



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



Caracterización del contenido de nitratos y la composición nutricional en zanahoria (*Daucus carota* L.) cultivada con diferentes dosis de fertilización NP

Tesista: Bromatóloga Marta Tirador

Director: M. Sc. Ing. Agr. Víctor M. Lipinski
(INTA La Consulta; FCA – UN de Cuyo)

Co-Directora: M. Sc. Ing. Agr. Adriana I. Bermejillo
(FCA – UN de Cuyo)

Mendoza, 15 de junio de 2011

AGRADECIMIENTOS

En estos últimos momentos cuando todo quiere tener un final, vienen a mi mente los recuerdos del corazón de tanta Lindas personas que están presentes y aún las que están junto a Dios como Amalia y Enrique a ellas quiero agradecerles toda las fuerzas, su amistad y el aliento permanente.

En especial este agradecimiento es para la personas de la Cátedra de Química Agrícola, que me enseñaron y acompañaron el laboratorio: Mamá Yancy, Luis Martí, Analía Valdés y a mis estimados director y codirectora quienes guiaron mis pasos.

Un agradecimiento especial a la gente de la Cátedra de Matemática, con quienes comparto mis sueños de docencia, al profesor Emilio Puebla, a Maria Elena Montalto, a Rubén, a Marcelo, a Alicia y al Ing Luis Rodriguez Plaza quienes también siempre estuvieron alentándome.

A María Flavia Filippini, por la lectura crítica y sugerencias que me realizó al leer este manuscrito.

Y desde luego agradezco a Dios y a mi familia el acompañamiento y la paciencia que tuvieron durante este trabajo; mis hijos Micaela, Juani y mi esposo Roberto.

INDICE

Capítulo I

	Páginas
Resumen	
1. Introducción.	6
1.1. Características botánicas y orígenes de la zanahoria	8
1.2. Importancia económica de la zanahoria.	8
2 Calidad agroalimentaria.	9
3 La problemática de los nitratos en los sistemas agroalimentarios	14
3.1. Ciclo del nitrógeno.	14
3.2. El nitrógeno en el suelo y en la planta.	15
3.3. La aplicación de fertilizantes nitrogenados y su relación con los Nitratos.	16
3.4. Nitratos en hortalizas, consumidor y medio ambiente.	19
4. Aspectos Toxicológicos de los Nitratos y Nitritos.	22
4.1. Efectos de los nitratos en animales de laboratorio.	22
4.2. Acción a corto plazo.	22
4.3. Acción a largo plazo.	22
4.4. Los nitratos y nitritos en niños pequeños.	24
5. Toxicocinetica de nitratos y nitritos en humanos.	25
5.1. Ingreso de los nitratos al organismo.	27
5.2. El metabolismo de los nitratos en el hombre.	27
6. Composición nutricional de las hortalizas.	30
6.1. Valor nutricional de la zanahoria.	30

Capítulo II

Evaluación de la calidad Intrínseca en una hortaliza de raíz:
Composición Nutricional y contenido de nitratos en zanahoria.

1. INTRODUCCIÓN	32
2. HIPOTESIS Y OBJETIVOS	34
2.1. Hipótesis de trabajo	34
2.2. Objetivos generales.	34
2.3. Objetivos particulares.	34
3. MATERIALES Y MÉTODOS	35
3.1. Sitio del cultivo y obtención de las muestras.	35
3.2. Acondicionamiento de la muestra.	35
3.3. Determinaciones analíticas.	35
3.3.1. Principios orgánicos.	36
3.3.2. Principios inorgánicos.	36
3.3.3. Determinación de nitrato en campo y laboratorio.	36
3.4. Análisis estadístico de los datos.	39
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	39
4.1. Principios inorgánicos: comportamiento durante el cultivo y contenido de nutrimentos a la cosecha.	39
4.2. Concentración de Nitratos	48
4.3. Principios orgánicos	52
4.4. Estudio de la correlación de nitratos	54
5. CONCLUSIONES	55

Figuras

- Figura 1: Interrelaciones de los distintos participantes de la calidad.
Figura 2: Factores de manejo que inciden sobre la calidad de las hortalizas.
Figura 3: Sistema de Gestión de la Calidad
Figura 4 Ciclo del nitrógeno en la naturaleza
Figura 5: Representación del ciclo del nitrógeno en ecosistemas agrícolas.
Figura 6: Efecto de la fertilización nitrogenada en la planta sobre atributos de la calidad en frutas y hortalizas
Figura 7: Principales fuentes de contaminación por nitrato en áreas urbanas
Figura N° 8: Vías de ingestión de nitratos y su transformación en nitritos y nitrosaminas
Figura 9: El metabolismo de nitratos en el hombre.
Figura 10: Dualidad de nitratos en la boca.
Figura 11: Curva de calibración de nitratos y ajuste de la ecuación lineal
Figura 12. Evolución de la concentración de nitrógeno (N % sss) en raíz y hojas de zanahoria, según los tratamientos de fertilización.
Figura 13. Evolución de la concentración de nitrógeno (P% sss) en raíz y hojas de zanahoria, según los tratamientos de fertilización.
Figura 14. Evolución de la concentración de nitrógeno (K % sss) en raíz y hojas de zanahoria, según los tratamientos de fertilización.
Figura 15. Evolución de la concentración de nitrógeno (Ca % sss) en raíz y hojas de zanahoria, según los tratamientos de fertilización.
Figura 16. Evolución de la concentración de nitrógeno (Mg % sss) en raíz y hojas de zanahoria, según los tratamientos de fertilización.
Figura 17: Absorción de nutrientes en Zanahoria Beatriz INTA, afectada por los tratamientos de N y P.
Figura 18 Evolución de la concentración de nitratos (% ssf) en hojas y raíz de zanahoria, según los tratamientos de fertilización
Figura 19: Distribución del contenido de nitratos en zanahoria comercial.
Figura 20: Correlación de nitratos: Método del Cardymeter y Método Colorimétrico
Figura 21: Correlación entre los contenidos de Nitratos en hojas determinadas con Cardymeter y en laboratorio.

Tablas

- Tabla 1: Contenido de nitratos (NO₃ mg/kg de sustancia fresca) en la parte comestible de diferentes especies hortícolas.
Tabla 2: Curva de calibración con concentraciones conocidas de nitratos, a partir de una solución madre (1000 µg NO₃ L⁻¹).
Tabla 3: Valores de Cenizas (%sss), Proteínas (%sss), Grasas (%sss), Fibra Bruta (%sss) y Extracto no Azoado (%sss).

RESUMEN

Caracterización del contenido de nitratos y la composición nutricional en zanahoria (*Daucus carota* L.) cultivada con diferentes dosis de fertilización NP

La zanahoria (*Daucus carota* L.) es una de las hortalizas de mayor importancia y difusión en el mundo. Los consumidores la valorizan nutricionalmente por ser una excelente fuente de vitaminas y minerales. Es común su empleo como alimento para bebé, como así también en gran variedad de productos procesados. La calidad nutricional e higiénico-sanitaria de esta hortaliza depende de las prácticas agronómicas como la fertilización. El objetivo de este trabajo es determinar el contenido de nitratos y la composición centesimal en zanahoria (*Daucus carota* L.) en un agroecosistema con aplicaciones crecientes de nitrógeno y fósforo, en el momento de la cosecha.

Se realizó un ensayo en campo con zanahoria doble propósito en el INTA- EEA La Consulta, Mendoza, con 3 niveles de N (0, 150 y 300 kg N ha⁻¹; N0, N1, N2 respectivamente) y tres de P (0, 30 y 60 kg P ha⁻¹, P0, P1, P2), en un diseño en bloque completos al azar con arreglo factorial y tres repeticiones. Sobre N0P0, N1P1 y N2P2 se realizaron muestreos destructivos de planta entera a los 86, 107, 128 y 142 días después de la siembra (dds). Se separaron en raíz y parte aérea, efectuándose el peso fresco. En el laboratorio, luego de secado procesado el material por separado, se determinó: peso seco, N, P, K, Ca, Mg, nitratos y los principios orgánicos (Cenizas, Proteínas, Grasas, Fibra Bruta, Extracto no Azoado). La determinación de nitratos se realizó por una metodología con electrodo selectivo y por un método colorimétrico.

Los principales resultados arrojaron lo siguiente: los contenidos de N, P, K, durante el ciclo de cultivo, en hojas no han respondido a los distintos niveles de fertilización. El Ca y el Mg, han mostrado acumularse en mayor cantidad cuando no se fertilizó. La absorción total de nutrientes mayores al final del ciclo de cultivo muestra una tendencia a la absorción mayor con N1P1. El cultivo extrae gran cantidad de K (400 kg ha⁻¹), Los contenidos de Ca y K en raíz a la cosecha, superan las referencias bibliográficas; lo mismo sucede con el rubro Cenizas. Los valores de nitratos a la cosecha en raíz, oscilaron entre 498 y 1060 mg/ kg ssf, encontrándose los más altos en los tratamientos con 150 y 300 kg N ha⁻¹. Estos contenidos de nitratos superarían los permitidos para niños y lactantes (200 mg kg⁻¹ ssf), tanto en la UE como en la legislación argentina. El método rápido del electrodo selectivo no se ajusta a la determinación de nitratos en raíz de zanahoria, si bien resulta óptimo para el seguimiento del estado nutricional nitrogenado de la planta.

En futuros estudios se propone estudiar aspectos del manejo del cultivo, selección de variedades, puesta a punto de técnicas analíticas para la determinación de nitratos

Capítulo I

1. INTRODUCCIÓN

La horticultura ocupa un espacio importante en la alimentación humana; a nivel mundial se producen anualmente 900 millones de toneladas de frutas y hortalizas (Food Agricultural Organization, 2006). La mitad de esta producción son hortalizas, una tercera parte son frutas y 90 millones de toneladas son cítricos. La producción hortícola a nivel mundial crece un 3% anual, siendo Asia y Europa los mayores productores. Los italianos, franceses y españoles producen un 10% del comercio mundial de las hortalizas y un 8% de las frutas.

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).

Sin embargo, el consumo mundial de frutas y hortalizas está muy por debajo del nivel mínimo recomendado por la Organización Mundial de la Salud (OMS), el cual es de 400 gramos diarios por persona. 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.

La OMS coloca el consumo escaso de fruta y hortalizas en sexto lugar entre los 20 factores de riesgo a los que atribuye la mortandad humana, inmediatamente después de otras causas de muerte más conocidas, como el tabaco y el colesterol

La zanahoria (*Daucus carota* L.) es una de las hortalizas de mayor importancia y difusión en el mundo. Los consumidores la valorizan nutricionalmente por ser una excelente fuente de vitaminas y minerales, poseer grandes cantidades de hidratos de carbono y beta-caroteno o pro-vitamina A como así también vitaminas del grupo B (B₃), folatos y vitamina E.

Esta hortaliza puede ser consumida cruda (tanto rallada, como en trozos), exprimida para jugo o cocinada entera o en trozos, acompañando a cualquier otro vegetal También suele utilizarse en sopas, guisados, ensaladas incrementando el valor nutritivo.

Es común su empleo como fuente principal de alimentos para bebé, como así también en productos de segunda gama (appertizados), tercera gama (congelados), cuarta gama (ensaladas mínimamente procesadas) y de quinta gama (platos pre-cocidos listos para calentar y consumir). Mazzei, M. 1995.

Estas últimas tecnologías son las que brindan al consumidor un ahorro de tiempo, practicidad, supresión de ciertos inconvenientes como olor generado durante la cocción de los mismos, mejor conservación de las cualidades organolépticas.

En la actualidad el consumidor, exige un producto con buenos atributos y caracteres saludables, lo que conlleva a dirigir las investigaciones para aportar datos que puedan garantizar además, que el alimento sea un producto de alta calidad. Para este fin es necesario determinar y valorar las propiedades que debe reunir el producto y así alcanzar el grado de excelencia esperado por los clientes. En el caso de las zanahorias destinadas a consumo humano, en sus diferentes presentaciones, se destacan aquéllos aspectos nutricionales, higiénico sanitarias y comerciales.

1.1. Características botánicas y orígenes de la especie

La zanahoria (*Daucus carota* L.) ha sido cultivada hace más 3.000 años en Asia, en la región que hoy ocupa Afganistán, si bien algunos autores consideran como lugar de origen la zona templada del Mediterráneo. Las primeras zanahorias eran blancas, violetas y amarillas. Los se originó griegos y los romanos utilizaron las zanahorias con propósitos medicinales. Algunos autores griegos la consideraban afrodisíaca.

Durante la Edad Media la zanahoria servía como tinte para la mantequilla y en Francia la hoja se utilizaba para decorar peinados y sombreros. La primera referencia escrita de consumo de zanahorias se ha encontrado en antiguos escritos españoles del siglo XII en los que se señala el consumo de zanahoria con aceite, vinagre y sal.

La zanahoria que se conoce hoy fue desarrollada por los holandeses en el siglo XVII. Es a partir de esta época cuando comienzan las primeras plantaciones en América (Duke, 1983).

En el siglo XIX el descubrimiento de las vitaminas y fundamentalmente el de la vitamina A (retinol) presente en los carotenoides (pigmentos naranjas o amarillos) encontrados en las zanahorias y otros vegetales adquirieron una gran importancia en la alimentación; sirviendo estos útiles para la prevención de la ceguera nocturna. Por este motivo, durante la Segunda Guerra Mundial a los aviadores británicos se les proporcionaban grandes cantidades de zanahorias en sus comidas. La vitamina A también es buena para las uñas, el pelo y la piel (Wald Georgee 2004)

En cuanto a la etimología del término castellano "Zanahoria" tiene su origen en la palabra árabe "Isfannariya", ya que fueron verdaderamente los árabes los que introdujeron este cultivo en España. La denominación *Daucus* deriva del griego "dukos" que significa "yo irrito, enciendo", alusivo al color preferente de su raíz. (Rubastzky et al., 1999)

Pertenece a la familia botánica de las Apiaceas; es una planta herbácea de tallos estriados y pelosos, con hojas recortadas alternas, que no sobresalen de la tierra más de 40 cm. Las plantas cultivadas son generalmente bienales; el primer año de cultivo forma la estructura vegetativa y una raíz pivotante engrosada y carnosa (órgano de reserva). En el segundo año estas reservas favorecen la diferenciación de un vástago floral que puede alcanzar una altura de 1 a 1,5 m, el cual porta numerosas ramificaciones (umbelas) de diferentes órdenes. Las flores son blancas, pequeñas, agrupadas en pequeñas "sombrillas" (umbélulas), constituyendo una inflorescencia compuesta (Marotto1995).

En cuanto a las características de la raíz, ésta es fusiforme, jugosa y carnosa, de sabor dulce, de largo y color variables, representando la parte comestible de la hortaliza utilizada tanto en la alimentación del ganado como en la del hombre (Siviero y Donelli, 1997). La raíz se diferencia según: dimensión (larga, media, corta); forma (cónica, cilíndrica, fusiforme); tipo de ápice (redondeado, filififorme, obtuso); color externo (rojo, anaranjado, amarillo, violáceo), relación entre corteza y corazón y el color de estos tejidos; consistencia (fibrosa, leñosa, crocante), según Pimpini y Bianco (2001).

En Argentina las zanahorias anuales se conocen como "criollas", se siembran en verano y se cosechan las raíces a principio del invierno. Por el contrario las zanahorias de tipo bienal conocidas como "importadas" se siembran en invierno (julio-agosto) y son cosechadas en enero o febrero; el ciclo hasta madurez dura al redor de 120 a 150 días, (Galmarini Munt, 1987).

Existen numerosas variedades cultivadas actualmente que tienen distintos propósitos: unas aptas para el procesamiento industrial y otras recomendadas para el consumo fresco.

1.2. Importancia económica de la zanahoria

Dentro de la producción mundial de hortalizas, la zanahoria ha tomado un importante auge, con una producción mundial (2003) 23,3 millones de toneladas, siendo una de las hortalizas más producidas en el mundo. En UE-15 (2003) 3,5 millones de toneladas y la producción española de (2003) 270.000 toneladas. En la actualidad se observa un aumento tanto en la producción como en la superficie cultivada a nivel global.(FAO, 2006)

Los principales países productores son: China, (principal productor, con un crecimiento sostenido, representa 24% del total mundial), Estados Unidos (10,6% del total mundial), que junto a Rusia, Polonia y Japón, los cuales en conjunto producen un poco más del 50% del total mundial; siendo los principales demandantes de zanahoria los países industrializados de Europa y América, destacando destacándose Alemania, Bélgica, Francia, Canadá y Estados Unidos. (FAO, 2010)

En la República Argentina se producen anualmente alrededor de 220.000 t de raíces de zanahoria en una superficie que oscila entre 7.000 y 10.000 ha. Las principales provincias productoras son Mendoza (35% de la superficie total

cultivada en el país), Santiago del Estero (26%), Buenos Aires (17%), Santa Fe (8%) y Córdoba (8%). (FAO, 2010)

La mayor parte de la producción argentina se destina al consumo interno, siendo el volumen destinado a exportación pequeño. Se venden algunas toneladas a los países limítrofes como Uruguay, Paraguay y Chile; este último es el principal importador de zanahoria argentina por su proximidad con Mendoza, zona productora por excelencia (Gaviola, J. 2009). El mayor porcentaje de la producción se destina al consumo en fresco y una pequeña porción a la industria del deshidratado y otros procesos. El valor de la producción alcanza unos \$ 500.000.000 anuales (Gaviola, S. 1996).

El consumo per cápita nacional es de 6 kg y la ubica en sexto lugar entre las hortalizas. Su mayor importancia alimenticia reside en el contenido de provitamina A.

En Mendoza se cultivaron 3.000 y 2.500 ha en las temporadas 2007-2008 y 2008-2009 respectivamente, representando entre 6- 7 % de la superficie cultivada con hortalizas en la provincia. Las zonas con mayor importancia son Valle de Uco, Centro y Norte, las que reúnen el 96% del total (IDR, 2008).

La producción oscila entre 75.000 y 95.000 toneladas de raíces. La cadena zanahoria en Mendoza emplea alrededor de 240.000 jornales/año. Mendoza realiza el mayor aporte sobre los volúmenes de zanahoria ingresados al Mercado Central de Buenos Aires, representando el 35 % del total. (Gaviola, J. 2009)

Una actividad destacada para la región de la cadena zanahoria es la producción de semillas. Tanto Mendoza como San Juan presentan buenas condiciones para esta actividad por poseer inviernos fríos que inducen una floración abundante y uniforme, una estación estival seca que favorece la completa maduración de las semillas y, además, baja humedad ambiental, mínimas precipitaciones, buena luminosidad y temperaturas favorables que reducen la difusión de enfermedades. Desde la región se exportaron 70.000 kg de semillas por año en el 2006 y 2007 (Gaviola, J. 2009).

2. CALIDAD AGROALIMENTARIA

Entender el concepto total de calidad en vegetales requiere integrar varios tipos de información, desde el productor hasta la llegada del producto terminado al consumidor. EL productor interviene en el circuito de la calidad agroalimentaria, como primer eslabón de la cadena agroalimentaria, donde el control integrado es de suma importancia.

Hasta hace poco tiempo atrás el concepto, "Calidad Alimentaria" se identificaba con la seguridad para el consumidor y englobaba, fundamentalmente, los aspectos higiénico-sanitarios y en menor medida, los 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”.

Como puede observarse en la Figura 1, existen relaciones y organizaciones que apuestan a un nuevo modelo de consumo y de producción de alimentos, tendientes a ser más respetuosos con el medio ambiente, la salud de las personas resaltando el protagonismo de los agricultores, ganaderos y elaboradores.

