



Universidad Nacional de Cuyo
Facultad de Ciencias Agrarias
Carrera de Licenciatura en Bromatología



Contenido de nitratos en lechuga (*Lactuca sativa L.*) cultivada en la 3^a Zona de Riego del Río Mendoza

Tesista: Bromatóloga Analía Valdés

Directora: Ing. Agr. (M. Sc.) Adriana I. Bermejillo

Codirector: Dr. Ing. Agr. José María Zuluaga

Mendoza, Junio de 2015

AGRADECIMIENTOS

Hoy completo un largo camino y veo plasmarse al fin, los logros que alguna vez parecieron inalcanzables. Pero en este trayecto recorrido nunca estuve sola, me acompañaron personas excepcionales, que con paciencia y sabiduría, me guiaron para alcanzar este anhelo.

Por eso, mi mayor dicha no es haber concretado este logro, sino poder compartirlo con todos aquellos que aportaron su granito de arena, para hacer realidad mi sueño.

Quiero agradecer de manera especial a Adriana Bermejillo y María Flavia Filippini, por su apoyo incondicional, porque confiaron en mí y me enseñaron con su ejemplo, que con fe y esfuerzo, no hay meta imposible de alcanzar.

Mi agradecimiento para José Zuluaga, co-director de mi tesis, por su imprescindible ayuda.

Un "gracias" enorme para mis compañeros y amigos de la Cátedra de Química Agrícola, aquellos que me acompañan cada día: Agustina Micheletti, Daniela Cónsolí, Antonella Porta, Matías Venier y Víctor Lipinski. Y a quienes ya se jubilaron, pero siguen estando en mi corazón: Yancy Troilo y Luis Martí.

Desde Luego agradezco a Dios y a mi familia, ya que no habría podido culminar esta etapa, sin el apoyo y paciencia que me regalaron cada día: mis hijas Marien y Agustina y mi esposo Alejandro.

INDICE

	Página
Resumen	5
Capítulo I	
1. Introducción	6
1.1 Características botánicas y origen de la especie	7
1.2 Valor nutricional de la lechuga	8
1.3 Importancia económica de la lechuga	8
2. Calidad agroalimentaria	10
3. La problemática de los nitratos en los sistemas agroalimentarios	13
3.1 Ciclo del nitrógeno en la naturaleza	13
3.1.1 Fuentes naturales de nitrógeno	13
3.1.2. Mineralización del nitrógeno	14
3.2 Metabolismo del nitrógeno en la planta	15
3.3 Acumulación del nitrato en la planta	16
3.3.1 Factores que afectan la acumulación de nitratos	16
3.4 Fuentes de nitratos para el hombre	22
3.4.1 Agua	23
3.4.2 Alimentos de origen animal	23
3.4.3 Vegetales	24
4. Aspectos Toxicológicos de Nitratos y Nitritos	27
4.1. Cinética y metabolismo en animales de laboratorio y humanos	27
4.1.1 Absorción, distribución y eliminación	27
4.1.2. Compuestos de N-Nitrosos	29
4.1.3 Síntesis endógena de nitratos	30
4.2. Toxicidad de nitratos y nitritos	30
4.2.1 Toxicidad oral aguda y subcrónica	30
4.2.2 Metahemoglobinemia	30
4.2.3 Mutagenicidad	31
4.2.4 Reproductividad y desarrollo	32
4.2.5 Toxicidad crónica. Carcinogenicidad	32
4.2.6 Ingesta Diaria Admisible	32
Capítulo II	
Contenido de nitratos en lechuga (<i>Lactuca sativa L.</i>) cultivada en la 3ª Zona de Riego del Río Mendoza	
1. INTRODUCCIÓN	34
2. HIPOTESIS Y OBJETIVOS	35
2.1 Hipótesis de trabajo	35
2.2 Objetivos generales	35
2.3 Objetivos particulares	35
3. MATERIALES Y MÉTODOS	36
3.1 Sitio de muestreo	36
3.2 Obtención y acondicionamiento de las muestras	37
3.3 Determinaciones analíticas	37
3.3.1 Determinación de nitratos en lechuga	37
3.3.2 Determinación de nitratos en agua	40
3.4 Análisis estadístico de los datos	41
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	41
4.1. Relevamiento de los contenidos de nitratos en plantas de lechuga	41
4.2. Relevamiento de los contenidos de nitratos en agua de riego	47
4.3 Estudio de la correlación de nitratos	50
5. CONCLUSIONES	51

Índice de Figuras y Tablas

Figuras

- Figura 1: Distribución de la superficie de hortalizas en Mendoza, por especie.
Figura 2: Representación jerárquica de los sistemas de calidad actual y normativas internacionales.
Figura 3: Ciclo del nitrógeno en la naturaleza.
Figura 4: Transformación del nitrógeno inorgánico en la planta.
Figura 5: Influencia de la dosis de N en la acumulación de NO_3^- en lechuga arrepollada.
Figura 6: Efecto de la fertilización nitrogenada en la planta sobre atributos de la calidad en frutas y hortalizas.
Figura 7: Influencia de la dosis de K_2O en la acumulación de NO_3^- en la lechuga arrepollada
Figura 8: Principales fuentes de NO_3^- para el hombre.
Figura 9: Ingesta diaria de NO_3^- en Reino Unido y Francia.
Figura 10: Acción del NO_3^- sobre la hemoglobina
Figura 11: El metabolismo de nitratos en el hombre.
Figura 12: Estructura general de los compuestos N-nitrosos.
Figura 13: Principales signos y síntomas de la metahemoglobinemia.
Figura 14: Esquema del área del estudio, con indicación de los puntos de muestreo.
Figura 15: Curva de calibración de nitratos y ajuste de la ecuación lineal.
Figura 16: Distribución de frecuencias relativas de los contenidos de NO_3^- en el total de las muestras de lechuga analizadas.
Figura 17: Contenidos medios de NO_3^- por ciclo agrícola.
Figura 18: Evolución mensual de los contenidos medios de NO_3^-
Figura 19: Evolución estacional de los contenidos medios de NO_3^- en el total de la especie.
Figura 20: Evolución estacional de los contenidos medios de NO_3^- en lechuga tipo mantecosa.
Figura 21: Evolución estacional de los contenidos medios de NO_3^- en lechuga tipo arrepollada.
Figura 22: Evolución estacional de los contenidos medios de NO_3^- en lechuga tipo morada.
Figura 23: Contenidos medios de NO_3^- en los tipos comerciales de lechuga analizados
Figura 24: Distribución de frecuencias relativas de los contenidos de NO_3^- en el total de las muestras de agua analizadas.
Figura 25: Contenidos medios de NO_3^- en agua de riego por ciclo agrícola.
Figura 26: Evolución estacional de los contenidos medios de NO_3^- en agua de riego.
Figura 27: Contenidos medios de NO_3^- en los puntos de muestreo de agua.
Figura 28: Curva de regresión ajustada: Nitratos en agua vs nitratos en lechuga

Tablas

- Tabla 1: Composición nutricional de la lechuga.
Tabla 2: Evolución de la superficie hortícola de Mendoza, ciclos agrícolas 2010 al 2014.
Tabla 3: Clasificación de los vegetales según su capacidad de acumular NO_3^- .
Tabla 4: Contenidos medios de NO_3^- y NO_2^- en alimentos de origen animal.
Tabla 5: Contenidos medios de NO_3^- en vegetales.
Tabla 6: Niveles máximos de NO_3^- establecidos por el Reglamento (CE) N° 1258/2011
Tabla 7: Contenido típico (mg.kg^{-1}) de aminos precursoras de N-nitrosaminas en algunos alimentos.
Tabla 8: Puntos de muestreo seleccionados para la extracción de muestras
Tabla 9: Curva de calibración con concentraciones conocidas de nitratos, a partir de una solución madre ($1000 \text{ mg L}^{-1} \text{ NO}_3^-$)
Tabla 10: Valores medios de NO_3^- ($\mu\text{g g}^{-1}$ p.f.) en lechuga.
Tabla 11: Valores medios de NO_3^- ($\mu\text{g g}^{-1}$ p.f.) en los tipos comerciales de lechuga estudiados.
Tabla 12: Contenidos medios de NO_3^- en los puntos de muestreo de agua.

RESUMEN

Contenido de nitratos en lechuga (*Lactuca sativa* L.) cultivada en la 3ª Zona de Riego del Río Mendoza

En la actualidad la horticultura ocupa un espacio predominante en la producción agropecuaria, proveyendo productos indispensables para la alimentación humana, ya sea para ser consumidos en fresco o bien procesados con distintas tecnologías. La lechuga (*Lactuca sativa* L.) es una hortaliza de consumo mundial y su producción ha ido en aumento. En Mendoza, la comercialización de lechuga como ensalada, tiene gran importancia, a lo largo de todo el año. El contenido de nitratos en hoja es un aspecto importante de su calidad. Según especie, cultivar, parte de la planta, época y ambiente de cultivo, fertilización nitrogenada, esta hortaliza puede presentar contenidos de nitratos elevados, ocasionando indirectamente daños a la salud del consumidor.

El objetivo de este trabajo es evaluar los contenidos de nitratos en lechuga cultivada con agua de riego superficial, durante cuatro ciclos agrícolas, en la 3ra Zona de Riego del Río Mendoza y verificar si existe correlación entre tales contenidos y los tenores de nitratos del agua de riego utilizada.

La zona de estudio comprendió las localidades de Los Corralitos, La Primavera, Kilómetro 8, Mundo Nuevo y Las Violetas, correspondiente al área administrada por la Asociación de Inspecciones de Cauce de la 3ª Zona de Riego del Río Mendoza. Durante cuatro ciclos agrícolas, se realizó en forma periódica, la obtención de plantas de lechuga y de agua de riego, en cada uno de los puntos de muestreo establecidos previamente. En el laboratorio, las plantas de lechuga fueron secadas y molidas; posteriormente se determinó el contenido de nitratos mediante método colorimétrico. En el caso de las muestras de agua la determinación de nitratos se realizó en espectrofotómetro Hach.

La distribución de los contenidos de nitratos en el total de las muestras de lechuga analizadas mostró que el 90% de los datos se encuentran entre 280 y 1744 $\mu\text{g NO}_3 \text{ g}^{-1}$ p.f. Los tipos comerciales mantecosa y morada presentaron tenores mayores que el tipo arrepollada, sin embargo no se encontraron diferencias significativas entre ellos. Con respecto a la evolución estacional, los contenidos de nitratos en otoño e invierno fueron significativamente superiores a los determinados en primavera. Los tenores encontrados, no superaron los límites máximos establecidos por la Unión Europea, en hortalizas de hoja para consumo en fresco (Reglamento CE N°1258/2011)

Los valores de nitratos hallados en la totalidad de las muestras de agua de riego fueron siempre inferiores al límite fijado por la legislación vigente, observándose una alta variabilidad entre ellos. En los puntos de muestreo correspondientes al tramo final del recorrido del agua, se encontraron tenores mayores, resultando tales variaciones estadísticamente significativas. En el período invernal se detectaron concentraciones de nitratos más elevadas con respecto a los meses estivales, si bien las diferencias observadas entre las estaciones no resultaron significativas.

No se halló correlación significativa entre los contenidos de nitratos en lechuga y los tenores de nitratos en el agua de riego.

De los resultados obtenidos, se puede concluir que las condiciones edafoclimáticas y culturales de los agroecosistemas del Cinturón Verde de Mendoza, no favorecen la acumulación de nitratos en lechuga, si bien esta especie presenta una marcada tendencia a alcanzar altos contenidos de este compuesto.

En nuestra región, es de suma importancia realizar acciones de información y divulgación del problema de la contaminación por nitratos de origen agrario, debido no sólo a los aspectos de calidad sino también a temas vinculados al impacto ambiental y al cuidado de los recursos hídricos.

CAPÍTULO I

1. INTRODUCCIÓN

En el contexto mundial, la horticultura tiene un peso destacado en la producción de origen agropecuario. De las 1.106 millones de toneladas que se producen en el mundo (incluyendo melón y sandía), más de la mitad se produce en China, con 574 millones de toneladas, lo que representa el 51% del total. En segundo lugar aparece India con una producción de 109 millones de toneladas (9,87%). Estados Unidos es el tercer productor mundial con 36 millones de toneladas, representando el 3,25% (FAO, 2012).

En el año 2013, la producción mundial de frutas y hortalizas aumentó un 9,4% con respecto al año anterior, según los datos del Servicio de Información del Mercado Agrícola de Bonn (AMI). El total producido en 2013 ascendió a 1.740 millones de toneladas. Del total de la producción, 950 millones de toneladas corresponden a las hortalizas y 790 millones a las frutas (FAO, 2013)

En nuestro país, la horticultura es una actividad intensiva, ocupando en general menor superficie que otras actividades agrícolas, pero aporta gran valor agregado. De los 270 millones de hectáreas que tiene el país, cerca de 30 millones se dedican a la agricultura y sólo el 2 % a la producción hortícola; sin embargo la producción de hortalizas representa alrededor del 11 % del producto bruto agrícola del país.

En términos generales se estima que la producción anual de hortalizas es de alrededor de 8 millones de toneladas; especies como ajo, batata, cebolla, lechuga, papa, pimiento, poroto seco, tomate, zanahoria y zapallo, concentran más del 85 % del valor de la producción (Galmarini, 2014)

Las hortalizas constituyen un vasto grupo de productos agrícolas ampliamente utilizado, consideradas junto con las frutas y los cereales una de las fuentes nutricionales más importante en la dieta diaria. El consumo de frutas y hortalizas es en un 60 a 70% en fresco, pero existe una tendencia muy marcada hacia el consumo de productos procesados obtenidos a partir de diferentes tecnologías de conservación (productos de 2 a 6 gama) (Tirador, 2011)

La Organización Mundial de la Salud (OMS), recomienda como objetivo poblacional la ingesta de un mínimo de 400 g diarios de frutas y verduras (excluidas las papas y otros tubérculos feculentos) para prevenir enfermedades crónicas como las cardiopatías, el cáncer, la diabetes o la obesidad, así como para prevenir y mitigar varias carencias de micronutrientes, sobre todo en los países menos desarrollados. Si bien las preferencias alimentarias se han modificado en los últimos 50 años - se consumen menos cereales y leguminosas y más aceites vegetales, azúcar y carne -, la proporción de la fruta y las hortalizas apenas ha aumentado, y se estima que en todo el mundo la gente sólo consume entre el 20% y el 50% del mínimo recomendado. En nuestro país, el consumo diario se estima en la mitad de la ingesta sugerida por la OMS, es decir alrededor de 200 gramos diarios per cápita.

En cuanto a los patrones de consumo de alimentos y tendencias, es claro que la primera fuerza en el mercado global de alimentos es el consumidor; el aumento de sus ingresos, los cambios del estilo de vida y en las estructuras familiares, entre otras cosas, han producido modificaciones en la dieta a lo largo del mundo. Por otro lado, la demanda de productos alimenticios de mayor valor unitario y/o procesado también se expandió, debido al incremento del poder de compra y al aumento del costo de oportunidad del tiempo requerido para la preparación de las comidas. Algunos autores consideran que la tendencia es consumir alimentos saludables y nutritivos (por ejemplo con certificación de Buenas Prácticas Agrícolas y Buenas Prácticas de Manufactura); convenientes e innovativos.

La lechuga (*Lactuca sativa* L.) es una verdura de consumo mundial y su producción ha ido en aumento, siendo en nuestro país, la hortaliza más consumida en ensaladas y en la preparación de comidas rápidas, tales como hamburguesas y sándwiches, según informes del Mercado Central Argentino. Es un alimento que aporta muy pocas calorías, alto porcentaje de agua (90-95%), vitaminas, minerales (potasio, magnesio) y fibra, necesaria para el buen funcionamiento intestinal, siendo apropiado para su uso en dietas hipocalóricas o para disminuir de peso.

1.1 Características botánicas y origen de la especie

El cultivo de la lechuga se remonta a 2.500 años atrás, era conocida por griegos y romanos, se piensa que originariamente, la planta fue cultivada por sus semillas oleaginosas más que por sus hojas. El origen no parece estar muy claro, algunos autores afirman que procede de la India, aunque hoy en día los botánicos no se ponen de acuerdo, por existir un antecesor de la lechuga, *Lactuca scariola* L., que se encuentra en estado silvestre en la mayor parte de las zonas templadas de Europa, Asia y norte de África (Mallar, 1978). Las variedades cultivadas actualmente son una hibridación entre distintas especies de *Lactuca*.

El nombre genérico "*Lactuca*" proviene del latín *lac* (leche). Tal etimología se refiere al líquido lechoso (de apariencia láctea) principalmente savia que exudan los tallos de esta planta al ser cortados. *Sativa* hace referencia a su carácter de especie cultivada

La lechuga pertenece a la familia *Asteráceas*, es una planta anual con látex. Su raíz pivotante, corta y con ramificaciones, no llega a sobrepasar los 25 cm. de profundidad. En cuanto a sus hojas, cuyos limbos pueden ser lisos, ondulados o aserrados, están dispuestas en roseta; en unos casos se desarrollan de forma suelta durante todo su desarrollo (variedades romanas), y en otros se acogollan más tarde. Su tallo es cilíndrico y ramificado y sus flores se presentan en capítulos amarillos dispuestos en racimos o corimbos. Las semillas están provistas de un vilano plumoso para favorecer su dispersión mediante el viento.

- Variedades botánicas:

- a- *Lactuca sativa* var. *augustana* Irish: se aprovechan sus tallos (lechuga espárrago)
- b- *Lactuca sativa* var. *longifolia* Lam.: no forman un verdadero cogollo (tipo romana)
- c- *Lactuca sativa* var. *inybacea* Hort.: poseen hojas sueltas y dispersas.
- d- *Lactuca sativa* var. *capitata* L.: incluye los cultivares que forman cogollo apretado de hojas.

- Tipos comerciales:

- a- No formadores de cabeza

- Cos o romana: incluye los cultivares llamados oreja de burro (cultivar tipo Paris Island Cos)
- De hoja crespada: conocidas también como "rulito" (cultivar tipo Grand rapids). Existen verdes oscuras (otoño-invierno) y verdes claro (verano).

- b- Formadores de cabeza

- De hojas mantecosas (butterhead): posee muy buena calidad culinaria, pero es susceptible al transporte. Incluye los cultivares Maravilla de las cuatro estaciones y Blanca de Boston. En Mendoza se consumen principalmente variedades moradas en invierno y en verano, las tipo mantecosas.
- De hojas latinas: posee hojas consistentes de aspecto brillante, comprende los cultivares: criolla de invierno, gallega de invierno y de verano. Tienen mayor consumo en Buenos Aires.

- De cabeza cresa o capuchinas: cultivar tipo Iceberg, de gran resistencia al transporte, por lo cual tiene un importante consumo en Buenos Aires.

De cada tipo comercial hay una gran diversidad de cultivares con diferentes adaptaciones para producción en otoño, invierno, primavera o verano (Galmarini, 2014)

1.2 Valor nutricional de la lechuga

La contribución de la lechuga a la dieta humana se debe al aporte de minerales, compuestos antioxidantes (fenoles, vitaminas, carotenos y clorofila), fibra y agua. El contenido nutricional varía con el grado de color y la posición de la hoja en la cabeza (hojas externas e internas), las hojas son externas más ricas en nutrientes que las internas (Hohl, 2001).

La lechuga contiene flavonoides, fundamentalmente quercetina, seguida de kaempferol y cantidades inferiores de miricetina, luteolina y apigenina. Estos compuestos tienen actividad antioxidante, antitrombótica y anticarcinogénica. También aporta pequeñas cantidades de b-sitosterol, stigmasterol y campesterol, fitoesteros que participan en importantes funciones biológicas tales como la reducción de los niveles séricos de colesterol, protección frente a algunos tipos de cáncer, etc.

Algunos autores han atribuido a este alimento propiedades calmantes y sedantes probablemente debidas a la presencia de ciertas sustancias como la lactucina y la lactucopicrina. En la tabla 1 se muestra la composición nutricional de la lechuga.

Tabla 1: Composición nutricional de la lechuga. Fuente: Tablas de Composición de Alimentos. Moreiras et al., 2013

Por 100 g de porción comestible					
Nutriente	Cantidad	Unidad	Nutriente	Cantidad	Unidad
Agua	95,3	g	Sodio	9	mg
Proteínas	1,5	g	Potasio	240	mg
Lípidos totales	0,3	g	Fósforo	30	mg
AG saturados	0,039	g	Selenio	1	µg
AG monoinsaturados	0,012	g	Tiamina	0,06	mg
AG poliinsaturados	0,16	g	Riboflavina	0,06	mg
Hidratos de carbono	1,4	g	Vitamina B ₆	0,07	mg
Fibra	1,5	g	Vitamina B ₁₂	0	µg
Calcio	40	mg	Folatos	34	µg
Hierro	0,6	mg	Vitamina C	12	mg
Yodo	5	µg	Vitamina A Eq. Retinol	29	µg
Magnesio	12	mg	Vitamina D	0	µg
Cinc	0,3	mg	Vitamina E	0,5	mg

1.3 Importancia económica de la lechuga

En los últimos años, el cultivo de lechuga se ha incrementado considerablemente, debido tanto a la diversificación de variedades como al aumento del consumo de hortalizas de cuarta gama o mínimamente procesadas, tanto para la comercialización en restaurantes o catering como para el consumo en los hogares.

A nivel mundial, China es el mayor productor con 13.500.000 toneladas anuales, seguido por Estados Unidos con 3.586.100 toneladas, España (904.300 toneladas) e Italia (796.400 toneladas) (FAO, 2013) La participación de la Argentina en la producción mundial es marginal. La lechuga, junto con el tomate y la papa se encuentra entre las hortalizas más

consumidas y cultivadas en el país. Dentro del grupo de hortalizas de hojas verdes, la lechuga representa el 49% del volumen total producido (33.100 toneladas).

El consumo de lechuga está ampliamente generalizado y es abundante en la dieta moderna, en Argentina dicho consumo asciende a 19 Kg/año.habitante para la lechuga criolla, ubicándose en tercer lugar después de la papa y el tomate y a 1,69 kg/año.habitante para lechuga capuchina (CMCBA, 2005). Existe en el país una superficie estimada de 40.000 ha cultivadas que no se hacen simultáneamente, sino en 3 ó 4 siembras sucesivas sobre el mismo suelo. En general puede considerarse que hay 5 centros especializados en la producción de lechuga en el país: Buenos Aires, Mar del Plata, Rosario (Santa Fe), Santiago del Estero y Mendoza.

