

UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN - TACNA

Facultad de Ciencias de la Salud

Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

EVALUACIÓN COLORIMÉTRICA DE NITRATOS EN *Spinacia oleracea* L., *Beta vulgaris* L. var. *cicla* y *Lactuca sativa*  
EN LA PROVINCIA DE TACNA, AÑO 2015

TESIS

Presentada por:

Bach. Yanet Chambi Ramos

Para optar el Título Profesional de:

QUÍMICO FARMACÉUTICO

TACNA - PERÚ

2016

**UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN**

**Facultad de Ciencias de la Salud**

**Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica**

**EVALUACIÓN COLORIMÉTRICA DE NITRATOS EN *Spinacia oleracea* L., *Beta vulgaris* L. var. *cicla* y *Lactuca sativa* EN LA PROVINCIA DE TACNA, AÑO 2015**

**TESIS**

**Presentada por:**


**Bach. YANET CHAMBI RAMOS**

**Para optar el Título Profesional de  
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

  
Dra. María Daila Salas de Cornejo  
Presidenta

  
Q.F. Orlando Agustín Rivera Benavente  
Miembro

  
Q.F. Juan Carlos Efraín Cervantes Zegarra  
Miembro

  
Q.F. Edgard Guido Calderón Copa  
Asesor

## **DEDICATORIA**

A mis padres, por su apoyo incondicional, que han sido un pilar fundamental en mi formación personal y profesional, por su apoyo incondicional, paciencia, y dedicación en mi formación.

A mis amigos, por sus palabras de ánimo para seguir adelante.

## **AGRADECIMIENTOS**

*A Dios, por darme la oportunidad de vivir y por estar conmigo en cada paso que doy, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente.*

A mis padres, por su apoyo incondicional.

A mis amigos, por sus palabras de ánimo para seguir adelante.

A mi asesor Q.F. Edgard Guido Calderón Copa, por haberme brindado la oportunidad de recurrir a sus conocimientos y experiencia, por su dedicación y paciencia para guiarme durante todo el desarrollo de la tesis.

## ÍNDICE

**DEDICATORIA**

**AGRADECIMIENTOS**

**ÍNDICE**

**RESUMEN**

**ABSTRACT**

**INTRODUCCIÓN**

**CAPÍTULO I**

<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....</b>	<b>4</b>
1.1. Descripción .....	4
1.2. Formulación del problema.....	7
1.2.1. Problema general .....	7
1.2.2. Problemas secundarios .....	7
1.3. Objetivos del estudio.....	8
1.3.1. Objetivo general .....	8
1.3.2. Objetivos específicos.....	8
1.4. Justificación e importancia .....	9
1.5. Hipótesis .....	11
1.5.1. Hipótesis general.....	11
1.5.2. Hipótesis específicas.....	11

1.6. Determinación de la variable.....	12
1.6.1. Operacionalización de la variable.....	13

## **CAPÍTULO II**

### **MARCO TEÓRICO ..... 14**

2.1. Antecedentes .....	14
2.2. Bases teóricas.....	25
2.2.1. Clasificación taxonómica y descripción de las especies.....	25
2.2.2. Ciclo del nitrógeno.....	33
2.2.3. El nitrógeno en la planta.....	36
2.2.4. Fisiología de la acumulación de nitratos en hortalizas .....	37
2.2.5. Toxicocinética de nitratos y nitritos.....	44
2.2.6. Toxicodinámica de los nitratos y nitritos .....	48
2.2.7. Formación de compuestos de n-nitroso .....	53
2.2.8. Determinación analítica .....	64

## **CAPÍTULO III**

### **MATERIALES Y MÉTODOS ..... 65**

3.1. Materiales .....	65
3.1.1. Equipos.....	65
3.1.2. Reactivos.....	65
3.1.3. Instrumentos.....	66
3.2. Metodología .....	66
3.2.1. Lugar de estudio.....	66

3.2.2.	Tipo de diseño de investigación .....	67
3.2.3.	Unidad de estudio.....	68
3.2.4.	Recolección .....	68
3.2.5.	Preparación del extracto.....	69
3.2.6.	Determinación .....	69
3.2.7.	Cálculos.....	73
3.2.8.	Procesamiento estadístico.....	73

## **CAPÍTULO IV**

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... 75**

4.1.	Resultados .....	75
4.1.1.	Prueba de hipótesis.....	91
4.1.2.	Análisis de la varianza (anova).....	98
4.2.	Discusión .....	105

### **CONCLUSIONES ..... 115**

### **RECOMENDACIONES..... 117**

### **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... 118**

## RESUMEN

**Objetivo:** Evaluar la concentración de nitratos en *Spinacia olerácea L.*, *Beta vulgaris var. cicla* y *Lactuca sativa* en la provincia de Tacna, año 2015.

**Material y métodos:** Se utilizaron 20 muestras de *Spinacia olerácea L.*, *Beta vulgaris var. cicla* y *Lactuca sativa*; recolectadas de las principales zonas productoras de la provincia de Tacna: Pachía, Calana, Pocollay y la Yarada. La concentración de nitrato se determinó por el método colorimétrico. Se obtuvo la media y desviación estándar con la estadística descriptiva y la estadística inferencial con el análisis de varianza ANOVA.

**Resultados:** Se hallaron elevados contenidos de nitratos en *Spinacia olerácea L.* con un valor máximo de 4,420 g, en *Beta vulgaris var. cicla* de 4,022 g y en *Lactuca sativa* 2,190 g; que fueron comparadas con el límite máximo permisible dispuesto por la *Food and Agriculture Organization* y la *Organización Mundial de la Salud*.

**Conclusiones:** El resultado de las muestras analizadas revela que no todas se encuentran dentro de los límites máximos permisibles establecido por la *Food and Agriculture Organization* y la *Organización Mundial de la Salud*.

**Palabras clave:** Colorimetría, *Spinacia olerácea L.*, *Beta vulgaris var. cicla* y *Lactuca sativa*.

## ABSTRACT

**Objective:** To assess the concentration of nitrates in *Spinacia oleracea L.*, *Beta vulgaris var.* and *Lactuca sativa* in the province of Tacna, 2015.

**Material and Methods:** 20 samples *Spinacia oleracea L.*, *Beta vulgaris var* and *Lactuca sativa* were used and collected from the main producing areas of the province of Tacna: Pachía, Calana, Pocollay and Yarada. The nitrate concentration was determined by the colorimetric method. The mean and standard deviation with descriptive statistics and inferential statistics was obtained with ANOVA.

**Results:** High levels of nitrates in *Spinacia oleracea L.* were found with a maximum value of 4,420 g, in *Beta vulgaris var.* 4,022 g and *Lactuca sativa* 2,190 g; they were compared with the maximum allowable limit set by the *Food and Agriculture Organization and the World Health Organization*.

**Conclusions:** The results of the samples analyzed showed that not all are within the maximum permissible limits established by the Food and Agriculture Organization and the World Health Organization.

Keywords: colorimetry, *Spinacia oleracea L.*, *Beta vulgaris var.*, *Lactuca sativa*.

## INTRODUCCIÓN

Los vegetales a menudo representan salud y bienestar, es parte fundamental de nuestra alimentación, su aporte nutricional es considerado de vital importancia, sin embargo estos pueden contener ciertos compuestos no beneficiosos para la salud que en elevadas concentraciones podrían resultar tóxicos.

El nitrato es un compuesto natural que forma parte del ciclo del nitrógeno, juega un rol importante en la nutrición de las plantas, pero algunos factores, como son los fertilizantes, el estiércol, el agua de riego y otros residuos orgánicos que se hallan en los suelos de cultivo, pueden alterar la función que desempeña esta sustancia. Niveles elevados de nitratos han sido encontrados en hojas de acelgas, espinacas y lechugas, el cual se acumula en exceso debido a los factores ya mencionados. La exposición humana al nitrato es principalmente a través del consumo de vegetales, agua y otros alimentos <sup>(1)</sup>.

Los vegetales aportan alrededor del 80 % de la ingesta diaria de nitrato. El Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA) estableció la ingesta diaria aceptable (IDA) para este en 0 - 3,7

mg/kg de peso corporal. Posteriormente, el Comité Científico de las Comunidades Europeas para la Alimentación (SCF) también estableció una IDA para el nitrato de 0 - 3,7 mg/kg de peso corporal, donde la ingesta de tan sólo 100 g de verduras crudas con una concentración de nitratos de 2 190 mg/kg de materia fresca corresponde a todo el nitrato de IDA para una persona de 60 kg <sup>(2)</sup>. Generalmente, las verduras que acumulan nitrato pertenecen a las familias *Chenopodiaceae* (remolacha, acelga y espinaca), *Asteraceae* (lechuga), *Amaranthaceae* (Amaranthus), *Brassicaceae* (rábano y mostaza), y *Apiaceae* (apio y perejil) <sup>(3)</sup>.

La presencia de nitrato en los vegetales, el agua y otros alimentos representa un serio problema para la salud, ya que esto podría desencadenar diversos trastornos, como la metahemoglobinemia y cáncer <sup>(4)</sup>.

En vista de la importancia de las verduras para la salud humana y el hecho de que muchas personas han dado lugar a comer éstas para el bienestar de su salud, el objetivo de este estudio, por tanto, es determinar las concentraciones de nitrato en algunos vegetales de hoja comunes con el fin de evaluar la seguridad basándonos en los parámetros establecidos por la FAO/OMS.

El presente trabajo de investigación se encuentra organizado en cuatro capítulos. El capítulo I (Planteamiento del problema), el cual parte desde la descripción, formulación del problema, objetivos, justificación, hipótesis y determinación de variables. El capítulo II (Marco teórico), en el que se presentan los antecedentes y bases teóricas del tema de la investigación. En el capítulo III (Material y métodos), se expone el diseño de la investigación, la metodología y los materiales empleados. Por último, en el capítulo IV (Resultados y Discusión), se detalla los resultados obtenidos y se infiere los mencionados, además se presentan las conclusiones y recomendaciones para futuras investigaciones en la misma línea temática; la bibliografía y anexos de la tesis.

## **CAPÍTULO I**

### **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

#### **1.1. DESCRIPCIÓN**

Los nitratos, son compuestos iónicos que se encuentran en la naturaleza, formando parte del ciclo del nitrógeno y de los alimentos. En el hombre, la exposición a nitratos ocurre generalmente por conducto del agua y de los alimentos, las fuentes más importantes de éstos son los vegetales y las carnes rojas. Respecto a los vegetales, una de las principales consecuencias de la agricultura actual para el medio ambiente es la contaminación de aguas por nitratos y las aplicaciones excesivas de fertilizantes nitrogenados que se encuentran en los suelos de cultivo, se toma en cuenta ello ya que en los vegetales, existen algunas especies que tienen gran capacidad de acumulación de nitrato, como son los de hoja verde.

Los humanos y animales están expuestos a los efectos negativos del nitrato cuando es ingerido en una proporción que supera los límites recomendados como se mencionó anteriormente y se estima que el 5 % de nitrato ingerido se reduce a nitrito <sup>(5)</sup>, éstos oxidan el hierro de la hemoglobina produciendo metahemoglobina <sup>(6)</sup>, compuesto que evita el normal funcionamiento de la hemoglobina, dando como consecuencia deficiencia de la oxigenación y acidosis metabólica. Los infantes son particularmente susceptibles a la inducción de metahemoglobinemia producida por nitratos, dada la poca información sobre estos casos en el Perú, cabe preguntarse si esto se debe a la baja incidencia de la enfermedad o a que no se notifican, ya que en otros países estos casos han sido registrados <sup>(7)</sup>.

Por otro lado, los nitratos reaccionan con los aminoácidos de los alimentos en el estómago produciendo nitrosamidas y nitrosaminas, sustancias que han demostrado tener efecto cancerígeno <sup>(4)</sup>.

Como medida preventiva la *Organización Mundial de la Salud* (OMS) junto a la *Food and Agricultural Organization* (FAO), han establecido límites máximos permitidos de nitrato en diversos alimentos, haciendo mención a los más relevantes para este estudio como en el caso de la espinaca ( $\leq 2,500$  g/kg), acelga ( $\leq 2,500$  g/kg) y lechuga ( $\leq 2,000$  g/kg de peso del vegetal), con el fin de llevar un control en la producción y consumo de éstos para evitar futuros problemas de salud.

Con este trabajo se pretende evaluar el contenido de nitratos en tres especies vegetales con el fin de proponer un control a nivel de estos alimentos que son de alto consumo en nuestra ciudad, debido a que no se realiza en nuestro país este tipo de controles en vegetales.

## 1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

### 1.2.1. PROBLEMA GENERAL

- ¿Cuál es la evaluación de nitratos en *Spinacia olerácea L.*, *Beta vulgaris var. cicla* y *Lactuca sativa* en la provincia de Tacna, año 2015?

### 1.2.2. PROBLEMAS SECUNDARIOS

1. ¿Cuál es la concentración de nitratos en *Spinacia olerácea L.*, *Beta vulgaris var. cicla* y *Lactuca sativa*?
2. ¿Qué relación existe entre la concentración de nitratos en *Spinacia olerácea L.*, *Beta vulgaris var. cicla* y *Lactuca sativa* con los límites establecidos por la OMS/FAO?
3. ¿Los resultados obtenidos serán estadísticamente significativos?

### **1.3. OBJETIVOS DEL ESTUDIO**

#### **1.3.1. OBJETIVO GENERAL**

- Evaluar la concentración de nitratos en *Spinacia olerácea L.*, *Beta vulgaris var. cicla* y *Lactuca sativa* en la provincia de Tacna, año 2015.

#### **1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Cuantificar por colorimetría la concentración de nitratos en *Spinacia olerácea L.*, *Beta vulgaris var. cicla* y *Lactuca sativa*.
2. Relacionar la concentración de nitratos en *Spinacia olerácea L.*, *Beta vulgaris var. cicla* y *Lactuca sativa* con los límites permisibles por la OMS/FAO.
3. Analizar y determinar estadísticamente si los resultados obtenidos son significativos.

#### **1.4. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA**

Es necesario conocer la concentración de nitratos en las diferentes especies vegetales que consume la población, ya que éstos siendo compuestos iónicos que forman parte del ciclo del nitrógeno, se encuentran de forma natural en el aire, agua y suelo y que es esencial para el mantenimiento del ecosistema. Debido a diversas actividades agrícolas o industriales, exceso de residuos orgánicos y alta concentración de aguas residuales, se produce un excedente de nitrógeno en el suelo, el cual es absorbido por las plantas que lo acumulan en los órganos de tránsito, raíces y hojas. El nitrato en sí, es relativamente poco tóxico para la población, sin embargo, su toxicidad viene determinada por compuestos resultantes de la reducción de este ion como son los nitritos y nitrosaminas <sup>(4)</sup>.

Finalmente se debe mencionar que en la actualidad no se realiza la determinación de nitratos en vegetales de alto consumo, a pesar de que la OMS estipula ésta como una fuente de intoxicación por nitratos.

De lo expuesto, nace el interés para el desarrollo del presente trabajo de investigación, para lo cual es necesario evaluar el contenido de nitratos en las especies en estudio como son la acelga, espinaca y lechuga, siendo de amplio consumo popular por su bajo costo. Los resultados de esta investigación darán a conocer a las autoridades pertinentes sobre las concentraciones de nitratos presentes en estos vegetales y tomar las acciones que correspondan.

## 1.5. HIPÓTESIS

### 1.5.1. HIPÓTESIS GENERAL

- La evaluación de la concentración de nitratos en *Spinacia olerácea L.*, *Beta vulgaris var. cicla* y *Lactuca sativa* en la provincia de Tacna, año 2015 evidencia que los valores encontrados son mayores a los establecidos por la OMS/FAO.

### 1.5.2. HIPÓTESIS ESPECÍFICAS

1. El método de colorimetría para determinar la concentración de nitratos en *Spinacia olerácea L.*, *Beta vulgaris var. cicla* y *Lactuca sativa* resulta ser el apropiado.
2. La concentración de nitratos en *Spinacia olerácea L.*, *Beta vulgaris var. cicla* y *Lactuca sativa* son mayores a los establecidos por la FAO/OMS.

3. Los resultados obtenidos son estadísticamente significativos.

#### **1.6. DETERMINACIÓN DE LA VARIABLE**

- Concentración de nitratos en *Spinacia olerácea L.*, *Beta vulgaris var. cicla* y *Lactuca sativa* en la provincia de Tacna.

### 1.6.1. OPERACIONALIZACIÓN DE LA VARIABLE

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES	ESCALA
Concentración de nitratos en <i>Spinacia olerácea L.</i> , <i>Beta vulgaris var. cicla</i> y <i>Lactuca sativa</i> en la provincia de Tacna.	Cantidad de nitratos expresados en g por kg de muestra de las especies en estudio obtenidas de la provincia de Tacna.	La muestra en estudio será sometida a maceración, se llevará a ebullición 0,5 g de muestra en 50 ml de agua destilada durante 30 minutos, a una concentración de 0,01mg/ml. Se extraerán 0,2 ml del extracto. Se adicionará 0,8 ml de solución de ácido salicílico al 5 % en ácido sulfúrico concentrado seguido de solución 2N de NaOH, esperar 48 horas, se leerá la absorbancia a 410 nm.	Recolectadas en el mes de Setiembre:  <i>Spinacia olerácea L.</i> Permitido: $\leq 2,500$ g/kg No permitido: $> 2,500$ g/kg  <i>Beta vulgaris var. cicla:</i> Permitido: $\leq 2,500$ g/kg No permitido: $> 2,500$ g/kg  <i>Lactuca sativa:</i> Permitido: $\leq 2,000$ g/kg No permitido: $> 2,000$ g/kg	Razón

## **CAPÍTULO II**

### **MARCO TEÓRICO**

#### **2.1. ANTECEDENTES**

##### **NACIONALES:**

En Lima, Sucasaire D. y Solís R. (2010) en su trabajo *“Determinación de nitritos y nitratos en hot dogs de consumo directo por estudiantes del 5 y 6 grado de educación primaria del distrito de Villa el Salvador”*, el objetivo fue determinar las concentraciones de nitritos y nitratos presentes en los hot dogs de consumo directo que se expenden en dichas instituciones educativas. Los valores encontrados para nitritos y nitratos en las 23 muestras analizadas variaron en un rango de 122 ppm hasta 399 ppm y de 482 ppm hasta 738 ppm, respectivamente y el promedio de las concentraciones para el caso de los nitritos fue de 176,96 ppm y para el caso de los nitratos de 530,31 ppm. Por lo tanto se concluyó en que las concentraciones de nitritos y nitratos

superaron los niveles máximos permitidos dados por el Codex Alimentarius e INDECOPI <sup>(8)</sup>.