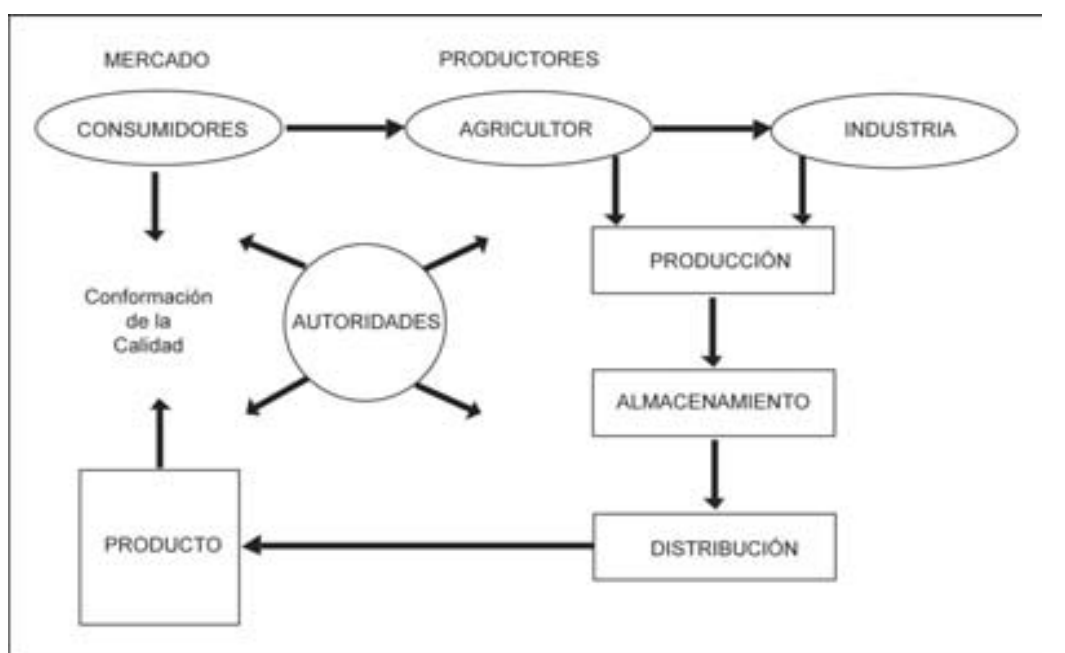


Figura1: Interrelaciones de los distintos participantes de la calidad.

Fuente: www.sagpya.gov.ar/SENASA, 2009

El término calidad incluye un aspecto objetivo y otro subjetivo (Pimpini *et al.*, 2000). El análisis objetivo está dado por parámetros mensurables que dan un índice de calidad; y el subjetivo incluye las características apreciables por los sentidos a nivel organolépticos (color, olor, aspecto, textura, palatabilidad, etc.).

Existen un conjunto de características comunes a todas las hortalizas que pueden definir normativas o sistemas de calidad. Son importantes ya que condicionan la posibilidad de comercializar del producto; como por ejemplo la perfecta integridad, la ausencia de daños causados por eventos meteorológicas (granizos, heladas, exceso de agua), la ausencia de sabores y olores impropios, la presencia de humedad anormal, o impurezas (tierra, o cualquier otra sustancia extraña, incluidos residuos visibles de antiparasitarios), partes afectadas por enfermedades fúngicas, virósicas o por insectos; alteraciones fisiológicas (Pimpini *et al.*, 2000).

De lo antes mencionado se desprende que el productor hortícola además de tener como objetivo el rendimiento debe tratar de lograr un producto de calidad a través de prácticas culturales específicas y racionalizadas.

Según Perón y Lefevre (1984), los componentes intrínsecos de la calidad en hortalizas se pueden clasificar en:

- **Calidad nutricional:** indica la capacidad potencial de un producto de satisfacer las exigencias nutricionales de quien lo consume. En general ante un tratamiento industrial (limpieza, pelado, cocción, esterilización, etc.) tanto hortalizas como otros alimentos pierden nutrientes o son transformadas lo cual hace disminuir la calidad nutricional; entre ellos se destacan proteínas, vitaminas, fibras y algunos minerales esenciales.
- **Calidad higiénica sanitaria:** directamente interesa en la salud del consumidor, por ello se busca un producto exento de cualquier contaminante que pudiera dañar de alguna manera su salud, de manera de garantizar la inocuidad.
- **Calidad organoléptica:** es la que evalúa las distintas características del producto a través de los sentidos tales como el sabor, olor, gusto, consistencia.

Debido a la gran variedad de órganos comestibles de frutas y hortalizas, como así también los distintos tipos de alimentos, es difícil unificar los criterios para evaluar y cuantificar los posibles contaminantes que pueden presentar los mismos. Es por ello que se establecen tolerancias para pesticidas, metales pesados, nitratos, etc.

Cabe destacar que los requisitos relativos a la inocuidad de los alimentos no son facultativos ni negociables. Además, en recientes acuerdos internacionales se subraya la necesidad de que las medidas relativas a la inocuidad de los alimentos se basen en un análisis de los riesgos con arreglo a los principios y procedimientos establecidos por las organizaciones internacionales competentes.

Las normas internacionales sobre inocuidad de los alimentos y los requisitos de higiene de los alimentos son igualmente válidos para los alimentos producidos por medios convencionales y orgánicos.

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

- **Calidad tecnológica:** llamadas así al conjunto de características que hacen apto al producto luego de sufrir transformaciones tecnológicas.

- **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, la vida útil del mismo, etc.

- **Calidad agronómica:** componente integral de la cadena de producción de alimentos, comienza desde el trabajo que el productor realiza a campo o sea desde la semilla hasta la comercialización de los productos vegetales, teniendo en cuenta desde la selección de la semilla, la resistencia a las enfermedades, aptitud al rápido crecimiento, elevada productividad, adaptación al ambiente de producción (Dornheim, 2001), Todas estas características se consideran integralmente para obtener el éxito de la producción.

A continuación y a modo de resumen, se puede observar en la Figura 2 los componentes intrínsecos de calidad de hortalizas en relación a los grados de subjetividad y objetividad.



Figura 2: Componentes intrínsecos de calidad de las hortalizas.

Fuente: Gaviola, S. (1996)

En la producción moderna de alimentos se utilizan normas sanitarias de seguridad que se encuentran en estrecha relación con la calidad del producto y el proceso de obtención, algunas de ellas son:

El Análisis de **Riesgos** y **Puntos Críticos de Control** (HACCP), utilizado para garantizar la inocuidad de los alimentos en todas las fases de su manipulación.

Las **Buenas Prácticas de Fabricación (BPF)**, que constituye un elemento importante en la gestión global de la calidad de los alimentos, establecidas en el Comisión del Codex Alimentarius (CODEX) creada en 1963 por la FAO y la OMS.

Las **ISO 9000** (Organización Internacional de Estándares), series de normas que establece requisitos genéricos sobre sistemas de gestión y garantía de la calidad. También actividades como **Buenas Prácticas Agrícolas (BPA)**, las cuales capacitan a productores en temas relacionados a las culturas agrarias.

TQM o GCT, sistemas de Gerenciamiento de la Calidad Total, las cuales 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.

La Figura 3 muestra las interacciones empresa-cliente, en la misma se expresa la forma en que se puede hallar consenso entre las distintas partes, para poder implementar un eficiente control de calidad.

Organizar un sistema de calidad garantiza la vida útil tanto para el producto como para la empresa, ofreciendo la seguridad y la satisfacción del consumidor.

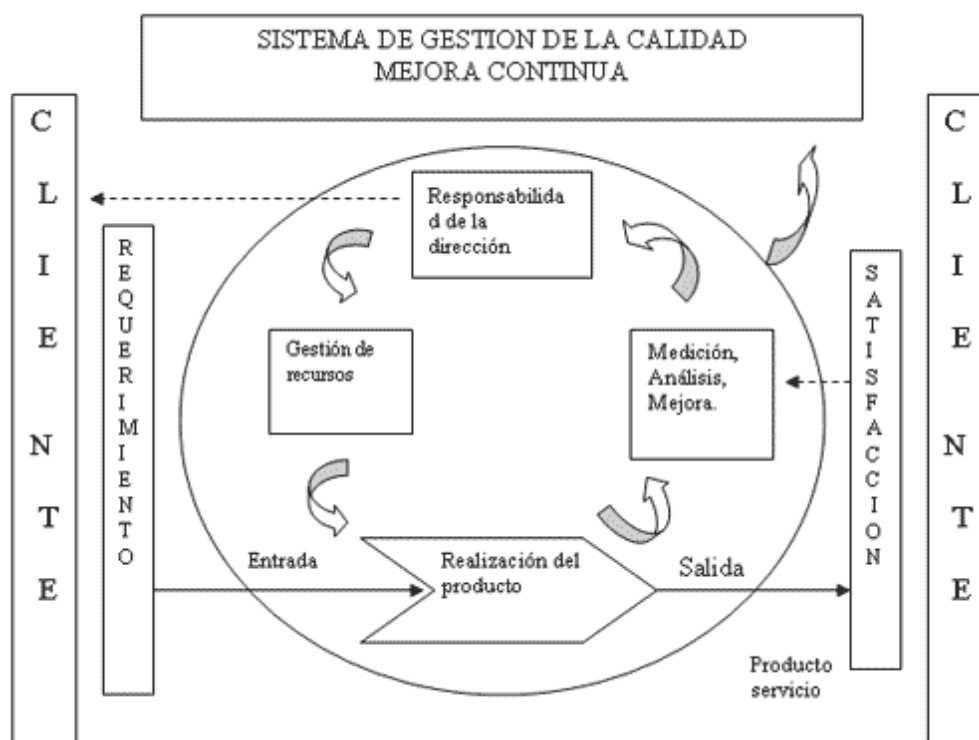


Figura 3: Sistema de Gestión de la Calidad

Fuente: Ing. Agr. Osvaldo Roby (2009) - Cátedra de Administración Rural, UNCuyo

Todo lo dicho anteriormente lleva a la necesidad de contar con una información lo más completa posible que ayude a garantizar la obtención de un alimento de alta calidad agroalimentaria y de gran aceptación.

3. LA PROBLEMÁTICA DE LOS NITRATOS EN LOS SISTEMAS AGROALIMENTARIOS

3.1. Ciclo del nitrógeno.

El ciclo del nitrógeno en el suelo está controlado en gran parte por bacterias simbióticas, autótrofas y heterótrofas, por lo que el ritmo del mismo depende de factores como: la humedad del suelo, la temperatura, el pH, etc. El nitrato(NO_3^-) es el producto final de la descomposición aeróbica del Nitrógeno y está siempre disuelto y móvil.

La nitrificación es la oxidación biológica de amonio a nitrito, seguidos por la oxidación a nitratos. Esta etapa es muy importante en el ciclo del nitrógeno en los suelos, dicho proceso fue estudiado por el biólogo ruso Winogradsky 1898.

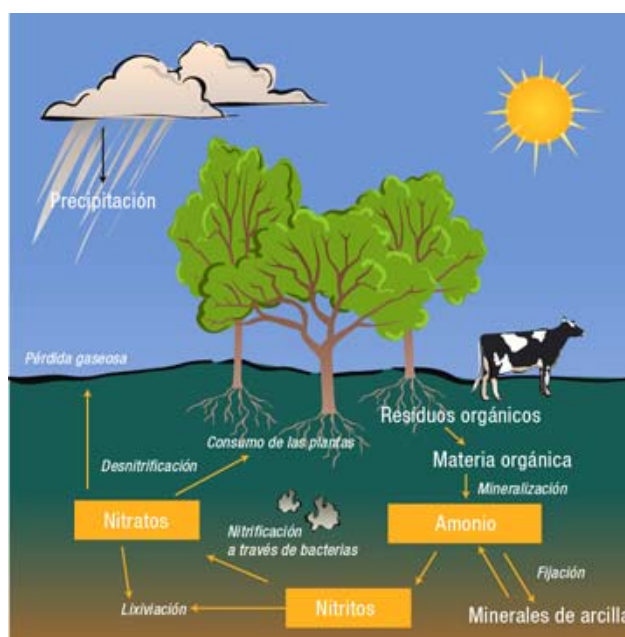
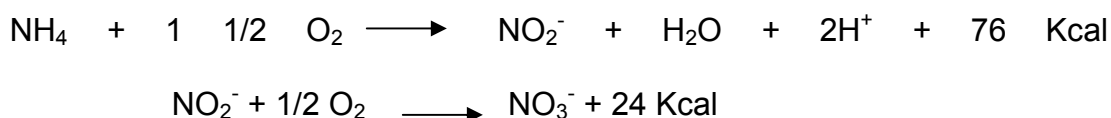


Figura 4 Ciclo del nitrógeno en la naturaleza.
Fuente: Harrison, J. A. (2010)

Se llama nitrificación a la primera fase (producción de nitrito) y nitratación a la segunda (producción de nitrato). La segunda oxidación de nitrito a nitrato la hacen mayormente, bacterias del género *Nitrobacter*, y en ambas etapas se produce energía que se destina a la síntesis de ATP.

Con la producción de los nitratos se llega a la última etapa de la mineralización de los compuestos orgánicos del nitrógeno.

3.2. El nitrógeno en el suelo y en la planta.

El nitrógeno como elemento esencial para el crecimiento de las plantas, se encuentra en el aire, disuelto en el agua y en el suelo en forma de compuestos orgánicos (98%) y minerales (2%). En la naturaleza existen dos formas principales de nitrógeno, una (inmediata) constituida por los nitratos del suelo y otra (mediata), que corresponde al nitrógeno atmosférico; esta última forma elemental es fijada por microorganismos del suelo, de vida libre (aeróbicos o anaeróbicos), o por aquéllos que viven en simbiosis en las raíces de las distintas especies (Albornoz, 2000).

El nitrógeno fijado por las formas microbianas es reducido a amonio. Éste mediante cetoácidos producidos durante el metabolismo de los carbohidratos, pasa a una combinación orgánica en forma de aminoácidos.

Por otra parte, pequeñas cantidades de nitrógeno se mueven como iones amonio (NH_4^+) y nitrato (NO_3^-) en las lluvias y luego son absorbidos por las raíces.

Las formas inorgánicas edáficas son absorbidas por los vegetales principalmente como nitratos (NO_3^-), y en menor proporción como amonio (NH_4^+). Los NO_3^- en la planta deben ser reducidos por procesos dependientes de energía antes de formar aminoácidos que luego constituirán las proteínas y otros constituyentes celulares.

Para maximizar la eficiencia de uso de N es necesario conocer la dinámica del nutriente en el sistema suelo-planta-atmósfera y cómo el manejo de suelos y cultivos afecta la misma.

A continuación, la Figura 5 muestra un esquema del ciclo terrestre del nitrógeno con las distintas fracciones y transformaciones que las relacionan.

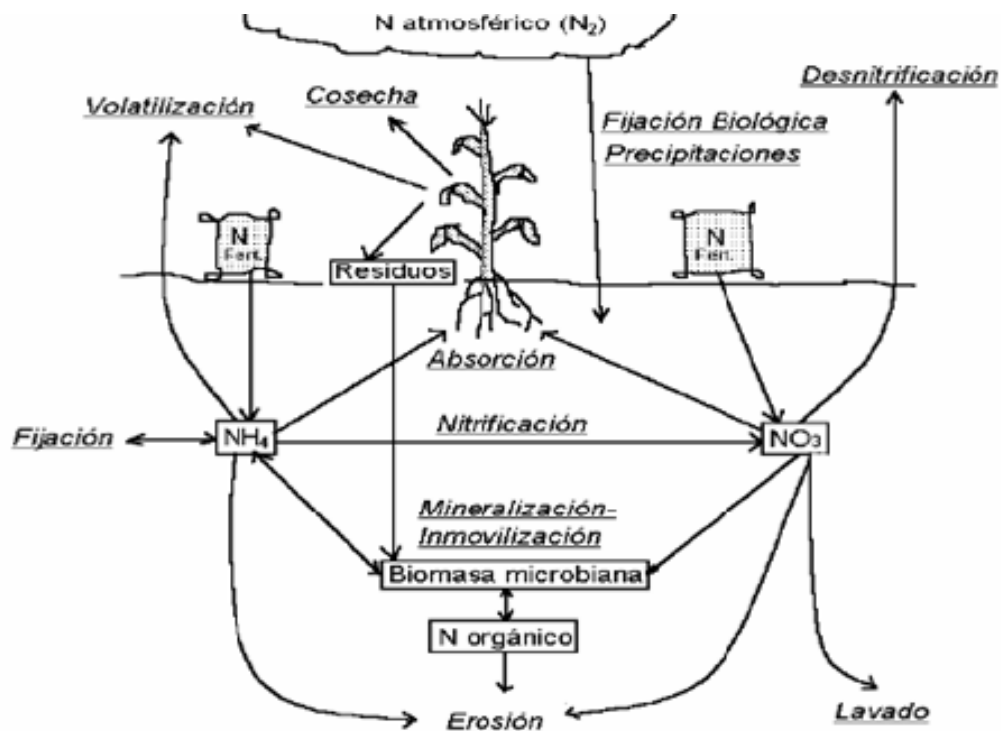


Figura 5: Representación del ciclo del nitrógeno en ecosistemas agrícolas.

Fuente: García, F. (1996) INTA Balcarce

3.3. La aplicación de Fertilizantes nitrogenados y su relación con los nitratos.

El Nitrógeno (N) es un macronutriente esencial para los vegetales. Es el elemento promotor del crecimiento de las plantas por excelencia, responsable de la formación de las proteínas, por lo que la demanda de los cultivos es muy importante.

Una práctica muy común para aumentar la concentración de N en suelo es la de fertilización, esto trae aparejado un aumento en su concentración dentro de la planta y por ende contribuye a incrementar la producción vegetal. El N es absorbido por las vegetales principalmente bajo dos formas inorgánicas: nitrato y amonio, en una relación aproximada de 4:1 respectivamente, variando la misma según la especie y momento fenológico del ciclo del cultivo (Martí, 2011).

El productor que posee la idea de sustentabilidad sabe que a través de las cosechas el suelo sufre una disminución de su fertilidad, y es por ello que realiza las fertilizaciones correspondientes para reponer al menos lo extraído por la cosecha.

Para realizar un suministro eficiente y positivo de N, se suele realizar previo al cultivo un análisis de la cantidad de N mineral presente en el suelo, como también la disponibilidad del mismo según la necesidad de la planta (profundidad que alcanza el aparato radical); realizándose también el cálculo de su liberación proveniente de la degradación de la materia orgánica. Esto justificaría la utilización de escalas de N total que se usan en la región de Cuyo para la fertilidad nitrogenada de los suelos (Martí, 2011).

El nivel de absorción y posterior acumulación de nitratos en zanahoria como en otras hortalizas, depende de un gran número de factores edafo - ambientales (tipo de suelo, suministro de agua, humedad del ambiente, luz, temperatura etc.) y también de la planta (rendimiento, especie, variedad, órgano vegetal comestible, etc.)

La alta disponibilidad hídrica del suelo favorece la absorción del ion nítrico en la planta, mientras que una elevada humedad de la atmósfera, al reducir el proceso de pérdida de agua a través de la transpiración, disminuye la velocidad de absorción de los nitratos. Es el caso de los cultivos protegidos, donde aumenta la temperatura, la humedad relativa, y la concentración de CO₂ sin disminuir la actividad fotosintética, favoreciendo la disminución en la absorción de nitratos (Seitz, 1986).

El uso de fertilizantes nitrogenados como la calcianamida que libera N en forma lenta o la urea, no presentan en su composición N – nítrico en comparación de los fertilizantes nítricos (nitratos de potasio, calcio, etc.), por lo que se puede obtener una reducción importante en el contenido de nitratos (Breimer, 1985) al utilizarlos.

En la mayor parte de los suelos agrícolas, en condiciones de temperatura media, las formas amoniacales u ureicas pasan velozmente a aquellas nítricas (7 – 14 días), por lo cual la acumulación de nitratos no difiere sustancialmente de la obtenida por empleo de iguales unidades de N nítrico. Este rápido pasaje no lo es tanto en ciclos de cultivo cortos (50 – 60 días), como es el caso de algunas “ensaladas” verduras de hojas (Martí, 2011).

