



UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Patricija POLJANŠEK

**POVEZAVA MED KOLIČINO IN OBLIKO DUŠIKA NA  
VSEBNOST OKSALATA PRI ŠPINAČI (*Spinacia  
oleracea* L.)**

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij - 1. stopnja

Ljubljana, 2019

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Patricija POLJANŠEK

**POVEZAVA MED KOLIČINO IN OBLIKO DUŠIKA NA VSEBNOST  
OKSALATA PRI ŠPINAČI (*Spinacia oleracea* L.)**

DIPLOMSKO DELO  
Univerzitetni študij - 1. stopnja

**THE LINK BETWEEN QUANTITY AND FORM OF NITROGEN ON  
OXALATE CONTENT IN SPINACH (*Spinacia oleracea* L.)**

B. SC. THESIS  
Academic Study Programmes

Ljubljana, 2019

Diplomsko delo je zaključek Univerzitetnega študijskega programa prve stopnje Kmetijstvo – agronomija. Delo je bilo opravljeno na Katedri za sadjarstvo, vinogradništvo in vrtnarstvo.

Študijska komisija Oddelka za agronomijo je za mentorja diplomskega dela imenovala doc. dr. Ano Slatnar.

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik: prof. dr. Metka HUDINA  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Član: doc. dr. Ana SLATNAR  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Član: doc. dr. Helena ŠIRCELJ  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Datum zagovora:

## KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Du1
- DK UDK 635.41:631.84:547.461.2(043.2)
- KG špinača, *spinacia oleracea*, oksalati, dušik, gnojenje, vsebnost oksalatov
- AV POLJANŠEK, Patricija
- SA SLATNAR, Ana (mentor)
- KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Univerzitetni študijski program prve stopnje Kmetijstvo - agronomija
- LI 2019
- IN POVEZAVA MED KOLIČINO IN OBLIKO DUŠIKA NA VSEBNOST OKSALATA PRI ŠPINAČI (*Spinacia oleracea* L.)
- TD Diplomsko delo (Univerzitetni študij - 1. stopnja)
- OP VI, 19 str., 4 pregl., 3 sl., 37 vir.
- IJ sl
- JI sl/en
- AI Špinača (*Spinacia oleracea* L.) je splošno znana kot visoko hranljivo živilo zaradi vsebnosti vitaminov in mineralov. Znana je tudi po akumuliranju nitrata in oksalata, ki lahko negativno vplivata na zdravje ljudi. Vsebnost oksalatov v špinači je pogojena z okoljskimi dejavniki, v veliki meri pa nanjo vplivamo tudi z gnojenjem. Gnojenje z dušičnimi gnojili, katera vsebujejo nitratno obliko dušika, bistveno vpliva na povečano vsebnost oksalatov v špinači. Sinteza oksalata je pozitivno povezana z absorpcijo nitrata skozi korenine rastlin in njegovo asimilacijo v listih. Pri asimilaciji nitrata v rastlinah katera poteka v citosolu celic se sprosti hidroksilni ion, poveča se pH vrednost kar poveča akumulacijo oksalata. S povečevanjem koncentracije  $\text{NO}_3^-$  pri gnojenju se linearno povečuje vsebnost oksalatov v špinači. Nitrat lahko deluje kot inhibitor oksidaze oksalne kisline. Gnojenje z dušikom, povečuje tudi vsebnost nitratov. Količina oksalatov ni nujno pozitivno povezana s količino nitratov v špinači. Razlog bi lahko bilo vzdrževanje homeostaze metabolizma.

## KEY WORDS DOCUMENTATION

- ND Du1
- DC UDC 635.41:631.84:547.461.2(043.2)
- CX spinach, spinacia oleracea, oxalates, nitrogen, fertilization, oxalate content
- AU POLJANŠEK, Patricija
- AA SLATNAR, Ana (supervisor)
- PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Agronomy, Academic Study Programme in Agriculture - Agronomy
- PY 2019
- TI CONNECTION BETWEEN QUANTITY AND FORM OF NITROGEN ON OXALATE CONTENT IN SPINACH (*Spinacia oleracea* L.)
- DT B. Sc. Thesis (Academic Study Programmes)
- NO VI, 19 p., 4 tab., 3 fig., 37 ref.
- LA sl
- AL sl/en
- AB Spinach (*Spinacia oleracea* L.) is known for nutritional value. It is good source of vitamins and minerals. However it can accumulate harmful substances such as nitrate and oxalate. Oxalate content in spinach is associated with environmental factors, one of the major is fertilization. Nitrogen fertilizer with nitrate form stimulates oxalate accumulation. Oxalate synthesis is associated with root uptake of nitrate and its assimilation in leaves. Oxalate accumulation is related to OH<sup>-</sup> production caused by nitrate assimilation. Presence of OH<sup>-</sup> ions causes pH increase, which induces formation of oxalate. Increasing concentration of nitrates in solution causes oxalate accumulation. Nitrate can inhibit the oxidase of oxalic acid. N fertilizers increase nitrate assimilation. Oxalate and nitrate correlation is not necessarily positive, probably due to metabolic homeostasis.

## KAZALO VSEBINE

	Str.
KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	III
KEY WORDS DOCUMENTATION	IV
KAZALO VSEBINE	V
KAZALO PREGLEDNIC	VI
KAZALO SLIK	VI
<b>1 UVOD</b>	<b>1</b>
<b>2 ŠPINAČA</b>	<b>1</b>
2.1 ZGODOVINA	1
2.2 BIOLOŠKE ZNAČILNOSTI	2
2.3 RASTNE ZAHTEVE IN PRIDELEK	2
2.4 GNOJENJE	2
<b>3 OKSALATI</b>	<b>2</b>
3.1 SINTEZA OKSALNE KISLINE	3
3.2 METODE ANALIZE OKSALATOV	4
<b>4 OKSALATI V RASTLINAH</b>	<b>4</b>
4.1 KRISTALI KALCIJEVEGA OKSALATA	5
4.2 VLOGA OKSALATOV V RASTLINAH	5
4.3 KAJ VPLIVA NA VSEBNOST OKSALATOV	5
<b>5 OKSALATI V ŠPINAČI</b>	<b>7</b>
<b>6 POVEZAVA DUŠIK IN OKSALAT</b>	<b>8</b>
6.1 VPLIV RAZLIČNIH GNOJIL NA VSEBNOST OKSALATA V ŠPINAČI	8
6.2 VPLIV GNOJENJA Z NITRATI NA POVEČANO VSEBNOST OKSALATA	10
6.3 VPLIV NO <sub>3</sub> /NH <sub>4</sub> RAZMERJA NA VSEBNOST OKSALATA V ŠPINAČI	11
<b>7 METODE ZMANJŠEVANJA KOLIČINE OKSALATOV V ŽIVILIH</b>	<b>13</b>
<b>8 SKLEPI</b>	<b>14</b>
<b>9 VIRI</b>	<b>16</b>

## KAZALO PREGLEDNIC

	Str.
Preglednica 1: Vpliv različnih koncentracij nitrata na biomaso, hitrost absorpcije NO <sub>3</sub> in vsebnost skupnih ter topnih oksalatov. (povprečje ± standardni odklon, n=3) (Liu in sod., 2015).	10
Preglednica 2: Gnojenje špinace z različnimi koncentracijami NO <sub>3</sub> /NH <sub>4</sub> (Lin in sod., 2014).	12
Preglednica 3: Vsebnost oksalatov v užitnih delih špinace, po tretiranju z različnimi koncentracijami NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> in NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> . (povprečje ± standardni odklon, n=4) (Lin in sod., 2014).	12
Preglednica 4: Vpliv različnih metod priprave na zmanjšanje vsebnosti oksalatov v špinaci (Bakr in sod. 1997).	14

## KAZALO SLIK

	Str.
Slika 1: Možne poti sinteze oksalne kisline.	3
Slika 2: Poenostavljen primer povezave sinteze oksalne kisline s sprejemom in asimilacijo nitrata v špinaci (Liu in sod., 2015).	7
Slika 3: Vpliv različnih gnojil na vsebnost oksalatov v listni ploskvi in pecljih špinace - <i>Spinacia oleracea</i> L sort 'Balady' in 'Virofly' (Alessa in sod., 2017).	9

## 1 UVOD

Navadna špinaca (*Spinacia oleracea* L.) ima pomembno vlogo v prehrani ljudi, predvsem zaradi bogate vsebnosti vitaminov, folne kisline, flavonoidov ter mineralov. Hkrati špinaca vsebuje oksalate, ki so v prekomernih količinah lahko škodljivi za ljudi. Oksalat se lahko veže s kalcijem, železom in magnezijem, ter tako zmanjša absorpcijo mineralov v človeškem telesu, ali pa sodeluje pri nastanku ledvičnih kamnov.

