- / L.

Aufgrund der Übersichtlichkeit wird aus den ermittelten drei Einzelwerten ein Mittelwert gebildet und die Standardabweichung berechnet. Dieses Vorgehen ist strittig, denn die Anzahl der Messwerte ist zu gering um deren Verteilung zu sehen. Aus diesem Grund wird auch die Bildung eines Vertrauensbereiches als nicht sinnvoll erachtet. Für eine deutliche Aussage sowie statistische Sicherheit werden mindestens fünf Einzelmessungen benötigt.

In Tabelle 11 sind die mit der Ionenchromatographie ermittelten Nitrat- bzw. Nitritgehalte im frischen sowie sieben Tage bei Raumtemperatur 20°C gelagerten Eisbergsalat als Mittelwerte einer Dreifachbestimmung ($n = 3$) dargestellt. Des Weiteren sind die mit der Kjeldahl-Methode ermittelten Gesamtstickstoffgehalte des Salats ebenfalls als Mittelwerte einer Dreifachbestimmung ($n = 3$) in Tabelle 11 aufgeführt.

Bei zwei der gelagerten Salatproben konnte mit der IC ein kleiner Peak für Nitrit gemessen werden, wobei beide unter den untersten Eichwert von 12 mg NO_3^- bzw. NO_2^- / kg liegen und ein Nitritpeak (0,77 mg NO_2^- / kg) auch knapp unter die Nachweisgrenze (0,80 mg NO_2^- / kg) fällt. Die Werte werden trotzdem zu einem Mittelwert zusammengefasst und in Tabelle 11 abgebildet. Jedoch müssen diese Werte mit Vorsicht betrachtet werden.

Tabelle 11: Mittelwerte der ermittelten Nitrat- und Nitritgehalte sowie des Gesamtstickstoffgehaltes im frischen sowie bei Raumtemperatur 20°C sieben Tage lang gelagerten Eisbergsalat

Probe	Anzahl der Bestimmungen (n)	Mittelwert (\bar{x}) NO ₃ ⁻ -Gehalt in mg/ kg	Mittelwert (\bar{x}) NO ₂ ⁻ -Gehalt in mg/ kg	Mittelwert (\bar{x}) N-Gehalt in mg/ kg Salat
frischer Salat	3	474	—	1456
gelagerter Salat	3	9	0,81*	1793

* nur bei zwei der drei untersuchten Proben ist ein kleiner Peak für Nitrit gemessen worden

Der Stickstoffanteil aus den ermittelten Nitrat- und Nitritgehalten beträgt bei den frischen Salatproben im Mittel 107 mg N/ kg Salat und bei den sieben Tage bei Raumtemperatur gelagerten Proben 2,26 mg N/ kg Salat (Rohdaten s. Anhang A-6).

Auch hier hat sich der gelagerte Salat dunkel verfärbt und es ist vermehrt Flüssigkeit aufgetreten, so dass kaum Salatstückchen gesehen werden konnten.

11.1.2.3.3 Erläuterung der Ergebnisse

Der Eiweißgehalt des untersuchten frischen Eisbergsalats liegt wahrscheinlich etwas niedriger als 1 g pro 100 g Salat. Denn der bestimmte Gesamtstickstoffgehalt beträgt bei den frischen Proben 1456 mg N/ kg Salat, davon sind ca. 107 mg Stickstoff im Nitrat enthalten. Wenn der Nitrat-Stickstoff abgezogen wird, errechnet sich ein Eiweißgehalt von 0,843 g pro 100 g untersuchten Eisbergsalat.

Interessanterweise hat sich der Stickstoffgehalt in den gelagerten Salat um 337 mg N/ kg Salat erhöht, obwohl das Nitrat fast vollständig reduziert wird und kein Nitrit in entsprechender Menge auftritt. Diese Stickstoffdifferenz würde bedeuten, dass 1107 mg Nitrit pro kg Salat entstehen könnten. Da dies jedoch nicht der Fall ist, kann aus den Ergebnissen geschlossen werden, dass das Nitrat zur Vermehrung anderer Stickstoffverbindungen abgebaut wird. Welche Stickstoffverbindungen dabei genau gebildet werden, ist nicht bekannt, dafür müssten weitere Forschungen durchgeführt werden. Es kann jedoch gesagt werden, dass der Stickstoff aus dem Nitrat weiterhin im Salat verbleibt.

11.2 Broccoli

Es werden zwei frische 500 g Broccoli-Köpfe aus dem örtlichen Supermarkt zur Analyse herangezogen. Der Broccoli kommt aus Deutschland und hat die Qualitätsstufe/ Klasse 1.

11.2.1 Vergleich des rohen und gekochten Broccoli

Das Ziel dieser Untersuchung ist es herauszufinden, welchen Einfluss der Kochprozess auf den Nitratgehalt des Broccoli hat. Damit die rohen und gekochten Broccoli-Proben jeweils vergleichbar sind, wird ein Broccoli-Röschen bestehend aus Rosetten und Rosettenstiel halbiert (Abb. 28). Anschließend werden die einen Hälften roh und die anderen zuerst gekocht und dann analysiert.

Dieser Versuch wird gewählt, da einige Studien (Bednar *et al.* 1991, S. 261; Huarte-Mendicoa *et al.*, 1997, S. 40 f.; Kampe, 1984, S. 401; Meier-Ploeger *et al.*, 1984, S. 282; Richter *et al.*, 1969, S. 1 f.; Phillips, 1968, S. 89) berichten, dass durch küchentechnische Verarbeitung wie das Kochen oder Blanchieren ein teilweiser Nitratrückgang im verzehrfertigen Produkt möglich ist. Denn das Nitrat ist sehr gut wasserlöslich und kann dadurch leicht ins Kochwasser übergehen.

11.2.1.1 Probenvorbereitung

Die Broccoli-Röschen eines Broccoli-Kopfes werden vom Strunk abgeschnitten und zwei Minuten in einer Schüssel mit Reinstwasser (Temperatur 23°C) gewaschen. Danach werden die Röschen mit Küchenpapier abgetrocknet und zur weiteren Verarbeitung bereitgestellt.



Abb. 28: ein Broccoli-Röschen halbiert

Für die Herstellung der rohen Probe werden die Röschen-Hälften (50 – 60 g) in ein Becherglas eingewogen und dann mithilfe einer Küchenmaschine (Firma: Quigg) zerkleinert (Stückchengröße ca. 0,5 cm). Anschließend wird der zerkleinerte Broccoli mithilfe von aufgekochtem Reinstwasser in ein 600-ml-Becherglas überführt und für die IC-Messung aufbereitet (s. Kapitel 11, S. 70).

Für die Herstellung der gekochten Probe werden die Röschen-Hälften in ein 600-ml-Becherglas eingewogen mit 350 ml Reinstwasser (Temperatur 23°C) gefüllt und kalt angesetzt (Heizplatte: Heidolph MR Hei-Standard, Heidolph). Die gesamte Erhitzungszeit beträgt 20 Minuten, davon sind fünf Minuten die reine Kochzeit des Broccoli. Das Becherglas ist während des Kochvorgangs mit einem Uhrglas abgedeckt, dadurch wird eine hausübliche Zubereitung im Kochtopf simuliert.

Nach zwei Minuten Abkühlung an der Luft wird das Kochwasser durch ein Filter (Grade 3 hw stedim biotech, Sartorius AG) abgossen und dabei aufgefangen. Das Kochwasser wird auf Raumtemperatur (23°C) abgekühlt, dann eins zu zehn verdünnt, membranfiltriert und anschließend mit der IC-Methode ebenfalls analysiert.

Die gekochten Broccoli-Hälften werden nach fünf Minuten Abkühlung an der Luft in einer Küchenmaschine (Firma: Quigg) zerkleinert, mithilfe von aufgekochtem Reinstwasser in ein 600 ml-Becherglas überführt und für die IC-Messung (s. Kapitel 11, S. 70) aufbereitet.

11.2.1.2 Ergebnisse

Durch die verwendete Kalibrierung des Ionenchromatographen mit den vier Standards (Konzentration von 0,5 mg bis 10,0 mg NO_3^- bzw. NO_2^- / L) wird ein Eichbereich von 5 mg bis 1000 mg NO_3^- bzw. NO_2^- / kg Frischsubstanz für die Nitrat- und Nitritbestimmung ermöglicht. Die Nachweisgrenze liegt bei 0,032 mg NO_3^- bzw. NO_2^- / L.

Aufgrund der Übersichtlichkeit wird aus den ermittelten drei Einzelwerten ein Mittelwert gebildet und die Standardabweichung berechnet. Dieses Vorgehen ist strittig, denn die Anzahl der Messwerte ist zu gering um deren Verteilung zu sehen. Aus diesem Grund wird auch die Bildung eines Vertrauensbereiches als nicht sinnvoll erachtet. Für eine deutliche Aussage sowie statistische Sicherheit werden mindestens fünf Einzelmessungen benötigt.

Die in Abb. 29 dargestellten Daten sind Mittelwerte einer Dreifachbestimmung ($n = 3$) und stellen den Nitratgehalt im rohen und gekochten Broccoli im Vergleich dar. Die Mittelwerte sowie die berechneten Standardabweichungen sind in Tabelle 12 aufgelistet.

Tabelle 12: Nitratgehalte im rohen und gekochten Broccoli im Vergleich

Probe	Anzahl der Bestimmungen (n)	Mittelwert (\bar{x}) in mg NO_3^- / kg	Standardabweichung (s) in mg NO_3^- / kg
Broccoli roh	3	244	$\pm 28,21$
Broccoli gekocht	3	166	$\pm 53,36$

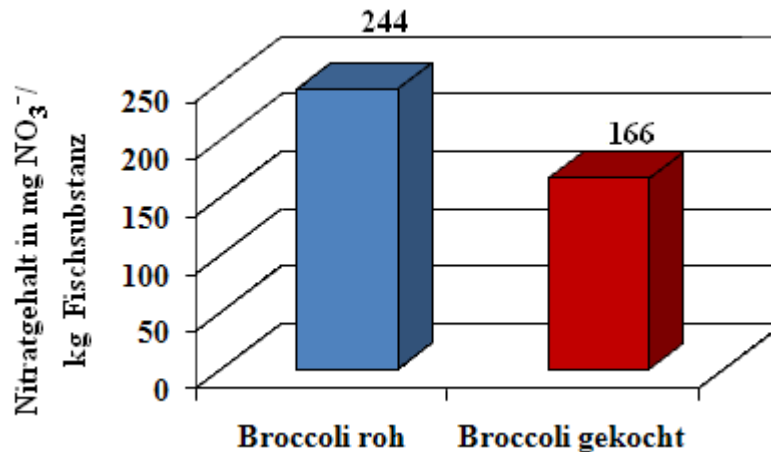


Abb. 29: Nitratgehalte im rohen und gekochten Broccoli im Vergleich

Das Kochwasser weist im Mittel einen Nitratgehalt von 92 mg NO_3^- / L (Standardabweichung: $\pm 30,11$) auf. Bei keiner der Proben ist Nitrit aufgetreten.

11.2.1.3 Erläuterung der Ergebnisse

Die Ergebnisse in Abb. 29 und Tabelle 12 zeigen, dass der Nitratgehalt im Broccoli durch das Kochen reduziert werden kann. Denn der Gehalt im gekochten Broccoli ist im Mittel um 32 % gesunken im Vergleich zum Rohen. Darüber hinaus tritt auch im Kochwasser Nitrat auf, wobei die summierte Menge an Nitrat aus dem Kochwasser und dem gekochten Broccoli ungefähr dem Nitratgehalt der rohen Broccoli-Probe entspricht.

Bei einer der gekochten Proben (Proben-Nr. 2.2) ist nach dem Kochprozess relativ viel Nitrat (224 mg/ kg Frischsubstanz) vorhanden und auch das Kochwasser weist eine relativ hohe Nitratkonzentration (126 mg/ kg Broccoli) auf. Wahrscheinlich hatten die für diese Probe verwendeten Broccoli-Röschen einen höheren Anteil an Rosettenstielen und wiesen somit einen höheren Nitratgehalt auf. Denn durch Vorversuche wurde gezeigt, dass die Rosettenstiele stärker mit Nitrat belastet sind als die Rosetten. Somit kann der Nitratgehalt in der Probe je nach Stielanteil relativ stark variieren. Als Bestätigung können die rohen „Vergleichshälften“ (Proben-Nr. 1.2) herangezogen werden, die ebenfalls den höchsten Nitratgehalt (274 mg/ kg Broccoli) unter den rohen Proben aufweisen.

11.2.2 Vergleich der gekochten und bei unterschiedlichen Bedingungen gelagerten Broccoli

Ziel dieser Untersuchung ist es zu beobachten, ob sich der Nitratgehalt verändert, wenn der gekochte Broccoli bei Raumtemperatur ($20 \pm 1^\circ\text{C}$) bzw. Kühltemperatur ($7 \pm 1^\circ\text{C}$) über Nacht (18 Stunden) gelagert wird. Außerdem soll analysiert werden, ob während der Lagerung Nitrit in höheren Mengen auftritt.

11.2.2.1 Probenvorbereitung

Für diesen Versuch werden die Broccoli-Röschen des zweiten Broccoli-Kopfes vom Strunk abgeschnitten und wie vorher beschrieben gewaschen sowie abgetrocknet.

Die Broccoli-Röschen bestehend aus Rosetten und Rosettenstiel werden ebenfalls halbiert und wie oben beschrieben gekocht.

Nach zwei Minuten Abkühlzeit an der Luft wird das Kochwasser abgossen und die Röschen für weitere fünf Minuten zum Abkühlen stehen gelassen. Danach werden die Bechergläser mit einer Frischhaltefolie abgedeckt und jeweils die einen Broccoli-Hälften (50 – 70 g) im Kühlschrank bei $7 \pm 1^\circ\text{C}$ und die anderen bei Raumtemperatur $20 \pm 1^\circ\text{C}$ über Nacht (18 Stunden) gelagert.