En general, el efecto de la fertilización nitrogenada sobre la producción y los componentes químicos de la planta asociados a diferentes aspectos de la calidad, pueden resumirse en la siguiente Figura:

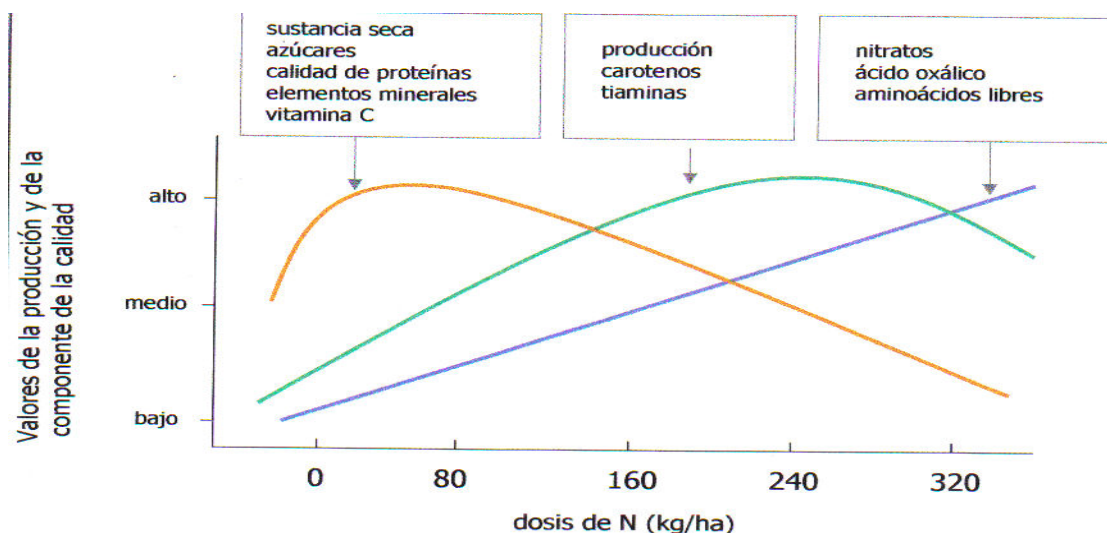


Figura 6 - Efecto de la fertilización nitrogenada en la planta sobre atributos de la calidad en frutas y hortalizas. Fuente: (Graifenberg *et al.*, 1993)

Con la finalidad de atenuar la acumulación de nitratos en los vegetales, es necesario programar correctamente la fertilización nitrogenada teniendo en cuenta lo siguiente:

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

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

A igualdad de condiciones, se ha observado que existe una diferencia de acumulación NO_3^- entre especies, subespecies y variedades. Las plantas que acumulan mayormente este ión son aquéllas de las familias de las Crucíferas, Quenopodiáceas, Amarantáceas, Asteráceas.

La Academia Nacional de Ciencia en Italia, considera como plantas acumuladoras de NO_3^- : rabanitos, remolachas, espinacas, brócolis, repollo de hojas crespas, lechuga, coliflor. Otras especies tienen una capacidad de acumulación media: zanahoria, papa, puerro, mientras un tercer grupo poseen una muy baja capacidad de acumular (Graifenberg *et al.* 1993; Patrino, 1984).

A continuación se presenta una tabla de clasificación en cuanto al contenido en nitratos. (Tabla 1)

Tabla 1: Contenido de nitratos (NO_3 mg kg^{-1} de sustancia fresca) en la parte comestible de diferentes especies hortícolas (Fuente: Graifenberg *et al.*, 1993)

Bajo contenido	Contenido medio	Contenido alto
< 500 mg/kg NO_3	500 - 1000 mg/kg NO_3	> 1000 mg/kg NO_3

Tomate	Arveja	Zanahoria	Lechuga arrepollada
Berenjena	Poroto	Papa	Espinaca
Pimiento	Achicoria	Puerro	Remolacha
Pepino	Hongos	Coliflor	Hinojo
Melón	Camote	Repollo	Perejil
Pepino	Maíz dulce		Endibia
Espárrago	Repollito de		Rabanito
Cebolla	Bruselas		Brócoli
Sandía			

También se debe tener en cuenta la edad de la planta ya que los tenores varían durante el periodo de crecimiento (Patrino, 1984). En cuanto a las partes vegetales comestibles, generalmente se observan mayores concentraciones en los órganos fotosintéticamente más activos (hojas), órganos de transporte, y en menor medida, en frutos, flores y semillas.

Un comentario aparte merecen todos los procesos de manipulación que se llevan a cabo en la transformación (lavado, cocción) y conservación de los alimentos (refrigeración, congelación). Así, a modo de ejemplo, un factor que interviene en la conservación es la acción de bacterias reductoras, la cuales causan la reducción del tenor del nitrato a nitroso, favorecida por las malas condiciones de almacenamiento.

3.4. Nitratos en hortalizas, consumidor y medio ambiente

Los nitratos llegan al organismo humano por dos vías principales: los alimentos (en particular los vegetales) y el agua de bebida.

Los nitratos y nitritos son sales que se añaden a los alimentos, como es el caso de carnes y pescados para preservar sus cualidades nutritivas, organolépticas y a la vez proteger al consumidor de una enfermedad de alto riesgo como es el botulismo.

En carnes crudas da una coloración roja debida a la reacción química entre la mioglobina y el ion nitrito; impartándole además un flavor "a curado" muy deseable en la mayoría de productos chacinados.

La leche líquida, generalmente no contiene más de 1 a 5 $\mu\text{g g}^{-1}$.

En el año 1985, se registró el primer caso de intoxicación mortal con nitritos en ganado lechero y fue descrito por Fritsch y Saint Blanquet (Dereche, 1990) encontrándose altos contenidos de este ión en forrajes verdes constituidos por tallos de maíz. Como consecuencia de ello, se estudió la relación que podría existir entre la alimentación del ganado, la leche producida y los contenidos de este ión.

Los estudios posteriores demostraron que, en las vacas lecheras, los niveles de NO_3^- encontrados en su dieta, no se relacionan con la concentración en la leche que producen. En los productos lácteos pueden estar presentes en

valores entre 3 a 27 $\mu\text{g g}^{-1}$ NO_3^- y de 0.2 a 1.7 $\mu\text{g g}^{-1}$ NO_2^- (ECETOC, European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals 1988).

En su valoración, los técnicos de OCU (consumidores europeos del grupo CONSEUR) consideraron como muy bueno al vegetal que presentaba una cantidad de nitratos inferior a 500 $\mu\text{g g}^{-1}$ y como aceptable el producto que tiene menos de 2.500 $\mu\text{g g}^{-1}$. Si supera dicha cantidad el producto se lo considera malo o no apto.

El límite legal es variable para cada verdura e incluso es distinto según el tipo de cultivo, forma de preparación y de estación como ocurre para algunos países por ejemplo para Italia.

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 $\mu\text{g g}^{-1}$ sumándose a esto la adición conjunta de ácido ascórbico.

La IDA (ingesta diaria admisible) establecida por la FAO/OMS no debe ser superior a 3,7 mg de nitrato por kilo de peso. Esto supondría unos 259 mg para un adulto de 70 kg de peso. En un niño, se ha calculado que en una dieta normal se ingieren entre 50 y 150 mg al día (sin contar el agua), cantidad que puede superarse si la dieta es rica en verdura, se ingieren alimentos excesivamente ricos en nitratos, o se utilizan leches en polvo, reconstituidas con aguas de mala calidad.

En cuanto a la relación con el medio ambiente, los estudios se han enfocado mayoritariamente al problema del agua. Se sabe que las aguas de origen subterráneo en muchos lugares presentan contenidos elevados de nitratos.

La contaminación con nitratos en áreas urbanas es el resultado de la contribución de fuentes puntuales y difusas. Las principales fuentes de contaminación son las descargas provenientes de pérdidas en los conductos cloacales, los pozos ciegos, los rellenos sanitarios, los basurales a cielo abierto, la infiltración de ríos contaminados (Figura 7).

La contaminación industrial aporta una importante concentración de nitratos, ya que en muchos casos, son empleados como materia prima. La industria de la construcción contribuye ya que la remoción del terreno realizada en cada obra, es un proceso equivalente al del arado en las áreas agrícolas; esto produce la aireación y la mezcla de las fuentes de carbono y nitrógeno con los microorganismos del suelo, que en esas condiciones lleva a cabo los procesos de mineralización y nitrificación (Whitmore, 1992).

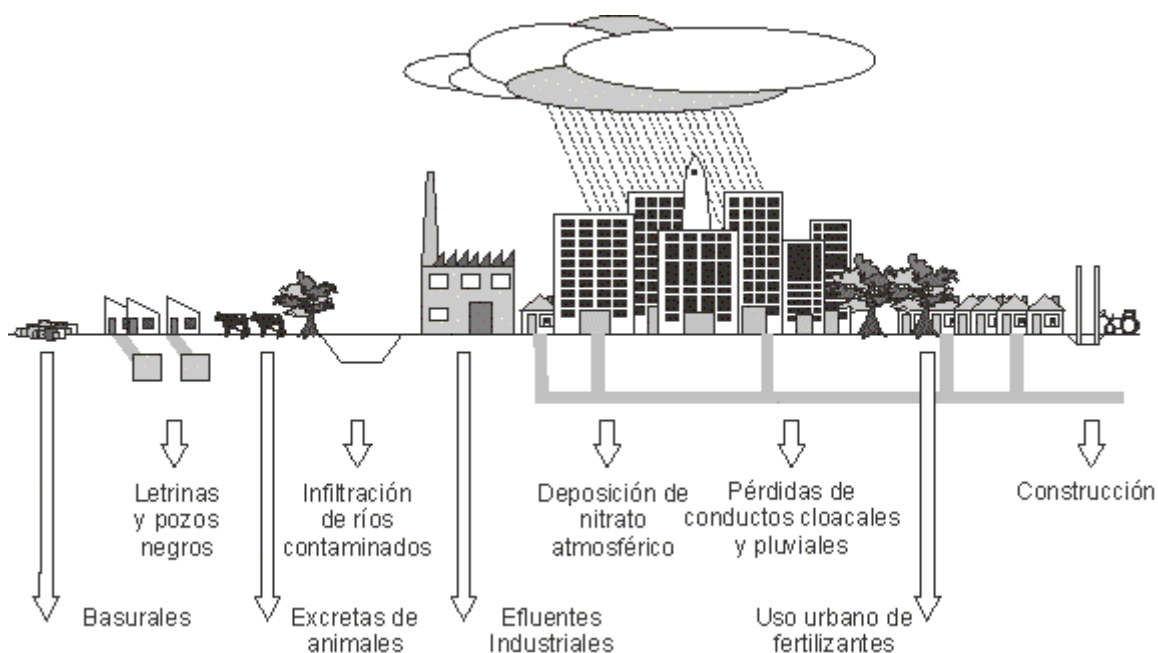


Figura 7: Principales fuentes de contaminación por nitrato en áreas urbanas
 Fuente: FANUS Dr. Gallegos A. 2006

Los nitratos son altamente estables y no son en absoluto tóxicos; en términos de contaminación ambiental, en cambio los nitritos, son muy reactivos y están dotados de numerosos efectos tóxicos. El problema reside en que en determinadas condiciones los nitratos se transforman en nitritos y éstos últimos se ligan a otros compuestos formando los llamados N-nitrosados o nitrosaminas siendo los que realmente presentan toxicidad.

Las nitrosaminas son sustancias de acusada toxicidad que causan necrosis hepática en animales y humanos, oclusión fibrosa de las venas y hemorragia pleural y peritoneal en animales. La intoxicación crónica produce fibrosis hepática, proliferación de conductos biliares, hiperplasia hepática (Giannuzzi L. 2010)

Es importante resaltar que estudios realizados en sistemas super intensivos de producción de hortalizas (invernaderos), se pudo establecer que los NO_3^- duplican prácticamente sus concentraciones en los tejidos vegetales, lo que podría deberse a la menor iluminación, y al manejo de la nutrición sumado a las características de las especies de hoja que, como se dijo anteriormente, se caracterizan por ser acumuladoras de este ión y conjuntamente con las variedades y el abonado son los principales factores que ayudan a producir dicha acumulación (Bermejillo, 2007)

Por último, cabe destacar que las áreas agrícolas más contaminadas son, en muchos casos, aquellas en las que se practica una agricultura intensiva, con grandes aportes de fertilizantes y con sistemas de producción altamente tecnificados.

4. ASPECTOS TOXICÓGICOS DE LOS NITRATOS Y NITRITOS

4.1. Efectos de los nitratos en animales de laboratorio.

La toxicidad aguda oral de los nitratos en animales de laboratorio es relativamente baja. La DL₅₀ (dosis letal para el 50% de la población en estudio) es de 1,6 a 9 g de nitrato de sodio por kg de peso corporal para ratones, ratas y conejos.

En el caso de los rumiantes, estos son más sensibles a los efectos de los nitratos como resultado de una mayor reducción en el rumen; la DL₅₀ para vacas es de 0,45 g de nitrato de sodio por kilogramo de peso corporal.

Los nitritos, son más tóxicos que los nitratos, la DL₅₀ estudiada en ratones y ratas es de 85 a 220 mg de nitrito de sodio por kilogramo de peso corporal (Speijers *et al.*, 2004; FAO/WHO, 1995). El nitrato de potasio es más tóxico que el de sodio y en dosis alta provoca diarreas e irritación local del intestino debido a la extracción de agua por efecto ósmotico.

Si bien la toxicidad de los nitratos es relativamente baja como se indicó anteriormente, su peligro radica en la posible reducción a nitritos. Los nitratos son transformados en nitritos por procesos enzimáticos o por la actividad de los microorganismos. Esta reducción transcurre sin ningún control, pudiendo producirse espontáneamente en los alimentos y el tracto digestivo humano.

4.2. Acción a corto plazo.

En un estudio de trece semanas en el cual se dio nitrito en el agua de beber a ratas, se observó que a altas dosis (100, 300, 1000, o 3000 mg NO₂ L⁻¹) se producía hipertrofia de la zona glomerulosa adrenal. Así mismo, también se pudo comprobar que había un incremento en los niveles de metahemoglobina (Til *et al.*, 1988).

La FAO/WHO en 1995 concluyó en que el NOEL (nivel sin efecto observable - No observed effect level) en este estudio era de 100 mg de nitrito de potasio por litro; equivalente a 4 - 5 mg kg⁻¹ de peso corporal por día expresado como ión nitrito.

4.3. Acción a largo plazo.

En un estudio a largo plazo, sólo se observaron efectos después de dos años en ratas con una administración oral de nitrato de sodio (en concentraciones del 5% y mayores). Sólo se observó una inhibición en el crecimiento de las mismas. El NOEL para estudio fue del 1%, el cual corresponde a 370 mg de nitrato por kilogramo de peso corporal y por día (Speijers *et al.*, 2004; FAO/WHO, 1995).

En cuanto a los nitritos, uno de los efectos observados en estudios a largo plazo en una variedad de especies animales, es la diferencia de la vitamina A. Esto es probablemente causado por la reacción directa entre el nitrito y la vitamina A. Cabe destacar que la concentración de esta vitamina en el plasma

humano está en relación directa con la ingesta de frutas y vegetales. La dosis recomendada es de 60 mg por día, siendo el aporte en 100 g de zanahoria de 0,8 mg (Maroto, 2002).

Sin embargo, el efecto más importante observado, fue un incremento del nivel de metahemoglobina y los cambios histopatológicos en pulmón y en el corazón en ratas que recibían nitrito en el agua.

El NOEL fue de 100 mg de nitrito de sodio por litro, equivalente a 10 mg de nitrito de sodio por kilogramo de peso corporal y por día (o $6,7 \text{ mg kg}^{-1}$ de peso corporal por día expresado como ion nitrito según Speijers *et al.*, 2004).

En el plano mundial, un estudio de los riesgos para la salud de origen alimentario reveló que los riesgos debidos a aditivos alimentarios y residuos de plaguicidas son relativamente secundarios (en lo que respecta a los efectos tanto agudos como crónicos) en comparación con los contaminantes microbiológicos y otras toxinas naturales.

- 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.* 2004; FAO/WHO, 2004).

Los nitritos 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, causado 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 el.* 1989; FAO/WHO, 2004).

- Mutagenicidad.

El nitrato ha mostrado ser no mutagénico en bacterias y en células de mamíferos *in Vitro*.

El nitrito, en cambio, si es mutagénico. Este 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 (Speijers *et.* 1989; FAO/WHO, 2004).

- Carcinogenicidad.

El nitrito no es cancerígeno en animales de laboratorio, esto lo revelan estudios realizados en ratones o ratas administrados con la dieta, solo se mostró una leve incidencia en la formación de tumores.

Cuando se trató a los ejemplares con altos niveles de nitritos conjuntamente con precursores nitrosables, se observó un incremento en la incidencia de tumores (Speijers et. 1989; FAO/WHO, 2004).

En agua de consumo a niveles bajos de nitritos, la incidencia de tumores apareció solo en aquellos grupos de control tratados con compuestos nitrosables con lo cual puede concluirse que el nitrito por si solo no es cancerígeno para los animales (Speijers et. 1989; FAO/WHO, 2004).

Las nitrosaminas, son un tipo de compuestos sobre cuya acción cancerígena no existen dudas. En las experiencias de laboratorio se ha comprobado que alrededor del 75 % de ellas pueden originar cánceres hepáticos (necrosis hepática en animales y humanos) oclusión fibrosa de las venas y hemorragia pleural y peritoneal en animales.

La intoxicación crónica en animales produce fibrosis hepática, proliferación de conductos biliares, hiperplasia hepática y, aunque con menor frecuencia, también de pulmón, estómago, riñones, esófago y páncreas.

También se ha podido comprobar que existe una correlación directa entre el consumo de alimentos o aguas con exceso de nitratos y los cánceres gástricos.

4.4. Los nitratos y nitritos en niños pequeños.

Numerosos estudios han demostrado que un agua contaminada con nitratos empleada para la preparación de biberones es susceptible de hacer aparecer en los lactantes una cianosis debida a la formación de metahemoglobina.

El problema en los niños, está dado por:

- La hemoglobina fetal y los eritrocitos en los bebés son más susceptibles de transformarse en metahemoglobina por la acción de los nitritos.
- En lactantes la baja producción de ácidos gástricos en el estómago, permite el crecimiento de ciertos microorganismos que contienen enzimas capaces de reducir los nitratos a nitritos.
- El nitrito puede reaccionar en medio ácido del estómago con las aminas, sustancias obtenidas por el metabolismo de los alimentos proteicos (carne, pescados, huevos, leche y derivados de estos alimentos) originando nitrosaminas.

Los infantes son menos capaces de reducir la metahemoglobina a la forma ferrosa, debido a que son deficientes en las enzimas necesarias para este proceso (Speijers *et al.*, 2004; FAO/WHO, 1995). Es así que el nitrato en el medio reductor del intestino del lactante es transformado en nitritos, que a su vez provoca la oxidación del Fe^{+2} de la hemoglobina a Fe^{+3} generando así la metahemoglobina, la cianosis y la asfixia interna se produce ya que la

metahemoglobina tiene menos eficiencia que la hemoglobina en el transporte de oxígeno en la sangre (Speijers, 2004; FAO/WHO, 1995). El deterioro de la salud del bebe es rápido, pudiendo llegar a la muerte.

Como los nitratos, no tienen sabor ni color es difícil su determinación; por ello se aconseja que si se bebe agua de pozo, se realice un análisis previo, pudiendo ser cualitativo con algún método sencillo que indique la presencia o no del ión. En caso positivo, se procederá a cuantificar su cantidad.

Esta intoxicación no ocurre en niños de mayor edad ni en adultos, en los que al existir una acidez gástrica más elevada no se produce una proliferación bacteriana en los tramos altos del intestino, por lo que no ocurre esta reducción de nitratos a nitritos.

En la actualidad las compañías que preparan alimentos para bebés controlan de manera especial los contenidos en nitratos en las materias primas tales como zanahorias, zapallo, acelga, espinacas, etc. que son base de los Baby Food, todas ellas regidas con normas o directiva como por ejemplo la de la Comisión Europea [2006/125/CE](#) del 5 de diciembre de 2006, relativa a los alimentos elaborados a base de cereales y alimentos infantiles para lactantes y niños de corta edad, que estipula obligaciones de no contener más de 200 mg kg⁻¹ de nitratos y ausencia total de plaguicidas.

5. TOXICOCINÉTICA DE NITRATOS Y NITRITOS EN HUMANOS

Las personas adultas como los niños, están expuestos al consumo de nitratos, por medio del agua y los alimentos, la absorción es por medio del intestino y luego son excretados por la orina.

