

Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) en relación a la evaluación del riesgo de la exposición de lactantes y niños de corta edad a nitratos por consumo de acelgas en España

Miembros del Comité Científico

Rosaura Farré Rovira, Francisco Martín Bermudo, Ana María Cameán Fernández, Alberto Cepeda Sáez, Mariano Domingo Álvarez, Antonio Herrera Marteache, Félix Lorente Toledano, M^o Rosario Martín de Santos, Emilio Martínez de Victoria Muñoz, M^o Rosa Martínez Larrañaga, Antonio Martínez López, Cristina Nerín de la Puerta, Teresa Ortega Hernández-Agero, Perfecto Paseiro Losada, Catalina Picó Segura, Rosa María Pintó Solé, Antonio Pla Martínez, Daniel Ramón Vidal, Jordi Salas-Salvadó, M^o Carmen Vidal Carou.

Secretario

Vicente Calderón Pascual

Número de referencia: AESAN-2011-004

Documento aprobado por el Comité Científico en su sesión plenaria de 18 de mayo de 2011

Grupo de Trabajo

Ana M^o Cameán Fernández (Coordinadora)
M^o Rosa Martínez Larrañaga
Cristina Nerín de la Puerta
Antonio Pla Martínez
Ricardo López Rodríguez (AESAN)

Resumen

La principal vía de exposición en humanos a los nitratos es a través de la dieta, siendo las hortalizas la principal fuente dietética pues proporcionan entre el 80 y 85% de la ingesta diaria. Destacan las concentraciones relativamente elevadas encontradas en hortalizas, como rúcula, lechuga y espinacas.

La Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) ha evaluado recientemente los posibles efectos en niños de los nitratos contenidos en algunas verduras de hoja, concluyendo que los contenidos de nitratos en lechuga no representan un riesgo, aunque en el caso de las espinacas, se indica la posible existencia de riesgo de metahemoglobinemia en niños de 1-3 años si el consumo de éstas excede de una ración diaria (EFSA, 2010).

El presente informe presenta una evaluación del riesgo de la exposición de lactantes y niños de corta edad a nitratos por consumo de acelgas en España, verduras de hoja con alto contenido en nitratos, que no han sido objeto de evaluación por parte de EFSA dado que su consumo a nivel europeo es muy bajo y localizado.

A partir de los datos proporcionados por la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) correspondientes a la concentraciones de nitratos en acelgas durante los años 2000-2009, de un total de 1.018 muestras, se observa una gran variabilidad en los contenidos, con una concentración mediana de 1.562 mg nitrato/kg acelgas, siendo superiores a los contenidos de nitratos en espinacas (mediana: 816 mg/kg) publicados por EFSA a nivel europeo.

Asumiendo que el consumo de acelgas en niños (de 3 meses a 1 año) es igual al de espinacas para niños de corta edad de la población europea, y aceptando como válido para niños de 1-3 años el consumo de acelgas en niños de 7-12 años del modelo de dieta española (AESAN, 2006), las estimaciones de exposición crónica por consumo sólo de acelgas en niños (de 1-3 años), considerando tres escenarios de concentración de nitratos, 1.562, 3.000 y 3.700 mg nitratos/kg (mediana, límite

máximo permitido de nitratos en espinacas frescas, y contenido P95, respectivamente), son inferiores a la IDA de 3,7 mg/kg p.c. establecida.

Las estimaciones de exposición aguda a nitratos obtenidas indican que en ninguno de los escenarios considerados, para los grupos de edad de 3, 6 y 9 meses, se superaría el valor de 15 mg/kg p.c./día, considerado como referencia para evitar niveles elevados de metahemoglobina en lactantes y niños de corta edad. Solo los niños de 12 meses, en casos de consumo extremo y concentraciones más elevadas, alcanzarían una exposición algo superior, aunque dado el pequeño porcentaje de muestras de acelgas que superan dichos contenidos, la probabilidad de manifestaciones tóxicas agudas sería muy baja.

En España, según los datos disponibles, este Comité aconseja que las recomendaciones de consumo para las espinacas se amplíen a las acelgas dada la importancia de su consumo y su mayor contenido en nitratos.

Se considera apropiado que se establezcan límites máximos de nitratos en acelgas de igual forma que se han fijado para espinacas.

Palabras clave

Nitratos, acelgas, lactantes, niños de corta edad, evaluación del riesgo.

Report of the Scientific Committee of the Spanish Agency for Food Safety and Nutrition (AESAN) in relation to the risk assessment of infants and young children's exposure to nitrates resulting from the consumption of chard in Spain.

Abstract

The main via of exposure to nitrates for humans is through diet, as vegetables are the main dietary source making up between 80 and 85% of the daily intake. The relatively high levels found in vegetables such as rocket, lettuce and spinach is of note.

The European Food Safety Authority has recently assessed the possible effects on children of the nitrates found in certain leaf vegetables, and has concluded that the nitrate levels in lettuce do not pose a risk, although in the case of spinach, they indicate the possible existence of the risk of methemoglobinemia in children between 1-3 years old if they eat more than one portion per day (EFSA, 2010).

This report presents a risk assessment of the exposure of infants and young children to nitrates from eating chard in Spain, leaf vegetables with a high nitrate content, which have not been evaluated by the EFSA as consumption at European level is very low and localised.

Based on the data provided by the Spanish Agency for Food Safety and Nutrition (AESAN) corresponding to nitrate concentrations in chard during the period 2000-2009, a significant variability in the content was detected in a total of 1,018 samples, with an average concentration of 1,562 mg nitrate/kg of chard, and with higher nitrate levels in spinach (median: 816 mg/kg) published by the EFSA at European level.

Assuming that the level of consumption of chard in children (from 3 months to 1 year old) is the same as that of spinach among young children in the European population, and accepting the

consumption of chard in children aged between 7-12 years from the Spanish diet model as valid for children between the age of 1 and 3 (AESAN, 2006), the estimations for chronic exposure due to eating chard among children (from 1-3 years), with three levels of nitrate concentration, 1,562, 3,000 and 3,700 mg nitrates/kg (median, maximum permitted nitrate level in fresh spinach, and P95 content, respectively), are lower than the ADI of 3.7 mg/kg b.w. of the established.

The estimations of acute exposure to nitrates indicate that in none of the cases considered, for the age groups of 3, 6 and 9 months, is the value of 15 mg/kg b.w./day exceeded, considered as a reference to prevent high levels of methemoglobin in infants and young children. Only 12 month old children, in cases of extreme consumption and very high concentrations, would reach a higher exposure, although given the low percentage of chard samples that exceeded these content levels, the probability of acute toxicity would be very low.

In Spain, according to available data, this Committee recommends that consumption levels for spinach be extended to chard given the significant levels of consumption and the higher nitrate content. The establishment of maximum nitrate levels in chard as exist for spinach is considered suitable.

Key words

Nitrates, chard, infants, young children, risk assessment.

Introducción

Los nitratos están presentes en el medioambiente, por lo que aparecen en el aire, los alimentos (fundamentalmente hortalizas y frutas) y el agua. Esta presencia tiene lugar como consecuencia del denominado ciclo del nitrógeno, según el cual el nitrógeno es fijado por las bacterias como nitrato antes de su uso en la síntesis de proteínas en las plantas. También se utilizan como fertilizantes y aditivos alimentarios.

Las fuentes de exposición humana a nitratos son: formación endógena y exposición exógena a través de la dieta y a partir de fuentes no dietéticas. De ellas, la principal vía de exposición en humanos a los nitratos es a través de la dieta, siendo las fuentes principales los vegetales, las conservas de carne y el agua de bebida. En este sentido, se considera que las hortalizas son la principal fuente dietética de nitratos, proporcionando entre el 80 y 85% de la ingesta diaria (Gangolli et al., 1994) (van Velzen et al., 2008). No obstante, esta ingesta diaria de nitratos depende de diversos factores como pueden ser el estilo de vida, factores de tipo cultural o la localización geográfica (JECFA, 1995).

Los contenidos de nitratos en las hortalizas varían ampliamente (entre 1 y 10.000 mg/kg) dependiendo del tipo y su fuente, así como de las condiciones de cultivo y almacenamiento (JECFA, 1995). Destacan las concentraciones relativamente elevadas encontradas en hortalizas, como rúcula, lechuga y espinacas. Por ejemplo, en el caso de las verduras de hoja se han descrito en algún caso contenidos de nitratos superiores a los 4.500 mg/kg (Tabla 1).

Verdura de hoja	Contenido medio (mg/kg)	Verdura de hoja	Contenido medio (mg/kg)
Rúcula	4.677	Endibia belga	1.465
Amaranto	2.167	Lechuga	1.324
Hierba de los canónigos	2.104	Lechuga romana	1.105
Mezcla de lechugas	2.062	Espinacas	1.066
Lechuga mantecosa	2.026	Lechuga iceberg	875
Remolacha	1.852	Diente de león	605
Acelga	1.690	Escarola	523
Lechuga rizada	1.601	Achicoria	355
Lechuga hoja de roble	1.534	Berro	136

Fuente: (EFSA, 2008).

En el caso de los nitritos, la vía exógena aporta entre el 11 y el 41%, dada su baja concentración en hortalizas frescas y frutas (1-20 mg/kg). El metabolismo de los nitratos y, fundamentalmente, la reducción de los nitratos secretados por la saliva, hace que la vía principal de exposición humana a nitritos sea endógena (Thomsom, 2004) (Greer y Shannon, 2005) (EFSA, 2008).