Am nächsten Tag werden die gelagerten Proben in einer Küchenmaschine (Firma: Quigg) auf Stückchengröße von 0,5 cm zerkleinert, mithilfe von aufgekochtem Reinstwasser in ein 600 ml-Becherglas überführt, für die IC-Messung aufbereitet (s. Kapitel 11, S. 70) und untersucht.

11.2.2.2 Ergebnisse

Durch die verwendete Kalibrierung des Ionenchromatographen mit den vier Standards (Konzentration von 0,5 mg bis 10,0 mg NO_3^- bzw. NO_2^- / L) wird ein Eichbereich von 5 mg bis 1000 mg NO_3^- bzw. NO_2^- / kg Frischsubstanz für die Nitrat- und Nitritbestimmung ermöglicht. Die Nachweisgrenze liegt bei 0,032 mg NO_3^- bzw. NO_2^- / L.

Aufgrund der Übersichtlichkeit wird aus den ermittelten drei Einzelwerten ein Mittelwert gebildet und die Standardabweichung berechnet. Dieses Vorgehen ist strittig, denn die Anzahl der Messwerte ist zu gering um deren Verteilung zu sehen. Aus diesem Grund wird

auch die Bildung eines Vertrauensbereiches als nicht sinnvoll erachtet. Für eine deutliche Aussage sowie statistische Sicherheit werden mindestens fünf Einzelmessungen benötigt.

Die in Abb. 30 abgebildeten Daten sind Mittelwerte einer Dreifachbestimmung ($n = 3$) und stellen den Nitratgehalt im gekochten Broccoli, der bei unterschiedlichen Bedingungen (Raumtemperatur $20 \pm 1^\circ\text{C}$ bzw. Kühltemperatur $7 \pm 1^\circ\text{C}$) über Nacht (18 Stunden) gelagert wird, im Vergleich dar. Die Mittelwerte sowie die berechneten Standardabweichungen sind in Tabelle 13 aufgelistet.

Tabelle 13: Nitratgehalte im gekochten und 18 Stunden bei Kühltemperatur (KT) 7°C bzw. Raumtemperatur (RT) 20°C gelagerten Broccoli im Vergleich

Probe	Anzahl der Bestimmungen (n)	Mittelwert (\bar{x}) in $\text{mg NO}_3^-/\text{kg}$	Standardabweichung (s) in $\text{mg NO}_3^-/\text{kg}$
Broccoli gekocht und bei KT gelagert	3	244	$\pm 38,37$
Broccoli gekocht und bei RT gelagert	3	235	$\pm 23,03$

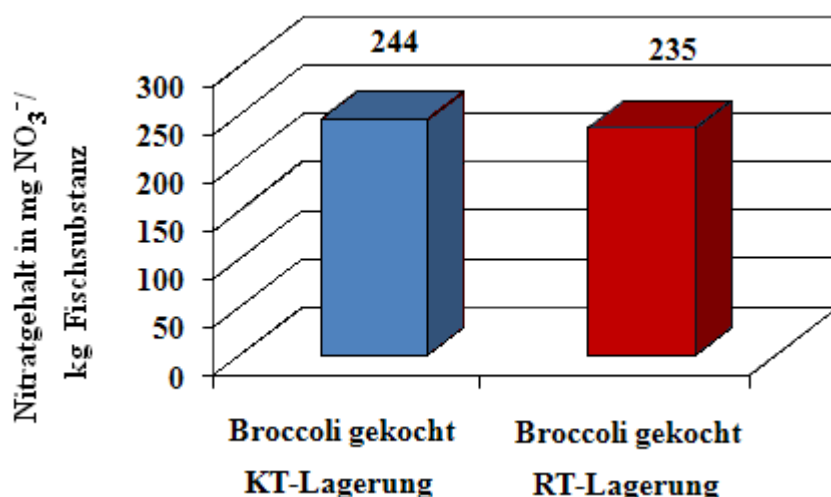


Abb. 30: Nitratgehalte im gekochten und 18 Stunden bei Kühltemperatur (KT) 7°C bzw. Raumtemperatur (RT) 20°C gelagerten Broccoli im Vergleich

In Tabelle 14 wird der Nitritgehalt der gekochten und bei unterschiedlichen Bedingungen gelagerten Broccoli-Proben im Vergleich dargestellt. Die Daten sind ebenfalls Mittelwerte einer Dreifachbestimmung ($n = 3$). Alle Nitritwerte liegen unter den untersten Eichwert von $5 \text{ mg NO}_2^- / \text{kg}$. Nur zwei der bei Raumtemperatur gelagerten Broccoli-Proben liegen knapp über der Nachweisgrenze von $0,032 \text{ mg NO}_2^- / \text{L}$. Aus diesem Grund müssen die Werte vorsichtig betrachtet werden.

Tabelle 14: Nitritgehalt im gekochten und 18 Stunden bei Kühltemperatur (KT) 7°C bzw. Raumtemperatur (RT) 20°C gelagerten Broccoli

Probe	Anzahl der Bestimmungen (n)	Mittelwert (\bar{x}) in $\text{mg NO}_2^- / \text{kg}$	Standardabweichung (s) in $\text{mg NO}_2^- / \text{kg}$
Broccoli gekocht und bei KT gelagert	3	2,15	$\pm 0,28$
Broccoli gekocht und bei RT gelagert	3	2,79	$\pm 0,68$

11.2.1.3 Erläuterung der Ergebnisse

Die gekocht und über Nacht (18 Stunden) bei Raum- bzw. Kühltemperatur gelagerten Broccoli-Proben (Abb. 30 und Tabelle 13) enthalten nach dem Kochprozess relativ viel Nitrat ($235 - 245 \text{ mg NO}_3^- / \text{kg}$ Frischsubstanz) und Nitrit ($1,92 - 3,52 \text{ mg NO}_2^- / \text{kg}$ Frischsubstanz) im Vergleich zu den gekochten Proben in Abb. 29 ($116 \text{ mg NO}_3^- / \text{kg}$ Frischsubstanz, kein Nitrit). Diese Schwankungen können dadurch erklärt werden, dass für diesen Versuch der zweite Broccoli-Kopf verwendet wird, dessen Nitratgehalt im rohen Zustand wahrscheinlich höher gewesen ist.

Die ermittelten Nitratgehalte sind bei beiden Lagertemperaturen relativ ähnlich (4 % Abweichung). Diese Differenz ist wahrscheinlich eine natürlich bedingte Schwankung. Somit kann nicht gesagt werden, inwieweit die Lagertemperatur den Nitratgehalt von gekochten Broccoli beeinflusst.

In den Proben sind auch geringe Konzentrationen an Nitrit ($1,92 - 3,52 \text{ mg NO}_2^- / \text{kg}$ Frischsubstanz) enthalten. Auch diese weisen eine relativ geringe Abweichung (23 %) auf. Außerdem kann laut der Europäischen Kommission (EC, 1997, S. 11) der frische Broccoli einen Nitritgehalt von $2 - 4 \text{ mg} / \text{kg}$ Frischsubstanz enthalten.

Die Diskussion dieser Ergebnisse erfolgt in Kapitel 12.2.2 (S. 104).

11.3 tiefgefrorener Blattspinat

Für die Untersuchung werden zwei 1000 g Gebinde tiefgefrorenen Blattspinat in einem örtlichen Supermarkt gekauft. Der Blattspinat in den Gebinden ist in Portionen von ca. 50 g tiefgefroren worden, dadurch lässt er sich gut für die Versuche teilen.

11.3.1 Vergleich des rohen und gekochten Blattspinats (Tiefkühlprodukt)

Das Ziel dieser Untersuchung ist ähnlich wie beim Broccoli. Es soll herausgefunden werden, welchen Einfluss der Kochprozess auf den Nitratgehalt im tiefgefrorenen Blattspinat hat. Damit die rohen und gekochten Blattspinat-Portionen möglichst vergleichbar sind, wird jeweils eine tiefgefrorene Portion halbiert (Abb. 31) und in je ein Becherglas eingewogen. Die eine Portionshälfte (20 – 25 g) wird roh analysiert, die andere zuerst gekocht und dann analysiert.

Zur Untersuchung werden vier Portionen Blattspinat (zwei Portionen aus dem einen Gebinde und zwei Portionen aus dem Anderen) entnommen und daraus jeweils zwei Portionshälften roh und zwei gekocht analysiert.



Abb. 31: tiefgefrorene Blattspinatportion ganz (links) und geteilt in zwei Hälften (rechts)

11.3.1.1 Probenvorbereitung

Für die Herstellung der rohen Probe wird die tiefgefrorene Blattspinat-Hälfte in einer Küchenmaschine (Firma: Quigg) zerkleinert, mithilfe von aufgekochtem Reinstwasser in ein 600 ml-Becherglas überführt und für die IC-Messung aufbereitet (s. Kapitel 11, S. 70).

Für die Herstellung der gekochten Probe wird die tiefgefrorene Blattspinat-Hälfte in ein 600 ml Becherglas eingewogen, mit einem Esslöffel Reinstwasser vermischt und bei mittlerer Temperatur 20 Minuten erhitzt (Heizplatte: Heidolph MR Hei-Standard, Heidolph). Die reine Kochzeit des Spinats beträgt 10 Minuten. Das Becherglas ist während des Kochens mit einem Uhrglas abgedeckt, dadurch wird eine haushaltsübliche Zubereitung in einen Kochtopf simuliert. Nach dem Kochen wird der Spinat ca. zwei Minuten zum Abkühlen an der Luft stehen gelassen, dann in einer Küchenmaschine (Firma: Quigg) zerkleinert und mithilfe von aufgekochtem Reinstwasser in ein 600 ml-Becherglas überführt. Im Folgenden werden die Proben für die IC-Messung (Kapitel 11, S. 70) aufbereitet und analysiert.

11.3.1.2 Ergebnisse

Durch die verwendete Kalibrierung des Ionenchromatographen mit den vier Standards (Konzentration von 0,5 mg bis 10,0 mg NO_3^- bzw. NO_2^- / L) wird ein Eichbereich von 12 mg bis 2500 mg NO_3^- bzw. NO_2^- / kg Frischsubstanz für die Nitrat- und Nitritbestimmung ermöglicht. Die Nachweisgrenze liegt bei 0,032 mg NO_3^- bzw. NO_2^- / L.

Aufgrund der Übersichtlichkeit wird aus den ermittelten vier Einzelwerten ein Mittelwert gebildet und die Standardabweichung berechnet. Dieses Vorgehen ist strittig, denn die Anzahl der Messwerte ist zu gering um deren Verteilung zu sehen. Aus diesem Grund wird auch die Bildung eines Vertrauensbereiches als nicht sinnvoll erachtet. Für eine deutliche Aussage sowie statistische Sicherheit werden mindestens fünf Einzelmessungen benötigt.

Die in Abb. 32 dargestellten Daten sind Mittelwerte aus vier Bestimmungen ($n = 4$) und stellen den Nitratgehalt im rohen und gekochten Blattspinat im Vergleich dar. Die Daten sind aus Doppelbestimmungen von zwei verschiedenen Gebinden tiefgefrorenem Blattspinat zusammengefasst worden. Die berechneten Mittelwerte und deren Standardabweichungen sind in Tabelle 15 aufgelistet.

Tabelle 15: Nitratgehalte im rohen und gekochten Blattspinat (Tiefkühlprodukt) im Vergleich

Probe	Anzahl der Bestimmungen (n)	Mittelwert (\bar{x}) in mg NO ₃ ⁻ / kg	Standardabweichung (s) in mg NO ₃ ⁻ / kg
Blattspinat roh	4	1014	± 87,56
Blattspinat gekocht	4	980	± 101,62

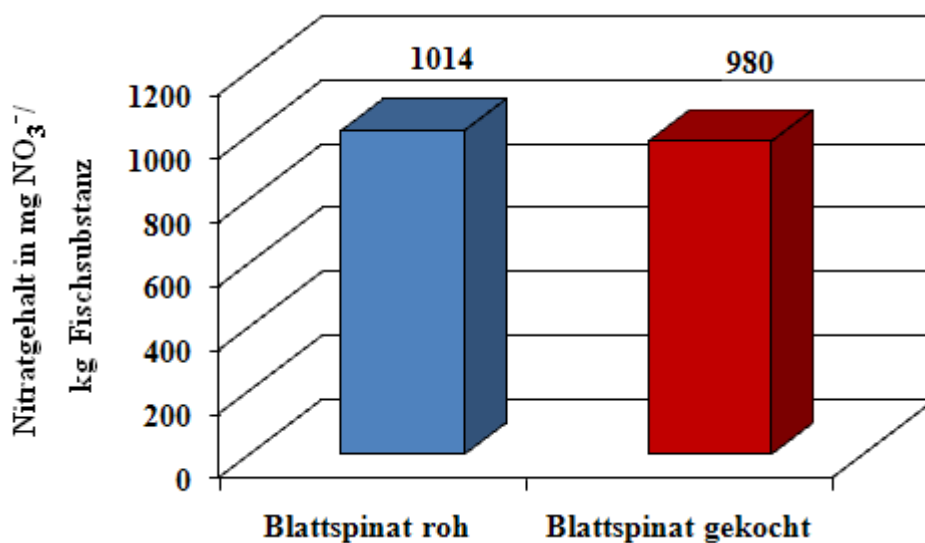


Abb. 32: Nitratgehalte im rohen und gekochten Blattspinat (Tiefkühlprodukt) im Vergleich

Bei zwei der vier untersuchten rohen Blattspinatproben ist ein kleiner Nitritpeak (4,94 mg bzw. 6,89 mg NO₂⁻/ kg Frischsubstanz) gemessen worden. Jedoch liegen diese Werte unter den untersten Eichwert von 12 mg NO₂⁻/ kg und fallen auch unter die Nachweisgrenze von 0,032 mg NO₂⁻/ L. Somit werden diese Werte nicht weiter ausgewertet.

In den gekochten Proben wird kein Nitrit nachgewiesen.