Poleg okoljskih dejavnikov in izbire sort, lahko na vsebnost oksalata v veliki meri vplivamo z gnojenjem. Problematično je predvsem gnojenje z dušikom v nitratni obliki. Vsebnost oksalatov v špinaci je pozitivno povezana s količino nitrata, ki ga rastlina absorbira. Prekomerne količine nitratov in oksalatov so nevarne za zdravje ljudi. Mejna vrednost nitratov v sveži špinaci je določena z Uredbo Komisije (EU) št. 1258/2011 in znaša 3500 mg/kg sveže snovi (Uredba komisije ..., 2011). Njihovo določanje in analiza nitratov pa je urejena z Uredbo Komisije (ES) št. 1882/2006 o določitvi metod vzorčenja in analiz za uradni nadzor vsebnosti nitratov v nekaterih živilih (Uredba komisije ..., 2006).

Priporočen dnevni vnos oksalatov s hrano naj ne bi presegal 50-60 mg. Zaužitje 10-15 g oksalatov ima lahko smrtne posledice. Z nadzorovanim gnojenjem lahko uspešno nadzorujemo količino oksalata v špinaci, ter tako pridelamo kvalitetno špinaco brez večjih izgub pridelka.

Namen diplomskega dela je na podlagi obstoječih virov in rezultatov objavljenih raziskav povzeti, kako lahko z gnojenjem (predvsem različnimi oblikami dušika) vplivamo na povečano koncentracijo oksalata in tudi nitrata. Predstavili bomo tudi ali obstaja povezava med količino nitrata in oksalata.

## 2 ŠPINAČA

Navadna špinaca (*Spinacia oleracea* L.) spada v družino ščirovk (Amaranthaceae) kamor uvrščamo tudi blitvo in rdečo peso. Ščirovke razvijejo večje pecljate liste, z različno obliko in obarvanostjo glede na vrsto. Ščirovke, med njimi tudi špinaca, so znane po možnosti akumulacije oksalata, kar vpliva na uporabnost v prehrani (Osvald in Kogoj-Osvald, 2003).

### 2.1 ZGODOVINA

Špinaca izhaja iz jugozahodne Azije. Omenjena je v zapisih iz 7. do 10. stoletja na kitajskem in v arabskih državah. V Evropi se je prvič pojavila okoli leta 1100. Širili so jo Mavri ter križarji, ki so jo raznesli povsod po Evropi. Špinaca je v 16. stoletju začela izpodrivati podobno uporabne rastline, ki so jih tedaj gojili po vrtovih: večinoma lobodo in mangold oz. blitvo. Ime špinaca, izvira iz perzijske besede spanahi (Černe, 1998).



## 2.2 BIOLOŠKE ZNAČILNOSTI

Navadna špinača je enoletna listna zelenjadnica. Prideluje se jo zaradi listov, ki so srednje veliki, delno mesnati. So rahlo podolgovati, suličasti z gladkim ali narezanim robom. Oblika listov se spreminja, glede na posamezno razvojno fazo. Plod špinače je bodičast z dvema ali tremi bodicami, lahko pa je gladek. Običajno je dvodomna rastlina, redko enodomna. Spada v skupino dolgodnevnic, rastlin, ki cvetijo, ko so dnevi daljši od kritične dolžine časa osvetlitve. Dolg dan in visoke temperature pospešijo prehod rastline v generativno fazo razvoja. Steblo zraste 1m v višino. Plod je orešek. S povečano količino dušičnih gnojil, vplivamo na močnejši vegetativni razvoj in kasnejše odganjanje cvetnih stebel (Osvald in Kogoj-Osvald, 2005). Rastlina razvije globoke korenine. Špinača je občutljiva na dolžino dneva. Na rast in razvoj vpliva dolžina dneva-osvetlitve in temperatura pridelovalnega prostora. (Osvald in Kogoj-Osvald, 2003). Je tujeprašna rastlina in vetrocvetka (Černe, 1998).

## 2.3 RASTNE ZAHTEVE IN PRIDELEK

Navadna špinača je toplotno manj zahtevna zelenjadnica. Minimalna temperatura za vznik je 4 °C, brez večje škode pa prenese temperature od -6 do -13 °C. Optimalna temperatura za rast špinače znaša 15 do 18 °C. V ugodnih razmerah seme kali 5 oz. 6 dni, v neugodnih pa kalitev lahko traja tudi do 30 dni. Špinača sejana v spomladanskem času tehnološko dozori v 35 do 60 dneh, v zimskem času pa je pridelovalno obdobje dolgo tudi do 200 dni. Uspešno jo gojimo v zmerno vlažnem podnebjju, kjer ob primerni oskrbi pridelamo do 50 t/ha. Več pridelka dobimo z jesensko setvijo konec avgusta ali v začetku septembra. Špinača najbolje uspeva na globokih rodovitnih tleh s pH vrednostjo med 6,5 in 7,5 (Osvald in Kogoj-Osvald, 2003).

## 2.4 GNOJENJE

Gnojenje navadne špinače je odvisno od zaloge hranil v tleh. Odvzem hranil s pridelkom 25 t/ha znaša 150 kg N/ha, 25 kg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/ha, 200 kg K<sub>2</sub>O/ha in 35 kg MgO/ha. Gnojenje s kalijevim kloridom ima prednost, saj klor zmanjšuje kopičenje nitratov v listih (Lesić in sod., 2004).

## 3 OKSALATI

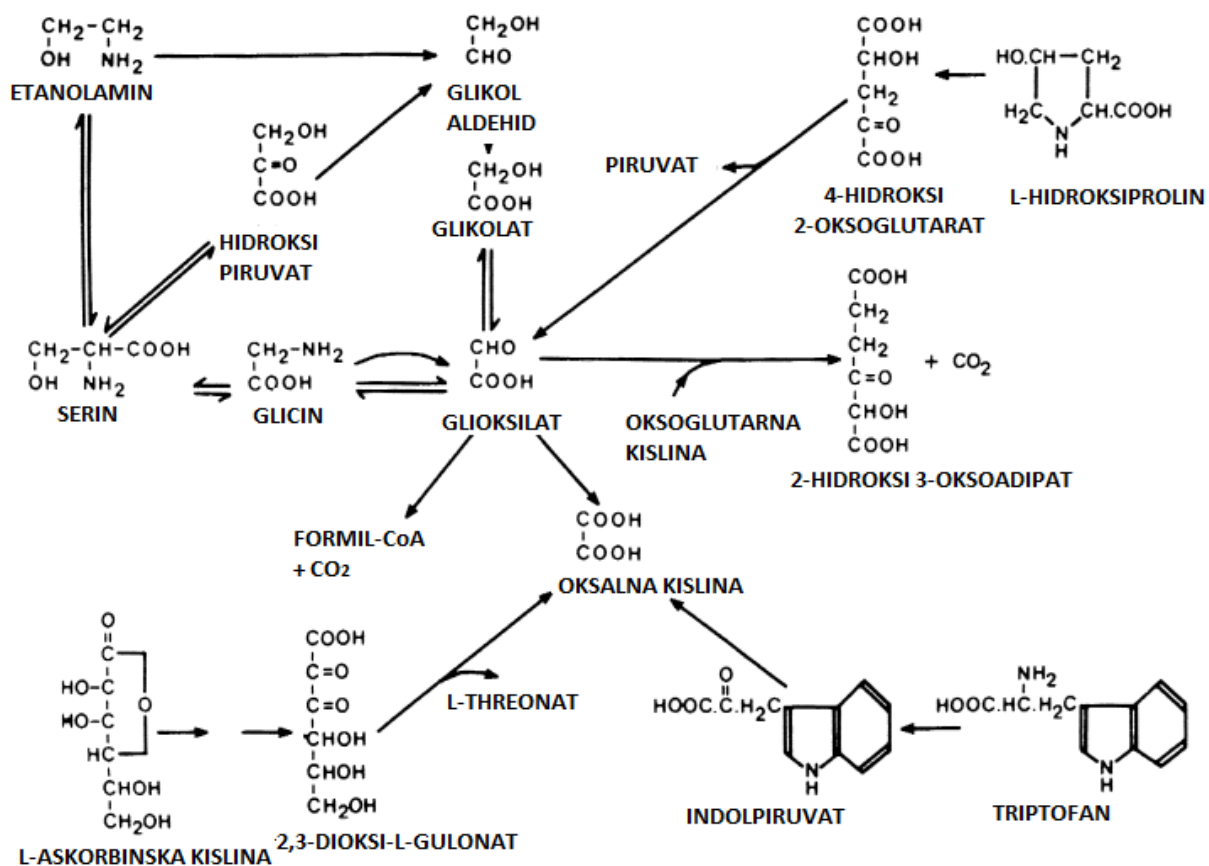
Oksalno kislino (H<sub>2</sub>C<sub>2</sub>O<sub>4</sub>) uvrščamo med organske kisline. Pogosto je obravnavana kot končni produkt metabolizma. V organizmih se lahko pojavlja kot kislina, pogosteje pa kot oksalat, saj tvori topne natrijeve, kalijeve in amonijeve soli. Kislina se lahko veže tudi v netopno obliko s kalcijevimi, železovimi(III) in magnezijevimi ioni. V rastlinah s pH 2 vrednostjo celičnega soka, kot so vrste iz rodov *Oxalis* in *Rumex*, se pojavlja v obliki oksalne kisline. V rastlinah s celičnim sokom vrednosti pH 6 pa je oksalat večinoma v obliki topnega natrijevega oksalata