Los nitratos han sido objeto de sucesivas evaluaciones tanto por parte del Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA) (JECFA, 1995, 2002, 2003), como del Comité Científico de la Alimentación Humana (SCF) (SCF, 1992), y la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) (EFSA, 2008, 2010). Según la evaluación de EFSA (2008) sobre los riesgos derivados de la presencia de

nitratos en vegetales, tras considerar diferentes escenarios de exposición que combinaban una serie de patrones de consumo y las concentraciones de nitratos en varios tipos de vegetales, se demostró como elemento crítico de la exposición, el tipo concreto de verdura y su contenido en nitratos, más que la cantidad de verduras consumidas.

Recientemente, EFSA (2010) ha evaluado los posibles efectos en niños de los nitratos contenidos en algunas verduras de hoja como las espinacas y la lechuga, dado que son las más consumidas en Europa. Entre sus conclusiones se destaca que los contenidos de nitratos en lechuga no representan un riesgo. Sin embargo, en el caso de las espinacas, se indica la posible existencia de riesgo de metahemoglobinemia en niños de 1-3 años si el consumo de éstas excede de una ración diaria. Además, en lactantes el consumo de espinacas cocinadas es más probable que el de lechuga.

No obstante, en España los niños también consumen acelgas. Las acelgas son verduras de hoja con alto contenido en nitratos. Sin embargo, no han sido objeto de evaluación por parte de EFSA dado que su consumo a nivel europeo es muy bajo y localizado. Asimismo, en la actualidad no existe normativa comunitaria alguna que fije contenidos máximos de nitratos en acelgas (Tabla 2).

Tabla 2. Contenidos máximos de nitrato establecidos por el Reglamento (CE) Nº 1881/2006

Producto alimenticio		Contenido máximo (mg NO ₃ /kg)	
1.1	Espinacas frescas (<i>Spinacia oleracea</i>)	Recolectadas entre el 1 de octubre y el 31 de marzo	3.000
		Recolectadas entre el 1 de abril y el 30 de septiembre	2.500
1.2	Espinacas en conserva, congeladas o ultracongeladas	2.000	
1.3	Lechuga fresca (<i>Lactuca sativa</i> L.) (lechugas de invernadero y cultivadas al aire libre) excepto las lechugas mencionadas en el punto 1.4	Recolectadas entre el 1 de octubre y el 31 de marzo: cultivadas en invernadero	4.500
		Recolectadas entre el 1 de octubre y el 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
1.4	Lechugas del tipo "Iceberg"	Cultivadas en invernadero	2.500
		Cultivadas al aire libre	2.000
1.5	Alimentos elaborados a base de cereales y alimentos infantiles para lactantes y niños de corta edad	200	

Fuente: (UE, 2006).

Ante esta situación, y dada la ausencia de normativa a nivel europeo para las acelgas, la Dirección Ejecutiva de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) ha solicitado al Comité Científico que evalúe el riesgo de la exposición de los lactantes y niños de corta edad (niños menores de 1 año y hasta 3 años) a los nitratos por consumo de acelgas, con el objeto de poder establecer medidas de gestión de riesgo adecuadas.

Identificación del peligro

El nitrato (ión) es un compuesto inorgánico formado por un átomo de nitrógeno y tres átomos de oxígeno (NO_3^-), cuyo peso molecular es 62 g/mol. Forma sales con distintos cationes (Tabla 3).

Sales de nitrato	Fórmula química	Nº CAS	Usos (ejemplos)
Nitrato de sodio	NaNO_3	7631-99-4	Fertilizante, conservante en productos cárnicos, fabricación de cemento
Nitrato de potasio	KNO_3	7757-79-1	Fertilizante, conservante, producción de pólvora
Nitrato de amonio	NH_4NO_3	6484-52-2	Fertilizante, fabricación de explosivos
Nitrato de calcio	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	10124-37-5	Fertilizante, tratamiento aguas residuales, fabricación de hormigón
Nitrato de magnesio	$\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$	10377-60-3	Fertilizante
Nitrato de plata	AgNO_3	7761-88-8	Antiséptico, desinfectante, cauterizante

Fuente: (IPCS, 1999).

El nitrato es un importante metabolito en el ciclo del nitrógeno. Se forma por oxidación de nitrito (NO_2^-) debido a la acción de las bacterias del género *Nitrobacter*. Es un componente natural de los suelos y vegetales, así como un metabolito usual en los mamíferos. Su presencia en suelos y aguas superficiales se debe a la mineralización de la materia orgánica y al uso de fertilizantes (IPCS, 1999).

En el caso de las hortalizas se destaca la capacidad de los nitratos para acumularse, siendo sus contenidos variables dependiendo del tipo de hortaliza. Así, por ejemplo, las verduras de hoja pueden tener contenidos elevados de nitratos. El contenido de nitratos depende de diversos factores (Meah et al., 1994) (Thomsom, 2004) (EFSA, 2008) como son:

- Características del suelo. La acumulación de nitratos va a depender del tipo de suelo y de su contenido en minerales. Dado que los nitratos se mueven por convección desde el suelo a la superficie de la raíz, la escasez de agua puede limitar este transporte. Asimismo, el exceso de agua puede provocar la dilución de los nitratos en el suelo restringiendo así el crecimiento de la planta y provocando la pérdida de nitratos por desnitrificación.
- Aplicación de fertilizantes. Por ejemplo, la agricultura intensiva podría llevar al empleo de elevadas cantidades de fertilizantes, los cuales son fuentes de nitratos.
- Intensidad de la luz solar. Es un factor clave y determinante de las concentraciones de nitrato en las verduras de hoja. La alta irradiación en verano tiende a provocar la reducción del contenido de nitratos, y también las mayores tasas de crecimiento coinciden con periodos de irradiación elevada y temperaturas cálidas (Kanaan y Economakis, 1992). Por ejemplo, las verduras cultivadas en los países del norte de Europa tienen un mayor contenido de nitrato, en comparación con países del sur de Europa, puesto que están expuestas a una menor cantidad de luz solar. En el caso de hortalizas y verduras cultivadas en invernaderos, los contenidos de nitratos son mayores debido a la baja intensidad de la luz y a la alta mineralización (Gangolli et al., 1994).

- Condiciones de almacenamiento. Los contenidos de nitratos en hortalizas frescas pueden disminuir durante el almacenamiento a temperatura ambiente. Por otro lado, las concentraciones de nitritos suelen ser muy bajas y se pueden incrementar durante el almacenamiento dependiendo de las diferentes especies de hortalizas, la acción endógena específica de la enzima *nitrato reductasa* o la contaminación bacteriana. En el caso de almacenamiento en refrigeración (7 días a 5 °C) los contenidos de nitratos no se modifican lo que implica la inactivación de la *nitrato reductasa* así como la prevención de la actividad bacteriana.
- Procesado. Los nitratos son solubles en agua, por tanto durante el lavado de las verduras de hoja se puede producir una disminución del 10-15% en los contenidos de nitratos. El pelado de tubérculos y frutas puede disminuir los contenidos de nitratos entre un 34-61% (Dejonckheere et al., 1994).
- Tipo de cocinado. La distribución de los nitratos en las hortalizas no es homogénea. Por ejemplo, en las lechugas y las espinacas, la eliminación del tallo y el nervio de las hojas puede dar lugar a una disminución del 30 al 40% del contenido de nitratos (Dejonckheere et al., 1994). Asimismo, diversos autores indican que el contenido de nitratos en hortalizas puede reducirse, dependiendo de la hortaliza, entre el 16 y el 79% cuando se cuecen en agua (Abo Bakr et al., 1986) (Schuster y Lee, 1987) (Dejonckheere et al., 1994). Dada la tendencia actual hacia el consumo de alimentos frescos, en particular de diferentes variedades de verduras de hoja, EFSA en sus opiniones ha adoptado un enfoque conservador, de forma que no considera las potenciales disminuciones en los contenidos de nitratos debidas al procesado y cocinado en los cálculos de exposición iniciales, aunque pueden tenerse en cuenta como factores mitigantes en diversos escenarios de consumo de vegetales variados (EFSA, 2008).

Caracterización del peligro

1. Absorción, distribución, metabolismo y excreción

Los nitratos procedentes de las hortalizas, tanto frescas como cocinadas, se absorben de forma eficaz dando lugar a una biodisponibilidad cercana al 100% (van Velzen et al., 2008). Una vez ingeridos, los nitratos se absorben rápidamente en la región proximal del intestino delgado y, posteriormente, se distribuyen a través de la sangre de tal forma que en humanos los contenidos más altos de nitratos se encuentran en el suero, la saliva y la orina (JECFA, 2003). En este sentido, Bartholomew y Hill (1984) destacan que el 65-70% del nitrato administrado por vía oral se excreta por la orina.

Una vez distribuidos, los nitratos son activamente secretados desde la sangre a la saliva, tal y como se ha podido observar tanto en humanos como en varios tipos de animales de experimentación (a excepción de las ratas). Así, en el caso de los humanos aproximadamente el 25% de los nitratos ingeridos se secretan en la saliva. A su vez, de ese 25% de nitratos secretados, el 20% se reduce a nitritos debido a la presencia en la base de la lengua de una población estable de bacterias reductoras de nitratos (Gangolli et al., 1994) (JECFA, 2003), de forma que en individuos normales aproximadamente el 5-7% del nitrato ingerido puede detectarse como nitrito en la saliva (EFSA, 2008).