11.3.1.3 Erläuterung der Ergebnisse

Die Ergebnisse der rohen und gekochten Blattspinat-Proben (Abb. 32 und Tabelle 15) zeigen, dass durch den Kochprozess nur eine sehr geringe Reduktion (3,35 %) des Nitratgehaltes bei tiefgefrorenem Blattspinat stattfindet. Diese Differenz könnte auch eine

natürliche Schwankung sein, denn durch Vorversuche wurde gezeigt, dass der Nitratgehalt innerhalb einer tiefgefrorenen Blattspinat-Portion um 10 % schwanken kann.

Der Grund für diese geringe Nitratreduktion im Vergleich zum Broccoli ist wahrscheinlich, dass beim Tiefkühlprodukt nur wenig Wasser (ein Esslöffel) bei der Zubereitung zugegeben wird und dieses dann im Produkt verbleibt. Somit wird das Nitrat aus dem verzehrfertigen Blattspinat nicht entfernt.

Anhand der Standardabweichung kann gesehen werden, dass die Nitratgehalte der Proben untereinander relativ stark schwanken und somit keine deutliche Aussage möglich ist.

Die Diskussion dieser Ergebnisse erfolgt in Kapitel 12.3.1 (S. 105).

11.3.2 Vergleich der gekochten und bei unterschiedlichen Bedingungen gelagerten Blattspinats (Tiefkühlprodukt)

Ziel dieser Untersuchung ist es zu beobachten, ob sich der Nitratgehalt verändert, wenn der gekochte Blattspinat bei Raumtemperatur ($20 \pm 1^\circ\text{C}$) bzw. Kühltemperatur ($7 \pm 1^\circ\text{C}$) über Nacht (18 Stunden) gelagert wird. Außerdem soll analysiert werden, ob während der Lagerung Nitrit in höheren Mengen auftritt.

Denn einige Quellen (Phillips, 1971, S. 224; Weiß, 2008 a, S. 239) beschreiben, dass zubereiteter Spinat nach einer Lagerung erhöhte Nitratkonzentrationen aufweist. Deshalb wurde die Empfehlung abgeleitet, nitratreiche Lebensmittel zeitnah zu verzehren sowie im Kühlschrank und nicht bei Raumtemperatur zu lagern. Denn besonders bei Raumtemperatur können Mikroorganismen das vorhandene Nitrat schnell in Nitrit umwandeln. Um diesen Sachverhalt zu prüfen, wird der oben beschriebene Versuch durchgeführt.

11.3.2.1 Probenvorbereitung

Für die Untersuchung werden ebenfalls vier Portionen Blattspinat (zwei Portionen aus dem einen Gebinde und zwei Portionen aus dem Anderen) jeweils halbiert und wie oben beschrieben gekocht.

Nach kurzer Abkühlung von ca. fünf Minuten an der Luft werden die Bechergläser mit einer Frischhaltefolie abgedeckt. Dann wird jeweils eine Hälfte des gekochten Blattspinats

im Kühlschrank bei $7 \pm 1^\circ\text{C}$ und die andere bei Raumtemperatur $20 \pm 1^\circ\text{C}$ über Nacht (18 Stunden) gelagert.

Am nächsten Tag werden die gelagerten Proben in einer Küchenmaschine (Firma: Quigg) zerkleinert, mithilfe von aufgekochtem Reinstwasser in ein 600 ml-Becherglas überführt, für die IC-Messung aufbereitet (s. Kapitel 11, S. 70) und untersucht.

11.3.2.2 Ergebnisse

Durch die verwendete Kalibrierung des Ionenchromatographen mit den vier Standards (Konzentration von 0,5 mg bis 10,0 mg NO_3^- bzw. NO_2^-/L) wird ein Eichbereich von 12 mg bis 2500 mg NO_3^- bzw. NO_2^-/kg Frischsubstanz für die Nitrat- und Nitritbestimmung ermöglicht. Die Nachweisgrenze liegt bei $0,032 \text{ mg NO}_3^-$ bzw. NO_2^-/L .

Aufgrund der Übersichtlichkeit wird aus den ermittelten zwei Einzelwerten ein Mittelwert gebildet und die Standardabweichung berechnet. Dieses Vorgehen ist strittig, denn die Anzahl der Messwerte ist zu gering um deren Verteilung zu sehen. Aus diesem Grund wird auch die Bildung eines Vertrauensbereiches als nicht sinnvoll erachtet. Für eine deutliche Aussage sowie statistische Sicherheit werden mindestens fünf Einzelmessungen benötigt.

Die in Abb. 33 aufgeführten Daten sind Mittelwerte einer Doppelbestimmung ($n = 2$) und stellen den Nitratgehalt im gekochten Blattspinat, der bei unterschiedlichen Lagerbedingungen (Raumtemperatur $20 \pm 1^\circ\text{C}$ bzw. Kühltemperatur $7 \pm 1^\circ\text{C}$) 18 Stunden gelagert wird, im Vergleich dar. Es wird dabei zwischen zwei verschiedenen Gebinden tiefgefrorenem Blattspinat unterschieden, da die Werte zwischen den beiden Gebinden stark schwanken (bis zu 40 %). Auch innerhalb des ersten Gebindes sind bei den zwei gemessenen Proben hohe Schwankungen vorhanden, wie anhand der in Tabelle 16 dargestellten Standardabweichungen gesehen werden kann.

Tabelle 16: Nitratgehalte im gekochten und 18 Stunden bei Kühltemperatur (KT) 7°C bzw. Raumtemperatur (RT) 20°C gelagerten Blattspinat im Vergleich

Gebinde	Probe	Anzahl der Bestimmungen (n)	Mittelwert (\bar{x}) in mg NO ₃ ⁻ / kg	Standardabweichung (s) in mg NO ₃ ⁻ / kg
erstes Gebinde	gekocht und bei KT gelagert	2	656	± 137,18
	gekocht und bei RT gelagert	2	582	± 101,82
zweites Gebinde	gekocht und bei KT gelagert	2	1009	± 37,48
	gekocht und bei RT gelagert	2	1025	± 45,97

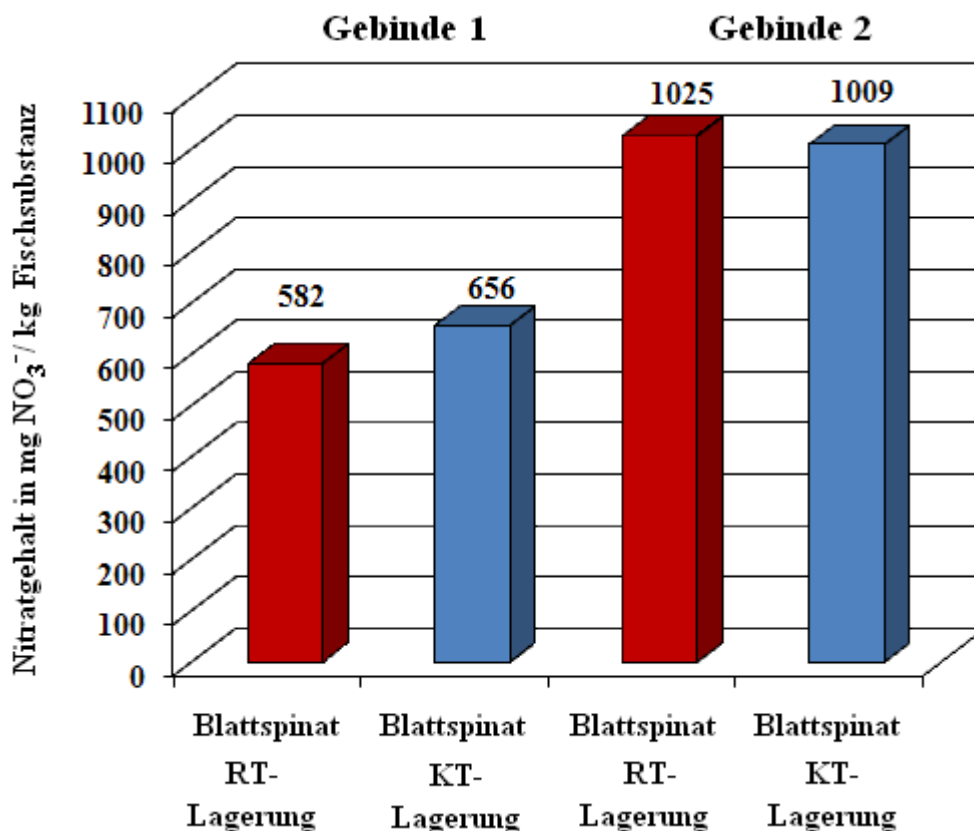


Abb. 33: Nitratgehalte im gekochten und 18 Stunden bei Kühltemperatur (KT) 7°C bzw. Raumtemperatur (RT) 20°C gelagerten Blattspinat im Vergleich

11.3.2.3 Erläuterung der Ergebnisse

Nach einer 18-stündigen Lagerung der gekochten Blattspinatproben bei Raum- bzw. Kühltemperatur ist keine Nitratreduktion nachgewiesen worden (Abb. 33 und Tabelle 16). Die aufgetretenen Schwankungen (um 2 bzw. 5 %) können natürlichen Ursprungs sein, denn innerhalb einer tiefgefrorenen Blattspinat-Portion kann die Nitratkonzentration um bis zu 10 % variieren. Somit kann nicht gesagt werden, inwieweit die Lagertemperatur den Nitratgehalt vom gekochten Blattspinat beeinflusst.

Die Diskussion der Ergebnisse erfolgt in Kapitel 12.3.2 (S. 106).

Auffallend an den ermittelten Ergebnissen ist, dass bei den gekocht und gelagerten Spinatproben die Nitratwerte aus dem ersten und zweiten Gebinde um bis zu 40 % variieren. Diese Schwankung kann dadurch entstanden sein, dass verschiedene Spinatpflanzen für die Zubereitung der tiefgefrorenen Blattspinat-Portionen verwendet wurden. Denn jede Pflanze kann unterschiedlich viel Nitrat akkumulieren, je nachdem welchen Bedingungen (mehr Sonnenstrahlung, mehr Dünger, enger Pflanzenabstand) sie ausgesetzt wurde.

12. Diskussion

Allgemein ist die Anzahl der analysierten Proben (Eisbergsalat, tiefgefrorener Blattspinat und frischer Broccoli) gering, so dass nur leichte Tendenzen genannt werden können und keine statistisch gesicherte Aussagen. Für repräsentativere Ergebnisse sind mehrere Köpfe Eisbergsalat und Broccoli sowie tiefgefrorene Spinatgebände nötig, die in verschiedenen Supermärkten gekauft und anschließend analysiert werden. Ferner sollte die Probenanzahl aus den jeweiligen pflanzlichen Lebensmitteln erhöht werden.

Außerdem gibt es im Bereich der Nitrat- und Nitritgehalte im Gemüse sehr hohe Schwankungen, da diese von vielen genetischen und umweltbedingten Faktoren sowie den Anbaubedingungen abhängen. Diese Gegebenheit erschwert es eine deutliche Aussage zu machen, da häufig große Schwankungen auftreten.

Des Weiteren ist das Nitrit eine sehr instabile chemische Form und kann leicht in andere Stickstoffformen überführt werden. Dadurch ist das Vorhandensein von Nitrit nur eine Momenterscheinung und kann hohe Varianzen in relativ kurzer Zeit aufweisen, je nach Anzahl an Mikroorganismen sowie den Bedingungen beim Lagern von Gemüse.

12.1 Eisbergsalat

12.1.1 Nitratverteilung in den einzelnen Fraktionen eines Kopfes Eisbergsalat

Wie in Kapitel 11.1.1.2 (S. 74) erwähnt, wurde bei diesem Versuch ein deutliches Nitratgefälle von den Außenblättern des Eisbergsalats über die Blattrippen zu den Innenblättern und dem Salatherz entdeckt.

Diese Tendenzen werden auch in der Literatur angegeben. Zum Beispiel hat Bäcker-Haase (1990, S. 98) ähnliche Ergebnisse im Kopfsalat entdeckt. In der Dissertation wird jedoch noch zwischen den Stängeln von den Außenblättern (mehr Nitrat) und von den Innenblättern (weniger Nitrat) differenziert.

Des Weiteren beschreiben Wiebe *et al.* (1987, S. 136 f.), dass im Kopfsalat die höchsten Nitratgehalte in den Blattrippen der äußeren Blättern enthalten sind. Denn dort verlaufen die meisten Transportgefäße mit Nitrat. Da die Nitratreduktion in den Blättern außerdem an die Energiegewinnung aus der Photosynthese (Sonneneinstrahlung) gekoppelt ist, sind die äußeren Blätter mehr belastet. Denn sie betreiben am stärksten Photosynthese, da sie direkt von der Sonne bestrahlt werden.

Außerdem hängt der Nitratgehalt direkt von dem Blattalter ab, denn junge Blätter zeigen niedrigere Nitratkonzentrationen auf als ältere Blätter (EFSA; 2008; S. 13). Dies liegt daran, dass die jungen Blätter eine hohe Enzymaktivität und eine geringere Nitratzufuhr (niedrigere Transpiration) aufzeigen. Demnach nimmt der Nitratgehalt im Salat von Außen nach Innen ab. Die inneren Blattrippen weisen dabei niedrigere Nitratkonzentrationen auf als die äußeren. Am wenigsten belastet ist das Herzstück des Salats (Wiebe *et al.*, 1987, S. 136 f.).

Der im untersuchten Eisbergsalat entdeckte Nitratgehalt von 464 mg NO_3^- / kg Frischsubstanz hat etwa die Hälfte des von der EFSA (2008, S. 19) ermittelten Mittelwertes für Nitrat (844 mg NO_3^- / kg) in Eisbergsalat.

Jedoch liegt der analysierte Wert innerhalb der gefundenen Schwankung von 210 mg bis 1537 mg NO_3^- / kg Frischsubstanz. Ein Grund für den niedrigen Nitratgehalt könnte das Waschen der Außenblätter vor der Nitratmessung sein, denn das Nitrat ist gut wasserlöslich. Kampe (1984, S. 401) beschreibt in seiner Studie, dass durch Reinigungsvorgänge wie das Waschen des Salats 7 bis 15 % des Nitratgehaltes reduziert werden können (s. Kapitel 7.2.1, S. 51).