Tomando como criterio de toxicidad la formación de metahemoglobina (metHb), la dosis tóxica para el nitrato está dado en un rango de 2 a 9 g (equivalente a 33 – 150 mg de nitrato por kg de peso corporal).

En un estudio realizado, una dosis oral de 7-10,5 g de nitrato de amonio y una dosis intravenosa de 9,5 g de nitrato de sodio no causaron incremento de metHb en adultos, pero sí provocaron vómitos y diarreas (Speijers *et al.* 2004; FAO/WHO, 1995).

La metahemoglobina es producida por la transformación de la hemoglobina por parte de los nitratos. La hemoglobina normalmente transporta el oxígeno a través de los vasos sanguíneos y capilares, pero cuando pasa a metahemoglobina pierde dicha capacidad. La cantidad normal de metahemoglobina no debe exceder el 2 %, entre el 5% y el 10% se manifiestan los primeros signos de cianosis. Entre el 10% y el 20% se aprecia una insuficiencia de oxigenación muscular y por encima del 50% puede llegar a ser mortal.

Los casos reportados de metahemoglobinemia en adultos producidos por alta dosis de nitratos se debieron a exposición accidental o por tratamientos médicos. Los casos fatales conocidos fueron aquellos dados después de una sola toma de 4 – 50 g de nitrato (equivalente a 67- 833 mg de nitrato por kg de

peso corporal), (Speijers *et al.* 2004; FAO/WHO, 1995), muchos de los cuales eran personas tratadas por acidez gástrica reducida.

En la saliva la transformación de nitratos a nitritos, es realizada por la enzima nitrato reductasa, la cual es capaz de transformar hasta un 25% de los nitratos contenidos en los alimentos. Esta concentración es proporcional a la ingesta, que puede variar entre 5 a 10 mg L⁻¹ hasta 350 mg L⁻¹.

En el estómago, la cantidad de compuestos nitrosos formados pueden ser superior en individuos que presentan aclorhidria, ya que a elevados pH (mayor de 5) se incrementa la presencia y actividad de la microflora bacteriana responsable de la formación de estos compuestos, tal es el caso de las nitrosaminas, responsables en gran parte de la aparición ciertos cánceres.

La presencia de nitrosaminas en el organismo puede deberse a un efecto exógeno a partir de la ingesta de vegetales, alcohol, productos de síntesis, cigarrillos, etc., o endógeno por su formación in vivo a partir de aminas. Estos compuestos se han detectado en numerosos alimentos en cantidades variables; siendo el más común la dimetilnitrosamina con alto poder cancerígeno (Belitz y Grosch, 1998).

5.1. Ingreso de los nitratos al organismo:

En forma de resumen se presenta un cuadro de la vía de ingestión y transformación de los nitratos al organismo.

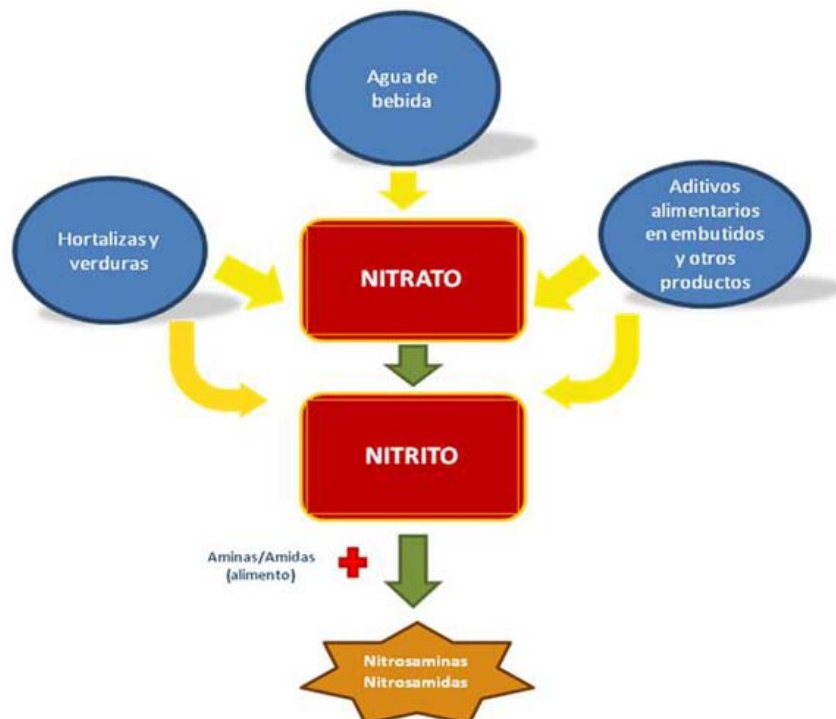


Figura N° 8: Vías de ingestión de nitratos y su transformación en nitritos y nitrosaminas. Fuente: P. Fritsch y G. de Saint Blanquet citado por Dereche (2003).

5.2. El metabolismo de los nitratos en el hombre

Los nitratos están siempre presentes en nuestro flujo sanguíneo, a niveles que normalmente varían entre 1 y 3 mg L⁻¹ luego de cada comida. Como se mencionó anteriormente coexisten dos fuentes de nitratos; una fuente exógena que proviene de los alimentos y del agua, y otra endógena de la actividad celular; como se puede observar en la Figura 9, cada una provee entre 70 y 75 mg por día.

El proceso metabólico del amino ácido L-arginina libera un átomo de nitrógeno a nivel celular, lo cual crea una molécula de monóxido de nitrógeno, NO.

Fuera de la célula, las moléculas de NO se combinan con el oxígeno para formar varias moléculas que incluyen nitratos, nitritos y nitrosaminas.

La presencia en vegetales según (Lindner E. ,1995) de aminas primarias y secundarias tanto en espinacas como en zanahorias es aproximadamente de (12 mg kg⁻¹) las cuales se encuentran en formas de sales nitrosadas, que luego producen reacciones catalíticas de nitrosaminas.

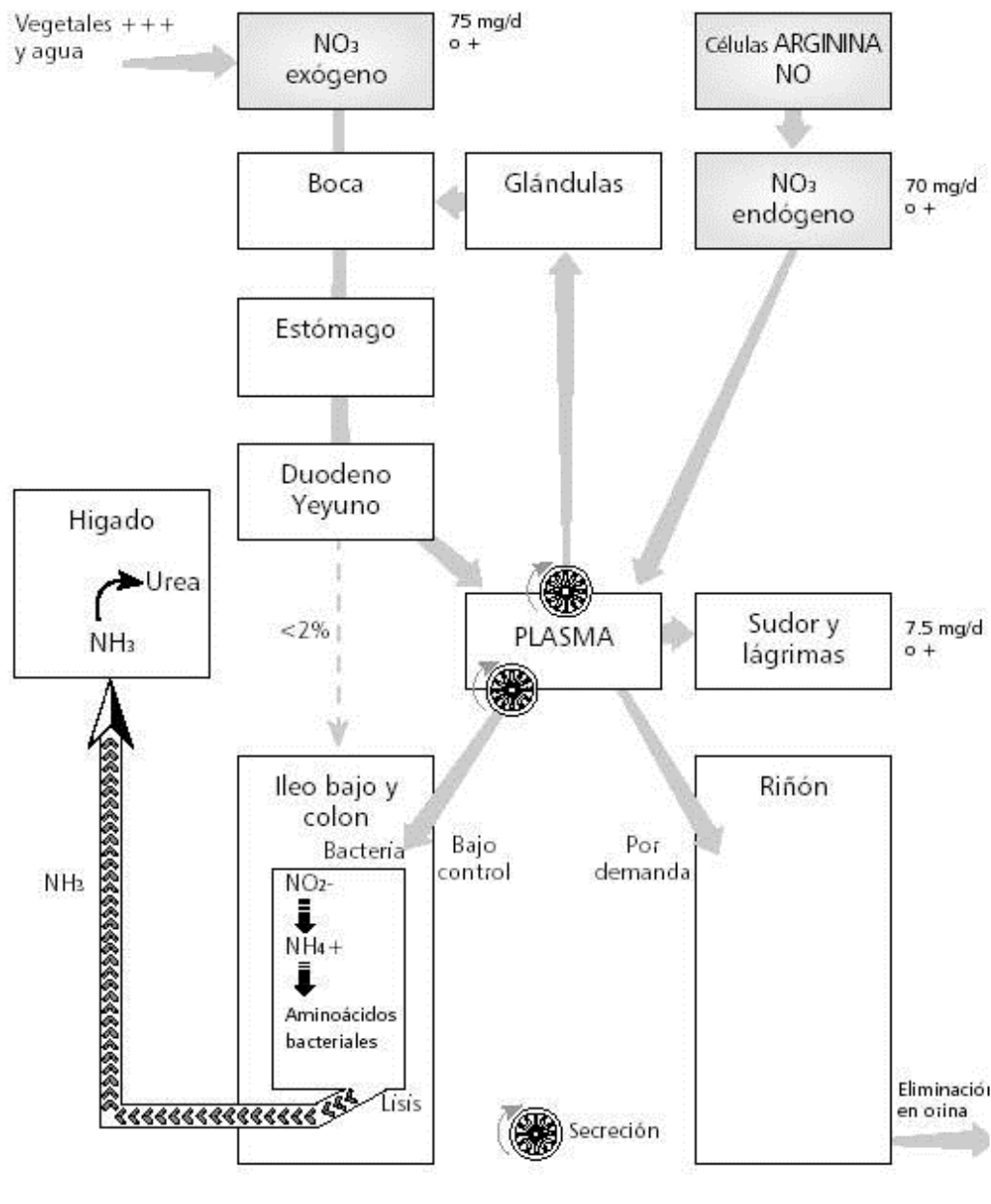


Figura 9: El metabolismo de nitratos en el hombre.

Fuente: P. Fritsch y G. de Saint Blanquet 2003

De ahí en más, el destino de los nitratos plasmáticos de fuentes exógenas y endógenas es bastante inusual.

Una pequeña proporción de nitratos plasmáticos aproximadamente el 10 % de la cantidad ingerida, es eliminada a través de la transpiración y las lágrimas (Shephard, 2004; FAO/WHO, 1995), la otra mayor concentración de los mismos son excretados en forma pasiva en la orina.

En el colon una de las funciones de las células del epitelio es extraer los iones de NO_3^- del sector plasmático hacia la luz del mismo, por medio de captura activa. El propósito de esta secreción, muy probablemente sea asegurar la nutrición de la flora bacteriana colónica; llamando a este fenómeno secreciones colónicas.

Las células del acino salival también extraen en forma activa iones de NO_3^- del sector plasmático y los libera en la saliva, su producto de secreción. A veces, los niveles de nitratos salivales están entre 6 y 30 veces más altos que en los nitratos plasmáticos.

De ahí en más, estos nitratos salivales continúan en la boca por un período, y caen en la influencia de enzimas bacteriales producidas por una flora bacteriana relativamente abundante. Algunos de estos nitratos (NO_3^-) salivales se transforman en nitritos salivales (NO_2^-).

Tal como muestra en la Figura 10 los iones de NO_3^- pasan a través de la cavidad oral dos veces, la primera en forma de nitratos dietarios, la segunda como nitratos salivales. Sólo el último proceso induce a la formación de cierta cantidad de nitritos salivales que llegan al estómago cuando se traga saliva.

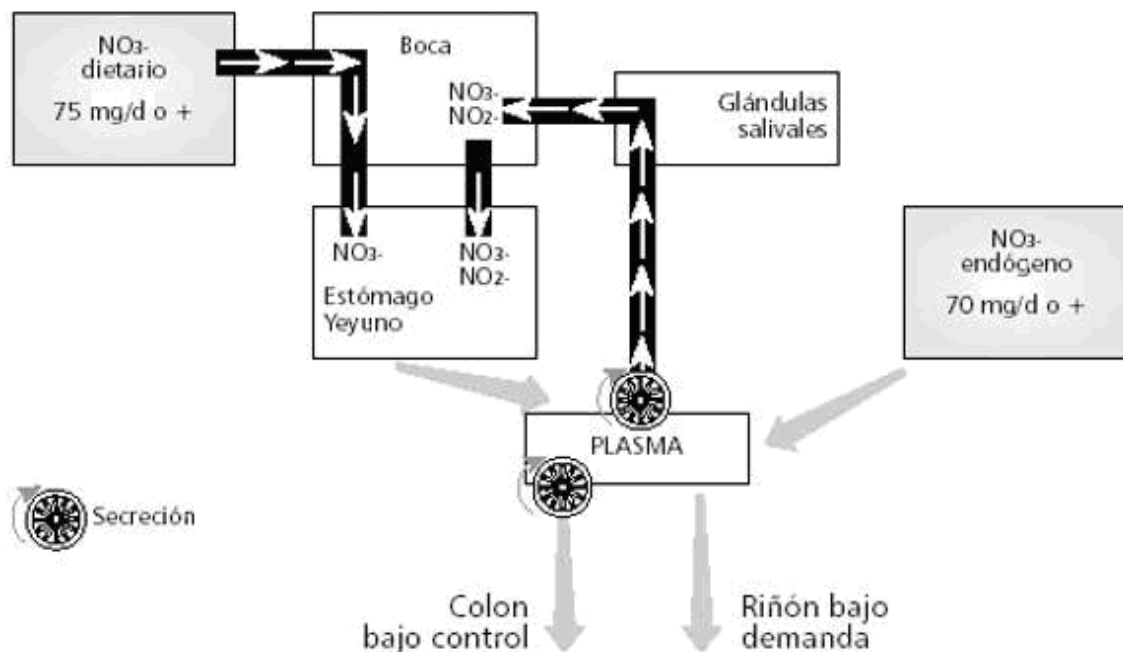


Figura 10: Nitratos en boca.

Fuente: P. Fritsch y G. de Saint Blanquet 2003

El rol de esta secreción salival de nitratos merece una aclaración. Probablemente se trate de un estado preliminar en la digestión de proteínas, ya que los nitratos salivales tienen la capacidad de hacer que las proteínas alimenticias sean más sensibles a la subsiguiente acción de las enzimas proteolíticas (pepsina y tripsina).

Otros estudios de laboratorio demostraron que en un medio ácido, los nitratos salivales ingeridos que han llegado al estómago liberan NO y así destruye organismos como los *Candida albicans* y *Escherichia coli*, promoviendo de esta manera, la defensa del anfitrión contra los patógenos ingeridos.

Los nitratos dietarios y los nitratos eliminados por las glándulas salivales son dos entes distintos; solos los iones de nitratos eliminados por las glándulas salivales como precursores de nitratos pueden introducir nitrosaminas.

Por el contrario los iones nitritos llegan intactos al estómago sin convertirse en nitratos y por lo tanto sin riesgo de convertirse en nitrosaminas.

6. COMPOSICIÓN NUTRICIONAL DE LAS HORTALIZAS

Desde el punto de vista nutritivo, las frutas y hortalizas no son suficientes para satisfacer los requerimientos nutricionales diarios, esencialmente por su bajo contenido de materia seca. Poseen un alto contenido de agua y bajo de carbohidratos (exceptuando batata, papa, yuca y otros órganos subterráneos), de proteínas (salvo las leguminosas y algunas crucíferas) y de lípidos (excepto palta), pero son, en general, una buena fuente de minerales y vitaminas. Diversos países han elaborado tablas de ingesta diaria recomendada, siendo probablemente la U.S.R.D.A. (United States Recommended Daily Allowances) la más conocida. Estas tablas son de referencia únicamente e indican la capacidad de los alimentos para satisfacer las necesidades diarias de determinados nutrientes. Es necesario mencionar que las condiciones de cultivo, variedades, clima y formas de preparación influyen en el contenido de nutrientes (FAO, 2006).

La fibra dietética se puede definir como la porción vegetal que no puede ser digerida por las enzimas del tracto digestivo humano aunque sus componentes son metabolizados anaeróticamente en proporciones variables por la microflora del colon. Son polisacáridos estructurales de las plantas y se dividen en celulosa, hemicelulosas, lignina, pectinas, gomas y mucílagos. La fibra dietética contribuye a la regulación del tránsito fecal, por lo que combate tanto la diarrea como el estreñimiento, contribuye a mantener los niveles de glucosa en sangre y a eliminar parte del colesterol circulante. Es útil en dietas contra la obesidad pues al digerirse en un bajo porcentaje, proporciona pocas calorías y el mayor tiempo y energía necesarios para masticarla hacen que se llegue antes al reflejo de la saciedad. En un adulto sano se considera óptima la ingesta diaria de 25 a 30 gramos de fibra dietética (FAO, 2006).

El descubrimiento de que determinados alimentos poseían compuestos biológicamente activos y beneficiosos para la salud más allá de la nutrición básica, abrió una nueva etapa en la ciencia de la nutrición. Estos compuestos o sus metabolitos que han sido denominados «funcionales», ayudan a prevenir enfermedades como el cáncer, tienen un efecto protector ante problemas cardiovasculares, son neutralizantes de los radicales libres, reducen el colesterol y la hipertensión, previenen la trombosis, y otros efectos beneficiosos. También se denominan «funcionales» a aquellos alimentos que los contienen aunque también han sido propuestos otros nombres tales como «farmacoalimentos», «nutracéuticos», y otros. Como la mayor parte de estos compuestos son de origen vegetal, muchos autores los denominan fitoquímicos (FAO, 2006).

Las frutas y hortalizas son particularmente ricas en fitoquímicos como los terpenos (carotenoides en frutos de color amarillo, naranja y rojo y limonoides en cítricos), fenoles (los colores azul, rojo y violeta de las cerezas, uvas, berenjenas, berries, manzanas y ciruelas), lignanos (brócoli), y tioles (compuestos que poseen azufre, presentes en ajo, cebolla, puerro y otros alliums y en repollos y coles en general).

6.1. Valor nutricional de la zanahoria

La zanahoria tiene un pH que varía ente 4,90 a 5,20, posee un elevado poder energético (40 a 47 calorías por 100 gramos de producto comercial) dependiendo del contenido de azúcar. Contiene una buena cantidad de ácidos orgánicos, en especial málico, sales minerales, y vitaminas entre las que se destaca el caroteno. Este compuesto además es el responsable de la pigmentación anaranjada intensa, y está constituido por alfa y beta caroteno representando un 90% de los carotenoides totales presentes en esta especie.

Los carotenes están concentrados preferentemente en los estratos superficiales de la parte comestible, por lo que al preparar la raíz, ésta debería ser ligeramente raspada. Durante la cocción, solo se pierde una mínima parte de la provitamina A, mientras no se han observado disminuciones cuando la zanahoria es asada o frita (Siviero y Donelli, 1997; Rubatzky *et al.*, 1999).

CAPÍTULO II

EVALUACIÓN DE LA CALIDAD INTRÍNSECA EN UNA HORTALIZA DE RAÍZ: CONTENIDO DE NITRATOS Y COMPOSICIÓN NUTRICIONAL EN ZANAHORIA.

1. INTRODUCCIÓN

La calidad e inocuidad de los alimentos son objeto de preocupación para todos los que de una manera u otra están dentro de la cadena de producción de alimentos. Los consumidores esperan que sus alimentos sean apetecibles, nutritivos e inocuos.

La industria alimentaria debe garantizar la calidad de sus productos mediante la aplicación de programas de garantía.

Sumado a la inocuidad, los atributos de calidad incluyen el valor nutricional, las propiedades organolépticas como ser el aspecto, color, textura y sabor, y las propiedades funcionales. Estos criterios de calidad interesan también a los consumidores, la industria alimentaria y los órganos gubernamentales encargados de la reglamentación.

La inocuidad de los alimentos puede verse afectada tanto en la etapa de producción como así también la manipulación, elaboración y envasado; entre los factores de riesgo se incluyen los trastornos microbiológicos tales como bacterias, protozoos, parásitos, virus y hongos o sus toxinas.

En la etapa de producción una utilización errónea de plaguicidas o medicamentos veterinarios autorizados, puede crear también peligros químicos para los alimentos. Así mismo, los piensos contaminados o las prácticas inadecuadas de alimentación animal pueden perjudicar la obtención de un producto inocuo.