Los nitratos pueden ser reducidos a nitritos por la acción de las bacterias entéricas y por la actividad de la enzima *nitrato reductasa* en mamíferos, puesto que muchos de los microorganismos presentes en el tracto gastrointestinal muestran esta actividad. No obstante, se indica que el lugar donde esta reducción es mayor varía en función de la especie, su colonización microbiana y la absorción de nitratos.

Los nitritos contenidos en la saliva, en las condiciones ácidas del estómago, se transforman rápidamente en ácido nitroso, que se descompone en óxidos de nitrógeno, como óxido nítrico (NO); paralelamente, se produce la síntesis endógena de NO en el ciclo de la urea a partir de L-arginina, a través de la enzima *NO-sintetasa* (NOS). En condiciones fisiológicas, como se ha comentado, la mayoría del nitrato absorbido se excreta por orina, existiendo de todos modos una reabsorción selectiva en riñón, junto con recirculación biliar y salivar (EFSA, 2008).

2. Toxicidad

El nitrato *per se* es relativamente poco tóxico en humanos. No obstante, sus metabolitos y productos de reacción formados en el cuerpo humano (por ejemplo: nitrito, óxido nítrico y compuestos N-nitroso) se asocian a algunos efectos perjudiciales para la salud como metahemoglobinemia y carcinogénesis, siendo además el porcentaje normal de conversión de nitratos a nitritos del 5-7%, aunque puede llegar al 20% en algunos casos (JECFA, 1995, 2002) (EFSA, 2008).

Tal y como se ha indicado anteriormente, los nitratos han sido objeto de sucesivas evaluaciones tanto por parte del Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios como de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. En dichas evaluaciones se indica como primer aspecto importante la necesidad de que las especies animales utilizadas se comporten de forma similar a los humanos en lo que se refiere a la toxicocinética de los nitratos y su conversión a nitritos (JECFA, 2002). Por ejemplo, los estudios en animales relativos al metabolismo y la toxicocinética de los nitratos han confirmado que las ratas no son un buen modelo animal, dado que no muestran un transporte de nitratos a través de su saliva y, por tanto, la conversión de nitratos en nitritos es limitada.

Además, se ha considerado que para llevar a cabo dicha evaluación se debe tener en cuenta tanto la toxicología de los nitratos como de los nitritos y los compuestos N-nitroso.

Toxicidad oral aguda y subcrónica

Los estudios llevados a cabo permiten observar que la toxicidad oral aguda de los nitratos en animales es generalmente baja, con valores para la LD_{50} que pueden oscilar entre los 300 mg/kg p.c. (peso corporal) en cerdos hasta los 6.250 mg/kg p.c./día en el caso de los ratones. Asimismo, se ha observado que en humanos adultos la dosis letal oral es de 330 mg/kg p.c. (Walker, 1990) (FAO/WHO, 1996), por lo que la sensibilidad humana, en cuanto a toxicidad aguda, es similar a la del cerdo.

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

Metahemoglobinemia

Tal y como se ha indicado, la toxicidad aguda de los nitratos se atribuye principalmente a su reducción a nitritos, los cuales provocan la oxidación de la hemoglobina (Hb) de los hematíes a metahemoglobina (MHb), produciendo la denominada metahemoglobinemia. En circunstancias normales, los recién nacidos a término mantienen una concentración de MHb circulante de un 2%, mientras que en los prematuros es de un 2-3% (Greer y Shannon, 2005). En adultos el valor es < 2% (Gómez Lumbreras et al., 2008).

En el caso de los lactantes, esta enfermedad, también denominada "síndrome del niño azul", se caracteriza por la aparición de una coloración gris-azulada en la piel como consecuencia de un contacto con sustancias oxidantes o por situaciones diversas como causas alimentarias, genéticas, etc. (Herranz y Clerigué, 2003).

La metahemoglobinemia se produce cuando la velocidad de oxidación de la Hb a MHb excede la capacidad de la enzima *NADH-citocromo b5 metahemoglobina reductasa* de reducir la MHb de nuevo a Hb (Sánchez-Echaniz et al., 2001) (Pérez-Caballero et al., 2005), o cuando hay déficit de esta enzima (metahemoglobinemias congénitas) (Da-Silva et al., 2003) (Laporta Báez et al., 2008).

Según destacan varios autores, en el caso de los lactantes la mayor incidencia de metahemoglobinemia se observa en menores de 4-6 meses, especialmente en lactantes menores de 3 meses, debido a diversos factores como: elevada proporción de hemoglobina fetal, la cual posee una mayor susceptibilidad a ser oxidada a MHb por exposición a nitritos; pH gástrico elevado que favorece el crecimiento de bacterias nitrato-reductoras y, por tanto, una mayor transformación intestinal de nitratos en nitritos, que puede conducir a gastroenteritis que de forma concomitante incrementa la formación de nitritos; una actividad 40-50% menor de la enzima *NADH-citocromo b5 metahemoglobina reductasa* (ATSDR, 2004) y un riesgo mayor de infecciones intestinales (Savino et al., 2006). No obstante, también se indica que esta susceptibilidad desaparece a partir de esta edad, dado que los niveles enzimáticos son similares a los de los adultos y ya no hay prácticamente hemoglobina fetal (Herranz y Clerigué, 2003) (Greer y Shannon, 2005) (Gómez Lumbreras et al., 2008).

La formación de MHb provoca que los hematíes sean incapaces de captar oxígeno, cederlo a los tejidos y transportar dióxido de carbono, lo que puede originar hipoxia tisular y cianosis. La gravedad del cuadro clínico dependerá de la concentración de MHb, de tal forma que a concentraciones de MHb inferiores al 20% (10-15%), aparece la cianosis como primer síntoma (cianosis central en tronco, labios y mucosas, generalmente en placas) (Knobeloch et al., 2000) (Herranz y Clerigué, 2003) (Laporta Báez et al., 2008). No obstante, Greer y Shannon (2005) indican la posibilidad de que en lactantes con bajas concentraciones de Hb los primeros síntomas puedan aparecer con concentraciones de MHb del 3%. A concentraciones de MHb superiores al 20%, se produce un incremento de la cianosis mucocutánea, irritabilidad, taquipnea y alteración del estado mental. En los casos más graves tiene lugar la aparición de acidosis metabólica, arritmias cardíacas, coma y convulsiones generalizadas (Laporta Báez et al., 2008) (Herranz y Clerigué, 2003) (Gómez Lumbreras et al., 2008). En este sentido, algunos autores señalan que concentraciones de MHb superiores al 50% ocasionan hipoxemia grave y depresión del Sistema Nervioso Central, mientras que una MHb mayor del 60-70% puede provocar la muerte (Alonso Vega et al., 2007) (Gómez Lumbreras et al., 2008).

Estos síntomas también dependen de las condiciones clínicas previas, destacándose la aparición de una mayor sintomatología de la esperada, con cifras de MHb relativamente bajas, en pacientes con insuficiencia respiratoria o cardíaca, anemia o acidosis (Alonso Vega et al., 2007). Otros factores que pueden influir en la formación de MHb son la exposición a una serie de medicamentos, incluyendo anestésicos locales tópicos, nitrato de plata, acetaminofeno, sulfonamidas, valproato sódico, etc.

Los estudios que relacionan la formación de MHb en lactantes y niños de corta edad por consumo de verduras y de alimentos preparados para niños que contienen verduras como espinacas, zanahorias,

etc., no son abundantes, aunque se han publicado diferentes casos individuales (Sander y Jacobi, 1967) (Hack et al., 1983) (Greer y Shannon, 2005). Por ejemplo, se ha registrado un caso de elevada MeHb (25%), unido a taquicardia supraventricular y cianosis perioral en un niño de 6 meses tras haber consumido un puré de verduras variadas, que había sido preparado cinco días antes y mantenido a temperaturas de refrigeración (Bryk et al., 2003).

En nuestro país, en los últimos años, continúan presentándose casos de metahemoglobinemia, siendo la causa principal el consumo de purés de verduras elaborados en el hogar y almacenados en condiciones no apropiadas, con contenidos elevados de nitrito, o por reconstitución de la fórmula infantil con agua procedente de la cocción de verduras. Si bien los contenidos de nitritos en verduras frescas no dañadas, son generalmente muy bajos, éstos se incrementan durante el almacenamiento, por la reducción de nitratos y disminución del contenido de agua, acelerándose el proceso cuando se preparan en purés (Chung et al., 2004).

Sánchez-Echaniz et al. (2001) informaron de casos de metahemoglobinemia (10-58% de MHb) en niños de meses de edad tras la ingestión de purés de verduras variadas preparadas con antelación y conservadas en el frigorífico durante 12-27 horas. Las acelgas eran un componente común, siendo de los vegetales con contenidos más elevados en nitratos (media: 3.200 mg/kg). Más recientemente, Gómez-Lumbreras et al. (2008) han registrado un caso similar, de un lactante de 7 meses (MHb 21%) con cianosis periférica y palidez cutáneo mucosa, que había ingerido un puré de acelgas elaborado el día anterior. Tras eliminar la fuente de exposición, el cuadro clínico se resolvió en 72 h. Otros autores (Alonso Vega et al., 2007) (Laporta Báez et al., 2008) han informado de casos de metahemoglobinemia en niños de 8-9 meses, que cursaron con un cuadro de cianosis labial y palidez en las extremidades, tras la ingesta de un puré de verduras (que contenía acelgas) o un puré de acelgas, que se habían mantenido fuera de la nevera durante varias horas antes de su ingesta. Por tanto, la conservación deficiente o prolongada de las verduras cocidas constituye un factor de riesgo metahemoglobinizante.