Angesichts der Ergebnisse lautet die Schlussfolgerung, dass der Nitratgehalt im Eisberg-salat bis zu 33 % reduziert werden kann, wenn die äußeren zwei bis drei Blätter verworfen werden. Wenn zusätzlich noch die Blattrippen der einzelnen Salatblätter entfernt werden, kann die Nitrataufnahme um weitere 19 % gesenkt werden. Insgesamt kann der Nitratgehalt im vorliegenden Salat um bis zu 52 % reduziert werden. Jedoch müssen diese Prozentangaben mit Vorsicht betrachtet werden, denn sie sind von einem einzigen Salatkopf abgeleitet worden. Bei weiteren Salatköpfen können andere Zusammensetzungen vorliegen, denn der Nitratgehalt unterliegt starken Schwankungen, je nach Sorte, Umwelt- sowie Wachstumsbedingungen.

12.1.2 Lagerversuch Eisbergsalat

Allgemein zeigt sowohl der im Ganzen als auch der zerkleinert bei Kühltemperatur gelagerte Eisbergsalat (Abb. 26 und Tabelle 10) über die gesamte Lagerdauer nur geringe Veränderungen im Nitratgehalt auf. Denn die aufgetretenen Schwankungen könnten auch natürlichen Ursprungs sein. Zwischen den beiden Salatköpfen sind ebenfalls nur geringe Schwankungen vorhanden.

Ähnliche Ergebnisse sind auch in anderen Studien dargestellt (Phillips, 1968, S. 89; Chung *et al.*, 2004, S. 318 ff.). Sie besagen, dass bei der Kühlagerung keine Veränderungen des Nitratgehaltes im Spinat, Chinakohl und der Kronen Wucherblume aufgetreten sind. Auch der Nitritgehalt ist während der Lagerung gering geblieben. Daraus wurde geschlossen, dass die endogene Nitratreduktase im Salat bzw. Gemüse durch kühle Temperaturen inaktiviert wird.

Im Vergleich dazu veränderten sich die Nitratgehalte im untersuchten Eisbergsalat stark während der Lagerung bei Raumtemperatur ($20 \pm 1^\circ\text{C}$) wie in Abb. 27 gezeigt wird. Denn die Nitratgehalte sinken schon nach drei Tagen Lagerung bei beiden Salaten fast vollständig ab. Eine Ausnahme bildet die zerkleinert in der Kunststoffschale sieben Tage gelagerte Probe (E 2 b RT S 3) des zweiten Salat-Kopfes. Denn sie enthält nach der sieben-tägigen Lagerung noch 249 mg Nitrat/ kg Frischsubstanz.

Beim Vergleich dieser Ergebnisse mit der Literatur, fällt auf, dass merkwürdigerweise in keiner der bei Raumtemperatur gelagerten Proben Nitrit in größeren Mengen auftritt,

obwohl der Nitratgehalt stark gesunken ist. Jedoch hat auch Phillips (1968, S. 89) bei der Lagerung von frischem Spinat bei Raumtemperatur in den Sommermonaten keine Nitritakkumulation festgestellt. Als dieser Versuch im Winter wiederholt wurde, ist in den ersten vier Tagen der Nitritgehalt im Spinat etwas angestiegen und in den nächsten vier Lagertagen wieder gesunken. Im Gegensatz dazu ist der Nitratgehalt in beiden Versuchen bis zum vierten Lagertag drastisch gesunken.

Weiter beschreibt Phillips (1971, S. 224), dass unbehandelter frischer Spinat nach einer Lagerung von vier Tagen in einer dunklen Kammer bei Raumtemperatur 30 % weniger Nitrat aufweist und nach acht Tagen kein Nitrat mehr im Spinat nachgewiesen werden konnte. Als Erklärung wird beschrieben, dass während der ersten vier Tagen Lagerung das Nitrat in Nitrit umgewandelt wird und in den nächsten drei Tagen das Nitrit weiter abgebaut wird. Somit sinkt auch die Nitritkonzentration während der weiteren Lagerung ab.

Dieser Effekt ist anscheinend auch bei den untersuchten bei Raumtemperatur gelagerten Eisbergsalat-Proben aufgetreten. Nur dass das entstandene Nitrit wahrscheinlich sehr schnell weiter abgebaut wurde, so dass es nicht nachgewiesen werden konnte.

In der neueren Studie von Chung *et al.* (2004, S. 318 ff.) sind während der Lagerung bei Raumtemperatur die Nitratgehalte in den zwei Spinatsorten und Chinakohl nach drei Tagen signifikant (im Mittel um 87 %) zurückgegangen. Bei der Kronen Wucherblume ist der Nitratgehalt erst nach vier Tagen Lagerung gesunken. Ab den fünften Tag hat sich der Nitratgehalt in allen Salatsorten drastisch reduziert, so dass er nicht mehr nachgewiesen werden konnte. Im analysierten Eisbergsalat ist nach sieben Tagen Lagerung bei Raumtemperatur ebenfalls kaum Nitrat (außer in der Probe E 2 b RT S 3) enthalten.

Weiter wird in der Studie von Chung *et al.* (2004, S. 318 ff.) beschrieben, dass in allen Salatsorten bis zum dritten Lagertag bei Raumtemperatur kaum Nitrit vorhanden ist. Danach steigt der Gehalt jedoch in den zwei Spinatsorten und Chinakohl schlagartig an. Am fünften Tag erreichte die Nitritkonzentration bei allen untersuchten Salatsorten einen Höhepunkt und ist anschließend wieder gesunken. Interessant ist jedoch, dass der Nitritgehalt in der Kronen Wucherblume während der gesamten Lagerung vernachlässigbar klein gewesen ist, nur am fünften Tag ist er etwas angestiegen und dann wieder gesunken.

In dieser Arbeit ist das Ergebnis bei Eisbergsalat ähnlich wie bei der Kronen Wucherblume, jedoch konnte kein Nitrit an den Analysetagen nachgewiesen werden. Ein Grund dafür könnte sein, dass der Salat nicht jeden Tag untersucht wurde, so dass vielleicht am fünften

oder sechsten Tag ein leichter Nitritanstieg stattgefunden hat, dieser jedoch nicht gesehen werden konnte.

Damit genauer gesagt werden kann, was mit dem Stickstoff aus dem reduzierten Nitrat passiert bzw. ob dieser noch im Salat verbleibt, wurde eine Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl durchgeführt. Das Ergebnis in Tabelle 11 zeigt, dass sich der Stickstoffgehalt nach sieben Tagen Lagerung bei Raumtemperatur im Salat sogar etwas erhöht hat. Daraus kann geschlossen werden, dass der Nitrat-Stickstoff zur Bildung von anderen Stickstoffverbindungen abgebaut wurde. Jedoch kann nicht genau gesagt werden, welche Verbindungen daraus entstehen. Zur Klärung dieses Aspektes müssen weitere Forschungen durchgeführt werden. Aufgrund dieser Ergebnisse kann nur gesagt werden, dass der Stickstoff aus dem Nitrat weiterhin im Salat verbleibt.

Zusammenfassend kann man sagen, dass der Nitratgehalt im bei Kühltemperaturen gelagerten Salat nur geringe Veränderungen aufweist. Der bei Raumtemperatur gelagerte Salat zeigt jedoch nach dem dritten Tag einen signifikanten Nitratrückgang. Jedoch ist bei keiner der Proben Nitrit in höheren Mengen aufgetreten. Auch der Stickstoff aus dem reduzierten Nitrat ist während der Lagerung im Salat geblieben. Er ist anscheinend zur Bildung anderer Stickstoffverbindungen benutzt worden.

Aus den ermittelten Ergebnissen lässt sich schließen, dass frischer Salat am besten im Kühlschrank gelagert und innerhalb von drei Tagen verzehrt werden soll. Denn dabei bleibt der Nitratgehalt relativ gleich und wird nicht zur Bildung anderer Stickstoffverbindungen wie z.B. Nitrit abgebaut.

12.2 Broccoli

12.2.1 Vergleich des rohen und gekochten Broccoli

Die Ergebnisse in Abb. 29 und Tabelle 12 zeigen, dass der Nitratgehalt im Broccoli durch das Kochen im Mittel um 32 % reduziert wurde. Auch in der Literatur wird häufig dargestellt, dass der Nitratgehalt durch Blanchieren von Gemüse gesenkt werden kann (s. auch Kapitel 7.2.3, S. 52). Das Ausmaß der Nitratreduktion ist dabei nicht von der Kochzeit

sondern von der Gemüseart, der verwendeten Wassermenge sowie vom Nitratgehalt des Wassers abhängig (Huarte-Mendicoa *et al.*, 1997, S. 40).

Speziell mit dem Blanchieren von Broccoli haben sich Huarte-Mendicoa *et al.* (1997, S. 41) beschäftigt. Dabei haben sie zwischen tiefgefrorenen und frischen Broccoli unterschieden. Der Nitratgehalt wurde jedoch bei beiden Arten durch das Blanchieren im ähnlichen Verhältnis (22 – 79 % bzw. 24 – 68 %) gesenkt. Es wird darauf hingewiesen, dass, wenn nitratreiches Wasser zum Blanchieren von Gemüse verwendet wird, der Nitratgehalt im verzehrfertigen Broccoli sogar erhöht werden kann. Denn der Broccoli nimmt beim Kochen etwas Wasser auf. Dies wird durch einen erhöhten Feuchtigkeitsgehalt nach dem Kochprozess bewiesen.

Die ermittelten Nitratwerte im rohen Broccoli (229 mg NO₃⁻/ kg) liegen nahe des von der EFSA (2008, S. 17) veröffentlichten Mittelwertes von 209 mg NO₃⁻/ kg Broccoli.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass durch den Kochprozess der Nitratgehalt von Broccoli reduziert werden kann, da das Nitrat sich gut in Wasser lösen und dadurch ins Kochwasser übergehen kann. Wenn jedoch das Kochwasser weiter verwendet wird z.B. für die Herstellung einer Suppe, nimmt der Mensch dieses Nitrat dennoch auf.

Außerdem ist die Nitratreduktion im gekochten Gemüse vom Nitratgehalt des zum Kochen verwendeten Wassers abhängig. Denn der Nitratgehalt im gekochten Broccoli und im Kochwasser weist in dem Versuch ein Gleichgewicht auf. In dieser Arbeit wurde Reinstwasser, das kein Nitrat und Nitrit enthält, zum Kochen verwendet, deshalb sind relativ hohe Nitratverluste aufgetreten. Bei der Verwendung von normalem Wasser zum Kochen könnten andere Ergebnisse erzielt werden.

12.2.2 Vergleich des gekochten und bei unterschiedlichen Bedingungen gelagerten Broccoli

Die gekochten und über Nacht (18 Stunden) bei Raum- bzw. Kühltemperatur gelagerten Broccoli-Proben (Abb. 30 und Tabelle 13) enthalten nach dem Kochprozess relativ viel Nitrat (235 – 245 mg NO₃⁻/ kg Frischsubstanz) und Nitrit (1,92 – 3,52 mg NO₂⁻/ kg Frischsubstanz). Dies liegt wahrscheinlich daran, dass der Nitratgehalt im rohen Zustand höher gewesen ist. Nach der EFSA (2008, S. 17) kann der Nitratgehalt im rohen Broccoli

bis zu 758 mg NO_3^- / kg Frischsubstanz (= 95. Perzentil) betragen. Auch der Nitritgehalt kann nach der Europäischen Kommission um 2 – 4 mg NO_2^- / kg frischen Broccoli (EC, 1997, S. 11) variieren.

Die ermittelten Nitratgehalte sind bei beiden Lagertemperaturen relativ ähnlich (4 % Abweichung). Die geringe Differenz stellt wahrscheinlich natürlich bedingte Schwankungen dar. Somit kann nicht gesagt werden, inwieweit die Lagertemperatur den Nitratgehalt von gekochten Broccoli beeinflusst.

Dabei muss erwähnt werden, dass die Broccoli-Proben bei optimalen Laborbedingungen gekocht und gelagert wurden. Ferner ist der gekochte Broccoli kurz nach dem Kochprozess mit Folie abgedeckt und anschließend gelagert worden, so dass keine Kontamination mit Mikroorganismen stattfinden konnte. Im Haushalt könnten andere Bedingungen vorherrschen und somit auch andere Ergebnisse erzielt werden.

Schlussfolgernd kann man sagen, dass bei der relativ kurzen Lagerdauer und den vorliegenden optimalen Koch- und Lagerbedingungen keine Veränderung im Nitratgehalt beim gekochten Broccoli stattfindet.

Es sind weitere Forschungen nötig um zu sehen, ob der Nitratgehalt sich vielleicht erst nach einer längeren Lagerdauer verändert bzw. ob der Nitratabbau zu Nitrit erst stattfindet, wenn der gekochte Broccoli mit nitratreduzierenden Bakterien kontaminiert wird. Diese Aspekte müssten noch erforscht werden.

12.3 tiefgefrorener Blattspinat

12.3.1 Vergleich des rohen und gekochten Blattspinats (Tiefkühlprodukt)

Nach dem Kochen von tiefgefrorenem Blattspinat ist keine Nitratreduktion aufgetreten (Abb. 32 und Tabelle 15). Dies könnte daran liegen, dass beim Tiefkühlprodukt, anders als beim frischen Blattspinat, nur wenig Wasser (ein Esslöffel) bei der Zubereitung zugegeben wird und dieses dann im Produkt verbleibt.

Beim Blanchieren vom frischen Blattspinat jedoch kann ein Teil des vorhandenen Nitrats in das Kochwasser übergehen und durch das Weggießen des Wassers aus dem Produkt ent-

fernt werden. Dieser Schritt wird meist vor dem Tiefgefrieren des Spinats durchgeführt, dadurch kann der Tiefkühlspinat einen geringeren Nitratgehalt aufweisen als der unbehandelte frische Spinat. Nach Richter *et al.* (1969, S. 2) kann der Nitratgehalt von Spinat durch das Blanchieren um bis zu 50 % gesenkt werden. Jedoch hängt die Reduktion stark vom Anfangsgehalt des Nitrats im Produkt ab.