En la provincia de Mendoza, el cultivo de hortalizas es ampliamente estudiado por el Instituto de Desarrollo Rural (IDR), perteneciente a la Subsecretaría de Programación Económica del Ministerio de Economía de la provincia. A través de la información suministrada en los Informes de Relevamiento Hortícola Provincial, de los ciclos agrícolas 2010 al 2014, se puede observar la evolución de la superficie hortícola provincial, así como también las superficies cultivadas con lechuga en cada una de los citados ciclos agrícolas. Esta información se detalla en la tabla 2

Tabla 2: Evolución de la superficie hortícola de Mendoza, ciclos agrícolas 2010 al 2014. Fuente: IDR

Ciclo agrícola	Superficie hortícola total (ha)	Superficie cultivada con lechuga (ha)
2010/2011	36.825	976
2011/2012	37.527	782
2012/2013	31.521	911
2013/2014	30.902	794

En los ciclos agrícolas 2010/2011 y 2012/2013, la superficie implantada con lechuga se incrementó en comparación con los ciclos 2011/2012 y 2013/2014. Este aumento fue de 2,6% para la primer temporada y de 2,9% en la temporada 2012/2013. Es conveniente aclarar que por razones operativas, el muestreo del IDR se realiza a campo durante los meses de enero-febrero y julio-agosto; captando sólo las especies que se están cultivando en ese momento. De este modo, las hortalizas de ciclo corto y/o de mucha rotación (lechuga, rúcula) cuya época de cultivo se extiende a lo largo de todo el año, quedan fuera en uno o dos ciclos de cultivo.

Los cultivos hortícolas con mayor importancia en la provincia, son las hortalizas pesadas: ajo, papa, zanahoria, tomate para industria y cebolla, que representan aproximadamente el 80% de la superficie hortícola total, según los datos presentados por el IDR en los Informes de Relevamiento de la Superficie Hortícola Provincial de los ciclos agrícolas citados anteriormente (Figura 1)

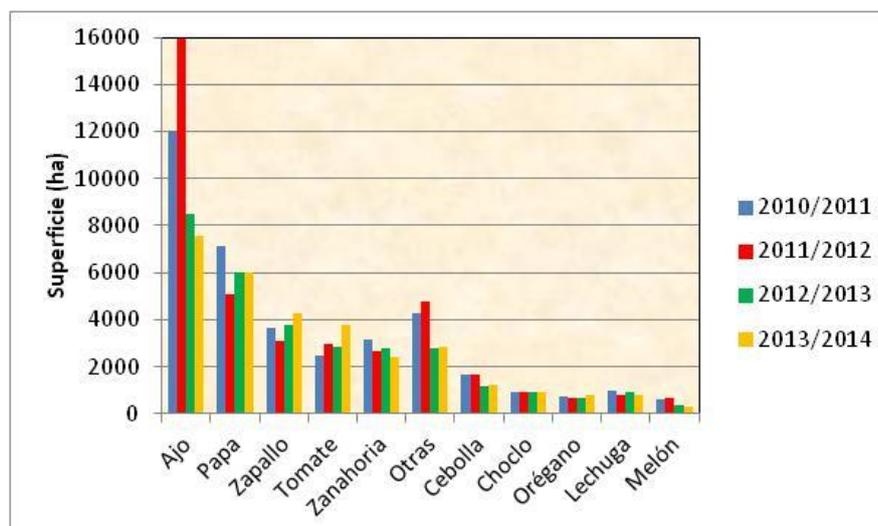


Figura 1: Distribución de la superficie de hortalizas en Mendoza, por especie. Ciclos agrícolas 2010 – 2014. Fuente: IDR

La zona centro comprende los departamentos de Maipú, Guaymallén y Luján. En ella se encuentra el área hortícola más importante de la provincia, denominado Cinturón Verde, rodeando a los grandes centros poblados de la provincia, en correspondencia a la cercanía de los grandes mercados de distribución y comercialización de frutas y verduras. Esta zona concentra aproximadamente el 85% de la producción provincial de lechuga, siendo los departamentos de Maipú y Guaymallén los principales productores. Le siguen en importancia los departamentos de San Rafael, Lavalle, Luján, Las Heras, Tupungato y Junín. La producción de lechuga abastece el mercado local y parte de ella se comercializa fuera de la provincia, por ejemplo en el Mercado Central de Buenos Aires.

2. CALIDAD AGROALIMENTARIA

Hasta hace algunos años, el concepto de calidad alimentaria era identificado con la seguridad para el consumidor y englobaba, principalmente, los aspectos higiénico-sanitarios y nutritivos de los alimentos.

Actualmente una de las definiciones más acertada, que abarca el concepto de calidad es “El conjunto de las propiedades y de las características de un producto o un servicio que confieren al mismo la capacidad de satisfacer las exigencias explícitas o implícitas de un consumidor (UNI-EN 28402 Sistema aziendale a garanzia della qualità. Garanzia di qualità. Sistema qualità), requiriendo de estándares de inocuidad uniformes y equivalentes en todo el mundo”.

Esta definición implica una concepción más amplia de aquella tradicional que sólo se refería principalmente a las características tecnológicas de los bienes, haciendo implícita la necesidad de adecuar la producción a un sistema de calidad, que por el contrario impone el acercamiento al mercado para satisfacer todos los requisitos que el consumidor exige que estén presentes en el producto adquirido. Se pasa por lo tanto de una visión particular de calidad a una global.

La calidad incluye dos aspectos: un aspecto objetivo, relacionado con la naturaleza básica del producto, y otro subjetivo, que incluye las características apreciables por los sentidos a nivel organoléptico (color, olor, aspecto, textura, palatabilidad, etc.) (Pimpini et al, 2000).

Según Perón y Lefevre (1984) los **componentes intrínsecos** de la calidad en hortalizas pueden ser clasificados en:

Calidad nutricional: indica la capacidad potencial de un producto de satisfacer las exigencias nutricionales de quien lo consume. La calidad nutricional de un producto agrícola puede sufrir notables modificaciones durante los procesos que lo transforman (limpieza, pelado, cocción, esterilización, etc.), algunas sustancias pueden perderse o son transformadas lo cual hace disminuir la calidad nutricional; entre ellos se destacan proteínas, vitaminas, fibras y algunos minerales esenciales. La fibra, a pesar de no ser un nutriente en el sentido estricto, debido a su escasa digestibilidad, cumple funciones insustituibles en la movilidad intestinal.

Calidad higiénica-sanitaria: indica la característica por la cual un producto está exento de cualquier contaminación que pudiera ser tóxica o dañar de alguna manera la salud del consumidor.

Hay dos tipos de posibles contaminaciones: químico y microbiológico. En el primer grupo están comprendidos principalmente los residuos de tratamientos químicos, incluyendo compuestos tales como anabólicos, insecticidas, herbicidas, antibióticos, fungicidas, anhídrido sulfuroso. El uso de tales productos y los residuos máximos admitidos están regulados por leyes relacionadas a los aditivos. En algunos casos la sustancia peligrosa retenida no es ajena al producto; este es el caso de los nitratos y los oxalatos, los cuales son naturalmente acumulados por algunas hortalizas de hoja como espinaca, lechuga, rúcula, etc., sin provocar en ellas efectos tóxicos.

La contaminación producida por microorganismos se puede diferenciar según la toxicidad y el modo de acción. Existen microorganismos directamente patógenos para el hombre, como lo es el bacilo de la tuberculosis o las salmonellas; otros en cambio, producen toxinas letales, como el *Clostridium botulinum* o el *Aspergillus flavum*, que produce las aflatoxinas, entre las cuales se encuentran potentes cancerígenos para los animales. También existen microorganismos no patógenos que ocasionan una degradación del producto indicando que éste, no ha sido conservado en condiciones apropiadas.

Calidad organoléptica: es aquella que se puede apreciar por los sentidos y es fácilmente detectada por el consumidor. Las características organolépticas comprenden: el aspecto, el color, el sabor, el aroma y la consistencia.

Los productos agrícolas o agroalimentos también pueden agruparse según los siguientes tipos de calidades:

Calidad tecnológica: es el conjunto de características que hacen apto al producto luego de sufrir transformaciones tecnológicas. En el caso de productos frutihortícolas destinados a la transformación, en general se requiere: uniformidad de maduración, tamaño uniforme que se adapte mejor a la maquinaria, capacidad de mantener una buena consistencia, un color estable y homogéneo, incluso después de la transformación.

Calidad de mercado: es la que interesa desde el punto de vista del comerciante, entre las que se pueden resaltar la aptitud a la conservación, la presentación del producto, la época en la cual se ofrece a la venta, la vida útil, la respuesta a las exigencias particulares del mercado.

Calidad agronómica: comprende las características buscadas por el productor agrícola, desde la siembra y el manejo del cultivo hasta la cosecha. Se tienen en cuenta: la selección de la semilla, la resistencia a las enfermedades, la aptitud al rápido crecimiento, la elevada productividad, la adaptación al ambiente de producción (Dornheim, 2001).

Las frutas y hortalizas frescas son productos muy perecederos y por tal motivo, ocurren importantes pérdidas desde la cosecha hasta el consumidor final, principalmente en el proceso de acondicionamiento y comercialización (Kader, 2002). Tales pérdidas, en países en vías de desarrollo, pueden representar entre el 20 y 50 %. En la región de Rosario (Pcia de Santa Fe) se realizaron estudios que indican que las pérdidas totales de lechuga son del 40,25 % (Mondino et al, 2007).

Al aplicar el concepto de calidad a la lechuga, las características más apreciadas son: la presencia de signos de frescura, hojas brillantes libres de daños, sin amarillamientos o decoloraciones, sin quemaduras en sus bordes y con nervaduras que no tengan rajaduras (Chiesa, 2010)

La posibilidad de reconstruir y seguir el recorrido de un alimento a través de todas sus fases de producción, transformación y distribución se denomina trazabilidad. Los consumidores esperan un alto grado de trazabilidad y de transparencia a lo largo de la cadena agroalimentaria (Betancourt, 2003). Además esperan que los alimentos sean nutritivos y que posean atributos sensoriales deseables; pero la seguridad higiénico-sanitaria no puede estar en duda, por ello en la producción moderna de alimentos se han desarrollado una serie de normas y sistemas para garantizar la inocuidad (Figura 2). Estas normas sanitarias de seguridad se encuentran en estrecha relación con la calidad del producto y el proceso de obtención. Algunas de estas normas de calidad son:

- TQM (Total Quality Management) o GCT, Sistemas de Gerenciamiento de la Calidad Total: consisten en aplicar tanto métodos cuantitativos como el conocimiento de la gente, a fin de evaluar y mejorar los materiales y servicios de la empresa u organización, apuntando a satisfacer las necesidades y servicios actuales y futuros de los clientes o consumidor.
- ISO 9000 (Organización Internacional de Estándares): series de normas que establecen requisitos genéricos sobre sistemas de gestión y garantía de la calidad.
- HACCP (Análisis de Riesgos y Puntos Críticos de Control): utilizado para garantizar la inocuidad de los alimentos en todas las fases de su manipulación.
- BPM (Buenas Prácticas de Manufactura): constituye un elemento importante en la gestión global de la calidad de los alimentos, establecidas en la Comisión del Codex Alimentarius (CODEX) creada en 1963 por la FAO y la OMS
- BPA (Buenas Prácticas Agrícolas): capacitan a productores en temas relacionados a las culturas agrarias

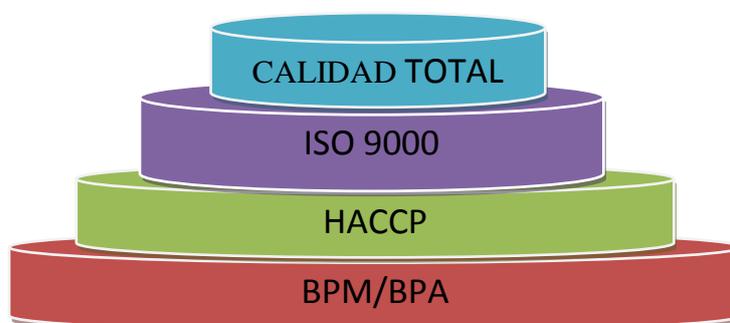


Figura 2: Representación jerárquica de los sistemas de calidad actual y normativas internacionales Fuente: Dornheim, 2001)

3. LA PROBLEMÁTICA DE LOS NITRATOS EN LOS SISTEMAS AGROALIMENTARIOS

3.1 Ciclo del Nitrógeno en la naturaleza:

El ciclo del nitrógeno, se desarrolla en el sistema suelo-planta-atmósfera (Figura 3)

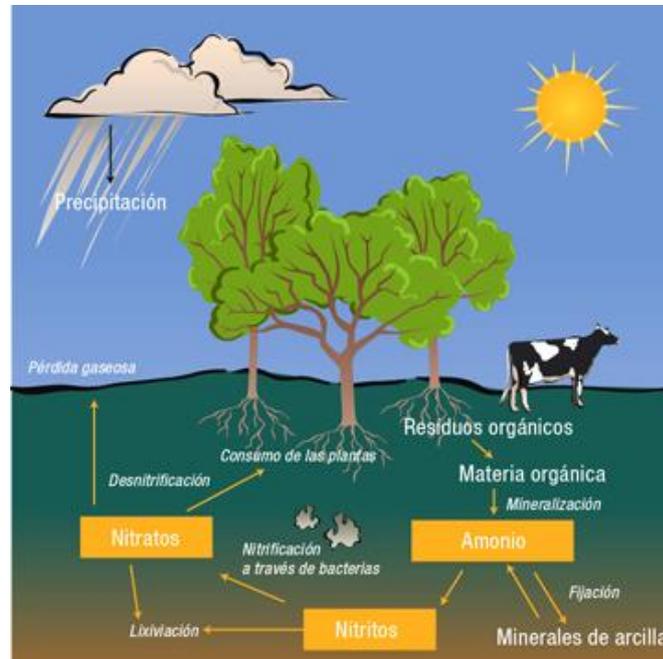


Figura 3: Ciclo del nitrógeno en la naturaleza. Fuente: Harrison, J. A. (2010)

3.1.1 Fuentes naturales de Nitrógeno:

El nitrógeno es uno de los elementos más ampliamente distribuido en la naturaleza, bajo su forma gaseosa (N_2), constituye el 78% de los componentes de la atmósfera. La cantidad de nitrógeno en la litosfera es sólo del 25% de la presente en la atmósfera; además éste se encuentra en forma estable en rocas primarias y sedimentarias, calculándose que solamente un 0,03% del nitrógeno de la litosfera se encuentra en el suelo y que de éste sólo una proporción muy pequeña está en forma asimilable por los seres vivos.

A diferencia de otros elementos, el nitrógeno molecular no puede ser absorbido en este estado por las plantas. Por este motivo, la incorporación de nitrógeno al suelo, bajo la forma de amonio (NH_4^+) o nitrato (NO_3^-), se realiza de forma natural mediante la fijación de nitrógeno atmosférico, por la acción de bacterias, principalmente de los Géneros *Rhizobium*, *Azotobacter* y Cianobacterias. Algunas de estas bacterias son de vida libre mientras que otras forman asociaciones simbióticas con plantas; como es el caso de las bacterias del género *Rhizobium* con las plantas de la familia Leguminosas.

Existen procesos de menor importancia que incorporan nitrógeno asimilable al suelo, como por ejemplo, el producido por descargas eléctricas atmosféricas, que disocian las moléculas, liberando de esta forma los átomos de nitrógeno. Las plantas al descomponerse en el suelo introducen el nitrógeno al sistema pudiendo ser utilizado, por otras plantas o por los microorganismos del suelo. De igual manera, los animales al morir o mediante sus excreciones incorporan nitrógeno al suelo. El nitrógeno es eliminado por los animales como amoníaco (peces), urea (hombre y otros animales) o ácido úrico (aves).

En el suelo existe nitrógeno orgánico e inorgánico, el primero constituye el 98% del nitrógeno total y se encuentra formando parte de la materia orgánica. Ésta representa la fuente más importante de nitrógeno, pero la mayor parte del mismo por ser insoluble, no está disponible en forma inmediata para las plantas, sin embargo son de gran importancia como reservorio a partir del cual se originan iones NH_4^+ y NO_3^- (Figura 3). El 2% restante corresponde a la fracción mineral del suelo.

El nitrógeno es el elemento más comúnmente limitante, después del agua, en la producción de cultivos, siendo de suma importancia para las plantas. Se encuentra en mayor cantidad en las proteínas, pero también en otros compuestos del metabolismo (ácidos nucleicos, enzimas, clorofila, fitohormonas, citocromos, ATP).

En el suelo, es absorbido normalmente en forma de compuestos altamente oxidados, los cuales deben ser reducidos por procesos dependientes de energía antes de ser incorporados a las proteínas y otros constituyentes celulares. Las plantas verdes emplean el nitrógeno inorgánico, por lo cual son autótrofas tanto para el carbono como para el nitrógeno. El sistema metabólico humano no puede realizar esta reducción, así como no puede reducir el dióxido de carbono (CO_2).

3.1.2 Mineralización del nitrógeno:

La mineralización consiste en el pasaje del nitrógeno que se encuentra en la materia orgánica del suelo y en restos vegetales y animales recién incorporados, a formas inorgánicas como NH_4^+ , nitrito (NO_2^-) y NO_3^- . En el proceso de mineralización son de gran importancia los microorganismos del suelo que son quienes degradan la materia orgánica, quedando el nitrógeno inorgánico disponible para ser asimilado por las plantas. La mineralización de los compuestos nitrogenados es un proceso lento. Se considera que del 1 al 2% del nitrógeno es mineralizado por año bajo condiciones de clima templado (Fassbender, 1980).

Por acción de una serie de microorganismos de la putrefacción, la materia orgánica se descompone, liberando amoníaco, entre otros productos, mediante el proceso de la **amonificación**. Una pequeña parte del amoníaco formado puede escapar a la atmósfera, pero la mayor parte, junto con el que se agrega como fertilizante inorgánico, es retenida por las bases de intercambio del suelo.

El nitrógeno bajo la forma NH_4^+ puede ser absorbido por las plantas, pero normalmente sufre un proceso de oxidación, por medio de microorganismos nitrificantes que lo convierten primeramente en NO_2^- y luego en NO_3^- . Esta transformación se llama **nitrificación**. Las bacterias del género *Nitrosomonas* son las más importantes en la oxidación del NH_4^+ a NO_2^- , mientras que la oxidación de NO_2^- a NO_3^- , es producida comúnmente por las bacterias del género *Nitrobacter*.

El NO_3^- formado por este proceso, sumado al que se forma por acción de descargas eléctricas y el que se agrega como fertilizante inorgánico, pasa a la solución del suelo. Una parte puede lixiviarse y perderse en el agua de drenaje donde ya no puede ser aprovechado por las plantas, pudiéndose convertir en un contaminante de aguas, tanto superficiales como subterráneas. Otra parte, según las condiciones del suelo, puede ser usada por bacterias desnitrificantes que lo reducen a óxidos de nitrógeno y nitrógeno elemental, liberándose a la atmósfera.

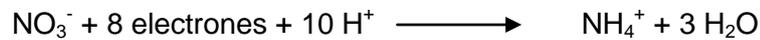
La mayor parte de los NO_3^- son absorbidos por las raíces de las plantas, que primero lo reducen a NO_2^- y luego a amoníaco, éste pasa a la forma orgánica como aminoácido. Los aminoácidos son los constituyentes de la proteína vegetal que sirve de alimento nitrogenado para los organismos heterótrofos.

3.2 Metabolismo del nitrógeno en la planta

El nitrógeno es absorbido por las plantas principalmente como NO_3^- y en menor medida como NH_4^+ . Después de su absorción, el NO_3^- debe ser reducido a NH_4^+ para poder ser incorporado a compuestos nitrogenados tales como proteínas y ácidos nucleicos. Este proceso biológico se denomina **asimilación** del nitrato por las plantas superiores, incluyendo al NO_2^- como intermediario.

El NH_4^+ es altamente tóxico para las células vegetales, por lo cual no se acumula en ninguna parte y es transformado rápidamente en compuestos orgánicos. El aumento del contenido de NH_4^+ celular causa: proteólisis, desintegración de membranas, inhibe la formación de ATP, produce destrucción de clorofila y cloroplastos. La primera etapa de la transformación de NH_4^+ es la formación de glutamina por adición del grupo amida (NH_2) a través de la enzima glutamina-sintetasa. Posteriormente se produce la formación de los ácidos glutámico, aspártico y asparagina.

El pasaje de NO_3^- a NH_4^+ se produce tanto en las raíces como en la parte aérea, esta transformación es dependiente de energía como se lee en la siguiente ecuación global:



La reducción de NO_3^- a NH_4^+ está regida por dos sistemas enzimáticos: la nitrato-reductasa (NR), que actúa en el pasaje de NO_3^- a NO_2^- y la nitrito-reductasa (reducción de NO_2^- a NH_4^+) mediante el uso de energía metabólica proveniente de la respiración de carbohidratos (Figura 4).

La nitrato-reductasa es una enzima cuya actividad es inducida por disponibilidad de nitrógeno en el medio externo y en los tejidos; su persistencia es asegurada por la continuidad del flujo de los NO_3^- . Es inhibida por la presencia de iones NH_4^+ y anulada por la oscuridad. Se recupera con la luz, aumentando con la intensidad de la misma. Contiene en su estructura, además de las dos subunidades polipeptídicas idénticas y el FAD (ferredoxin-adenin-difosfato), los elementos hierro y molibdeno, esenciales en la nutrición de la planta para un correcto funcionamiento del sistema de absorción de NO_3^- .

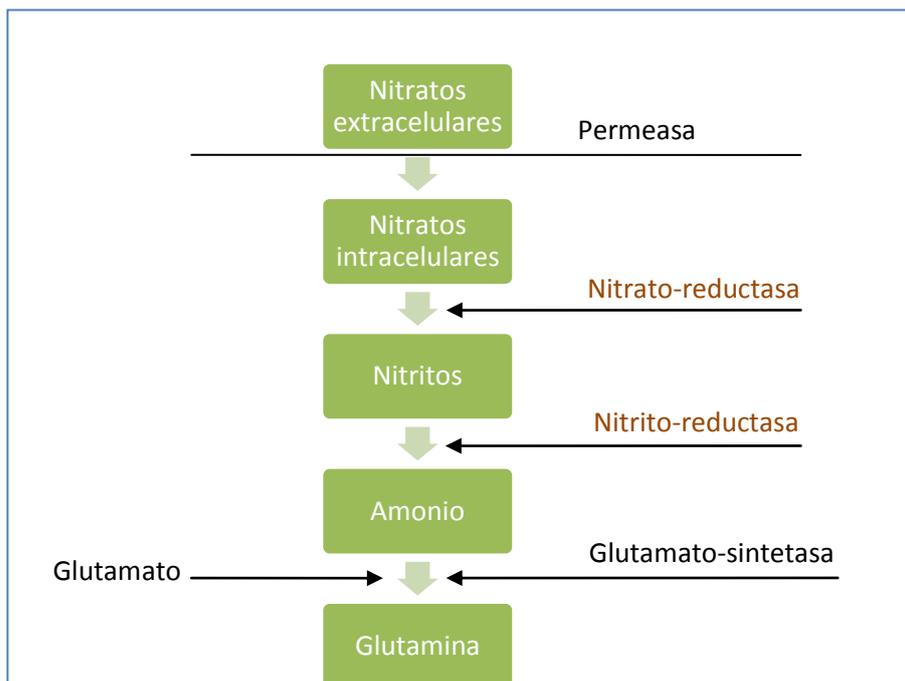


Figura 4: Transformación del nitrógeno inorgánico en la planta

La primera etapa en la reducción de los NO_3^- ocurre en el citosol, donde la NR transfiere dos electrones procedentes del NADH al NO_3^- , según la siguiente ecuación:



También se puede producir la reducción de los NO_3^- por acción de agentes bacterianos contaminantes en tejidos vegetales, cuando no han sido bien conservados después de la cosecha o en la transformación industrial (en general cuando se interrumpe la cadena de frío) (Hunt et al., 1993)

La segunda etapa es la reducción de los NO_2^- a NH_4^+ , por acción de la nitrito-reductasa (NiR), sirviéndose de seis electrones que se obtienen del H_2O mediante el sistema de transporte acíclico de electrones. Esta reacción se produce en los cloroplastos de las hojas y en los protoplastidios de las raíces, de acuerdo al siguiente balance:



Fd_{red} : ferredoxina reducida

Fd_{ox} : ferredoxina oxidada

3.3 Acumulación de NO_3^- en la planta

Las plantas pueden tolerar altos niveles de NO_3^- , de variable magnitud. Después de absorbido, el nitrato es transportado de las raíces a través del xilema. En las células el nitrato es distribuido en dos reservorios: el "reservorio metabólico", ubicado en el citoplasma y el de "almacenamiento", ubicado en las vacuolas.