EFSA (2010) revisa las asociaciones existentes entre concentración de nitratos en aguas de bebida y niveles de MHb en niños, indicando que la metahemoglobinemia no es elevada cuando los contenidos de nitrato son inferiores a 100 mg/l.

Puesto que los nitratos, tras su reducción a nitritos, tienen el potencial de causar metahemoglobinemia, y ello puede ocurrir tras una única exposición, EFSA destaca que sería apropiado establecer una Dosis Aguda de Referencia (ARfD), con vistas a evaluar la seguridad de una exposición aguda a nitratos. Sin embargo, los datos disponibles procedentes de estudios experimentales en animales y casos de intoxicaciones en humanos no proporcionan aún una base adecuada para establecer dicha ARfD (EFSA, 2008). Sin embargo, según EFSA (2010), los datos disponibles hasta la actualidad indican que los niveles de MHb no son elevados en lactantes y niños de 3 meses cuando la exposición a nitratos, a través del consumo de agua de bebida y verduras, es inferior a 15 mg/kg p.c./día.

Genotoxicidad

En lo que respecta a los estudios de genotoxicidad, los resultados obtenidos indican que los nitratos no son en sí mismos genotóxicos. Asimismo, en el caso de los nitritos tampoco se han encontrado evidencias que permitan clasificarlos como genotóxicos (JECFA, 2002).

Toxicidad crónica. Carcinogenicidad

Desde el punto de vista toxicológico, los nitratos intervienen en la formación de nitrosaminas y, por tanto, existe el potencial cancerígeno (AESAN, 2008). La Agencia Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer (IARC) ha realizado recientemente una evaluación de los nitratos y nitritos ingeridos en la dieta y los ha clasificado en la categoría 2A, que indica que probablemente son carcinógenos en humanos (IARC, 2010).

Los estudios de carcinogenicidad con nitratos fueron negativos a excepción de la administración de dosis extraordinariamente altas de nitratos y precursores nitrogenados. En este mismo sentido, los estudios epidemiológicos no han mostrado evidencias de la existencia de una asociación en humanos entre la exposición a nitratos a través de la dieta o agua de bebida y el riesgo de padecer cáncer (JECFA, 1995, 2002) (EFSA, 2008) (IARC, 2010). No obstante, en el caso del nitrito de sodio un estudio llevado a cabo en ratas y ratones ha puesto de manifiesto la posible existencia (*equivocal evidence*) de actividad carcinogénica (NTP, 2001). Según la IARC (2010) existen evidencias limitadas en humanos sobre la carcinogenicidad de nitritos presentes en los alimentos, estando asociados a un incremento de la incidencia de cáncer de estómago.

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

Tomando como referencia un NOEL (*Non Observed Adverse Effects Level*) de 370 mg/kg p.c./día, expresado como ión nitrato, y un factor de seguridad de 100, JECFA (1995) estableció una Ingesta Diaria Admisible (IDA) de 5 mg/kg p.c. expresada como nitrato de sodio ó 3,7 mg/kg p.c. expresada como ión nitrato. Esta IDA ha sido objeto de reevaluación, en su cincuenta y nueve sesión, en base a los nuevos estudios disponibles, concluyéndose que los efectos tóxicos observados son consecuencia de la conversión *in vivo* de los nitratos a nitritos, no aportándose datos suficientes para modificar la IDA asignada. Asimismo, se estableció para los nitritos una IDA de 0,07 mg/kg p.c. expresada como ión nitrito (JECFA, 2002), destacando su capacidad para causar metahemoglobinemia. Posteriormente, el Panel de Contaminantes de la Cadena Alimentaria (CONTAM) de EFSA (EFSA, 2008) concluyó que en ausencia de nuevos datos toxicológicos significativos, no existía la necesidad de reconsiderar dichas IDA.

Evaluación de la exposición

1. Contenidos de nitratos en verduras

El Panel de Contaminantes de la Cadena Alimentaria de EFSA ha publicado en 2008 una evaluación científica sobre los contenidos de nitratos en vegetales, donde se comparaban los riesgos y beneficios de la exposición a los nitratos en vegetales (EFSA, 2008), cuyos datos más significativos se desarrollan a continuación.

En dicha opinión, el Panel recibió y evaluó 41.969 datos de concentraciones de nitratos, procedentes de 20 Estados miembros y de Noruega, pertenecientes a 92 variedades de vegetales diferentes. España participó aportando 3.811 datos de contenidos de nitratos en vegetales. Se constató una enorme variación en las medianas de las concentraciones de las verduras, con contenidos tan bajos como 1 mg/kg en el caso de guisantes y coles de Bruselas, hasta los 4.800 mg nitratos/kg cuantificados en rúcula, siendo las verduras de hoja verde las que de forma consistente contenían más nitratos (EFSA, 2008).

La mayoría de los vegetales tenían un contenido (mediana) de 392 mg nitrato/kg, y las medianas de las concentraciones de los vegetales o grupos de vegetales que EFSA utilizó en los diferentes escenarios de exposición a nitratos fueron en orden ascendente: 106 mg nitrato/kg en patatas, 785 mg nitrato/kg en espinacas, 1.388 mg nitrato/kg para diversas variedades de lechuga y 4.800 mg nitrato/kg en rúcula. En su evaluación, el Panel también consideró los contenidos de nitrato (medianas) más elevados en determinadas zonas geográficas para las espinacas (1.745 mg/kg) y diversas variedades de lechuga (2.652 mg/kg).

Se comprobó la variabilidad de los contenidos de nitratos en las verduras debida a diferencias geográficas, por los factores ya expuestos, de forma que por ejemplo, las concentraciones de nitratos en lechugas producidas en el sur de Europa fueron inferiores en comparación con las cultivadas en el centro o norte de Europa.

Los contenidos de nitritos encontrados en los vegetales analizados fueron muy inferiores a los de nitratos, y no se considera que supongan una contribución directa importante a la exposición humana, en comparación con la formación endógena a partir de nitratos.

Posteriormente, en diciembre de 2010, EFSA ha publicado una declaración relativa a los posibles efectos en la salud de los niños por los nitratos contenidos en algunos vegetales, como las espinacas y la lechuga. En esta opinión, a partir de 13.391 datos de contenidos de nitratos en lechugas y 7.358 en espinacas, las medianas de las concentraciones de nitratos fueron en lechugas 1.260 mg/kg y en espinacas 816 mg/kg (EFSA, 2010).

2. Contenidos de nitratos en acelgas

En la opinión científica de EFSA de 2008, la concentración media de nitratos en acelgas (n=666) fue de 1.690 mg/kg, siendo la mediana del mismo orden, aunque un poco inferior, 1.510 mg nitrato/kg.

En este informe del Comité Científico de la AESAN se han utilizado datos proporcionados por la propia AESAN, correspondientes a las concentraciones de nitratos en acelgas (mg nitrato/kg muestra) durante los años 2000-2009. Se recogieron un total de 1.018 resultados procedentes del territorio nacional, derivados de los programas de control de las comunidades autónomas. Sólo existen 19 casos (1,8% del total) en los que los valores se encuentran por debajo de los límites de detección (LOD) y/o cuantificación (LOQ), por lo que van a tener poco impacto sobre los resultados globales estadísticos, y se asume, siguiendo los criterios de EFSA (2008, 2010) un valor numérico igual al LOD/LOQ.

Aunque no existe una legislación europea para los contenidos de nitratos en acelgas, sabiendo que igual que ocurre en las espinacas, hay diferencias estacionales para el contenido en nitratos y que puede variar en producto fresco y congelado, para los cálculos estadísticos básicos, los datos se agrupan según:

- Acelgas frescas.
 - Recolectadas en verano (1 abril-30 septiembre).
 - Recolectadas en invierno (1 octubre-31 marzo).
- Acelgas en conserva, congeladas, ultracongeladas.

En la Tabla 4 se resume la estadística básica de las muestras analizadas, recogiendo para cada uno de los grupos considerados los valores de P5 (Percentil), P95, media y desviación estándar, mediana y valor máximo. Para ello, se han tenido en cuenta las siguientes consideraciones:

1. Los datos de fecha de recolección, verano/invierno, no siempre están disponibles. Por ello, se han utilizado dos opciones a la hora de presentar los datos: de forma total, sin especificar verano/invierno, y de forma separada, considerando el periodo de recolección verano/invierno cuando así se especifica en la base de datos.
2. La separación frescas/congeladas ha sido posible ya que esa información sí suele venir indicada.

No obstante, como a nivel de consumo, no se diferencia entre el momento de recolección (verano/invierno) ni la forma de cultivo (aire libre/invernadero) y tampoco el tratamiento de la muestra (fresca/congelada, etc.), los datos que se van a utilizar son los contenidos totales de nitrato (mg/kg), sin ningún tipo de diferenciación.