### **INTERNACIONALES:**

En el estudio realizado por Chen W. y col. (2014), en la ciudad de Washington, Estados Unidos, acerca de *“Efectos de los fertilizantes de nitrógeno sobre el crecimiento y contenido de nitrato en lechuga (*Lactuca sativa* L.)”*, en el cual se buscó desarrollar un sistema agrícola que produzca lechuga saludable con bajo contenido de nitrato. Los resultados demostraron que la concentración total de nitrógeno en el suelo y en lechuga se elevó a medida que la cantidad de fertilizante de nitrógeno era aumentado, las lechugas tratadas con fertilizantes inorgánicos y orgánicos alcanzaron 5,000 – 6,100 g de nitrato por kg de vegetal. Se concluye en que la aplicación de fertilizantes de nitrógeno influye en la concentración de nitratos en las partes comestibles de la lechuga <sup>(9)</sup>.

Menal S. y Asensio E. (2015), realizaron un trabajo de investigación en la ciudad de Huesca, España sobre *“Validación de*

*un método para detectar nitratos en acelgas (Beta vulgaris cicla)*". Este trabajo tuvo como objetivo presentar un método para la determinación colorimétrica de nitratos en muestras de acelga basado en la nitración del ácido salicílico, se aplicó para analizar 56 muestras de acelgas del mercado de Huesca recogidas en las temporadas de invierno y verano; se valoró el riesgo toxicológico asociado al consumo para la población española adulta e infantil, como resultado el contenido medio de nitratos detectado fue de 2,293 g/kg en acelga y hubo evidencia de riesgo especialmente en el invierno. En conclusión, se encontró un alto porcentaje de muestras de acelgas con una concentración considerable de nitratos; teniendo en cuenta la ingesta diaria estimada de nitratos asociada a ellas, se recomendaría establecer un límite reglamentario de nitratos en acelgas, ya que es una hortaliza de consumo importante en España <sup>(10)</sup>.

Valdés A. y col. (2004), en la ciudad de Mendoza, Argentina, realizaron el trabajo de investigación "*Determinación de nitratos en vegetales comparación de cuatro métodos analíticos*", tuvo como fin comparar cuatro métodos para la determinación de nitratos en muestras vegetales para evaluar la correlación entre los mismos y

establecer pautas para su utilización. Se recolectaron 690 muestras de lechuga, pertenecientes a los tipos arrepollado y mantecoso, recolectadas a lo largo de un año en el Mercado Cooperativo de Guaymallén, se emplearon cuatro métodos para la determinación de nitratos: destilación por arrastre con vapor, colorimetría por nitración con ácido salicílico, colorimetría modificada y potenciometría con electrodo selectivo. Se probaron diferentes modelos de regresión entre el método de referencia y los otros tres, siendo el lineal el que mejor se ajustó en todos los casos. Los métodos estudiados tuvieron comportamiento semejante. La mayor correlación se observó entre la destilación por arrastre con vapor y la potenciometría; no obstante, los restantes también presentaron alta correlación. Por lo que se concluye en que la elección del procedimiento analítico dependerá principalmente del número de muestras a analizar, del tiempo requerido por el análisis y del costo del mismo <sup>(11)</sup>.

Lammarino M. y col. (2014), desarrollaron un trabajo de investigación en la ciudad de Foggia, Italia, sobre *“Determinación de nitritos y nitratos en los niveles de las hortalizas de hoja (espinaca y lechuga): una contribución a la evaluación de riesgos”*.

Este trabajo tuvo como objetivo evaluar los niveles de nitratos y nitritos en espinaca y lechuga para lo cual se toma 150 muestras vegetales de hoja (75 de espinaca y 75 de lechuga fueron analizadas). Los análisis se llevaron a cabo mediante un método validado de cromatografía iónica y las muestras con concentraciones de nitrato superiores a los límites legales o con concentraciones cuantificables de nitritos se confirmaron mediante un método de cromatografía iónica alternativa. Dando como resultado que los niveles de nitrato superiores a los límites legales se detectaron tanto en las espinacas (cuatro muestras) y en la lechuga (cinco muestras). Residuos de nitrito se registraron tanto en bajas concentraciones: Inferior a 28,5 mg/kg (12 muestras de espinacas) y en altas concentraciones, hasta 197,5 mg/kg (tres espinacas y una lechuga de la muestra). Por lo tanto se concluye que teniendo en cuenta el porcentaje se necesita mayor control. Además, es posible sugerir la introducción en las comunidades del Reglamento de un nivel máximo admisible para nitritos en las verduras de hoja <sup>(12)</sup>.

En el estudio realizado por Aires A. y col. (2012) en Portugal, sobre *“Efectos de los sistemas de producción agrícola en nitrato y*

*acumulación de nitrito en hojas de ensaladas*”, cuyo objetivo principal fue verificar si existía diferencia significativa en nitratos y nitritos en ensaladas orgánicas y convencionales de cultivo; si esa influencia puede aumentar el riesgo de aparición de la enfermedad para los consumidores. En este estudio se informó de niveles más bajos de nitratos en el sistema orgánico (1,703 g/kg) y más alto en el convencional (2,637 g/kg). Los límites detectados de nitratos en las muestras estaban dentro de los límites legales (<3,000 g/kg para la lechuga y las muestras similares) recomendado por la normativa de la Unión Europea. Por lo tanto, desde el punto de vista de los nitratos, este tipo de verduras son seguros. Con respecto al contenido de nitrito de ensaladas estudiadas, los resultados mostraron una variación de 1,89 g/kg para la lechuga roja. Por otra parte, sólo en la lechuga roja, se observaron diferencias significativas en la contaminación nitrito entre productos orgánicos y convencionales, en lechuga verde y berros, no hubo diferencias significativas. Para concluir, en base a los resultados, parece que las hojas de ensaladas producidas en los sistemas orgánicos y convencionales en Norte de Portugal tienen bajos niveles de nitratos y nitritos. Por lo tanto, son toxicológicamente seguros. Las diferencias entre las plantas cultivadas orgánicas y

convencionalmente son menos, pero existen. Sin embargo, no representa ningún tipo de riesgo para la salud humana. Estos resultados son importantes no sólo para los adultos, si no especialmente para los niños, en los que los aspectos toxicológicos relacionados con los nitratos y nitritos acumulación asumen mayor importancia <sup>(13)</sup>.

Jana C. y Moktan P. (2012) en la India, desarrollaron la siguiente investigación *“La concentración de nitratos en las verduras de hoja: Un estudio de concentraciones de nitrito en los vegetales de hojas verdes frescas al por menor de los mercados diarios de diferentes lugares”*, el cual tuvo como objetivo evaluar la seguridad relativa de algunos vegetales de hoja comunes basados en la Norma Europea. Los valores hallados de contenido de nitrato medio de hojas de rábano fueron de 1,521 g/kg. Se encontró que era máxima en el mercado Kalimpong seguido de Gangtok, Siliguri y Koch Bihar, en Palak 2,971 g/kg. En hojas de amaranto en el mercado de Gangtok 1,855 g/kg, seguido de Kalimpong, Siliguri y Koch Bihar. Entre las muestras de las tres verduras de hoja, el contenido de nitrato excedió a la ingesta diaria admisible <sup>(14)</sup>.

En el estudio realizado por Cáfaro L. (2009) en Uruguay, sobre *“Determinación rápida de nitrato en vegetales para minimizar toxicidad en humanos y rumiantes”*, cuyo objetivo principal fue comparar el método de Cataldo que utiliza tejido fresco, con el método potenciométrico de electrodo de actividad específica en tejido seco, teniendo como muestra las hortalizas: lechuga, acelga y espinaca. Obteniéndose como resultado que la determinación del contenido de nitrato mediante el método establecido por Cataldo se relacionó linealmente con las determinaciones de nitrato por el método potenciométrico tanto en acelga, espinaca o lechuga, al ser similares entre ambos métodos, un único modelo fue adecuado para representar esta relación para las tres hortalizas. En conclusión el método de análisis establecido por Cataldo sería una herramienta aceptable porque al ser una técnica rápida y de bajo costo permitiría repetir gran cantidad de muestras <sup>(15)</sup>.

En el artículo publicado por Lastra O. (2003) en Chile, *“Determinación espectrofotométrica de nitrato en el tejido vegetal”*. En el cual un método espectrofotométrico derivado fue desarrollado para determinar nitratos en los tejidos vegetales. El método se basó en la medición de la primera derivada del espectro de ácido

nitrosalicílico en solución básica. El ácido nitrosalicílico se obtuvo por reacción de las muestras con ácido salicílico en ácido sulfúrico concentrado y fue utilizado por Cataldo en espectrofotometría. La fuerza principal de esta técnica es la falta de interferencia de fondo de la matriz, típico de extractos de plantas en los métodos espectrofotométricos tradicionales. Este método es rápido, barato, fácil de aplicar y altamente selectivo. La curva de calibración fue lineal. La desviación estándar promedio fue de 3,3 <sup>(16)</sup>.

En el estudio realizado por Parada R. (1987) en Chile, sobre *“Intoxicación por nitrato en bovinos lecheros en una pradera de ballica italiana”*, el cual fue desarrollado para determinar la ocurrencia de intoxicación por nitrato en dos grupos de bovinos lecheros que pastoreaban en una pradera de ballica italiana (*Lolium multiflorum*) a inicios de primavera. El grupo I (22 vaquillas preñadas), introducido hambriento a la pradera tras un largo viaje, sufrió una forma aguda del problema y murieron cuatro animales; el grupo II (14 vacas gestantes, secas preparto), procedentes del mismo predio, hizo una forma de la afección que fuera revelada por el ejercicio. Como resultado ambos grupos ocurrieron abortos 48-96 horas después de iniciar el pastoreo en la pradera problema,

encontrándose en éstos valores de nitrato fluctuantes entre 1,64 y 3,35 % MS (en equivalencia de  $\text{NO}_3^-$ ). La reacción de difenilamina fue claramente positiva en orina y contenido abomasal de vaquillas muertas, aunque no en contenido ruminal; se apreciaron en humor acuoso y contenido abomasal, y menos claros en transudados, obtenidos de fetos. En conclusión se evidencia intoxicación por nitratos en los bovinos lecheros <sup>(17)</sup>.

En el artículo publicado por Sahindokuyucu F. y col. en Turquía (2010) *“Nitratos y nitritos contenidos de algunos vegetales que se consumen en la provincia del sur de Turquía”*, tuvo como objetivo proporcionar una base científica para la evaluación del riesgo para la salud pública derivado de la ingestión dietética excesiva de nitratos en la provincia del sur; siete de cuatro muestras de seis verduras cultivadas en diferentes estaciones se analizaron para el nitrato y el nitrito mediante espectrofotometría ultravioleta. Los niveles promedio de nitrato fueron mayores en el rábano (3,428 g/kg) y lechuga (1,439 g/kg), intermedia en las espinacas (1,132 g/kg), perejil (1,070 g/kg) y menor en la col (0,510 g/kg) y el puerro (0,040 g/kg) en comparación con los de otros vegetales. Los resultados del estudio muestran que el nitrito

contenidos en los vegetales oscilaron entre 0,20 - 28,80 mg kg. De los resultados de los estudios y otra información de fuentes extranjeras, se puede concluir que no es necesario establecer límites de nitratos contenidos de las verduras cultivadas en Turquía debido a la presencia de elementos beneficiosos, tales como ácido ascórbico, tocoferoles, carotenoides y flavonoides que se sabe que inhiben la formación de nitrosamina <sup>(18)</sup>.

En el estudio realizado por González M. y col. (2010) en España, "*Nitrato y Nitrito contenido en los vegetales cultivados orgánicamente*", que tuvo como objetivo determinar el contenido de nitrato y nitrito en hortalizas como acelga, espinaca y col mediante el método de cadmio-Griess las especies obtenidas de una granja orgánica mostraron medias entre  $2,779 \pm 1,475$  g/kg en acelga y espinacas. En el caso de los nitritos en la espinaca, se encontraron medias de  $4,6 \pm 1,0$  mg/kg; en acelga,  $1,2 \pm 0,4$  mg kg. En conclusión en los vegetales cultivados orgánicamente tienden a presentar los valores de nitratos y nitritos elevados <sup>(19)</sup>.

## 2.2. BASES TEÓRICAS

### 2.2.1. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA Y DESCRIPCIÓN DE LAS ESPECIES EN ESTUDIO

- *Beta vulgaris var. cicla*

#### CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA:

Reino	: <i>Plantae</i>
Subreino	: <i>Tracheobionta</i>
División	: <i>Magnoliophyta</i>
Clase	: <i>Magnoliopsida</i>
Subclase	: <i>Caryophyllidae</i>
Orden	: <i>Caryophyllales</i>
Familia	: <i>Quenopodiaceae</i>
Género	: <i>Beta</i>
Especie	: <i>Beta vulgaris</i>
Nombre vulgar	: Acelga

## **DESCRIPCIÓN:**

Es una planta herbácea de tamaño pequeño que llega a desarrollar un tallo compacto a partir del cual emergen las hojas de color verde a través de un peciolo grueso y largo de color blanco. La planta puede alcanzar una altura de 30 a 40 cm.

Requiere de suelos bien preparados, de profundidad baja (de 20 a 30 cm) y abonado. El pH ideal para su crecimiento es de 6,0 - 7,5. Los requerimientos de nitrógeno y potasio son elevados a lo largo de todo el ciclo de cultivo.

Las mejores condiciones ambientales para su crecimiento son los climas entre fríos y cálidos (otoño y primavera, donde la temperatura mínima es de 14 °C y la máxima es de 22 °C).

Requiere de abundante riego durante todo su cultivo, pues una carencia de agua puede producir un sabor amargo en las hojas.

La cosecha empieza aproximadamente a los dos meses y medio desde la siembra cuando las hojas tienen un tamaño mayor a 25 cm, sin embargo, cuando se realiza trasplante se suele retrasar hasta dos semanas más del tiempo original <sup>(20)</sup>.

- ***Spinacia oleracea* L.**

### **CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA:**

Reino	: <i>Plantae</i>
Subreino	: <i>Tracheobionta</i>
División	: <i>Magnoliophyta</i>
Clase	: <i>Angiospermae</i>
Subclase	: <i>Dicotyledone</i>
Orden	: <i>Caryophyllales</i>
Familia	: <i>Chenopodiaceae</i>
Género	: <i>Spinacia</i>
Especie	: <i>Spinacia Oleracea</i>
Nombre vulgar	: Espinaca, espinafre.

### **DESCRIPCIÓN:**

Es una planta herbácea de tamaño pequeño que llega a desarrollar un tallo compacto a partir del cual emergen peciolos de tamaño variable, que terminan en hojas de forma de triangular o de saeta de color

verde oscuro; la planta puede alcanzar una altura de 20 a 40 cm.

Es de clima templado y el mejor producto se obtiene durante las estaciones frescas, la temperatura óptima de desarrollo de esta especie fluctúa entre los 15 y 18 °C. Debido a su ciclo corto, ejerce una alta demanda de nutrientes en un breve periodo de tiempo, y deben encontrarse disponibles para una inmediata asimilación por la planta.

Uno de los principales componentes de las hojas de espinaca corresponde a la calmodulina, por lo cual el aporte de calcio como nutriente juega un rol importante en el crecimiento y desarrollo de éstas. La mayor parte de los organismos responsables de la conversión de amoníaco a nitrato requieren gran cantidad de calcio activo. Como resultado se favorece la nitrificación por adición de cal a un pH de 6,0 o 6,5; como a su vez la descomposición de los residuos de plantas y la degradación de materia orgánica del

suelo son también más rápidas en este orden de pH, comparativamente a pH ácido. El microelemento más activo y más investigado en la espinaca es el boro.

Diversos autores señalan que la fertilización con nitrógeno debe ser preferentemente en forma de nitrato o fertilización orgánica como estiércol y otros <sup>(21)</sup>.

La cosecha empieza aproximadamente al mes y medio desde la siembra en climas con temperaturas ligeramente cálidos, en invierno puede tardar hasta dos semanas más <sup>(22)</sup>.

- ***Lactuca sativa***

**CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA:**

Reino	: <i>Plantae</i>
Subreino	: <i>Tracheobionta</i>
División	: <i>Magnoliophyta</i>
Clase	: <i>Magnoliopsida</i>
Orden	: <i>Asterales</i>
Familia	: <i>Asteraceae</i>
Género	: <i>Lactuca</i>
Especie	: <i>Lactuca sativa</i>
Nombre vulgar	: Lechuga, Lechuga iceberg, Lechuga romana

**DESCRIPCIÓN:**

Es una planta anual y autógama, la raíz no llega nunca a sobrepasar los 25 cm de profundidad, es pivotante, corta y con ramificaciones. Las hojas están colocadas en roseta, desplegadas al principio; en

unos casos siguen así en todo su desarrollo, y en otros se acogollan más tarde. El borde de los limbos puede ser liso, ondulado o aserrado. El Tallo es cilíndrico y ramificado. La inflorescencia son capítulos florales amarillos dispuestos en racimos o corimbos. Las semillas están provistas de vilano plumoso. La textura es crujiente. Las hojas exteriores son de color verde oscuro y las interiores son amarillentas.

Los suelos preferidos por la lechuga son los ligeros, con buen drenaje. Se desarrolla mejor en los climas templados y fríos; la temperatura óptima es de 18 - 20 °C con pH entre 6,7 - 7,4.

El nitrógeno es el nutriente con mayor impacto sobre el rendimiento y la calidad de los cultivos hortícolas, en general además es extremadamente dinámico en el suelo y sufre cambios que incluyen procesos de pérdidas, ganancias y transformaciones. Por otro lado, la salinidad puede inhibir el crecimiento de la planta y reducir la productividad, principalmente

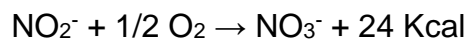
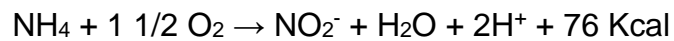
por tres factores: el déficit hídrico, la toxicidad por iones y el desbalance nutricional. El efecto general de la salinidad es reducir la tasa de crecimiento obteniendo hojas más pequeñas, menor altura, y a veces menos hojas; el efecto inicial y primario de la salinidad, especialmente de bajas a moderadas concentraciones, se debe a sus efectos osmóticos <sup>(23)</sup>.

La cosecha puede empezar aproximadamente a los tres meses desde la siembra <sup>(24)</sup>.