En el "reservorio metabólico" es incorporado a las proteínas, presentando bajas concentraciones con respecto al reservorio de almacenamiento. El nitrato ubicado en el "reservorio de almacenamiento" no está rápidamente disponible para ser utilizado (Blom-Zandstra M., 1989).

Las plantas acumularían nitrato para aumentar su potencial osmótico y establecer una diferencia de potencial hídrico con respecto al suelo. Al disminuir la actividad fotosintética, disminuyen los ácidos orgánicos y azúcares disponibles para la regulación osmótica, siendo en parte reemplazados por otros iones, nitrato principalmente, en su función osmótica. Esta teoría se apoya en la relación inversa observada en distintas especies entre la concentración de nitrato y la de compuestos orgánicos solubles. La utilización de nitrato con fines osmóticos supone un menor coste energético (ATP) para la planta, que la síntesis y almacenamiento de carbohidratos (Blom-Zandstra M. Lampe, 1985)

Ciertas especies vegetales, ya sea porque tienen un sistema de absorción muy eficiente, un sistema de reducción deficiente o una combinación de ambos, tienden a acumular más nitratos que otras (Maynard et al., 1976)

La concentración de NO_3^- en la planta es un estado dinámico y representa la diferencia entre la absorción y la asimilación en ella. Es por este motivo, que todos los factores que afecten estos dos procesos tendrán un papel decisivo en la acumulación de NO_3^- en los vegetales.

3.3.1 Factores que afectan la acumulación de NO_3^-

Existen numerosos factores que influyen de manera diversa en la acumulación de los NO_3^- en las plantas (Santamaria et al., 1997; Patruno, 1984; Breimer, 1982; Maynard et al.,

1976). Éstos pueden clasificarse en tres grandes grupos: factores ambientales, los inherentes al organismo vegetal y los nutricionales.

A. Factores ambientales principales

❖ Luz:

Una disminución en la intensidad lumínica está asociada a un aumento en la concentración de NO_3^- en la planta. Este hecho puede ser explicado por una reducción en la actividad fotosintética y consiguiente disminución de la síntesis de compuestos orgánicos, por lo que el NO_3^- reemplaza a los carbohidratos en su función osmorreguladora (Muro, et al, 1998).

Otra explicación estaría dada por la función de la enzima nitrato reductasa (NR) en el metabolismo del nitrógeno, dado que su máxima actividad está determinada por la presencia de la máxima radiación solar incidente en la superficie de la hoja (Maynard et al., 1976). La mayor acumulación de NO_3^- se verifica en los períodos caracterizados por bajas intensidades lumínicas y días cortos (otoño e invierno)

❖ Temperatura:

Es difícil hacer una relación general sobre el efecto de la temperatura porque los procesos de absorción, translocación y asimilación son todos afectados. Por lo que se encuentran casos en los que la concentración de NO_3^- aumenta, disminuye o no se ve afectada por la temperatura (Maynard, 1986).

Lechugas cultivadas hidropónicamente, aumentaron su contenido en NO_3^- al incrementar la temperatura de la solución nutritiva (Van der Boon, et al, 1990, cit por Muro, et al, 1998). En suelos con alto contenido de materia orgánica la alta temperatura aumenta la mineralización por lo que aumenta el contenido de NO_3^- en el cultivo (Maynard 1976). La temperatura aumenta la transpiración lo que provoca un flujo ascendente de NO_3^- de la raíz, donde son más abundantes, hacia la parte aérea. Al aumentar la temperatura aumenta la demanda de azúcares con fines respiratorios disminuyendo su disponibilidad para fines osmóticos. Así mismo, disminuye la tasa de síntesis de proteínas aumentando la disposición de NO_3^- susceptible de ser acumulado en las vacuolas (Van Diest, 1990; Muro et al, 1998).

❖ Contenido de agua del suelo:

Un elevado nivel hídrico en el suelo puede ejercer un doble efecto sobre el contenido de NO_3^- en la parte aérea. Por un lado, facilita la mineralización del nitrógeno orgánico del suelo y, por otra parte, en regiones donde el agua de riego presenta elevados niveles de NO_3^- se pueden llegar a aplicar más de 100 kg N/ha adicionales, lo que contribuye a aumentar el nivel de NO_3^- en planta. (Muro et al., 1998).

Los cultivos con estrés hídrico tienden a acumular NO_3^- , lo cual se explica como resultado de una disminución en la actividad de la enzima NR y de la fotosíntesis (Grainfenberg et al., 1993).

❖ Humedad relativa:

Una elevada humedad en la atmósfera, reduce el proceso transpirativo y disminuye la velocidad de absorción de los NO_3^- . Por el contrario, bajos niveles de humedad relativa aumentan la transpiración y con ello el tránsito de NO_3^- de la raíz a las hojas fotosintetizantes (Muro et al., 1998).

❖ Contenido de CO₂ de la atmósfera:

Algunos autores han encontrado que, elevadas concentraciones de CO₂ provocan la disminución del contenido de NO₃⁻ en las plantas, debido a que estimulan, a través del proceso fotosintético, el buen funcionamiento de la enzima NR (Graifenberg et al., 1990)

B. Factores inherentes al organismo vegetal

❖ Factores genéticos:

A igualdad de condiciones de crecimiento, existe diferencia de acumulación de NO₃⁻ entre especies, subespecies y variedades. Las plantas que acumulan mayormente son aquellas de las familias de las Crucíferas, Quenopodáceas, Amarantáceas, Compuestas, Gramíneas y Solanáceas. La tendencia a la acumulación en Crucíferas y Quenopodáceas estaría correlacionada con su resistencia general a la salinidad y con una cierta ineficiencia del sistema nitrato reductor (Blom-Zandstra, 1989)

La Academia Nacional de Ciencias de Italia considera como plantas acumuladoras de NO₃⁻ al: rabanito, remolacha, espinaca, brócoli, repollo de hojas crespas, lechuga, coliflor; mientras que otras especies son no acumuladoras como zanahoria, cebolla, papa, camote y porotos. Se debe tener en cuenta que esta clasificación no es del todo rigurosa, ya que la acumulación de NO₃⁻ depende de la interacción de los factores genéticos, ambientales y culturales. Estudios más recientes clasifican las plantas en base a la cantidad máxima de NO₃⁻ que se puede encontrar en ellas (Patrino, 1984)

En lechuga, las mayores concentraciones se encuentran en cultivares de cabeza cropa, aunque los valores pueden variar considerablemente (Maynard, 1976). Para algunos autores, las variaciones entre cultivares encontradas en lechuga, arveja y espinaca, podrían deberse a diferencias en la capacidad de absorción, translocación y asimilación de NO₃⁻ (medible por la relación N nitrato/N total)

❖ Distribución en la planta:

El NO₃⁻ tiende a mantener una distribución no uniforme dentro de la planta, presentando una tendencia a acumularse en ciertas partes (Maynard, 1976). Por lo general, se observan mayores concentraciones en los órganos fotosintéticamente más activos (hojas), órganos de transporte, y en menor medida, en frutos, flores y semillas.

En el caso de la lechuga las hojas exteriores presentan niveles superiores, siendo mínimo el contenido en las hojas interiores de la planta (Muro, et al, 1998). Esto fue comprobado por Pavlovic et al, en 1997 al comparar distintas dosis de fertilización con nitrato de calcio. En este experimento independientemente de la dosis aplicada, las hojas externas presentaron mayores tenores de NO₃⁻ que las hojas internas

En plantas de lechuga cultivadas en el Cinturón Verde de Mendoza, se encontró diferencias significativas entre la acumulación de NO₃⁻ en las hojas externas (32% mayor) respecto a las internas, siendo dicha diferencia más marcada en el tipo mantecosa que en el tipo arrepollada (Dornheim, 2001). Este resultado indicaría que la mayor concentración de NO₃⁻ se localiza en los tejidos más viejos de la planta, ya que las hojas más nuevas debido a su estructura morfo-fisiológica, son centros menos activos en cuanto a los factores que afectan la eficiencia fotosintética.

En general, los órganos frescos contienen más NO₃⁻ que aquellos procesados, debido a la pérdida de NO₃ durante operaciones tales como el lavado y el escaldado, proceso de cocción breve cuya finalidad es la inactivación enzimática. La ventaja de los productos frescos

es el mayor contenido de vitamina C, la cual inhibe la formación de nitrosaminas (Magnifico, 1997)

Las hortalizas presentan contenidos de NO_3^- notablemente diferentes, según el órgano considerado (Grainfenberg et al., 1993). Las hortalizas de hoja tienden a alcanzar los tenores más altos de NO_3^- , mientras que las de fruto y semilla son las que poseen la menor capacidad acumuladora. Las hortalizas de tubérculos y raíces, presentan contenidos intermedios entre las hortalizas de hoja y las de fruto/semilla (Tabla 3)

Tabla 3: Clasificación de los vegetales según su capacidad de acumular NO_3^- . Fuente: Grainfenberg et al., 1993

Bajo contenido < 500 mg.kg ⁻¹ NO ₃ ⁻		Contenido medio 500-1000 mg.kg ⁻¹ NO ₃ ⁻	Contenido alto >1000 mg.kg ⁻¹ NO ₃ ⁻
Tomate	Arveja	Zanahoria	Lechuga arrepollada
Berenjena	Poroto	Papa	Espinaca
Pimiento	Achicoria	Puerro	Remolacha
Melón	Hongos	Coliflor	Hinojo
Pepino	Camote		Perejil
Espárrago	Maíz dulce		Endibia
Cebolla	Repollitos de Bruselas		Rabanito

❖ Edad de la planta:

La maduración fisiológica de la planta podría acentuar la diferencia en el contenido de NO_3^- . Es sabido que durante el período de crecimiento varían los tenores de NO_3^- , y por lo tanto todos los otros factores de crecimiento permanecen constantes, las plantas más viejas son las más ricas en NO_3^- .

C. Factores nutricionales

❖ Fertilización nitrogenada:

El nitrógeno añadido como abono puede estar como urea, NH_4^+ y NO_3^- . Este nitrógeno sigue los mismos modelos de reacción que el nitrógeno liberado por los procesos bioquímicos a partir de residuos de plantas. Así, la urea es sometida a la amonificación y nitrificación previas, para su utilización por los microorganismos y plantas. El NH_4^+ puede ser oxidado a NO_3^- y ser fijado por las partículas sólidas del suelo o utilizado sin cambio por los microorganismos y las plantas, en cambio los NO_3^- pueden ser absorbidos directamente o pueden perderse por volatilización y lavado (Boixadera y Cortés, 2000).

En términos generales, la fertilización nitrogenada contribuye al aumento de la producción vegetal, hasta un cierto nivel después del cual, el efecto es nulo o negativo. El contenido de NO_3^- en los vegetales es debido principalmente al nitrato agregado o formado en el medio nutritivo, por esto la suplementación nitrogenada es el factor que domina la acumulación de NO_3^- en los vegetales (Maynard and Barker, 1972). La cantidad y la fuente aplicada, el tiempo y método de aplicación, gobiernan el efecto del fertilizante nitrogenado en la acumulación de nitrato en los vegetales (Maynard, 1976). En general se observa un aumento del contenido de NO_3^- al incrementarse la disponibilidad de nitrógeno en el terreno (Figura 5). Se sugiere una fertilización de nitrógeno mineral no mayor a 120 kg/ha para la lechuga.

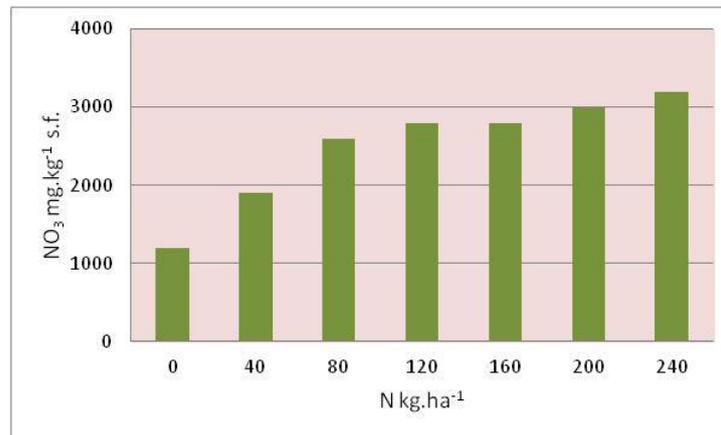


Figura 5: Influencia de la dosis de N en la acumulación de NO₃⁻ en lechuga arrepollada. Fuente: Dornheim, 2001

El aporte excesivo de nitrógeno puede favorecer una mayor susceptibilidad de la planta a las adversidades climáticas y enfermedades parasitarias. Además puede empeorar la calidad del producto, ya sea directamente (defectos, acumulación de NO₃⁻, disminución del tenor de carbohidratos) o en forma directa (mayor susceptibilidad al deterioro espontáneo o inducido por patógenos).

El exceso en la fertilización con nitrógeno es común en los cultivos comerciales debido a que las deficiencias de este nutriente pueden causar pérdidas muy importantes en los cultivos de hoja. En ensayos realizados en cultivos hidropónicos, se observó que el aumento en la concentración de nitrógeno en la solución del suelo, incrementó significativamente el contenido del mismo en la parte aérea (Muro et al, 1998).

La formulación del fertilizante nitrogenado provoca diferencias en la concentración de NO₃⁻ en las hojas. Así pues, se ha demostrado que formulaciones amoniacales reducen el contenido en NO₃⁻ de las hojas, mientras que formulaciones nítricas la elevan (Rincón, 2005). Una reducción importante en el contenido de NO₃⁻ puede obtenerse mediante la utilización de fertilizantes nitrogenados de efecto lento (menor velocidad de mineralización), como la calcianamida o la urea (Breimer, 1985).

En la mayor parte de los suelos agrícolas, en condiciones de temperatura media, las formas amoniacales o ureicas pasan velozmente a aquellas nítricas (7 – 14 días), por lo cual la acumulación de NO₃⁻ no difiere sustancialmente de la obtenida por empleo de iguales unidades de nitrógeno nítrico. Este rápido pasaje no lo es tanto en ciclos de cultivo cortos (50 – 60 días), como es el caso de algunas verduras de hojas (Martí, 2014).

En general, el efecto de la fertilización nitrogenada sobre la producción y los componentes químicos de la planta, pueden resumirse en la Figura 6:

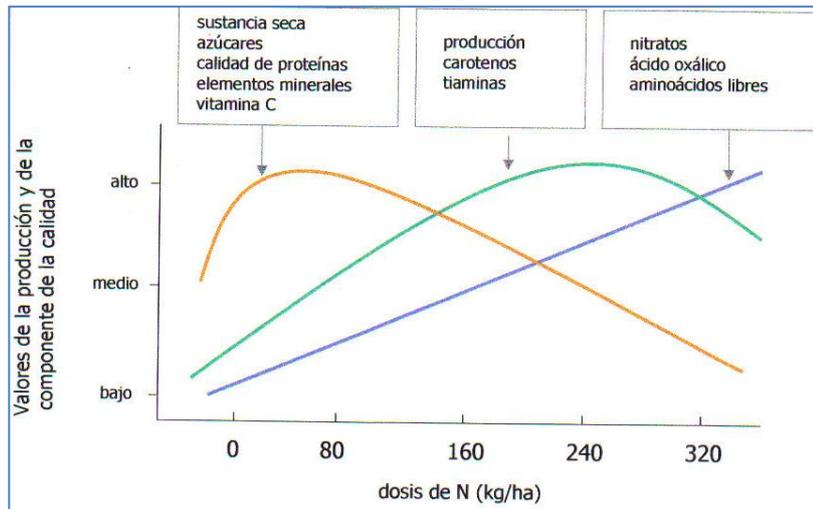


Figura 6: Efecto de la fertilización nitrogenada en la planta sobre atributos de la calidad en frutas y hortalizas. Fuente: (Graifenberg et al., 1993)

Con el fin de atenuar la acumulación de NO_3^- en los vegetales, es necesario programar en forma correcta la fertilización nitrogenada teniendo en cuenta lo siguiente:

- ✓ El requerimiento de nitrógeno del cultivo.
- ✓ El nitrógeno mineral presente en el suelo.
- ✓ El nitrógeno derivado de la sustancia orgánica.
- ✓ El nitrógeno nítrico y amoniacal presente en el agua de riego.

Una programación racional debe basarse también en el ritmo de absorción del N en el curso del cultivo (Patruno, 1984)

❖ Otros nutrientes:

Existen otras sustancias que ejercen influencia en el nivel de NO_3^- en las plantas. El potasio estimula hasta cierto nivel su acumulación (Figura 7), pero suministros masivos aparentan disminuir el contenido de esos compuestos. El fósforo y el sodio parecen poseer un papel significativo, mientras la carencia de microelementos como el molibdeno puede aumentar el nivel de NO_3^- por ser componente de la enzima nitrato-reductada.

Los cloruros al parecer causan una disminución porque su absorción es antagónica a la del NO_3^- . La carencia de azufre, manganeso y boro favorecen la acumulación de NO_3^- , ya que estos elementos cumplen una función decisiva en la transformación del nitrógeno mineral a nitrógeno orgánico.

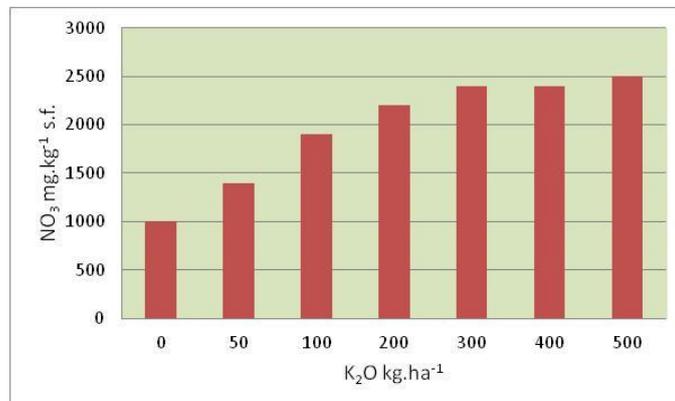


Figura 7: Influencia de la dosis de K_2O en la acumulación de NO_3^- en la lechuga arrepollada Fuente: Dornheim, 2001

3.4 Fuentes de nitratos para el hombre

El hombre está expuesto continuamente a los NO_3^- y NO_2^- a través de medicamentos, agua, alimentos, tanto de origen animal como vegetal y aditivos alimentarios. Como sustancias de origen natural pueden encontrarse en productos cárnicos frescos, leche y productos lácteos, cereales, frutas, verduras y bebidas alcohólicas. En la mayor parte de estos alimentos, se encuentran sólo en bajas concentraciones, excepto en algunos tipos de hortalizas, como las verduras de hoja.

Sin embargo a altas concentraciones o bajo circunstancias especiales, los NO_3^- pueden ser causa de grandes pérdidas económicas debido a enfermedades o muerte (Figura 8).

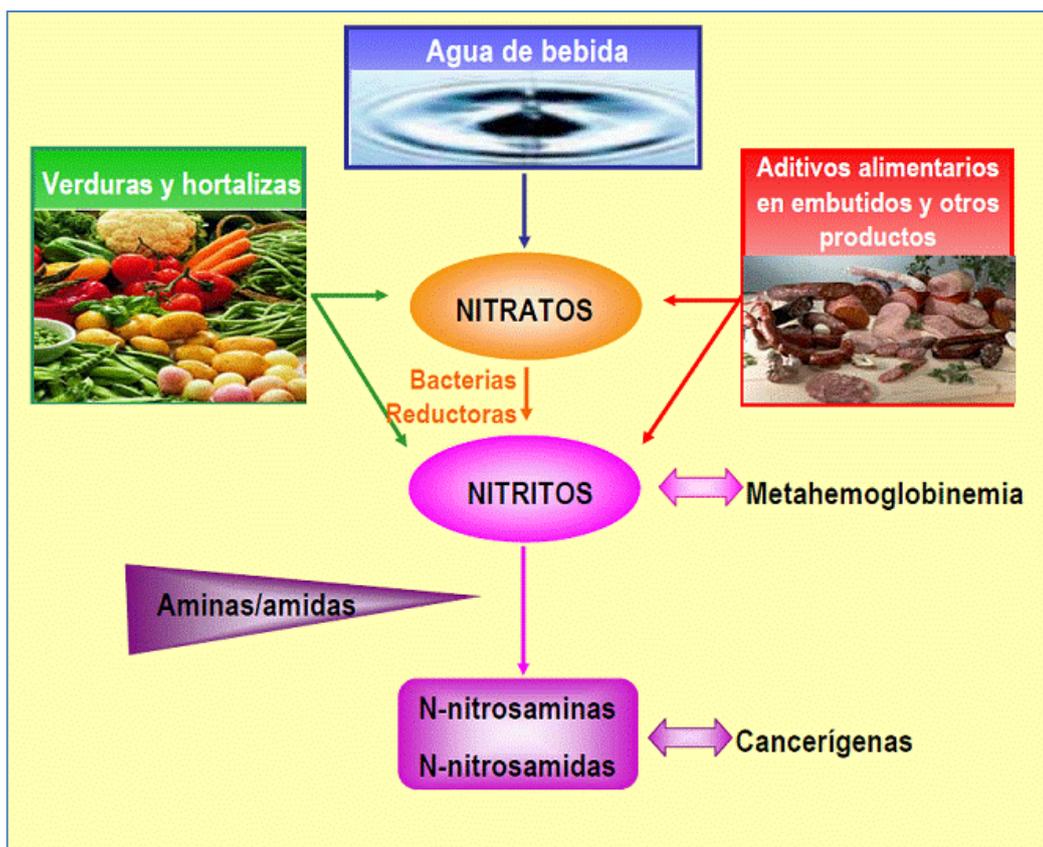


Figura 8: Principales fuentes de NO_3^- para el hombre Fuente: P. Fritsch y G. de Saint Blanquet citado por Dereche (2003).