in netopnega kalcijevega in magnezijevega oksalata. Kalcijev oksalat ( $\text{Ca}(\text{COO})_2$ ) je netopen v nevtralnih in alkalnih raztopinah, topen pa v kislinah (Noonan in Savage, 1999).

### 3.1 SINTEZA OKSALNE KISLINE

Prve raziskave o organskih kislinah so pokazale povezavo nastanka kislin s fotosintezo in presnovo ogljikovih hidratov. Prve raziskave segajo v leto 1947, ko je raziskovalec Meyers opazoval vsebnost oksalata v listih rabarbare. Rastlinam izpostavljenim svetlobi, se je povečevala koncentracija oksalata. Opazna so bila tudi letna nihanja. Ker se je vsebnost kisline povečevala tudi v temi, je prišel do zaključka, da oksalna kislina nastaja iz snovi, ki izvira iz fotosinteze.

Sinteza oksalne kisline lahko poteka po različnih poteh. Kot možni prekurzorji pri nastanku oksalatov v rastlini se štejejo izocitrat, glikolat, oksaloacetat, glioksilat in askorbat. Študije z označenimi sledilci so potrdile da je askorbat glavni prekurzor pri nastanku oksalne kisline. Askorbinska kislina se cepi na oksalno in treonsko kislino. Cepitev se lahko zgodi intercelularno ali ekstracelularno (Kostman in sod., 2001). Encim, ki sodeluje pri cepitvi askorbinske kisline zaenkrat ni znan (Nakata, 2012).



Slika 1: Možne poti sinteze oksalne kisline.

Askorbinska kislina (za živali vitamin C) je najverjetneje glavni substrat pri biosintezi oksalne kisline pri nastanku kalcijevega oksalata (Nakata, 2012). Raziskave o cepitvi askorbinske kisline v notranjosti celic dokazujejo, da se pretvorba askorbinske kisline v oksalno, ter kasneje v kalcijev oksalat zgodi v idioblastih. V mitohondrijih teh idioblastov so odkrili encim potreben za pretvorbo L-galatonolaktone v askorbinsko kislino, kar podpira teorijo o nastanku kisline v idioblastih (Kostman in sod., 2001).

### 3.2 METODE ANALIZE OKSALATOV

Zgodnje analize merjenja oksalatov so temeljile na gravimetričnih metodah. Oksalat so ekstrahirali s pomočjo klorovodikove kisline, pri tem je nastala oborina kalcijeve soli. Analiza je nato potekala s pomočjo plinske kromatografije ali kolorimetrično. Pri tem je prihajalo do napak. Kasneje je bilo dokazano, da pri uporabi kisline z višjo temperaturo, prihaja do merilnih napak zaradi nastajanja dodatnega oksalata. Pri uporabi klorovodikove kisline na sobni temperaturi, nastanka dodatnega oksalata ni opaziti. Metode analize ekstrahirane oksalata, ki so zanesljive so: ionska elektroforeza, kapilarna elektroforeza, tekočinska kromatografija visoke ločljivosti (HPLC), plinska kromatografija ali s pomočjo encima oksalat oksidaza (Massey, 2007). Pri ekstrakcijah oksalatov z vodo, dobimo topne oksalate, med katerimi prevladuje kalijev oksalat. Vsebnost netopnega oksalata se izračuna na podlagi razlike med celotnim ter topnim oksalatom. Izmed netopnih vrst oksalata v rastlinah najpogosteje najdemo kalcijev oksalat (Libert in Franceschi, 1987).

## 4 OKSALATI V RASTLINAH

Oksalat je prisoten v relativno majhnih količinah v veliko vrstah rastlin. Rastline z visoko vsebnostjo oksalata med katere spada veliko poljščin, akumulirajo od 3 do 80 % oksalata glede na celotno suho maso rastline. Najvišje koncentracije oksalata imajo rastline iz družin: Amaranthaceae - ščirovke; Araceae - kačnikovke; Chenopodiaceae - lobodovke; Aizoaceae - ajzovejke; Oxalidaceae - deteljičevke; Polygonaceae - dresnovke in Portulacaceae - tolščakovke (Noonan in Savage, 1999).

Vsebnost oksalatov je lahko različna odvisno od dela rastline. V splošnem je največja koncentracija v listih in semenih, najmanjša pa v steblih rastlin. V raziskavi Francesci iz leta 1983 je bilo ugotovljeno, da je vsebnost oksalatov v vršičkih bambusa do kar trikrat večja kakor v starejših delih rastline. Pri zrnih žit pa je najvišja koncentracija oksalatov v plevah, ki se jih v veliki meri odstrani s postopkom mletja. Tako rafinirana oziroma bela moka vsebuje približno tretjino manj oksalatov kakor polnozrnata (Chai in Liebman, 2005).

#### 4.1 KRISTALI KALCIJEVEGA OKSALATA

Netopen kalcijev oksalat v rastlinah je bil eden izmed prvih objektov, katere je leta 1975 opazoval Leeuwenhoek s svetlobnim mikroskopom. Kristali v rastlinah nastanejo iz oksalne kisline, ki se tvori v rastlini, ter kalcija, ki ga rastlina pridobi iz okolja (Francesci in Nakata, 2005). Kasneje so bili kristali najdeni v najrazličnejših anorganskih snoveh, vse od kamnin in tal ter tudi v živih organizmih. Akumulacija kalcijevega oksalata v tkivih rastlin, je bila odkrita v več kot 215 različnih rastlinskih družinah. Pogosto se kristali ne glede na tkivo v katerem se nahajajo akumulirajo v vakuolah celic imenovanih idioblasti (Horner in Wagner, 1995).

#### 4.2 VLOGA OKSALATOV V RASTLINAH

Kristale oksalatov v rastlinah najdemo v različnih oblikah, velikostih, zastopanosti in prostorski razporeditvi. To je vodilo v hipoteze o funkciji oksalata v rastlinah kot so vloga pri regulaciji kalcija, obrambna funkcija rastline in detoksifikacija težkih kovin. Raziskave so pokazale vlogo oksalata pri regulaciji kalcija v rastlini. V primerih ko je v okolju bila zadostna koncentracija kalcija, se je povečalo število in velikost kristalov kalcijevega oksalata. Pri pomanjkanju kalcija v okolju rastline se je zaradi sproščanja kalcija iz kristalov, zmanjšalo število in velikost le teh (Nakata, 2003).

Različne raziskave so pokazale, da rastline s pomočjo organskih kislin lahko tolerirajo težke kovine. Tako nekatere rastline izkoriščajo oksalat za razstrupitev s težkimi kovinami kot so aluminij, kadmij, svinec in stroncij. V primeru ko se v okolju nahajajo toksične kovine jih rastlina vgradi v kristale oksalatov. V kislih tleh predstavlja velik problem prisotnost aluminija. Že majhne koncentracije lahko inhibirajo rast korenin in tako zmanjšajo sprejem vode in hranil. Poznamo dva mehanizma s katerima si rastline omilijo posledice toksičnosti aluminija. Prvi mehanizem (mehanizem izključitve) omogoča izločanje oksalata skozi korenine v okolje drugi (mehanizem notranje tolerance) deluje na podlagi tvorbe aluminija v netoksično obliko aluminijevega oksalata (Ma in sod., 1998).