Auch Kampe (1984, S. 401 f.) hat frischen Spinat vor sowie nach dem Kochen untersucht und einen Nitratrückgang von 14 % durch das Dämpfen festgestellt. Phillips (1968, S. 89) hat im gekochten Spinat 20 – 25 % weniger Nitrat als im frischen entdeckt.

Die vorliegenden Nitratwerte im tiefgefrorenen Blattspinat von 952 – 1058 mg NO_3^- / kg Frischsubstanz liegen nahe dem von der EFSA (2008, S. 19) ermittelten Medianwert für Spinat von 1066 mg NO_3^- / kg Frischsubstanz.

Interessant ist, dass in beiden Blattspinat-Gebinden jeweils eine rohe Portionshälfte Blattspinat auch geringe Mengen an Nitrit (4,94 bzw. 6,89 mg NO_2^- / kg Frischsubstanz) enthält, jedoch in der gekochten Vergleichsprobe kein Nitrit nachgewiesen wurde. Dies kann daran liegen, dass die Nitritverteilung innerhalb der Spinatportion ungleich gewesen ist, so dass das gesamte Nitrit in der rohen Probe vorgelegen hat. Es kann auch sein, dass diese Differenz eine natürliche Schwankung darstellt.

Folglich kann man sagen, dass im gekochten Blattspinat erst ein Nitratrückgang stattfindet, wenn das Nitrat sich in ausreichender Menge an Kochwasser lösen kann und das Wasser anschließend verworfen wird. Wenn nur wenig Wasser bei der Zubereitung verwendet wird und dieses im verzehrfertigen Produkt verbleibt, erfolgt kein Nitratrückgang.

12.3.2 Vergleich des gekochten und bei unterschiedlichen Bedingungen gelagerten Blattspinats (Tiefkühlprodukt)

Nach einer 18-stündigen Lagerung der gekochten Blattspinatproben bei Raum- bzw. Kühltemperatur konnte keine Nitratreduktion nachgewiesen werden (Abb. 33, Tabelle 16). Jedoch ist auch hier wichtig zu erwähnen, dass der Spinat unter optimalen Laborbedingungen gekocht und gelagert wurde. Außerdem ist der gekochte Blattspinat kurz nach dem Kochprozess mit Folie abgedeckt und anschließend gelagert worden, d.h. es hat keine Kontamination mit Mikroorganismen stattgefunden.

Wenn der Spinat, wie im Haushalt üblich, z.B. durch einen Löffel mit Speichel kontaminiert wird, könnte das Ergebnis anders ausfallen. Denn der Mensch besitzt im Mund Bakterien, die Nitrat zu Nitrit reduzieren können (s. Kapitel 3.3 S. 29). Diese könnten durch den Speichel auf den Löffel und schließlich in den Behälter mit dem Spinat gelangen. Während der Lagerung könnten die Bakterien dann das Nitrat in Nitrit reduzieren. Die entstehende Menge an Nitrit hängt dabei von der Anzahl an Keimen und der Lagerdauer sowie -temperatur ab. Denn bei warmen Temperaturen können sich Bakterien schneller vermehren als bei Kühltemperatur.

Phillips (1971, S. 224) beschreibt, dass in der Vergangenheit einige Fälle von Methämoglobinämie bei Säuglingen aufgetreten sind, nachdem eine im Haushalt zubereitete Spinatmahlzeit über mehrere Tage gelagert wurde. Die Speise hat dabei keine Veränderungen im Geschmack aufgezeigt, so dass der relativ hohe Nitritgehalt nicht bemerkt werden konnte. Daraus wurde geschlossen, dass bei längerer Lagerung über 48 Stunden in nitratreichen Gemüse das Nitrat zu Nitrit reduziert werden kann. Jedoch hängt dies von vielen Faktoren wie z.B. den anfänglichen Nitratgehalt und der Enzymaktivität der Pflanze, der mikrobielle Kontamination sowie der vorherrschenden Bedingungen bei der Lagerung (Raum- oder Kühltemperatur, aerob oder anaerob) ab.

Als Schlussfolgerung kann man sagen, dass bei der relativ kurzen Lagerdauer und den vorliegenden optimalen Koch- und Lagerbedingungen beim gekochten Blattspinat keine Veränderungen im Nitratgehalt nachgewiesen werden konnten.

Es sind weitere Forschungen nötig, um zu sehen, ob der Nitratgehalt sich vielleicht erst nach einer längeren Lagerdauer verändert. Bzw. um zu erforschen ob der Nitratabbau zu Nitrit erst stattfindet, wenn der gekochte Blattspinat mit nitratreduzierenden Bakterien kontaminiert wird.

13. Fazit

Die ermittelten Ergebnisse zeigen, dass der Nitratgehalt innerhalb eines Salatkopfes je nach Fraktion unterschiedlich ist. Dabei sind die Außenblätter am stärksten und das Salatherz am wenigsten mit Nitrat belastet. Die Blattrippen sind ebenfalls sehr nitrathaltig. Somit kann der Nitratgehalt im Salat reduziert werden, wenn der Verbraucher die äußeren Salatblätter sowie dicken Blattrippen vor dem Verzehr entfernt. Darüber hinaus kann das Waschen des Salats die Nitratkonzentration ebenfalls senken. Jedoch können dabei auch wichtige wasserlösliche Vitamine aus dem Salat ausgeschwemmt werden.

Des Weiteren wurde entdeckt, dass während einer Woche Lagerung bei Kühltemperatur der Nitratgehalt nur geringe Veränderungen aufweist. Auch wenn der Salat im geschnittenen Zustand gelagert wird.

Dagegen ist der Nitratgehalt im untersuchten Salat während der Lagerung bei Raumtemperatur schon nach drei Tagen stark gesunken. Während der weiteren Lagerdauer ist die Nitratkonzentration weiter gesunken, bis kaum Nitrat in den Proben nachgewiesen werden konnte. Der Nitritgehalt ist bei diesen Proben nicht angestiegen, nur in zwei Proben sind geringe Nitritwerte gefunden worden. Durch eine Stickstoffbestimmung konnte belegt werden, dass der Stickstoff entgegen dem sinkenden Nitratanteil weiterhin im Salat verbleibt. Es wurde sogar eine kleine Erhöhung im Stickstoffgehalt festgestellt, somit ist der Stickstoff während der Lagerung in andere reduzierte Verbindungen umgebaut worden. Welche Stickstoffverbindungen genau auftreten muss dabei noch erforscht werden.

Außerdem konnte eine geringe Tendenz gezeigt werden, dass bei Raumtemperatur unter anaeroben Bedingungen (Plastiktüte mit Wiederverschluss) zerkleinert gelagerter Salat einen höheren Nitratrückgang aufweist als bei aeroben Bedingungen (Kunststoffschale mit undicht verschlossenem Deckel). Jedoch ist die Probenanzahl bei dieser Untersuchung zu gering gewesen um genaue Aussagen treffen zu können.

Weiter konnte mit der Arbeit gezeigt werden, dass Broccoli nach dem Kochprozess einen Nitratrückgang aufweist. Jedoch ist dieser Effekt nach dem Kochen von tiefgefrorenem Blattspinat nicht aufgetreten. Dieser Sachverhalt kann damit erklärt werden, dass beim Kochen von Broccoli eine relativ hohe Menge an Kochwasser verwendet wird, die anschließend abgossen wurde. Das Nitrat ist gut wasserlöslich und geht beim Kochen

solange ins Kochwasser über bis sich ein Nitrat-Gleichgewicht zwischen dem gekochten Gemüse und dem Kochwasser einstellt. Dadurch ist die Nitratreduktion von der Kochwassermenge und dem Nitratgehalt des Wassers abhängig. Beim Spinat wird nur wenig Wasser zugegeben, das weiterhin im Produkt verbleibt, deshalb kommt es nicht zum Nitratrückgang.

Schließlich konnte bei der Untersuchung des gekochten Broccoli bzw. Blattspinats keine Veränderungen der Nitratgehalte während einer 18-stündigen Lagerung entdeckt werden. Auch in Abhängigkeit der Temperatur (Raum- bzw. Kühltemperatur) sind die Nitratwerte gleich geblieben. Jedoch muss erwähnt werden, dass das Gemüse unter optimalen Laborbedingungen gekocht und gelagert wurde, so dass keine Kontamination mit Bakterien stattgefunden hat. Im Haushalt könnten andere Bedingungen vorherrschen und somit andere Ergebnisse erzielt werden. Deshalb sollten nitratreiche Speisen möglichst hygienisch zubereitet und im Kühlschrank gelagert werden.

Zusammenfassung

Nitrat (NO_3^-) ist ein natürlich vorkommender Bestandteil unserer Erde und kommt in unterschiedlichen Mengen im Boden und in den Pflanzen vor. Dabei ist es sowohl in lebenden als auch in verwesenden Pflanzen und Tieren, einschließlich den Menschen, enthalten. Außerdem wird Nitrat auch in der Landwirtschaft als Düngemittel und bei der Lebensmittelherstellung in bestimmten Fleischwaren, Käse- und Fischprodukten als Zusatzstoff eingesetzt.

Einige Pflanzen wie z.B. das Blattgemüse akkumulieren Nitrat in höherem Maße, da sie den Stickstoff zum Wachsen und Aufbau von Eiweiß benötigen. Dabei ist die Nitratakkumulation neben den genetischen noch von vielen umweltbedingten Faktoren abhängig wie z.B. der Saison, Lichtintensität, Temperatur, Wachstumsbedingungen, Düngemiteleinsatz und den Lagerbedingungen des Gemüses.

Der Mensch nimmt das Nitrat hauptsächlich exogen durch Gemüse (besonders durch Blattgemüse), Trinkwasser und andere Lebensmitteln auf, allerdings wird Nitrat im beschränkten Umfang auch endogen im menschlichen Körper gebildet.

Da Nitrat im Körper zu Nitrit umgebaut werden kann, das eine höhere Toxizität aufweist, sollte die Nitrataufnahme nach Aussage des Bundesinstituts für Risikobewertung beschränkt werden. Denn das aus Nitrat entstandene Nitrit kann bei Säuglingen Blausucht (Methämoglobinämie) verursachen sowie sich mit Aminen zu N-Nitrosoverbindungen (wie z.B. Nitrosamine) verbinden. Die Nitrosamine könnten zur Entstehung von einigen Krebsarten beitragen. Aufgrund der möglichen negativen Gesundheitswirkungen hat die Weltgesundheitsorganisation (WHO) eine duldbare tägliche Aufnahmemenge (ADI-Wert) von 0 – 3,7 mg/ kg Körpergewicht für Nitrat und 0 – 0,07 mg/ kg Körpergewicht für Nitrit festgelegt.

Die Festlegung von Höchstmengen für Nitrat und Nitrit in Lebensmitteln sowie eines ADI-Wertes tragen dazu bei, dass viele Wissenschaftler sich mit dem Thema der Nitratreduktion in Gemüse beschäftigen. Daneben werden auch die Einflüsse auf den Nitratgehalt in Gemüse erforscht. In einige Studien wurde entdeckt, dass die Nitrat- und

Nitritgehalte im Gemüse durch die Lagerung und küchentechnische Verarbeitung beeinflusst werden können. Zum Beispiel können Bakterien das im Gemüse enthaltene Nitrat während der Lagerung in Nitrit umbauen, das eine höhere Toxizität aufweist. Daneben kann durch das Waschen von Gemüse oder durch den Kochprozess der Nitrat- und Nitritgehalt gesenkt werden, da die Verbindungen sich gut im Wasser lösen.

In der vorliegenden Arbeit wurde ebenfalls untersucht inwieweit die Lagerung und küchentechnische Verarbeitung den Nitrat- bzw. Nitritgehalt einiger Gemüse- und Salatsorten beeinflussen kann.

Als Methode für die Nitrat- und Nitritbestimmung wurde die Ionenchromatographie (IC) mit Leitfähigkeitsdetektor angewendet. Das Nitrat bzw. Nitrit wurde mithilfe von aufgekochtem Reinstwasser aus den ausgewählten pflanzlichen Lebensmitteln (Eisbergsalat, Broccoli und tiefgefrorener Blattspinat) herausgelöst und mit der IC-Methode gemessen.

Es wurde anhand von Eisbergsalat analysiert, ob der Nitratgehalt innerhalb des Salatkopfes gleich ist oder Unterschiede aufweist. Als Ergebnis kam heraus, dass die äußeren drei Salatblätter den höchsten Nitratgehalt aufweisen, gefolgt von den Blattrippen. Einen deutlich geringeren Nitratgehalt zeigten die Innenblätter und das Salatherz auf. Dieses Ergebnis zeigt, dass durch Verwerfen der Außenblätter der Nitratgehalt eines Eisbergsalats um bis zu 30 % reduziert werden kann.

Weiterhin wurde bei dem Eisbergsalat untersucht inwieweit sich die Nitratgehalte innerhalb sieben Tagen Lagerung bei zwei unterschiedlichen Temperaturen (Raum- und Kühltemperatur) verändern. Sowie ob aus dem enthaltenen Nitrat während der Lagerung Nitrit gebildet wird. Die erhaltenen Ergebnisse besagen, dass bei Kühltemperaturen (7°C) gelagerter Eisbergsalat während der gesamten Lagerdauer nur geringe Änderungen im Nitratgehalt aufweist. Bei Raumtemperatur (20°C) gelagerter Salat zeigte dagegen nach drei Tagen Lagerung einen deutlichen Nitratrückgang auf. Nach sieben Tagen Lagerung war in drei von vier Proben der Nitratgehalt nicht mehr nachweisbar. Ein signifikanter Nitritanstieg während der Lagerung bei Raumtemperatur, wurde in dieser Arbeit an den Analysetagen nicht nachgewiesen. Jedoch konnte gezeigt werden, dass der Stickstoffgehalt des Salats sich bei der Lagerung sogar etwas erhöhte. Somit wurde darauf geschlossen,

dass der Stickstoff aus dem abgebauten Nitrat weiterhin im Salat verbleibt und zur Vermehrung von reduzierten Stickstoffverbindungen dient.