La exposición humana a NO_3^- es principalmente exógena. En el caso de los NO_2^- , la reducción de los NO_3^- secretados por la saliva y el metabolismo de los NO_3^- , hacen que la principal vía de exposición sea endógena. Debido a la baja concentración de NO_2^- en los vegetales, la vía exógena aporta entre el 11 y el 41% (EFSA, 2008).

Resulta difícil estimar un promedio de ingesta de NO_3^- , porque ésta depende de la dieta individual y del contenido de NO_3^- del agua potable, que también varía según las regiones e incluso según las estaciones. La ingesta total de NO_3^- a través de los alimentos, para algunos países europeos, oscila normalmente entre 50 y 150 mg/persona/día. Las dietas vegetarianas presentan un valor más elevado, del orden de 200 mg/persona/día, variando en función del tipo de verduras que consuman.

La figura 9 ilustra la exposición alimentaria estimada total diaria para NO_3^- expresada como un porcentaje de la dieta total, para el Reino Unido como ejemplo de un país de Europa

del Norte y Francia como ejemplo de un país de Europa Central/del Sur. Para ambos países, las fuentes más importantes de la ingesta dietética de NO_3^- son las verduras y frutas contribuyendo con el 50 a 75% de la ingesta alimentaria general.

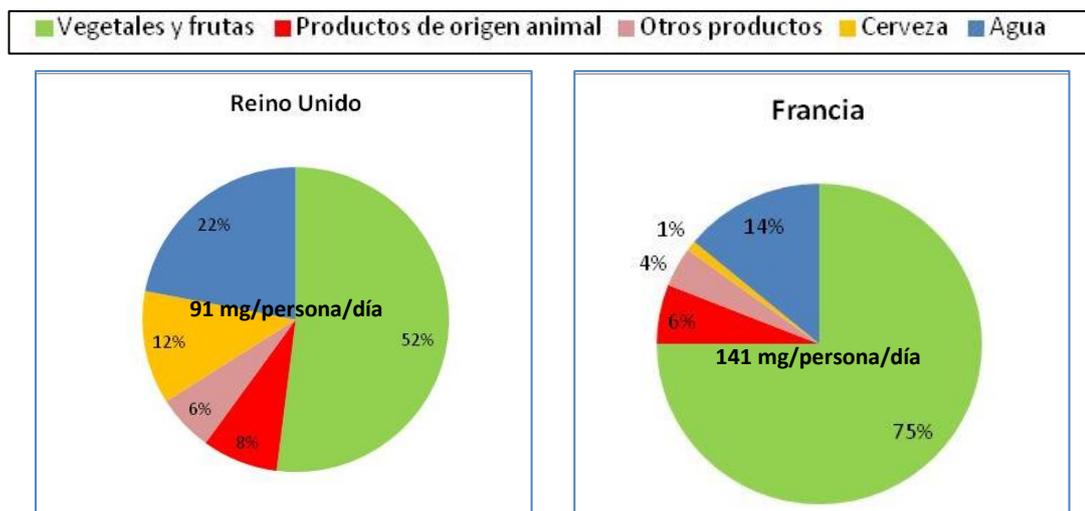


Figura 9: Ingesta diaria de NO_3^- en Reino Unido y Francia. Fuente: EFSA, 2008

3.4.1 Agua

Los iones NO_3^- se encuentran en el agua potable debido, principalmente a la presencia natural de los mismos, siendo su concentración baja en aguas superficiales (0-18 mg/L), pero pueden alcanzar niveles altos como resultado de la contaminación del agua por prácticas agrícolas tales como fertilización, aplicación de agroquímicos y/o vertido de aguas residuales urbanas y efluentes industriales.

En el caso de aguas subterráneas, la contaminación por NO_3^- ocurre principalmente por la lixiviación de este ión, ya que por lo general, una vez que deja de estar al alcance de las raíces, continua su movimiento descendente hacia los acuíferos sin apenas ninguna transformación química o biológica. Además de la aplicación de fertilizantes nitrogenados y abonos orgánicos, otras posibles fuentes de contaminación son los pozos sépticos que no estén funcionando bien, lagunas de retención de desperdicios sólidos sin impermeabilizar y la infiltración de aguas residuales o tratadas.

El problema de los NO_3^- en las aguas de consumo tiene alcance mundial y como ejemplo se puede citar que el contenido límite autorizado en Francia para el agua potable es de 50 mg/L. Los Servicios Agronómicos y el Ministerio de Medio Ambiente de Francia han determinado que en la mayoría de las regiones problemáticas, si el contenido de NO_3^- está comprendido entre 50 y 100 mg/L, el agua no puede ser distribuida sin informar a la población de esta situación. Por encima de 100 mg/L, el agua se declara no potable. La Organización Mundial de la Salud (OMS), así como el Código Alimentario Argentino, han establecido como límite el valor de 45 mg/L. En los EE.UU., la Agencia de Protección Ambiental (EPA) establece un límite máximo de 10 mg/L, expresado como nitrógeno de nitrato (N-NO_3). Este valor, transformado a NO_3^- , equivale a 44,3 mg/L.

3.4.2 Alimentos de origen animal

Las carnes curadas junto con los vegetales, son las principales fuentes de NO_3^- y NO_2^- en la dieta, sin embargo pequeñas cantidades de los mismos pueden encontrarse en otros alimentos tales como pescado y productos lácteos (Tabla 4)

Tabla 4: Contenidos medios de NO_3^- y NO_2^- en alimentos de origen animal. Fuente: BioMed Central, 2012

Fuente	NO_3^- (mg.kg ⁻¹)	NO_2^- (mg.kg ⁻¹)	Autor
Carne vacuna fresca	10,0	1,0	Pobel et al
Carne de cerdo fresca	7,40	0,70	Saccani and Tanzi
Pollo	8,20	0,60	Food Standard Agency
Pescado fresco	11,0	0,30	Food Standard Agency
Salchicha tipo Frankfurt	257,0	27,10	Food Standard Agency
Huevos	4,90	1,70	French National Inventory
Queso	16,1	0,79	French National Inventory
Leche	4,6	0,02	Food Standard Agency
Yogurt	0,50	0	Pobel et al

Los NO_3^- se emplean como aditivos en la fabricación de productos cárnicos curados y, en menor medida, en la conservación del pescado y en la producción de queso. Además de proporcionar color adecuado a la carne, los NO_2^- tienen otros efectos sobre los alimentos: retrasa el proceso de oxidación de los lípidos, con la consecuente disminución del característico olor a enranciamiento, produce una mayor firmeza en la textura, proporciona un flavor "a curado" y provee a los alimentos de un importante efecto antimicrobiano (especialmente frente a *Clostridium botulinum* y sus toxinas). El Código Alimentario Argentino ubica a los nitratos y nitritos (ISN 252 y ISN 249 índice de aditivo alimentario) como aditivos permitidos para la elaboración de productos cárnicos y establece límite para el caso de las carnes curadas: 120 mg.kg⁻¹ sumándose a esto la adición conjunta de ácido ascórbico.

Los productos cárnicos pueden contener naturalmente, en promedio entre 2,7 y 945 mg.kg⁻¹ de NO_3^- y se pueden encontrar niveles mayores en el caso de carnes curadas.

La leche líquida no contiene generalmente, más de 1 a 5 mg de NO_3^- kg⁻¹. Los niveles de nitrato encontrados en la dieta de las vacas lecheras al parecer tienen muy poco efecto sobre la concentración en la leche que ellas producen. Los productos lácteos pueden contener entre 3 y 27 mg.kg⁻¹ de NO_3^- y de 0,2 a 1,7 mg.kg⁻¹ de NO_2^- (ECETOC, European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals 1988).

3.4.3 Vegetales

En cuanto a las verduras y frutas, se pueden hallar valores que oscilan entre 200 y 2500 mg.kg⁻¹ de NO_3^- . Se considera que las hortalizas son la principal fuente dietética de NO_3^- , proporcionando entre el 80 y 85% de la ingesta diaria (Van Velzen et al., 2008). No obstante, esta ingesta diaria depende de diversos factores como pueden ser el estilo de vida, factores de tipo cultural o la localización geográfica (JECFA, 1995).

La presencia natural de NO_3^- en las plantas es consecuencia del ciclo del nitrógeno, en el cual la planta asimila nitrógeno inorgánico en forma de NO_3^- para utilizarlos en la síntesis de proteínas vegetales. Los NO_3^- se encuentran como nitrógeno inorgánico en los fluidos celulares y en la savia como precursor de la formación de proteínas; pueden verse afectados por numerosos factores, entre ellos, el uso de las prácticas agrícolas previas, las condiciones (temperatura del suelo e intensidad lumínica) y tratamientos tecnológicos (WHO, 1995).

Dado que las concentraciones de NO_3^- en vegetales pueden verse influenciadas no sólo por diversos factores de tipo medioambiental o agronómico, sino también por las técnicas de procesado o cocinado utilizadas para preparar dichos vegetales, la EFSA (Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria) publicó en el año 2013 un estudio sobre la influencia del procesado en los niveles de NO_3^- en las hortalizas. En el mismo se concluyó que el lavado, y el lavado en

combinación con la ebullición, disminuyen los contenidos de NO_3^- independientemente del tipo de verdura.

Los productos congelados contienen menores cantidades de NO_3^- porque durante el blanqueo, proceso al cual se someten las hortalizas antes de su congelación, se producen pérdidas de NO_3^- que alcanzan valores entre el 15 y el 60% sobre contenido seco (Filippini, 2006).

En el año 2008, el Panel de Contaminantes en la Cadena Alimentaria (CONTAM) de la EFSA, evaluó los riesgos y beneficios del consumo de productos vegetales debido a su contenido en NO_3^- . En total, el Panel recibió 41.969 datos, procedentes de 20 Estados miembros de la Comunidad Europea y Noruega, que pertenecían a 92 variedades de vegetales diferentes, durante el período comprendido entre 2000-2007. Se constató una enorme variación en las concentraciones de NO_3^- en las hortalizas, siendo las verduras de hoja verde las que, de forma consistente contenían más NO_3^- (EFSA, 2008). En la siguiente tabla se observan los contenidos medios de NO_3^- en vegetales, obtenidos en el citado estudio.

Tabla 5: Contenidos medios de NO_3^- en vegetales. Fuente: EFSA, 2008

Hortaliza	Contenido medio de NO_3^- ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	Hortaliza	Contenido medio de NO_3^- ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)
Acelga	1690	Calabacín	416
Remolacha	1852	Escarola	523
Lechuga	1324	Achicoria	355
Apio	1103	Puerro	345
Lechuga mantecosa	2026	Chaucha	323
Lechuga romana	1105	Zanahoria	296
Lechuga rizada	1601	Pepino	185
Lechuga iceberg	875	Papa	168
Rúcula	4677	Cebolla	164
Espinaca ¹	1066	Berro	136
Endibia	1465	Pimiento	108
Calabaza	894	Tomate	43
Nabo	663	Arveja	30

¹ En la Opinión de EFSA se presentaron combinados los datos de espinacas frescas y congeladas, aunque debe tenerse en cuenta que el nivel de nitratos en espinaca congelada es inferior al de espinaca fresca.

Los niveles de NO_2^- en las hortalizas frescas y frutas, son normalmente muy bajos ($1-20 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) y raramente superan los $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Una excepción a esto, lo constituyen aquellos vegetales dañados, almacenados en malas condiciones o por períodos de tiempo prolongados y aquellos vegetales procesados en pickles o por fermentación.

La primera evaluación internacional de los riesgos asociados con la ingestión de NO_3^- y NO_2^- fue realizada por el Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA) en 1961. Los niveles máximos de NO_3^- en las hortalizas se establecieron por primera vez en la UE en 1997 por la Comisión en el Reglamento (CE) N° 194/1997. Desde entonces la reglamentación ha sido modificada varias veces, la última fue en el año 2011 por el Reglamento (CE) N° 1258/2011 (Tabla 6)

La legislación sobre los contenidos de NO_3^- se aplica a los siguientes productos alimenticios: espinaca fresca, ultracongelada y congelada; lechuga fresca (cultivada en invernadero y al aire libre), lechuga del tipo “iceberg”, rúcula, alimentos elaborados a base de cereales y alimentos infantiles para lactantes y niños de corta edad.

Los niveles máximos se expresan como mg.kg^{-1} de NO_3^- en peso fresco. Las concentraciones permitidas de NO_3^- en la espinaca y la lechuga dependen del período de cosecha, permitiéndose niveles más elevados en los meses de invierno que en los de verano.

Tabla 6: Niveles máximos de NO_3^- establecidos por el Reglamento (CE) N° 1258/2011

	Producto alimenticio	Contenido máx. ($\text{mg NO}_3^-/\text{kg}$)	
		Período de cosecha ⁽¹⁾	
1. 1	Espinacas frescas (<i>Spinacia oleracea</i>)		3500
1. 2	Espinacas en conserva, congeladas o ultracongeladas		2000
1. 3	Lechuga fresca (<i>Lactuca sativa</i> L.) (lechugas de invernadero y cultivadas al aire libre) excepto las lechugas mencionadas en el punto 1.4	Recolectadas entre el 1 de octubre y el 31 de marzo: lechugas cultivadas en invernadero lechugas cultivadas al aire libre	5000 4000
		Recolectadas entre el 1 de abril y el 30 de septiembre: lechugas cultivadas en invernadero lechugas cultivadas al aire libre	4000 3000
1. 4	Lechugas del tipo «Iceberg»	lechugas cultivadas en invernadero lechugas cultivadas al aire libre	2500 2000
1. 5	Rúcula (<i>Eruca sativa</i> , <i>Diplotaxis</i> sp., <i>Brassica tenuifolia</i> , <i>Sisymbrium tenuifolium</i>)	Recolectadas entre el 1 de octubre y el 31 de marzo: Recolectadas entre el 1 de abril y el 30 de septiembre:	7000 6000
1. 6	Alimentos elaborados a base de cereales y alimentos infantiles para lactantes y niños de corta edad ⁽²⁾		200

⁽¹⁾ Hemisferio Norte ⁽²⁾ El contenido máximo hace referencia a los productos listos para el consumo (comercializados como tales o reconstituidos de acuerdo con las instrucciones del fabricante)

En nuestro país la reglamentación referida a NO_3^- y NO_2^- en alimentos, se circunscribe sólo a su utilización en alimentos cárneos y afines, carnes frescas y envasadas y en el agua potable en el Código Alimentario Argentino (Cap. VI, art. 284, 286, 323 y Cap. XII, art. 982) y en el Reglamento de Productos y Subproductos de Origen Animal (cap. XIII, art. 18.5).

4. ASPECTOS TOXICOLÓGICOS DE NITRATOS Y NITRITOS

Desde el punto de vista toxicológico, la incorporación de los NO_3^- al organismo humano no es problemática en sí misma. El peligro radica en la transformación de los NO_3^- a NO_2^- compuestos que sí pueden provocar daños a la salud a través de diversos mecanismos de acción.

4.1 Cinética y metabolismo en animales de laboratorio y humanos

4.1.1 Absorción, distribución y eliminación

Los NO_3^- procedentes de los alimentos se absorben de forma eficaz dando lugar a una biodisponibilidad cercana al 100% (Van Velzen et al., 2008). De los NO_3^- ingeridos, una fracción es absorbida mediante transporte activo en la parte superior del intestino delgado y otra puede ser biotransformada por la microflora en el conducto gastrointestinal. Luego de su absorción se distribuyen a través de la sangre de tal forma que en humanos los contenidos más altos de NO_3^- se encuentran en el suero, la saliva y la orina (JECFA, 2003). Los NO_2^- se absorben por difusión a través de la mucosa gástrica y la pared intestinal.

Una vez distribuidos, los NO_3^- son activamente secretados desde la sangre a la saliva, como se ha observado tanto en humanos como en animales de laboratorio (a excepción de las ratas). En el caso de los humanos, aproximadamente el 25% de los NO_3^- ingeridos se secretan en la saliva. A su vez, de ese 25% de NO_3^- secretados, el 20% se reduce a NO_2^- , debido a la presencia en la base de la lengua de una población estable de bacterias reductoras de NO_3^- (Gangolli et al., 1994) (JECFA, 2003), de forma que en individuos normales aproximadamente el 5-7% del NO_3^- ingerido se puede detectar en la saliva como NO_2^- (EFSA, 2008).

La transformación de NO_3^- a NO_2^- se efectúa por la acción de una enzima, la nitrato reductasa, que está presente en las plantas (como parte integrante de su metabolismo) y en las bacterias, pero totalmente ausentes en los tejidos animales. Estas bacterias justamente están presentes en la flora de la cavidad bucal, con un pH comprendido entre 6 y 6,4, favorable a la reacción. En el resto del tubo digestivo esta reducción a NO_2^- sólo es posible cuando coexisten condiciones patológicas tales como aclorhidria gástrica, en aquellos que consumen antiácidos y algunas enteritis graves que ocasionan el desarrollo de una flora nitrogenada muy activa.

Los NO_2^- contenidos en la saliva, en las condiciones ácidas del estómago, pueden reaccionar con compuestos nitrosables (aminas secundarias y terciarias; amidas) para formar nitrosocompuestos. Tal nitración endógena puede ocurrir en humanos y animales en vivo y en vitro, cuando los NO_2^- y los nitrosocompuestos están simultáneamente presentes. (WHO, 1996).

El NO_3^- absorbido reacciona con la hemoglobina (HbFe^{2+}) para formar metahemoglobina (MHbFe^{3+}). Esta es la hemoglobina cuyo átomo de hierro ha sido oxidado del estado ferroso a férrico, perdiendo la capacidad de fijar el oxígeno necesario para la respiración tisular pudiendo provocar la cianosis (Figura 10). En relación con este tema, existen evidencias de que también los NO_2^- son capaces de atravesar la placenta y causar la formación de metahemoglobinemia fetal en ratas (WHO, 1996).

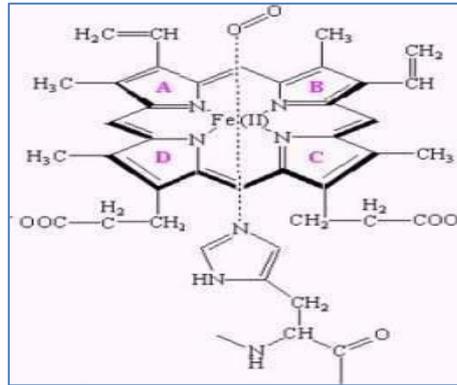


Figura 10: Acción del NO_3^- sobre la hemoglobina

En condiciones fisiológicas normales, el 65 al 70% del NO_3^- absorbido se excreta por orina como NO_3^- , amoníaco o urea; y en cantidades despreciables en materia fecal. Asimismo, puede existir, una reabsorción selectiva en riñón, junto con recirculación biliar y salivar (EFSA, 2008). Una pequeña proporción de NO_3^- plasmáticos (aproximadamente 10%) es eliminada a través de la transpiración y las lágrimas (Figura 11).

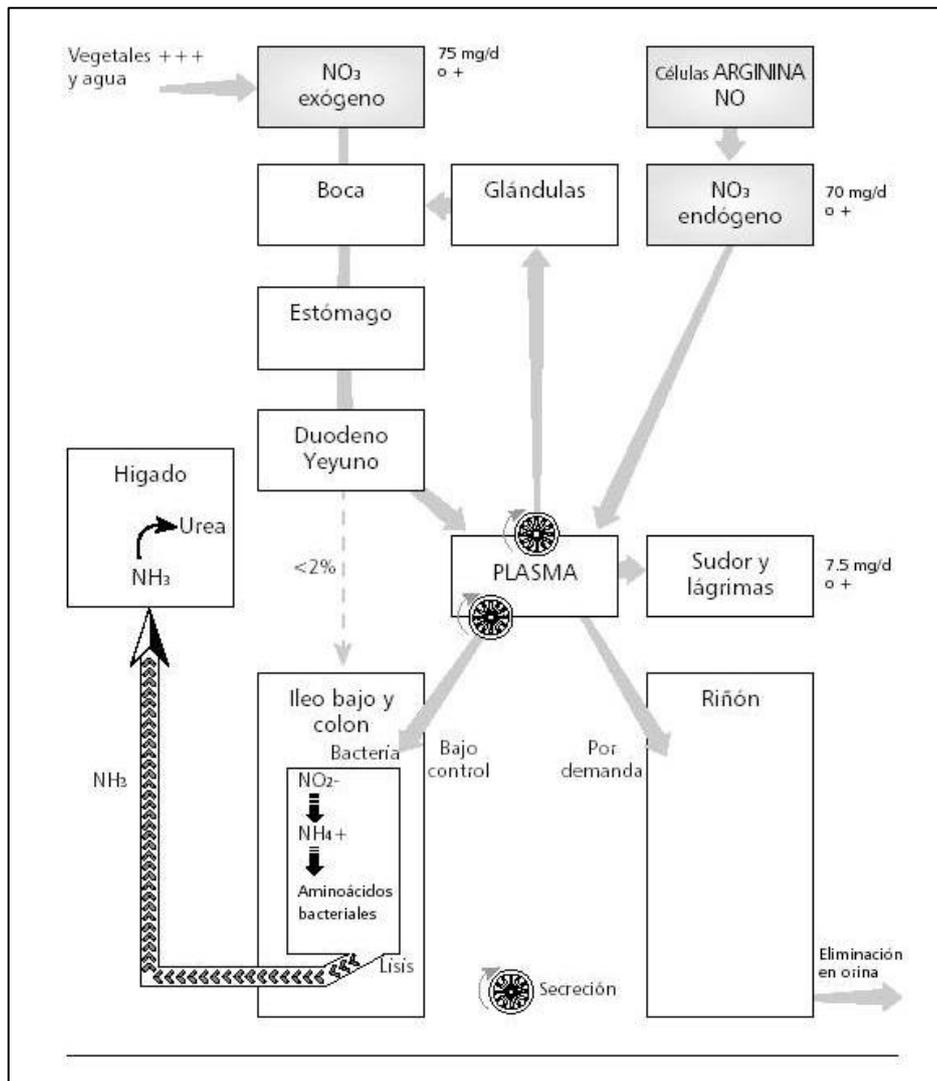


Figura 11: El metabolismo de nitratos en el hombre. Fuente: P. Fritsch y G. de Saint Blanquet 2003

4.1.2. Compuestos de N-Nitrosos

Los compuestos de N-nitroso se caracterizan por la presencia del grupo nitroso (N=O), unido al átomo de nitrógeno secundario y tiene la estructura general que se observa en la figura 12. Estos compuestos pueden tener dos orígenes diferentes: formación endógena, que es una formación natural en el estómago, y los compuestos N-nitroso exógenos, presentes en los alimentos y en los fármacos, debidos a las técnicas de fabricación o de tratamiento.