Otro caso se presenta con la utilización de fertilizantes nitrogenado en forma de nitrato o capaz de ser oxidado a nitrato por los microorganismos de la tierra, y aplicada en cantidades generosas, normalmente producirá una acumulación de nitrato en la planta (Maynard *et al.* 1976). De lo antes mencionado se desprende que dicha práctica reviste gran importancia en el cultivo de zanahoria la cual generalmente es consumida en fresco, hervida, y además es una de las hortalizas más utilizada industrialmente en apertización, congelación y deshidratación en los cuales los controles de niveles de nitratos es sumamente importante al momento de evaluar la calidad. (Maroto, 1995).

Los vegetales son la fuente principal de incorporación de nitratos a través de los alimentos, aportando más del 80 % en la ingesta diaria, fundamentalmente a través de raíces, hojas y tallos, mientras que la contribución por ingesta de

cereales y frutas es muy baja de igual forma se debe sumar al total de la ingesta (Pimpini *et al.*, 2000).

Cabe destacar que es importante la cantidad y la manera en la cual se consume una hortaliza (cruda o cocida). La cocción con abundante agua revela que buena parte de los nitratos es lixiviada; en el caso de la espinaca y zanahoria, esta disminución es del 50%. Con la cocción al vapor, existe sólo una pequeña variación en la concentración de nitratos; en el caso de hortalizas con poco contenido de sustancia seca, se obtienen pérdidas comparables con las de la ebullición en agua (Filippini, 2006).

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

Además del peligro potencial que representan los nitratos para la salud, la preservación de las conservas vegetales puede alterarse debido a la presencia de este ión, ya que el mismo puede actuar como agente oxidante sobre la hojalata, reduciendo la vida útil de estos productos cuando se ha apertizado arveja, zanahoria, espinaca y tomate (Maynard *et al.*, 1976).

Otro de los compuestos aportados tanto por frutas frescas como por vegetales es el de la vitamina C, donde la OMS recomienda una ingesta de 10 mg diarios, presenta un efecto antioxidante efectivo, ya que es capaz de atrapar y reducir nitritos disminuyendo así la formación en el estómago compuestos carcinogénicos nitrosos (Pokorny- Yanishlieva, 2004).

En cuanto a su composición química, esta hortaliza aporta muchos beneficios a la salud del cuerpo y a la belleza de la piel. Su rica composición en vitaminas y nutrientes, sumada a su escaso contenido de calorías, hacen de las zanahorias, uno de los alimentos favoritos de las dietas para adelgazar.

Su principal componente luego del agua, son los hidratos de carbono, fuentes rápidamente disponibles de energía. Además, posee carotenos, entre ellos el beta-caroteno o pro-vitamina A, pigmento natural que se transforma en el organismo en vitamina A, como así también, vitamina E y vitaminas del grupo B, como la vitamina B3 o niacina y los folatos (Rubatzky *et al.*, 1999)

Entre los minerales que entran en su composición, se destaca su contenido en potasio y sus aportes, en menor cantidad, de fósforo, magnesio, yodo y calcio. Por todo esto, incorporar zanahoria a la dieta diaria es una buena elección para mantener la belleza de la piel, además de poder disfrutar de un cuerpo saludable y pleno de energía. También su consumo permite la incorporación de otros nutrientes secundarios como la niacina o vitamina B3 que ayuda al mantenimiento de la piel, el funcionamiento del sistema digestivo y nervioso así como también un correcto proceso de asimilación de energías de los alimentos.

Con este trabajo se pretende establecer la composición centesimal de los principales principios orgánicos e inorgánicos de la zanahoria cultivada en un agrosistema regadío donde se han aplicado diferentes dosis de NP y determinar los niveles de nitratos presentes en zanahoria durante el ciclo del cultivo y a la cosecha.

2. HIPOTESIS Y OBJETIVOS

2.1. Hipótesis de Trabajo.

- La aplicación de dosis crecientes de nitrógeno y fósforo como fertilizantes provoca aumentos en los contenidos de nitratos y otros principios nutritivos en zanahoria (*Daucus carota* L.).
- El patrón de comportamiento del nitrato y otros nutrientes en la planta durante el cultivo varía, entre las partes aérea y radical, según ritmo de crecimiento y estado fenológico del cultivo.
- Existe correlación entre las determinaciones de nitratos realizadas por el método rápido a campo y el método de laboratorio.

2.2. Objetivo General:

- Determinar el contenido de nitratos y la composición centesimal en zanahoria (*Daucus carota* L.) en un agroecosistema con aplicaciones crecientes de nitrógeno y fósforo, en el momento de la cosecha.

2.3. Objetivos Particulares:

- Analizar los principios inorgánicos (N, NO₃, P, K, Mg y Ca) y orgánicos (cenizas, proteínas, grasas, fibras y extracto no azoado) en raíz y en hoja fertilizados con dosis crecientes de NP
- Determinar si existe correlación entre el test rápido de determinación de nitratos por método rápido en campo (Cardymeter) y el método de laboratorio.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Sitio del cultivo y obtención de las muestras

Se realizó un ensayo de fertilización en zanahoria (*Daucus carota* L.) variedad Beatriz, doble propósito, en el INTA- EEA La Consulta, durante la campaña agrícola 2005/2006. Se probaron tres niveles de N (0, 150 y 300 kg N ha⁻¹) y

tres de P (0, 30 y 60 kg P ha⁻¹), en un diseño en bloque completos al azar con arreglo factorial y tres repeticiones.

La zanahoria se sembró a chorrillo, sobre camas de siembra, en dos hileras, a mediados de agosto (16/08/2005) y se cosechó a principios de enero (05/01/2006). El riego se hizo por surco, aplicándose dos riegos por semana durante la emergencia y luego uno por semana hasta cosecha. El P se aplicó como superfosfato triple a la siembra. Las aplicaciones de N (urea) se realizaron en 3 oportunidades, a los 30, 46 y 68 días después de la siembra (dds) distribuidos en 20, 30 y 50% respectivamente, de las dosis programadas. A los 86, 107, 128 dds se efectuaron extracciones destructivas de planta entera, separando raíz y parte aérea. La cosecha se efectuó a los 142 dds, evaluándose el rendimiento total y sus diferentes componentes (zanahorias bifurcadas, rajadas, podridas, afectadas por insectos). El manejo general del cultivo se efectuó siguiendo las normas de Buenas Prácticas Agronómicas del INTA.

Sobre muestras de raíces obtenidas a la cosecha se realizó la caracterización nutricional y se determinó el contenido de nitratos

El estudio llevado a cabo en esta tesina, se ha centrado en el análisis de los tratamientos N0P0, N1P1 y N2P2, realizándose extracciones destructivas de planta entera a partir de los 86 días después de la siembra (dds) y en el momento de la cosecha.

3.2. Acondicionamiento de las muestras:

Las plantas procedentes del ensayo antes descrito, se separaron en parte aérea y parte radical y se pesaron en fresco. En el laboratorio las mismas se procesaron y se colocaron en bandejas de aluminio previamente taradas y se llevaron a estufa común a 70°C±5, hasta peso constante. El material deshidratado se pesó y luego fue molido, tamizado y embolsado para realizar posteriormente los análisis de los principios nutritivos orgánicos e inorgánicos.

3.3. Determinaciones analíticas

Antes de realizar las diferentes determinaciones y a los fines de los cálculos analíticos, se determinó la humedad remanente de todas las muestras ya molidas, en estufa a 105°C hasta peso constante.

3.3.1. Principios orgánicos

Se evaluaron los siguientes rubros siguiendo el Esquema Weede (Bermejillo y Filippini, 2005):

- Humedad (método gravimétrico)
- Cenizas (método por calcinación, vía seca)

- Proteínas totales (método indirecto, macroKjeldahl)
- Grasas (método de extracción con solventes (Extracto Etéreo - Soxhlet) y cuantificación gravimétrica)
- Fibra bruta (método estándar por digestión ácido - alcalina)
- Extracto no azoado (cálculo por diferencia)

3.3.2. Principios inorgánicos

Los distintos elementos minerales (N, P, K, Ca y Mg) se determinaron a partir de las cenizas, obtenidas por vía seca en mufla a 550°C.

Posteriormente se prepararon los extractos clorhídricos, utilizando una relación agua: ácido clorhídrico de 1+1, evaluándose los siguientes nutrientes totales según las metodologías que se mencionan a continuación (Bermejillo y Filippini, 2005):

- Nitrógeno (método macroKjeldahl)
- Fósforo (método colorimétrico con nitro-vanado molíbdico)
- Potasio (método por fotometría de llama)
- Calcio y Magnesio (método volumétrico por complexometría EDTA)

3.3.3. Determinación de nitratos en campo y laboratorio

Durante el ciclo del cultivo, a partir de los 86 días dds, las determinaciones de nitrato se realizaron con el método rápido con un electrodo específico de nitratos, marca Horiba; Cardymeter (Jemison y Fox, 1988; Hochmuth, 1994) tanto en raíz como en hojas.

La determinación de nitratos en raíces y en hojas a cosecha, se realizó en el laboratorio, utilizando un método colorimétrico (Cataldo et al, 1975). La cuantificación del contenido de nitratos se efectuó por espectrofotometría, utilizando un espectrofotómetro Beckman modelo DB de doble cubeta.

Por tratarse de una determinación que no se efectúa frecuentemente en el laboratorio, a continuación se detalla el fundamento y el protocolo.

- *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 (pH>12). La absorbancia del cromóforo es directamente proporcional a la cantidad de N (NO_3^-) presente en la muestra. 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_3^{-1} g/sss (Cataldo *et al.*, 1975).

- *Preparación del extracto:*

- Se pesó exactamente 1 g para hoja y 0,8 g para raíz, perfectamente molida y seca a 60 °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 bidestilada, se tapó, homogeneizó y se conservó heladera a 4 °C.

- *Colorimetría*

- Se tomó (a temperatura ambiente de 20° C \pm 2° 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. El color es estable por 48 h.
- Se leyó la absorbancia en espectrofotómetro a 410 nm. Cada muestra se le leyó con su blanco preparado sin ácido salicílico.

- *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 2), a partir de una solución madre ($1000 \mu\text{g L}^{-1} \text{NO}_3$) con una sal p.a. de NO_3K , y llevadas a 10 - 20 - 30 - 40 - 50 - 75 - 100 $\mu\text{g NO}_3 \text{L}^{-1}$ y el cero (con agua sola) y se leyeron posteriormente en espectrofotómetro.(Figura 11)

Tabla 2: Curva de calibración con concentraciones conocidas de nitratos, a partir de una solución madre ($1000 \mu\text{g NO}_3 \text{L}^{-1}$)

$\mu\text{g NO}_3 \text{L}^{-1}$	Absorbancia
0	0
10	15,50
20	31,00
30	46,51
40	62,01
50	77,51
75	116,27
100	155,03

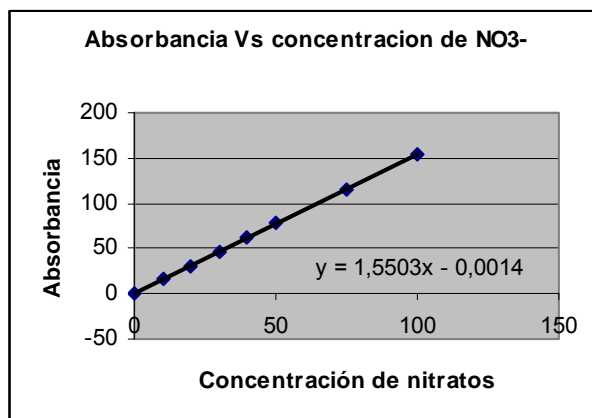


Figura 11: Curva de calibración de nitratos y ajuste de la ecuación lineal

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.

$$Y = Fc \cdot X$$

Fc = Pendiente de la función.

X = Concentración de nitratos.

El coeficiente angular de esta recta se utilizó para calcular las concentraciones finales de los nitratos presentes en las muestras analizadas.

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 la medias comparadas con el test de Duncan ($\alpha = 0,05$), utilizando el software INFOSTAT.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A los efectos de esta tesis para la Licenciatura en Bromatología, se presentarán y discutirán principalmente, aquellos resultados relacionados al perfil de la Carrera.

4.1. Principios inorgánicos: comportamiento durante el cultivo y contenido de nutrimentos a la cosecha.

- Nitrógeno

En la Figura 12 se presenta la evolución de los contenidos de Nitrógeno encontrados en raíz y hoja, en zanahoria durante el ciclo del cultivo.

Las concentraciones de nitrógeno en raíz, aumentan notoriamente a partir de los 86 días después de la siembra (dds), observándose un incremento sostenido desde los 107 dds, coincidentemente con una disminución abrupta en hojas a partir de esta fecha. Desde este momento y hasta cosecha, las concentraciones de N en raíz y en hoja no muestran variaciones, si bien se observa a los 142 dds, una tendencia a aumentar el contenido de nitrógeno radical en los tratamientos N1P1 y N2P2. Cabe destacar que al momento de cosecha la raíz tiene un peso aproximado que varía entre 73 y 118g.

La disminución de la concentración en las hojas con su correspondiente aumento en la raíz, podría explicarse a través el mecanismo de engrosamiento de este órgano de reserva (Rubatzky *et al.*, 1999) acompañado de un efecto de dilución foliar debido al activo crecimiento que se produce en las primeras etapas del cultivo. En efecto, el crecimiento y desarrollo de la canopia y la raíz, ocurren al mismo tiempo.

La elongación de la raíz es muy rápida y ya a las 3 semanas posteriores a la germinación, alcanzando una longitud apreciable alrededor de los 50 dds.

La ganancia de peso de la raíz, en cambio, es un proceso muy lento al principio y a partir de las 6 semanas (42 dds aprox.) o de superado el 1er tercio del período de crecimiento, el incremento del mismo es sostenido hasta cosecha. Sin embargo, cercano a esta fase final, la ganancia de peso tiende a declinar. (Rubatzky *et al.*, 1999)

A los 86 dds las concentraciones de N encontradas en hojas fueron de 3,34, 3,58 y 3,70 N% sss para N0P0, N1P1 N2P2, y en raíces 1,43, 1,31 y 1,23 N %sss, respectivamente.

Nogueyra Sedyllama *et al.* (1998), en el Estado de Minas Gerais, Brasil, al realizar incorporaciones de 140 kg de N h⁻¹ a como fertilizante mineral encontraron en raíz, a los 45 días después del trasplante, valores de 1,36 N % sss, y aplicando estiércol seco de porcino en una dosis de 180 m³ ha⁻¹, 1,64 N % sss y en el testigo 0,83% N sss. En hojas, los contenidos fueron de 4,1 N % sss, 3,9 N % sss y 3,24 N % sss. respectivamente.

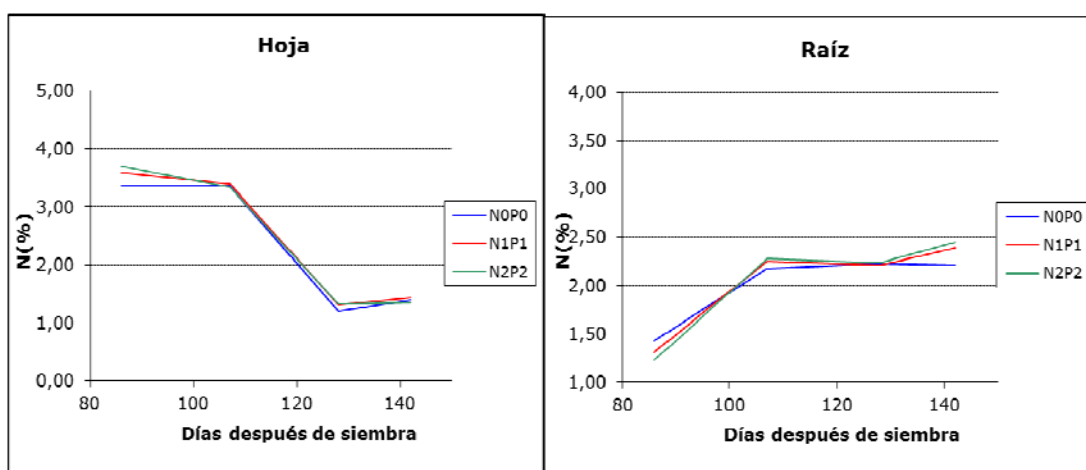


Figura 12. Evolución de la concentración de nitrógeno (N % sss) en raíz y hojas de zanahoria, según los tratamientos de fertilización: N0P0: Testigo; N1P1: 150 kg N ha⁻¹ y 30 kg de P ha⁻¹; N2P2: 300 kg de N ha⁻¹ y 60 kg de P ha⁻¹.

Si bien la concentración de N no mostró diferencias significativas tanto en raíz y en hoja para los distintos tratamientos, la absorción total de N fue incrementándose a medida que se aumentaba la dosis de N aplicada al suelo.

Los valores de N encontrados en hoja a la cosecha estuvieron comprendidos entre 1,16 – 1,73 N % sss; este último valor relacionado a las aplicaciones de 300 kg N ha⁻¹, mientras en raíz los valores 1,87 - 2,60 N % sss.

En el momento de cosecha se observó que la concentración de N radical fue un 27 % más alto para N2P2, respecto al Testigo.

La acumulación total de N fue mayor en raíces en un 60 – 69%, respecto a la parte aérea para los dos tratamientos que recibieron fertilización.

A diferencia de lo que ocurre en Mendoza, Paradiso *et al.* (2001) obtuvieron a la cosecha mayores concentraciones en hoja y no en raíz. En hojas, las concentraciones fueron 2,79, 2,83 y 2,86 %N para las dosis de 100, 200 y 300 kg ha⁻¹, respectivamente. Mientras que en raíz el contenido fue de 1,89% con la

dosis más alta y los rendimientos fueron 17, 28,7 y 31,6 tha^{-1} respectivamente para las mismas dosis.

Siviero y Donelli (1997), en Italia encontraron, en zanahoria consumo en fresco, tenores de N entre 0,75 – 1,25 % sss. Siviero (2000) también cita un contenido de N en zanahoria para consumo fresco (87, 5% de humedad) de 0,19 % ssf.

Estos mismos autores observaron que aportes de N en etapas tempranas del ciclo del cultivo, favorece la formación de vitaminas en la raíz, sobre todo del caroteno (provitamina A), compuesto que a nivel intestinal por acción de enzimas de la mucosa lo convierte en vitamina A.

- Fósforo

En la Figura 13 se presenta la evolución de los contenidos de Fósforo encontrados en raíz y hoja, en zanahoria durante el ciclo del cultivo.

El contenido de fósforo en raíz en los primeros 107 días se mantiene en valores entre 0,20 a 0,30 P % sss. A los 107 dds si bien no se observan diferencias significativas entre tratamientos, se alcanzan las mayores concentraciones de este nutrimento (0,35 – 0,40 P % sss). A partir de esta fecha, se producen una disminución de la concentración del P debido probablemente al intenso proceso de engrosamiento y el consiguiente efecto dilución, observándose hacia fin de ciclo una tendencia a la estabilización de los contenidos en todos los tratamientos ensayados

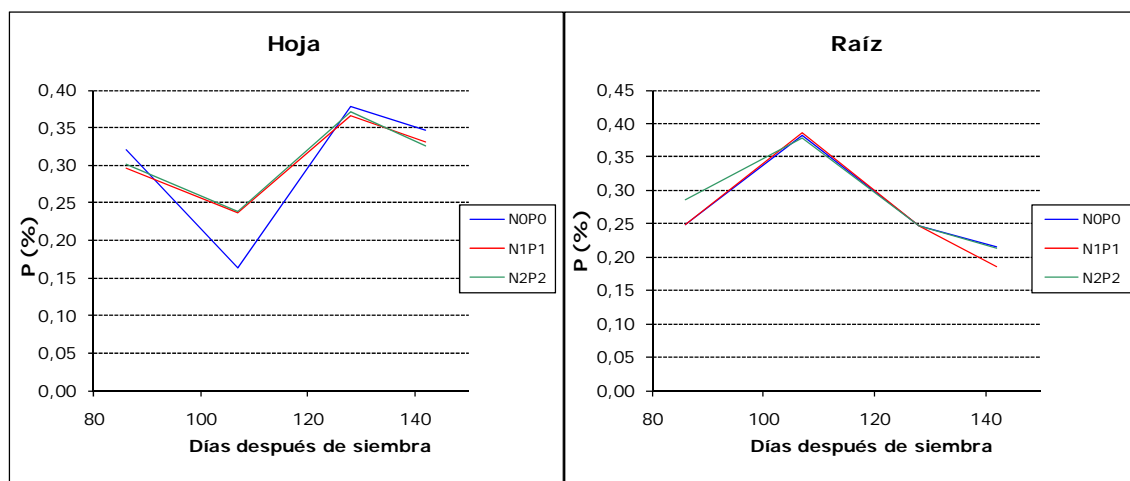


Figura 13. Evolución de la concentración de fósforo (P % sss) en raíz y hojas de zanahoria, según los tratamientos de fertilización N0P0: Testigo; N1P1: 150 kg N ha^{-1} y 30 kg de P ha^{-1} ; N2P2: 300 kg de N ha^{-1} y 60 kg de P ha^{-1} .