### **2.2.2. 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 ( $\text{NO}_3^-$ ) 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 en 1898. A continuación se muestra las ecuaciones de oxidación a nitrito y nitrato:



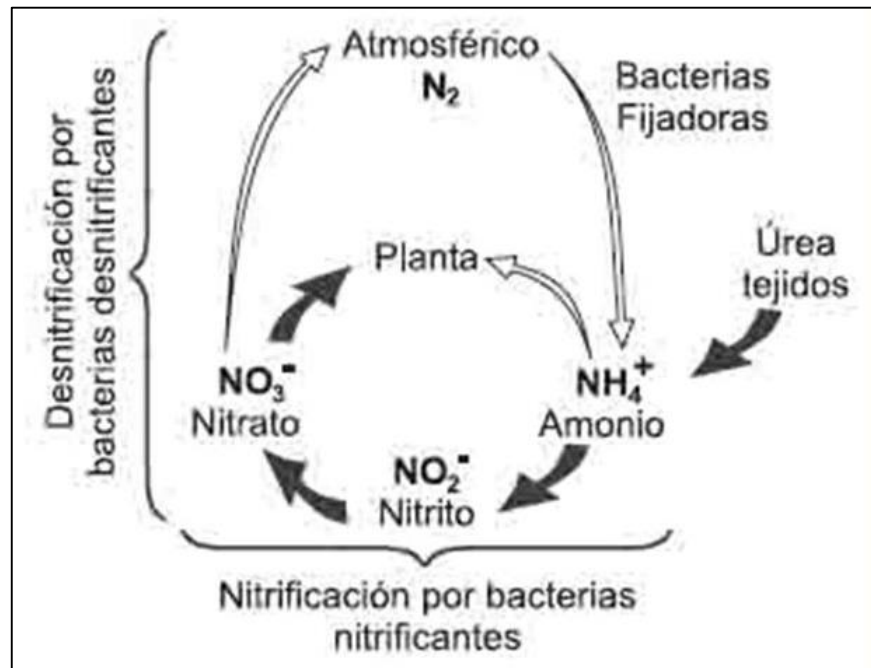
Los nitratos y nitritos son compuestos iónicos que se encuentran en la naturaleza, formando parte del ciclo del nitrógeno. El ion nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) es la forma estable de las estructuras oxidadas del nitrógeno y, a pesar de su baja reactividad química, puede ser reducido por acción microbológica. El ion nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) puede ser reducido originando diversos compuestos. En el ciclo intervienen los aportes derivados de la actividad agrícola e industrial, donde destacan los fertilizantes nitrogenados y orgánicos procedentes del ganado y los propios vertidos orgánicos e

industriales no sometidos a tratamientos adecuados de depuración.

En los suelos, los fertilizantes y vertidos residuales que contienen nitrógeno orgánico son descompuestos para dar en un primer paso a amonio ( $\text{NH}_4^+$ ), que a continuación es oxidado a nitrito y a nitrato. Parte de este último es absorbido por las plantas, que lo emplean en la síntesis de proteínas vegetales, pudiendo el resto pasar a las aguas subterráneas <sup>(25)</sup>.

En la Figura 1, se muestra gráficamente el ciclo del nitrógeno.

Figura 1. Ciclo del nitrógeno.



Fuente: *El ciclo del nitrógeno en ecosistemas agrícolas*. García, F. 1996 <sup>(25)</sup>.

### 2.2.3. EL NITRÓGENO EN LA PLANTA

El nitrógeno inorgánico asimilado por la planta en forma de nitratos, se encuentra de un modo natural en los fluidos celulares y en la savia como precursor de la formación de proteínas. Por otro lado, el nitrato también se encuentra en el agua potable, debido fundamentalmente a la presencia natural de los mismos o a la contaminación de los

suministros de agua, producida por aportes ya mencionados anteriormente. El factor genético tiene gran influencia en la acumulación de nitrato, variando entre especies y dentro de una misma especie lo hace según tipo y variedad <sup>(26)</sup>.

Hay que destacar las importantes diferencias que se encuentran en el contenido de nitrato entre las diferentes partes de una planta. La luz, es un factor fundamental, pues de su intensidad depende la actividad fotosintética; si ésta se reduce, lo hace también la transformación de los nitratos absorbidos en aminoácidos y proteínas. La nutrición es importante porque influye en el desarrollo y composición, por tanto se debe tener en cuenta el nitrógeno disponible en la planta para equilibrar los aportes <sup>(26)</sup>.

#### **2.2.4. FISIOLÓGÍA DE LA ACUMULACIÓN DE NITRATOS EN HORTALIZAS**

El nitrato desempeña un papel importante en la nutrición y actividad de las plantas, las que pueden acumular éste bajo ciertas condiciones de crecimiento y alcanzar

concentraciones elevadas. Las principales fuentes de nitrógeno inorgánico disponible para las plantas son el nitrato y el amonio, siendo el primero, la forma predominante en los suelos bien aireados como consecuencia del proceso de nitrificación bacteriana. Su movimiento desde el suelo hacia la superficie de las raíces es principalmente por flujo masal, por lo que la escasez de agua limita la absorción de este ion.

El nitrato presente en la solución del suelo es absorbido por las raíces y asimilado dentro de las células de la planta en una secuencia de tres pasos: transporte a través de la membrana, reducción de nitrato a nitrito y de nitrito a amonio por la acción consecutiva de la nitrato reductasa (NR) y nitrito reductasa, se produce glutamina y glutamato como primeros compuestos orgánicos que distribuyen nitrógeno a todos los otros metabolitos y macromoléculas que contienen este elemento. Una vez dentro de la raíz el nitrato puede ser transportado hacia el apoplasto, transportado al xilema para su translocación hacia los tallos, reducido a nitrito por la enzima NR o almacenado en la vacuola. Seguidamente a la

translocación a los tallos, el compuesto en estudio debe dejar el xilema y entrar al apoplasto en las hojas para alcanzar el mesófilo de éstas, donde es nuevamente absorbido y reducido a nitrito o almacenado en la vacuola.

Al nitrato se le asignan dos funciones, además de la función específica como fuente de nitrógeno para proteínas y aminoácidos, tiene una función no específica como osmolito vacuolar. En la célula, el compuesto mencionado es distribuido en los pools, el pool metabólico ubicado en el citoplasma e incorporado en proteínas y el pool de almacenamiento ubicado en la vacuola, el cual no está disponible de forma inmediata. Su acumulación en la vacuola depende de la intensidad de la luz y de la disponibilidad de compuestos orgánicos para almacenar. Los ácidos orgánicos y los azúcares juegan un rol importante en la regulación osmótica, ya que además de su función estructural, pueden ser almacenados como tales en la vacuola y como osmolito.

- **Factores que influyen en el contenido de nitratos en hortalizas:**

El contenido de nitratos en plantas viene determinado por el conjunto de factores ambientales y sus interacciones con el organismo vegetal, la edad fisiológica y su dotación genética.

**a) Intensidad de luz solar**

La luz especialmente determina la producción y asimilación de carbohidratos, (generando NADH e induciendo la enzima nitrato reductasa), así como también puede aumentar la salida o entrada del nitrato a la vacuola. A bajas intensidades de luz, la producción de compuestos orgánicos es baja debido a una baja tasa fotosintética y por lo tanto menor cantidad de carbohidratos estarán disponibles para ser almacenados en las vacuolas. El nitrato puede entonces, servir como una alternativa a los carbohidratos. Esto requiere menos gasto energético

porque la absorción, transferencia a través del xilema y almacenamiento del ion en la vacuola no requieren tanta energía derivada de ATP, como lo requiere la producción y acumulación de compuestos orgánicos. La intensidad de la luz es, por lo tanto, un factor clave para determinar la concentración de nitrato en cultivos de hoja, trabajos desarrollados en Europa occidental indican que la diferencia en la intensidad de luz entre meses triplicó las variaciones de la concentración de este ion en lechugas. Cultivos invernales generalmente tienen mayores concentraciones de nitrato que cultivos de veranos y cultivos del norte de Europa <sup>(26)</sup>.

En relación a la intensidad de luz solar considerando el efecto de la altitud en la fisiología del vegetal debe tenerse en cuenta que la radiación solar de onda corta aumenta mientras la altitud es mayor <sup>(27)</sup>.

## **b) Temperatura**

Las lechugas cultivadas hidropónicamente en un estudio llevado a cabo, aumentaban su contenido en nitratos al incrementar la temperatura de la solución nutritiva <sup>(26)</sup>, la temperatura aumenta la transpiración lo que provoca un flujo ascendente de nitratos de la raíz, donde son más abundantes, hacia la parte aérea. Al aumentar la temperatura aumenta la demanda de azúcares con fines respiratorios disminuyendo su biodisponibilidad para fines osmóticos. Asimismo, disminuye la tasa de síntesis de proteínas aumentando la disposición de nitrato susceptible de ser acumulado en las vacuolas.

## **c) Status Hídrico**

La humedad relativa es otro factor, ya que al ser el nitrato también un osmolito, un elemento regulador del status hídrico de la planta, la humedad relativa ambiental afecta su requerimiento para mantener la

turgencia de las hojas, la elevada humedad relativa nocturna disminuye el contenido de nitratos en un 19 %. Los bajos niveles de humedad relativa aumentan la transpiración y con ello el tránsito de nitratos de la raíz a las hojas fotosintetizantes.

#### **d) Factores nutricionales**

Desde el punto de vista de la nutrición nitrogenada se ha de considerar tanto la concentración de nitrógeno en el entorno radicular como la forma química en que se presenta.

El cloro sustituye parcialmente al nitrato en su función osmorreguladora. Un elevado nivel de cloruro en la solución nutritiva disminuía el contenido de nitratos en plantas de lechuga solo cuando la solución contenía amonio. En otro estudio realizado por Dietz K. en Alemania (1989) las espinacas cultivadas en solución nutritiva deficiente en sulfato acumularon más nitrato que las cultivadas en deficiencia de fósforo <sup>(26)</sup>.

### 2.2.5. TOXICOCINÉTICA DE NITRATOS Y NITRITOS

De los nitratos ingeridos, una fracción es absorbida mediante transporte activo en la parte superior del intestino delgado y otra puede ser biotransformada por la microflora en el conducto gastrointestinal. Los nitritos se absorben por difusión a través de la mucosa gástrica y la pared intestinal.

El 25 % de los nitratos absorbidos es parcialmente reciclado a nivel de las glándulas salivares, las que concentran este ion a partir del plasma. La porción excretada en la saliva humana puede ser reducida a nitrito en la boca, su rango de conversión es de 5 - 7 % para los individuos normales y 20 % para los individuos con una alta tasa de conversión. Entonces la reducción oral del nitrato constituye la principal fuente de nitrito para los seres humanos y la mayoría de especies que tienen un mecanismo secretor salival activo <sup>(28)</sup>.

La transformación de nitratos a nitritos se efectúa por la acción de una enzima, la nitrato reductasa, que está

presente en las plantas (como parte integrante de su metabolismo) y en las bacterias. Estas bacterias están justamente presentes en la flora de la cavidad bucal, con un pH comprendido entre 6 y 6,4; favorable a la reacción. Muchas especies de microorganismos presentes en el tracto gastrointestinal tienen también actividad nitrato reductasa, pero esta reducción a nitritos sólo es posible cuando coexisten condiciones patológicas tales como aclorhidria gástrica o algunas enteritis graves que ocasionan el desarrollo de una flora nitrogenada muy activa, con el consiguiente incremento de las concentraciones de nitrito gástrico.

Los nitratos y nitritos son rápidamente distribuidos a través de los tejidos. Una rápida y homogénea distribución del nitrato fue observada en ratas entre 45 y 60 minutos después de ser administrado por sonda, por lo cual, no existen evidencias que demuestren que los nitratos o los nitritos se bioacumulen en algún tejido <sup>(29)</sup>.

Los nitratos no son directamente biotransformados a otros compuestos en humanos, más bien ocurre alguna conversión metabólica del nitrato que aparece en la orina en forma de urea y amoníaco de aproximadamente 3 % de la dosis ingerida <sup>(28)</sup>.

Los nitratos absorbidos son rápidamente excretados por los riñones, por ejemplo en un estudio con ratas, entre el 42 y 90 % de nitratos administrados por sonda gástrica, se excretó en la orina dentro de las ocho horas después de la administración. También en los seres humanos se excreta rápidamente en la orina en un porcentaje cercano al 65 - 70 %, después de la absorción y el equilibrio en los fluidos corporales. Ésta excreción será máxima alrededor de las 5 horas después de su administración y completa luego de 18 horas, con un tiempo de vida media de eliminación de aproximadamente 5 horas <sup>(28)</sup>.

En el año 2002 el comité mixto FAO/OMS de expertos en aditivos alimentarios revisaron los nuevos trabajos sobre toxicocinética de nitritos y nitratos, realizados tanto en seres

humanos como en animales de experimentación. Uno de dichos estudios de toxicocinética de nitrito llevado a cabo en humanos voluntarios que recibieron dosis orales bajas y altas de nitrito de sodio en agua de bebida (0,06 y 0,12 mmol respectivamente por cada mmol de hemoglobina), demostró la rápida absorción gastrointestinal de nitrito de sodio, con concentraciones máximas observadas 15 a 30 minutos después de la administración. El nitrito desapareció rápidamente del plasma, con un tiempo de vida media de eliminación de aproximadamente 30 minutos. La biodisponibilidad de nitrito de sodio es alta. Una dosis intravenosa de este al 0,12 mmol por mmol de hemoglobina, que equivale a 290 - 380 mg por persona induce metahemoglobinemia, con porcentajes máximos de 8,4 - 12 % <sup>(28)</sup>.

En un estudio de conversión del nitrato en nitrito en seres humanos, en el que se administró nitrato de sodio en el agua de bebida en una dosis única de 7,3 mg/kg de peso corporal, expresado como ion nitrato, no se vieron afectadas ni la presión sanguínea, ni la concentración de

metahemoglobina. Sin embargo la concentración de nitrito del jugo gástrico fue de aproximadamente seis veces más alta después de la administración de nitrato combinado con un tratamiento previo con omeprazol de 40 mg/día (que aumentó el pH gástrico) que después de ser administrado sólo (sin omeprazol). El nitrato fue absorbido rápidamente, la concentración en el plasma aumentó a los 10 minutos, y la vida media en plasma fue de alrededor de 6,5 horas. La concentración plasmática de nitritos no cambió después de la administración oral de nitratos. Cerca del 70 % de la dosis fue excretada en la orina luego de 10 horas de su administración y la excreción salival acumulativa de más de 24 horas, expresado como un porcentaje de la dosis de nitrato ingerido, fue de 28 % y alrededor del 8 % del total de este compuesto administrado oralmente se convierte en nitrito en la saliva <sup>(28)</sup>.

#### **2.2.6. TOXICODINÁMICA DE LOS NITRATOS Y NITRITOS**

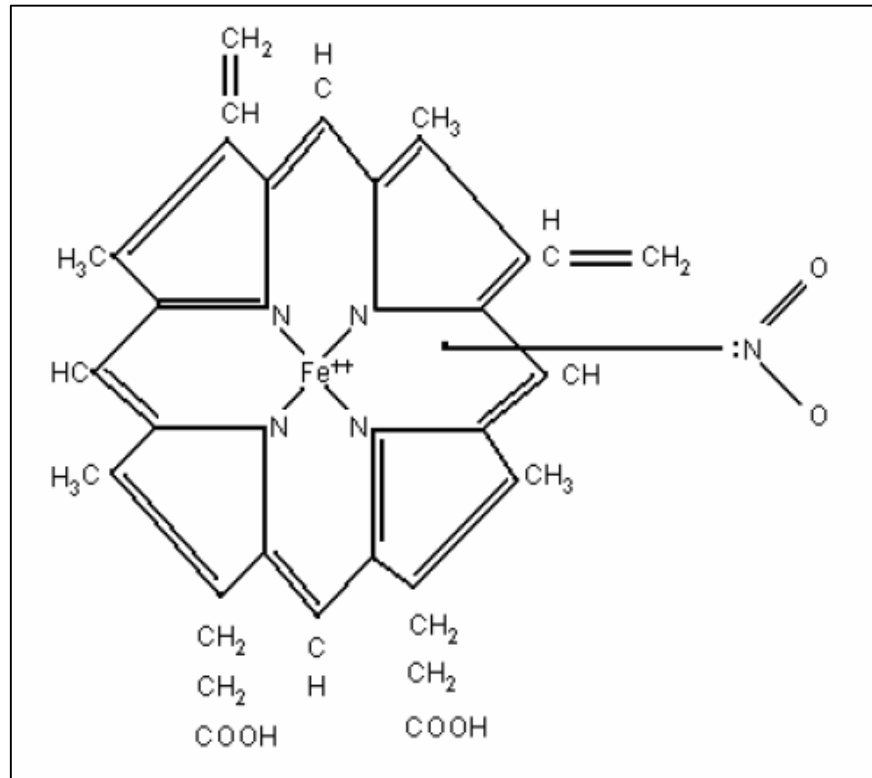
Los estudios epidemiológicos y clínicos en el hombre han demostrado que la principal manifestación tóxica

derivada de la ingestión de nitritos e indirectamente de nitratos, es la metahemoglobinemia <sup>(28)</sup>.

El nitrito absorbido reacciona con la hemoglobina ( $\text{Hb}^{2+}$ ) para formar metahemoglobina ( $\text{Hb}^{3+}$ ). Esta última es la hemoglobina cuyo átomo de hierro ha sido oxidado del estado ferroso al férrico, perdiendo la capacidad de fijar el oxígeno necesario para la respiración tisular.

En la Figura 2, se muestra la acción del nitrito sobre la hemoglobina.

**Figura 2. Acción de nitrito sobre la hemoglobina.**



*Fuente: Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud. García M. 1994 (29).*

Existen varios mecanismos que contrarrestan la oxidación de la hemoglobina, de ellos el más importante es el enzimático, llevado a cabo por dos enzimas: la más importante, la NADH deshidrogenasa I metahemoglobina reductasa y la NADH deshidrogenasa II, la cual constituye un componente de importancia secundaria. Ambas enzimas requieren la formación de NADH en el ciclo glucolítico.

El mecanismo de reducción no enzimático es realizado por sustancias normalmente presentes en la sangre, como el glutatión y el ácido ascórbico. Este mecanismo resulta importante cuando es excedida la capacidad del mecanismo enzimático.

El proceso de formación y reducción de la metahemoglobina en los eritrocitos de los individuos sanos es de carácter continuo. Se puede considerar que el contenido medio de metahemoglobina en poblaciones sanas es inferior al 2 % de la concentración de hemoglobina total, pero se observan valores más elevados en los niños prematuros que en los nacidos a término y en los lactantes más que en los niños mayores y en las mujeres embarazadas.

En general, los síntomas relacionados con esta enfermedad son similares a los asociados con una anemia funcional y la asfixia, pudiendo llegar a ocasionar la muerte. El signo clínico característico de la metahemoglobinemia es

la cianosis que no mejora con el suministro de oxígeno, acompañado de un color achocolatado de la sangre <sup>(28)</sup>.

A partir de concentraciones de aproximadamente 10 % de metahemoglobina, la cianosis pasa a ser perceptible, en tanto que a los niveles de 20 - 50 % ésta se presenta en forma manifiesta, acompañada de síntomas y signos hipóxicos, como debilidad, disnea de esfuerzo, cefalea, taquicardia y pérdida del conocimiento. Aunque no se conoce la concentración letal de metahemoglobina se sabe que puede ocurrir la muerte a niveles superiores al 50 %. El cuadro clínico puede ser agravado por el efecto vasodilatador causado a su vez por los nitritos.