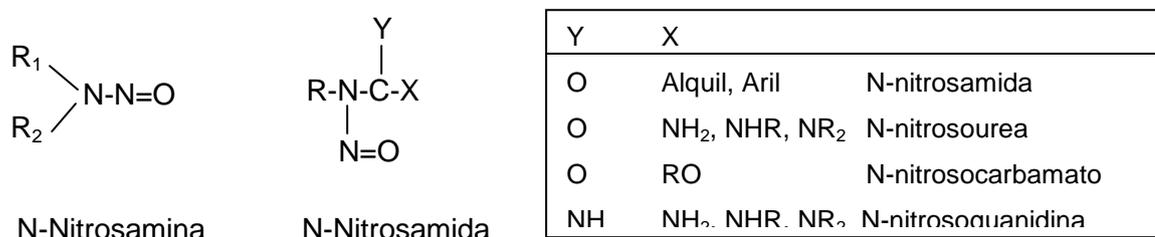


Figura 12: Estructura general de los compuestos N-nitrosos.

Los compuestos de N-nitroso se encuentran entre los tóxicos, mutagénicos y cancerígenos químicos más peligrosos a los que el hombre está expuesto. Esto se debe a su capacidad mutagénica, a su carcinogenicidad elevada y a las muy variadas fuentes y vías de exposición. Los alimentos contienen naturalmente diversas aminas, a partir de las cuales se pueden formar compuestos N-nitroso.

En la tabla 7 se observan las concentraciones (mg.kg⁻¹) de las aminas de mayor importancia por ser precursoras de las N-nitrosaminas más relevantes (Belitz y Grosch, 1997).

Tabla 7: Contenido típico (mg.kg⁻¹) de aminas precursoras de N-nitrosaminas en algunos alimentos. Fuente: Belitz y Grosch, 1997

AMINAS							
Productos	MA	EA	DMA	DEA	PIR	PIP	BA
Espinaca	12,0	8,4	-	1,5	2,5	-	6,1
Repollo	16,6	1,0	-	-	-	-	3,8
Lechuga	37,7	3,3	7,2	-	-	-	11,5
Apio	5,1	6,4	-	-	0,4	-	3,4
Arenque en salmuera	3,4	0,1	7,8	1,9	-	0,7	-
Queso camembert	12,0	4,0	-	-	1,0	-	-
MA: metilamina, EA: etilamina, DMA: dimetilamina, DEA: dietilamina, PIR: pirrolidina, PIP: piperidina, BA: benzilamina							

La propiedad química más significativa de los compuestos de N-nitroso es la facilidad de su síntesis a partir de sus precursores, los cuales pueden ser agentes nitrosantes tales como los NO₂⁻ y óxidos de nitrógeno y los nitrosables (aminas secundarias, terciarias y aromáticas y amidas).

Los compuestos de N-nitroso exógenos aparecen en los estudios de investigación clínica como causantes de tumores. Las principales fuentes son el humo del tabaco, los cosméticos y los productos alimenticios. El Comité conjunto de Expertos en Aditivos Alimentarios FAO/OMS señaló algunos estudios que mostraban que las técnicas de preparación de alimentos para productos cárnicos y productos de pescado, así como verduras deterioradas o mal almacenadas, pueden promover, en determinadas condiciones, la formación

de compuestos de N-nitroso. Un ejemplo de ello, se observa en el caso de la conservación del pescado con nitrito sódico, ya que en su carne se forma con facilidad por ligera descomposición bacteriana, dietilamina y trietilamina, las cuales reaccionan con el NO_2^- originando N-nitrosodietilamina y N-nitrosotrietilamina.

En los embutidos, existen compuestos que contienen piperidina y pirrolidina. La reacción de estas aminas con el NO_3^- contenido en la sal de curado se produce después de un largo contacto, por lo cual cuando estos productos se almacenan durante tiempos prolongados o se cocinan, es posible que se produzcan reacciones de formación de estos cancerígenos. También en la carne adobada se pueden formar nitrosopiperidina y nitrosopirrolidina por reacción de los aminoácidos prolina y lisina con el NO_2^- , cuando se cocina a altas temperaturas.

El proceso de malteado de la cerveza es otra vía de formación de estos compuestos. Esto se debe al desecado de la malta con óxido nitroso, el cual al ponerse en contacto con la dimetilamina que la cerveza contiene puede formar dimetilnitrosamina. También en la leche deshidratada se han detectado dimetilnitrosaminas, al parecer provenientes del procedimiento de desecación al cual se expone. El tratamiento de alimentos con corrientes de humo puede igualmente dar lugar a la aparición de compuestos nitrosos.

4.1.3 Síntesis endógena de NO_3^-

La ingesta de NO_3^- no es la única fuente en el organismo. Actualmente se sabe que la cantidad de NO_3^- excretados por orina es alrededor de cuatro veces superior a la ingerida. La información disponible indica que este exceso no proviene de reservas sino de una biosíntesis endógena que está estimada, en personas sanas, en el orden de 60 mg de NO_3^- por día o 14 mg de N- NO_3^- por día. Estudios realizados con animales libres de gérmenes indican que al menos la mitad de esta síntesis proviene del metabolismo mamífero. Los procesos infecciosos e inflamatorios estimulan la síntesis endógena de NO_3^- .

4.2 Toxicidad de nitratos y nitritos

4.2.1 Toxicidad oral aguda y subcrónica

Los estudios llevados a cabo permiten observar que la toxicidad oral aguda de los NO_3^- en animales generalmente es baja, con valores para la DL_{50} (dosis letal para el 50% de la población en estudio) que pueden oscilar entre los 300 mg.kg^{-1} p.c. (peso corporal) en cerdos hasta los 6.250 mg.kg^{-1} p.c./día en el caso de los ratones. Asimismo, se ha observado que en humanos adultos la DL_{50} oral es de 330 mg.kg^{-1} p.c. (FAO/WHO, 1996), demostrándose que la sensibilidad humana, en cuanto a toxicidad aguda, es similar a la del cerdo.

En el caso del nitrito de sodio, los resultados observados indican que su toxicidad es muy superior a la del nitrato de sodio, con valores para la DL_{50} que oscilan entre 180 mg.kg^{-1} p.c. (para ratas) y 214 mg.kg^{-1} p.c. (en ratones) (EFSA, 2008)

4.2.2 Metahemoglobinemia

Como se ha indicado anteriormente, la toxicidad aguda de los NO_3^- se atribuye principalmente a su reducción a NO_2^- , los cuales provocan la oxidación de la hemoglobina (Hb) de los hematíes a metahemoglobina (MHb), produciendo la denominada metahemoglobinemia. En circunstancias normales, los recién nacidos a término mantienen una concentración de MHb circulante de un 2%, mientras que en los prematuros es de un 2-3%. En adultos el valor es menor a 2% (Gomez Lumbreras et al., 2008).

En el caso de los lactantes, esta enfermedad, también denominada “síndrome del bebé azul”, se caracteriza por la aparición de una coloración gris-azulada en la piel como

consecuencia de un contacto con sustancias oxidantes o por situaciones diversas como causas alimentarias, genéticas, etc. (Herranz y Clerigue, 2003). Según destacan varios autores, en el caso de los lactantes la mayor incidencia de metahemoglobinemia se observa en menores de 4-6 meses, y especialmente en menores de 3 meses, debido a diversos factores como: elevada proporción de Hb fetal, la cual posee una mayor susceptibilidad a ser oxidada a MHb por exposición a NO_2^- ; pH gástrico elevado que favorece el crecimiento de bacterias nitrato-reductoras y, por tanto, una mayor transformación intestinal de NO_3^- en NO_2^- ; una actividad 40-50% menor de la enzima NADH-citocromo b5 metahemoglobina reductasa (reduce la MHb a Hb) y un riesgo mayor de infecciones intestinales (Savino et al., 2006).

La gravedad del cuadro clínico dependerá de la concentración de MHb, con valores inferiores al 20% aparece la cianosis como primer síntoma (cianosis central en tronco, labios y mucosas, generalmente en placas). A concentraciones de MHb superiores al 20%, se produce un incremento de la cianosis mucocutánea, irritabilidad, taquipnea y alteración del estado mental. En los casos más graves tiene lugar la aparición de acidosis metabólica, arritmias cardíacas, coma y convulsiones generalizadas (Laporta Baez et al., 2008) (Herranz y Clerigue, 2003) (Gomez Lumbreras et al., 2008). En este sentido, algunos autores señalan que concentraciones de MHb superiores al 50% ocasionan hipoxemia grave y depresión del Sistema Nervioso Central, mientras que una MHb mayor del 60-70% puede provocar la muerte (Gomez Lumbreras et al., 2008) (Figura 12)

Concentración de MHb (%)	Signos y síntomas
10-20	Cianosis central de tronco y extremidades
20-45	Depresión del SNC (dolor de cabeza, mareo, fatiga), síncope, disnea
45-55	Coma, arritmia, colapso, convulsiones
Mayor a 70	Alto riesgo de muerte

Figura 13: Principales signos y síntomas de la metahemoglobinemia

Los estudios que relacionan la formación de MHb en lactantes y niños de corta edad por consumo de verduras y de alimentos preparados a base de hortalizas como espinaca, zanahoria, acelga, etc., no son abundantes, aunque se han publicado diferentes casos individuales. Por ejemplo, Gomez-Lumbreras et al. (2008) registraron un caso de un lactante de 7 meses (MHb 21%) con cianosis periférica y palidez cutáneo-mucosa, que había ingerido un puré de acelgas elaborado el día anterior.

La EFSA (2010) revisa las asociaciones existentes entre concentración de NO_3^- en aguas de bebida y niveles de MHb en niños, indicando que la metahemoglobinemia no es elevada cuando los contenidos de NO_3^- son inferiores a 100 mg.L^{-1} . Dado que los NO_3^- , tras su reducción a NO_2^- , tienen el potencial de causar metahemoglobinemia, y ello puede ocurrir tras una única exposición, la EFSA destaca que sería apropiado establecer una Dosis Aguda de Referencia (ARfD), con vistas a evaluar la seguridad de una exposición aguda a NO_3^- . (EFSA, 2008). Los datos disponibles hasta la actualidad indican que los niveles de MHb no son elevados en lactantes y niños de 3 meses cuando la exposición a NO_3^- , a través del consumo de agua de bebida y verduras, es inferior a $15 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ p.c./día}$ (EFSA, 2010).

4.2.3 Mutagenicidad

En lo que respecta a los estudios de mutagenicidad, el NO_3^- ha mostrado ser no mutagénico en bacterias y en células de mamíferos *in Vitro*. El NO_2^- , en cambio, si es mutagénico; causa transformaciones en sistemas *in Vitro*; también se encontró este efecto

en un experimento combinado *in vivo-Vitro* con hámster sirio. Los resultados de un experimento *in vivo* fueron controvertidos (FAO/WHO, 2004).

4.2.4 Reproductividad y desarrollo.

La reproductividad para los cerdos de guinea fue afectada sólo en adultos machos con una concentración de 30.000 mg de nitrito de potasio por litro. Así mismo, en otros estudios sobre conejos no se observaron efectos perjudiciales en cuanto a la reproducción en las generaciones sucesivas. También, se pudo comprobar en ovejas y ganado vacuno, que dosis que causaban niveles de metahemoglobina severa no provocaban abortos (Speijers et al. 2004; FAO/WHO, 2004).

Los NO_2^- mostraron ser causantes de fototoxicidad en ratas que lo consumían en agua en concentraciones equivalentes a 200 y 300 mg de nitrito de sodio por kilogramo de peso corporal por día, causando incrementos en los niveles de metahemoglobina materna. Así mismo en otros estudios posteriores, con dosis similares, no se observan efectos de embriotoxicidad. De igual manera no se han observado efectos teratogénicos en estudios realizados sobre ratones y ratas (Speijers et al. 1989; FAO/WHO, 2004).

4.2.5 Toxicidad crónica. Carcinogenicidad

Desde el punto de vista toxicológico, los NO_3^- intervienen en la formación de nitrosaminas y, por tanto, existe el potencial cancerígeno (AESAN, 2006). La Agencia Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer (IARC) ha realizado recientemente una evaluación de los NO_3^- y NO_2^- ingeridos en la dieta y los ha clasificado en la categoría 2A, es decir que probablemente son carcinógenos en humanos (IARC, 2010).

Los estudios de carcinogenicidad con NO_3^- fueron negativos a excepción de la administración de dosis extraordinariamente altas de NO_3^- y precursores nitrogenados. En este mismo sentido, los estudios epidemiológicos no han mostrado evidencias de la existencia de una asociación en humanos entre la exposición a NO_3^- a través de la dieta o agua de bebida y el riesgo de padecer cáncer (JECFA, 1995, 2003) (EFSA, 2008) (IARC, 2010). No obstante, en el caso del nitrito de sodio un estudio llevado a cabo en ratas y ratones puso de manifiesto la posible existencia de actividad carcinogénica (NTP, 2001). Según la IARC (2010) existen evidencias limitadas en humanos sobre la carcinogenicidad de NO_2^- presentes en los alimentos, estando asociados a un incremento de la incidencia de cáncer de estómago.

En el caso de los compuestos N-nitroso, no existen evidencias cuantitativas sobre la formación endógena de compuestos N-nitroso carcinogénicos a partir de los NO_2^- y compuestos N-nitrosables ingeridos en la dieta. Por tanto, no se considera apropiado evaluar el riesgo de los NO_2^- en base a la formación endógena de estos compuestos N-nitroso (JECFA, 2002). Además, cuando los NO_3^- se consumen en una dieta normal y variada que contenga verduras, de forma concomitante se ingieren otras sustancias bioactivas que actúan como antioxidantes (por ejemplo, vitaminas C y E), que son eficientes inhibidores de la formación de Mhb y pueden inhibir en parte la formación endógena de nitrosaminas (EFSA, 2010).

4.2.6 Ingesta Diaria Admisible

Tomando como referencia una NOEL (nivel sin efecto observable - No observed effect level) de $370 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ p.c./día}$, expresado como ion NO_3^- , y un factor de seguridad de 100, JECFA (1995) estableció una Ingesta Diaria Admisible (IDA) de $5 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ p.c.}$ expresada como nitrato de sodio o $3,7 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ p.c.}$ expresada como ión NO_3^- . Esta IDA ha sido objeto de reevaluación, en base a los nuevos estudios disponibles, concluyéndose que los efectos

tóxicos observados son consecuencia de la conversión in vivo de los NO_3^- a NO_2^- , no aportándose datos suficientes para modificar la IDA asignada.

Para el caso de los NO_2^- se estableció una IDA de $0,07 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ p.c.}$ expresada como ión NO_2^- , destacando su capacidad para causar metahemoglobinemia. (JECFA, 2003). Posteriormente, el Panel de Contaminantes de la Cadena Alimentaria (CONTAM) de EFSA concluyó que en ausencia de nuevos datos toxicológicos significativos, no existía la necesidad de reconsiderar dichas IDA. (EFSA, 2008)

CAPÍTULO II

Contenido de nitratos en lechuga (*Lactuca sativa L.*) cultivada en la 3ª Zona de Riego del Río Mendoza

1. INTRODUCCIÓN

El concepto de calidad en hortalizas está dejando de ser concebido sólo en relación con el aspecto externo del producto. El nivel de pesticidas y fertilizantes empleados durante su producción, el valor nutritivo y el contenido de sustancias nocivas para la salud en los órganos comestibles, se consideran factores cualitativos de importancia de calidad e inocuidad alimentaria.

Las hortalizas de hoja comprenden un grupo de especies de muy diverso origen, cuyo consumo aporta a la dieta fundamentalmente minerales y vitaminas. Es la especie aprovechable por sus hojas más importante a nivel mundial. Además contiene numerosas vitaminas y elementos minerales, y por su bajo aporte calórico es indispensable en cualquier régimen dietético (Maroto, 2000).

La lechuga (*Lactuca sativa L.*), es una verdura de consumo mundial y su producción ha ido en aumento, siendo en nuestro país la hortaliza más consumida en ensaladas, según informes del Mercado Central Argentino (Sanchez, 2010).

Uno de los aspectos más importantes a tener en cuenta en el cultivo de hortalizas de hoja y que puede tener una repercusión negativa sobre la salud humana, es el posible exceso de acumulación de NO_3^- , que se produce cuando la absorción excede a la reducción dentro de la planta. (Rincón et al., 2002). Esta problemática ha sido ampliamente estudiada en lechuga y se ha constatado que puede verse incrementada por diversos factores como un exceso en la fertilización nítrica, el genotipo del cultivar empleado o factores medioambientales, como la temperatura, la intensidad lumínica o la humedad relativa (Torres et al., 2012)

Los NO_3^- son relativamente poco tóxicos por sí solos, pero aproximadamente el 5% del NO_3^- ingerido se puede convertir en NO_2^- en la saliva y el tracto gastrointestinal, y principalmente en el estómago (Socaciu, 2007) El efecto más conocido que tienen es la capacidad de reaccionar con la hemoglobina, generando productos oxidativos y metahemoglobina, ésta deteriora la entrega de oxígeno y produce problemas respiratorios, principalmente en infantes (Mensinga et al., 2007)

Los NO_2^- , ingeridos como tal o provenientes de la reducción de NO_3^- en el estómago, se convierten en ácido nitroso, el cual puede reaccionar con compuestos N-nitroso generando sustancias cancerígenas, como las nitrosaminas.

Según la OMS/FAO, el contenido aceptable de NO_3^- en la ingesta diaria corresponde a $3,65 \text{ mg kg}^{-1}$ de peso vivo, es decir, en el caso de una persona con un peso de 70 kg su ingesta diaria no debería superar los 259 mg. De acuerdo a la OMS y la legislación de la Comunidad Económica Europea (CE) N° 563/2002 (FSIS 74/05), obtener plantas de lechuga con tenores adecuados de NO_3^- , es una cuestión de calidad y seguridad alimentaria e inocuidad.

El agua utilizada para riego representa entre el 70-95% del total de usos del agua y juega un papel esencial en la producción, como así también en la seguridad de los alimentos, tanto de origen vegetal como animal. Desde el punto de vista agronómico, la FAO define el agua como un elemento esencial para el desarrollo agrícola sostenible, por lo que su aprovechamiento, utilización y conservación racionales deberían constituir elementos en cualquier estrategia de desarrollo.

El concepto de calidad de agua de riego hace referencia a las características de la misma que puedan afectar los recursos suelo y cultivo, después de su uso a largo plazo. Debido a sus propiedades estructurales, el agua puede disolver y/o mantener en suspensión diversas sustancias, muchas de las cuales son potencialmente tóxicas para las plantas, en tanto que otras sustancias como los NO_3^- , pueden ser acumulados por los vegetales.

Las fuentes de contaminación por NO_3^- en suelos y aguas (tanto superficiales como subterráneas) son muy diversas, están asociadas generalmente a actividades agrícolas y ganaderas; como así también, a ciertas actividades industriales. No obstante, también existe una contaminación por NO_3^- de tipo puntual; en este caso la fuente de contaminación es más fácil de identificar ya que se suelen localizar en zonas de extensión restringida y frecuentemente se asocian con vertidos urbanos o industriales.

En la provincia de Mendoza, la actividad agrícola se concentra en cuatro oasis bajo riego que ocupan sólo el 3,4% de la superficie y en ellos se desarrolla la mayor parte de la actividad económica y humana (Bermejillo et al., 2009). En el oasis norte irrigado por el río Mendoza, el área conocida como Cinturón Verde, se caracteriza por la producción intensiva de hortalizas, las cuales son consumidas en su gran mayoría dentro de la provincia, como así también en provincias vecinas.

Con este trabajo se pretende evaluar los contenidos de NO_3^- en plantas comerciales de lechuga cultivadas en el Cinturón Verde de Mendoza y verificar si existe correlación entre los tenores de NO_3^- en planta y los valores de NO_3^- presentes en el agua de riego utilizada.

2. HIPOTESIS Y OBJETIVOS

2.1. Hipótesis de Trabajo.

- Existe una variación estacional en la concentración de nitratos según la especie y el cultivar, y está fuertemente influenciada por las características climáticas.
- Existe correlación entre el contenido de nitrato en hoja y el contenido de nitrato en el agua de riego.

2.2. Objetivo General:

- Evaluar los contenidos de nitratos en lechuga cultivada con agua de riego superficial, durante cuatro ciclos agrícolas, en la 3ra Zona de Riego del Río Mendoza.

2.3. Objetivos Particulares:

- Evaluar los contenidos de nitratos en plantas de lechuga (*Lactuca sativa L. var capitata*) cultivadas en propiedades ubicadas en el área de estudio (3ra Zona de Riego del Río Mendoza) durante cuatro ciclos agrícolas (período 2006-2010)
- Evaluar valores de nitratos en aguas de riego utilizadas durante el período antes mencionado.
- Verificar la posible correlación entre los contenidos de nitratos hallados en las lechugas y el agua de riego utilizada.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Sitio de muestreo

La zona de estudio comprende las localidades de Los Corralitos, La Primavera, Kilómetro 8, Mundo Nuevo y Las Violetas, y corresponde al área administrada por la Asociación de Inspecciones de Cauce de la 3ª Zona de Riego del Río Mendoza. Este organismo concentra a la totalidad de las Inspecciones de Cauce que tienen derecho de riego de "arroyos y vertientes". El aporte de aguas de vertiente se realiza a través del canal Vertiente Corralitos, el Arroyo Fernández y el Canal Tulumaya, sistema que se une al canal Chachingo por el canal Lechería. El área recibe en forma permanente los aportes de vertientes, y eventualmente de desagües industriales, pluviales y de drenaje.

Para identificar el área de estudio se recurrió a la información cartográfica disponible del Instituto Geográfico Militar (IGM) escala 1:50.000, a fotografías aéreas, información suministrada por tomeros e inspectores, y datos satelitales del satélite Landsat TM. Con todo ello se delimitó la superficie actual del área, mediante combinación de bandas para generar el falso color compuesto y algunos índices de vegetación.

Posteriormente se decidió focalizar el muestreo en el área de influencia de la hijuela Montenegro, la cual riega unas 500 ha y posee la particularidad de utilizar aguas de vertientes, de perforaciones subterráneas y del río Mendoza. Además los excedentes de riego y drenaje vuelcan al Arroyo Leyes, el que actúa como desagüe natural del Cinturón y a su vez estas aguas se reutilizan en la zona baja para el riego de fincas en el Departamento de Lavalle.

Sobre la base de las fotografías aéreas y las imágenes satelitales, se actualizó el uso del suelo para identificar los cultivos hortícolas presentes y diseñar el muestreo estadístico de propiedades, en las que se analizaron las características del suelo y el agua. En la figura que sigue se observa, en un esquema del área, los sitios de muestreo de agua, dentro de la zona de estudio.



