

TEOR DE NITRATO EM ALFACES DO TIPO CRESPA (*LACTUCA SATIVA*) PROVENIENTES DE DIFERENTES SISTEMAS DE CULTIVO

Letícia Chagas Virgili Felipe*

Camila Ortulan Pereira*

Resumo: A alface crespa (*Lactuca sativa*) é uma das hortaliças mais cultivadas e também a mais consumida pelos brasileiros. Essa planta absorve nitrogênio para realizar processos bioquímicos, em sua maior parte sob a forma de nitrato, tanto no solo quanto em sistemas hidropônicos. Diversos estudos apontam que a alta ingestão desse íon pode trazer sérios riscos à saúde devido, principalmente, à formação de nitrosaminas e de metahemoglobina. Em preocupação a isto e, para inferir sobre o consumo adequado, o objetivo desse trabalho foi determinar as concentrações de nitrato presente em alfaces do tipo crespa comparando os cultivos hidropônico, orgânico e convencional. A análise foi feita em triplicatas de cada tipo de cultivo utilizando a espectrofotometria UV-Visível. Os resultados mostraram concentrações significativas de nitrato, principalmente em alfaces hidropônicas. Além disso, houve alta variação, até mesmo entre as réplicas, com médias de 20.905,20 mg.kg⁻¹ MF; 5.989,06 mg.kg⁻¹ MF; 2.504,86 mg.kg⁻¹ MF (Matéria Fresca) para hidropônico, orgânico e convencional, respectivamente. Dentre esses resultados, foi visto que, não só as hidropônicas, mas também parte das alfaces orgânicas não estavam adequadas para o consumo, por ultrapassarem o limite de 5.000 mg.kg⁻¹ MF estabelecido pela legislação da União Europeia, utilizada como base nesse estudo. Nas alfaces cultivadas de modo convencional, duas das três amostras continham um teor de nitrato mais baixo do que das outras culturas e as três amostras apresentaram valores dentro do limite estabelecido. Assim, nossos resultados mostram que, em relação ao teor de nitrato presente, as alfaces de cultivo convencional são as mais adequadas ao consumo humano.

Palavras-chave: alface crespa; consumo humano; espectrofotometria UV-Visível; nitrato

NITRATE CONTENT IN CRESPA LETTUCE (*LACTUCA SATIVA*) FROM DIFFERENT CULTIVATION SYSTEMS

Abstract: The lettuce crespa (*Lactuca sativa*) is one of the most cultivated vegetables and also the most consumed by Brazilians. This plant absorbs nitrogen to perform biochemical processes, mostly in the form of nitrate, both in soil and in hydroponic systems. Several studies indicate that the high intake of this ion can bring serious health risks due mainly to the formation of nitrosamines and metahemoglobin. In concern to this and, to infer about the adequate consumption, the objective of this work was to determine the nitrate concentrations present in lettuces of the curly type comparing hydroponic, organic and conventional crops. The analysis was performed in triplicates of each type of crop using UV-Visible spectrophotometry. The results

*Faculdade de Tecnologia de Campinas: lele.felippe@outlook.com, camila.pereira15@fatec.sp.gov.br

showed significant nitrate concentrations, mainly in hydroponic lettuces. In addition, there was a high variation, even among the rejoinders, with averages of 20,905.20 mg.kg⁻¹ MF; 5,989.06 mg.kg⁻¹ MF; 2,504.86 mg.kg⁻¹ MF (Fresh Matter) for hydroponic, organic and conventional, respectively. Among these results, it was seen that not only hydroponics, but also part of organic lettuces were not suitable for consumption, because they exceeded the limit of 5,000 mg.kg⁻¹ MF established by European Union legislation, used as the basis for this study. In conventionally grown lettuces, two of the three samples contained a lower nitrate content than the other crops and the three samples presented values within the established limit. Thus, our results show that, in relation to the nitrate content present, conventional lettuces are the most suitable for human consumption.

Keywords: curly lettuce; human consumption; nitrate; UV-Visible spectrophotometry.

INTRODUÇÃO

A alface (*Lactuca sativa*) é uma das hortaliças mais cultivadas em todo o país (MEDEIROS *et al.*, 2007). Pertence à família Asteraceae, é oriunda da Ásia e os portugueses foram os responsáveis por sua chegada ao Brasil por volta do século XVI (FELTRIN *et al.*, 2005).