Categoría de alimentos	N	<LOD	P5	Mediana	Media (SD)	P95	Max
Acelgas frescas (verano)	424	11	102,75	1.420,00	1.606,03 (1.188,89)	3.706,65	6.634,73
Acelgas frescas (invierno)	232	0	231,00	1.904,00	1.977,02 (1.096,75)	3.909,47	4.770,00
Total acelgas frescas	751	11	121,00	1.597,00	1.735,71 (1.156,09)	3.780,00	6.634,73
Total acelgas congeladas, refrigeradas, conserva	137	1	372,00	1.386,00	1.485,76 (778,74)	2.701,76	5.119,00
Total acelgas	1.018	19	172,02	1.562,00	1.691,12 (1.110,46)	3.700,00	6.634,73

Se observa una gran variabilidad en las concentraciones aportadas, con un intervalo de contenidos muy amplio, por lo que en los cálculos de exposición los escenarios se basarán en las medianas de los contenidos de nitrato, asumiendo que un consumidor escoge de forma aleatoria acelgas del mercado, según la metodología usual seguida por EFSA (2008). Atendiendo al contenido (mediana) obtenido de 1.562 mg nitratos/kg en las muestras analizadas en nuestro país durante 2000-2009 de los datos aportados por AESAN, éste concuerda con la concentración mediana de 1.510 mg/kg reportada por EFSA (2008) a nivel europeo.

Teniendo en cuenta el periodo de recolección (verano/invierno) en los casos especificados en la base de datos, se observa un mayor contenido de nitratos en las acelgas recolectadas en invierno (1.904 mg nitrato/kg) en comparación con la estación estival (1.420 mg nitratos/kg) lo cual corrobora la influencia que tiene la intensidad de la luz solar sobre los contenidos de nitratos en este tipo de verdura de hoja.

Indicar que si bien no existen límites máximos permitidos de nitratos en acelgas, en los datos evaluados en este informe, 126 muestras del total de acelgas (12,4%) superan el contenido máximo permitido de nitratos en espinacas de 3.000 mg/kg, y 69 muestras (6,8%) tienen contenidos superiores a 3.500 mg/kg, límite máximo propuesto que actualmente está siendo debatido a nivel europeo (EFSA, 2010).

Los datos incluidos en la Tabla 5, en la que se comparan los contenidos de nitratos en acelgas y espinacas según diversas fuentes, indican que el contenido de NO_3^- en acelgas es del mismo orden que en espinacas. Según los datos proporcionados por AESAN (2000-2009) para este informe, el contenido de nitratos en acelgas (mediana) es aproximadamente un 90% superior al de las espinacas evaluadas por EFSA en 2010. En consecuencia, teniendo en cuenta que las acelgas son objeto de consumo en España parece lógico que se considere necesaria la evaluación del riesgo que supone el consumo de acelgas al igual que se ha hecho con las espinacas, aunque sólo sea a nivel nacional.

Tabla 5. Comparativa de contenidos de nitratos (mg/kg) en espinacas y acelgas, según diferentes fuentes

Muestra	Fuente	N	Mediana	Media	Rango ó P5/P95
Espinacas	AESAN (2006)**	367	1.153	1.368	14-5.837
Espinacas	AESAN (2007)**	333	1.068	1.261	14-5.712
Espinacas	(Menard et al., 2008)	266	No consta	1.681,7	?-8.700
Espinacas	(EFSA, 2008)	6.657	785	1.066	64/3.048 (P5/P95)
Espinacas	(EFSA, 2010)*	7.358	816	1.092	?-10.470
Acelgas	AESAN (2006)**	143	1.454	1.628	80-6.634
Acelgas	AESAN (2007)**	142	1.400	1.548	50-4.690
Acelgas	(Menard et al., 2008)	7	No consta	1.354	?- 3.500
Acelgas	(EFSA, 2008)	666	1.510	1.690	178/3.685 (P5/P95)
Acelgas	AESAN (2000-2009)	1.018	1.562	1.691	10-6.634

(*) Muestras procedentes de 21 países.

(**) Resultados de los controles de nitrato en hortalizas durante los años 2006 y 2007. Informe interno AESAN.

3. Consumo de acelgas e ingesta de nitratos procedente de dicho consumo en niños menores de 1 año y hasta 3 años

El consumo de un alimento es una pieza fundamental para establecer la exposición a un determinado contaminante. El problema surge cuando se trata de determinar la exposición de grupos específicos de población (en este caso niños de 0-3 años), ya que lo más habitual es disponer de datos de consumo en población adulta. En este caso, además, la mayoría de las bases de datos disponibles no recogen

el consumo de acelgas, ya que como se ha dicho anteriormente su consumo no es generalizado en Europa.

En la reciente opinión de EFSA (2010) sobre riesgos para la salud en niños derivados de la presencia de nitratos en vegetales, no se incluye el grupo de edad de niños menores de 3 meses por no ser consumidores de verduras. De forma análoga, en este informe del Comité Científico, se van a considerar los siguientes grupos de edad: niños de 3 meses, 6 meses, 9 meses, 12 meses y de 1-3 años.

En la Tabla 6 se recogen los datos disponibles sobre el consumo de acelgas y espinacas según distintas fuentes.

Tabla 6. Consumo de acelgas y espinacas para disitintos grupos de edad (gramos/persona/día)					
Consumo (g/persona/día)					
Niños (Peso medio: 34,48 Kg. Edad: 7-12 años)					
	Toda la población	Sólo consumidores			Fuente
	Media±SD	% consumidores	Media± SD	P97,5	
Acelgas	2,61±10,69	10,19	25,62±23,17	71,04	AESAN. España (1)
Espinacas	2,69±11,3	8,19	32,84±23,95	79,77	AESAN. España (1)
Adultos (Peso medio: 68,48 Kg. Edad: ≥17años)					
	Toda la población	Sólo consumidores			Fuente
	Media±SD	% consumidores	Media±SD	P97,5	
Acelgas	5,21±18,94	9,43	55,26±32,28	118,53	AESAN. España (1)
Espinacas	4,87±19,31	9,34	52,17±39,18	128,96	AESAN. España (1)
Adultos (Edad: >18 años)					
	Toda la población	Sólo consumidores			Fuente
	Media				
Acelgas	4,74		-		CAPV (2)
Espinacas	2,16		-		CAPV (2)
	Niños (Edad: 3-14 años)	Adultos (Edad: >15 años)			Fuente
	Media	Media			
Acelgas	0,2	0,6			Francia (3)
Espinacas	3,2	4,1			Francia (3)
Adultos (Peso medio: 60 kg)					
	Toda la población	Sólo consumidores			Fuente
	Media (g/día)				
Acelgas	2,2		-		GEMS-Food (4)
Espinacas	5		-		GEMS-Food (4)
Adultos (Peso medio: 60 kg)					
	Toda la población	Sólo consumidores			Fuente
		Media (g/kg/día)			
Acelgas	-	9,03			GEMS-Food (Países Bajos) (4)
Espinacas	-	13,01			GEMS-Food(Países Bajos) (4)
Niños ≥ 6 años (Peso medio: 16,5 kg)					
	Toda la población	Sólo consumidores			Fuente
		Media (g/Kg/día)			
Acelgas	-	2,5			GEMS-Food (Francia) (4)
Espinacas	-	29,60			GEMS-Food (S. Africa) (4)

(1) Modelo de dieta española para la determinación de la exposición del consumidor a sustancias químicas (AESAN, 2006). (2) Estudio cuantitativo del consumo de alimentos en la CAPV (2008). (3) (Menard et al., 2008). (4) GEMS/FOOD *Regional Diets* (WHO, 2003).

De acuerdo con los datos del modelo de dieta española de la AESAN (AESAN, 2006), el consumo de acelgas es similar al de espinacas, tanto en la población general como en la de "sólo consumidores", en los dos grupos de población considerados (niños de 7-12 años y mayores de 17 años). No obstante, no se da información del consumo para niños menores de 7 años, grupo más sensible al que va dirigido esta evaluación.

En la Comunidad Autónoma del País Vasco (CAPV) el consumo de acelgas en adultos duplica el de espinacas (Gobierno Vasco, 2008), mientras que los datos disponibles de Francia indican un mayor consumo de espinacas respecto a las acelgas tanto en adultos como en niños (Menard et al., 2008); en este último estudio la edad de los niños osciló entre 3-14 años, fuera del intervalo que interesa en este informe.

Por su parte los datos del GEMS-Food (*Food Contamination Monitoring and Assessment Programme*) indican un consumo de acelgas en adultos idéntico al modelo de dieta que utiliza AESAN, mientras que el de espinacas es superior (casi el doble). En la misma fuente se encuentra el consumo de acelgas en Francia (P97,5) para "sólo consumidores" en niños mayores de 6 años, con un valor de 41,25 g/día. En el modelo de dieta en España (AESAN, 2006) ese mismo valor, para niños de 7-12 años es de 71,04 g/día.

En cuanto al consumo en niños, en el País Vasco se realizó un estudio en el año 2001 en el que se analizó la dieta de 282 niños de 8 a 12 meses. De éstos el 97,5% eran niños consumidores diarios de puré de verduras, con una ración media diaria de $260 \pm 9,1$ g. En el mismo estudio se observó que el puré medio que consumían estos niños tenía un contenido en acelga del 6%, lo que supone 15,6 g/día (Gobierno Vasco, 2003).