Figura 14: Esquema del área del estudio, con indicación de los puntos de muestreo
Nota: las referencias de los puntos de muestreo se explican en el texto a continuación

En la siguiente tabla se describen los puntos de muestreo seleccionados para la extracción de las muestras de agua y lechuga (Tabla 8)

Tabla 8: Puntos de muestreo seleccionados para la extracción de muestras

AGUA	LECHUGA (<i>variedad capitata</i>)	
	Propiedad	Tipo comercial
P: canal Pescara, intersección con Carril Nacional (ingreso a zona de estudio)	Finca Juarez Finca Salazar	Morada Arrepollada
B: canal Pescara al final de su recorrido, en el punto Becaces	Finca Becaces Finca Puebla	Morada Arrepollada - Mantecosa
PB: canal Chachingo, intersección con Carril Nacional (ingreso a zona estudio)	Finca Ríos Finca Puente Blanco	Mantecosa - Morada Arrepollada
CH: tramo medio del canal Chachingo, frente a la Villa Corralitos	Finca Pino Finca Moreno	Arrepollada Morada - Mantecosa
M: tramo final del canal Chachingo, donde nace la Hijueta Montenegro	Finca Bosco Finca Manzano	Arrepollada Morada- Mantecosa

3.2 Obtención* y acondicionamiento de las muestras

- **Agua:** en cada punto de muestreo, se recolectó 250 mL de agua, por triplicado, en envase plástico perfectamente limpio, el cual se enjuagó varias veces con el agua problema, teniendo la precaución, al momento de la extracción, de ubicar el recipiente colector en un lugar donde la misma circulara sin impedimento y a una profundidad media, entre el fondo y la superficie.

Las muestras fueron trasladadas al laboratorio refrigeradas y conservadas a -18°C hasta el momento de su análisis.

- **Lechuga:** en cada propiedad se extrajeron tres plantas de lechuga, de cada tipo comercial en estado óptimo de madurez, las cuales fueron embolsadas y etiquetadas convenientemente.

En el laboratorio se determinó el peso de la planta entera y ½ planta, ésta se colocó en bandeja de aluminio previamente tarada y se llevó a estufa con circulación de aire forzado a 65°C hasta peso constante, para la determinación del porcentaje de materia seca. Posteriormente se molió con molinillo tipo Wiley hasta que pasara por malla de 40 mesh, guardándose en bolsas de polietileno para la determinación de nitratos.

* Las muestras de agua y plantas de lechuga, se extrajeron mensualmente, durante los cuatro ciclos agrícolas estudiados (2006-2010)

3.3. Determinaciones analíticas

3.3.1 Determinación de nitratos en lechuga: Método colorimétrico por transnitración con ácido salicílico

Para la cuantificación de nitratos en vegetales hay numerosas técnicas, no existiendo unanimidad entre los analistas en la selección de la más adecuada. La destilación por arrastre con vapor, ha sido utilizada como método standard, pero actualmente se prefieren la colorimetría por nitración con ácido salicílico y la potenciometría con electrodo selectivo para NO₃⁻. Además, se ha observado que el método colorimétrico es adecuado para muestras que contienen entre 500 a 30000 µg N-NO₃⁻ g⁻¹ de peso seco, encontrándose el óptimo de la linealidad entre 1 y 60 mg N-NO₃⁻ (Cataldo et al., 1975)

Se seleccionó el método colorimétrico, ya que presenta un alta correlación ($r = 0,90$) con la destilación por arrastre con vapor, considerada como metodología de referencia (Valdés et al., 2004)

Fundamento:

El complejo formado por nitración de ácido salicílico bajo condiciones fuertemente ácidas presenta máxima absorción a una longitud de onda de 410 nm en soluciones básicas ($\text{pH} > 12$). La absorbancia del cromóforo es directamente proporcional a la cantidad de NO_3^- presente en la muestra (relación lineal). Los iones NH_4^+ , NO_2^- y Cl^- no interfieren en la determinación. Esta técnica es apropiada para muestras con un amplio rango de concentraciones de nitratos que contengan entre 500 a 30.000 μg de NO_3g^{-1} de peso seco (Cataldo *et al.*, 1975).

Equipo utilizado: Espectrofotómetro Beckman modelo DB de doble cubeta, cuyas especificaciones son las siguientes:

- Rango de longitud de onda: 200 a 800 nm
- Ancho de banda espectral: $4\text{ nm} \pm 1\text{ nm}$
- Precisión: $\pm 1\text{ nm}$
- Resolución: 1nm
- Selección de longitud de onda: manual
- Sistema óptico: sistema fotométrico de doble haz, muestra y referencia
- Modo de operación: Transmitancia (%), Absorbancia (%)
- Resolución fotométrica: 0,1 (Abs); 1 % (Transmitancia)

Preparación del extracto:

- Se pesó 0,5 g de muestra perfectamente molida y seca a 65 °C (con aire forzado).
- Se hirvió durante 30 minutos (ebullición lenta y suave) en plancha con 50 mL de agua destilada en erlenmeyer de 250 ml. Durante la ebullición, se agregó agua destilada para evitar que se reduzca el volumen.
- Se filtró la muestra y se transfirió cuantitativamente a matraz de 50 mL, lavando con poca agua.
- Se llevó a volumen con agua desmineralizada, se tapó, homogeneizó y se conservó heladera a 4 °C.

Colorimetría

- Se tomó (a temperatura ambiente de 20° C ($\pm 2^\circ$ C) 0,2 mL de extracto por duplicado en dos tubos de vidrio de 25 mL; uno de los tubos fue el blanco y el otro la muestra problema. Se trabaja en tubos con muestra y contra muestra, a fin de eliminar el efecto del color que presentan algunos extractos.
- Se agregó 0,8 mL de la solución de ácido salicílico al 5 % (p/v) en SO_4H_2 al tubo problema y 0,8 ml de ácido SO_4H_2 concentrado sin ácido salicílico al blanco.
- Se agitó el tubo inmediatamente después de agregados los ácidos (sobre todo aquel con salicílico) en un agitador.
- Se esperó 20 min. Se agregó muy lentamente 19 mL de NaOH 2 N con bureta automática homogeneizándose luego.
- Se dejó enfriar a temperatura ambiente durante 12-24 h. Una vez realizada la colorimetría, el color es estable durante 48 hs.
- Se leyó la absorbancia en espectrofotómetro a 410 nm. Cada muestra con su blanco, se leyó por triplicado.

Reactivos:

- Solución de NaOH 2N: se pesó 80 g de NaOH y llevado a 1000 mL con agua desmineralizada.
- Solución de ácido salicílico al 5 % en ácido SO_4H_2 : se pesó 5 g de ácido salicílico y se disolvió en 100 mL de ácido sulfúrico concentrado.

- Curva de calibración:

Se construyó una curva de calibración con concentraciones conocidas de nitratos (Tabla 9), a partir de una solución madre ($1000 \text{ mg L}^{-1} \text{ NO}_3^-$) con una sal p.a. de KNO_3 , y llevadas a 10 - 20 - 30 - 40 - 50 - 75 - 100 mg de NO_3^- por L y el cero (con agua desmineralizada) y se leyeron posteriormente en espectrofotómetro (Figura 14)

Tabla 9: Curva de calibración con concentraciones conocidas de NO_3^- , a partir de una solución madre ($1000 \text{ mg L}^{-1} \text{ NO}_3^-$)

$\text{mg L}^{-1} \text{ NO}_3^-$	Absorbancia
0	0
10	8,09
20	16,74
30	25,18
40	35,65
50	43,18
75	67,78
100	82,39

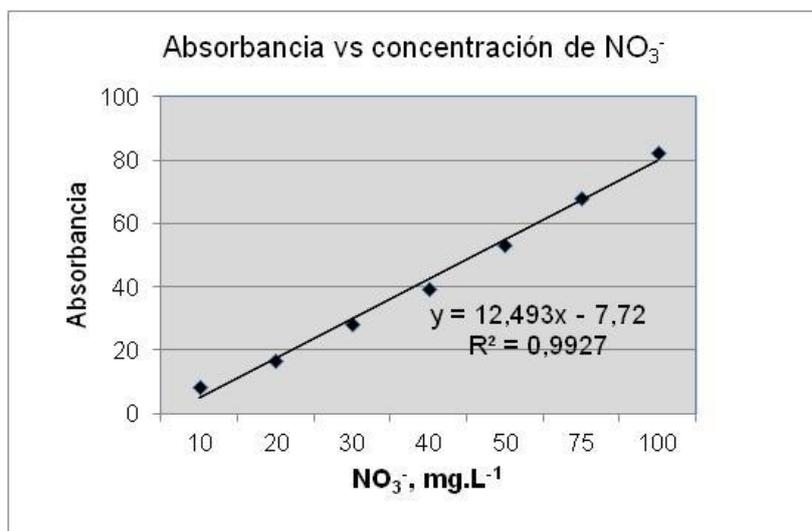


Figura 15: Curva de calibración de NO_3^- y ajuste de la ecuación lineal

Con los datos de la curva patrón se ajustó una línea recta (principio de linealidad), obteniéndose la pendiente de la misma según la siguiente ecuación:

$$Y = F_c \cdot X$$

Donde:

F_c = Pendiente de la función

X = Concentración de NO_3^- (mg L^{-1})

El coeficiente angular de esta recta se utilizó para calcular las concentraciones finales de los nitratos presentes en las muestras analizadas, mediante la siguiente fórmula:

$$\mu\text{g N-NO}_3^- \text{ g}^{-1} = F_c \cdot \text{Abs}_{\text{muestra}} \cdot 50 \text{ mL} / \text{peso de muestra (g)}$$

$$\mu\text{g NO}_3^- \text{ g}^{-1} = \mu\text{g N-NO}_3^- \text{ g}^{-1} \cdot 4,43$$

Donde:

$\text{Abs}_{\text{muestra}}$ = Absorbancia de la muestra

4,43 = Factor de conversión de N-NO₃⁻ a NO₃⁻

3.3.2 Determinación de nitratos en agua: Método colorimétrico de reducción con cadmio

Fundamento:

El NO₃⁻ de la muestra es reducido a NO₂⁻ por el cadmio metálico. El NO₂⁻ formado reacciona en medio ácido dado por el ácido sulfanílico para formar un compuesto intermedio (sal diazoada), que forma un complejo de color ámbar con el ácido gentísico, leyéndose la absorción de dicho complejo a 430 nm. Los iones NO₂⁻ y Fe⁺³ interfieren en todas sus concentraciones, mientras que los iones Cl⁻ causan resultados erróneos sólo cuando se encuentran en niveles superiores a los 100 mg L⁻¹. El rango de cuantificación del método es de 0,1 a 10 mg.L⁻¹ de NO₃⁻ (Método Hach N° 8171). La técnica seleccionada es considerada método oficial para la cuantificación de NO₃⁻ en agua. (APHA, 2005).

Equipo utilizado: Espectrofotómetro Portátil Hach DR/2400 cuyas especificaciones son las siguientes:

- Rango de longitud de onda: 400 a 880 nm
- Ancho de banda espectral: 4 nm ± 1nm
- Precisión: ± 1nm
- Resolución: 1nm
- Calibración de longitud de onda: automática, mediante filtro interno
- Selección de longitud de onda: automática, basado en el método seleccionado.
- Sistema óptico: concéntrico para espectroscopía multicanal.
- Modo de operación: Transmittancia (%), Absorbancia (%), Concentración
- Resolución fotométrica: 0,001 (Abs); 0,1 % (Transmittancia)

Procedimiento:

- Se seleccionó en el equipo, el número de programa correspondiente a la determinación de NO₃⁻ (N°353)
- Calibración: se realizó en forma automática al encender el instrumento, ya que el mismo tiene en su memoria la curva de calibración para NO₃⁻
- Se colocó 10 mL de agua problema en la cubeta del espectrofotómetro.
- Se adicionó el reactivo NitraVer 5 y se agitó durante 1 minuto
- Se dejó en reposo 5 minutos para desarrollo del complejo coloreado.
- En otra cubeta se colocó 10 mL de agua problema (este es el blanco o cero)
- Se colocó la cubeta con el cero en el espectrofotómetro y se presionó en el CERO (en el display del aparato se debe leer 0 mg L⁻¹)
- Se colocó la cubeta con la muestra en el espectrofotómetro y se leyó el contenido de NO₃⁻, expresando la lectura en mg.L⁻¹ de N- NO₃⁻ y en mg.L⁻¹ de NO₃⁻

Reactivos:

- Reactivo en polvo NitraVer 5: compuesto por cadmio, ácido gálico, sulfato de magnesio, fosfato monobásico de potasio y ácido sulfanílico (Kit de 100 unidades)

3.4. Análisis estadístico de los datos

Los datos obtenidos en la totalidad de las muestras estudiadas, fueron sometidos a un análisis estadístico ANOVA, y las medias comparadas con el test de Tukey ($\alpha = 0,05$), utilizando el software INFOSTAT. Las variables analizadas fueron ciclo agrícola, estación, tipo comercial de lechuga y puntos de muestreo de agua.

Se verificó si existía asociación entre el contenido de nitratos en el agua de riego y el contenido de nitratos en la lechuga, mediante método de correlación lineal.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Relevamiento de los contenidos de NO_3^- en plantas de lechuga

En la figura 16 se presenta la distribución de frecuencias relativas de los contenidos de NO_3^- en el total de las muestras vegetales analizadas. Se observa que el 90% de los datos se encuentran entre 280 y 1744 $\mu\text{g NO}_3^- \text{g}^{-1}$ p.f., siendo el valor modal 1126 $\mu\text{g NO}_3^- \text{g}^{-1}$ p.f. Los contenidos de NO_3^- presentaron un coeficiente de variación de 36%, con una media de $1012 \pm 366 \mu\text{g g}^{-1}$ p.f.

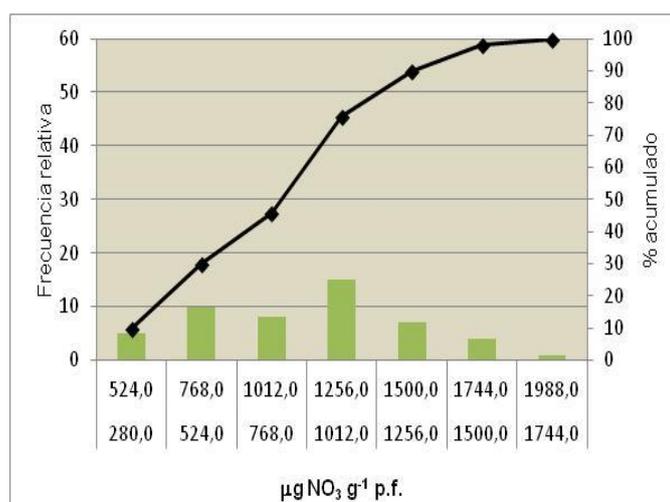


Figura 16: Distribución de frecuencias relativas de los contenidos de NO_3^- en el total de las muestras de lechuga analizadas (*Lactuca sativa L. var capitata*)

Estos tenores se encuentran por debajo de los límites máximos establecidos por la Unión Europea (3000 $\mu\text{g NO}_3^- \text{g}^{-1}$ p.f. en cultivos de verano y 4000 $\mu\text{g NO}_3^- \text{g}^{-1}$ p.f. en cultivos de invierno), en hortalizas de hoja para consumo en fresco (Reglamento CE N°1258/2011). Dentro de las lechugas arropolladas, Grainfenberg, encontró que existe un comportamiento contradictorio: la lechuga iceberg acumuló mayor contenido de NO_3^- en el inicio del verano disminuyendo hacia el otoño, mientras que en otras variedades de lechuga arropollada tipo clásica, a medida que se reducían las horas de luz y las temperaturas, aumentaban los tenores de este compuesto. La misma situación se observó en variedades cultivadas en invernadero pero los valores medios aumentaron considerablemente (Grainfenberg et al., 1990)

Muramoto, en trabajos realizados con distintas variedades de lechuga compradas en supermercados de California (Estados Unidos), encontró valores medios para la lechuga de hoja de $960 \mu\text{g g}^{-1}$ p.f. y en la lechuga romana $1900 \mu\text{g g}^{-1}$ p.f. (Muramoto, 1999).

Otras hortalizas cultivadas en Mendoza como el radicchio y la espinaca, arrojaron valores medios aproximados de $400 \mu\text{g NO}_3^- \text{g}^{-1}$ p.f. y $2000 \mu\text{g NO}_3^- \text{g}^{-1}$ p.f. respectivamente (Albornoz, 2000; Filippini, 1996)

Los valores obtenidos en el presente estudio son inferiores a los encontrados en un monitoreo realizado en Reino Unido, durante los años 2000, 2001 y 2002, cuyos tenores máximos para verano del 2000 fueron de $4600 \mu\text{g g}^{-1}$ p.f. y en invierno valores máximos de $4700 \mu\text{g g}^{-1}$ p.f., mientras que en el invierno de 2002, se obtuvo un valor máximo de $5045 \mu\text{g g}^{-1}$ p.f. (FSIS 63/04).

A nivel nacional, en un estudio de evaluación de la calidad de lechuga respecto a su contenido de nitratos, realizado en lechuga cressa cultivada en la provincia de La Pampa, Argentina, se encontraron valores medios de NO_3^- de 2026, 1867 y $1487 \mu\text{g g}^{-1}$ p.f., para los meses de febrero, junio y agosto de 2006 respectivamente (Sanchez, 2010).

Las cantidades y formas de nitrógeno aportadas al cultivo influyen en la concentración de NO_3^- en planta (Pomares, 2000; Van der Boon et al., 1990), aumentando la acumulación con formas nítricas. El cinturón Verde de Mendoza, zona de donde provienen las muestras analizadas, se caracteriza por poseer tierras ricas en materia orgánica, donde se emplean preferentemente como fertilizantes nitrogenados la urea y el sulfato de amonio. Los valores de NO_3^- encontrados en este estudio estarían relacionados principalmente al manejo de la fertilización y tipo de suelos de la zona. El uso de fertilizantes amoniacales, ureicos u orgánicos podrían favorecer una disminución del tenor de NO_3^- , si bien en la mayoría de los agroecosistemas el pasaje de la forma reducida a la nítrica es veloz (Filippini, 1996).

En condiciones de baja radiación global (cultivos de invierno), bajas cantidades de nitrógeno aportadas al cultivo producen elevadas concentraciones de NO_3^- en planta, teniendo poca significación el incremento de la cantidad de nitrógeno aportado al cultivo. En condiciones de cultivo con alta radiación global (cultivos de primavera y verano), la concentración de NO_3^- aumenta en relación con la cantidad de nitrógeno aportado en la fertilización (Roorda Van Eysinga y Van der Meijs, 1985).

En la figura 17 se observan los contenidos promedios de NO_3^- ($\mu\text{g g}^{-1}$ p.f.) y los intervalos de confianza, en cada uno de los ciclos agrícolas ensayados. En el primer ciclo se encontró un mayor contenido medio de NO_3^- , observándose una leve disminución en los siguientes ciclos. No se encontraron diferencias significativas ($\alpha=0,05$) entre los ciclos agrícolas considerados. (Tabla 10)

Tabla 10: Valores medios de NO_3 ($\mu\text{g g}^{-1}$ p.f.) en lechuga

Ciclo agrícola	NO_3 , $\mu\text{g g}^{-1}$ p.f.	n	
1°	1117,24	16	A
2°	1051,82	13	A
3°	940,91	10	A
4°	922,28	11	A

Letras iguales indican no diferencia significativa. Test de Tuckey ($\alpha= 0,05$).

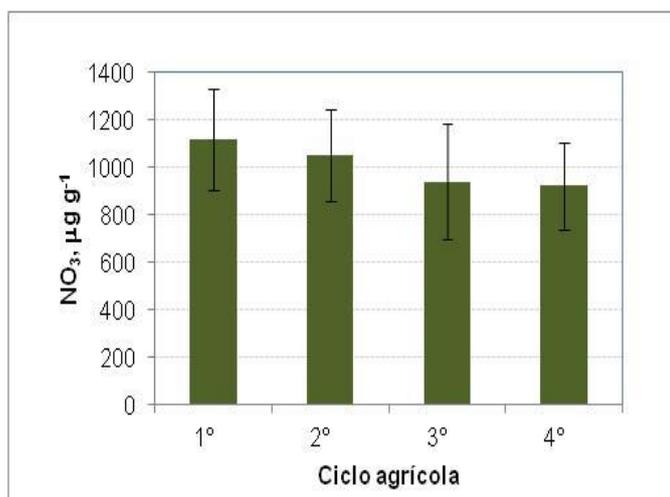


Figura 17: Contenidos medios de NO₃⁻ por ciclo agrícola

En cuanto a los contenidos medios de NO₃⁻ a lo largo del año (Figura 18), se observa en general un comportamiento variable entre las distintas fechas de muestreo. En el caso de los valores máximos y mínimos obtenidos, las diferencias fueron significativas. El valor máximo se obtuvo en el mes de julio y fue de 1341 µg NO₃⁻ g⁻¹ p.f., en tanto que el mínimo correspondió al mes de noviembre siendo de 526 µg NO₃⁻ g⁻¹ p.f.

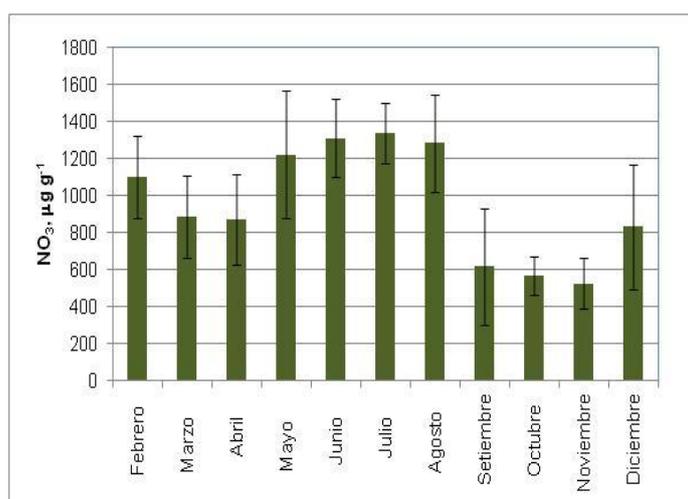


Figura 18: Evolución mensual de los contenidos medios de NO₃⁻

Numerosas experiencias realizadas sobre la acumulación de NO₃ en lechuga y otros cultivos hortícolas (apio, espinacas, nabos, acelgas, cebollas, etc.) han demostrado que factores ambientales, cantidad y forma del N en la fertilización y características genéticas influyen en la acumulación de NO₃⁻.

Si se analizan las variaciones estacionales de NO₃⁻ (Figura 19), se observan que los mayores contenidos medios se encontraron en invierno y otoño, (1315 µg g⁻¹ p.f. y 1032 µg g⁻¹ p.f. respectivamente).