Nalaganje kristalov kalcijevega oksalata se v nekaterih rastlinah pojavlja kot obrambni mehanizem pred herbivori. Ward in sod. (1997) so v raziskavi ugotovili, da so gazele pojedle samo vrhove listov puščavskih lilij. Vršički listov so bili edini del rastline ki ni vseboval kristalov. Ruiz in sod. (2002) poročajo da so lilije, ki so rastle na območju največje popasenosti vsebovale več kristalov kakor rastline na manj popasenem območju. Na podlagi tega se lahko predvideva, da je formacija kristalov oksalata odgovor na poškodbe rastlin.

#### 4.3 KAJ VPLIVA NA VSEBNOST OKSALATOV

Na akumulacijo oksalata v rastlinah vplivajo biološki in okoljski dejavniki kot so intenzivnost svetlobnega obsevanja in gnojenje (Zhang in sod. 2005). Na vsebnost oksalata vplivajo tudi

genetske razlike sort. V raziskavi z 78 različnimi sortami rabarbare je vsebnost oksalatov nihala med 3,35 % in 9,48 % suhe teže rastline. Vse rastline so bile gojene na istem polju v istem letu (Libert in Creed., 1985).

Način pridelave po navedbah Koh in sod. (2012) nima pomembnega vpliva na vsebnost oksalatov v navadni špinači. Kaminishi in Kita (2006) navajata variranje količine oksalatov skozi letne čase. Vsebnost oksalatov v 182 sortah špinače je bila v splošnem najvišja v zimskem času in najnižja v jesenskem času. Razlog za višjo koncentracijo oksalatov v navadni špinači v zimskem času je najverjetneje posledica daljšega gojenja. Ker je oksalat eden izmed produktov metabolizma, se koncentracija oksalatov v navadni špinači povečuje s staranjem rastline.

Vpliv svetlobe na vsebnost oksalatov v navadni špinači navajajo tudi Proietti in sod. (2004). Špinača gojena pod manjšo intenziteto svetlobe je vsebovala 25 % več oksalata kakor špinača gojena pod večjo intenziteto. Predvideva se da gojenje pod manjšo intenziteto svetlobe vpliva na zmanjšanje razgradnje oksalata, kar se opazi kot večja količina oksalata v primerjavi z špinačo gojeno pod večjo intenziteto svetlobe. Fotoperioda pri tem nima vpliva.

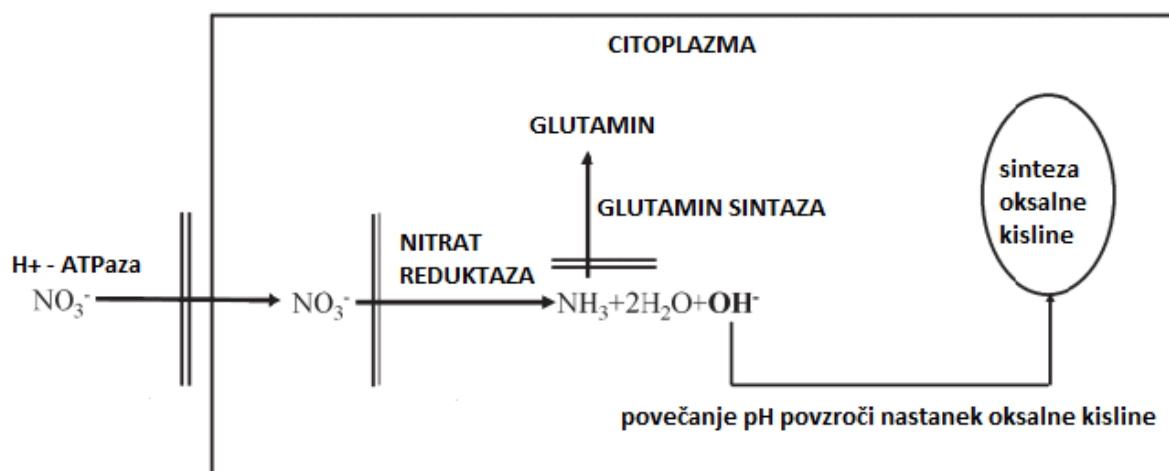
Kawazu in sod. (2003) navajajo, da navadna špinača z nagubanimi listi v splošnem vsebuje manj oksalata, kakor sorte z gladkimi listi. Nižja skupna vsebnost oksalatov v užitnih delih je bila izmerjena tudi v sortah z daljšimi peclji, saj vsebujejo manj oksalata kakor listi. V raziskavi s 184 sortami navadne špinače so ugotovili, da vsebnost oksalatov pri špinači posejani maja varira med 0,76 in 1,52 % sveže snovi. Špinača posejana avgusta je vsebovala 0,84 do 1,80 % oksalatov glede na svežo snov. Špinača je bila posajena v istem letu na istem polju pod zaščitno ponjavo. Pred vsakim sejanjem je bilo gnojeno. Razlika v večji vsebnosti oksalatov pri špinači posejani avgusta bi bila lahko posledica boljše založenosti tal z dušikom. Navadna špinača gojena na z dušikom dobro založenih tleh akumulira več oksalata.

Krežel in Kolota (2010) sta raziskala vpliv gnojenja z amonijevim nitratom, kalcijevim nitratom, amonijevim sulfatom in inhibitorjem nitrifikacije (Entec-26) na vsebnost nitrata. V raziskavi s sedmimi sortami špinače sta ugotovila, da je pri gnojenju z amonijevim nitratom navadna špinača vsebovala največ nitrata (354,02 mg NO<sub>3</sub>/kg sveže mase). Najmanjša vsebnost (275,17 mg NO<sub>3</sub>/kg sveže mase) je bila izmerjena pri gnojenju z amonijevim sulfatom. Gnojenje z dušikom povečuje vsebnost nitrata in oksalata v špinači. Količina oksalatov je po navedbah Koh in sod. (2012) pozitivno povezana s količino nitrata v špinači.

Nasprotno Kaminishi in Kita (2006) navajata negativno povezavo med količino nitrata in oksalata v navadni špinači. Na podlagi raziskave se lahko predvideva, da do negativne povezave pri vsebnosti nitrata in oksalata prihaja zaradi vzdrževanja homeostaze. Do razlik pri raziskavah o povezanosti količine nitrata s količino oksalata po mnenju Koh in sod. (2012)

prihaja zaradi različnih pristopov, slednji so navadno špinaco gojili le en letni čas. V omenjeni raziskavi je gojenje navadne špinace potekalo skozi celotno leto.

Po navedbah Liu in sod. (2015) je akumulacija oksalata v navadni špinaci pozitivno povezana s sprejemom nitrata skozi korenine. Predvideva se da je ena izmed funkcij oksalata nevtralizacija  $\text{OH}^-$ , ki se sprošča med redukcijo nitrata (Tanaka in sod., 2001). Zaradi prostega hidroksidnega iona se poveča pH vrednost, kar poveča akumulacijo oksalata v špinaci (slika 2) (Liu in sod., 2015).



Slika 2: Poenostavljen primer povezave sinteze oksalne kisline s sprejemom in asimilacijo nitrata v špinaci (Liu in sod., 2015).

Nitrat reduktaza in glutamin sintaza imata vlogo pri asimilaciji nitrata v navadni špinaci. Z uporabo inhibitorjev  $\text{H}^+$ -ATPaze, nitrata reduktaze in glutamin sintaze se je zmanjšala asimilacija nitrata v listih špinace, posledično tudi koncentracija oksalatov. Na podlagi tega se lahko predvideva, da je nastanek oksalatov v špinaci povezan z absorpcijo in tudi asimilacijo nitrata (Liu in sod., 2015).

Hkrati se predvideva da prisotnost nitratnega iona  $\text{NO}_3^-$  v navadni špinaci inhibira oksalat oksidazo, kar vpliva na večjo koncentracijo oksalatov (Libert in Franceschi, 1987).