Algunos factores tales como la coexistencia de enfermedades diarreicas agudas, la deficiencia enzimática de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, déficit nutricional o la existencia de hemoglobinopatías, pueden elevar el riesgo de metahemoglobinemia o agravar la evolución de la enfermedad <sup>(29)</sup>. Los riesgos no sólo están vinculados con la concentración ambiental de nitratos, sino también con la

presencia o ausencia de condiciones favorables a su reducción a nitritos, y con factores inherentes al susceptible (28).

### **2.2.7. FORMACIÓN DE COMPUESTOS DE N-NITROSO**

Los compuestos de N-nitroso se encuentran entre los tóxicos, mutágenos y cancerígenos químicos más peligrosos a los que el hombre está expuesto. Éstos se dividen en nitrosaminas y nitrosamidas. Los compuestos de N-nitroso se caracterizan por la presencia del grupo nitroso ( $N=O$ ) unido al átomo de nitrógeno secundario.

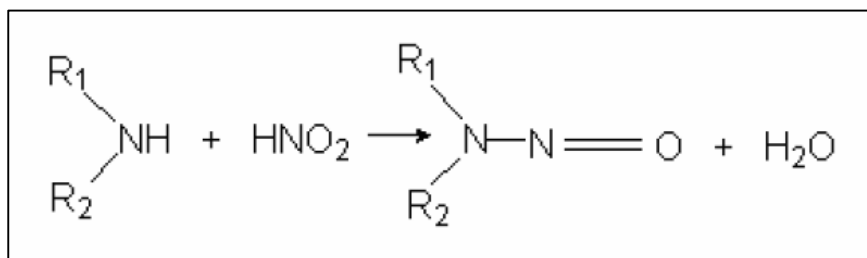
La propiedad química más significativa de los compuestos de N-nitroso es la facilidad de su síntesis a partir de sus precursores. Estos precursores pueden ser:

- Sustratos nitrosables: Como las amidas, aminas secundarias, aminas terciarias, aminas aromáticas, compuestos de amonio, carbamatos, cianamidas, guanidinas, hidracinas, hidroxilaminas, úreas.

- Agentes nitrosantes: Como los óxidos de nitrógeno, nitritos, nitrosaminas. El óxido nítrico (NO) parece ser un pobre agente nitrosante ya que es incapaz de abstraer un átomo de hidrógeno del grupo amino para generar un radical dialquilamonio que se combine con NO.

En la Figura 3, se muestra la formación del compuesto N-nitroso.

**Figura 3. Síntesis de los compuestos de N-nitroso.**



*Fuente: Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud. García M. 1994 (29).*

Los sustratos nitrosables reaccionan con facilidad con los agentes nitrosantes para formar compuestos N-Nitroso estables. La velocidad de la reacción de nitrosación depende en gran medida del pH y de la naturaleza de los precursores. Las nitrosamidas como las N-alkilureas, los N-

alquilcarbamatos y las aminas secundarias de carácter básico débil son nitrosadas mucho más fácilmente que las N-alquilamidas y aminas secundarias fuertemente básicas como la dimetilamina. Estas últimas muestran un pH óptimo para la nitrosación de 3 a 3,4; mientras, que para las amidas este es aún más ácido (aproximadamente pH de 1). La presencia de otras sustancias influye sobre la capacidad y velocidad de nitrosación; los iones tiocianato, haluros y el formaldehído aceleran la reacción; mientras, que el ácido ascórbico, el gálico y los sulfitos muestran un efecto parcialmente inhibidor <sup>(28)</sup>.

En general, la nitrosación puede ocurrir en condiciones ácidas, alcalinas o neutras dependiendo de los reactivos y los catalizadores presentes. Sin embargo, la nitrosación a partir de nitritos sólo ocurre en medio ácido, lo cual tiene particular relevancia para la formación de compuestos de N-nitroso en el estómago, pero se han indicado mecanismos que explican su formación en condiciones neutras e incluso alcalinas, particularmente a partir de dióxido de nitrógeno. Desde edades tempranas, a causa de la ingestión de nitritos

y nitratos, puede ocurrir una formación sistemática de compuestos de N-nitroso en el estómago, aunque no necesariamente elevada. El pH ácido del estómago favorece la formación de las nitrosaminas, la cual depende también de la concentración de las aminas nitrosables y de la concentración de nitrito. La cantidad de compuestos de N-nitroso formados en el estómago puede ser superior para individuos que presentan aclorhidria, ya que se incrementa la presencia y actividad de la microflora bacteriana que a pH ácido no puede proliferar. Algunas bacterias son productoras de enzimas nitrato-reductasas, capaces de reducir cantidades considerables del nitrato ingerido que no sufrió cambios en la boca y con ello provocar una biosíntesis de compuestos de N-nitroso significativamente mayor en el estómago. Aún con el incremento del nitrito disponible, si el medio gástrico no es ácido, no tiene necesariamente que favorecerse la nitrosación; sin embargo, a pH neutro actúa un mecanismo diferente a la catálisis ácida. La catálisis bacteriana puede ser provocada por bacterias desnitrificantes, como la *Pseudomonas aeruginosa*, *Neisseria spp.*, *Alcaligenes faecalis* y *Bacillus licheniformis*, y

no desnitrificantes, como la *E. coli*, capaces de incrementar la biosíntesis de los compuestos de N-nitroso en el estómago. Lo más importante es que el 30 % de las cepas bacterianas del estómago aclorhídrico y el 90 % de las del tracto urinario infestado, poseen enzimas nitrosantes. De esta forma, es comprensible que no sólo en el estómago tenga lugar la biosíntesis de los compuestos de N-nitroso. También ocurre en otras localizaciones infestadas por microorganismos, como el tracto urinario, el hígado, en el cual la infección con el parásito *Opisthorcus viverrini*, incrementa la formación de compuestos de N-nitroso, probablemente catalizada por macrófagos activos, y en la cavidad nasal, donde el virus *Epstein-Barr* parece jugar un papel importante.

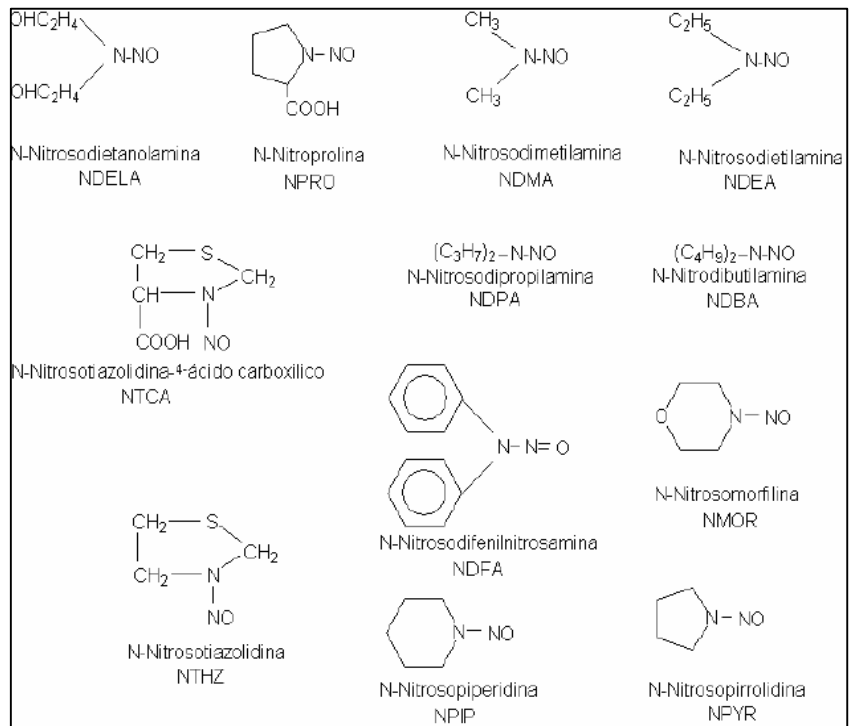
- **NITROSAMINAS**

La exposición de humanos a las nitrosaminas puede ser exógena o endógena. Sin embargo, es muy difícil decidir si la exposición por la formación endógena de los compuestos de N-nitroso tiene una mayor

magnitud que la exposición a los compuestos formados previamente en diversos medios externos.

En la Figura 4, se muestra algunas nitrosaminas importantes.

**Figura 4. Nitrosaminas importantes.**



Fuente: Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud. García M. 1994 <sup>(29)</sup>.

## - TOXICOCINÉTICA DE LAS NITROSAMINAS

Las nitrosaminas se absorben a través de la piel, aunque con menor rapidez y en un porcentaje más bajo que por el tracto gastrointestinal y muy poco a través del estómago. La vejiga también es muy permeable al paso de las nitrosaminas. Tras su absorción, las nitrosaminas se distribuyen por el torrente circulatorio. De la sangre desaparecen prácticamente a las ocho horas. Los compuestos de N-nitroso no se bioacumulan. Las nitrosaminas sufren biotransformación en el organismo.

Las nitrosaminas se excretan antes de las 24 horas, en forma de metabolitos y aductos, fundamentalmente por la orina, aunque se ha indicado su presencia en leche humana y en las heces en mínimas concentraciones. Los porcentajes de excreción de la mayoría de los compuestos de N-nitroso a través de la orina de por sí son muy bajos.

## - TOXICODINÁMICA DE LAS NITROSAMINAS

La toxicidad aguda de los compuestos de N-nitroso varía mucho de acuerdo al tipo de compuesto y a la susceptibilidad de la especie sobre la cual actúan. En el jugo gástrico de los animales de experimentación y en el de los humanos que han ingerido dietas que contienen aminos y nitrito se han encontrado dos nitrosaminas, la dietilnitrosamina (NDELA) y la dimetilnitrosamina (NDMA).

Los efectos agudos de la NDMA sobre el hígado se caracterizan por un incremento en la actividad de la enzima transaminasa glutámico pirúvica sérica, y por cambios microscópicos indicativos de necrosis centrolobular, que se acompañan con ascitis, proliferación de los conductos biliares y hemorragia del tracto gastrointestinal.

En cuanto a la toxicidad crónica, se considera que el principal efecto es la carcinogénesis, para la

cual no se requieren dosis tan altas. De hecho constituye la preocupación central por la exposición a los compuestos de N-nitroso.

Después del descubrimiento de las propiedades carcinogénicas de la NDMA, se ha demostrado que más de 200 compuestos de N-nitroso son cancerígenos en alrededor de 40 especies animales. El grado de susceptibilidad varía con la especie y se observa cierta especificidad en la localización de los tumores de acuerdo al compuesto de N-nitroso o sus precursores administrados. Se ha demostrado la carcinogenicidad de los compuestos de N-nitroso en animales de experimentación. No hay motivo para pensar que el hombre sea una excepción ya que la potencia cancerígena de estos compuestos es tan elevada que las dosis efectivas son bajas y cercanas a las que el hombre está habitualmente expuesto <sup>(29)</sup>.

Las nitrosaminas son muy específicas en sus acciones cancerígenas; por ejemplo, la dimetilnitrosamina es un cancerígeno hepático activo con cierta actividad renal y la bencilmetilnitrosamina es específica del esófago <sup>(29)</sup>.

El papel que juega la acidez del estómago, se corrobora en el hecho de que los pacientes de ciertas enfermedades como anemia perniciosa y gastritis atrófica, así como los sometidos a diferentes operaciones quirúrgicas como gastrectomía parcial, presentan aclorhidria estomacal, mayores niveles de compuestos de N-nitroso y de nitritos en el contenido gástrico y una mayor predisposición a enfermar de este tipo de cáncer. Diversos factores dietéticos modulan la respuesta carcinogénica de los compuestos de N-nitroso. La deficiencia en zinc y vitamina A, y el consumo concomitante de alcohol incrementan los efectos <sup>(29)</sup>.

**Tabla 1. Contenido máximo de nitratos en acelga, espinaca y lechuga establecido por el reglamento (CE) 1881/2006:**

<b>Producto alimenticio</b>	<b>Contenido máximo (g de NO<sub>3</sub>/ kg)</b>	
<b>Espinaca fresca (<i>Spinacia oleracea</i>)</b>	Recolectadas entre el 1 de Octubre y 31 de Marzo	3,000
	Recolectadas entre el 1 de Abril y el 30 de Septiembre	2,500
<b>Espinaca en conserva, congeladas o ultracongeladas</b>		2,000
<b>Lechuga fresca (<i>Lactuca sativa</i>)</b>	Recolectadas entre el 1 de Octubre y 31 de Marzo: cultivadas en invernadero	4,500
	Recolectadas entre el 1 de Octubre y 31 de Marzo: cultivadas al aire libre	4,000
	Recolectadas entre el 1 de Abril y el 30 de Septiembre: cultivadas en invernadero	3,500
	Recolectadas entre el 1 de Abril y el 30 de Septiembre: cultivadas al aire libre	2,500
<b>Lechuga fresca "Iceberg"</b>	Cultivadas en invernadero	2,500
	Cultivadas al aire libre	2,000
<b>Acelga (<i>Beta vulgaris L. var. cicla</i>)</b>	Cultivada al aire libre	2,500

Fuente: Unión Europea 2006 <sup>(31)</sup>.

### 2.2.8. DETERMINACIÓN ANALÍTICA

Diversas metodologías se han utilizado para la determinación de nitratos en especímenes biológicos, aguas, suelos y alimentos. Dentro de estas se encuentran técnicas colorimétricas directas e indirectas luego de la conversión de nitrato a nitrito, fotométricas UV, cromatográficas y electroquímicas. Además de otros como la destilación por arrastre con vapor, colorimetría por nitración con ácido salicílico y potenciometría con electrodo selectivo. Varias de las anteriormente mencionadas presentan deficiencias por falta de sensibilidad o de linealidad, o bien, por escasa reproducibilidad, otras requieren equipamiento complejo y costoso. No hay consenso unánime en la elección del procedimiento más adecuado debido a las distintas interferencias posibles, originadas por cloruros, nitritos y amonio, y a la diferente sensibilidad de cada método <sup>(30)</sup>.

## **CAPÍTULO III**

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. MATERIALES**

##### **3.1.1. Equipos**

- Espectrofotómetro JENWAY de mono haz visible UV rango de longitud de onda 198-1000 nm.
- Balanza analítica marca ADAM PW 124
- Estufa modelo marca SELECTA modelo conterm código 2000210.
- Baño de María.

##### **3.1.2. Reactivos**

- Solución de Hidróxido de sodio 2N.
- Solución de Ácido sulfúrico concentrado.
- Ácido salicílico al 5 %.

- Nitrato de potasio concentrado.

### **3.1.3. Instrumentos**

- Mortero.
- Espátula.
- Gradilla.
- Papel filtro Whatman N° 40.
- Pipetas volumétricas de 1, 2 y 5 ml.
- Matraz o frasco Erlenmeyer de 250 o 300 ml.
- Beaker 50, 100, 250, 500, 1000 ml.
- Frascos de vidrio de 500 ml capacidad.
- Tubos de ensayo.
- Probeta graduada de 10, 25, 50 y 100 ml.

## **3.2. METODOLOGÍA**

### **3.2.1. Lugar de estudio**

El estudio se llevó a cabo en laboratorio de Farmacognosia de la Escuela Profesional de Farmacia y

Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann y fue desarrollado entre los meses de Setiembre y Octubre del 2015.

### **3.2.2. Tipo de diseño de investigación**

- **Tipo de estudio:** Como comprende la descripción, composición de los procesos, interpreta la realidad y se utiliza los conocimientos existentes en la práctica, el presente trabajo es de tipo aplicado.
  
- **Nivel de investigación:** No hay manipulación de variables, estas se observan y se describen tal como se presentan en su ambiente natural, su metodología puede valerse de algunos elementos cuantitativos y cualitativos. Dado ello es una investigación descriptiva y explicativa.
  
- **Diseño de investigación:** Es una investigación descriptiva, no experimental, transversal.

### 3.2.3. UNIDAD DE ESTUDIO

- **POBLACIÓN:** Para el presente trabajo de investigación se ha considerado como población a la producción de *Spinacia olerácea L.*, *Beta vulgaris var. cicla* y *Lactuca sativa* de Pachía, Calana, Pocollay y la Yarada.
- **MUESTRA:** Como muestra se ha considerado a cinco muestras de *Spinacia olerácea L.*, *Beta vulgaris var. cicla* y *Lactuca sativa* de Pachía, Calana, Pocollay y la Yarada, el muestreo es no aleatorio y por conveniencia.

### 3.2.4. RECOLECCIÓN

Las muestras de lechuga, espinaca y acelga (n= 20 para cada especie) fueron recolectadas de las principales zonas productoras de la provincia de Tacna: Pachía, Calana, Pocollay y la Yarada. Se seleccionó la hoja más joven y desarrollada de un total de 60 plantas, las pruebas se realizaron por duplicado.

### **3.2.5. PREPARACIÓN DEL EXTRACTO**

Las hojas fueron limpiadas y lavadas con agua destilada para remover las impurezas, después secarlas a 65 °C en la estufa por 24 h, seguidamente pulverizadas.

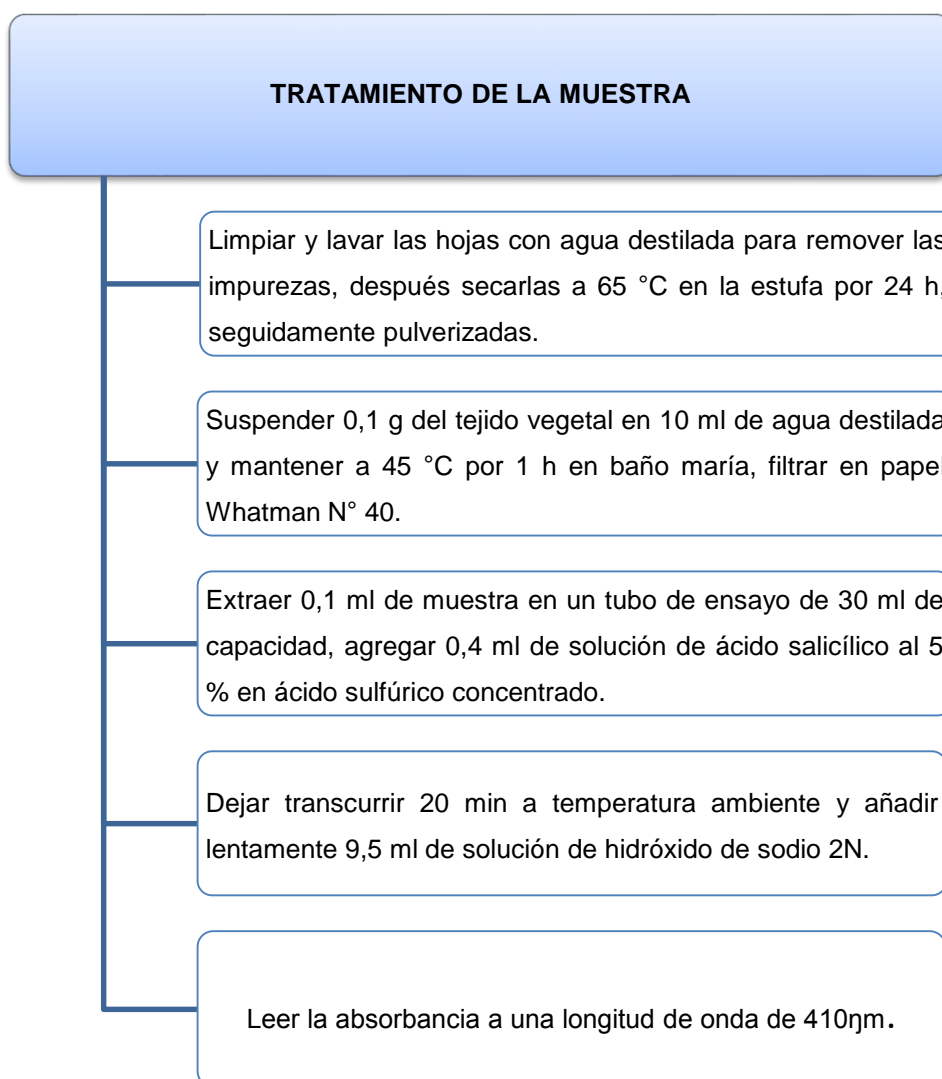
Una porción de 0,1 g de tejido vegetal fue suspendida en 10ml de agua destilada y se mantuvo a 45 °C por 1h en baño maría, luego se filtró en papel Whatman N° 40, las muestras fueron analizadas inmediatamente.