Lisas, americanas, crespas, mimosas, roxas e romanas são os principais tipos de alface e o plantio dessas pode ocorrer durante o ano todo (TRANI *et al.*, 2014). Adicionalmente, é possível realizar inúmeros cultivos no decorrer de um mesmo ano (MEDEIROS *et al.*, 2007).

Tanto no solo quanto na solução nutritiva em sistemas hidropônicos, as plantas absorvem nitrogênio em sua maior parte sob a forma de nitrato (NO₃⁻) (LUZ *et al.*, 2008). Um desequilíbrio entre a absorção e a assimilação desse íon pode causar o seu acúmulo nos tecidos vegetais, fazendo com que o nitrato remanescente seja armazenado nos vacúolos para ser absorvido futuramente (ANDRIOLO, 1999).

A concentração de nitrato também está relacionada à quantidade desse íon que o solo, ou a solução nutritiva, pode fornecer e às condições ambientais sob as quais a planta é cultivada, como o suprimento de luz, a temperatura e umidade relativa do ar (MAYNARD *et al.*, 1976).

Os vegetais frescos são a principal fonte de ingestão de nitrogênio sob a forma de nitrato na dieta humana (MAYNARD *et al.*, 1976). Considerando essa informação e o fato de que os brasileiros consomem alface com bastante frequência em sua dieta

(MOGHARBEL & MASSON, 2005), é necessário quantificar e entender sobre os teores de nitrato ingeridos pela população através desta hortaliça.

O risco à saúde não é oferecido diretamente pelo nitrato, mas sim pela sua forma reduzida, o nitrito (NO_2^-), reação esta que ocorre no nosso trato digestivo. Além disso, alguns estudos detectaram a possibilidade de o nitrito associar-se com aminas e formar as chamadas “nitrosaminas”, que são substâncias cancerígenas e mutagênicas (MAYNARD *et al.*, 1976).

Considerando o exposto, o objetivo desse trabalho foi avaliar o teor de nitrato presente em alfaces do tipo crespa, comparando o teor desse íon nos diferentes tipos de cultivo: hidropônico, orgânico e convencional. Essa comparação verificou a concentração de nitrato nos três sistemas de cultivo, e, inferiu sobre o mais adequado ao consumo humano.

Adicionalmente, foi verificado se os valores de concentração encontrados estavam de acordo com outros estudos já realizados e com os índices da Comunidade Europeia (Regulamento (UE) N.º1258/2011), visto que a legislação brasileira não estabelece normas sobre os teores de nitrato considerados aceitáveis para o consumo humano de hortaliças.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A hidroponia vem crescendo e gerando interesse no mundo inteiro. É uma técnica alternativa desenvolvida em laboratório cujo cultivo de plantas ocorre devido à utilização de uma solução nutritiva, com ou sem o uso de substratos naturais ou artificiais (FURTADO, 2008).

As alfaces são plantas exigentes com relação às suas necessidades nutricionais, sendo os nutrientes essenciais o potássio, nitrogênio, cálcio e fósforo, e, a deficiência desses nutrientes ocasiona uma diminuição direta na produtividade da cultura (YURI *et al.*, 2016). Por isso, a solução nutritiva deve conter todas as substâncias fundamentais para o crescimento da espécie em quantidades apropriadas (LUZ *et al.*, 2006).

Já o cultivo orgânico tem como base o manuseio do solo através da utilização de compostagem em pilhas, bem como a aplicação de micorrizas (*i.e.* associações

entre fungos e raízes de plantas que facilitam a absorção da água e nutrientes), que atuam na produtividade e saúde das culturas (SAMINÊZ *et al.*, 2007).

Por não fazer uso de adubos químicos de alta solubilidade e alta concentração, como os adubos nitrogenados, potássicos (cloreto de potássio) e fosfatados, os alimentos orgânicos possuem mais fibra e um acúmulo maior de matéria seca. Por isso, esses alimentos possuem uma qualidade superior e uma quantidade maior de nutrientes (SOUZA & RESENDE, 2006 apud SILVA *et al.*, 2011).

A agricultura convencional, por sua vez, apresenta o cultivo de vegetais no solo com um suprimento adequado de nutrientes, água, fertilizantes e pesticidas, que auxiliam no controle de pragas e doenças. Tanto os fertilizantes quanto os pesticidas são empregados para que se possa obter uma produção adequada, com o mínimo de perdas (GUADAGNIN *et al.*, 2005).