También resultan indicativos los datos recogidos en el informe de EFSA (2010), para evaluar la exposición aguda a nitratos, en cuanto al consumo de espinacas en los tres grupos de edad 1-3 años, 4-6 años y mayores de 7 años, cuyos valores se resumen en la Tabla 7. En la citada opinión se observa que los consumos, tanto la mediana (expuestos en la Tabla) como la media, son muy similares para los tres grupos de edad. De ello se desprende que según los datos disponibles para el consumo de acelgas en el modelo de dieta española (AESAN, 2006) para niños mayores de 7 años, esa misma cantidad podría asumirse para los niños de 1-3 años.

Tabla 7. Consumo de espinacas (gramos/día) en los distintos grupos de edad para una exposición aguda a nitratos

Edad	Peso (kg) ¹	Consumo espinacas (g/día)	Consumo espinacas (g/kg/día)	Fuente
3 meses	6,1	6,1-7,9	1,0-1,3	(EFSA, 2010) ²
6 meses	7,7	10,8-15,4	1,4-2,0	
9 meses	8,8	18,5-29,9	2,1-3,4	
12 meses	9,7	27,2-44,6	2,8-4,6	
1-3 años	14	44,2 (mediana)	3,0	(EFSA, 2010) ³
4-6 años	20	33,1 (mediana)	1,6	
≥ 7 años	35	46,6 (mediana)	1,2	

Adaptado de (EFSA, 2010).

¹El peso considerado coincide con los valores (mediana) para los distintos grupos de edad considerados por la OMS. ²Basándose en el estudio de Kersting et al. (1998), consideran que los niños de 3 meses hacen dos comidas al día que contienen espinacas y éstas representan 2/3 del peso de la comida. Para los niños de 6, 9 y 12 meses el contenido de espinacas en la comida sería del 50% y harían una comida con espinacas al día. Con esas asunciones el consumo (g/día) es el indicado en esta Tabla. Para la máxima exposición teórica (en niños de 12 meses) consideran dos comidas al día y el 100% de espinacas. ³Estos valores corresponden a "sólo consumidores". Sólo un 9,6% de los niños consumen espinacas. En el caso de 1-3 años N=266.

Sólo recientemente se ha dispuesto de información sobre consumo en niños de 0-3 años, tras el desarrollo de algunas bases de datos como EXPOCHI, que ya se ha utilizado en el informe de EFSA (2010). En éste, EFSA reconoce la escasez de datos de consumo de alimentos para niños menores de 12 meses por parte de los Estados miembros y, tras examinar los resultados de diversos estudios (Kersting et al., 1998), estima la exposición a nitratos de forma aguda, por consumo de espinacas en niños de 3-12 meses (Tabla 7), considerando dos escenarios, bajo y alto consumo de alimentos.

En resumen, si se asume que el consumo de acelgas es igual al de espinacas en la población infantil española y se utilizan para el consumo los mismos criterios que los usados por EFSA (2010) para niños de corta edad, los consumos de acelga para los distintos grupos de edad serían los que se recogen en la Tabla 7.

Para estimar la exposición dietética aguda a nitratos por consumo de acelgas en niños para distintos grupos de edad, de 3 meses a 3 años, se consideran por tanto dichos consumos de acelga (Tabla 7), y tres escenarios en relación a los contenidos de nitratos en la totalidad de las muestras de acelgas analizadas en nuestro país (AESAN 2000-2009) (Tabla 4): 1) la mediana de 1.562 mg/kg (parámetro usualmente utilizado en exposiciones crónicas), 2) un contenido de 3.000 mg/kg, que es el límite máximo permitido actualmente de nitratos en espinacas frescas (mayoría de muestras) y 3) un contenido de 3.700 mg/kg, correspondiente al P95 de los datos obtenidos en los contenidos de acelgas (peor escenario).

La Tabla 8 recoge dichas estimaciones, expresándose las exposiciones en mg nitrato/kg peso corporal por día.

Según las estimaciones realizadas, la exposición a nitratos por consumo de acelgas en niños lactantes y de corta edad (menores de 3 años) varía entre 1,6 y 7,2 mg/kg p.c./día (9,5 y 69,7 mg nitratos/persona/día) cuando se considera la concentración mediana de 1.562 mg nitratos/kg acelgas.

Incluso en niños de 12 meses se puede llegar, en el peor escenario, alto consumo de acelgas con una concentración de nitratos de 3.700 mg/kg (P95), a una exposición de 17,0 mg/kg p.c./día (133,8 mg nitratos/persona/día).

Se estima una posible exposición dietética de 13,8 mg/kg p.c./día a partir del consumo de acelgas en niños de 12 meses de edad, en el caso hipotético de que se fijara el contenido máximo de nitratos en acelgas, al igual que en espinacas, en 3.000 mg/kg, exposición idéntica a la ya estimada por EFSA (2010).

Las estimaciones anteriores no consideran la exposición a nitratos a partir del agua empleada en la reconstitución de las fórmulas para lactantes. Se considera que frecuentemente el agua contribuye de forma importante a la exposición de nitratos en niños. EFSA en sus dos opiniones (2008, 2010) no ha considerado el agua como fuente de exposición, al no tener información adecuada sobre contenidos de nitratos en aguas empleadas para preparar las fórmulas infantiles.

Las estimaciones de exposición aguda a nitratos en niños por consumo de acelgas considerando la concentración mediana de 1.562 mg/kg nitratos en acelgas obtenidas en este informe (1,6-7,2 mg/kg p.c./día) son aproximadamente el doble de las alcanzadas por consumo de espinacas evaluadas por EFSA en 2010, que oscilaron entre 0,8 y 3,8 mg/kg p.c./día, lo cual es debido al valor casi 50% inferior del contenido mediano de nitratos en espinacas (816 mg/kg de nitrato). El consumo de una única ración de espinacas conteniendo el nivel máximo permitido o superiores (3.500 mg/kg nitratos) resultó en una exposición próxima a 15 mg/kg p.c., similar a la obtenida por consumo de acelgas en el peor escenario.

Siendo la lechuga un componente menor en la dieta de los niños en las edades consideradas, en comparación con las espinacas y acelgas cocinadas, EFSA estimó una exposición total a través de la dieta en niños de 1-18 años que osciló entre 1,7 y 4,2 mg nitratos/kg p.c., considerando la mediana de consumo, y hasta de 16 mg nitratos/kg p.c. al nivel más elevado de consumo de lechuga, combinado con los datos de contenido de nitratos superiores (EFSA, 2010).

Los datos de consumos de la Tabla 7 representan al grupo de "sólo consumidores". Siguiendo con la hipótesis ya expuesta, los datos de consumo de acelgas en niños de 7-12 años (AESAN, 2006) podrían considerarse válidos para la población general de 1-3 años, con unos valores de 2,61±10,69 g/día (0,186 g/kg/día). Con esta suposición, la ingesta estimada de nitratos crónica en niños de 1-3 años por consumo exclusivo de acelgas (población general: consumidores + no consumidores) sería de 0,29, 0,56 y 0,69 mg/kg/día para las tres concentraciones de nitratos consideradas (1.562, 3.000 y 3.700 mg/kg), respectivamente.

En el caso de adultos, la exposición a nitratos de forma crónica, por consumo de 400 g de vegetales mixtos por día, considerando las concentraciones típicas medianas de nitrato, fue de 157 mg nitrato/día (EFSA, 2008). En niños lactantes y de corta edad, la exposición crónica mediana a nitratos (considerando el consumo de vegetales en general y otros alimentos) osciló entre 0,77 y 1,39 mg/kg p.c./día (EFSA, 2010).

Tabla 8. Estimaciones de la exposición dietética a nitratos en niños (3 meses-3 años) por grupos de edad, considerando varios escenarios a partir de diferentes contenidos en acelgas, y comparación con la IDA establecida (3,7 mg nitratos /kg p.c./día)

Sólo consumidores					Población general						
Edad*	Peso (kg)	Consumo		Exposición nitratos mg/kg p.c./día			Consumo		Exposición nitratos mg/kg p.c./día (%IDA)		
		acelgas (g/día) ¹	acelgas (g/kg/día) ¹	Contenidos nitratos (mg/kg)			acelgas (g/día) ²	acelgas (g/kg/día) ²	Contenidos nitratos (mg/kg)		
				1.562	3.000	3.700			1.562	3.000	3.700
3 meses	6,1	6,1-7,9	1,0-1,3	1,6-2,0	3,0-3,9	3,7-4,8	-	-	-		
6 meses	7,7	10,8-15,4	1,4-2,0	2,2-3,1	4,2-6,0	5,2-7,4	-	-	-		
9 meses	8,8	18,5-29,9	2,1-3,4	3,3-5,3	6,3-10,2	7,8-12,6	-	-	-		
12 meses	9,7	27,2-44,6	2,8-4,6	4,4-7,2	8,4-13,8	10,4-17,0	-	-	-		
1-3 años	14	44,2 (mediana)	3,15	4,9	9,4	11,6	2,61±10,69	0,186	0,29 (7,8%)	0,56 (15,1%)	0,69 (18,6%)

¹Se consideran dos niveles de ingesta de alimentos, uno bajo (media menos la desviación estándar) y alto (media más desviación estándar) (Kerstin et al., 1998) (EFSA, 2010). ²Modelo de dieta española (AESAN, 2006).