### **3.2.6. DETERMINACIÓN**

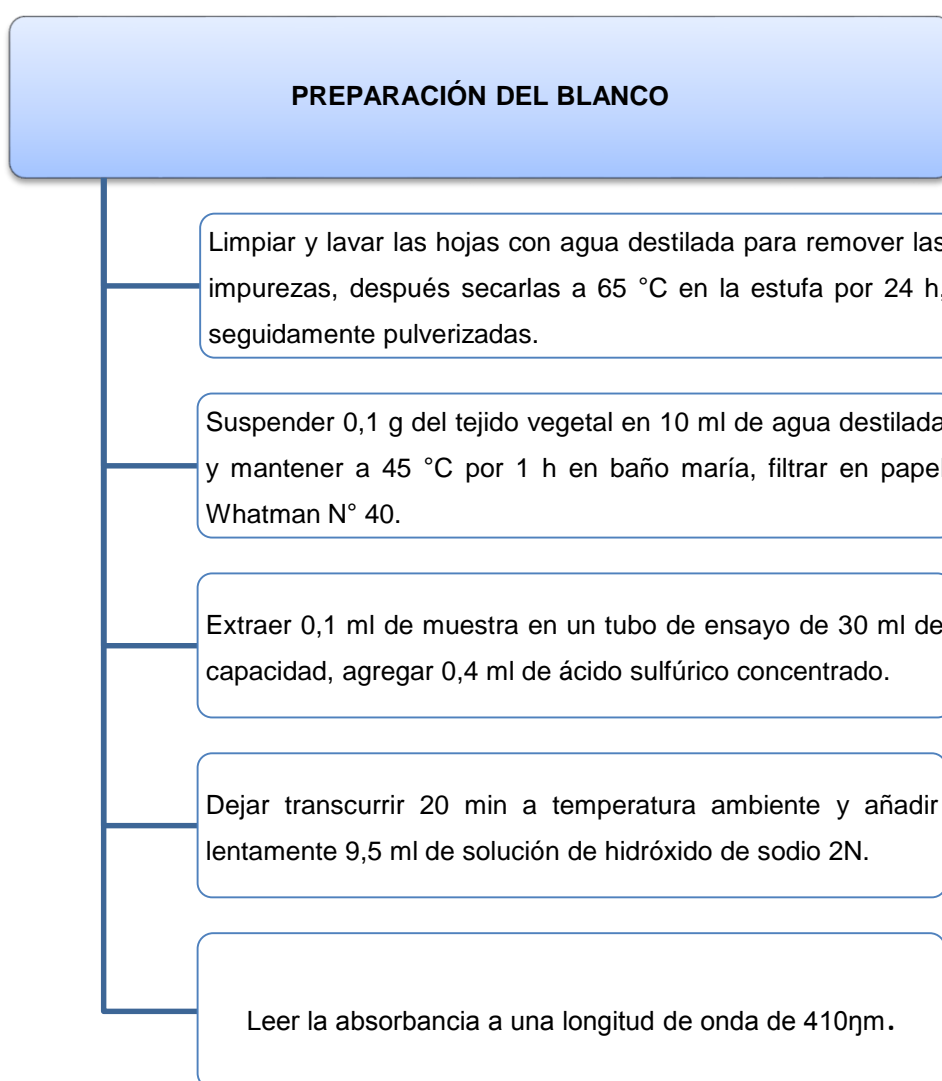
Se determinó por el método de Cataldo, se extrajo 0,1 ml de muestra en un tubo de ensayo de 30 ml de capacidad, se agregó 0,4 ml de solución de ácido salicílico al 5 % en ácido sulfúrico concentrado. Después de transcurridos 20 min a temperatura ambiente, se añadió lentamente 9,5 ml de solución de hidróxido de sodio 2N. Para la determinación del blanco se realizó el mismo procedimiento excepto al agregar solución de ácido salicílico en ácido sulfúrico concentrado, ya que solo se agregó el último.

El complejo formado por nitración de ácido salicílico bajo condiciones fuertemente ácidas presenta máxima absorción a una longitud de onda de 410nm en soluciones básicas (pH > 12). La absorbancia del cromóforo es directamente proporcional a la cantidad de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> presente en la muestra. Los iones NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup> y Cl<sup>-</sup> no interfieren. Se trabaja en tubos de ensayo con muestra y contra muestra, para eliminar el efecto de la absorción provocada por los pigmentos vegetales y así cuantificar la absorbancia del complejo formado.

### Esquema 1. Preparación de las muestras.



## Esquema 2. Preparación del blanco



### 3.2.7. CÁLCULOS

Los nitratos en el tejido de las plantas son expresados en  $\mu\text{g NO}_3^-/\text{g}$  de tejido seco.

$$C_x = \frac{(1D_{388} - 440 - a) \times 1000}{b \times w}$$

Donde:

ID: Medida de la muestra en el espectrofotómetro.

$\alpha$  : Intersección de la curva de calibración.

$b$  : Pendiente de la curva de calibración.

$w$  : Peso del tejido vegetal <sup>(16)</sup>.

### 3.2.8. PROCESAMIENTO ESTADÍSTICO

El presente trabajo de investigación se basó en un estudio descriptivo, todos los datos fueron procesados a través del software estadístico SPSS (Statistical Package for the Social Sciences). Para el análisis estadístico se utilizará

la técnica de análisis de varianza (ANOVA), y para establecer las diferencias medias entre los tratamientos la prueba de Tukey al 0,05.

## **CAPÍTULO IV**

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

#### **4.1. RESULTADOS**

En el presente trabajo de investigación se analizaron 60 plantas (20 de cada especie con una repetición) dando un total de 120 muestras para analizar. Las cuales fueron recolectadas de las principales zonas productoras de la provincia de Tacna: Pachía, Calana, Pocollay y la Yarada.

Los resultados se presentan a continuación por medio de tablas y gráficas.

**Tabla 2. Concentración de nitratos en espinaca comercializada en la provincia de Tacna.**

ESPINACA	CONCENTRACIÓN DE NITRATO (peso del vegetal)		PROMEDIO (g/kg)
	A	B	
01- CALANA	1,801	1,766	1,784
02- CALANA	1,784	1,835	1,810
03- CALANA	1,853	1,991	1,922
04- CALANA	1,507	1,524	1,516
05- CALANA	1,715	1,680	1,698
06- PACHIA	2,043	2,026	2,035
07- PACHIA	1,939	1,974	1,957
08- PACHIA	2,060	2,078	2,069
09- PACHIA	1,974	2,026	2,000
10- PACHIA	2,095	2,147	2,121
11- POCOLLAY	1,628	1,697	1,663
12- POCOLLAY	1,732	1,663	1,698
13- POCOLLAY	2,320	2,320	2,320
14- POCOLLAY	1,870	1,957	1,914
15- POCOLLAY	1,905	1,887	1,896
16- YARADA	2,268	2,337	2,303
17- YARADA	2,648	2,631	2,640
18- YARADA	3,806	3,789	3,798
19- YARADA	2,458	2,475	2,467
20- YARADA	4,411	4,428	4,420

*Fuente: Formato de recolección de datos.*

En la tabla 2, se observa las concentraciones de nitrato en espinaca. Se puede citar la muestra N° 04A de Calana que posee un valor mínimo de 1,507 g de nitrato por kg de peso del vegetal, por otro lado la muestra N° 20B de la Yarada con un valor máximo de 4,428 g de nitrato por kg de peso del vegetal.

**Tabla 3. Concentración de nitratos en acelga comercializada en la provincia de Tacna.**

ACELGA	CONCENTRACIÓN DE NITRATO (peso del vegetal)		PROMEDIO (g/kg)
	A	B	
01- CALANA	2,164	2,147	2,156
02- CALANA	2,233	2,199	2,216
03- CALANA	2,008	2,026	2,017
04- CALANA	3,045	3,011	3,028
05- CALANA	1,922	1,957	1,940
06- PACHIA	2,423	2,406	2,415
07- PACHIA	2,389	2,371	2,380
08- PACHIA	2,078	2,060	2,069
09- PACHIA	2,302	2,285	2,294
10- PACHIA	2,216	2,181	2,199
11-POCOLLAY	1,645	1,680	1,663
12- POCOLLAY	1,974	1,939	1,957
13- POCOLLAY	1,576	1,594	1,585
14- POCOLLAY	2,354	2,336	2,345
15- POCOLLAY	1,991	2,043	2,017
16- YARADA	2,682	2,665	2,674
17- YARADA	2,492	2,475	2,484
18- YARADA	3,581	3,598	3,590
19- YARADA	2,458	2,440	2,449
20- YARADA	4,031	4,013	4,022

*Fuente: Formato de recolección de datos.*

En la tabla 3, se observa los resultados obtenidos de las concentraciones de nitrato en acelga. Se puede mencionar que la muestra N° 13A de Pocollay posee un valor mínimo de 1,576 g de nitrato por kg de peso del vegetal; por otro lado la muestra N° 20A de la Yarada con un valor máximo de 4,031 g de nitrato por kg de peso del vegetal.

**Tabla 4. Concentración de nitratos en lechuga comercializada en la provincia de Tacna.**

LECHUGA	CONCENTRACIÓN DE NITRATO (peso del vegetal)		PROMEDIO (g/kg)
	A	B	
01- CALANA	1,075	1,092	1,084
02- CALANA	1,248	1,265	1,257
03- CALANA	1,369	1,352	1,361
04- CALANA	1,282	1,300	1,291
05- CALANA	1,334	1,317	1,326
06- PACHIA	1,403	1,368	1,386
07- PACHIA	1,144	1,127	1,136
08- PACHIA	1,213	1,231	1,222
09- PACHIA	1,110	1,040	1,075
10- PACHIA	1,196	1,179	1,188
11-POCOLLAY	0,989	1,023	1,006
12- POCOLLAY	1,058	1,006	1,032
13- POCOLLAY	0,971	0,937	0,954
14- POCOLLAY	0,920	0,902	0,911
15- POCOLLAY	0,858	0,885	0,872
16- YARADA	1,559	1,524	1,542
17- YARADA	1,438	1,421	1,430
18- YARADA	1,455	1,473	1,464
19- YARADA	2,250	2,129	2,190
20- YARADA	1,749	1,818	1,784

*Fuente: Formato de recolección de datos.*

En la tabla 4, se observa los resultados obtenidos de las concentraciones de nitrato en lechuga. Se puede citar la muestra N° 15A de Pocollay que posee un valor mínimo de 0,858 g de nitrato por kg de peso del vegetal, por otro lado la muestra N° 19A de la Yarada con un valor máximo de 2,250 g de nitrato por kg de peso del vegetal.

**Tabla 5. Promedio de las concentraciones de nitrato en espinaca.**

ANÁLISIS DEL PROMEDIO	
Media	2,265
Error estándar de la media	0,201
Mediana	1,979
Moda	1,698
Desviación estándar	0,717
Varianza	0,514
Asimetría	2,244
Error estándar de asimetría	0,512
Curtosis	5,026
Error estándar de curtosis	0,992
Rango	2,904
Mínimo	1,516
Máximo	4,420
Suma	44,031

*Fuente: Análisis estadístico SPSS.*

En la tabla 5, se muestra los valores calculados en base a los promedios de las muestras de espinaca de la tabla 2. Donde se observa una media de 2,265, un valor mínimo de 1,516 g y un máximo de 4,420 g de nitrato por cada kg de peso del vegetal, con una desviación estándar de 0,717 que indica la variabilidad entre las concentraciones de nitrato evaluadas.

**Tabla 6. Promedio de las concentraciones de nitrato en acelga.**

ANÁLISIS DEL PROMEDIO	
Media	2,375
Error estándar de la media	0,133
Mediana	2,255
Moda	1,585 <sup>a</sup>
Desviación estándar	0,593
Varianza	0,352
Asimetría	1,520
Error estándar de asimetría	0,512
Curtosis	2,590
Error estándar de curtosis	0,992
Rango	2,437
Mínimo	1,585
Máximo	4,022
Suma	47,495

*Fuente: Análisis estadístico SPSS.*

En la tabla 6, se muestra los valores calculados en base a los promedios de las muestras de acelga de la tabla 3. Donde se observa una media de 2,375, un valor mínimo de 1,585 g y un máximo de 4,022 g de nitrato por cada kg de peso del vegetal, con una desviación estándar de 0,593 que indica la variabilidad entre las concentraciones de nitrato evaluadas.

**Tabla 7. Promedio de las concentraciones de nitrato en lechuga.**

ANÁLISIS DEL PROMEDIO	
Media	1,276
Error estándar de la media	0,070
Mediana	1,239
Moda	0,872 <sup>a</sup>
Desviación estándar	0,315
Varianza	0,099
Asimetría	1,360
Error estándar de asimetría	0,512
Curtosis	2,623
Error estándar de curtosis	0,992
Rango	1,318
Mínimo	0,872
Máximo	2,190
Suma	25,511

*Fuente: Análisis estadístico SPSS.*

En la tabla 7, se muestra los valores calculados en base a los promedios de las muestras de lechuga de la tabla N° 04. Donde se observa una media de 1,276, un valor mínimo de 0,872 g y un máximo de 2,190 g de nitrato por cada kg de peso del vegetal, con una desviación estándar de 0,315 que indica la variabilidad entre las concentraciones de nitrato evaluadas.

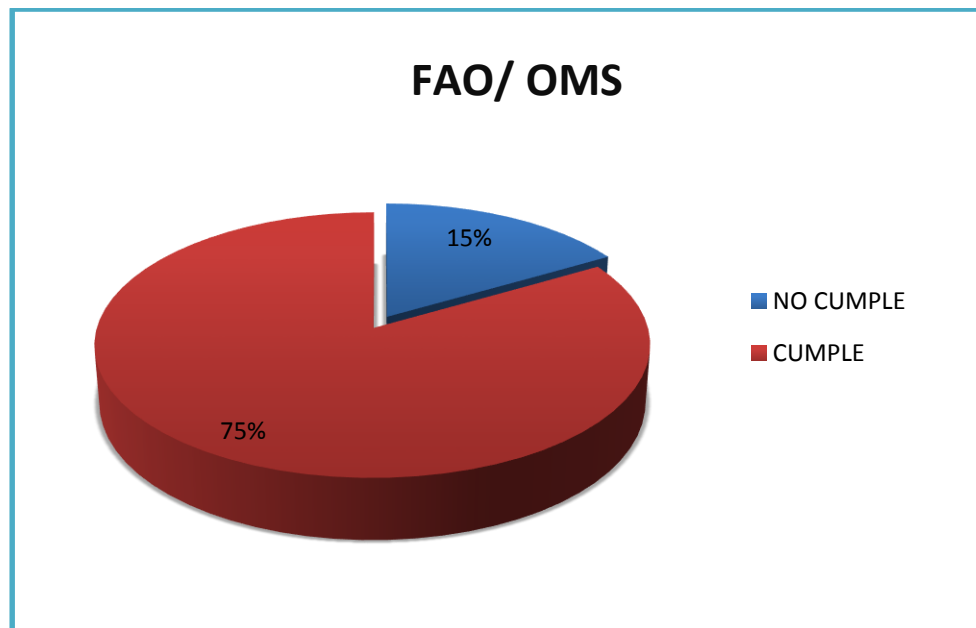
**Tabla 8. Concentraciones promedio de nitrato en espinacas contrastados con los límites máximos permitidos según la OMS/FAO.**

MUESTRAS	CONCENTRACIÓN PROMEDIO (g/kg de peso del vegetal)	LMP de nitrato por la OMS/FAO	OBSERVACIÓN
01- CALANA	1,784	2,500	CUMPLE
02- CALANA	1,810	2,500	CUMPLE
03- CALANA	1,922	2,500	CUMPLE
04- CALANA	1,516	2,500	CUMPLE
05- CALANA	1,698	2,500	CUMPLE
06- PACHIA	2,035	2,500	CUMPLE
07- PACHIA	1,957	2,500	CUMPLE
08- PACHIA	2,069	2,500	CUMPLE
09- PACHIA	2,000	2,500	CUMPLE
10- PACHIA	2,121	2,500	CUMPLE
11- POCOLLAY	1,663	2,500	CUMPLE
12- POCOLLAY	1,698	2,500	CUMPLE
13- POCOLLAY	2,320	2,500	CUMPLE
14- POCOLLAY	1,914	2,500	CUMPLE
15- POCOLLAY	1,896	2,500	CUMPLE
16- YARADA	2,303	2,500	CUMPLE
17- YARADA	4,420	2,500	NO CUMPLE
18- YARADA	3,789	2,500	NO CUMPLE
19- YARADA	2,467	2,500	CUMPLE
20- YARADA	2,640	2,500	NO CUMPLE

*Fuente: Tabla 2.*

En la tabla 8, se contrasta los valores promedio obtenidos con los delimitados por la OMS/FAO, observándose que las muestras N° 17, 18 y 20 pertenecientes al distrito la Yarada sobrepasan el rango establecido por la OMS/FAO.