O nitrogênio, por não ser um mineral, chega ao solo através do ar ou através da adubação. No solo, a matéria orgânica promove a fixação desse nitrogênio e ele é prontamente oxidado a nitrato por bactérias, tornando-se assim, disponível para ser utilizado pelos vegetais (PRIMAVESI, 1980).

O nitrato em si não oferece risco à saúde humana, mas quando reduzido à nitrito, reação que ocorre já na saliva, pode se verificar uma possível associação desse nitrito com aminas secundárias. Associação esta que ocorre no ambiente ácido do estômago e forma as “nitrosaminas” que são compostos de estrutura química $R_2N-N=O$ (onde R geralmente é um grupo alquil) e considerados cancerígenos (MAYNARD *et al.*, 1976).

A formação de nitrosaminas não é a única adversidade da ocorrência de nitrito no sistema humano, pois ao chegar na corrente sanguínea, o nitrito é responsável pela oxidação do ferro presente na composição da hemoglobina, ocasionando uma anormalidade e passando a ser denominada “metahemoglobina”. Essa anormalidade faz com que não seja possível o transporte de oxigênio para a respiração celular, causando a doença intitulada como “metahemoglobinemia” conhecida como doença do "sangue azul" (WRIGHT & DAVISON, 1964).

MATERIAIS E MÉTODOS

Para a realização desse trabalho foram utilizadas nove amostras de alface do tipo crespa, sendo três de cada sistema de cultivo: hidropônico, orgânico e convencional. As amostras foram adquiridas na região de Campinas (estado de São Paulo) sendo que, no caso das orgânicas, sua procedência foi comprovada com o selo da IBD Certificações, maior certificadora da América Latina em produtos orgânicos.

A extração de nitrato das folhas de alface foi realizada a partir do método de Follett & Ratcliff (1963), no qual a parte superior das plantas de alface foi retirada e secada em estufa a 60 °C por dois dias. Em seguida, triturada e moída, em um moinho de fluxo contínuo TE-340, (marca Marconi). À matéria seca moída (0,5 g) foram adicionados 50 mL de água ultrapura e a solução ficou em banho-maria, com agitação magnética e aquecimento com temperatura aproximada de 60 °C, por 1 hora. A agitação não foi contínua, mas sim dividida em períodos de agitação de 5 minutos, seguidos de 15 minutos de repouso. A temperatura foi medida com um termômetro químico – RIVATERM n° 5236/2015, e as amostras filtradas em papel de filtro quantitativo de filtragem lenta (tamanho do poro 3 µm) da marca GE.

Já a determinação de nitrato presente nas plantas realizou-se através do “Procedimento do ácido salicílico” (CATALDO *et al.*, 1975), em que alíquotas de 0,2 mL de extrato receberam 0,8 mL de solução de ácido salicílico ($C_7H_6O_3$) 50 g L⁻¹ em H₂SO₄ concentrado e, após 20 minutos à temperatura ambiente, adicionou-se 19 mL de NaOH 2 mol L⁻¹ lentamente com uma pipeta para elevar o pH para básico (acima de 12).

Após a adição de NaOH houve liberação de calor na reação, assim as amostras foram novamente resfriadas à temperatura ambiente e analisadas em um espectrofotômetro UV-Visível (DR/4000V, Hach) em comprimento de onda de 410 nm, juntamente com a sua curva de calibração. Esta foi feita a partir de padrões conhecidos de NaNO₃ que dispuseram do mesmo tratamento dado às amostras. As concentrações de nitrato foram calculadas a partir da inserção dos valores de absorvância do mesmo na curva de calibração.