Darüber hinaus wurde anhand von Broccoli und tiefgefrorenen Blattspinat untersucht, inwieweit sich die Nitratgehalte verändern, wenn das Produkt im gekochten Zustand bei Raum- bzw. Kühltemperatur 18 Stunden gelagert wird. Außerdem wurde beobachtet, ob Nitrit in den Proben in höheren Mengen auftritt.

Das Ergebnis der Untersuchungen zeigte, dass sowohl beim gekochten Broccoli als auch beim gekochten Blattspinat nach der Lagerung bei beiden Temperaturbedingungen ähnlich hohe Nitratgehalte vorhanden waren. Auch ein Anstieg von Nitrit wurde während der Lagerung nicht nachgewiesen.

Schließlich wurde ebenfalls anhand von Broccoli und tiefgefrorenen Blattspinat analysiert inwieweit der Kochprozess den Nitratgehalt beeinflussen kann. Beim Broccoli wurde nach dem Kochen eine Nitratreduktion von 30 % im Vergleich zum rohen nachgewiesen.

Im Gegensatz dazu hatte sich der Nitratgehalt vom gekochten Blattspinat im Vergleich zum rohen kaum verändert. Dies lag wahrscheinlich daran, dass beim Spinat nur wenig Wasser zugeführt wurde, das im verzehrfertigen Produkt verblieb. Beim Broccoli wurde eine höhere Wassermenge eingesetzt, die anschließend weggegossen wurde. Dabei konnte das Nitrat aus dem Broccoli in das Kochwasser übergehen und anschließend durch das Weggießen aus dem Produkt entfernt werden.

Abstract

Nitrat (NO_3^-) ist ein natürlich vorkommender Bestandteil pflanzlicher Lebensmittel und kann während der Lagerung durch Bakterien in das toxische Nitrit (NO_2^-) umgewandelt werden.

Ziel dieser Arbeit war es die Veränderungen der Nitrat- und Nitritgehalte in ausgewählten Gemüse- und Salatsorten während der Lagerung und küchentechnischer Verarbeitung zu untersuchen.

Als Methode zur Bestimmung von Nitrat und Nitrit in Gemüse wurde die Ionenchromatographie (IC) mit Leitfähigkeitsdetektor gewählt. Zur Untersuchung wurde frischer Eisbergsalat, frischer Broccoli und tiefgefrorener Blattspinat herangezogen.

Es konnte gezeigt werden, dass die Außenblätter eines Eisbergsalates gefolgt von den Blattrippen am stärksten mit Nitrat belastet sind und das Salatherz am wenigsten.

Weiter wurde entdeckt, dass die Nitratgehalte im bis zu sieben Tagen bei Kühltemperatur gelagerten Eisbergsalat sich kaum veränderten und dass dabei kein Nitrit entstand. Während der Lagerung bei Raumtemperatur kam es im Salat zu einem signifikanten Nitratrückgang, jedoch trat auch hier kein Nitrit in höheren Mengen auf. Dagegen erhöhte sich der Stickstoffgehalt des Salats etwas. Somit wurde geschlossen, dass der Stickstoff des Nitrats während der Lagerung in reduzierte Stickstoffverbindungen umgebaut wurde.

Bei einer 18-stündigen Lagerung von gekochten Broccoli sowie Blattspinat bei Raum- bzw. Kühltemperatur wurden keine Veränderungen im Nitrat- und Nitritgehalt festgestellt. Jedoch wurde entdeckt, dass nach einem Kochprozess mit relativ viel Wasser der Nitratgehalt von Broccoli reduziert wurde. Dagegen blieb der Nitratgehalt nach dem Kochen vom tiefgefrorenen Blattspinat mit wenig Wasser gleich.

Abstract

Nitrate (NO_3^-) is a natural component of vegetables. But during storage in presence of bacteria it can be reduced in the more toxic nitrite (NO_2^-).

The aim of this diploma thesis was to study the changes of nitrate and nitrite levels of selected vegetables during storage and processing. The nitrate and nitrite were determined with ion chromatography by measuring the conductivity.

In this work iceberg lettuce, broccoli and frozen leaf spinach were analyzed.

It was found that the outer leaves of the iceberg lettuce were mostly burdened with nitrite followed by the leaf-veins. The inner leaves showed the lowest nitrate levels.

The nitrate content of the lettuce stored seven days under refrigerated temperature changed scarcely and there was no appearance of nitrite. But during the storage under ambient temperature there was a significant decrease in the nitrate content. Here too the nitrite level was small. However the nitrogen content of the ice lettuce increased slightly after seven days storage under ambient temperature. This means that the nitrogen from the nitrate was used to build other reduced nitrogen compounds.

During 18 hours storage of cooked broccoli and leaf spinach under both refrigerated and ambient temperature showed no effect to the nitrate or nitrite content.

After cooking broccoli in relative large water amount the nitrate content decreased. However cooking frozen leaf spinach in small water amount didn't show this effect, because the water stayed in the product.

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Biochemie der Ammonium- und Nitritoxidation	12
Abb. 2: Reduktion des Nitrats zu Nitrit durch das Enzym Nitratreduktase	13
Abb. 3: Reduktion des Nitrits zu Ammonium durch das Enzym Nitritreduktase.....	13
Abb. 4: Nitratgehalte in verschiedenen Kopfsalatsorten	16
Abb. 5: Nitratgehalte im Salat mit den Einflussfaktoren Saison, Produktion und Region..	19
Abb. 6: Der mittlere Nitratgehalt von verschiedenen Gemüsearten bei unterschiedlichen Anbaumethoden wie Feldbau, Gewächshaus und biologischer Anbau	21
Abb. 7: geschätzte tägliche Nitrataufnahme aus verschiedenen Lebensmitteln in Großbritannien und Frankreich	29
Abb. 8: geschätzte tägliche Nitrataufnahme aus verschiedenen Lebensmitteln in Deutschland	30
Abb. 9: Stoffwechsel von Nitrat und Nitrit im menschlichen Organismus	32
Abb. 10: geschätzte tägliche Nitritaufnahme aus verschiedenen Lebensmitteln in Großbritannien und Frankreich	37
Abb. 11: geschätzte tägliche Nitritaufnahme aus verschiedenen Lebensmitteln in Deutschland	38
Abb. 12: geschätzte totale Nitritexposition aus verschiedenen Lebensmitteln (einschließlich der endogenen Bildung aus Nitrat) in Großbritannien und Frankreich.....	39
Abb. 13: Mögliche Reaktionen von Nitrit im Magen	40
Abb. 14: Umwandlung von Nitrit zu Nitrat mithilfe des Hämoglobins	41
Abb. 15: Die wichtigsten flüchtigen N-Nitrosamine in der Nahrung	44
Abb. 16: Bildung von Nitrosaminen aus Nitrit und sekundären Aminen.....	46
Abb. 17: Einteilung chromatographischer Methoden nach dem Aggregatzustand von stationärer und mobiler Phase	55
Abb. 18: Aufbau einer HPLC- bzw. IC-Anlage mit den wichtigsten Komponenten	58
Abb. 19: Schematischer Aufbau eines Suppressors mit einer quasi-kontinuierlicher Arbeitsweise	60
Abb. 20: Ionenchromatograph Basic IC 792 der Firma Metrohm	64
Abb. 21: Kalibriergerade für Nitrat aus den verwendeten vier Standards über den gesamten Bestimmungszeitraum.....	67

Abb. 22: Kalibriergerade für Nitrit aus den verwendeten vier Standards über den gesamten Bestimmungszeitraum.....	68
Abb. 23: Eisbergsalat aufgeteilt in einzelne Fraktionen	72
Abb. 24: Nitratverteilung innerhalb einzelner Fraktionen in einem Kopf Eisbergsalat	74
Abb. 25: schematische Darstellung vom Aufbau des Lagerversuchs von Eisbergsalat	76
Abb. 26: Nitratgehalte des frischen und zerkleinert bei Kühltemperatur ($7 \pm 1^\circ\text{C}$) gelagerten Eisbergsalates.....	80
Abb. 27: Nitratgehalte des frischen und zerkleinert bei Raumtemperatur ($20 \pm 1^\circ\text{C}$) gelagerten Eisbergsalates.....	81
Abb. 28: ein Broccoli-Röschen halbiert	87
Abb. 29: Nitratgehalte im rohen und gekochten Broccoli im Vergleich.....	89
Abb. 30: Nitratgehalte im gekochten und 18 Stunden bei Kühltemperatur (KT) 7°C bzw. Raumtemperatur (RT) 20°C gelagerten Broccoli im Vergleich.....	91
Abb. 31: tiefgefrorene Blattspinatportion ganz (links) und geteilt in zwei Hälften (rechts)	93
Abb. 32: Nitratgehalte im rohen und gekochten Blattspinat (Tiefkühlprodukt) im Vergleich	95
Abb. 33: Nitratgehalte im gekochten und 18 Stunden bei Kühltemperatur (KT) 7°C bzw. Raumtemperatur (RT) 20°C gelagerten Blattspinat im Vergleich	98

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Nitratgehalte in verschiedenen Gemüsearten	23
Tabelle 2: Höchstgehalte für Nitrat in Gemüse	26
Tabelle 3: Höchstwerte an Nitrat und Nitrit nach Trinkwasserverordnung sowie Mineral- und Tafelwasser-Verordnung	27
Tabelle 4: Höchstmengen für den Zusatz an Nitrat in Lebensmitteln	28
Tabelle 5: Nitritgehalte in einigen Gemüse	35
Tabelle 6: Höchstmengen für den Zusatz an Nitrit in Lebensmitteln	36
Tabelle 7: Herstellung von Standards zur Kalibrierung des Ionenchromatographen	66
Tabelle 8: Die ermittelten Werte für die vier Standards von Nitrat und Nitrit.....	67
Tabelle 9: Nitratgehalte in den einzelnen Fraktionen des Eisbergsalates im Vergleich.....	73
Tabelle 10: Nitratgehalte in den als Ganzes im Kühlschrank bei $7 \pm 1^\circ\text{C}$ gelagerten Salathälften (E 1 a und E 2 a).....	78
Tabelle 11: Mittelwerte der ermittelten Nitrat- und Nitritgehalte sowie des Gesamtstickstoffgehaltes im frischen sowie bei Raumtemperatur 20°C sieben Tage lang gelagerten Eisbergsalat	86
Tabelle 12: Nitratgehalte im rohen und gekochten Broccoli im Vergleich.....	89
Tabelle 13: Nitratgehalte im gekochten und 18 Stunden bei Kühltemperatur (KT) 7°C bzw. Raumtemperatur (RT) 20°C gelagerten Broccoli im Vergleich.....	91
Tabelle 14: Nitritgehalt im gekochten und 18 Stunden bei Kühltemperatur (KT) 7°C bzw. Raumtemperatur (RT) 20°C gelagerten Broccoli.....	92
Tabelle 15: Nitratgehalte im rohen und gekochten Blattspinat (Tiefkühlprodukt) im Vergleich.....	95
Tabelle 16: Nitratgehalte im gekochten und 18 Stunden bei Kühltemperatur (KT) 7°C bzw. Raumtemperatur (RT) 20°C gelagerten Blattspinat im Vergleich	98

Literaturverzeichnis

Amr, A. and Hadidi, N. (2001): Effect of Cultivare and Harvest Date on Nitrate (NO₃) and Nitrite (NO₂) Content of Selected Vegetables Grown Under Open Field and Glashouse Conditions in Jordan; Journal of Food Composition and Analysis, 14, S. 59 – 67

Bäcker-Haase, C. (1990): Vergleich der Qualität „alternativ“ und „konventionell“ erzeugter primärer, pflanzlicher Lebensmittel – speziell Untersuchungen zur Verteilung der Parameter Nitrat und Gesamtzucker; Dissertation; Rheinische Friedrich – Wilhelms – Universität Bonn, 1990

Bayrische Landesanstalt für Landwirtschaft Ernährungswirtschaft (LfL) (Hrsg.) (2008): Agrarmärkte Jahresheft 2008, Teilauszug: Gemüse, 5. Jahrgang, URL: http://www.lfl.bayern.de/iem/agrarmarktpolitik/34606/linkurl_0_7_0_0.pdf (13.07.09)

Bednar, C.M., Kies, C. und Carlson, M. (1991): Nitrate-Nitrite levels in commercially processed and home processed beets and spinach, Plant Foods for Human Nutrition 41, S. 261 – 268

Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL) (Hg.) (2006): Berichte zur Lebensmittelsicherheit 2006, BVL-Reporte, Band 2, Heft 3, URL: http://www.bvl.bund.de/cIn_007/DE/01__Lebensmittel/00__doks__download/05__BUEp__dokumente/archiv/BUEp__Bericht__2006,templateId=raw,property=publicationFile.pdf/BUEp_Bericht_2006.pdf (06.04.09)

Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE) Geschäftsstelle Bundesprogramm ökologischer Landbau (Hrsg.) (2003): Maßnahmen und Ansatzpunkte zur Verbesserung der quantitativen Markinformation bei Öko-Produkten und Möglichkeiten ihrer Konkretisierung
URL: <http://orgprints.org/4557/01/4557-ble-fal-2003-marktinfo.pdf> (13.07.09)

Bundesgesundheitsblatt (2004): Nitrat im Trinkwasser, 47, Springer Medizin Verlag, S. 1018 – 1020, URL: <http://springerlink.com/content/f3b5xp04g3u38vd5/fulltext.pdf> (06.04.09)

Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) (2004 a): Nitrat in Rucola; Stellungnahme vom 8. Dezember 2004, URL: http://www.food-monitor.de/docs/lebensmittelsich/produkte/nitrat_in_rucola.pdf (06.04.09)

Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) (2004 b): Nutzen und Risiken der Jodprophylaxe in Deutschland, Stellungnahme vom 1. Juni 2004; URL: http://www.bfr.bund.de/cm/208/nutzen_und_risiken_der_jodprophylaxe_in_deutschland.pdf (08.05.09)

Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) (2009): Nitrat in Rucola, Spinat und Salat; Stellungnahme vom 06.02.2009; URL: http://www.bfr.bund.de/cm/208/nitrat_in_rucola_spinat_und_salat.pdf (19.08.09)

Bundesverband der Obst-, Gemüse- und Kartoffelverarbeitenden Industrie e. V. (BORG) (Hrsg.) (2008): Jahresbericht 2007/ 2008, URL: <http://www.bogk.de/Presse/BOGK-JB-2008-Screen.pdf> (13.07.09)

Chetty, A. A. and Prasad, S. (2009): Flow injection analysis of nitrate-N determination in root vegetables: Study of the effects of cooking, *Food Chemistry* 116, S. 561 – 566

Chung, J.-C., Chou, S.-S. and Hwang, D.-F. (2004): Changes in nitrate and nitrite content of four vegetables during storage at refrigerated and ambient temperatures, *Food Additives and Contaminants*, 21: 4, S. 317 – 322

Deutsche Gesellschaft für Ernährung e.V. DGE (Hrsg.) (1996): Ernährungsbericht 1996, Kapitel 4: Toxikologische Aspekte der Ernährung; Unterkapitel 4.5: Entstehung toxischer Stoffe in Lebensmitteln bei deren Be- und Verarbeitung, bearbeitet von Wild, D., Frankfurt am Main, S. 142 – 144

Diehl, J.F. (1998): Schadstoffe in Lebensmitteln – Exposition und Risikobewertung heute. Teil II: Nitrat, Nitrit und Nitrosamine, Schlussfolgerungen. *Ernährungs-Umschau* 45, 80 – 85

Eith, C., Kolb, M., Seubert, A. und Viehweger, K. H. (Hrsg.) (2001): Praktikum der Ionenchromatographie Eine Einführung, Herisau, (gedruckt bei Metrohm AG)

European Commission (EC) (Hrsg.); (1997): Opinions of the Scientific Committee for Food on: Nitrates and Nitrite; Reports of the Scientific Committee for Food (thirty-eight series); URL: http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/reports/scf_reports_38.pdf (03.04.09)

European Food Safety Authority (EFSA) (Hrsg.); (2008): Nitrate in vegetables Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food chain; The EFSA Journal 689, S. 1 – 79, URL: http://www.efsa.europa.eu/cs/BlobServer/Scientific_Opinion/contam_ej_689_nitrate_en.pdf (06.04.09)

Ezeagu, E. I. (1996): Nitrate and nitrite contents in *ogi* and the changes occurring during storage, Food Chemistry 56: 1, S. 77 – 79

FAO/ WHO (Food and Agriculture Organization of the United Nations/ World Health Organization); (2003 a): Nitrate (and potential endogenous formation of N-nitroso compounds); WHO Food Additive series 50, Genf: World Health Organization; URL: <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v50je06.htm> (19.08.09)

FAO/ WHO (Food and Agriculture Organization of the United Nations/ World Health Organization); (2003 b): Nitrite (and potential endogenous formation of N-nitroso compounds); WHO Food Additive series 50, Genf: World Health Organization; URL: <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v50je05.htm> (19.08.09)

Huarte-Mendicoa, J. C., Astiasarán, I. and Bello, J. (1997): Nitrate and nitrite levels in fresh and frozen broccoli. Effect of freezing and cooking, Food Chemistry 58: 1 – 2, S. 39 – 42

Kampe, W. (1984): Nitrat- und Nitritzufuhren mit Lebensmitteln und mit dem Gesamtverzehr fester und flüssiger Nahrung; Ernährungs-Umschau 31: 12, S. 400 – 405

McKnight, G. M., Duncan, C. W., Leifert, C. and Golden, M. H. (1999): Review article Dietary nitrate in man: friend or foe?, *British Journal of Nutrition* 81, 349 – 358

Meier-Ploeger, A., Kürbel, P., Vogt, K., Waldeck, K. und Etvile (1984): Untersuchungen zum Nitratgehalt im Trinkwasser und Gemüse sowie Möglichkeiten der Beeinflussung durch eine haushaltsübliche Zubereitung, *Ernährungs-Umschau* 31: 8, S. 282 – 283

Meyer, V. R. (2004): Praxis der Hochleistungs-Flüssigchromatographie, 9. Auflage, Weinheim (Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA), 2004

Phillips, W. E. J. (1968): Changes in the nitrate and nitrite contents of fresh and processed spinach during storage, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 16, S. 88 – 91

Phillips, W. E. J. (1971): Naturally Occurring Nitrate and Nitrite in Foods in Relation to Infant Methaemoglobinaemia, *Food and Cosmetics Toxicology* 9, S. 219 – 228

Rauter, W. und Wolkerstorfer, W. (1982): Nitrat in Gemüse; *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und –Forschung* 175; S. 122 - 124

Richter, E. und Handke, S. (1969): Einfluß des Wasserblanchierens auf den Nitratgehalt von Spinat, Mitteilung aus dem Max-Planck-Institut für Kulturpflanzenzüchtung Hamburg – Volksdorf

Rytel, E., Gołubowska, G., Lisińska, G., Pęksa, A. and Aniołowski, A. (2005): Changes in glycoalkaloid and nitrate contents in potatoes during French fries processing, *Journal of the Science of Food and Agriculture* 85, S. 879 – 882

Schmid, A. (2006): Einfluss von Nitrat und Nitrit aus Fleischerzeugnissen auf die Gesundheit des Menschen; *Ernährungs-Umschau* 53: 12; S 490 – 495

Skript: Praktikum Lebensmittelchemie, Wintersemester 2007/ 2008, Hochschule für Angewandte Wissenschaften, Hamburg, Studiendepartment Ökotrophologie, 2007

Statistisches Bundesamt (Hrsg.) (2005): Gemüseanbau in Deutschland von 2000 bis 2004, bearbeitet von Walsemann, U., Auszug aus *Wirtschaft und Statistik* 5/ 2005, URL: <http://www.destatis.de/jetspeed/portal/cms/Sites/destatis/Internet/DE/Content/Publikationen/Querschnittsveroeffentlichungen/WirtschaftStatistik/LandForstwirtschaft/Gemueseanaubau20002004,property=file.pdf> (14.07.09)

Statistisches Bundesamt (Hrsg.) (2006): Erzeugung und Verbrauch von Nahrungsmitteln, Presseexemplar, bearbeitet von Brand, R. *et al.*, 2006, URL: <http://www.destatis.de/jetspeed/portal/cms/Sites/destatis/Internet/DE/Content/Publikationen/Fachveroeffentlichungen/WirtschaftsrechnungenZeitbudget/ErzeugungVerbrNahrungsmittel,property=file.pdf> (14.07.09)

Warschewske, G. und Friedrich, U. (2009): Bestimmung der Nitratgehalte in gewaschenen und ungewaschenen Salatproben, *Lebensmittelchemie* 63, S. 76

Weiß, C. (2008 a): Nitrat, Nitrit, Nitrosamine; Teil 1: Nitrat und Nitrit; *Ernährungs-Umschau* 55: 4; S. 236 – 240

Weiß, C. (2008 b): Nitrat, Nitrit, Nitrosamine; Teil 2: Nitrosamine; *Ernährungs-Umschau* 55: 5; S. 304 – 307

Wiebe, H.J. und Behr, U. (1987): Nitratverteilung in wichtigen Gemüsearten; *ADI-Verbraucherdienst* 32: 7; S. 134 – 138

Wirth, F. (1990): Salzen und Pökeln von Fliescherzeugnissen; *AID-Verbraucherdienst* 35: 7, S. 135 – 142

Zakosek, H. und Lenz, F. (1993): Nitrat in Boden und Pflanze unter besonderer Berücksichtigung des Gemüsebaus, Stuttgart, (Ulmer Verlag), 1993

Zentrale Erfassungs- und Bewertungsstelle für Umweltchemikalien des Bundesgesundheitsamtes (ZEBS); (1986); Weigert, P.; Müller, J.; Wedler, A. und Klein, H.: Nitrat und Nitrit in Lebensmitteln; Heft 2

Verordnungen:

DIN EN 12014 – 2: 1997 Bestimmung des Nitrat- und/ oder Nitritgehaltes – Teil 2: HPLC/ IC– Verfahren für die Bestimmung des Nitratgehaltes in Gemüse und Gemüseerzeugnissen

Verordnung (EG) Nr. 1881/ 2006 der Kommission zur Festsetzung der Höchstgehalte für bestimmte Kontaminanten in Lebensmitteln; Stand: 19.12.2006

Verordnung über natürliches Mineralwasser, Quellwasser und Tafelwasser (Mineral- und Tafelwasser-Verordnung – Min/ TafelWV; Stand: 1.12.2006

Verordnung über die Qualität von Wasser für den menschlichen Gebrauch (Trinkwasser-Verordnung – TrinkwV 2001); Stand: 31.10.2006

Verordnung über die Zulassung von Zusatzstoffen zu Lebensmitteln zu technologischen Zwecken (Zusatzstoff- Zulassungsverordnung - ZZuLV); Stand: 30.9.2008

Internetquellen:

Biologie-Lexikon, Transpiration; URL: <http://www.biologielexikon.de/startseite.html?Woerterbuch/startwoerterbuch.html~mainFrame> (17.06.09)

Lebensmittel–Lexikon von Prof. Dr. Mechthild Busch–Stockfisch, S. 644, URL: http://books.google.de/books?id=_3qNbZeXMW4C&pg=PA644&dq=kronen+Wucherblume#v=onepage&q=kronen%20Wucherblume&f=false (01.08.09)

Metrohm Basic IC 792 URL:

<http://katalog.metrohm.de/getAttachment.axd?attaName=2d7fb34b-0169-4431-8e3d-dff4c7e5cf7a> (10.07.09)

Metrohm Produkte Metrosep A Supp 4 - 250 URL: http://produkte.metrohm.com/prod-61006430.aspx#ctl00_ctl00__cphContentData__cphContent_PrdtDetail1__prdtDetailIntro__ctl03_DropDown (23.06.09)

MSN Encarta Enzyklopädie, Xylem; URL:

http://de.encarta.msn.com/encyclopedia_761559712/Xylem.html (27.04.09)

MSN Encarta Enzyklopädie, Phloem; URL:

http://de.encarta.msn.com/encyclopedia_761577253/Phloem.html (30.04.09)

Wissen Digital Lexikon, URL: <http://www.wissen-digital.de/lexikon/Pflanzen> (14.06.09)

Eidesstattliche Erklärung

Ich versichere, dass ich die vorliegende Arbeit ohne fremde Hilfe selbstständig verfasst und nur die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt habe. Wörtlich oder dem Sinn nach aus anderen Werken entnommene Stellen sind unter Angabe der Quelle kenntlich gemacht.

Unterschrift

Anhang

A-1	Rohdaten der verwendeten Standards zur Berechnung der Stabilität des Systems..	127
A-2	Rohdaten zur Berechnung der Nachweisgrenze.....	128
A-3	Rohdaten der untersuchten Fraktionen des Eisbergsalats.....	128
A-4	Rohdaten des Lagerversuchs von Eisbergsalat.....	128
A-5	Rohdaten des rohen und gekochten Blattspinats (Tiefkühlprodukt).....	131
A-6	Rohdaten der Kjeldahl-Bestimmung.....	132
A-7	Rohdaten des rohen und gekochten Broccoli.....	133
A-8	Rohdaten des gekochten und bei unterschiedlichen Bedingungen gelagerten Broccoli.....	134
A-9	Rohdaten des gekochten und bei unterschiedlichen Bedingungen gelagerten Blattspinats (Tiefkühlprodukt).....	134

A-1 Rohdaten der verwendeten Standards zur Berechnung der Stabilität des Systems

Nitrat- bzw. Nitritkonzentrationen der jeweiligen Standards in mg/ L:

Standard 1 = 0,5 mg NO₃⁻ bzw. NO₂⁻/ L

Standard 3 = 5,0 mg NO₃⁻ bzw. NO₂⁻/ L

Standard 2 = 1,0 mg NO₃⁻ bzw. NO₂⁻/ L

Standard 4 = 10,0 mg NO₃⁻ bzw. NO₂⁻/ L

Tabelle 17: Einzelmesswerte des Nitrat-Standards

Standard	1	2	3	4
Nitratkonzentrationen (β) in mg/ L	0,481	0,925	4,967	10,078
	0,467	0,956	4,843	10,043
	0,472	0,943	4,949	10,013
	0,447	0,847	5,007	9,996
	0,488	0,970	4,960	10,076
	0,412	0,935	4,918	10,019
	0,464	0,924	4,962	10,037
	0,474	0,949	4,939	10,039
	0,485	0,948	4,953	10,086
	0,440	0,940	4,848	10,026

Tabelle 18: Einzelmesswerte des Nitrit-Standards

Standard	1	2	3	4
Nitritkonzentrationen (β) in mg/ L	0,463	0,932	4,900	10,079
	0,459	0,930	4,855	10,072
	0,457	0,928	4,848	10,067
	0,469	0,929	4,913	10,027
	0,431	0,897	4,807	10,096
	0,456	0,916	4,876	10,058
	0,466	0,920	4,895	10,069
	0,472	0,891	4,902	10,075
	0,468	0,924	4,925	10,065
	0,401	0,924	4,875	10,065

A-2 Rohdaten zur Berechnung der Nachweisgrenze

	Basislinienrauschen		Differenz in $\mu\text{S}/\text{cm}$
	unterster Wert in $\mu\text{S}/\text{cm}$	oberster Wert in $\mu\text{S}/\text{cm}$	
Probe	15,280	15,298	0,018
Probe	15,310	15,327	0,017
Probe	15,286	15,300	0,014
Standard 1	15,229	15,231	0,002
Standard 2	18,148	18,153	0,005

A-3 Rohdaten der untersuchten Fraktionen des Eisbergsalats

Tabelle 19: Ergebnisse der Nitratbestimmung mit der Ionenchromatographie im frischen Eisbergsalat, der in einzelne Salatfraktionen aufgeteilt wurde