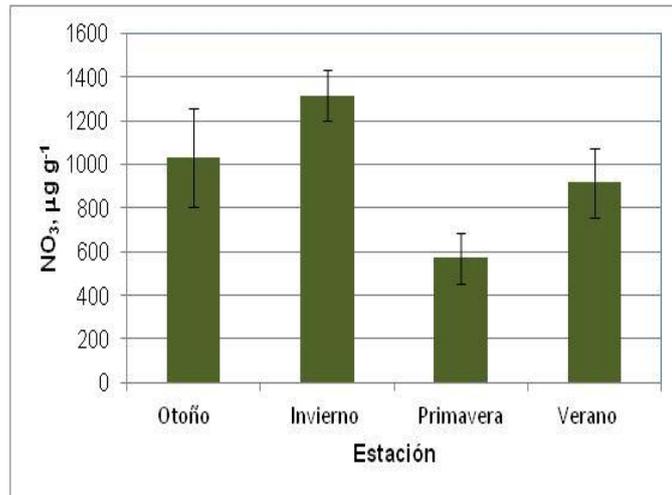


Figura 19: Evolución estacional de los contenidos medios de NO₃⁻ en el total de la especie

De los factores ambientales, la radiación global durante el ciclo de cultivo es el que mayor influencia ejerce (Steingrower et al., 1993). En ciclos de cultivo con baja radiación global (cultivos de invierno), la actividad de la enzima nitrato-reductasa es baja, dando lugar a elevadas concentraciones de NO₃⁻ en planta. Por el contrario, en ciclos de cultivo con alta radiación global (cultivos de primavera), la actividad de la enzima es alta, disminuyendo la concentración de NO₃⁻ en hojas (Rozek y Wojciechowska, 1990; Steingrower et al., 1993), e incrementando la concentración de ácidos orgánicos (Blom-Zandstra y Lampe, 1983 y 1985; Lacertosa et al., 1997; Wheeler et al., 1998)

Se observaron diferencias significativas entre otoño e invierno comparados con primavera, en los tipos comerciales estudiados (Tabla 11). La lechuga mantecosa tiende a acumular mayores contenidos de NO₃⁻ en el otoño, mientras que los tipos arropollada y morada lo hacen en invierno. (Figuras 20, 21 y 22)

Tabla 11: Valores medios de NO₃⁻ (µg g⁻¹ p.f.) en los tipos comerciales de lechuga estudiados

Estación	NO ₃ ⁻ , µg g ⁻¹ p.f.	n	
Invierno	1315,71	8	A
Otoño	1032,71	11	A B
Verano	915,50	17	B
Primavera	570,63	14	C

Letras iguales indican no diferencia significativa. Test de Tuckey (α= 0,05).

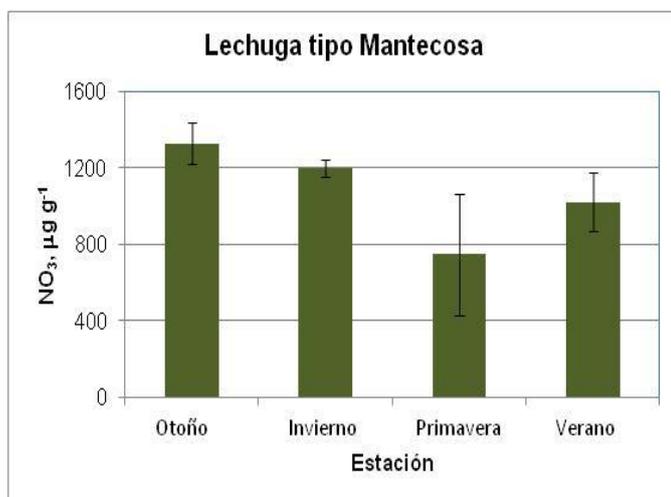


Figura 20: Evolución estacional de los contenidos medios de NO₃⁻ en lechuga tipo mantecosa

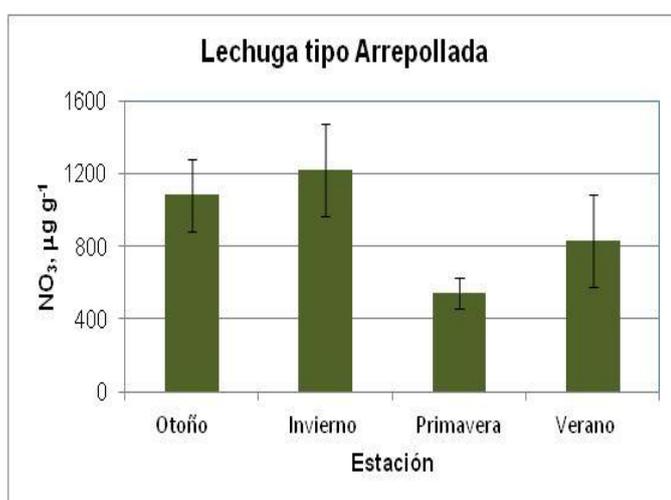


Figura 21: Evolución estacional de los contenidos medios de NO₃⁻ en lechuga tipo arrepollada

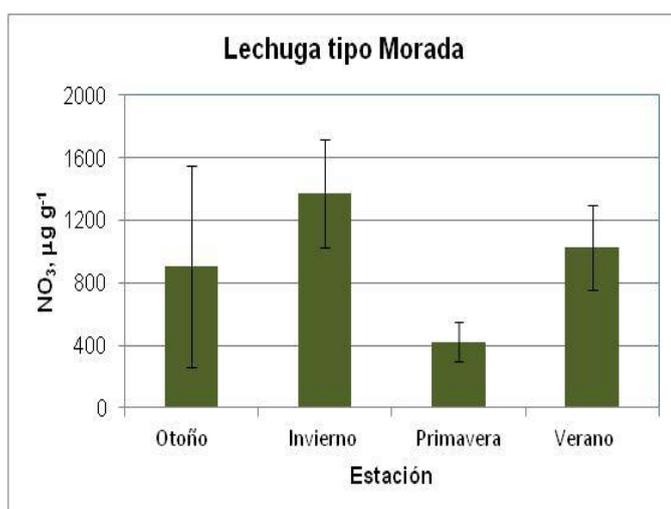


Figura 22: Evolución estacional de los contenidos medios de NO₃⁻ en lechuga tipo morada

Finalmente, en la figura 23 se presenta la distribución de los tenores de NO_3^- en los distintos tipos comerciales de lechuga analizados. La lechuga morada y mantecosa presentan valores medios superiores que la arrepollada. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas ($\alpha=0,05$) entre los tipos estudiados.

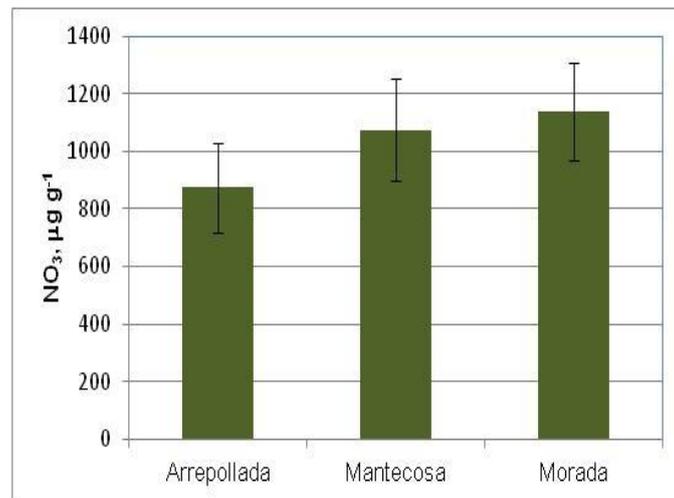


Figura 23: Contenidos medios de NO_3^- en los tipos comerciales de lechuga analizados

El genotipo también se ha señalado como uno de los factores determinantes en la acumulación de NO_3^- , por lo cual, el contenido de NO_3^- puede variar dentro de la especie, en función de los cultivares empleados. En ensayos realizados con minilechuga se observó una clara influencia del cultivar en la concentración de NO_3^- así como su interacción con las condiciones de cultivo existentes en los distintos ciclos (Torres et al., 2013).

En un estudio realizado en lechuga, se obtuvo que la de tipo "Iceberg" acumuló una cantidad de NO_3^- diez veces superior a la de tipo "Romana". La mayor o menor acumulación de NO_3^- parece ser un carácter hereditario cuantitativo, que se manifiesta a través de diversos mecanismos fisiológicos más o menos independientes (Gonella et al., 2002). Sin embargo, en el presente trabajo, se verificó una mayor acumulación de NO_3^- en cultivares de hoja lisa, respecto a los que se caracterizan por poseer hojas crespas (arrepollada).

Estudios realizados en espinaca, han indicado que los cultivares de hoja lisa presentan menor concentración de NO_3^- respecto a los cultivares de hoja rizada (Palumbo, 1998). Otros trabajos han señalado ausencia de relación entre tipo de hoja y acumulación de NO_3^- . Breimer (1982) y Maynard et al. (1976) encontraron gran variabilidad en la concentración de NO_3^- respecto al tipo de hoja, tanto en Estados Unidos como en países de Europa. Tal comportamiento a veces contradictorio, indicaría que las características genéticas sumadas a las del ambiente y al manejo cultural son determinantes en la variabilidad observada en los distintos estudios realizados.

4.2 Relevamiento de los contenidos de NO_3^- en agua de riego

En la figura 24 se presenta la distribución de frecuencias relativas de los contenidos de NO_3^- en el total de las muestras de agua analizadas. Se observa que el 90% de los datos se encuentran entre 0,4 y 12,4 $\text{mg NO}_3^- \text{ L}^{-1}$, siendo el valor modal 3,4 $\text{mg NO}_3^- \text{ L}^{-1}$. Los contenidos de NO_3^- oscilan entre 0,4 y 19,5 $\text{mg NO}_3^- \text{ L}^{-1}$, con una media de $5,32 \pm 4,61 \text{ mg L}^{-1}$. El coeficiente de variación calculado es de 86%, lo que indica una alta variabilidad en los valores encontrados.

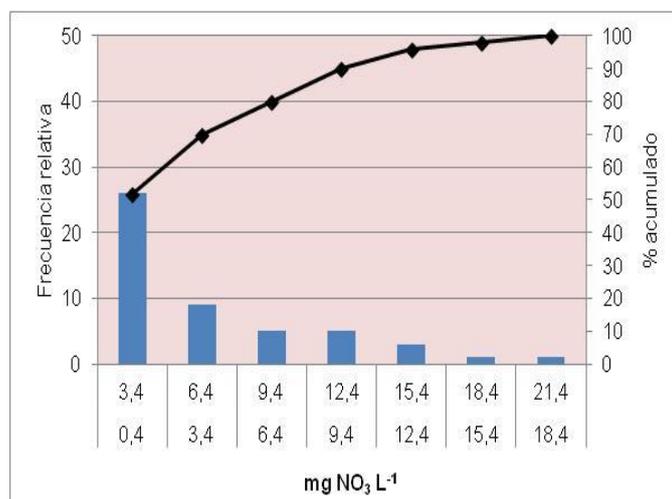


Figura 24: Distribución de frecuencias relativas de los contenidos de NO_3^- en el total de las muestras de agua analizadas.

Los valores de NO_3^- encontrados fueron siempre inferiores al límite fijado por el Departamento General de Irrigación (DGI) en la Resolución N°461/98, de 45 mg L^{-1} .

La infiltración de aguas con alto contenido en NO_3^- , derivada del efecto combinado de una excesiva fertilización nitrogenada y prácticas de riego poco optimizadas en las zonas agrícolas, contribuye al deterioro de los recursos hídricos. La lixiviación de NO_3^- desde la zona no saturada hacia los acuíferos no sólo se produce durante los periodos de cultivo, también puede desencadenarse durante las fases de intercultivo, por efecto de las lluvias (Arauzo et al., 2003). Como resultado, cada vez con más frecuencia, se alcanzan concentraciones que pueden afectar a la salud humana (contaminación de agua potable) y a la calidad ambiental (contaminación de acuíferos y procesos de eutrofización, éstos se refieren al aporte artificial e indeseable de nutrientes minerales a las masas de agua, provocando el incremento de la población de algas, con el consecuente deterioro de la calidad del agua)

La contaminación del agua por NO_3^- afecta a gran parte de los países de la Unión Europea, esta problemática llevó a la necesidad de regular los contenidos de NO_3^- en el agua de riego, mediante la Directiva de Nitratos (91/676/EEC), que tiene por objeto proteger la calidad del agua en toda Europa evitando que los NO_3^- procedentes de fuentes agrícolas contaminen las aguas superficiales y subterráneas y fomentando el uso de buenas prácticas agrícolas.

En la Directiva se consideran aguas contaminadas aquellas con contenido en NO_3^- superior a 50 mg L^{-1} , como así también a las que manifiestan una tendencia creciente que haga prever la necesidad de medidas de protección. Además, la norma obliga a los 27 Estados miembros a identificar, cada cuatro años, las zonas vulnerables a la contaminación por NO_3^- . Según el informe de la Comisión sobre el período 2004-2007, en el 21% de las estaciones de control de aguas superficiales, los contenidos de NO_3^- fueron inferiores a 2 mg L^{-1} y sólo el 3% de las estaciones mostraron valores superiores a 50 mg L^{-1} . Estos resultados demuestran que la

directiva está resultando eficaz, dado que las concentraciones de NO_3^- en aguas superficiales se mantuvieron estables o disminuyeron en el 70 % en las zonas controladas.

En un estudio de la caracterización de la calidad del agua en la cuenca superior del río Del Valle (Catamarca), se reportaron valores de NO_3^- inferiores a $0,03 \text{ mg L}^{-1}$, en las muestras analizadas. (Demin, 2013).

A nivel provincial, los valores de NO_3^- hallados en un monitoreo de la calidad del agua de riego del Cinturón Verde de Mendoza durante el período 2004-2006, oscilaron entre $0,44$ y $18,75 \text{ mg L}^{-1}$. (Zuluaga et al., 2007). En estudios de la caracterización de la contaminación de acuíferos debido a la presencia fundamentalmente de NO_3^- , en la zona norte de la provincia de Mendoza se encontraron valores de NO_3^- entre 0 y 29 mg L^{-1} en muestras tomadas en el Canal Pescara, observándose una gran variación en los datos analizados. (Álvarez et al., 2011)

En la figura 25 se observan los valores promedios de NO_3^- (mg L^{-1}), encontrados en las muestras de agua, en los cuatro ciclos agrícolas. Las diferencias halladas entre los ciclos no fueron significativas ($\alpha=0,05$)

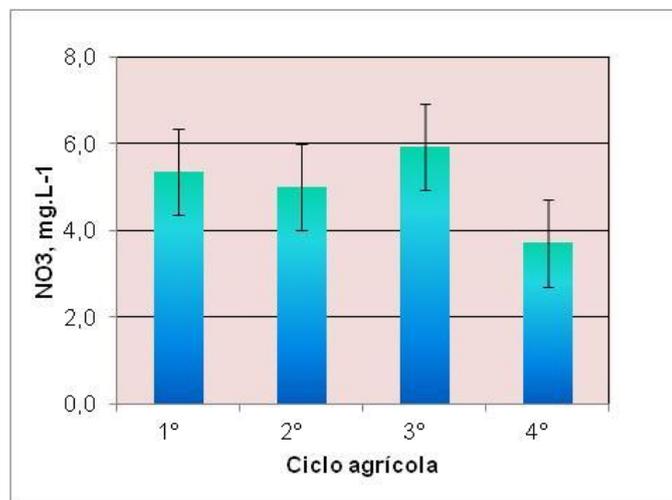


Figura 25: Contenidos medios de NO_3^- en agua de riego por ciclo agrícola

Con respecto a la evolución estacional de NO_3^- en las muestras de agua analizadas, se observa que en invierno y otoño los tenores encontrados son mayores en comparación con la primavera y el verano, si bien no se observan diferencias significativas ($\alpha=0,05$) entre las estaciones (Figura 26). Las concentraciones más elevadas detectadas en el período invernal podrían deberse a que en estos meses, los caudales son más bajos, de forma tal que se produce un efecto de "concentración" de la mayoría de los contaminantes que se encuentran en el agua.

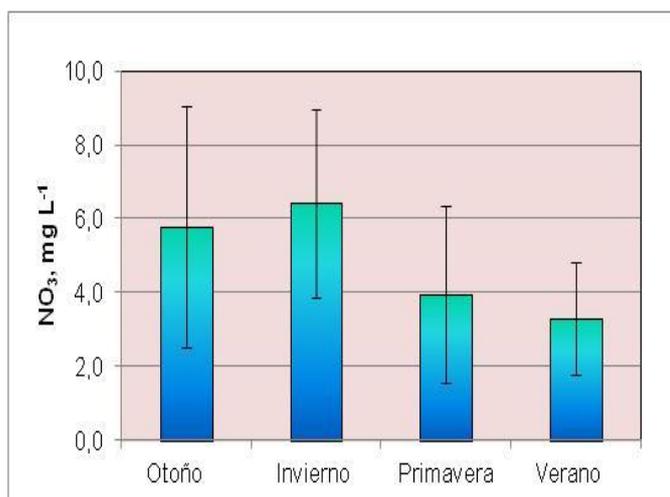


Figura 26: Evolución estacional de los contenidos medios de NO₃⁻ en agua de riego

En la figura 27 se presentan los contenidos medios de NO₃⁻ en los distintos puntos de muestreo. Se puede observar que los menores tenores fueron encontrados en los canales Pescara, Becaces y Puente Blanco. Los mayores registros en canales de riego correspondieron al canal Chachingo, con una media de 9,81 mg de NO₃⁻ L⁻¹ y a la hijuela Montenegro cuyo tenor medio fue de 9,85 mg NO₃⁻ L⁻¹. Esto podría deberse a los aportes de lixiviados de agroquímicos utilizados en los cultivos hortícolas de la zona. Se encontraron diferencias significativas en los puntos de muestreo Chachingo y Montenegro comparados con los restantes puntos muestrales (Tabla 12)

Tabla 12: Contenidos medios de NO₃⁻ en los puntos de muestreo de agua

Punto de muestreo	NO ₃ ⁻ , mg L ⁻¹	n	
Montenegro	9,85	10	A
Chachingo	9,81	5	A
Becaces	2,17	15	B
Puente Blanco	2,05	14	B
Pescara	2,02	6	B

Letras iguales indican no diferencia significativa. Test de Tuckey ($\alpha = 0,05$).

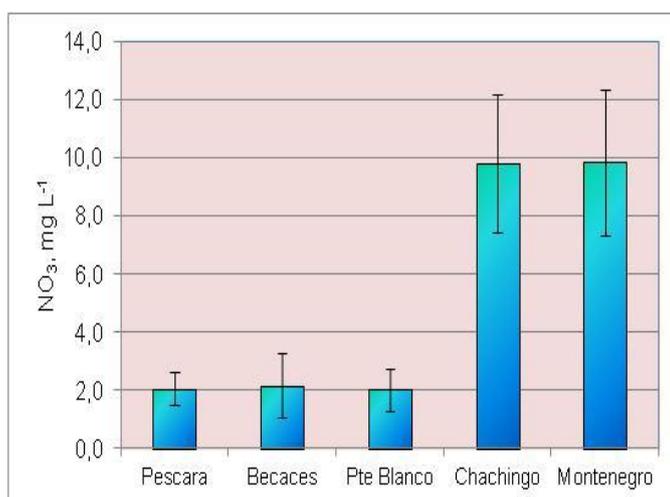


Figura 27: Contenidos medios de NO₃⁻ en los puntos de muestreo de agua

4.3. Estudio de correlación de los nitratos

En el análisis de correlación se obtuvo un coeficiente de correlación (r) de 0,22 y un Coeficiente de Determinación (R^2) de 0,05 ($p \leq 0,05$). Dado que la prueba de significancia de R^2 arrojó una probabilidad de 0,123 se concluye que no hay correlación entre los contenidos de NO_3^- en lechuga y los tenores de NO_3^- en el agua de riego. (Figura 28).

Este resultado concuerda con lo observado en trabajos de varios autores, en los cuales se ha estudiado la influencia de diversos factores que inciden en la acumulación de NO_3^- en lechuga, encontrándose que dicha acumulación puede verse incrementada principalmente por: la cantidad de nitrógeno aportado en la fertilización (Rincón, 2005), la intensidad lumínica (Steingrower et al., 1993), la variedad genética (Blom-Zandstra, 1989), la relación $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ (Van der Boon et al., 1990) y la temperatura (Torres et al, 2012)

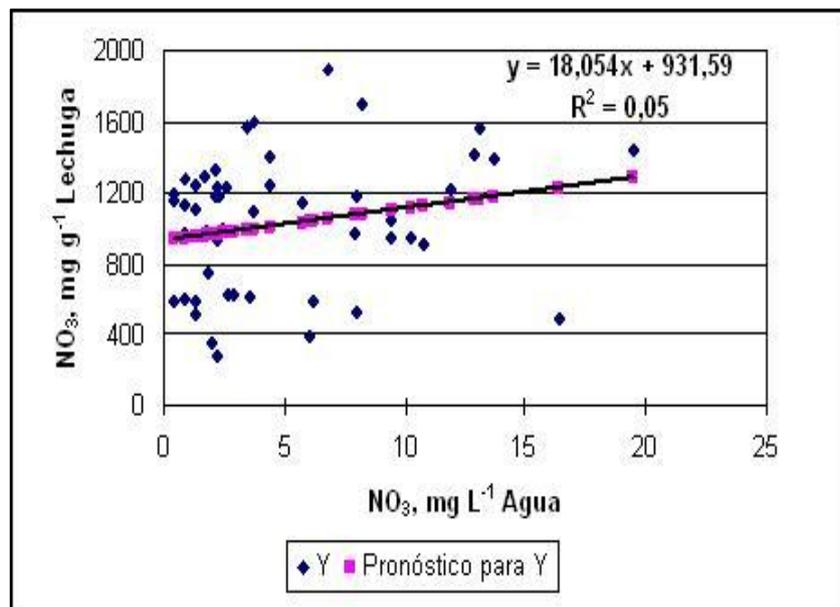


Figura 28: Curva de regresión ajustada: Nitratos en agua vs nitratos en lechuga

5. CONCLUSIONES

- Se verificó el cumplimiento de la primera hipótesis planteada, debido a que las concentraciones de NO_3^- en plantas de lechuga, presentaron diferencias significativas en su evolución estacional, tendiendo a ser mayores durante el período otoño-invierno, en todos los tipos comerciales de lechuga. Los tipos comerciales mantecosa y morada (hoja ligeramente lisa) presentaron mayores valores medios de NO_3^- durante todos los períodos agrícolas estudiados.
- No se halló correlación significativa entre los contenidos de NO_3^- en lechuga y los tenores de NO_3^- en el agua de riego, rechazándose la segunda hipótesis planteada en el presente estudio

De los resultados obtenidos también se puede destacar:

- Los contenidos medios de NO_3^- en lechuga cultivada en el oasis norte de Mendoza, durante cuatro ciclos agrícolas, oscilaron entre $282 \mu\text{g g}^{-1}$ p.f. y $1982 \mu\text{g g}^{-1}$ p.f., encontrándose dentro del rango propuesto por normativas europeas.
- Los valores medios de NO_3^- encontrados en las aguas de riego, se encontraron entre $0,4 \text{ mg NO}_3^- \text{ L}^{-1}$ y $19,5 \text{ mg NO}_3^- \text{ L}^{-1}$, observándose una alta variabilidad entre ellos. Los contenidos de NO_3^- fueron siempre inferiores al límite máximo establecido por la legislación vigente.
- No se observaron diferencias estadísticamente significativas en la evolución estacional de los contenidos de NO_3^- en agua de riego, en ninguno de los puntos de muestreo.
- En los puntos de muestreo correspondientes al tramo final del recorrido del agua, se encontraron mayores valores de NO_3^- , resultando tales variaciones estadísticamente significativas.