Coincidentemente con este patrón de comportamiento y lo observado en el Nitrógeno, a medida que la planta crece y posee una mayor actividad fotosintética, particiona junto a otros asimilados el P por lo que va disminuyendo dicho nutrimento en la parte aérea a partir de los 86 dds, hasta los 107 dds, fecha en la cual se han encontrado los menores contenidos foliares.

Sediyama *et al.*, en zanahoria Nantes a los 45 días dds encontraron que aplicando $180 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$ de estiércol de cerdo, los tenores de P en raíz fueron de 0,41%ss mientras en el testigo tuvo una concentración de 0,34 P % sss. La concentración de P con la aplicación de fertilizante mineral antes citada, arrojó una concentración de 0,37 P % sss, no diferenciándose estadísticamente de las anteriores. En hojas, los valores encontrados fueron de 0,41; 0,40 y 0,32 P % sss para las aplicaciones orgánica, mineral y testigo, respectivamente.

La acumulación de P en raíz fue de un 90%, al final del ciclo mientras la concentración fue 3 veces superior a la de la hoja.

Si bien los contenidos óptimos de P determinan el aumento porcentual de azúcares en la raíces de zanahoria, se ha observado que cantidades superiores a 60 kg ha^{-1} han provocado un efecto de disminución en el peso medio del producto. Siviero y Donelli (1997) sugieren para esta especie no superar los aportes de 80 kg ha^{-1} en el momento de la siembra.

En las raíces obtenidas a cosecha, los contenidos de P no presentaron diferencias significativas entre los tratamientos, oscilando los valores entre 0,20 y 0,35 P % sss.

Siviero y Donelli (1997), citan para esta especie a la cosecha, niveles de P entre 0,25 y 0,30%. También en Italia, Paradiso *et al.* (2001) obtuvieron en el producto comercial concentraciones de 0,28 a 0,33 % de P, no registrándose diferencias entre tratamientos con dosis crecientes de N.

Senser y Shertz (1991) establecen para zanahoria, un contenido de P de 35 mg % de producto comestible (Rubatzky *et al.* 1999), 40 mg por 100 g de sustancia fresca (humedad del 88 %).

Siviero (2000) en una tabla de composición de nutricional para zanahoria, establece valores de 30 a 44 mg cada 100 g de producto comestible mientras el INRAN (Istituto per la Alimentazione –Italia) propone 37 mg por 100 g de producto fresco. Sediyama *et al.*, (1998) citan la tabla de composición química de Watt y Merrill (1975), donde el P en raíces comerciales destinadas a la dieta humana debería ser alrededor de 3 g kg^{-1} de materia seca.

De acuerdo a los datos encontrados en la bibliografía y en este estudio (valores promedios) y según los requerimientos nutricionales diarios para este nutrimento, el consumo de 100 g de zanahoria, cubriría el 6 %, 4,3 % y 2,4 % del requerimiento total en niños, adultos y mujeres en período de lactación, respectivamente.

- **Potasio**

En la Figura 14 se presenta la evolución de los contenidos de Potasio encontrados en raíz y hoja, en zanahoria durante el ciclo del cultivo.

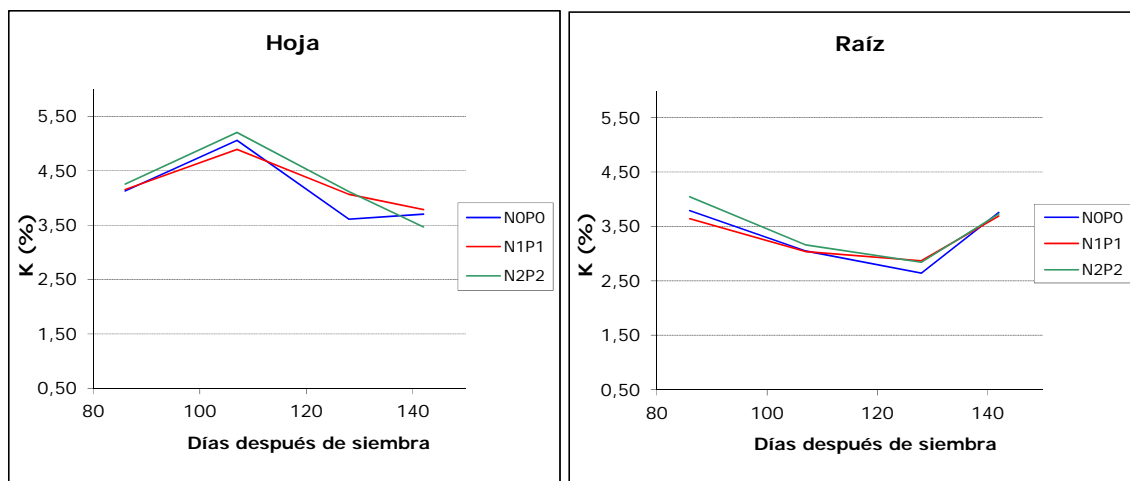


Figura14. Evolución de la concentración de Potasio (K % sss) en raíz y hojas de zanahoria, según los tratamientos de fertilización: N0P0: Testigo; N1P1: 150 kg N ha⁻¹ y 30 kg de P ha⁻¹; N2P2: 300 kg de N ha⁻¹ y 60 kg de P ha⁻¹

A partir de los 40 – 45 dds, según variedades, comienza a producirse el engrosamiento de la raíz, con su consecuente ganancia de peso. Puede observarse que este macronutriente presenta una disminución sostenida en su concentración, en todos los tratamientos, hasta los 128 dds, probablemente debido a un marcado efecto de dilución, al aumentar la materia seca en relación al contenido de nutriente. A partir de esa fecha, los valores de concentración de K aumentan hasta cosecha, probablemente por la acumulación de hidratos de carbono que completan el crecimiento final del órgano de reserva

En la parte aérea, la evolución del K aumenta hasta los 107 dds para luego disminuir hasta cosecha en los tratamientos fertilizados, mientras en el testigo hay una leve tendencia a aumentar. Tanto en raíz como en parte aérea las diferencias entre tratamientos no han sido significativas.

Sediyama *et al.*, (1998) en zanahoria Nantes encontraron en raíz a los 45 dds, que aplicando 180 m³ ha⁻¹ de estiércol de cerdo, tenores de K de 3,25 K % sss mientras en el testigo la concentración fue de 2,86 K % sss y con la aplicación del fertilizante inorgánico 3,26 K % sss. En hojas, en esa misma fecha de muestro, las concentraciones fueron más elevadas, 4,11; 3,24 y 3, 97 K % sss, en la aplicación orgánica, testigo e inorgánica, respectivamente.

Siviero y Donelli (1997), encontraron niveles de K entre 2,65 y 3,06 % sss, cuando se aplicaba 200 – 300 kg ha⁻¹ de este elemento. También en Italia, Paradiso *et al.* (2001) obtuvieron en el producto comercial concentraciones de 2,92 a 3,50 % de K, no registrándose diferencias entre tratamientos con dosis crecientes de N.

La acumulación de K en raíz fue de alrededor de un 75% al final del ciclo mientras la concentración fue un 18% en promedio superior a la hoja. Es

interesante y llamativa la cantidad de K extraído por el cultivo el cual supera ampliamente el de otras hortalizas cultivadas en la región.

En la raíces a cosecha, los contenidos de K % sss no presentaron diferencias significativas con un valor medio de 3,70 K % sss.

Senser y Shertz (1991) establecen para zanahoria, un contenido de K de 290 mg % de producto comestible. Rubatzky *et al.* (1999), 332 mg por 100 g de sustancia fresca (humedad del 88 %).

Siviero (2000) en una tabla de composición de nutricional para zanahoria, establece valores de 201 – 346 mg cada 100 g de producto comestible mientras el INRAN (Istituto per la Alimentazione – Roma - Italia) propone 200 mg por 100 g de producto fresco. Sedyama *et al.* (1998) citan la tabla de composición química de Watt y Merrill (1975), donde el K en raíces comerciales destinadas a la dieta humana debería ser alrededor de 28,9 g kg⁻¹ de materia seca.

De acuerdo a los datos encontrados en la bibliografía y en este estudio (valores promedios) y según los requerimientos nutricionales diarios para este nutrimento, el consumo de 100 g de zanahoria, cubriría aprox. 13 – 18 % del requerimiento total recomendado para el hombre.

- **Calcio**

En la Figura 15 se presenta la evolución de los contenidos de Calcio encontrados en raíz y hoja, en zanahoria durante el ciclo del cultivo.

En hojas, se observa un leve aumento de la concentración hasta los 107 dds en los tratamientos fertilizados, mientras en el testigo, este incremento se produciría a partir de dicha fecha. Es llamativo el abrupto incremento que sufre la concentración de Calcio a partir de los 128 dds y hasta cosecha, efecto que se visualiza marcadamente en los tratamientos N0P0 y N1P1.

En la raíz, a partir del 1er muestreo se nota un importante aumento en la concentración de Ca hasta los 107 dds, para a los 128 dds decaer casi con la misma pendiente hasta los 142 dds, momento de la cosecha.

En las muestras analizadas en esta tesis, a los 86 dds, no se observaron diferencias significativas entre tratamientos en ninguno de los muestreos, tanto para raíz como para hoja.

Sedyama *et al.*, (1998) en zanahoria Nantes cultivada en Brasil y a los 45 dds, no encontraron diferencias en las concentraciones de Ca radical, cuando ensayaron estiércol de porcino, fertilizante químico respecto al testigo. Los valores oscilaron entre 0,38 y 0,30 Ca % sss. En hojas, tampoco hubo diferencias significativas entre tratamientos con valores de 1,43 y 1,28 Ca % sss en los tratamientos fertilizados, y 1,52 Ca % sss en el Testigo.

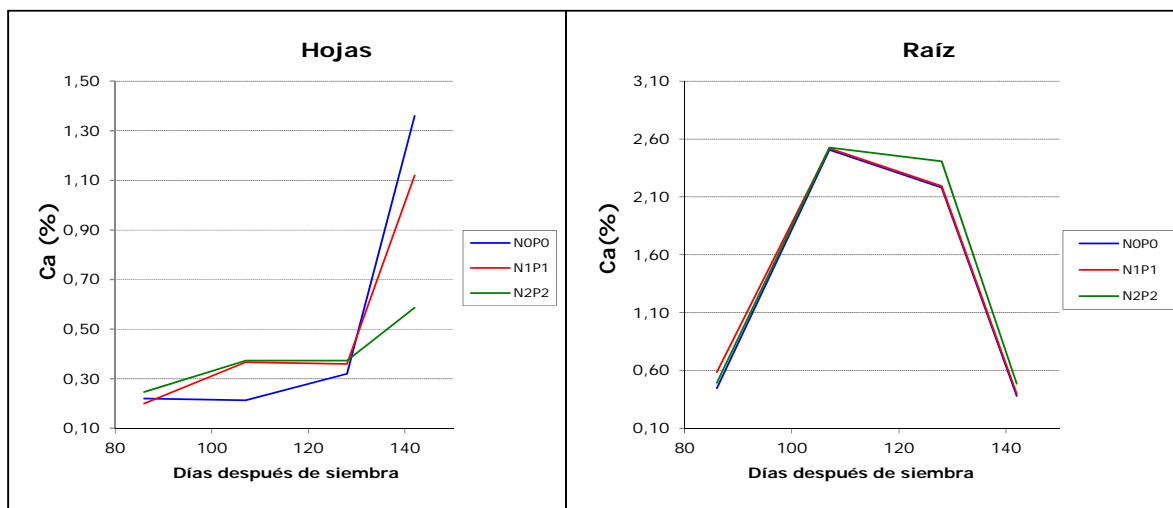


Figura 15 Evolución de la concentración del Calcio (Ca % sss) en raíz y hoja de zanahoria, según los tratamientos de fertilización: N0P0: Testigo; N1P1: 150 kg N ha⁻¹ y 30 kg de P ha⁻¹; N2P2: 300 kg de N ha⁻¹ y 60 kg de P ha⁻¹

Como el calcio es extremadamente inmóvil en la planta, se puede ver una disminución lenta a partir de los 107 dds y hasta los 128. Posteriormente los contenidos bajan de forma significativa.

La concentración de este nutriente afecta especialmente al tejido nuevo, a los meristemas apicales de la raíz que en éste caso es carnosa, los cuales necesitan ser fortificados para poder, participar en la elongación, división celular, permeabilidad de las membranas y activación de algunas enzimas críticas para el desarrollo. El calcio es móvil vía xilema y poco móvil vía floema por lo que esta podría ser la razón por la cual el contenido de Ca ha disminuido en las raíces.

En general, los valores encontrados en raíz a la cosecha oscilaron entre 0,36 % para el testigo hasta 0,50% en la muestra con mayor fertilización (N2P2).

Siviero y Donelli (1987) encontraron en raíz, al final de ciclo de cultivo, valores menores a los de este ensayo, entorno a 0,20 - 0,32 Ca % sss, considerando a esta especie medianamente exigente en cuanto a este nutriente. Además señalan que su carencia hace más susceptible al producto a enfermedades como Pythium, las raíces son de peso reducido y frecuentemente presentan malformaciones (raíz bifurcada, retorcida) lo que disminuye su valor de mercado.

También en Italia, Paradiso *et al.* (2001) obtuvieron en el producto comercial concentraciones de 0,30 a 0,35 Ca % sss, no registrándose diferencias entre tratamientos con dosis crecientes de N (0-100-200-300 kg N ha⁻¹). En hojas, los valores encontrados por estos autores a cosecha fueron mayores (2,50 – 2,86 Ca % sss), a los del ensayo realizado en Mendoza, no encontraron diferencias significativas entre los tratamientos de N ensayados.

Senser y Shertz (1991) establecen para zanahoria, un contenido de Ca de 29 mg % de producto comestible. Rubatzky *et al.* (1999), 40 mg por 100 g de sustancia fresca (humedad del 88 %).

Siviero (2000) en una tabla de composición de nutricional para zanahoria, establece como valores de Ca 25 – 52 mg cada 100 g de producto comestible (87,5 y 92,1 % humedad, respectivamente) mientras el INRAN (Istituto per la Alimentazione – Italia) propone 44 mg por 100 g de producto fresco. Sedyama *et al.*(1998), citan en la tabla de composición química de Watt y Merrill (1975), que el contenido de Ca en raíces comerciales destinadas a la dieta humana debería ser alrededor de 3,1 g kg⁻¹ de materia seca.

De acuerdo a los datos encontrados en la bibliografía y en este estudio (valores promedios) y según los requerimientos nutricionales diarios para este nutrimento, el consumo de 100 g de zanahoria, cubriría el 8.5%, 5,2% y 3,6% del requerimiento total en niños, adolescentes - adultos y mujeres embarazadas, respectivamente.

- **Magnesio**

En la Figura 16 se presenta la evolución de los contenidos de Magnesio encontrados en raíz y hoja, en zanahoria durante el ciclo del cultivo.

Como se puede observar, el patrón de comportamiento de este nutrimento tanto en hoja como en raíz, se asemeja al de Calcio.

En hojas, se observa, hasta los 128 dds, que la concentración de Mg varia muy levemente, con concentraciones muy bajas, no habiendo diferencias significativas entre tratamientos. A partir de esta fecha se producen un importante aumento de este nutrimento, sobre todo en N0P0 y N1P1. En la raíz en cambio se nota un importante aumento de la concentración a partir de los 86 dds alcanzando los valores máximos para los tratamientos N2P2 a los 107 dds y para N0P0 a los 128 dds. Sorprende el comportamiento del N1P1, el cual presenta diferencias significativas con los otros tratamientos y su patrón de comportamiento difiere de los anteriores.

En el muestreo correspondiente a los 86 dds, no se observaron diferencias significativas entre tratamientos. Los valores encontrados en hojas durante el cultivo oscilaron entre 0,14 – 1,39 % sss, encontrándose en N2P2 una contenido 57,5 % menor respecto al valor más alto, al final del ciclo de cultivo.

A la cosecha, en raíz, los contenidos de Mg % sss oscilaron entre 0,07 y 0,13 %, mientras los mayores valores 0,23 se alcanzan a los 107 y 128 dds para N2P2 y N0P0 respectivamente.

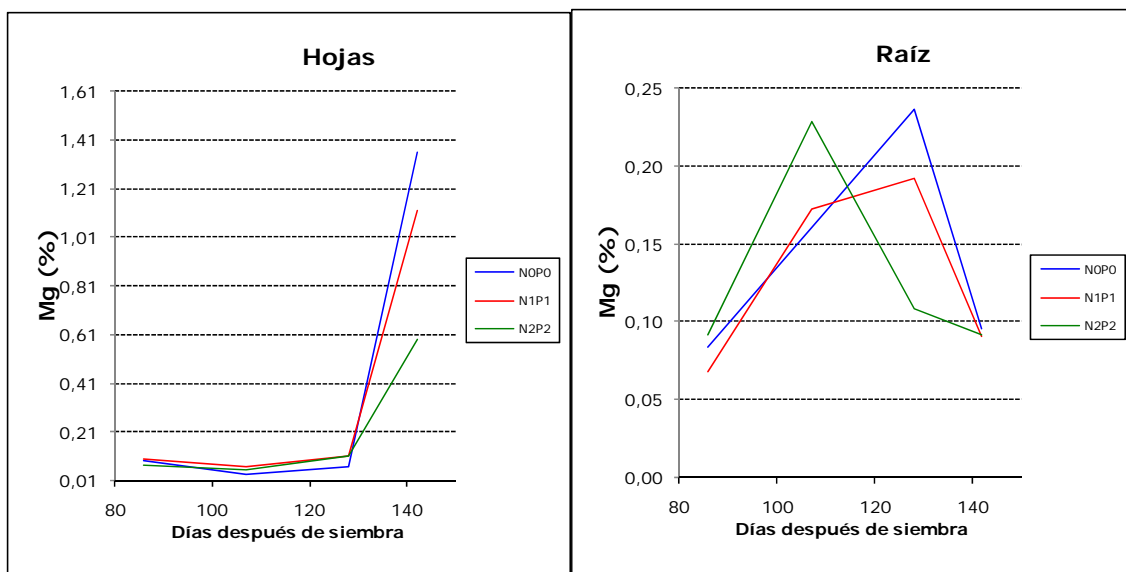


Figura 16 Evolución de la concentración del magnesio (Mg % sss) en raíz de zanahoria, según los tratamientos de fertilización: N0P0: N1P1: 150 kg N ha⁻¹ y 30 kg de P ha⁻¹; N 2P2: 300 kg de N ha⁻¹ y 60 kg de P ha⁻¹

Senser y Shertz (1991) establecen para zanahoria, un contenido de Mg de 18 mg % de producto comestible. Rubatzky *et al.* (1999), 19 mg por 100 g de sustancia fresca (humedad del 88 %).

Siviero (2000) en una tabla de composición de nutricional para zanahoria, establece como valores de Mg entre 15 – 24 mg cada 100 g de producto comestible (87,5 y 92,1 % humedad, respectivamente) mientras el INRAN (Istituto per la Alimentazione –Italia) propone 11 mg por 100 g de producto fresco.