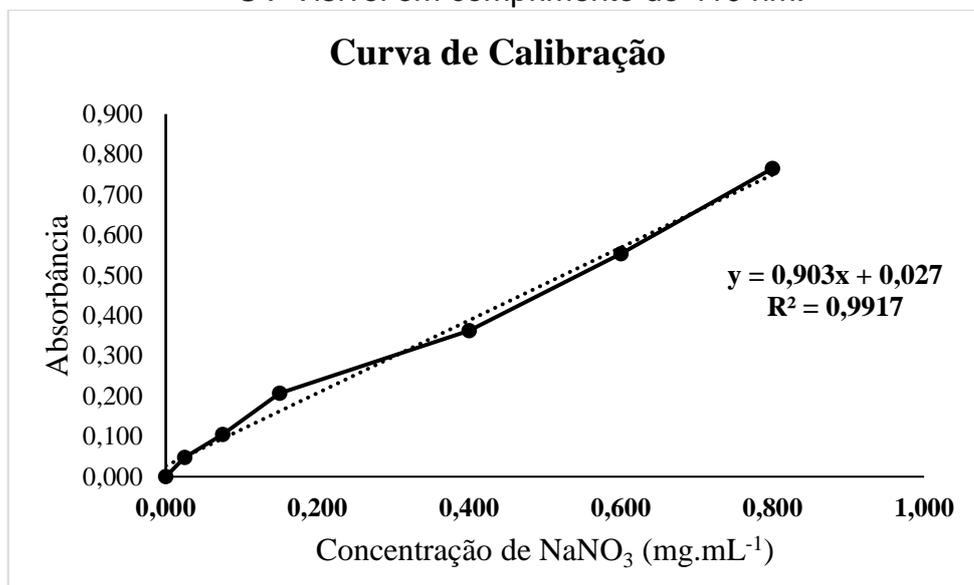
Os valores de concentração utilizados na curva foram 0,000 (branco) mg/mL de nitrato; 0,025 mg/mL de nitrato; 0,050 mg/mL de nitrato; 0,075 mg/mL de nitrato; 0,100 mg/mL de nitrato; 0,150 mg/mL de nitrato; 0,200 mg/mL de nitrato; 0,400 mg/mL

de nitrato; 0,600 mg/mL de nitrato; e 0,800 mg/mL de nitrato. O padrão, além de conferir a confiabilidade do ensaio, auxiliou a conversão dos resultados de absorbância obtidos em teor de nitrato presente na matéria seca das plantas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 apresenta a curva de calibração com padrão de NaNO_3 , sendo possível observar que a mesma apresentou linearidade e um valor de coeficiente de correlação 0,9917, sendo muito próximo de 1. Esse valor é considerado adequado para a curva e, conseqüentemente, para a sua relação com as amostras.

Figura 1. Curva de calibração obtida com padrão de NaNO_3 em espectrofotômetro UV-Visível em comprimento de 410 nm.



Fonte: Próprio autor (2018).

A Tabela 1 abaixo apresenta os teores de nitrato nas três amostras de cada tipo de cultivo analisadas, assim como a média, o desvio padrão e o coeficiente de variação entre as alfaces de um mesmo tipo de plantio.

A determinação do teor de nitrato presente nas amostras de alface crespa foi possível através dos valores de absorbância obtidos no espectrofotômetro. Esses valores foram inseridos substituindo o y na equação da curva de calibração ($y = 0,903x + 0,027$), possibilitando, o cálculo de x, que representa o valor da concentração de nitrato presente nas amostras.

Esse valor foi obtido em $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, sendo convertido em $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ MF para que fosse possível a comparação com a literatura, visto que os teores de nitrato apresentados em outros trabalhos e artigos utilizavam essa unidade.

Tabela 1. Teores de nitrato em alfaces crespas obtidas pelos sistemas de cultivo orgânico, hidropônico e convencional.

Tipos de cultivo	Absorbância	Teor de Nitrato ($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ de MF)	Teor de Nitrato ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de MF)	Média ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de MF)	Desvio Padrão	Coefficiente de Variação (%)
Orgânica 1	0,206	0,198	10113,60			
Orgânica 2	0,108	0,090	4576,54	5989,06	3630,57	60,62
Orgânica 3	0,085	0,064	3277,03			
Hidropônica 1	0,395	0,408	20792,20			
Hidropônica 2	0,554	0,584	29775,79	20905,20	8814,63	42,16
Hidropônica 3	0,242	0,238	12147,62			
Convencional 1	0,043	0,018	904,01			
Convencional 2	0,102	0,083	4237,54	2504,86	1670,67	66,70
Convencional 3	0,069	0,047	2373,02			

Fonte: Próprio autor (2018).

Após determinar a concentração de nitrato presente nas amostras de alface crespa dos três tipos de cultivo (hidropônico, orgânico e convencional), notou-se que os valores encontrados foram superiores aos de grande parte daqueles exibidos na literatura (SILVA *et al.*, 2011; GONÇALVES & CORINGA, 2017; entre outras), variando entre $904,01 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ MF (Matéria Fresca) e $29.775,79 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ MF. Sendo os teores de nitrato nas alfaces cultivadas em hidroponia muito maiores do que nas demais culturas.