Caracterización del riesgo

De acuerdo con los datos obtenidos en la Tabla 8 de estimaciones de la ingesta de nitratos por consumo de acelgas, y teniendo en cuenta las suposiciones de ingestas estimadas en niños de 1-3 años para la población general, las estimaciones de exposición crónica por consumo sólo de acelgas en los tres escenarios contemplados (1.562, 3.000 y 3.700 mg/kg) son inferiores a la IDA de 3,7 mg/kg p.c., representando porcentajes de dicha IDA del 7,8%, 15,1% y 18,6%, respectivamente. Estos resultados apoyan los valores para el conjunto de la población por consumo de vegetales obtenidos por EFSA (2008), y en su opinión sobre los riesgos en lactantes y niños de corta edad por consumo de espinacas y lechuga (EFSA, 2010).

De forma paralela a la opinión de EFSA (2010), el interés fundamental de este informe son las estimaciones de exposición aguda por consumo de acelgas, ya que incluso aunque algunas estimaciones de exposición crónica a nitratos estuvieran próximas o excedieran ocasionalmente la IDA, ello no indicaría un riesgo para la salud *per se*, ya que la IDA para nitratos se deriva de estudios subcrónicos y crónicos.

La exposición aguda a nitratos, considerando la concentración mediana de los datos disponibles (1.562 mg/kg nitratos) y sólo a los consumidores, supone una ingesta diaria de 1,6-7,2 mg/kg p.c./día en los grupos de edad considerados. La exposición a nitratos en los otros dos escenarios (3.000 y 3.700 mg/kg nitratos) conduce a exposiciones más elevadas, entre 3,0-13,8 mg/kg p.c./día, y hasta de 17 mg/kg p.c./día, sin tener en cuenta otras fuentes de nitratos, tales como agua.

Siguiendo los criterios de EFSA (2010) en la caracterización del riesgo por exposición aguda a nitratos, se tomará 15 mg/kg/día como valor de referencia, ya que los datos disponibles indican que en exposiciones inferiores a dicho valor, los niveles de Mhb en lactantes y niños no son elevados. Dicha dosis, por tanto, no se superaría en ninguno de los escenarios considerados (1.562, 3.000 y 3.700 mg/kg nitratos) en los grupos de edad de 3, 6 y 9 meses, que son los que tienen mayor riesgo de sufrir metahemoglobinemia.

Sólo los niños de 12 meses, en casos de consumo extremo y concentraciones de 3.700 mg/kg de nitratos (P95), alcanzan una exposición de 17 mg/kg p.c./día, superando ligeramente los 15 mg/kg p.c. Teniendo en cuenta los datos suministrados por AESAN, solo el 6,8% de las muestras durante los años 2000-2009 tienen contenidos de nitratos superiores a 3.500 mg/kg, por ello, la probabilidad de manifestaciones tóxicas agudas sería muy baja.

Los consumos considerados en la ingesta diaria (Tabla 7) se basan en la asunción de que los niños de 12 meses consumen acelgas una vez al día como parte de una comida que contiene un 50% de acelgas, usando el mismo criterio que EFSA (2010) para las espinacas. En casos excepcionales se podría considerar que consumen dos comidas al día y que el contenido de acelgas sea el doble, considerando además un contenido de nitratos máximo de 3.000 mg/kg. Ello supondría una "máxima exposición teórica" de 55,3 mg/kg p.c./día, hasta tres veces superior a la dosis de 15 mg/kg p.c./día.

Con ese mismo razonamiento, para niños de 6 meses la "máxima exposición teórica" supondría 24 mg/kg p.c./día para una concentración de nitratos de 3.000 mg/kg y de 29,6 mg/kg p.c./día para una concentración de nitratos de 3.700 mg/kg.

En estos casos de "máxima exposición teórica" se superaría la concentración de 15 mg/kg/día y podría dar lugar a la aparición de metahemoglobinemia.

Incertidumbres

A lo largo del proceso de Evaluación del Riesgo de nitratos a través del consumo de acelgas se han detectado las siguientes incertidumbres:

- Analíticas:
 - a) No se especifica el método analítico utilizado por los diferentes laboratorios que aportan datos. Esta información es fundamental para valorar la fiabilidad de los resultados. En cuanto a los parámetros del método analítico se recogen algunos (recuperación e incertidumbre) pero es claramente insuficiente. Tampoco se especifica el LOD/LOQ del método, aunque de los datos aportados se puede deducir alguno de ellos. No siempre se indica el laboratorio donde se han realizado los análisis.
 - b) Representatividad de las muestras en cuanto a origen, diferencias regionales y estacionales (verano/invierno) y forma de cultivo (aire libre/invernadero).
- Influencia del procesado y/o cocinado sobre los contenidos de nitratos en las muestras procesadas.
- Límites máximos: no existen límites máximos establecidos para acelgas, por lo que se suelen utilizar los límites de espinacas, aunque generalmente los valores obtenidos para acelga son superiores.
- Ingesta: ausencia de datos de consumo de acelgas para la población objeto de estudio.

Además de las incertidumbres y limitaciones ya especificadas por EFSA (2010) relativas a la presencia de nitratos en verduras de hoja.

Recomendaciones de consumo

Algunas recomendaciones respecto al consumo de verduras de hoja son:

Los lactantes y niños con infecciones bacterianas gastrointestinales no deben consumir espinacas porque son más sensibles a los nitratos (EFSA, 2010).

Estas hortalizas deben prepararse en el momento del consumo y mantenerse congeladas en el caso de que vayan a ser consumidas en un intervalo superior a las 12 horas o más desde su preparación (EFSA, 2008), dado que una conservación inadecuada de estos alimentos cocinados puede dar lugar a una reducción de los nitratos a nitritos aumentando así el riesgo de metahemoglobinemia.

Asimismo, algunas instituciones como la Asociación Española de Pediatría, aunque no hacen referencia explícita al consumo de acelgas, recomiendan que la ingesta de verduras se realice a partir de los 6 meses en forma de puré, evitando los primeros meses las espinacas, col y remolacha, que pueden ser introducidas a partir de los 12 meses (AEP, 2002).

Conclusiones del Comité Científico

- De la evaluación de los datos de contenidos de nitratos en acelgas (durante los años 2000-2009) proporcionados por AESAN, se observa una gran variabilidad en los contenidos, con un valor de la mediana de 1.562 mg nitrato/kg acelgas, y de 3.700 mg/kg al P95, siendo superiores a los contenidos de nitratos en espinacas (mediana 816 mg/kg), a nivel europeo publicados por EFSA (2008). Aunque no existen límites máximos permitidos de nitratos en acelgas, 126 muestras (12,4%) superan el contenido máximo permitido de 3.000 mg/kg en espinacas, y 69 muestras (6,8%) los 3.500 mg nitratos/kg.
- Para una evaluación más precisa del riesgo a nitratos asociado al consumo de acelgas en lactantes y niños de corta edad (1-3 años), grupo más sensible de sufrir metahemoglobinemia tras exposición aguda, sería conveniente disponer de datos específicos relativos a su consumo.
- Asumiendo que el consumo de acelgas en niños de 3 meses a 1 año es igual al de espinacas para niños de corta edad de la población europea considerado por EFSA (2010), y aceptando como válido para niños de 1-3 años el consumo de acelgas en niños de 7-12 años del modelo de dieta española (AESAN, 2006), las estimaciones de exposición crónica por consumo sólo de acelgas en niños de 1-3 años, considerando tres escenarios de concentración de nitratos, 1.562, 3.000 y 3.700 mg nitratos/kg (mediana, límite máximo permitido de nitratos en espinacas frescas, y contenido P95, respectivamente), son inferiores a la IDA de 3,7 mg/kg p.c. establecida, representando el 7,8%, 15,1% y 18,6% de dicha IDA, respectivamente.
- Las estimaciones de exposición aguda a nitratos por consumo de acelgas (mediana: 1.562 mg/kg nitratos) obtenidas en este informe, oscilan entre 1,6-7,2 mg/kg p.c./día, aproximadamente el doble de las alcanzadas por consumo de espinacas evaluadas por EFSA en 2010 (0,8-3,8 mg/kg p.c./día). Siguiendo los criterios de EFSA de considerar 15 mg/kg p.c./día como valor de referencia para evitar niveles elevados de Mhb en lactantes y niños de corta edad, las estimaciones indican que dicha dosis no se superaría en ninguno de los escenarios considerados, para los grupos de edad de 3, 6 y 9 meses, que son los más susceptibles de sufrir metahemoglobinemia. Solo los niños de 12 meses, en casos de consumo extremo y concentraciones más elevadas (3.700 mg/kg) alcanzarían una exposición de 17 mg/kg p.c./día, aunque dado el pequeño porcentaje de muestras de acelgas que superan dichos contenidos, la probabilidad de manifestaciones tóxicas agudas sería muy baja.
- Según los datos obtenidos, en España el contenido de nitratos en acelgas es superior al de las espinacas, por lo que este Comité aconseja que las recomendaciones de consumo para las espinacas se amplíen a las acelgas dada la importancia de su consumo.

- Este Comité considera apropiado que se establezcan límites máximos de nitratos en acelgas de igual forma que se han fijado para espinacas. Un contenido máximo de 3.000 mg nitratos/kg en acelgas no entrañaría riesgos de salud en niños lactantes y de corta edad (menores de 1 año y hasta 3 años).