## 5 OKSALATI V ŠPINAČI

Navadna špinaca je dober vir mineralnih snovi ter vitaminov A, B1, B2 in C vendar je hkrati rastlina, ki je znana po akumuliranju oksalatov. Pri večjih vnosih oksalata v telo lahko pride do nastajanja ledvičnih kamnov ter zmanjšanja absorpcije kalcija (Liebman in Doane, 1989). Kopičenje različnih oksalatov v navadni špinaci predstavlja skrb zaradi vpliva na zdravje ljudi. Netopen oksalat vpliva na dostopnost hranil v rastlini in nima učinka na dostopnost hranil v človeškem telesu vendar pa lahko špinaca z visoko vsebnostjo kalcijevega oksalata v

ustih ustvari neprijeten občutek (Noonan in Savage, 1999). Nasprotno lahko topni oksalati vplivajo na zdravje ljudi na vsaj dva načina. Oksalna kislina se namreč poveže z minerali tako, da postanejo netopne soli - oksalati. S tem se zmanjša absorpcija mineralov kar lahko vodi v boleznih pomanjkanja mineralov. Najpogosteje pride do pomanjkanja kalcija, železa, magnezija in bakra. Topni oksalati lahko povečajo možnost nastanka boleznih hiperoksalurija, ki povzroči večjo možnost nastanka ledvičnih kamnov (Nakata, 2003).

Vsebnost oksalatov v navadni špinači po navedbah Koh in sod. (2007) ni bistveno pogojena z načinom pridelave. Pri organski pridelavi dodajamo samo organski vir dušika (na primer gnojenje z kompostom), pri konvencionalni pridelavi pa so vir dušika mineralna gnojila (na primer NPK). V raziskavi je bil uporabljen NPK 20-10-10 ter kompost iz rastlinskih ostankov in konjskih iztrebkov. Stagnari in sod. (2007) navajajo, da gnojenje z oblikami dušika ki niso takoj dostopne rastlini ne vplivajo na akumulacijo oksalatov v rastlini. Nasprotno, dušična gnojila v nitratni obliki korenito povišajo vsebnosti oksalatov v navadni špinači.

Vsebnost oksalatov v navadni špinači po navedbah Santamaria in sod. (1999) varira med 400 in 900 mg/100 g sveže snovi. Noonan in Savage (1999) navajata vsebnosti med 320 in 1260 mg/100 g sveže snovi (SvS). Vsebnost oksalatov je v splošnem višja pri navadni špinači gojeni z manjšo intenziteto svetlobe, ni pa odvisna od fotoperiode (Proietti in sod., 2004).

V špinači prevladujejo topni oksalati nad netopnimi. Topni oksalati, po navedbah Jaworska in Kmiecik (1999) v navadni špinači predstavljajo od 60 do 94 % vseh oksalatov. Podobno navajajo tudi Savage in sod. (2000), kjer so v raziskavi topni oksalati predstavljali 80 % vseh oksalatov.

## **6 POVEZAVA DUŠIK IN OKSALAT**

V splošnem, poznamo 16 elementov, ki so potrebni za rast rastlin. Makrohranila dušik (N), fosfor (P) in kalij (K) so potrebna v relativno velikih količinah. Med slednje uvrščamo tudi Kalcij (Ca), magnezij (Mg) in žveplo (S). Mikrohranila (npr. železo (Fe), mangan (Mn), bor (B)) pa so potrebna v manjših količinah. N, K, Na in Ca lahko sodelujejo pri akumulaciji oksalata v rastlinah (Lin in sod., 2014).

Gnojenje z dušikom je eden ključnih faktorjev pri akumulaciji oksalata v navadni špinači. Opazne so razlike pri gnojenju z različnimi gnojili, ki vsebujejo dušik (Zhang in sod., 2005). Pri gnojenju z dušikom vplivamo tudi na povečano vsebnost nitratov.

### **6.1 VPLIV RAZLIČNIH GNOJIL NA VSEBNOST OKSALATA V ŠPINAČI**

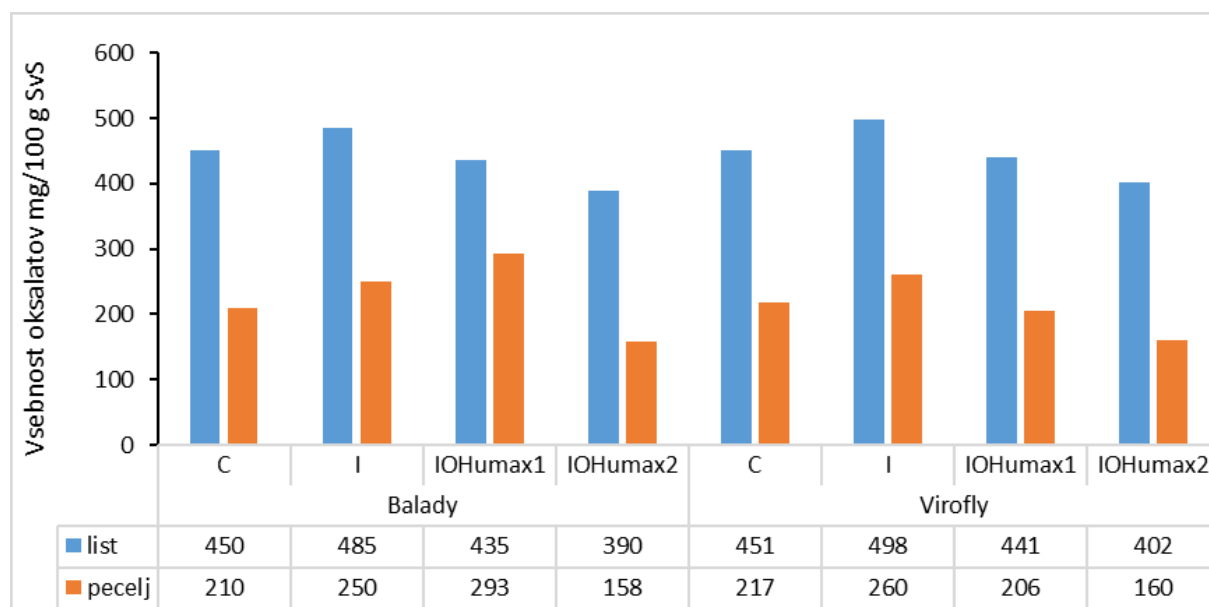
Alessa in sod. (2017) so v raziskavi z dvema sortama navadne špinače (*Spinacia oleracea* L.) raziskali vpliv različnih gnojil na vsebnost oksalatov. Sadike špinače so posadili v plastične

lonce (4L) z mešanico prsti in perlita (1:1). Pri pojavu drugega lista so začeli gnojiti z različnimi gnojili:

- kontrolna obravnava- brez gnojila (C);
- anorganska obravnava z 150 mg/L  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  (I);
- obravnava z 125 mg/L  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  in organskim gnojilom Humax s koncentracijo 2 g/L (IOHumax1);
- obravnava z 100 mg/L  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  in organskim gnojilom Humax s koncentracijo 4 g/L (IOHumax2).

Gnojilo Humax vsebuje huminsko kislino (250 g/L), organsko snov (200-250 g/L), fulvinsko kislino (<20 g/L), aminokislino (<20 g/L), dušik (<50 g/L), fosfor ( $\text{P}_2\text{O}_5$ , <50 g/L), kalij ( $\text{K}_2\text{O}$ , <50 g/L) in elemente v sledih (Mg, Fe, Zn, B 10-15 g/L).

Gnojenje je potekalo z namakanjem 2-krat na teden, spravilo pa je bilo opravljeno po 45 dneh oziroma ko so rastline imele razvitih vsaj 6 pravih listov.



Slika 3: Vpliv različnih gnojil na vsebnost oksalatov v listnih ploskvah in pecljih špinače - *Spinacia oleracea* L sort 'Balady' in 'Virofly' (Alessa in sod., 2017).

Vsebnost oksalatov pri obravnavi z anorganskim gnojilom ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ) se je v primerjavi s kontrolno obravnavo povečala tako v listnih ploskvah kot pecljih. Pri obravnavi IOHumax1 in IOHumax2, pa je bila vsebnost oksalatov manjša. Opazno je bilo zmanjšanje oksalatov v primerjavi s kontrolo in anorgansko obravnavo (I). Zaključek raziskave je bil, da lahko s pravilno izbiro gnojila uravnavamo količino oksalatov v navadni špinači (Alessa in sod., 2017).