El Mg en las plantas se debe encontrar en contenidos menores al de Ca (0,15 - 0,75 % de materia seca (Foth, H. 1986). En esta investigación se cumple dicha afirmación, observándose mucha variabilidad entre tratamientos, muy difícil de explicar.

De acuerdo a los datos encontrados en la bibliografía y en este estudio (valores promedios) y según los requerimientos nutricionales diarios para este nutrimento, el consumo de 100 g de zanahoria, cubriría el 8.5% y 2,1% del requerimiento total en niños y adolescentes – adultos, respectivamente.

A modo de resumen, se presenta en la Figura 17, la cantidad de N, P, K exportados (kg ha⁻¹). Como se puede observar la absorción de nutrientes mayores (N, P, K) al final del ciclo de cultivo no fue significativa entre los tratamientos de fertilización ensayados (Test Tuckey, $\alpha = 0,05$)

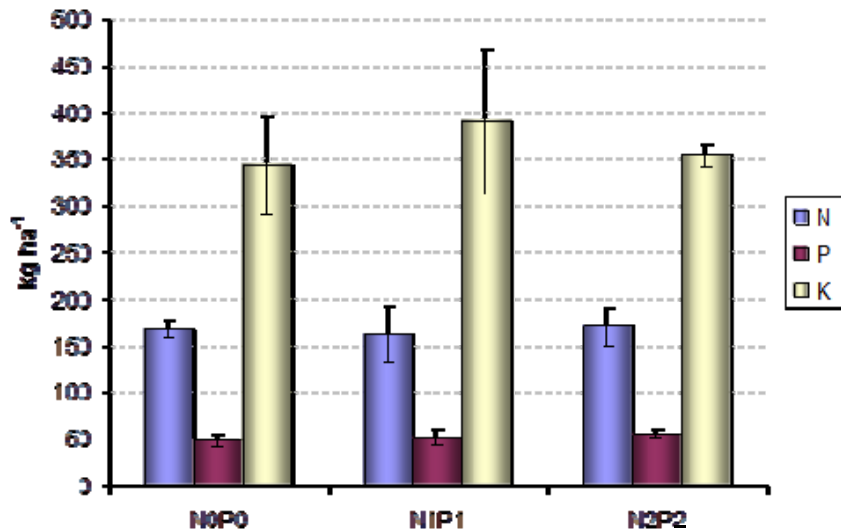


Figura 17: Absorción de nutrientes en Zanahoria Beatriz INTA, afectada por los tratamientos de N y P. N0= 0, N1=150 y N2 300 kg N ha⁻¹. P0=0, P1=30 y P2 60 kg P ha⁻¹. Fósforo representado x 10 (Lipinski *et al.*, 2005)

4.2. Concentración de Nitratos

En la Figura 18 se presenta la evolución de los contenidos de nitratos encontrados en raíz y hoja, en zanahoria durante el ciclo del cultivo.

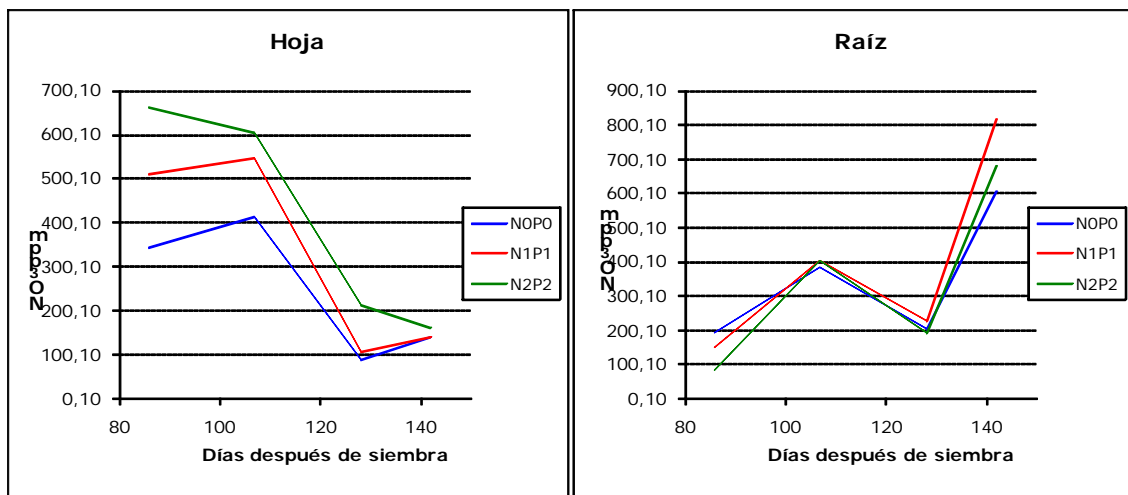


Figura 18 Evolución de la concentración de nitratos (mgkg⁻¹ssf) en hojas y raíz de zanahoria, según los tratamientos de fertilización. N0P0: Testigo; N1P1: 150 kg N ha⁻¹ y 30 kg de P ha⁻¹; N2P2: 300 kg de N ha⁻¹ y 60 kg de P ha⁻¹

Los contenidos de nitratos en hojas arrojaron diferencias significativas durante el ciclo del cultivo, entre los tratamientos ensayados. A los 86 y 107 dds los valores en hojas fueron significativamente diferentes en los distintos tratamientos, mientras que a los 128 dds y a cosecha, se observa que sólo se

diferencia N2P2, la mayor dosis de N aplicado durante el cultivo, del testigo y N1P1.

Los mayores valores en la parte aérea se alcanzan, en todos los tratamientos, a los 107 dds para luego disminuir en forma abrupta hasta los 128 dds. En raíz en cambio, a partir de esta fecha de muestreo, se observó un aumento importante en las concentraciones de nitratos hasta la cosecha, observándose una tendencia a mayores contenidos en los tratamientos fertilizados respecto al Testigo, si bien no fueron significativamente diferentes.

Esta disminución en las hojas concomitante con el aumento sostenido de nitratos en la parte radical coincidente con el momento de mayor engrosamiento de la raíz (Rubatsky *et al.*, 1999).

Este patrón de comportamiento coincide con las distintas aplicaciones fraccionadas del N, pudiéndose observar que existe un mayor contenido de este elemento en las parcelas donde se aplicó una dosis de 300 kg ha⁻¹. No ocurre lo mismo en las otras fechas de muestreo aún cuando las medias tienden a diferenciarse y se correlacionan con las dosis crecientes de N aplicadas.

De acuerdo a la bibliografía, Graifenberg *et al.* (1993) y Smolen y Sady, (2009) demuestran que durante las fases del desarrollo de la planta existen variaciones en el contenido de N, disminuyendo progresivamente con la maduración. Sin embargo, los cultivos donde se aplica el nitrógeno fraccionado, la acumulación es proporcional a la dosis aplicada, mientras que si la aplicación se realiza en un solo momento, a la siembra, independientemente de la dosis, el nitrato no se acumula en el vegetal, pero, aumentaría el riesgo del impacto ambiental en el suelo y en las napas de agua.

Basados en los estudios realizados por Graifenberg *et al.* (1993) con respecto a nivel del nitrato en la planta, luego de la cosecha el contenido de este ión tiende a disminuir ligeramente dentro del límite de conservabilidad del producto mismo, después del cual decrece paralelamente con deterioro cualitativo del producto.

En el estudio realizado en esta tesis en las raíces no hubo diferencias significativas entre tratamientos y fechas de muestreo. Se observa que a partir de 128 dds el contenido de nitratos en raíz tiende a subir hasta el momento de la cosecha, alcanzando valores que oscilaron, según los tratamientos ensayados, entre 604 y 816 mg kg⁻¹ssf. Estos valores encontrados no superarían los niveles higiénicos sanitarios que se exigen en la actualidad en las normativas de la UE en general para el consumo de hortalizas, esto es de 2500- 4500 mg kg⁻¹

Sin embargo, desde el punto de vista de los límites impuestos para los vegetales destinados a la preparación de papillas y comidas para bebés y niños, el límite impuesto es de 200 mg kg⁻¹ ssf. Como se observa en los resultados obtenidos en esta tesis, los valores exceden este nivel de tolerancia.

De acuerdo a la bibliografía consultada, Pimpini y Bianco (1990) citan a la zanahoria como una especie de acumulación media con valores comprendidos entre 700 y 1000 mg kg⁻¹ ssf.

Una investigación realizada en zanahoria y citado por Graifenberg *et al.* (1993), muestra que la acumulación de nitratos no es homogénea (Figura 19).

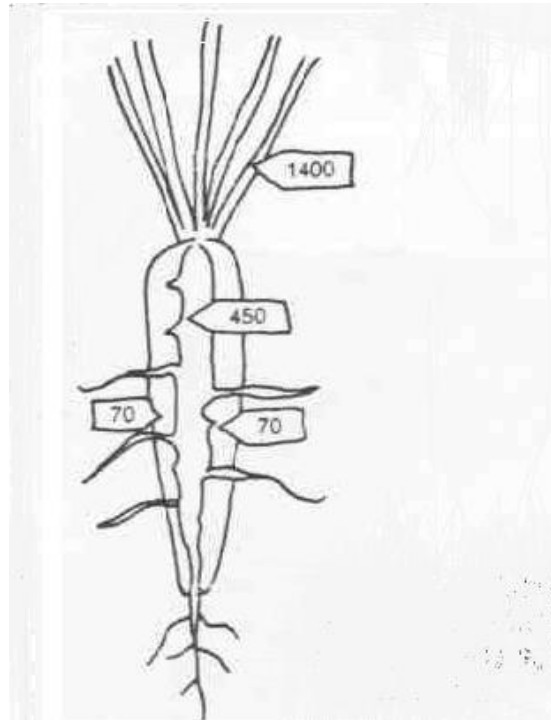


Figura 19: Distribución del contenido de nitratos (mg kg⁻¹ ssf) en zanahoria
Fuente: Graifenberg *et al.* (1993)

Como se puede observar, estos autores han encontrado que la mayor acumulación del nitrato ocurre en el cilindro central, es decir en el xilema. En la corteza de la raíz los valores disminuyen 6,4 veces. Sin embargo, en la parte aérea, los niveles encontrados en Mendoza han sido 14 veces menores, en relación a los encontrados por los investigadores italianos.

Si bien los contenidos en las zanahorias del estudio llevado a cabo en Mendoza son mayores, considerando la totalidad de la raíz, estarían de acuerdo con datos que citan otros autores (Pimpini y Bianco, 1990). En la actualidad los mejoradores genéticos de esta especie buscan atributos muy deseables por el consumidor en cuanto a los diferentes aspectos de la calidad. Entre ellos, disminuir el corazón de la raíz (parte más fibrosa) aumentando la corteza externa (floema), zona donde se acumulan los α y β carotenes, la vitamina C y algunos azúcares importantes que mejoran su conservación. Esto permitiría también disminuir la proporción relativa del contenido de nitratos en el producto comercial (Rubatsky *et al.*, 1999).

Como práctica culinaria se aconseja eliminar el corazón de la zanahoria, cuando se preparan las papillas anaranjadas (zanahoria y zapallo preferentemente), y así contribuir a la disminución de la ingesta de nitratos

En cuanto a la calidad higiénico - sanitaria la UE ha trabajado durante más de una década sobre los límites máximos del contenido de nitratos en hortalizas de hoja, a fin de garantizar la seguridad alimentaria. Éste es el caso del Reglamento 466/2001, que acota los contenidos máximos de nitratos en lechugas y espinacas. No obstante, esta normativa es insuficiente no incluye todos los productos de riesgo, fija límites variables según la época del año o el tipo de producción, establece los límites sólo para adultos y es excesivamente generoso en el caso del agua

El reglamento de la CE n° 563/2002 establece 2000 mg kg⁻¹ producto fresco para cultivos de lechuga en campo y 4500 mg kg⁻¹ producto fresco en cultivos protegidos. El último reglamento del 8 de noviembre de 2005 (n°1822/2005) fijan límites para hortalizas de hoja para consumo en fresco (lechuga, rúcula y espinaca) y exige controles regulares en el contenido de nitratos, en particular en las hortalizas de hojas. En referencia al contenido de nitratos en comidas para lactantes y niños, la UE establece solo el máximo permitido de 200 mg kg⁻¹ ssf, para productos de origen vegetal y animal, sin ningún otro tipo de especificación (Commission Regulation (EC) n° 655/2004)

En algunos países como Australia la presencia de nitratos está prohibida en alimentos para lactantes. En Italia la ley (D.M. del 31/03/1965) ya en la década del 60 establecía límites máximos de nitratos y nitritos en los alimentos de origen cárneo de 250 mg kg⁻¹ (nitratos) y de 150 mg/kg (nitritos). Para el agua potable los límites que se aconsejaban, aún hoy, eran mucho más estrechos: 50 mgL⁻¹ en el caso de nitratos y tan solo 0,1 mgL⁻¹ en el caso de los nitritos.

La IDA sin riesgos para la salud es de 3,65 mg kg⁻¹ para nitratos y de solo 0,06 mg kg⁻¹ para nitritos. Un rápido cálculo permite afirmar que una persona de 70 kg no debería ingerir más de 0,25 g de nitratos y sólo 4,2 mg de nitritos. Si en 1 kg de carne conservada se puede agregar hasta 150 mg de nitrito, una simple división muestra que bastan solo 36 g de carne en conserva para alcanzar la IDA.

Análisis realizados en muestras de varios tipos de vegetales han señalado que los más riesgosos son la espinaca y la remolacha (hasta 2500 mg kg⁻¹ sf); apio, lechuga, hinojo, en menor grado y rabanitos, puerro, y los distintos tipos de ensaladas (radicchio, repollo), zanahoria hasta descender a valores inferiores a 200 mg kg⁻¹ ssf en papa, tomate y pimiento.

En Argentina, en 2005, la Secretaría de Políticas, Regulación y Relaciones Sanitarias, la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos y el Registro de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica dictaron la Resolución Conjunta N° 107/2005 la cual indicaba : "la rotulación de los productos que contengan hortalizas tales como espinacas, remolacha, brócolis, zanahorias, coliflor u otro vegetal que naturalmente presente alto contenido de nitratos, deberá consignarse con

carácter de buen realce y visibilidad y en un lugar destacado de la cara principal. Se destacará la leyenda: "NO suministrar a niños menores de 1 año".

A partir del 2006, la CONAL (Comisión Nacional de Alimentos) indica que el rótulo de los alimentos envasados que contengan vegetales y cuyo contenido de nitratos sea mayor a 200 mg/kg de producto tal como se ofrece al consumidor (previo a su preparación), y en el caso de los jugos vegetales el contenido de nitratos sea mayor que 40 mg L⁻¹, deberá consignar con caracteres de buen realce y visibilidad y en un lugar destacado de la cara principal, la siguiente leyenda: "Este producto no es apropiado para niños menores de 1 año por su contenido de nitratos".

4.3. Principios orgánicos

En la Tabla 3 se presenta los valores de Cenizas (%sss), Proteínas (%sss), Grasas (%sss), Fibra Bruta (%sss) y Extracto no Azoado (%sss) encontrados en la zanahoria a la cosecha, en los distintos tratamientos ensayados.

Tabla 3: Valores de Cenizas, Proteínas, Grasas, Fibra Bruta y Extracto no Azoado expresados en porcentaje sobre sustancia seca a 105 C (%sss). Tratamientos de fertilización. N0P0: Testigo; N1P1: 150 kg N ha⁻¹ y 30 kg de P ha⁻¹; N2P2: 300 kg de N ha⁻¹ y 60 kg de P ha⁻¹: Media de tres repeticiones. La humedad en fresco considerada fue de 90,6 %.

Rubro Tratamiento	Cenizas (%sss)	Proteínas (%sss)	Grasas (%sss)	Fibra Bruta (%sss)	Extracto no Azoado (%sss)
N0P0	16,59 a	7,83 a	2,34 a	2,93 a	66,12 a
N1P1	18,02 a	8,07 a	2,40 a	3,00 a	64,23 a
N2P2	16,82 a	9,59 a	2,41 a	2,95 a	64,30 a

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

No se observaron diferencias significativas en ninguno de los rubros evaluados con el Esquema Weende, según los distintos tratamientos de fertilización aplicados, sobre el producto comestible, a la cosecha (142 dds).

El valor medio de Proteínas encontrado en esta investigación fue de 8,50 % sss, correspondiente a 0,80 % ssf observándose una tendencia a incrementarse a medida que aumenta la dosis de N.

Siviero (2000) reporta valores de 5,30 % sss, mientras el INRAN (Istituto Nazionale di Ricerca per gli Alimenti e la Nutrizione) de Roma, para zanahoria comercial, cruda en su tabla de composición química cita un valor de 13,09 % sss.

La USDA (National Nutrient Databasa for Standard Reference 2011) en su caracterización de Proteínas para zanahoria cruda, considera un valor apropiado el de 8%sss y Moreiras et al (2001) cita un valor de 7,96 sss, ambos valores más bajos que los reportados por los otros autores y cercanos al obtenido en este estudio.

Por otra parte, la Universidad de Luján, Argentina, a través de Argenfoods (2011) en su compilación de tablas de composición química de los alimentos también reporta un valor de 8%sss.

En cuanto al rubro Grasas, el valor medio encontrado en esta investigación fue de 2,56 % sss, correspondiente a 0,24 % ssf.

Siviero (2000) reporta valores entre 0,8% sss y 3,80 % sss, mientras el INRAN (Istituto Naxionale di Ricerca per gli Alimenti e la Nutrixione) de Roma, para zanahoria comercial, cruda en su tabla de composición química cita un valor de 2,70 % sss.

La USDA (National Nutrient Databasa for Standard Reference) (2011) en su caracterización de grasas para zanahoria cruda, considera un valor apropiado el de 1,35 % sss y Moreiras *et al.* (2001) cita un valor de 1,78 % sss, ambos valores más bajos a los reportados por los otros autores.

En la Universidad de Luján, Argentina a través de Argenfoods (2011) la compilación de tablas de composición química de los alimentos no se reportan valores para grasas.

Como se puede observar, el contenido de lípidos encontrado en Mendoza se aproxima al citado por el INRAN (Istituto Naxionale di Ricerca per gli Alimenti e la Nutrixione) de Roma, siendo superior al de otras tablas nutricionales.

El contenido de Cenizas medio en el ensayo ha sido de 17,14 % sss.

Siviero (2000) reporta para zanahoria comercial, producto comestible, valores entre 5,6 % sss y 12,66 % sss, mientras la USDA (National Nutrient Databasa for Standard Reference 2011) reporta un contenido de 6,53 % sss en zanahoria cruda y la Universidad de Luján (2001) propone 6,43% sss.

De acuerdo a la bibliografía consultada se puede observar que el contenido de sales minerales en este estudio es muy superior a los valores reportados por bibliografía.

Los rubros Fibra Bruta y Extracto no Azoado arrojaron valores medios de 2,96% sss y 64,88 % sss. Estos datos no se han podido cotejar con las tablas de composición química debido a que su determinación en la actualidad se realiza con otras metodologías

4.4. Estudio de la correlación de nitratos: Método Rápido con electrodo selectivo (Cardymeter) y el Método Colorimétrico realizado en laboratorio

La correlación entre los nitratos de raíz y hoja determinados con cardymeter fue significativa con un R^2 de 0,42 (Figura 20).

Sin embargo, las correlaciones de nitratos determinados por colorimetría en laboratorio y con el cardymeter tuvieron un comportamiento totalmente desigual cuando se analizó raíz y hoja. En el primer caso la correlación, fue negativa. Esto podría deberse a que la raíz, presenta algunas dificultades en el momento de la obtención del extracto vegetal para su evaluación, como así también en el proceso de secado.

En cambio en hojas la correlación fue altamente significativa y positiva con un R^2 de 0,65. Las diferencias en los valores observados se deben a que en el caso del cardymeter los contenidos de nitrato se refieren a mg por L de jugo foliar en cambio en el caso del laboratorio están expresados en mg por kg de materia seca (Figura 21).