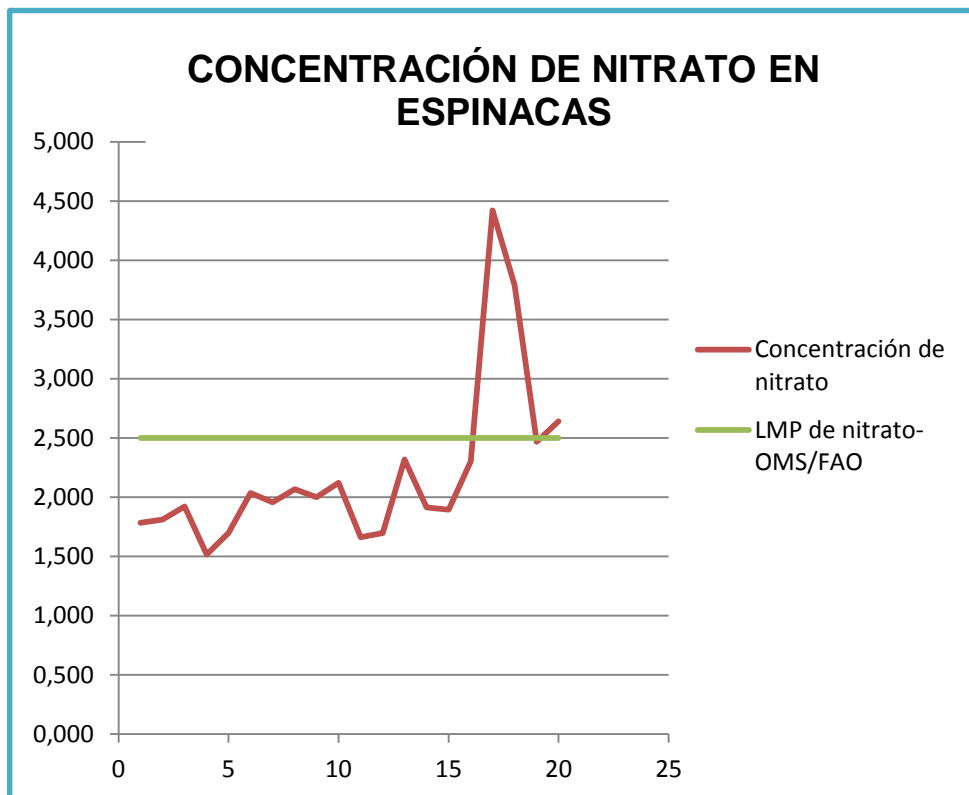
**Gráfico 1. Muestras de espinaca que no cumplen con los límites máximos permitidos, según la OMS/FAO.**



*Fuente: Tabla 8.*

En el gráfico 1, se observa que el 15 % de las muestras analizadas no cumplen con los LMP de nitrato determinado por la FAO/ OMS; sin embargo el 75 % si cumple por lo que se hallan dentro del rango permitido.

**Gráfico 2. Concentraciones de nitrato en espinaca según la OMS/FAO.**



*Fuente: Tabla 8.*

En el gráfico 2, se aprecia las concentraciones de nitrato en las muestras sometidas a estudio y el LMP para el caso, donde 03 muestras se encuentran por encima del valor establecido por la FAO/OMS.

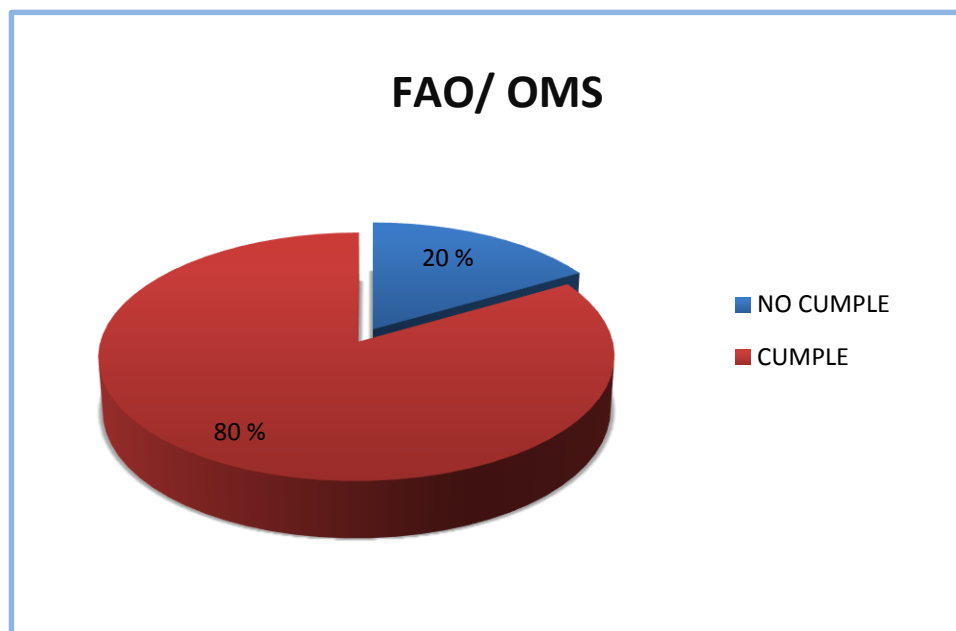
**Tabla 9. Concentraciones promedio de nitrato en acelgas contrastados con los límites máximos permitidos según la OMS/FAO.**

MUESTRAS	CONCENTRACIÓN PROMEDIO (g/kg de peso del vegetal)	LMP de nitrato por la OMS/FAO	OBSERVACIÓN
01- CALANA	2,156	2,500	CUMPLE
02- CALANA	2,216	2,500	CUMPLE
03- CALANA	2,017	2,500	CUMPLE
04- CALANA	3,028	2,500	NO CUMPLE
05- CALANA	1,940	2,500	CUMPLE
06- PACHIA	2,415	2,500	CUMPLE
07- PACHIA	2,380	2,500	CUMPLE
08- PACHIA	2,069	2,500	CUMPLE
09- PACHIA	2,294	2,500	CUMPLE
10- PACHIA	2,199	2,500	CUMPLE
11- POCOLLAY	1,663	2,500	CUMPLE
12- POCOLLAY	1,957	2,500	CUMPLE
13- POCOLLAY	1,585	2,500	CUMPLE
14- POCOLLAY	2,345	2,500	CUMPLE
15- POCOLLAY	2,017	2,500	CUMPLE
16- YARADA	2,674	2,500	NO CUMPLE
17- YARADA	2,484	2,500	CUMPLE
18- YARADA	3,590	2,500	NO CUMPLE
19- YARADA	2,449	2,500	CUMPLE
20- YARADA	4,022	2,500	NO CUMPLE

*Fuente: Tabla 3.*

En la tabla 9, se contrasta los valores promedio obtenidos con los delimitados por la OMS/FAO, observándose que las muestras N° 04, 16, 18 y 20 pertenecientes a los distritos de Calana y la Yarada sobrepasan el rango establecido por la OMS/FAO.

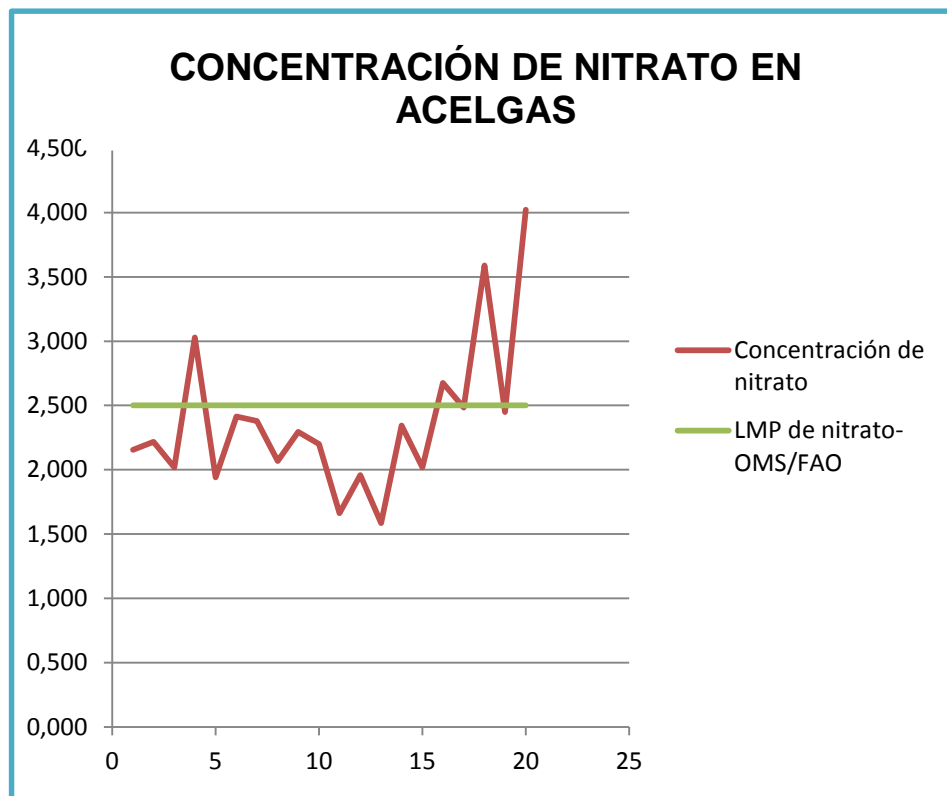
**Gráfico 3. Muestras de acelga que no cumplen con los límites máximos permitidos, según la OMS/FAO.**



*Fuente: Tabla 9.*

En el gráfico 3, se observa que el 20 % de las muestras analizadas no cumplen con los LMP de nitrato determinado por la FAO/ OMS; sin embargo el 80 % si cumple por lo que se hallan dentro del rango permitido.

**Gráfico 4. Concentraciones de nitrato en acelga según la OMS/FAO.**



*Fuente: Tabla 9.*

En el gráfico 4, se aprecia las concentraciones de nitrato en las muestras sometidas a estudio y el LMP para el caso, donde 04 muestras se encuentran por encima del valor establecido por la FAO/OMS.

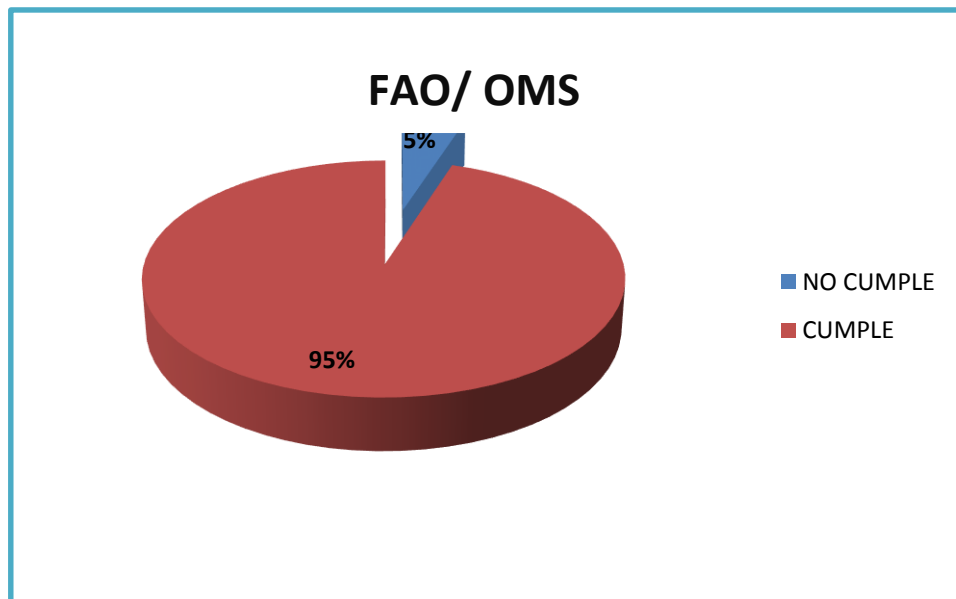
**Tabla 10. Concentraciones promedio de nitrato en lechuga contrastados con los límites máximos permitidos según la OMS/FAO.**

MUESTRAS	CONCENTRACIÓN PROMEDIO (g/kg de peso del vegetal)	LMP de nitrato por la OMS/FAO	OBSERVACIÓN
01- CALANA	1,084	2,000	CUMPLE
02- CALANA	1,257	2,000	CUMPLE
03- CALANA	1,361	2,000	CUMPLE
04- CALANA	1,291	2,000	CUMPLE
05- CALANA	1,326	2,000	CUMPLE
06- PACHIA	1,386	2,000	CUMPLE
07- PACHIA	1,136	2,000	CUMPLE
08- PACHIA	1,222	2,000	CUMPLE
09- PACHIA	1,075	2,000	CUMPLE
10- PACHIA	1,188	2,000	CUMPLE
11- POCOLLAY	1,006	2,000	CUMPLE
12- POCOLLAY	1,032	2,000	CUMPLE
13- POCOLLAY	0,954	2,000	CUMPLE
14- POCOLLAY	0,911	2,000	CUMPLE
15- POCOLLAY	0,872	2,000	CUMPLE
16- YARADA	1,542	2,000	CUMPLE
17- YARADA	1,430	2,000	CUMPLE
18- YARADA	1,464	2,000	CUMPLE
19- YARADA	2,190	2,000	NO CUMPLE
20- YARADA	1,784	2,000	CUMPLE

*Fuente: Tabla 4*

En la tabla 10, se contrasta los valores promedio obtenidos con los delimitados por la OMS/FAO, observándose que la muestra N° 19 perteneciente al distrito la Yarada sobrepasa el rango establecido por la OMS/FAO.

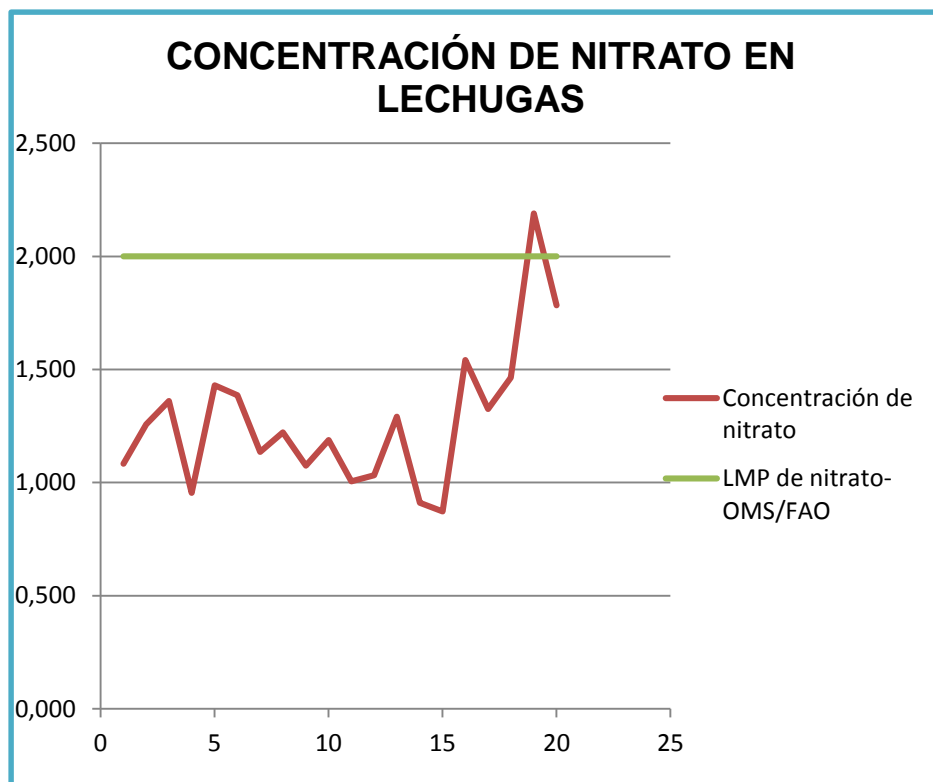
**Gráfico 5. Muestras de lechuga que no cumplen con los límites máximos permitidos, según la OMS/FAO.**



*Fuente: Tabla 10.*

En el gráfico 5, se observa que el 5 % de las muestras analizadas no cumplen con los LMP de nitrato determinado por la FAO/ OMS; sin embargo el 95 % si cumple por lo que se hallan dentro del rango permitido.

**Gráfico 6. Concentraciones de nitrato en lechuga según la OMS/FAO.**



*Fuente: Tabla 10.*

En el gráfico 6, se aprecia las concentraciones de nitrato en las muestras sometidas a estudio y el LMP para el caso, donde una muestra se encuentra por encima del valor establecido por la FAO/OMS.

#### 4.1.1. PRUEBA DE HIPÓTESIS

Primero se verificó la normalidad de los datos con la prueba de Shapiro-Wilk, seguidamente se aplicó la prueba de ANOVA haciendo uso del programa SPSS. Correspondiendo a:

Hipótesis nula o  $H_0$ : La distribución de las concentraciones de nitrato en los vegetales es normal.

Hipótesis alternativa o  $H_a$ : La distribución de las concentraciones de nitrato en los vegetales no es normal.

Los valores menores o iguales a  $W_t$  con un alfa de 0,05, nos hace rechazar la hipótesis nula. En cambio los valores mayores a  $W_t$  con un alfa de 0.05, nos hace aceptarla.

**Tabla 11. Distribución de las concentraciones de nitrato en espinaca según la prueba de normalidad.**

Pruebas de normalidad				
Procedencia		Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
<b>Concentración de nitratos</b>	Calana	0,961	5	0,814
	Pachía	0,996	5	0,996
	Pocollay	0,873	5	0,280
	Yarada	0,860	5	0,228

Fuente: Tabla 2.

- **Interpretación:** En la tabla 11, observamos un valor estadístico  $W_t$  para las muestras de Calana igual a 0,961 con una probabilidad asociada de 0,814. Aplicando la siguiente regla de decisión:

Si  $p_{SPSS} > \alpha$ , Aceptamos  $H_0$ .

Si  $p_{SPSS} \leq \alpha$ , Rechazamos  $H_0$ .

Entonces tenemos que  $0,814 > \alpha = 0,05$ ; por lo tanto, aceptamos la hipótesis nula, al igual que en el resto de los casos, la distribución de las concentraciones de nitrato en vegetales es normal. Existiendo evidencia estadística por lo tanto, para afirmar que los datos de las muestras se distribuyen de manera normal y se puede asumir que

cumple el supuesto de normalidad y que se puede proceder a analizar los datos con estadística paramétrica.

**Tabla 12. Distribución de las concentraciones de nitrato en acelga según la prueba de normalidad.**

Pruebas de normalidad				
Procedencia		Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
<b>Concentración de nitratos</b>	Calana	0,779	5	0,054
	Pachía	0,946	5	0,708
	Pocollay	0,944	5	0,693
	Yarada	0,836	5	0,155

Fuente: Tabla 3.

- **Interpretación:** En la tabla 12, observamos un valor estadístico  $W_i$  para las muestras de Calana igual a 0,779 con una probabilidad asociada de 0,054. Aplicando la siguiente regla de decisión:

Si  $p_{SPSS} > \alpha$ , Aceptamos  $H_0$ .

Si  $p_{SPSS} \leq \alpha$ , Rechazamos  $H_0$ .

Entonces tenemos que  $0,054 > \alpha = 0,05$ ; por lo tanto, aceptamos la hipótesis nula, al igual que en el resto de los casos, la distribución de las concentraciones de nitrato en vegetales es normal. Existiendo evidencia estadística por lo tanto, para afirmar que los datos de las muestras se

distribuyen de manera normal y se puede asumir que cumple el supuesto de normalidad y que se puede proceder a analizar los datos con estadística paramétrica.