Vpliv različnih gnojil na vsebnost oksalata pri špinaci so raziskali tudi Stagnari in sod. (2007). Gnojenje dveh sort navadne špinace ('San Moreno' in 'Virginia') je potekalo z različnimi oblikami dušika.  $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ ,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  ter z gnojilom Agricote. Slednje vsebuje 12% dušika v obliki organske snovi, 3% v mineralni obliki, 5% fosforja in 10% kalija. Gnojenje z  $\text{HN}_4\text{NO}_3$  je pri obeh sortah špinace povzročilo večjo vsebnost oksalata v listnih ploskvah in pecljih špinace, glede na ostala obravnavanja. V splošnem je vsebnost oksalatov bila večja pri sorti 'Virginia', kar potrjuje ostale raziskave o vplivu genetskih razlik na količino oksalata. Pri sorti 'San Moreno' je gnojenje z  $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$  povečalo vsebnosti oksalatov v pecljih, vendar ne tako korenito, kakor pri gnojenju z  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ . Vsebnost oksalatov je bila v splošnem večja v listnih ploskvah. Nasprotno, večja akumulacija nitrata je bila zmerjena v pecljih. Podobno kakor pri oksalatu, se je vsebnost nitratov najbolj intenzivno povečala pri gnojenju z  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ .

Gnojenje z  $\text{NH}_3\text{NO}_3$  je zaradi hitrega sproščanja dušika primerno za gojenje hitro rastočih rastlin, vendar vpliva na večjo vsebnost nitratov. Zaradi nastanka anionov z nitrat reduktazo rastlina začne akumulirati Ca in Mg oksalate (Stagnari in sod., 2007).

## 6.2 VPLIV GNOJENJA Z NITRATI NA POVEČANO VSEBNOST OKSALATA

Nitratna ( $\text{NO}_3^-$ ) gnojila so pogosto uporabljen vir dušika v gnojilih zaradi dobre topnosti, fiziološke nevtralnosti do rahle alkalnosti in majhne toksičnosti (Zhang in sod., 2005). Akumulacija oksalata v rastlinah je povezana z absorpcijo nitrata skozi korenine rastline (Liu in sod., 2015).

V raziskavi Liu in sod. (2015) so z različnimi koncentracijami nitrata v hranilni raztopini dokazali, da je akumulacija nitratov v špinaci povezana z absorpcijo nitrata. Dve sorti špinace 'Heizhenzhu' in 'Weilv' so 24 dni gnojili z nitratom v različnih koncentracijah, nato pa izmerili biomaso rastlin, hitrost absorpcije nitratov in vsebnost oksalatov.

Preglednica 1: Vpliv različnih koncentracij nitrata na biomaso, hitrost absorpcije  $\text{NO}_3$  in vsebnost skupnih ter topnih oksalatov. (povprečje  $\pm$  standardni odklon,  $n=3$ ) (Liu in sod., 2015).

Sorta	Koncentracija nitrata (mmol/L)	Biomasa (g/ rastlino)	Skupna vsebnost oksalatov (mg/g SvS)	Vsebnost topnih oksalatov (mg/g SvS)	Absorpcija nitratov ( $\mu\text{mol/g/h}$ )
'Heizhenzhu'	2	7,68 $\pm$ 0,77	22,07 $\pm$ 0,29	18,17 $\pm$ 0,33	149,88 $\pm$ 9,44
	8	11,20 $\pm$ 0,53	24,05 $\pm$ 0,32	20,41 $\pm$ 0,28	377,19 $\pm$ 16,24
	14	10,97 $\pm$ 0,77	25,57 $\pm$ 0,36	21,47 $\pm$ 0,40	485,37 $\pm$ 31,93
	20	10,80 $\pm$ 0,65	26,77 $\pm$ 0,43	22,87 $\pm$ 0,51	559,92 $\pm$ 18,84
'Weilv'	2	7,38 $\pm$ 0,69	19,68 $\pm$ 0,33	16,57 $\pm$ 0,33	99,78 $\pm$ 16,24
	8	10,87 $\pm$ 0,58	22,20 $\pm$ 0,30	18,90 $\pm$ 0,46	322,61 $\pm$ 17,49
	14	11,13 $\pm$ 0,65	23,45 $\pm$ 0,39	20,30 $\pm$ 0,24	418,29 $\pm$ 18,84
	20	10,09 $\pm$ 0,55	24,32 $\pm$ 0,42	21,55 $\pm$ 0,31	461,82 $\pm$ 17,25

S povečevanjem koncentracije nitrata se je linearno povečevala tudi vsebnost oksalatov v listih špinace pri obeh genotipih. Vsebnost oksalata v špinaci tretirani z 20 mmol/L  $\text{NO}_3^-$ , se je v primerjavi s tretiranjem z 2 mmol/L povečala za 21,28 % oziroma za 23,58 % (preglednica 1). Vsebnost oksalatov pri sorti 'Heizhenzhu', je bila v splošnem malenkost večja, kar lahko pripišemo genetski razliki (Liu in sod., 2015).

S povečevanjem koncentracije nitrata od 2 do 8 mmol/L v gnojilni raztopini se je povečala biomasa rastlin špinace, s povečevanjem do 20 mmol/L pa ni bilo opazno povečanje biomase. S pravilnim gnojenjem lahko uspešno zmanjšamo vsebnost oksalatov brez vpliva na pridelek (Liu in sod., 2015).

Povečevanje količine oksalata pri gnojenju z dušikom je bilo opazno tudi v raziskavi Zhang in sod. (2014). S povečevanjem količine dušikovega gnojila (urea) od 0 kg/ha do 170 kg/ha se je večala količina nitrata in oksalne kisline v listih. Gnojenje je potekalo z namakanjem, največja vsebnost nitrata in oksalne kisline je bila pri gnojenju z 170 kg urea/ha.

Večanje oksalatov in nitrata pri gnojenju so raziskali tudi Stagnari in sod. (2007). Z različnimi količinami dušika (0 kg N/ha, 75 kg N/ha, 150 kg N/ha in 200 kg N/ha) in različnimi gnojili ( $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  in  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ) so gnojili špinaco, ki je rasla na prostem. Vsebnost nitrata se je povečevala z večanjem količine gnojila. Vsebnost oksalatov se je občutno povečala le pri gnojenju s  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  in  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  skladno z večanjem količine dušika.

Nitrat je hitro dostopen rastlini. Gnojenje z gnojili, ki nimajo hitro dostopne oblike dušika za rastlino kot na primer  $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$  in  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  nimajo vpliva na akumulacijo oksalata v špinaci (Stagnari in sod., 2007).

### 6.3 VPLIV $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ RAZMERJA NA VSEBOST OKSALATA V ŠPINACI

Pri gnojenju so poleg nitrata pogosto uporabljena tudi amonijeva ( $\text{NH}_4^+$ ) gnojila. V raziskavi Massey (2007) s hidroponskim gojenjem špinace je bilo ugotovljeno, da lahko z razmerjem med  $\text{NH}_4^+$  in  $\text{NO}_3^-$  zmanjšamo nastanek oksalata v špinaci med rastno sezono. Z večjo koncentracijo  $\text{NH}_4^+$  tako učinkovito zmanjšamo vsebnost oksalata. Hkrati pa je potrebno biti pozoren na preveliko koncentracijo  $\text{NH}_4^+$  saj lahko povzroči toksičnost, kar vodi v manjši pridelek.

Nitrat namreč lahko deluje kot inhibitor oksidaze oksalne kisline (Libert in Franceschi, 1987), v nasprotju pa  $\text{NH}_4^+$  deluje kot stimulator oksalat oksidaze, ki povzroči razpad oksalata (Morita in sod., 2004).

Vpliv nitrata na vsebnost oksalata v špinaci so ugotovili tudi Lin in sod. (2014). V raziskavi s hidroponskim gojenjem špinace so dokazali, da lahko z zmanjševanjem koncentracije  $\text{NO}_3^-$  oziroma s povečevanjem  $\text{NH}_4^+$  vplivamo na manjšo vsebnost oksalata v špinaci. Po predhodni kalitvi špinace v rastlinjaku so špinaco gnojili 24 dni z makrohranili v naslednjih koncentracijah: 8 mmol/L  $\text{NO}_3^-$ , 7 mmol/L  $\text{K}^+$ , 2 mmol/L  $\text{Mg}^+$ , 1 mmol/L  $\text{PO}_4^{3-}$ , 5 mmol/L  $\text{Ca}_2^+$ , 2 mmol/L  $\text{SO}_4^{2-}$  in mikrohranili ( $\mu\text{mol/L}$ ):  $\text{H}_3\text{BO}_4$  46,25,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  0,32,  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0,77,  $\text{MnCl}_2$  14,38,  $\text{H}_2\text{MoO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  0,38, Fe-EDTA 20,61. Po 24 dneh so za obdobje 6 dni rastline špinace izpostavili različnimi koncentracijami  $\text{NO}_3^-$  in  $\text{NH}_4^+$ , opisanih v spodnji tabeli:

Preglednica 2: Gnojenje špinace z različnimi koncentracijami  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  (Lin in sod., 2014).