Referencias

- Abo Bakr, T.M., El-Iraqi, S.M. y Huissen, M.H. (1986). Nitrate and nitrite contents of some fresh and processed Egyptian vegetables. *Food Chemistry*, 19, pp: 265-275.
- AEP (2002). Asociación Española de Pediatría. Protocolos de Nutrición. Alimentación del lactante sano. Disponible en: <http://www.aeped.es/documentos/protocolos-nutricion> [acceso: 14-4-11].
- AESAN (2006). Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición. Modelo de dieta española para la determinación de la exposición del consumidor a sustancias químicas. Disponible en: http://www.aesan.msc.es/AESAN/docs/docs/notas_prensa/modelo_dieta_espanola.pdf [acceso: 21-6-11].
- Alonso Vega, L.A., Gutiérrez Conde, M.L.G., Canduela Martínez, V.C., Hernández Herrero, M.H., Tazón Varela, M.T. y Pérez Mier, L.A.P. (2007). Metahemoglobinemia en una lactante por consumo de puré vegetal. *Emergencias*, 19, pp: 283-285.
- ATSDR (2004). Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Interaction profile for cyanide, fluoride, nitrate, and uranium. Atlanta: US Department of Health and Human Services. Disponible en: <http://www.atsdr.cdc.gov/interactionprofiles/IP-09/ip09-a.pdf> [acceso: 21-6-11].
- Bartholomew, B. y Hill, M.J. (1984). The pharmacology of dietary nitrate and the origin of urinary nitrate. *Food and Chemical Toxicology*, 22 (10), pp: 789-795.
- Bryk, T., Zalzstein, E. y Lifshitz, M. (2003). Methemoglobinemia induced by refrigerated vegetable puree in conjunction with supraventricular tachycardia. *Acta Paediatrica*, 92, pp: 1214-1215.
- Chung, J.C., Chou, S.S. y Hwang, D.F. (2004). Changes in nitrate and nitrite content of four vegetables during storage at refrigerated and ambient temperatures. *Food Additives and Contaminants*, 21, pp: 317-322.
- Da-Silva, S.S., Sajan, I.S. y Underwood, J.P. (2003). Congenital methemoglobinemia: a rare cause of cyanosis in the newborn-A case report. *Pediatrics*, 112 (2), pp: e158-e161.
- Dejonckheere, W., Steurbaut, W., Drieghe, S., Verstraeten, R. y Braeckman, H. (1994). Nitrate in food commodities of vegetable origin and the total diet in Belgium 1992-1993. *Microbiologie-Aliments-Nutrition*, 12, pp: 359-370.
- EFSA (2008). European Food Safety Authority. Nitrate in vegetables. Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain. *The EFSA Journal*, 689, pp: 1-79. Question N° EFSA-Q-2006-071.
- EFSA (2010). Statement on possible public health risks for infants and young children from the presence of nitrates in leafy vegetables. *The EFSA Journal*, 8 (12), pp: 1935.
- FAO/WHO (1996). Food and Agriculture Organization/World Health Organization. Nitrate. Safety evaluation of certain food additives. Food Additives Series 35. Disponible en: <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v35je14.htm> [acceso: 21-6-11].
- Gangolli, S.D., van den Brandt, P.A. y Feron, V.J. (1994). Nitrate, nitrite and N-nitroso compounds. *European Journal of Pharmacology*, 292, pp: 1-38.
- Gobierno Vasco (2003). Estudio sobre consumo de alimentos e ingesta de plaguicidas y nutrientes por niños/niñas de 8 a 12 meses de edad de la CAPV (proyecto Montecarlo). Informe técnico, pp: 1-24. Disponible en: https://www6.euskadi.net/r33-2709/es/contenidos/informacion/sanidad_alimentaria/es_1247/adjuntos/proyectoMontecarlo_c.pdf [acceso: 9-6-11].
- Gobierno Vasco (2008). Departamento de Agricultura, Pesca y Alimentación. Estudio cuantitativo del consumo de alimentos en la CAPV. Guías Elika, 8. Disponible en: http://www.elika.net/pub_otras.asp?publicacion=39&seleccionado=10 [acceso: 9-6-11].

- Gómez Lumbreras, A.G., Solaz Moreno, L.S. y Villar Rubin, S.V. (2008). Intoxicación por puré de acelgas. *Anales de pediatría*, 69 (3), pp: 279-291.
- Greer, F.R. y Shannon, M. (2005). Infant methemoglobinemia: the role of dietary intake in food and water. *Pediatrics*, 116, pp: 784-786.
- Hack, W.W., Douwes, A.C. y Veerman, A.J. (1983). Spinach: A source of nitrite poisoning in young children. *Ned Tijdschr Geneesk*, 127, pp: 1428-1431.
- Herranz, M. y Clerigué, N. (2003). Intoxicación en niños. Metahemoglobinemia. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*, 26 (1), pp: 209-223.
- IARC (2010). International Agency of Research in Cancer. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans Ingested Nitrate and Nitrite and Cyanobacterial Peptide Toxins. Volume 94, pp: 1-325. Disponible en: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol94/index.php> [acceso: 21-6-11].
- IPCS (1999). International Programme on Chemical Safety. Nitrates and nitrites. Poisons Information Monograph (Group Monograph) G016.
- JECFA (1995). Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios. Nitrate and nitrite. Evaluation of Certain Food Additives. Forty-fourth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Who Technical Report Series 859. TRS 859-JECFA 44/29,32.
- JECFA (2002). Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios. Nitrate and nitrite. Evaluation of Certain Food Additives. Fifty-ninth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Who Technical Report Series 913. TRS 913-JECFA 59/75.
- JECFA (2003). Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios. Nitrate (and potential endogenous formation of N-nitroso compounds). Safety evaluation of certain food additives. Who Food Additives Series: 50.
- Kanaan, S.S. y Economakis, C.D. (1992). Effect of climatic conditions and time of harvest on growth and tissue nitrate content of lettuce in nutrient film cultura. *Acta Horticulturae*, 323, pp: 75-80.
- Kersting, M., Alexy, U., Sichert-Hellert, W., Manz, F. y Schoch, G. (1998). Measured consumption of commercial infant food products in German infants: results from the DONALD study. Dortmund Nutritional and Anthropometrical Longitudinally Designed. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 27, pp: 547-552.
- Knobeloch, L., Salna, B., Hogan, A. y Postle, J. (2000). Blue babies and nitrate-contaminated well water. *Environmental Health Perspectives*, 108, pp: 675-678.
- Laporta Báez, Y.L., Goñi Zaballo, M.G., Pérez Ferrer, A.P., Palomero Rodríguez, M.A.P., Suso, B. y García Fernández, J.G. (2008). Metahemoglobinemia asociada a la ingesta de acelgas. *Anales de pediatría*, 69 (2), pp: 191-192.
- Meah, M.N., Harrison, N. y Davies, A. (1994). Nitrate and nitrite in foods and the diet. *Food Additives and Contaminants*, 11 (4), pp: 519-532.
- Menard, C., Heraud, F., Volatier, J.L. y Leblanc, J.C. (2008) Assessment of dietary exposure of nitrate and nitrite in France. *Food Additives and Contaminants*, 25 (8), pp: 971-988.
- NTP (2001). National Toxicology Program. Toxicology and carcinogenesis studies of sodium nitrite in F344/N rats and B6C3F1 mice (drinking water studies). *National Toxicology Program Technical Report Series*, 495, pp: 7-273.
- Pérez-Caballero, C., Pérez, A. y Moreno, L. (2005). Probable metahemoglobinemia tras la administración de EMLA. *Anales de pediatría*, 63, pp: 179-180.
- Sánchez-Echaniz, J., Benito, J. y Mintegui, S. (2001). *Methemoglobinemia and consumption of vegetables in infants*. *Pediatrics*, 107, pp: 1024-1028.
- Sander, C. y Jacobi, H. (1967). Methemoglobin poisoning in a 2-year old boy after eating spinach. *Zeitschrift für Kinderheilkunde*, 98, pp: 222-226.
- Savino, F., Maccario, S., Guid, C., Castagno, E., Farinasso, D., Cres, F., Silvestro, L. y Mussa, G.C. (2006.) Methemoglobinemia caused by the ingestion of courgette soup given in order to resolve constipation in two formula-fed infants. *Annals of Nutrition & Metabolism*, 50, pp: 368-371.

- SCF (1992). Scientific Committee for Food. Nitrates and nitrites. Reports of the Scientific Committee for Food. Twenty-sixth series.
- Schuster, B.E. y Lee, K. (1987). Nitrate and nitrite methods of analysis and levels in raw carrots, processed carrots and in selected vegetables and grain products. *Journal of Food Science*, 52 (6), pp: 1632-1636.
- Thomsom, B. (2004). Nitrates and nitrites dietary exposure and risk assessment. Institute of Environmental Science & Research Limited. Disponible en: http://www.foodsmart.govt.nz/elibrary/nitrates_nitrites_dietary.pdf [acceso: 29-3-11].
- UE (2006). Reglamento (CE) N° 1881/2006, de 19 de diciembre de 2006, por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios. DO L 364 de 20 de diciembre de 2006, pp: 5-34.
- Van Velzen, A.G., Sips, A.J.A.M., Schothorst, R.C., Lambers, A.C. y Meulenbelt, J. (2008). The oral bioavailability of nitrate rich vegetables in humans. *Toxicological Letters*, 181 (3), pp: 177-181.
- Walker, R. (1990). Nitrates, nitrites and N-nitrosocompounds: a review of the occurrence in food and diet and the toxicological implications. *Food Additives and Contaminants*, 7 (6), pp: 717-768.
- WHO (2003). World Health Organization. GEMS/FOOD Regional Diets. Food Safety Department. Geneva, Switzerland.