**Tabla 13. Distribución de las concentraciones de nitrato en lechuga según la prueba de normalidad.**

Pruebas de normalidad				
Procedencia		Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
<b>Concentración de nitratos</b>	Calana	0,950	5	0,738
	Pachia	0,942	5	0,679
	Pocollay	0,880	5	0,311
	Yarada	0,922	5	0,545

Fuente: Tabla 4.

- **Interpretación:** En la tabla 13, observamos un valor estadístico  $W_t$  para las muestras de Calana igual a 0,950 con una probabilidad asociada de 0,738. Aplicando la siguiente regla de decisión:

Si  $p_{SPSS} > \alpha$ , Aceptamos  $H_0$ .

Si  $p_{SPSS} \leq \alpha$ , Rechazamos  $H_0$ .

Entonces tenemos que  $0,738 > \alpha = 0,05$ ; por lo tanto, aceptamos la hipótesis nula, al igual que en el resto de los casos, la distribución de las concentraciones de nitrato en vegetales es normal. Existiendo evidencia estadística por lo tanto, para afirmar que los datos de las muestras se distribuyen de manera normal y se puede asumir que cumple

el supuesto de normalidad y que se puede proceder a analizar los datos con estadística paramétrica.

#### **4.1.2. ANÁLISIS DE LA VARIANZA (ANOVA)**

Es una prueba utilizada en los análisis de los datos para contrastar más de dos medias. ANOVA evalúa la importancia de uno o más factores al comparar las medias de la variable de respuesta en los diferentes niveles de los factores. Básicamente es un procedimiento que permite dividir la varianza de la variable dependiente en dos o más componentes, cada una de los cuales puede ser atribuida a una fuente sea variable o factor identificable con un margen de error delimitado por un nivel de significación.

**Tabla 14. Concentraciones de nitrato en espinaca según análisis de varianza.**

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
<b>Entre grupos</b>	4,903	3	1,968	8,167	0,002
<b>Dentro de grupos</b>	3,855	16	0,241		
<b>Total</b>	9,758	19			

*Fuente: Tabla 2.*

- **Interpretación:** Para los valores obtenidos con la prueba ANOVA se plantea lo siguiente:

Hipótesis nula o  $H_0$ : No existe diferencia estadísticamente significativa entre las concentraciones de nitrato en espinacas evaluadas.

Hipótesis alternativa o  $H_a$ : Existe diferencia estadísticamente significativa entre las concentraciones de nitrato en espinacas evaluadas.

Se aplica la siguiente regla; si  $p > \alpha$ , aceptamos  $H_0$  y si  $p \leq \alpha$ , rechazamos la anterior. Siendo el valor de alfa es igual a 0,05.

En este caso  $0,002 < 0,05$ ; como el resultado observado es menor que el nivel de significancia establecido, se rechaza la hipótesis nula. Por consiguiente, aceptamos la hipótesis alternativa, lo cual conlleva a que existe diferencia estadísticamente significativa entre las concentraciones de nitrato en las espinacas evaluadas.

**Tabla 15. Concentraciones de nitrato en acelga según análisis de varianza.**

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
<b>Entre grupos</b>	3,409	3	1,136	5,556	0,008
<b>Dentro de grupos</b>	3,272	16	0,204		
<b>Total</b>	6,680	19			

*Fuente: Tabla 3.*

- **Interpretación:** Para los valores obtenidos con la prueba ANOVA se plantea lo siguiente:

Hipótesis nula o  $H_0$ : No existe diferencia estadísticamente significativa entre las concentraciones de nitrato en espinacas evaluadas.

Hipótesis alternativa o  $H_a$ : Existe diferencia estadísticamente significativa entre las concentraciones de nitrato en espinacas evaluadas.

Se aplica la siguiente regla; si  $p > \alpha$ , aceptamos  $H_0$  y si  $p \leq \alpha$ , rechazamos la anterior. Siendo el valor de alfa es igual a 0,05.

En este caso  $0,008 < 0,05$ ; como el resultado observado es menor que el nivel de significancia establecido, se rechaza la hipótesis nula. Por consiguiente, aceptamos la hipótesis alternativa, lo cual conlleva a que existe diferencia estadísticamente significativa entre las concentraciones de nitrato en las acelgas evaluadas.

**Tabla 16. Concentraciones de nitrato en lechuga según análisis de varianza.**

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
<b>Entre grupos</b>	1,109	3	0,370	7,607	0,002
<b>Dentro de grupos</b>	0,777	16	0,049		
<b>Total</b>	1,886	19			

*Fuente: Tabla 4.*

- **Interpretación:** Para los valores obtenidos con la prueba ANOVA se plantea lo siguiente:

Hipótesis nula o  $H_0$ : No existe diferencia estadísticamente significativa entre las concentraciones de nitrato en lechugas evaluadas.

Hipótesis alternativa o  $H_a$ : Existe diferencia estadísticamente significativa entre las concentraciones de nitrato en lechugas evaluadas.

Se aplica la siguiente regla; si  $p > \alpha$ , aceptamos  $H_0$  y si  $p \leq \alpha$ , rechazamos la anterior. Siendo el valor de alfa es igual a 0,05.

En este caso  $0,002 < 0,05$ ; como el resultado observado es menor que el nivel de significancia establecido, se rechaza la hipótesis nula. Por consiguiente, aceptamos la hipótesis alternativa, lo cual conlleva a que existe diferencia estadísticamente significativa entre las concentraciones de nitrato en las lechugas evaluadas.

## 4.2. DISCUSIÓN

El presente trabajo de investigación propone la necesidad de evaluar la concentración de nitrato en acelgas, espinacas y lechugas en la provincia de Tacna, debido a que estos alimentos son de amplio consumo en nuestra ciudad, para lo cual se evaluaron 20 plantas de cada una de las tres especies.

Los vegetales como las acelgas, espinacas y lechugas pueden acumular considerables niveles de nitratos en sus partes verdes por factores, como son los residuos orgánicos que se encuentran en los suelos agrícolas de cultivo, excesivo uso de fertilizantes, al agua de riego y debido al factor genético, el cual les brinda cierta ventaja de acumulación a algunos vegetales como los mencionados en comparación a otras especies <sup>(1)</sup>.

En los resultados obtenidos que se muestran en las tablas 2, 3 y 4 se detalla las concentraciones de nitratos hallados en las muestras estudiadas. Estos valores se compararon con los límites máximos establecidos por la FAO/OMS que resuelve una concentración máxima de nitratos por kilogramos de vegetal de

2,000 g en lechuga y 2,500 g en espinaca <sup>(31)</sup>, si bien es cierto no hay un límite máximo establecido aún para las acelgas por la legislación vigente; se tomó como referencia el promedio obtenido de un estudio realizado por la Organización de Consumidores y Usuarios de España (OCU) en el año 2003 <sup>(32)</sup> que corresponde a 2,500 g.

En las tablas 8, 9 y 10 se evidencia relativamente, que tres muestras de espinaca, cuatro de acelga y una de lechuga superan el límite máximo permitido por la FAO/OMS. Las altas concentraciones de nitratos en las muestras puede deberse a varios factores como al aporte de excesiva cantidad de fertilizante, al agua de riego, si analizamos este punto, la mayoría de las muestras que poseen cantidades elevadas de nitratos proceden del distrito de la Yarada, donde los cultivos son regados con agua de pozos subterráneos, y se sabe que los fertilizantes en las regiones de siembra intensiva aportan grandes cantidades de nitratos a los suelos, que luego son liberados al agua subterránea. Según un estudio realizado en los pozos de la Yarada llevado a cabo por el Proyecto Especial Tacna en el año 2006, se encontró en varios pozos de agua de ese distrito, contenidos de nitrato

alrededor de 10 mg/L <sup>(33)</sup>, los que aportarían una cantidad extra de nitrato a los vegetales cultivados con este medio de riego.

Por otro lado, se hace referencia a la altitud a la que se encuentra la Yarada, que está aproximadamente a 550 m.s.n.m. mientras que los otros puntos de muestreo como Pocollay a 678 m.s.n.m., Calana a 904 m.s.n.m. y Pachía a 1100 m.s.n.m. <sup>(34)</sup>, por lo tanto la intensidad de luz solar no es la misma en las zonas de muestreo, considerando el efecto de la altitud en la fisiología vegetal, se tiene en cuenta que la radiación solar de onda corta aumenta mientras la altitud es mayor <sup>(27)</sup> y la luz determina la producción de compuestos orgánicos a partir de los inorgánicos como son los nitratos, debido a una alta tasa fotosintética. La intensidad de la luz es entonces, un factor clave para determinar la concentración de nitrato en cultivos de hoja <sup>(26)</sup>, según esta información las muestras de la Yarada al encontrarse a menor altitud utilizarían menos nitrato de su reserva por lo que lo acumularían principalmente en sus hojas. Es importante mencionar que en Kingston, Jamaica, el alto contenido de nitratos forzó a las autoridades a abandonar más del 50 % de sus fuentes subterráneas de agua potable (1991). Por otra parte, en el Gran

Buenos Aires, que incluye la capital de Argentina, existen poblaciones en sus alrededores que dependen de fuentes subterráneas de agua con alto contenido de nitratos, lo cual representa un riesgo para la salud según Miguel Auge (2004) <sup>(7)</sup>.

Resulta difícil estimar un promedio de ingesta diaria de nitratos, debido a que básicamente ésta depende de la dieta individual, siendo las principales fuentes los vegetales, el agua y las carnes rojas. La ingesta total de nitratos de los alimentos oscila normalmente entre 50 y 150 mg por persona al día; sin embargo, las dietas vegetarianas presentan un valor más elevado, del orden de 200 mg por persona al día, variando en función del tipo de verduras que consumen.

En la tabla 2, el 75 % de las muestras de espinacas evaluadas presentó concentraciones de nitratos entre 1,507 g y 2,475 g; el 15 % entre 2,631 g y 4,420 g. En el caso de las acelgas que se muestra en la tabla 3, el 80 % de los valores se encontraban en un rango entre 1,576 g y 2,492 g; el 20 % entre 2,665 g y 4,031 g. Por último, en la tabla 4 que hace referencia a las lechugas, el 95 % presentaron concentraciones entre 0,858 g

y 1,818 g; mientras que el 5 % entre 2,129 g y 2,250 g. Los anteriores son expresados por kg de vegetal.

Es preciso señalar la importancia de los valores encontrados, donde algunos sobrepasan los límites establecidos por la FAO/OMS; esto podría desencadenar diversos trastornos y problemas de salud, uno de ellos es la metahemoglobinemia; existen casos reportados de intoxicación por nitritos en niños que ingirieron acelgas con alto contenido de nitrato en España (2007), descrito por Vega A. <sup>(37)</sup>. Además se reportaron dos casos de “síndrome del niño azul” en Wisconsin (Estados Unidos, 1992), en una investigación realizada por Knobeloch L. del Departamento de Salud y Servicios Sociales de Wisconsin, que involucraba a infantes que habían enfermado después de ser alimentados con fórmula reconstituida con agua extraída de pozos privados, agua que fue evaluada encontrándose concentraciones de nitrato de 22,9 a 27,4 mg/L.

En la tabla 5, respecto al promedio de las concentraciones de nitrato en espinaca, se observa una desviación estándar de 0,717 que denota moderada variabilidad entre los promedios de

las concentraciones de las diferentes espinacas estudiadas; en la tabla 6, en este caso las acelgas de igual forma con un valor de 0,593 y en la tabla 7, que hace referencia a las lechugas, con menor variabilidad, de 0,315. De estas tres mencionadas, las dos primeras presentan mayor variabilidad respecto a la última. Esta variabilidad corresponde a las diferencias halladas entre las concentraciones de los ejemplares de un punto de muestreo respecto a otro, lo mismo sucedería con las lechugas, pero como en éstas solo una de ellas excedió el límite máximo permitido se acorta la brecha de variabilidad en relación entre ellas y no se muestra similar diferencia como en los anteriores mencionados; las espinacas y acelgas tienen mayor capacidad de acumular nitratos en comparación a las lechugas <sup>(38)</sup>, es por ello que el LMP en ellas es menor.

La OMS/FAO fija como ingesta diaria admisible de nitratos 3,7 mg por kg de peso corporal, analizando esto en base a los resultados encontrados, la ingesta de 100 g de alguno de estos vegetales con concentraciones de nitrato mayores a 2,500 g/kg, generaría una ingesta de 250 mg de  $\text{NO}_3^-$ . Al consumir únicamente éste, para una persona de 60 kg excedería la IDA por

13 %. Calculando como conversión parcial de nitrato a nitrito (5 %) después del consumo, excedería en 247 % la IDA <sup>(35)</sup>.

Valores que excedieron también los permitidos por la FAO/OMS fueron reportados en el estudio *“Nitrato y Nitrito contenido en los vegetales cultivados orgánicamente”* (2010) realizado por Gonzales M. <sup>(19)</sup>, en el que se encontraron medias entre  $2,779 \pm 1,475$  g/kg en acelga y espinacas en contraste con los obtenidos en el presente trabajo de investigación, en el cual la media de acelgas que fue de 2,374 g/kg y la de espinacas de 2,265 g/kg, los que resultan equivalentes a los del primer estudio mencionado.

En el estudio realizado por Menal S. y Asensio (2015) en la ciudad de Huesca - España, *“Validación de un método para detectar nitratos en acelgas”* donde el contenido medio de nitrato en acelgas fue de 2,293 mg/kg y hubo evidencia de riesgo de concentraciones elevadas especialmente en invierno, resultado que se asemeja a la media obtenida en el presente trabajo, sin embargo, el muestreo en este caso se realizó durante la primavera obteniéndose una media de 2,374 g/kg, si bien es cierto

los vegetales tienden a acumular mayor cantidad de nitratos en invierno en nuestro caso presentó valores elevados a pesar de realizarse la recolección en otra estación.

Respecto a las concentraciones de nitrato halladas en lechugas, sólo una no cumplía con los márgenes establecidos por la FAO/OMS, mientras que el resto de las muestras mostró valores normales así como en la investigación llevada a cabo *“Nitratos y nitritos contenidos de algunos vegetales que se consumen en la provincia del sur de Turquía” (2010)*, donde se reportaron valores en lechugas de 1,439 g/kg de nitrato y en lo que respecta a espinacas se hallaron valores intermedios de 1,132 g/kg sin exceder el límite máximo establecido lo que no sucede con nuestras muestras de espinacas, ya que éstas presentaban concentraciones superiores a 2,500 g/kg en tres muestras. En el estudio realizado en Turquía concluyen en que no es necesario establecer límites máximos de nitratos contenidos en verduras, debido a que la presencia de elementos beneficiosos tales como ácido ascórbico, tocoferoles y flavonoides inhibiría la formación de nitrosaminas que podrían dar origen a procesos neoplásicos <sup>(18)</sup>.

Respecto a la estadística inferencial calculada en el presente trabajo de investigación, se obtuvo un valor de significancia igual a cero con un nivel de confianza del 95 % en los tres casos, por lo tanto se acepta la hipótesis alternativa propuesta, se deduce entonces que existen diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones de nitrato en las muestras de los vegetales evaluados, debido a que los valores obtenidos difieren entre ellos.

La OMS junto a la Agencia Internacional para la Investigación sobre el cáncer (IARC), presento un informe en Octubre del 2015 en el cual anunciaba que el consumo de carne procesada es carcinógena para los humanos basándose en un análisis de 800 estudios con veintidós científicos de diez países, donde se atribuye principalmente a la adición de nitratos y nitritos como sustancias cancerígenas, las mismas que pueden presentar en altas concentraciones algunas especies vegetales como las de este trabajo de investigación <sup>(36)</sup>.

Tomando en cuenta el daño que puede causar el consumo de nitratos en nuestro organismo es importante tomar medidas al respecto, en efecto se debe considerar la necesidad de realizar pruebas en los vegetales de amplio consumo que tengan predisposición a acumular estas sustancias, cerciorándonos de esta forma que los productos que consumimos en los que respecta a alimentos, cumplan con los estándares establecidos por la FAO/OMS.

## CONCLUSIONES

- Se evaluó la concentración de nitratos en *Spinacia olerácea L.*, *Beta vulgaris var. cicla* y *Lactuca sativa* en la provincia de Tacna; obteniéndose en *Spinacia olerácea L.* una concentración mínima de 1,516 g y máxima de 4,420 g; en *Beta vulgaris var. cicla* una concentración mínima de 1,585 g y máxima de 4,022 g; y por último en *Lactuca sativa* una concentración mínima de 0,872 g y máxima de 2,190 g. Todos estos resultados expresados por kilogramo de peso. Se determinó que los valores encontrados son mayores a los establecidos por la FAO/OMS, acorde a la hipótesis planteada.
- La concentración de nitratos en *Spinacia olerácea L.* fue de 2,265 g; en *Beta vulgaris var. cicla* de 2,375 g y en *Lactuca sativa* 1,276 g por kilogramo de peso. El método para la determinación de nitratos por colorimetría resultó ser viable.

- El 25 % de las muestras de *Spinacia oleracea* L. evaluadas no cumplen con los LMP por la FAO/ OMS, en el caso de *Beta vulgaris* var. *cicla* no cumplen el 20 % y en *Lactuca sativa* el 5 %. Por lo tanto la hipótesis propuesta corresponde a los resultados obtenidos.
- Existen diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones de nitratos de *Spinacia oleracea* L., *Beta vulgaris* var. *cicla* y *Lactuca sativa*. Produciendo una alerta en las concentraciones de nitrato en los vegetales estudiados, resultado acorde a la hipótesis planteada.

## RECOMENDACIONES

- ✓ Que, la Dirección General de Salud Ambiental establezca valores de nitratos permitidos para diferentes especies vegetales en función de valores internacionales dados.
  
- ✓ Realizar estudios de concentraciones de nitrato en otras especies vegetales como en apio, berro, perejil, etc., que son de masivo consumo humano.
  
- ✓ Efectuar estudios de concentraciones de nitrato en agua de riego de cultivos, especialmente en las zonas rurales donde se obtiene de fuentes superficiales o de pozo de la misma forma en el agua potable.
  
- ✓ Realizar estudios con otros métodos.
  
- ✓ Implementar con equipos sofisticados al laboratorio de Bromatología de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la UNJBG.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Jan Alexander, Diane Benford. Nitrate in vegetables Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food chain. The EFSA Journal 2008; 689, 1-79.
2. El nitrato en los vegetales. Dictamen del Grupo Científico sobre Contaminantes de la Cadena Alimentaria [Internet]. 2008. [citado el 07 de set. del 2015]. Disponible en: <http://www.gencat.cat/salut/acsa/html/es/dir3164/doc17157.html>.
3. Schuddeboom LJ, Nitrates and nitrites in foodstuffs, ed by the European Commission, Council of Europe Press, Brussels, p 125 (1993).
4. Gangolli SD, van den Brandt P, Feron V, Janzowsky C, Koeman J, Speijers G, Spiegelhalder B, Walker R and Winshnok J, Assessment of nitrate, nitrite, and N-nitroso compounds. Eur J Pharmacol Environ Toxicol Pharmacol Sect 292:1–38 (1994).
5. Departamento de Sanidad del Gobierno Vasco (1997). Vigilancia de la contaminación química de los alimentos en la Comunidad Autónoma del País Vasco: 1990-1995. Nitrato y Nitrito.