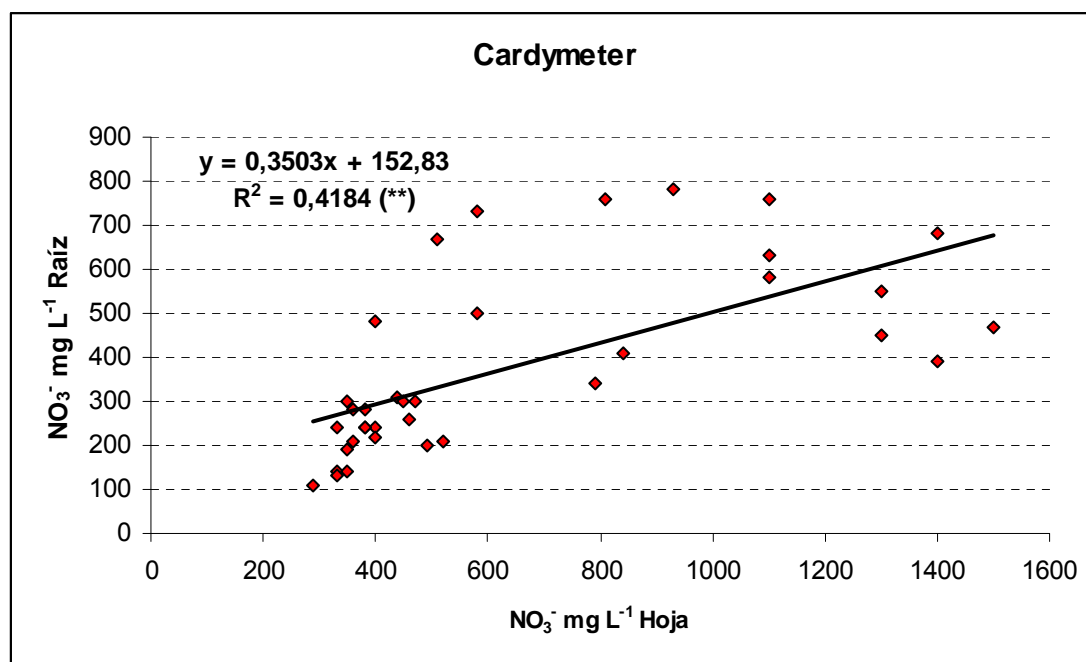


Figura 20: Correlación entre los contenidos de Nitratos en hojas y raíz determinados con Cardymeter.

De los resultados obtenidos se puede observar que la utilización del método rápido del electrodo selectivo para cuantificar el contenido de nitratos da resultados muy satisfactorios en determinados tejidos vegetales (Hochmuth, G. 1994; Gaviola y Lipinski, 2001; Jemison y Fox, 1988). Es evidente que su utilización en tejidos suculentos con una composición rica en hidratos de carbono dificulta la extracción del jugo para su posterior evaluación (Filippini *et al.*, 2009).

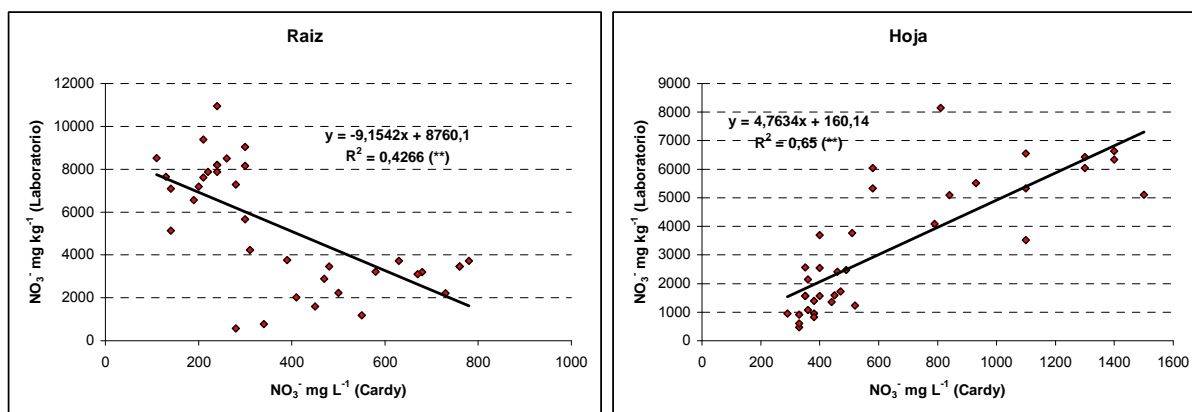


Figura 21. Correlación entre los nitratos obtenidos con electrodo específico (Cardymeter) y los de laboratorio en raíz y hoja.

Por lo tanto, se puede considerar que esta metodología es una excelente herramienta para controlar el estado nutricional nitrogenado de la planta, durante el ciclo del cultivo, permitiendo realizar correcciones rápidas, previo conocimiento acabado de los diferentes estadios fenológicos de la especie y sus requerimientos nutricionales acompañados de un adecuado manejo técnico de los factores de la producción agrícolas (suelo, agua, labores, etc.)

Si bien hoy existe un gran número y diversidad de metodologías adaptadas a la cuantificación de nitratos en vegetales, la obtención del extracto sigue siendo uno de los puntos más críticos. Es importante poner en evidencia que las primeras técnicas de determinación de nitratos se aplicaron a hojas, ya que las primeras legislaciones sobre nitratos fueron enfocadas a lechuga y espinaca principalmente. En estos tejidos, la obtención de un extracto acuoso es muy sencillo y ha dado excelentes resultados (Valdés *et al.*, 2004) utilizando diferentes técnicas de cuantificación.

Es por esto que se pone en evidencia la necesidad de ajustar nuevas técnicas de extracción de jugos vegetales para su posterior cuantificación, como así también, en tejidos suculentos, mejorar los procesos de secado del material vegetal.

5. CONCLUSIONES

- Los contenidos de N, P, K, durante el ciclo de cultivo, en hojas no ha respondido a los distintos niveles de fertilización en el agrosistema en estudio. El Ca y el Mg, han mostrado acumularse en mayor cantidad cuando no se fertilizó.
- La absorción total de nutrientes mayores al final del ciclo de cultivo muestra una tendencia a la absorción mayor cuando se fertilizó con 150 kg N ha^{-1} y $30 \text{ kg de P ha}^{-1}$. Es destacable la gran cantidad de K que extrae el cultivo casi 400 kg ha^{-1} , por lo cual es importante realizar análisis en suelos para verificar el nivel de K en el suelo y determinar la necesidad de incorporación de este elemento

- Si bien no hubo respuesta a la fertilización, los contenidos de Ca y K en raíz a la cosecha, superan las referencias bibliográficas; lo mismo sucede con el rubro Cenizas.
- Los valores de nitratos a la cosecha en raíz, oscilaron entre 498 y 1060 mg kg⁻¹ ssf, encontrándose los más altos en los tratamientos con 150 y 300 kg N ha⁻¹. Estos contenidos de nitratos no superarían los niveles higiénicos sanitarios que se exigen en la actualidad en las normativas generales de la UE para consumo de hortalizas, pero sí se encuentran por encima del límite impuesto para niños y lactantes (200 mg kg⁻¹ ssf), tanto en la UE como en la legislación Argentina.
- El método rápido del electrodo selectivo no se ajusta a la determinación de nitratos en raíz de zanahoria, si bien resulta óptimo para el seguimiento del estado nutricional nitrogenado de la planta.

6. PERSPECTIVAS FUTURAS

Los resultados de este estudio permiten definir futuros estudios a realizar en relación a la temática abordada en esta tesis.

En relación a la calidad higiénica – sanitaria, para obtener un producto final con bajas concentraciones de nitratos, se deberá partir de una materia prima con bajos contenidos de dicho compuesto. Esto implica la necesidad de ajustar las prácticas de fertilización (dosis y momento de aplicación) para esta especie y en la zona, ya que por ejemplo, se ha citado que el fraccionamiento de los fertilizantes nitrogenados disminuye el impacto ambiental pero aumentan el contenido de nitratos en el producto comestible.

Además, las actuales normativas tanto argentinas como de otras regiones y/o países, cada vez son más exigentes en sus límites en relación a los contaminantes como los nitratos. Se deberá tener presente que si se cultivan hortalizas destinadas a alimentación de lactantes y niños, el manejo del cultivo deberá precisar no solo la fertilización (análisis de suelo, agua, antecedentes del cultivo, etc.) sino también otros factores de la producción agropecuaria, como por ejemplo, la elección de las variedades. Como se ha dicho anteriormente, las mismas deberían tener una mayor proporción de corteza que de cilindro central, ya que como se expresara, la acumulación de nitratos es mucho mayor en el xilema. Sería también interesante relevar las variedades que se cultivan actualmente en la región y poder caracterizarlas en forma diferencial respecto a este ión.

Otra línea de trabajo que queda abierta está referida a la necesidad de estudiar y estandarizar una metodología de extracción de los nitratos en hortalizas como papa, zapallo y zanahoria, ya que las técnicas actuales presentan algunas limitaciones. Cabe recordar que esto sería muy favorable, ya que se contaría

con valores más precisos en el momento de tomar decisiones sobre una partida de zanahorias destinada a un determinado mercado y cumplir tanto con las normativas nacionales y como así también internacionales, recordando que Argentina es un importante exportador de hortalizas pesadas.

Por último, se propone realizar estudios para proponer una etiqueta nutricional para la zanahoria, teniendo en cuenta las variedades que más se usan en la región y en vista a las exportaciones, como ya se ha hecho para otras hortalizas de importancia regional como el ajo.

BIBLIOGRAFÍA

Administración de Alimentos y Medicina de los Estados Unidos de Norteamérica (FDA). <http://vm.cfsan.fda.gov/index.html>

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

Arthey D., Dennis C. 1992. Procesado de hortalizas. Ed. Acribia S.A. Zaragoza. España. 522.pp

Belitz H. y W. Grosch. 1998. Química de los alimentos. Editorial Acribia, Zaragoza, España. 2da edición.

Bermejillo, A. 2007. El cultivo de rúcula (*Eruca sativa*) en sistemas no tradicionales. Informe final. Facultad de Ciencias Agrarias – UN de Cuyo – SECTYP.

Bermejillo, A y Filippini, M. F. 2005. Guía de Trabajos Prácticos de Análisis de los Alimentos: Principios nutritivos orgánicos e inorgánicos. Cátedra de Química Agrícola – FCAgrarias. Mendoza 50 pp.

Breimer, 1983; Sjoqvist, 1985. In clinical. Such differences may amount to a factor 10 or .ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/pdf/brjclinpharm00094-0039.pdf

Cataldo D. A., Haroon M., Schrader I. E., Youngs U. L. 1975. Rapid colorimetric determination of nitrate plant tissue by nitration of acid salicylic. Commun. Soil Sci. and plant analysis, 6, 71-80.

Código Alimentario Argentino art. 1356, Resolución conjunta RSPI N° 2 y SAGPA N° 256/ 2007.

Commission European . 1980. Directive on the quality of drinking water for human consumption. Council Directive 80/778/EEC OJN L229, 30-8-1980, pp.11–26.

- Commissison European (1995). Scientific Committee for Food, Annex 4 to document III/15611/95. Opinion on nitrate and nitrite”(expressed on 22 September, 1995). pp.20.
- Commission Regulation (EC) n° 655/2004 of 7 april 2004 amneding Regulation (EC) n° 466/2001 as regards nitrate in food for infants and Young children. Official J.Eur.Union 8.4.2004, L104, pp 48-49
- Dechassa, N. and Schenk, M. K. (2004), Exudation of organic anions by roots of cabbage, carrot, and potato as influenced by environmental factors and plant age. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 167: 623–629. doi: 10.1002/jpln.200420424
- Derache, R. 1990. Nitratos, Nitritos y Nitrosaminas. In: *Toxicología y Seguridad de los Alimentos*. Ed. Omega. Barcelona, España
- 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 pp
- Duke, J.A. 1983. *Handbook of Energy Crops*. Disponible en http://www.hort.purdue.edu/newcrop/duke_energy/daucus_carota.html) consultado en diciembre de 2010
- ECETOC. 1988. Nitrate and Drinking Water. European Chemical Industry Ecology & Toxicology Centre; Brussels. Technical Report N° 27.
- FAO/WHO. 1995. Evaluation of certain food additives and contaminants. Forty-fourth report of the joint Experts Committee on Food Additives.
- FAO. 2006. La calidad en frutas y hortalizas. En: *Manual para la preparación y venta de frutas y hortalizas: del campo al mercado*. Depósito de Documentos de la FAO. Disponible en <http://www.fao.org/docrep/006> (consultado en mayo de 2010).
- 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.
- Filippini, M.F.; Lucero, L. Granval, N. 2009. Estudio del contenido de nitratos en zapallo (*Cucurbita ssp*) cultivados en agrosistemas convencional y orgánico. Informe INTA.
- Foth, H. 1986. Los suelos y la nutrición mineral de las plantas. Calcio y Magnesio. In: *Fundamentos de la ciencia del suelo*. Ed. Compañía editorial continental, Mexico.

- 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.
- Galmarini Munt C. 1987. Mejora de la zanahoria - *Daucus carota* L. : V curso de mejora genética vegetal y producción de semillas. Mendoza. 61 pp.
- Gallego, A. 2006. Contaminación de aguas en el ámbito urbano. II Foro FANUS: Nitratos y Nitritos en la alimentación humana, Buenos Aires, Argentina.
- García, F. 1996 El ciclo del nitrógeno en ecosistemas agrícolas.inta.gov.ar/balcarce/noticias/inta.../ImpactoAgroqAmbiente.doc
- Graifenberg, A.; Barsanti, L.; Botrini, L.; Temperini, O. 1993. La problematica dei nitrati. Supplemento a L Informatore Agrario 6: 43-48
- Gaviola S. 1996. Factores de manejo que inciden sobre la calidad de las hortalizas. Avances en Horticultura 1 (1):4-18
- Gaviola, S. y Lipinski, V.M., 2001. Determinación rápida de nitratos en ajo cv. Fuego INTA bajo un sistema de riego por goteo. Ciencia del Suelo. Vol. :20 (1): 43 - 49.
- Gaviola, J. 2009. Cultivo de la zanahoria en Cuyo. Proyecto Desarrollo Sustentable de la Horticultura Regional. Jornadas de Actualización Hortícola. INTA – Centro Regional Mendoza – San Juan. Mendoza, 22 y 23 de octubre.
- Giannuzzi Leda 2010: Dra, Profesora Adjunta Toxicología y Química Legal. Facultad de Ciencias Exactas. Universidad Nacional de La Plata. Investigadora del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).
- Hochmuth, G. 1994. Efficiency ranges for nitrate-nitrogen and potassium for vegetable petiole sap quick test. Hortic. Technol. July/Sept. p. 218-222.
- IDR Instituto de Desarrollo Rural. 2000. Censo Hortícola - Ciclos 97/98, 98/99 y 99/00. Programa de Relevamiento Hortícola Provincial. Subsecretaría de Programación Económica. Ministerio de Economía - Provincia de Mendoza. www.idr.org.ar, consultado diciembre de 2010
- IDR Instituto de Desarrollo Rural 2008. Relevamiento Hortícola Provincial .Superficie con hortalizas invernales y estivales. Período 2006/2007. www.idr.org.ar, consultado diciembre de 2010
- Istituto Nazionale di Ricerca per gli Alimenti e la Nutrizione (INRAN). Tabelle di composizione degli alimenti. Disponible en <http://www.inran.it> (consultado: febrero de 2011)
- Jemison, J.M., and R.H. Fox. 1988. A quick-test, nitrate test strips, reflectometer soil nitrate, stalk nitrate. Commun. Soil Sci. Plant Anal. 19:1569-1582.

- Lindner, E. - 1995. Toxicología de los Alimentos. Ed. Acribia, Zaragoza. 138 pp.
- Lipinski, V.M.; Gaviola, S. y Nijensohn L. 2000. Método de diagnóstico rápido de nitratos en ajo para el manejo de la fertigación. CD: XVII Congreso Argentino de la ciencia del suelo. Comisión III, Panel 34
- Maroto Borrego J. V. 1995. Horticultura Herbácea especial. 4a edición Ed. Mundi-Prensa. España.700 pp
- Martí Luis. 2011. Agronomía General y Ambiental. Mendoza, Argentina. En prensa. 507pp.
- Maynard D.N., Barker A.V., Minotti P.L., Peck N.H. 1976. Nitrate accumulation in vegetables. Adv. Agron. 28: 71-118.
- Mazzei, M.E; Puchulu, M.R.; Rochaix, M.A. 1995. Tablas de composición química de alimentos. Segunda edición. CENEXA, FEIDEN, 1995.
- Moreiras O, Carvajal A, Cabrera L, Cuadrado M (2001). Tablas de Composición de Alimentos. Ediciones Pirámide. Madrid
- Namesny, A. 1993. Post-recolección de hortalizas. Vol. 1. Hortalizas de hoja, tallo y flor. Compendio de Horticultura 1. Ediciones de Horticultura, SL. Reus -España.
- Paradiso, R.; De Pascale, S.; Barbieri, G. 2001. Effetti regime irriguo e dosi di azoto su resa e composizione mineale in carota. Italus Hortus 8 (4): 8 - 13.
- Patruno, A. 1984, Influenza dei fattori agronomici sul contenuto di nitrati nei prodotti agricoli. Riv. Di Agron. 2:79-91
- 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.; Gennari, A. 2000. La qualità dei prodotti frutiorticoli. Curso de posgrado. Maestría de Hoeticultura. FCAgrarias, Mendoza.
- Pimpini, F.; V.V.Bianco, F. Pimpini 2001 (ed.). Radicchio Orticoltura.
- Pokorny, J.; Yanishlieva, N.; Gordon, M. 2004. Antioxidantes de los alimentos: Aplicaciones prácticas. Ed. Acribia. España. 364 pp.
- Roby, Osvaldo.; 2009. Ing. Agr. Master in International business. Prof. UNCuyo.
- Rubatzky, V.E.; Queros, C.F. and Simon, P.W. 1999. Carrots and related vegetable Umbelliferae. Crop production science in horticulture series, n° 10. CABI Publishing, UK. 294 pp
- Sediyama M.A.N.; Vidigal, S.M.; Gomez Pereira, P.; Pinheiro, N. De Lima P. 1998. Yield and mineral composition of carrots fertilized with organic residues. Bragantia, 57 (2): 379 – 386

- Seitz P. 1986. La problemática dei nitrati in orticoltura. *Colture Protette* 10:17-24
- Senser, F. y Scherz H. 1991. Tabla de composición de alimentos. El pequeño "Sauci-Fachmann-Kreaut" Ed. Acribia, Zaragoza, España.428 pp
- Siviero, P. e Donelli, L. 1997. La coltivazione della carota in Italia. *L'Informatore Agrario* 24: 54 – 77
- Siviero, P. 2000. Il rilascio della carota passa dalla vitamina A. *Colture Protette* 12: 33 -36.
- Smolen,S and Sady, W. 2009. The effect of various nitrogen fertilization and foliar nutrition regimes on the concentrations of nitrates, ammonium ions, dry matter and N-Total in carrot (*Daucus carota* L.) roots. *Scientia Horticulturae* 119, 219-231.
- 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
- USDA 2011. USDA National Nutrient DataBase for Standard Reference. Disponible en: www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp (consultado el 20/02/2011)
- Universidad Nacional de Luján. 2011. Tabla de Composición de Alimentos (compilación). Disponible en: www.unlu.edu.ar/argenfoods/Tablas (consultado el 20/02/2011).
- UNI EN 28402 Sinonimi di "Q.A." sono: Sistema aziendale a garanzia della qualità. Garanzia di qualità. Sistema qualità .
- Wald George. A Nobel Legacy 1914-1973. The Harvard Guide (2004): Harvard Faculty. www.news.harvard.edu/guide/faculty/fac7.html
- Whitmore, A.P.; and Powlson, D.S. 1992. Farming, Fertilizers and the Nitrate Problem. CABI. Typeset by Leaper & Gard Ltd. Bristol. Printed and bound in theU.K. by Redwood Press Ltd. Melksham. 170 pp.
- Valdés, A., Martí, L; Filippini, M.F.; Salcedo, C. 2004. "Determinación de nitratos en vegetales: comparación de cuatro métodos analíticos". ISSN 0370-4661. Rev. de la Facultad de Ciencias Agrarias - UN de Cuyo. Tomo XXXVI, nº1. 21-28 pp.