Obravnavanje	Okrajšava
Nadaljevanje gnojenja z 8 mmol/L $\text{NO}_3^-$	8- $\text{NO}_3^-$ (KONTROLA)
Prenehanje dodajanja N	0-N
Gnojenje s 4 mmol/L $\text{NO}_3^-$	4- $\text{NO}_3^-$
Gnojenje s 4 mmol/L $\text{NO}_3^-$ in 4 mmol/L $\text{NH}_4^+$	4- $\text{NO}_3^-$ + 4- $\text{NH}_4^+$
Gnojenje s 4 mmol/L $\text{NH}_4^+$	4- $\text{NH}_4^+$
Gnojenje z 8 mmol/L $\text{NH}_4^+$	8- $\text{NH}_4^+$

Po šestih dneh so nato določili koncentracije oksalata v listinih ploskvah in listnih pecljih špinace. Rezultati so prikazani v preglednici 3.

Preglednica 3: Vsebnost oksalatov v užitnih delih špinace, po tretiranju z različnimi koncentracijami  $\text{NO}_3^-$  in  $\text{NH}_4^+$ . (povprečje  $\pm$  standardni odklon, n= 4) (Lin in sod., 2014).

Obravnavanje	Vsebnost topnih oksalatov (mg/kg SvS)		Vsebnost skupnih oksalatov (mg/kg SvS)	
	Listna ploskev	Pecelj	Listna ploskev	Pecelj
8- $\text{NO}_3^-$	6961 $\pm$ 487	2782 $\pm$ 160	11945 $\pm$ 556	3416 $\pm$ 212
0-N	3861 $\pm$ 149	2322 $\pm$ 116	8914 $\pm$ 412	2687 $\pm$ 264
4- $\text{NO}_3^-$	5801 $\pm$ 266	2429 $\pm$ 145	9999 $\pm$ 354	2820 $\pm$ 204
4- $\text{NO}_3^-$ + 4- $\text{NH}_4^+$	5356 $\pm$ 288	2120 $\pm$ 54	8849 $\pm$ 358	2653 $\pm$ 212
4- $\text{NH}_4^+$	4107 $\pm$ 40	2011 $\pm$ 94	7197 $\pm$ 463	2215 $\pm$ 170
8- $\text{NH}_4^+$	2535 $\pm$ 128	1740 $\pm$ 55	5743 $\pm$ 55	1965 $\pm$ 91

Posledica gnojenja s 4 mmol/L  $\text{NO}_3^-$  in 4 mmol/L  $\text{NH}_4^+$  je bilo 23 % in 24 % zmanjšanje vsebnosti topnih oksalatov v listni ploskvi in pecljih, ter 26 % in 24 % zmanjšanje vsebnosti skupnih oksalatov, glede na kontrolno. Največje zmanjšanje vsebnosti je bilo opazno pri gnojenju z 8 mmol/L  $\text{NH}_4^+$  kjer se je vsebnost topnih oksalatov v listni ploskvi zmanjšala za 63 % v pecljih pa 37 %. Vsebnost skupnih oksalatov se je zmanjšala za 52 % v listnih ploskvah, oziroma 43 % v pecljih (Lin in sod., 2014).

Z zmanjševanjem koncentracije nitrata in povečevanjem  $\text{NH}_4^+$  v zadnjih dneh gojenja lahko uspešno zmanjšamo vsebnost oksalata v navadni špinaci, brez vpliva na količino pridelka (Lin in sod., 2014).

## 7 METODE ZMANJŠEVANJA KOLIČINE OKSALATOV V ŽIVILIH

Na vsebnost oksalatov v živilih lahko vplivamo s pravilno pripravo hrane. Navadno špinacho pogosto uživamo toplotno obdelano. V raziskavi Chai in Liebman (2005) se je s kuhanjem zelenjave vsebnost oksalatov zmanjšala od 30 % do 80 %. Pri špinaci in korenju je bila opazna povezava med zmanjšanjem topnih oksalatov v zelenjavi ter povečanjem količine oksalatov v vodi, kjer se je ta kuhala.

Poleg kuhanja se lahko poslužimo različnih ukrepov s katerimi uspešno zmanjšamo količino oksalatov.

Bakr in sod. (1997) so s kuhanjem, blanširanjem, zmrzovanjem in konzerviranjem, preverili učinkovitost različnih metod za zmanjševanje oksalatov v špinaci kot živilu.

- Kuhanje  
C1: Kuhanje svežih listov špinache v vreli vodi. Čas kuhanja 15 minut.  
C 2a, 2b in 2c: Kuhanje zamrznjenih blanširanih listov špinache. Čas kuhanja 13 minut.  
C 3a, 3b in 3c: Kuhanje konzerviranih blanširanih listov špinache. Čas kuhanja 13 minut.
- Blanširanje  
a: Blanširanje svežih listov špinache v vreli vodi. Čas blanširanja 2 minuti.  
b: Blanširanje svežih listov špinache v 0,1 % raztopini kalcijevega citrata s temperaturo 77 °C. Čas blanširanja 2 minuti.  
c: Blanširanje svežih listov špinache v 0,01 % raztopini natrijevega askorbata s temperaturo 77 °C. Čas blanširanja 2 minuti.
- Konzerviranje blanširanih listov špinache v konzerve. Pri konzerviranju je bila uporabljena 2 % raztopina NaCl.
- Zamrzovanje blanširanih listov na temperaturo -18 °C.

Preglednica 4: Vpliv različnih metod priprave na zmanjšanje vsebnosti oksalatov v špinači (Bakr in sod. 1997).

Metoda	Zmanjšanje vsebnosti skupnih oksalatov (%)	Zmanjšanje vsebnosti topnih oksalatov (%)
C1	16,9	20,1
C2a	15,5	24,9
C2b	23,6	32,0
C2c	21,8	26,7
C3a	17,1	25,2
C3b	25,0	36,9
C3c	22,7	28,1

Zmanjšanje skupnih in topnih oksalatov je bilo opazno pri vseh metodah. Uporaba kalcijevega citrata in natrijevega askorbata pri blanširanju pa je še dodatno povečala zmanjšanje količine oksalata v špinači. Pri toplotnih obdelavah špinače ni prišlo do velikih izgub vitaminov in mineralov. Z pravilno obdelavo špinače pred zaužitjem poleg pravilnega gnojenja, lahko uspešno pridelamo kvalitetno špinačo za namene prehranjevanja (Bakr in Gawish, 1997).

## 8 SKLEPI

Navadno špinačo (*Spinacia oleracea* L.) štejemo med visoko hranljiva živila zaradi velike vsebnosti vitaminov in esencialnih mineralov. Nasprotno lahko relativno velika vsebnost oksalatov v špinači predstavlja nevarnost za zdravje ljudi, zato špinačo z visoko vsebnostjo oksalatov obravnavamo kot manj kakovosten pridelek.

Na povečano vsebnost oksalatov lahko vplivajo okoljski dejavniki v največji meri gnojenje. Navadna špinača gojena na z dušikom dobro založenih tleh, akumulira oksalat. Hkrati gnojenje z dušikom povečuje vsebnost nitratov. Sinteza oksalata je pozitivno povezana s sprejemom nitrata v korenine rastlin in njegovo asimilacijo v listih. Pri asimilaciji nitrata v rastlinah, se sprosti hidroksilni ion, poveča se pH vrednost kar poveča akumulacijo oksalata v špinači.

Količina oksalatov ni nujno pozitivno povezana s količino nitratov v špinači. Razlog za to, bi lahko bil v vzdrževanju homeostaze metabolizma.

Na vsebnost oksalatov lahko vplivamo z različnimi gnojili. Gnojenje z oblikami dušika, ki niso takoj dostopne rastlini ne vplivajo bistveno na akumulacijo oksalatov v rastlini. Nasprotno, dušična gnojila v nitratni obliki korenito povečajo vsebnosti oksalatov v navadni špinači. S povečevanjem koncentracije  $\text{NO}_3^-$  pri gnojenju se linearno povečuje vsebnost oksalatov v špinači. Nitrat lahko deluje kot inhibitor oksidaze oksalne kisline. S

povečevanjem koncentracije  $\text{NH}_4^+$  se vsebnost oksalatov v špinači manjša.  $\text{NH}_4^+$  deluje kot stimulator oksalat oksidaze, ki povzroči razpad oksalata.