6. PERSPECTIVAS FUTURAS

La producción, comercialización y consumo de frutas y hortalizas en el mundo son cada vez mayores, representando un soporte muy significativo para economías agrícolas y para el mejoramiento de la salud de los consumidores. La calidad en hortalizas frescas comprende no sólo los aspectos externos del producto, sino también aquellos relacionados con el contenido nutricional, con sus características organolépticas, de apariencia y con la simultánea ausencia de productos tóxicos o contaminantes (pesticidas, herbicidas, nitratos, etc.)

Las técnicas agrícolas convencionales tienen como objetivos el incremento cuantitativo de la producción y la obtención de un alimento con características exteriores óptimas. Sin embargo, es importante tener conocimiento de cómo las diferentes técnicas agrícolas influyen en las calidades intrínsecas y nutritivas de los productos. El aspecto más evidente es el relativo a la inocuidad, dado que el empleo intensivo de productos químicos de síntesis en agricultura determina la presencia de residuos tóxicos en los productos alimenticios y de dosis elevadas de nitratos y nitritos también peligrosos.

De acuerdo a la OMS y la legislación de la Comunidad Económica Europea obtener plantas de lechuga con tenores adecuados de nitratos, es una cuestión de calidad y seguridad alimentaria e inocuidad. La problemática del contenido de NO_3^- en los sistemas agroalimentarios involucra evaluar las decisiones de manejo técnico-cultural en el compartimento agronómico. En tal sentido, es fundamental el desarrollo de una agricultura compatible con el medio ambiente, considerando el uso óptimo de los aportes de nitrógeno al suelo debido a la fertilización y otras prácticas agrícolas. A nivel ambiental, los nitratos contribuyen a aumentar el efecto invernadero, degradar la capa de ozono y mediante su lixiviación o escorrentía pueden contaminar aguas subterráneas o superficiales.

En nuestra región, es de suma importancia realizar acciones de información y divulgación del problema de la contaminación por nitratos de origen agrario, debido no sólo a los aspectos de calidad sino también a temas vinculados al impacto ambiental y al cuidado de los recursos hídricos. Esto se fundamentaría en el hecho de que en el Cinturón Verde de Mendoza, zona de mayor producción de lechuga, el agua subterránea está muy próxima a la superficie, lo cual sumado a las características texturales y estructurales de los suelos, favorecen la contaminación de acuíferos a través de la mala práctica de la fertilización, disminuyendo la calidad del recurso tanto para consumo como para riego.

A fin de disminuir la ingesta de compuestos nocivos pueden implementarse ciertas acciones en los distintos compartimentos de la calidad total (proceso productivo, producto y servicios). Algunas alternativas son: selección de variedades de lechuga con menor tendencia a acumular nitratos, planificación de la fertilización en forma racional y ecocompatible, También es importante educar al consumidor tanto en la elección de hortalizas con menor tendencia a la acumulación de nitratos, como así también en la preparación de vegetales acumuladores de dicho ión, eliminando las partes que presenten mayores contenidos (hojas viejas y nervaduras).

Como recomendación de manejo del agua de riego, para las asociaciones de usuarios de la 3ª Zona del río Mendoza, debería monitorearse la calidad del agua durante los meses invernales, que es cuando se concentran la mayoría de los contaminantes, tratando de usar aguas de origen subterráneo, o bien mezclando éstas con las de origen superficial, a fin de diluirlas.

7. BIBLIOGRAFÍA

AESAN, 2006. Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición. Modelo de dieta española para la determinación de la exposición del consumidor a sustancias químicas.

Disponible en:

http://www.aesan.msc.es/AESAN/docs/docs/notas_prensa/modelo_dieta_espanola.pdf [acceso: 21-6-11].

Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA) <http://www.epa.gov/>

Albornoz, L. 2000. Contenido de nitratos en deshidratado de espinaca Tesis de grado. Licenciatura en Bromatología. Facultad de Ciencias Agrarias, UN de Cuyo, Mendoza 82 pp

Álvarez, A.; D'Elía, M.; Paris, M.; Fasciolo, G.; Barbazza, C., 2011. Evaluación de la contaminación de acuíferos producida por actividades de saneamiento y re-uso de efluentes en el norte de la provincia de Mendoza. Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Cuyo. Mendoza, Argentina. 43(1): 19-39.

APHA-AWWA-WPCF, 2005. Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales, ed. 17°. 4500- NO₃⁻ A. Editorial Díaz de Santos, España.

Arauzo, M., Diez, J., Hernaíz P., 2003. Estimación de balances hídricos y lixiviación de nitratos en sistemas agrícolas. En: Investigación de la zona no saturada, Vol. VI, ZNS'03. J. Álvarez-Benedí y P. Marinero (eds.): 39-44. Instituto Técnico Agrario de Castilla León, Universidad Europea Miguel de Cervantes. Valladolid, España.

Belitz, H.D. y Grosch, W., 1997. Química de los alimentos. Zaragoza. Editorial Acribia, S. A.

Bermejillo, A; Zuluaga, J.; Drovandi, A.; Filippini, M. F.; Martí, L. H.; Cónsoli, D.; Valdés, A.; Morsucci, A., 2009. Modificación del agua de riego y riesgo freático en el cinturón verde de Mendoza. CLICAP.

Betancourt, M., 2003. La inocuidad. 9º Congreso Nacional de Horticultura. Montevideo, Uruguay. 114-118.

BioMed Central , 2012, Nitrate, nitrite, and nitrosamine content of food. Disponible en: <https://biomedcentral.com/content/supplementary/1475-2891-8-16-S1.pdf>

Blom-Zandstra G. and Lampe E.M., 1983. The Effect of Chloride and Sulphate Salts on the Nitrate Content in Lettuce Plants (*Lactuca sativa L.*). Journal of Plant Nutrition. 6(7), 611-628.

Blom-Zandstra, G., Lampe, J., 1985. The role of nitrate in the osmoregulation of lettuce (*Lactuca sativa L.*) grown at different light intensities. J. Exp. Bot. 36, 1043-52.

Blom-Zandstra M., 1989. Nitrate accumulation in Vegetables and its Relationship to Quality. Ann appl. Biol. 115, 553-561.

Boixadera, J. y Cortés, A., 2000. "Nitratos, agua y agricultura, un problema moderno de utilización del suelo", *Horticultura*, España

Breimer, T. 1982. Environmental factors and cultural measures affecting the nitrate content in spinach. Fertilizer Research, 3, 191-292.

Breimer, T. 1985. In clinical. Such differences may amount to a factor 10 or more. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC000940039.pdf>

Cataldo et al., 1975. Rapid Colorimetric Determination of Nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. *Commun. Soil Sci. and plant analysis*, 6, 71-80.
Chiesa, A., 2010. Factores pre cosecha y post cosecha que inciden en la calidad de la lechuga *Horticultura Argentina* 29(68): 28-32

Código Alimentario Argentino

Corporación del Mercado Central de Buenos Aires (CMCBA), 2005. Boletín de Calidad n°6. Inspección de Frutas y Hortalizas. file:///G:/site2001/htm/red_alerta/boletin/boletin605/indice0605pdf.htm

Demin, P., 2013. Caracterización preliminar de la calidad del agua en la cuenca superior del río Del Valle (Catamarca). *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo. Mendoza. Argentina.* 45(1):53-61

Departamento General de Irrigación (DGI). (1998). "Reglamento General para el Control de Contaminación Hídrica". Resolución N° 461/98. Mendoza.

Diario Oficial de las Comunidades Europeas. 2011. Reglamento (CE) N° 1258/2011. Revisado en: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:320:0015:0017:ES:PDF>

Diario Oficial de las Comunidades Europeas. Directiva 91/676/EEC. Revisado en: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX:31991L0676>

Dornheim, D., 2001. Contenido de nitratos en plantas de lechuga (*Lactuca sativa*). Tesis de grado. Licenciatura en Bromatología. Facultad de Ciencias Agrarias, UN de Cuyo, Mendoza.

ECETOC. 1988. Nitrate and Drinking Water. European Chemical Industry Ecology & Toxicology Centre; Brussels. Technical Report N° 27.

EFSA (European Food Safety Authority), 2008. Nitrate in vegetables. Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain. *The EFSA Journal*, 689, pp: 1-79. Question No EFSA-Q-2006-071.

EFSA (European Food Safety Authority), 2010. Statement on possible public health risks for infants and young children from the presence of nitrates in leafy vegetables. *The EFSA Journal*, 8 (12), pp: 1935.

FAO/WHO, 1996. Food and Agriculture Organization/World Health Organization. Nitrate. Safety evaluation of certain food additives. Food Additives Series 35. Disponible en: <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v35je14.htm> [acceso: 21-6-11].

FAO/WHO, 2004. Nitrate and Nitrite (Intake assessment). WHO Food Additive series 50, Geneva: World Health Organisation. Available at URL: <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v50je07.htm>.

FAOSTAT, 2012. Statistical information on agricultural production. Disponible en <http://faostat3.fao.org/home/index.html> (consultado en marzo de 2015)

FAOSTAT, 2013. Export value for vegetables 2013. <http://faostat3.fao.org/home/index.html> (consultado en marzo de 2015)

Fassbender, H. W. 1980. Química de Suelos. San José, Costa Rica. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas, IICA. 398 p.

- Filippini, M. F., 1996. Aspetti ecofisiologici nella nutrizione minerale del radicchio (*Cichorium intybus* var *silvestre* Bischoff). Tesis de Doctorado. Universita degli Studi di Padova-Italia.
- Filippini, M.F., 2006. Contenido de nitratos en frutas y hortalizas II Foro FANUS: Nitratos y Nitritos en la alimentación humana, Buenos Aires, Argentina
- Fritsch P, de Saint Blanquat G, Derache R. 2003 [Absorption kinetics of nitrate and nitrite in the intestine of Jan;37(1):85-90. PubMed PMID: 12653221.
- FSIS 63/04 September 2004. UK monitoring programme for nitrate in lettuce and spinach 2000-2002. Revisado en: www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/nitrates.pdf.
- FSIS 74/05. Food Survey Information Sheet. 2004. "UK monitoring programme for nitrate in lettuce and spinach". en: www.food.gov.uk/science/surveillance.
- Galmarini, C. 2014. Guía teórica de la Cátedra de Horticultura, Facultad de Ciencias Agrarias, UNCuyo
- Gangolli, S.D., van den Brandt, P.A. y Feron, V.J., 1994. Nitrate, nitrite and N-nitroso compounds. *European Journal of Pharmacology*, 292, pp: 1-38.
- Gómez Lumbreras, A.G., Solaz Moreno, L.S. y Villar Rubin, S.V. 2008. Intoxicación por puré de acelgas. *Anales de pediatría*, 69 (3), pp: 279-291.
- Gonella, M., Serio, F., Santamaria, P. 2002. Fattori genetici e ambientali e contenuto di nitrato degli ortaggi. *Supplemento a Colture Protette*. N°12.
- Greifenberg A.; Temperini, F.; Rufini, P.; Papalini, L.; Giustiniani L.; Lipucci, M. 1990. L'accumulo dei nitrati nella lattuga. *Informatore Agrario*, 3, 43-46.
- Greifenberg A. et al.,1993. La problemática dei nitrati. *L'Informatore Agrario*, 6, 43-48
- Harrison, J. 2010. El Ciclo del Nitrógeno. *Visionlearning Vol. EAS-2* (4)
- Herranz, M. y Clerigue, N. 2003. Intoxicación en niños. *Metahemoglobinemia. Anales del Sistema Sanitario de Navarra*, 26 (1), pp: 209-223.
- Hohl U., Neubert B., Pforte H., Schonhof I., Böhm H., 2001. Flavonoid concentrations in the inner leaves of head lettuce gynotypes. *Eur Food Res Tech* 213, 205-211.Hohl, 2001
- Hunt, J. y Turner M. 1993. A survey if nitrite of concentration in retail fresh vegetables. *Food additives and contaminants*, vol. 11, N°3, 327-332.
- IARC 2010. International Agency of Research in Cancer. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans Ingested Nitrate and Nitrite and Cyanobacterial Peptide Toxins. Volume 94, pp: 1-325.
Disponible en: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol94/index.php> [acceso: 21-6-11].
- IDR Instituto de Desarrollo Rural. Censo Hortícola - Ciclos 2010/11, 11/12, 12/13 y 13/14. Programa de Relevamiento Hortícola Provincial. Subsecretaría de Programación Económica. Ministerio de Economía - Provincia de Mendoza. www.idr.org.ar, consultado marzo de 2015
- JECFA, 1995. Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios. Nitrate and nitrite. Evaluation of Certain Food Additives. Forty-fourth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. *Who Technical Report Series* 859. TRS 859-JECFA 44/29-32.

JECFA, 2002. Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios. Nitrate and nitrite. Evaluation of Certain Food Additives. Fifty-ninth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Who Technical Report Series 913. TRS 913-JECFA 59/75.

JECFA 2003. Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios. Nitrate (and potential endogenous formation of N-nitroso compounds). Safety evaluation of certain food additives. Who Food Additives Series: 50.

Kader, A. 2002. Postharvest Technology of Horticultural Crops. 3rd Edition. Publication 3311. University of California, USA, 514 p.

Lacertosa, G.; Montemuro, F.; Capotorti, G.; Palazzo, D. 1997. Influenza dei fattori ambientali e della disponibilità di azoto sulla concentrazione di nitrati nelle lattughe. *Rev. Agron.* 31 (1):72-77

Laporta Báez, Y.L., Goni Zaballo, M.G., Pérez Ferrer, A.P., Palomero Rodríguez, M.A.P., Suso, B. y García Fernández, J.G. 2008. Metahemoglobinemia asociada a la ingesta de acelgas. *Anales de pediatría*, 69 (2) 191-192.

Mallar, A. 1978. La lechuga. Ed. Hemisferio Sur. Buenos Aires. Argentina. 61 pág.

Magnífico, V., 1997. L'accumulo dei nitrati negli ortaggi. *L'Informatore Agrario*, 29,47-49.

Maroto, J. V. 2000. Horticultura Herbácea Especial. Ed. Mundi-Prensa. Madrid. España. p. 220-221. 566 pág.

Maroto, J., García, A., Baixauli, S. 2000. La lechuga y la escarola. Valencia; Caja Rural de Valencia. Fundación Ediciones Mundi-Prensa. España. 242p.

Martí Luis. 2014. Agronomía General y Ambiental. Mendoza, Argentina. 507pp.

Maynard, D.N., Barker, A.V. 1972. Nitrate content of vegetable crops. *HortScience*, Alexandria, v.7, n.3, p.224-226.

Maynard, D.N., A.V., Barker, P.L., Minotti and Peck, N. 1976. Nitrate accumulation in vegetables. *Advances in Agronomy* pp71-118. Acad. Press, N.Y., S.F. and Lond.

Mensinga, T.; Speijers, G.; Meulenbelt, J. 2003. Health implication of exposure to environmental nitrogenous compounds. *Toxicol Review* 22:41-51

Mondino, M.C.; Ferratto, J.A.; Firpo, I.; Rotondo, R.; Ortiz Mackinson, M.; Grasso, R.; Calani, P. & Longo, A. 2007. Pérdidas poscosecha de lechuga, en la región de Rosario, Argentina. *Horticultura Argentina* 26(60) Ene-Jun: 17-24

Moreiras, O.; Carbajal, A.; Cabrera, L.; Cuadrado, C. 2013. Tablas de Composición de Alimentos (16^o ed. revisada y ampliada). 456 pág. Editorial Pirámide. España

Muramoto, J. 1999. Comparison of nitrate content in leafy vegetables from organic and conventional farms in California. Revised version. Center for Agroecology and Sustainable Food System. University of California. Santa Cruz. Santa Cruz, CA 95064. 64 p

Muro, J; Irigoyen, H.I.; Lamsfus, C. 1998. Avances en el metabolismo del nitrógeno. De la fisiología a la biología molecular. 1^a. España. 453-463 p.

NTP 2001. National Toxicology Program. Toxicology and carcinogenesis studies of sodium nitrite in F344/N rats and B6C3F1 mice (drinking water studies). National Toxicology Program Technical Report Series, 495, pp: 7-27

Palumbo, A., 1998. Lattuga, attenti al rischio di inquinamento da nitrati. *Culture Protette*, 9, 47-50.

Patrino, A. 1984. Influenza dei fattori agronomici sul contenuto dei nitrati nei prodotti agricoli. *Ri. di Agron.*, 18, 79-91

Pavlovic, R.M.; Stevanovic, D.R.; Kresovic, M.M. 1997. Effect of growing method and lettuce fertilization on changes of nitrate content in leaf. *Acta Horticulturae*, n. 462, p. 885-889

Peron J.Y. and Lefevre J.M. 1984. Fertilization and irrigation in relation with the quality of vegetable. *Acta Horticulturae* 163:283-294

Pimpini, F., Filippini, M.F. y Gennari, A. 2000. La calidad de los productos hortofrutícolas en la filiera del consumo en fresco. Inédito. 100 pp.

Pomares, F., 2000. Fertilización de la lechuga. En: *La Lechuga y la Escarola*. Ed. Mundi-Prensa pp. 105-123.

Rincón Sánchez, L., Pérez Crespo, A., Pellicer Botía C., Sáez Sironi, J., Abadía Sanchez, A., 2002. Influencia de la fertilización nitrogenada en la absorción de nitrógeno y acumulación de nitratos en la lechuga iceberg. *Invest. Agr: Prod. Prot. Veg.* Vol. 17 (2)

Rincón Sánchez, L. 2005. Fertilización nitrogenada y contenido de nitratos en hojas de lechuga "Iceberg". *Vida Rural*, 210: 50-55

Roorda Van Eysinga, J.P.; Van der Meijjs, M.Q. 1985. Effect of nitrogen nutrition and global radiation on yield and nitrate content of lettuce grown under glass. *Commun. Soil Sci. Plant. Anal.* 16: 1293-1300.

Rozek S., Wojciechowska R., 1990. Effect of light and growth regulators on the circadian rhythm of nitrate reductase and nitrite reductase activities in greenhouse lettuce leaves. *Folia Horticulturae* II/1, 53-64.

Sanchez, T. 2010. Evaluación de la calidad de lechuga (*Lactuca sativa* L.) respecto a su contenido de nitratos y materia seca. *Revista de la Facultad de Agronomía – UNL Pampa - 6300 Santa Rosa - Argentina* . ISSN 0326-6184 Vol N° 21

Santamaria, P. 1997. Contributo degli ortaggi all'assunzione giornaliera di nitrato – nitrito e nitrosamina). *Industrie-Alimentari*, v. 36, n. 364, p. 1.329-1.334

Savino, F., Maccario, S., Guid, C., Castagno, E., Farinasso, D., Cres, F., Silvestro, L. y Mussa, G.C. 2006. Methemoglobinemia caused by the ingestion of courgette soup given in order to resolve constipation in two formula-fed infants. *Annals of Nutrition & Metabolism*, 50, pp: 368-371.

Socaciu, C. & A. Stanila, 2007. In *Case Studies in Food Safety and Environmental Health*. Pag. 11-19-. Disponible en <http://www.springerlink.com>. Content/g4hk266n488g5605.

Speijers, D.; Back J.W.; De Koster C.G.; Pannekoek, H, and Horrevoets A. J. 2004. Comparative proteomics of human endothelial cell caveolae and rafts using two dimensional gel electrophoresis and mass spectrometry. *Electrophoresis* 25: 156-72

Steingrover E.G., Steenhuizen J.W., Boon J., Van Der Boon J., 1993. Effects of low light intensities at night on nitrate accumulation in lettuce grown on a recirculating nutrient solution. *Neth. J. Agr. Sci.* 41, 13-21.

Tirador, Marta. 2011. Caracterización del contenido de nitratos y la composición nutricional en zanahoria (*Daucus carota L.*) cultivada con diferentes dosis de fertilización NP. Tesis de grado. Licenciatura en Bromatología. Facultad de Ciencias Agrarias, UN de Cuyo, Mendoza.

Torres J.F., San Bautista, A., Pascual-España, B., Bono, M.S., Lopez Galarza, S., Pacual-Seva, N., Alagarda, J., Maroto, J.V., 2012 Producción comercial, incidencia de "Tipburn", floración prematura y acumulación de nitratos en dos cvs. de escarolas (*Cichorium endivia L.*), en cultivo al aire libre y bajo invernadero en tres ciclos diferentes. *Agrícola vergel* 359: 268-275.

Torres J.F., Ndamakele, J.B., San Bautista, A., Pascual-España, B., Bono, M.S., Lopez Galarza, S., Pacual-Seva, N., Alagarda, J., Maroto, J.V. 2013. Influencia de ciclos, fertilización nitrogenada y modalidades de cultivo en la incidencia de diversas fisiopatías y la acumulación de nitratos en cuatro cultivares de minilechuga (I). *Phytoma* 245: 16-21

Valdés, A.; Martí, L.; Filippini, M.F.; Salcedo, C. 2004 - Determinación de nitratos en vegetales – Comparación de cuatro métodos analíticos. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Cuyo*. Tomo XXXVI N°1. ISSN 0370-4661. (21-28)

Van Der Boon, J., Steenhuizen, J.W. and Steingrover, E.G., 1990. Growth and nitrate concentration of lettuce as affected by total nitrogen and chloride concentration, $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ ratio and temperature of the recirculating nutrient solution. *Journal of Horticultural Science* 65: 309-321.

Van Diest A. 1990. Accumulation of nitrate in higher plants its causes and prevention, en nitrogen in higher plants, Y.P. Abrol Ed., 441 pp.

Van Velzen, A.G., Sips, A.J.A.M., Schothorst, R.C., Lambers, A.C. y Meulenbelt, J. 2008. The oral bioavailability of nitrate rich vegetables in humans. *Toxicological Letters*, 181 (3), pp: 177 - 181.

Wheeler P. and Weidner, M. 1998. Effects of external inorganic nitrogen concentration on metabolism, growth and activities of key carbon and nitrogen assimilatory enzymes of *Laminaria saccharina* (Phaeophyceae) in culture. *Journal of Phycology* 19: 92-96.

WHO (World Health Organization) 1995. Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants. 44° Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Technical Report Series No.859, 29–35.

Zuluaga, J. et al. 2007. "Monitoreo de los contaminantes del agua en la 3° zona de riego del río Mendoza, con el nuevo escenario de operación del embalse Potrerillos (2005-2006)". Congreso Nacional del Agua 2007. San Miguel de Tucumán, Argentina