	Probe E 3	Einwaage in g auf 500 ml	Konz. (β) NO_3 in mg/ L	NO_3 -Gehalt (w) in mg/ kg
Außenblätter	Probe: 1	20,016	3,090	772
	Probe: 2	20,052	3,075	767
Innenblätter	Probe: 1	20,062	1,564	390
	Probe: 2	20,032	1,679	419
Herz	Probe: 1	20,054	1,220	304
	Probe: 2	20,017	1,220	305
Blattrippen	Probe: 1	20,080	2,327	579
	Probe: 2	20,059	2,348	585

Die Proben sind 1 zu 10 verdünnt worden

A-4 Rohdaten des Lagerversuchs von Eisbergsalat

Tabelle 20: Ergebnisse der Nitrat- und Nitritbestimmung mit der Ionenchromatographie im ersten Kopf Eisbergsalat der als Ganzes (E 1 a) im Kühlschrank bei $7 \pm 1^\circ\text{C}$ in einer Plastiktüte gelagert wurde (Proben sind 1 zu 10 verdünnt worden)

Probe	Einwaage in g auf 500 ml	Konz. (β) NO_3 in mg/ L	NO_3 -Gehalt in mg/ kg	Konz. (β) NO_2 in mg/ L	NO_2 -Gehalt in mg/ kg
frisch E 1 b F	20,074	1,778	443	—	—
nach 4 Tagen E 1 a 2	20,056	1,583	395	—	—
nach 7 Tagen E 1 a 1	20,037	1,782	445	—	—

Tabelle 21: Ergebnisse der Nitrat- und Nitritbestimmung mit der Ionenchromatographie im ersten Kopf Eisbergsalat, der zerkleinert (E 1 b) im Kühlschrank bei $7 \pm 1^\circ\text{C}$ gelagert wurde (Proben sind 1 zu 10 verdünnt worden)

Probe	Einwaage in g auf 500 ml	Konz. NO₃ in mg/ L	NO₃-Gehalt in mg/ kg	Konz. NO₂ in mg/ L	NO₂-Gehalt in mg/ kg
frisch E 1 b F	20,074	1,778	443	—	—
nach 3 Tagen E 1 b KT P 1	20,074	1,776	442	—	—
nach 3 Tagen E 1 b KT S 1	20,057	1,686	420	—	—
nach 4 Tagen E 1 b KT P 2	20,065	1,767	440	—	—
nach 4 Tagen E 1 b KT S 2	20,060	1,598	398	—	—
nach 7 Tagen E 1 b KT P 3	20,108	1,504	374	—	—
nach 7 Tagen E 1 b KT S 3	20,020	1,246	311	—	—

Tabelle 22: Ergebnisse der Nitrat- und Nitritbestimmung mit der Ionenchromatographie im ersten Kopf Eisbergsalat, der zerkleinert (E 1 b) bei Raumtemperatur bei $20 \pm 1^\circ\text{C}$ in einem Karton gelagert wurde (Proben sind unverdünnt analysiert worden)

Probe	Einwaage in g auf 500 ml	Konz. NO₃ in mg/ L	NO₃-Gehalt in mg/ kg	Konz. NO₂ in mg/ L	NO₂-Gehalt in mg/ kg
frisch E 1 b F*	20,074	1,778	443	—	—
nach 3 Tagen E 1 b RT P 1	20,011	1,156	29	—	—
nach 3 Tagen E 1 b RT S 1	20,004	4,993	125	0,023	0,57
nach 4 Tagen E 1 b RT P 2	20,042	0,374	9	—	—
nach 4 Tagen E 1 b RT S 2	20,075	1,048	26	0,028	0,70
nach 7 Tagen E 1 b RT P 3	20,036	n.n.	n.n.	—	—
nach 7 Tagen E 1 b RT S 3	20,000	0,136	3	—	—

* Probe ist 1 zu 10 verdünnt worden.

Tabelle 23: Ergebnisse der Nitrat- und Nitritbestimmung mit der Ionenchromatographie im zweiten Kopf Eisbergsalat, der als Ganzes (E 2 a) im Kühlschrank bei $7 \pm 1^\circ\text{C}$ in einer Plastiktüte gelagert wurde (Proben sind 1 zu 10 verdünnt worden)

Probe	Einwaage in g auf 500 ml	Konz. NO₃ in mg/ L	NO₃-Gehalt in mg/ kg	Konz. NO₂ in mg/ L	NO₂-Gehalt in mg/ kg
frisch E 2 b F	20,078	2,050	511	—	—
nach 4 Tagen E 2 a 2	20,055	1,440	359	—	—
nach 7 Tagen E 2 a 1	20,075	1,586	395	—	—

Tabelle 24: Ergebnisse der Nitrat- und Nitritbestimmung mit der Ionenchromatographie im zweiten Kopf Eisbergsalat, der zerkleinert (E 2 b) im Kühlschrank bei $7 \pm 1^\circ\text{C}$ gelagert wurde (Proben sind 1 zu 10 verdünnt worden)

Probe	Einwaage in g auf 500 ml	Konz. NO₃ in mg/ L	NO₃-Gehalt in mg/ kg	Konz. NO₂ in mg/ L	NO₂-Gehalt in mg/ kg
frisch E 2 b F	20,078	2,050	511	—	—
nach 3 Tagen E 2 b KT P 1	20,020	1,677	419	—	—
nach 3 Tagen E 2 b KT S 1	20,007	1,860	465	—	—
nach 4 Tagen E 2 b KT P 2	20,062	1,766	440	—	—
nach 4 Tagen E 2 b KT S 2	20,030	1,757	439	—	—
nach 7 Tagen E 2 b KT P 3	20,032	1,502	375	—	—
nach 7 Tage E 2 b KT S 3	20,056	1,263	315	—	—

Tabelle 25: Ergebnisse der Nitrat- und Nitritbestimmung mit der Ionenchromatographie im zweiten Kopf Eisbergsalat, der zerkleinert (E 2 b) bei Raumtemperatur bei $20 \pm 1^\circ\text{C}$ in einem Karton gelagert wurde

Probe	Einwaage in g auf 500 ml	Konz. NO_3 in mg/ L	NO_3 -Gehalt in mg/ kg	Konz. NO_2 in mg/ L	NO_2 -Gehalt in mg/ kg
frisch E 2 b F*	20,078	2,050	511	—	—
nach 3 Tagen E 2 b RT P 1	20,023	2,666	67	0,030	0,75
nach 3 Tagen E 2 b RT S 1*	20,015	1,345	336	—	—
nach 4 Tagen E 2 b RT P 2	20,034	1,339	33	—	—
nach 4 Tagen E 2 b RT S 2	20,018	6,280	157	—	—
nach 7 Tagen E 2 b RT P 3	20,050	n.n.	n.n.	—	—
nach 7 Tagen E 2 b RT S 3	20,032	9,963	249	0,045	1,12

* Proben sind 1 zu 10 verdünnt worden. Alle anderen bei Raumtemperatur gelagerten Proben sind unverdünnt analysiert worden.

A-5 Rohdaten des rohen und gekochten Blattspinats (Tiefkühlprodukt)

Tabelle 26: Ergebnisse der Nitrat- und Nitritbestimmung mit der Ionenchromatographie im rohen und gekochten Blattspinat (Tiefkühlprodukt)

	Probe	Einwaage in g auf 500 ml	Konz. NO_3 in mg/ L	NO_3 -Gehalt in mg/ kg	Konz. NO_2 in mg/ L	NO_2 -Gehalt in mg/ kg
erstes Gebinde	roh	26,300	4,755	904	0,026	4,94
	gekocht	24,281	4,063	837	—	—
	roh	18,754	3,891	1037	—	—
	gekocht	22,723	4,846	1066	—	—
zweites Gebinde	roh	23,236	5,182	1115	0,032	6,89
	gekocht	23,257	4,819	1036	—	—
	roh	24,915	4,990	1001	—	—
	gekocht	25,463	4,994	981	—	—

(Proben sind 1 zu 10 verdünnt worden)

A-6 Rohdaten der Kjeldahl-Bestimmung

Tabelle 27: Ergebnisse der Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl im frischen und sieben Tage bei Raumtemperatur $20 \pm 1^\circ\text{C}$ gelagerten Eisbergsalat

Probe Salat	Einwaage in g	HCl- Verbrauch in ml	N-Gehalt in mg/ kg Salat	N-Anteil aus NO_3^- ; NO_2^- in mg/ kg Salat *
frisch 1.1	2,1344	2,5	1444	107
frisch 1.2	2,1064	2,5	1463	109
frisch 1.3	2,1090	2,5	1461	106
Blindwert 1	—	0,3	—	—
gelagert 2.1	3,0926	3,8	1585	1,40
gelagert 2.2	3,0940	4,3	1811	2,03
gelagert 2.3	3,0364	4,6	1984	3,39
Blindwert 2	—	0,3	—	—

* durch die Ionenchromatographie gemessen und anschließend berechnet (s. Tabelle 28)

Tabelle 28: Ergebnisse der Nitrat- und Nitritbestimmung mit der Ionenchromatographie im frischen und sieben Tage bei Raumtemperatur $20 \pm 1^\circ\text{C}$ gelagerten Salat

Probe Salat	Einwaage in g auf 500 ml	Konz. (β) NO_3^- in mg/ L	NO_3^- -Gehalt (w) in mg/ kg	Konz. (β) NO_2^- in mg/ L	NO_2^- -Gehalt (w) in mg/ kg
frisch IC 1.1	20,128	1,901*	472	—	—
frisch IC 1.2	20,032	1,929*	481	—	—
frisch IC 1.3	20,156	1,888*	468	—	—
gelagert IC 2.1	20,045	0,161	4	0,066	1,65
gelagert IC 2.2	20,051	0,343	9	—	—
gelagert IC 2.3	20,027	0,569	14	0,031	0,77

* Proben sind 1 zu 10 verdünnt worden

A-7 Rohdaten des rohen und gekochten Broccoli

Tabelle 29: Ergebnisse der Nitrat- und Nitritbestimmung mit der Ionenchromatographie im rohen und gekochten Broccoli

Probe	Einwaage in g auf 500 ml	Konz. NO ₃ in mg/ L	NO ₃ -Gehalt in mg/ kg	Konz. NO ₂ in mg/ L	NO ₂ -Gehalt in mg/ kg
Broccoli roh	61,260	2,944	240	—	—
Broccoli roh	59,084	3,242	274	—	—
Broccoli roh	60,554	2,643	218	—	—
2.1 Broccoli gekocht	79,979	2,478	155	—	—
2.2 Broccoli gekocht	63,330	2,841	224	—	—
2.3 Broccoli gekocht	56,286	1,344	119	—	—

(Proben sind 1 zu 10 verdünnt worden)

Tabelle 30: Ergebnisse der Nitrat- und Nitritbestimmung mit der Ionenchromatographie im Kochwasser der gekochten Broccoli-Proben (2.1, 2.2 und 2.3)

Probe	Einwaage in g auf 330 ml	Konz. NO ₃ in mg/ L	NO ₃ -Gehalt in mg/ kg	Konz. NO ₂ in mg/ L	NO ₂ -Gehalt in mg/ kg
Kochwasser Probe 2.1	79,979	1,642	68	—	—
Kochwasser Probe 2.2	63,330	2,411	126	—	—
Kochwasser Probe 2.3	56,286	1,419	83	—	—

(Proben sind 1 zu 10 verdünnt worden)

Der Broccoli ist mit 350 ml Reinstwasser aufgesetzt worden, jedoch verdampfte ein Teil während des Kochprozesses, so dass die Kochwassermenge hinterher 330 ml betrug.

A-8 Rohdaten des gekochten und bei unterschiedlichen Bedingungen gelagerten Broccoli

Tabelle 31: Ergebnisse der Nitrat- und Nitritbestimmung mit der Ionenchromatographie im gekochten und bei unterschiedlichen Bedingungen 18 Stunden lang gelagerten Broccoli
Lagerbedingungen: RT = Raumtemperatur und KT = Kühltemperatur

Probe	Einwaage in g auf 500 ml	Konz. NO ₃ in mg/ L	NO ₃ -Gehalt in mg/ kg	Konz. NO ₂ in mg/ L	NO ₂ -Gehalt in mg/ kg
gekocht KT-Lagerung	54,684	2,519	230	0,023	2,10
gekocht KT-Lagerung	50,980	2,931	287	0,025	2,45
gekocht KT-Lagerung	60,909	2,609	214	0,023	1,89
gekocht RT-Lagerung	62,931	3,209	255	0,034	2,70
gekocht RT-Lagerung	71,721	3,007	210	0,031	2,16
gekocht RT-Lagerung	58,477	2,824	241	0,041	3,51

(Proben sind 1 zu 10 verdünnt worden)

A-9 Rohdaten des gekochten und bei unterschiedlichen Bedingungen gelagerten Blattspinats (Tiefkühlprodukt)

Tabelle 32: Ergebnisse der Nitrat- und Nitritbestimmung mit der Ionenchromatographie im gekochten und bei unterschiedlichen Bedingungen 18 Stunden lang gelagerten Blattspinat (Tiefkühlprodukt)

Lagerbedingungen: RT = Raumtemperatur und KT = Kühltemperatur

	Probe	Einwaage in g auf 500 ml	Konz. NO ₃ in mg/ L	NO ₃ -Gehalt in mg/ kg
erstes Gebinde	gekocht RT-Lagerung	20,116	2,631	654
	gekocht KT-Lagerung	30,095	4,532	753
	gekocht RT-Lagerung	31,698	3,234	510
	gekocht KT-Lagerung	20,467	2,290	559
zweites Gebinde	gekocht RT-Lagerung	24,555	4,871	992
	gekocht KT-Lagerung	25,288	4,966	982
	gekocht RT-Lagerung	23,129	4,889	1057
	gekocht KT-Lagerung	24,025	4,974	1035

(Proben sind 1 zu 10 verdünnt worden)