Hitro rastoče sorte navadne špinače v splošnem vsebujejo več nitratov, v počasneje rastočih prevladujejo oksalati. Mejna vrednost nitratov v sveži špinači znaša 3500 mg/kg sveže snovi. Priporočen dnevni vnos oksalatov naj ne bi presegal 50-60 mg. Vsebnost nitratov in oksalatov v navadni špinači namenjeni prehrani, lahko uspešno znižamo z obdelavo. V primeru gojenja hitro rastočih sort in omejevanjem gnojenja z dušikom, bi lahko omejili vsebnost nitratov in oksalatov v navadni špinači.

## 9 VIRI

- Alessa O., Najla S., Murshed R. 2017. Improvement of yield and quality of two *Spinacia oleracea* L. varieties by using different fertilizing approaches. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 23, 3: 693-702
- Bakr A. A., Gawish R. A. 1997. Trials to reduce nitrate and oxalate content in some leafy vegetables. 2. Interactive effects of the manipulating of the soil nutrient supply, different blanching methods followed by cooking process. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 73: 169-178
- Chai W., Liebman M. 2005. Effect of different cooking methods on vegetable oxalate content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 3027-3030
- Černe M. 1998. Špinača: v našem vrtu. *Naša žena*, 10: 80-81
- Franceschi V. R., Nakata P. A. 2005 Calcium Oxalate in Plants: Formation and Function. *Annual Review of Plant Biology*, 56: 41-71
- Horner H. T., Wagner B. L. 1995. Calcium oxalate formation in higher plants. V: Calcium oxalate in biological systems. Khan S. R. (ur.) Florida, CRC Press: 53-72  
<http://www.ejpau.media.pl/volume2/issue2/food/art-03.html> (12. nov. 2018)
- Jaworska G., Kmiecik W. 1999. Content of selected mineral compounds, nitrates III and V, and oxalate in spinach (*Spinacia oleracea* L.) and New Zealand spinach (*Tetragonia expansa* Murr.) from spring and autumn growing seasons. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities, Food Science and Tehnology*, 2, 2: 1-10
- Kaminishi A., Kita N. 2006. Seasonal change of nitrate and oxalate concentration in relation to the growth rate of spinach cultivars. *Hort Science*, 41, 7: 1589-1595
- Kawazu Y., Okimura M., Ishii T., Yui S. 2003. Varietal and seasonal differences in oxalate content of spinach. *Scientia Horticulturae*, 97: 203-210
- Koh E., Charoenprasert S., Mitchell A. E. 2012. Effect of Organic and Conventional Cropping Systems on Ascorbic Acid, Vitamin C, Flavonoids, Nitrate, and Oxalate in 27 Varieties of Spinach (*Spinacia oleracea* L.). *Journal of agricultural and food chemistry*, 60, 12: 3144-3150

- Kostman T. A., Taryn N. M., Loewus F. A., Franceschi V. R. 2001. Biosynthesis of L-ascorbic acid and conversion of carbons 1 and 2 of L-ascorbic acid to oxalic acid occurs within individual calcium oxalate crystal idioblasts. *Plant Physiology*, 125: 634-640
- Kreždel J., Kolota E. 2010. The effect of nitrogen fertilization on yielding and biological value of spinach grown for autumn harvest. *Acta Scientiarum Polonorum, Hortorum Cultus*, 9: 183-190
- Lešić R., Borošić J., Herak-Čustić., Poljak M., Romić D. 2004. *Povrčarstvo*. Čakovec, Zrimski: 656 str.
- Libert B., Creed C. 1985. Oxalate content of seventy-eight rhubarb cultivars and its relation to some other characters. *Journal of Horticultural Science*, 60: 257-261
- Libert B., Franceschi V. 1987. Oxalate in crop plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 35: 926-938
- Liebman M., Doane L. 1989. Calcium and zinc balances during consumption of high and low oxalate containing vegetables. *Nutrition Research*, 9: 947-955
- Lin X. Y., Liu X. X., Zhang Y. P., Zhou Y. Q., Hu Y., Chen Q. H., Zhang Y. S., Jin C. W. 2014. Short term alteration of nitrogen supply prior to harvest affects quality in hydroponic-cultivated spinach (*Spinacia oleracea*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94: 1020-1025
- Liu X. X., Zhou K., Hu Y., Jin R., Lu L. L., Jin C. W., Lin X. Y. 2015. Oxalate synthesis in leaves is associated with root uptake of nitrate and its assimilation in spinach (*Spinacia oleracea* L.) plants. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95, 10: 2105-2116
- Ma J. F., Hiradate S., Matsumoto H. 1998. High aluminium resistance in buckwheat. *Plant Physiology*, 117: 753-759
- Massey L. K. 2007. Food Oxalate: Factors Affecting Measurement, Biological Variation, and Bioavailability. *Journal of the American Dietetic Association*, 107, 7: 1191-1194
- Morita A., Suzuki R., Yokota H. 2004. Effect of ammonium application on the oxalate content of tea plants (*Camellia sinensis* L.) *Soil Science and Plant Nutrition*, 50: 763-769
- Nakata P. A. 2003. Advances in our understanding of calcium oxalate crystal formation and function in plants. *Plant Science*, 164: 901-909



- Nakata P. A. 2012. Plant calcium oxalate crystal formation, function, and its impact on human health. *Frontiers in Biology*, 7, 3: 254-266
- Noonan S. C., Savage G. P. 1999, Oxalate content of foods and its effect on humans. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 8, 1: 64-74
- Osvald J., Kogoj-Osvald M. 2003. Integrirano pridelovanje zelenjave. Ljubljana, Kmečki glas: 295 str.
- Osvald J., Kogoj-Osvald M. 2005. Vrtnarstvo: splošno vrtnarstvo in zelenjadarstvo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo: 591 str.
- Proietti S., Moscatello S., Colla G., Battistelli Y. 2004. The effect of growing spinach (*Spinacia oleracea* L.) at two light intensities on the amounts of oxalate, ascorbate and nitrate in their leaves *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 79, 4: 606-609
- Ruiz N. Ward D., Salz S. 2002. Responses of *Pancratium sickenbergeri* to simulated bulb herbivory: combining defense and tolerance strategies, 90: 472-479
- Santamaria P., Elia A., Serio F., Todaro E. 1999. A survey of nitrate and oxalate content in fresh vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79: 1882–1888
- Savage G. P., Vanhaven L., Mason S. L., Ross A. B. 2000. Effects of cooking on the soluble and insoluble oxalate content of some New Zealand foods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 13: 201-206
- Stagnari F., Di Bitetto V., Pisante M. 2007. Effects of N fertilizers and rates on yield, safety and nutrients in processing spinach genotypes. *Scientia Horticulturae*, 114: 225-233
- Tanaka F., Kim T. H., Yoneyama T. 2001. Relationship between oxalate synthesis and nitrate reduction in spinach (*Spinacia oleracea* L.) plants tracing by <sup>13</sup>C and <sup>15</sup>N. V: *Developments in plant and soil sciences*. Horst W. W. J., Schenk M.K., Burkert A., Claassen N., Flessa H., Frommer W. B., Goldback H. E., Olf H. W., Romeld V., Sattelmacher B., Schmidhalter S., Schubert S., Von Wiren N., Wittenmayer L. (ur). Dordrecht, Springer: 302-303
- Uredba Komisije (ES) št 1882/2006 z dne 19. decembra 2006 o določitvi metod vzorčenja in analiz za uradni nadzor vsebnosti nitratov v nekaterih živilih. 2006. Uradni list Evropske unije, L364: 5-24

Uredba Komisije (EU) št 1258/2011 z dne 2. decembra 2011 o spremembi Uredbe Komisije (ES) št 1881/2006 glede mejnih vrednosti nitratov v živilih. Uradni list Evropske unije, L320: 15-17

Ward D., Spiegel M., Salz S. 1997. Gazelle herbivory and interpopulation differences in calcium oxalate content of leaves of a desert lilly. *Journal of Chemical Ecology*, 23: 333-347

Zhang J., Yue Y., Sha Z., Kirumba G., Zhang Y., Bei Z., Cao L. 2014. Spinach-irrigating and fertilizing for potimum quality, quantity and economy. *Acta agriculturae Scandinavica*. 64, 7: 590-598

Zhang Y., Lin X., Zhang Y., Zheng S. J., Du S. 2005. Effects of nitrogen levels and nitrate/ammonium ratios on oxalate concentrations of different forms in edible parts of spinach. *Journal of Plant Nutrition*, 28: 2011-2025