6. WHO 2003. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives Food Additives Series 50. Toxicological evaluation of certain additives and contaminant. Nitrate and Nitrite.
7. García M. O, García M, Cañas R. Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud. División de Salud y Ambiente, Organización Panamericana de la Salud, Organización Mundial de la Salud. Nitratos, Nitritos y Compuestos de N-Nitroso. *erie Vigilancia* 13.1994.
8. Determinación de nitritos y nitratos en hot dogs de consumo directo por estudiantes del 5 y 6 grado de educación primaria del distrito de Villa el Salvador.[Tesis de pregrado]. Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2010.
9. Cheng-Wei Liu , Yu Sung , Bo-Ching Chen y Hung-Yu Lai. Efectos de los fertilizantes de nitrógeno sobre el crecimiento y contenido de nitrato en lechuga (*Lactuca sativa L.*). *Int J Environ Res Public Health*. 2014; 11(4): 4427–4440.
10. Susana Menal-Puey, Esther Asensio. Validación de un método para detectar nitratos en acelgas (*Beta vulgaris cicla*). *Rev Esp Nutr Hum Diet*. 2015; 19 (1): 4-11.

11. Analía Valdés, María Flavia Filippini, Luis Martí, Carlos Salcedo. Determinación de nitratos en vegetales comparación de cuatro métodos analíticos. Fca Uncuyo. 2004; 1: 21-28.
12. Marco Iammarino, Aurelia Di Taranto, Marianna Cristino. Determinación de nitritos y nitratos en los niveles de las hortalizas de hoja (espinaca y lechuga): una contribución a la evaluación de riesgos. Journal of the Science of Food and Agriculture. 2014; 94 (4): 773–778.
13. Alfredo Aires, Rosa Carvalho, Eduardo A. S. Rosa y Maria J. Saavedra. Efectos de los sistemas de producción agrícola en nitrato y acumulación de nitrito en ensaladas hoja. Food Science & Nutrition. 2012; 1(1):3–7.
14. Jana y Moktan. La concentración de nitratos en las verduras de hoja: Un estudio de concentraciones de nitrito en los vegetales de hojas verdes frescas al por menor de los mercados diarios de diferentes lugares. ISABB Journal of Food and Agriculture Science. 2012; 3(1): 1-5.
15. Determinación rápida de nitrato en vegetales para minimizar toxicidad en humanos y rumiantes. [Tesis de Magister]. Uruguay: Universidad de la república; 2009.

16. Olga Lastra, Universidad de Chile, Departamento de Química Inorgánica y Analítica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Casilla 233, Santiago, Chile.
17. Roberto Parada. Intoxicación por nitrato en bovinos lecheros en una pradera de ballica italiana. *Avances en ciencias veterinarias*. 1987; 2 (1): 65-68.
18. Fatma Sahindokuyucu and Neslihan Erdogan. Nitratos y nitritos contenidos de algunos vegetales que se consumen en la provincia del sur de Turquía. *Journal of Animal and Veterinary Advances*. 2010; 9 (15): 213-216.
19. Matallana González. El nitrato y el nitrito contenidos en los vegetales cultivados orgánicamente. *Alimentos Addit Contam Parte B Surveill*. 2010; 3 (1): 19-29.
20. Alternativa ecológica [Internet]. 2011. [citado el 06 de set. del 2015]. Disponible en: <http://ecosiembra.blogspot.pe/2011/08/cultivo-de-acelga.html>.
21. Evaluación agronómica de once cultivares de *Spinacia oleracea*. para cultivo industrial en la zona de Valdivia. [Tesis de Licenciatura]. Chile: Universidad Austral de Chile; 2006.

22. Alternativa ecológica [Internet]. 2011. [citado el 06 de set. del 2015]. Disponible en: <http://ecosiembra.blogspot.pe/2011/08/cultivo-de-espinaca.html>.
23. Desarrollo de una función de producción de lechuga (*Lactuca sativa*) a partir de diferentes niveles de nitrógeno, distanciamiento entre plantas, ante escenarios con y sin cobertura plástica, en Zamorano. [Tesis de Licenciatura]. Honduras: Escuela Agrícola Zamorano; 2009.
24. Alternativa ecológica [Internet]. 2011. [citado el 06 de set. del 2015]. Disponible en: <http://ecosiembra.blogspot.pe/2011/09/cultivo-de-lechuga.html>.
25. García, F. 1996 El ciclo del nitrógeno en ecosistemas agrícolas. [inta.gov.ar/balcarce/noticias/inta.../ImpactoAgroqAmbiente.doc](http://inta.gov.ar/balcarce/noticias/inta.../ImpactoAgroqAmbiente.doc).
26. Jose Vega. Avances en el metabolismo del nitrógeno: de la fisiología a la biología molecular: Edición ilustrada. España. 1997.
27. Cohen SS, Gale J, Poljakoff-Mayber A, Shmida A, Suraqui S. 1981. Transpiration and the radiation climate of the leaf on Mt.

Hermon: a Mediterranean mountain. *Journal of Ecology* 69: 391–403.

28. World Health Organization. 2002. Nitrate (and potential endogenous formation of N-nitroso compounds). *Who food additives series*, N° 50. [actualizado 13-06- 2002; citado 28 de Marzo 2008]. Disponible en: <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v50je06.htm#1.0>.

29. García M. O, García M, Cañas R. Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud. División de Salud y Ambiente, Organización Panamericana de la Salud, Organización Mundial de la Salud. Nitratos, Nitritos y Compuestos de N-Nitroso. *Serie Vigilancia* 13.1994.

30. Fernando Palomino. Nueva técnica colorimétrica para la determinación de nitratos. *Revista de la Facultad de Medicina Universidad Nacional de Colombia* 1997; 45 (2): 63-69.

31. Reglamento (CE) 1822/2005 de la Comisión, de 8 de noviembre de 2005, por el que se modifica el Reglamento (CE) N° 466/2001 en lo referente a los nitratos en determinados vegetales.

32. Organización de Consumidores y Usuarios (OCU). Contaminación por nitratos. 2003. OCU-SALUD 49.12-16.
33. Estudios Básicos para el Manejo de Cuencas” Gobierno regional de Tacna, proyecto especial Tacna; Ing. Jorge Manrique Carpio; Ing. Juan Valderrama Pérez. Diciembre 2006 Tacna-Perú.
34. Instituto Nacional de Estadística e Informática. Departamento Tacna: Población total proyectada y ubicación geográfica de la Capital Legal, Según Provincia Y Distrito, 2014. Disponible en: [https://www.inei.gob.pe/media/MenuRecursivo/publicaciones\\_digitales/Est/Lib1159/cuadros/tacna/tacna\\_23\\_3.xls](https://www.inei.gob.pe/media/MenuRecursivo/publicaciones_digitales/Est/Lib1159/cuadros/tacna/tacna_23_3.xls).
35. Pietro Santamaria. Nitrate in vegetables: toxicity, content, intake and EC regulation. J Sci Food Agric. 2006; 86:10–17.
36. World Health Organization. 2015. WHO report says eating processed meat is carcinogenic: Understanding the findings. Harvard T.H. CHAN. [Internet]. Citado el 30 de Junio 2016. Disponible en: <https://www.hsph.harvard.edu/nutritionsource/2015/11/03/report-says-eating-processed-meat-is-carcinogenic-understanding-the-findings>.

37. Alonso Vega L, Gutiérrez Conde ML, Canduela Martínez V, Hernández Herrero M, Tazón Varela M, Pérez Mier LA. Metahemoglobinemia en un lactante por consumo de puré vegetal. *Emergencias*. 2007; 19:283-5.
38. Jan Alexander, Diane Benford. Nitrate in vegetables. *The EFSA Journal* (2008) 689, 1-79.

# **ANEXOS**

## Anexo 1. Tratamiento de las muestras.

- Limpiar y lavar las hojas con agua destilada para remover las impurezas, después secarlas a 65 °C en la estufa por 24 h.



- Pulverizar las muestras y pesar 0,1 g de tejido vegetal.



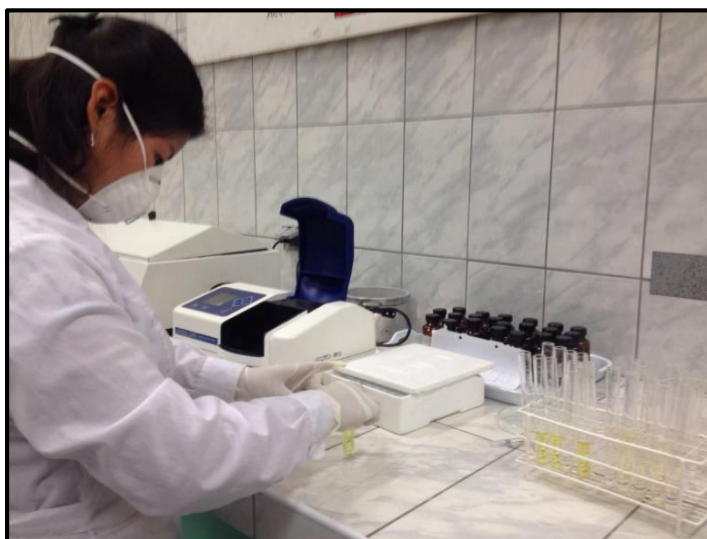
- Suspender 0,1 g del tejido vegetal en 10 ml de agua destilada y mantener a 45 °C por 1 h en baño maría, filtrar en papel Whatman N° 40.



- Extraer 0,1 ml de muestra en un tubo de ensayo de 30 ml de capacidad, agregar 0,4 ml de solución de ácido salicílico al 5 % en ácido sulfúrico concentrado.



- Dejar transcurrir 20 min a temperatura ambiente y añadir lentamente 9,5 ml de solución de hidróxido de sodio 2N, leer la absorbancia a una longitud de onda de 410nm.



**Anexo 2. Tabla de las concentraciones de nitrato en espinaca en la provincia de Tacna año 2015 según pruebas de Post Hoc.**

Comparaciones múltiples						
Variable dependiente: Concentración de nitratos						
HSD Tukey						
(I) Procedencia	(J) Procedencia	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
Calana	Pachía	-0,290400	0,310442	0,787	-1,17858	0,59778
	Pocollay	-0,152200	0,310442	0,960	-1,04038	0,73598
	Yarada	-1,379600*	0,310442	0,002	-2,26778	-0,49142
Pachia	Calana	0,290400	0,310442	0,787	-0,59778	1,17858
	Pocollay	0,138200	0,310442	0,970	-0,74998	1,02638
	Yarada	-1,089200*	0,310442	0,014	-1,97738	-0,20102
Pocollay	Calana	0,152200	0,310442	0,960	-0,73598	1,04038
	Pachía	-0,138200	0,310442	0,970	-1,02638	0,74998
	Yarada	-1,227400*	0,310442	0,006	-2,11558	-0,33922
Yarada	Calana	1,379600*	0,310442	0,002	0,49142	2,26778
	Pachía	1,089200*	0,310442	0,014	0,20102	1,97738
	Pocollay	1,227400*	0,310442	0,006	0,33922	2,11558

\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0,05.

*Fuente: Análisis Estadístico SPSS.*

**Anexo 3. Tabla de las concentraciones de nitrato en acelga en la provincia de Tacna año 2015 según pruebas de Post Hoc.**

Comparaciones múltiples						
Variable dependiente: Concentración de nitratos						
HSD Tukey						
(I) Procedencia	(J) Procedencia	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
Calana	Pachía	0,000200	0,286004	1,000	-0,81806	0,81846
	Pocollay	0,358100	0,286004	0,605	-0,46016	1,17636
	Yarada	-0,772200	0,286004	0,068	-1,59046	0,04606
Pachía	Calana	-0,000200	0,286004	1,000	-0,81846	0,81806
	Pocollay	0,357900	0,286004	0,605	-0,46036	1,17616
	Yarada	-0,772400	0,286004	0,068	-1,59066	0,04586
Pocollay	Calana	-0,358100	0,286004	0,605	-1,17636	0,46016
	Pachía	-0,357900	0,286004	0,605	-1,17616	0,46036
	Yarada	-1,130300*	0,286004	0,006	-1,94856	-0,31204
Yarada	Calana	0,772200	0,286004	0,068	-0,04606	1,59046
	Pachía	0,772400	0,286004	0,068	-0,04586	1,59066
	Pocollay	1,130300*	0,286004	0,006	0,31204	1,94856

\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0,05.

Fuente: Análisis Estadístico SPSS.

**Anexo 4. Tabla de las concentraciones de nitrato en lechuga en la provincia de Tacna año 2015 según pruebas de Post Hoc.**

Comparaciones múltiples						
Variable dependiente: Concentración de nitratos						
HSD Tukey						
(I) Procedencia	(J) Procedencia	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
Calana	Pachía	0,015800	0,139392	0,999	-0,38300	0,41460
	Pocollay	0,194800	0,139392	0,519	-0,20400	0,59360
	Yarada	-0,444000*	0,139392	0,027	-0,84280	-0,04520
Pachía	Calana	-0,015800	0,139392	0,999	-0,41460	0,38300
	Pocollay	0,179000	0,139392	0,585	-0,21980	0,57780
	Yarada	-0,459800*	0,139392	0,021	-0,85860	-0,06100
Pocollay	Calana	-0,194800	0,139392	0,519	-0,59360	0,20400
	Pachía	-0,179000	0,139392	0,585	-0,57780	0,21980
	Yarada	-0,638800*	0,139392	0,002	-1,03760	-0,24000
Yarada	Calana	0,444000*	0,139392	0,027	0,04520	0,84280
	Pachía	0,459800*	0,139392	0,021	0,06100	0,85860
	Pocollay	0,638800*	0,139392	0,002	0,24000	1,03760

\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0,05.

*Fuente: Análisis Estadístico SPSS.*

## Anexo 5. Cuadro de Consistencia.

### Evaluación colorimétrica de nitratos en *Spinacea olerácea L.*, *Beta vulgaris L. var. cicla* y *Lactuca sativa* en la provincia de Tacna, año 2015

FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLE	METODOLOGÍA	TÉCNICAS / INSTRUMENTOS
<b>ENUNCIADO GENERAL</b> ¿Cuál es la evaluación de nitratos en <i>Spinacia olerácea L.</i> , <i>Beta vulgaris var. cicla</i> y <i>Lactuca sativa</i> en la provincia de Tacna, año 2015?	<b>OBJETIVO GENERAL</b> Evaluar la concentración de nitratos en <i>Spinacia olerácea L.</i> , <i>Beta vulgaris var. cicla</i> y <i>Lactuca sativa</i> en la provincia de Tacna, año 2015.	<b>HIPÓTESIS GENERAL</b> La evaluación de la concentración de nitratos en <i>Spinacia olerácea L.</i> , <i>Beta vulgaris var. cicla</i> y <i>Lactuca sativa</i> en la provincia de Tacna, año 2015 determina que los valores encontrados son mayores a los establecidos por la OMS/FAO		<b>TIPO DE ESTUDIO:</b> Como comprende la descripción, composición de los procesos, interpreta la realidad y se utiliza los conocimientos existentes en la práctica, el presente trabajo es de tipo aplicado.  <b>NIVEL DE INVESTIGACIÓN:</b> No hay manipulación de variables, estas se observan y se describen tal como se presentan en su ambiente natural, su metodología puede valerle de algunos elementos cuantitativos y cualitativos. Dado ello es una investigación descriptiva y explicativa.  <b>DISEÑO DE INVESTIGACIÓN</b> Es una investigación descriptiva, no experimental, transversal.  <b>POBLACIÓN:</b> <i>Spinacia olerácea L.</i> , <i>Beta vulgaris var. cicla</i> y <i>Lactuca sativa</i> de Pachia, Ite, Yarada y Sama  <b>MUESTRA:</b> Cinco muestras de <i>Spinacia olerácea L.</i> , <i>Beta vulgaris var. cicla</i> y <i>Lactuca sativa</i> de Pachia, Ite, Yarada y Sama.  <b>MÉTODOS</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Científico</li> <li>• Analítico</li> <li>• Sintético</li> <li>• Inductivo</li> </ul>	<b>Técnicas</b>  <b>Técnicas estadísticas</b> Descriptivas: Cuadro de frecuencias, gráficos, estadística descriptiva: media, desviación estándar. Tablas figuras, porcentajes.  Inferenciales: Los datos obtenidos en la totalidad de las muestras estudiadas, serán sometidos a un análisis estadístico ANOVA, y para establecer las diferencias medias entre los tratamientos se utilizara prueba de Tukey al 0,05.  <b>Instrumento 1:</b> Recolección de muestras por muestreo no aleatorio.  <b>Instrumento 2:</b> Método de determinación de nitratos mediante colorimetría por nitración con ácido salicílico.
<b>ENUNCIADOS SECUNDARIOS</b>	<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b>	<b>HIPÓTESIS ESPECÍFICAS</b>			
¿Cuál es la concentración de nitratos en <i>Spinacia olerácea L.</i> , <i>Beta vulgaris var. cicla</i> y <i>Lactuca sativa</i> ?	Cuantificar por colorimetría la concentración de nitratos en <i>Spinacia olerácea L.</i> , <i>Beta vulgaris var. cicla</i> y <i>Lactuca sativa</i> .	La cuantificación de la concentración de nitratos por colorimetría en <i>Spinacia olerácea L.</i> , <i>Beta vulgaris var. cicla</i> y <i>Lactuca sativa</i> no es la adecuada.	Concentración de nitratos en <i>Spinacia olerácea L.</i> , <i>Beta vulgaris var. cicla</i> y <i>Lactuca sativa</i> en la provincia de Tacna.		
¿Qué relación que existe entre la concentración de nitratos en <i>Spinacia olerácea L.</i> , <i>Beta vulgaris var. cicla</i> y <i>Lactuca sativa</i> con los límites establecidos por la OMS/FAO?	Relacionar la concentración de nitratos en <i>Spinacia olerácea L.</i> , <i>Beta vulgaris var. cicla</i> y <i>Lactuca sativa</i> con los límites permisibles por la OMS/FAO.	El concentración de nitratos en <i>Spinacia olerácea L.</i> , <i>Beta vulgaris var. cicla</i> y <i>Lactuca sativa</i> son mayores a los establecidos por la OMS/FAO.			
¿Los resultados obtenidos serán estadísticamente significativos?	Analizar y determinar estadísticamente si los resultados obtenidos son significativos.	Los resultados obtenidos son estadísticamente significativos.			