Os teores de nitrato mais altos em alfaces hidropônicas em relação aquelas de cultivos convencionais e orgânicos já eram esperados, visto que em sistemas hidropônicos, as soluções nutritivas utilizadas são ricas em nitrato, prontamente disponibilizado e em condições favoráveis à absorção pelas raízes. Por isso, os teores de nitrato nos produtos hidropônicos tendem a ser mais altos do que os observados nas plantas cultivadas em outros sistemas (FAQUIM, 2004).

Houve ainda uma grande variação entre os valores de concentração de nitrato entre as amostras de um mesmo tipo de cultivo, e, portanto, desvios padrão significativos, sendo eles $3.630,57 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ MF para alfaces orgânicas, $8.814,63 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ MF para hidropônicas e $1.670,67 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ MF para convencionais. Essa diferença entre as treplicas também foi observada pelos coeficientes de variação acima de 40 %.

As amostras de alface orgânica apresentaram valores de concentração de nitrato superiores aos valores das convencionais, o que não era um resultado esperado, uma vez que os cultivos convencional e hidropônico são os que mais empregam fertilizantes nitrogenados, acarretando um alto nível desses compostos químicos nos vegetais (GUADAGNIN *et al.*, 2005).

Além disso, muitos estudos apontam para uma maior concentração de nitrato em alfaces convencionais do que orgânicas, como Pôrto *et al.* (2008) que encontraram valores como 75,62 mg.kg⁻¹ MF e 121,98 mg.kg⁻¹ MF nas folhas de alface de cultivo orgânico e convencional, respectivamente.

Uma possível explicação para essas amostras orgânicas com altos teores de nitrato pode estar no solo e na quantidade de nitrogênio fixado nele. Como, neste trabalho, não se sabe o local exato dos plantios dessas alfaces, as orgânicas podem ter sido cultivadas em solos mais ricos em nitrato do que as convencionais, que por sua vez precisariam de fertilizantes nitrogenados para um melhor crescimento. Uma vez que grande parte dos fertilizantes é perdida por lixiviação - cerca de 50% do nitrogênio adubado não é aproveitado pelas plantas - as amostras convencionais não conseguiriam absorver e acumular grandes quantidades de nitrato em suas folhas, apresentando teores de nitrato menor do que as orgânicas (PRIMAVESI, 1980).

É importante acentuar que um produto só recebe a nomeação de orgânico por intermédio de análises e avaliações de instituições certificadoras, como a IBD (Associação de Certificação Instituto Biodinâmico), e a garantia de processos de produção adequados é validada por meio de determinado selo de certificação. Mesmo considerando a venda direta aos consumidores, é necessário um cadastro junto ao órgão fiscalizador por parte dos agricultores (BRASIL, 2003).

As alfaces orgânicas adquiridas para análise possuíam o selo de certificação de Produto Orgânico do Brasil, comprovando que as mesmas atendiam a todas as especificações para produtos orgânicos feitas pelo IBD Certificações, maior certificadora da América Latina e a única certificadora brasileira de produtos orgânicos, sendo, portanto, confiavelmente procedentes de cultivos orgânicos.

Segundo a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO) e a Organização Mundial da Saúde (OMS), a dose diária considerada aceitável é de 3,65 mg de nitrato e 0,133 mg de nitrito por quilo de peso corporal (OHSE *et al.*, 2009). Com base nesses dados, considerando-se uma pessoa de 60 kg, sua ingestão

diária adequada de nitrato seria de 219 mg e, aproximadamente, 8 mg de nitrito.

Desse modo, tendo em vista os altos valores de concentração de nitrato encontrados no experimento, as pessoas devem atentar-se a quantidade de alface consumida, uma vez que até as de cultivo orgânico apresentaram valores significativos de concentração desse íon.

Podem-se considerar altas as concentrações de nitrato encontradas em todos os três tipos de cultivo, pois os valores variaram de 904,01 mg.kg⁻¹ MF a 29.775,79 mg.kg⁻¹ MF, sendo que muitos estudos apresentaram valores bastante inferiores como os de Xavier (2011), que variaram entre 135,96 mg.kg⁻¹ MF e 1.612,60 mg.kg⁻¹ MF, também os de Miyazawa *et al.* (2001), que encontraram valores um pouco maiores, entre 250 mg.kg⁻¹ MF e 11.600,00 mg.kg⁻¹ MF, mas ainda assim, inferiores aos encontrados nesse trabalho.

Com relação às alfaces de cultivo orgânico, Miyazawa *et al.* (2001) também apresentou concentrações de nitrato menores, cerca de 1.000 mg.kg⁻¹ MF e apenas 25% de suas amostras apresentaram teor superior a 3.000 mg.kg⁻¹ MF, o que não ocorreu nesse estudo, posto que as concentrações ficaram entre 3.277,03 mg.kg⁻¹ MF e 10.113,60 mg.kg⁻¹ MF.

Para Luz *et al.* (2008), esses valores divergentes encontrados na literatura, provavelmente, podem ser relacionados ao fato de os teores de nitrato serem muito sensíveis à metodologia adotada e, assim, podem variar por diversos motivos, tais como o procedimento de determinação, a parte da planta utilizada como amostra, o horário da amostragem, entre outros.

Além disso, a absorção de nitrato nos diversos tipos de alface, que desencadeou uma grande concentração do mesmo nas plantas, pode possuir diversas causas oriundas de variações no local de cultivo, entre elas, a baixa intensidade luminosa que, dentre os fatores ambientais, é o que mais influência no acúmulo desse íon e também o aumento da temperatura, que é um importante fator relacionado à absorção de nitrato, especialmente quando se tem níveis inferiores de nitrato na solução nutritiva de cultivos hidropônicos. Tendo em vista que não se tem o rastreamento dos locais de cultivo das amostras, pode-se considerar que esses fatores podem ter auxiliado para a absorção dessas altas concentrações de nitrato em nossas amostras (WRIGHT E DAVISON, 1964; MAYNARD *et al.*, 1976; COMETTI & BUGBEE, 2010).

Em virtude do fato de que a legislação brasileira não estabelece normas sobre os teores de nitrato considerados aceitáveis para o consumo humano de hortaliças, os resultados obtidos nesse trabalho foram comparados com os índices da Comunidade Europeia (Regulamento N.º1258/2011 - UE).

Esse Regulamento N.º1258/2011 considera como aceitável valor de concentração de nitrato até 5.000 mg.kg⁻¹ MF (COMISSÃO DAS COMUNIDADES EUROPEIAS, 2011). Portanto, uma das amostras de alface orgânica, que apresentou um teor de nitrato de 10.113,60 mg.kg⁻¹ MF, e todas as alfaces hidropônicas analisadas, segundo este regulamento, não estão adequadas para o consumo, uma vez que ultrapassaram significativamente, a concentração limite estipulada.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base no trabalho realizado, foi possível observar que as alfaces hidropônicas apresentaram maior teor de nitrato do que as orgânicas e convencionais, visto que, nas soluções nutritivas, o nitrato já está prontamente disponibilizado para absorção pela planta. Comparando-se convencionais e orgânicas, o resultado foi inesperado, com concentrações de nitrato menores nas convencionais do que nas orgânicas. Uma explicação para esse fato pode ser o cultivo das orgânicas em solos mais ricos em nitrato do que as convencionais.

Assim, as análises realizadas nesse estudo mostraram como mais adequada ao consumo humano a alface convencional, com concentrações dentro do limite de 5.000 mg.kg⁻¹ MF estabelecido pela Comunidade Europeia (Regulamento (UE) N.º1.258/2011).

O fato de a alface ser a folhosa mais consumida pelos brasileiros (MOGHARBEL & MASSON, 2005) foi o que levou à realização desse estudo, por isso, os altos teores de nitrato encontrados podem ser considerados preocupantes, principalmente em relação às alfaces hidropônicas. Uma vez que a presença de nitrato no organismo está diretamente associada com a formação de nitrosaminas, substâncias cancerígenas, e de metahemoglobina, que impossibilita o transporte de oxigênio para a respiração celular, essa alta concentração de nitrato nas alfaces analisadas pode vir a se tornar um risco à saúde da população brasileira.

AGRADECIMENTOS

À Escola Técnica Estadual Conselheiro Antônio Prado (ETECAP), pela concessão do uso do equipamento espectrofotômetro UV-Visível (DR/4000V, Hach), possibilitando a execução deste projeto.

REFERÊNCIAS

- ANDRIOLO, J.L. **Fisiologia das culturas protegidas**. Santa Maria: UFSM, 142 p. 1999.
- BRASIL. Lei Federal nº 10.831 de 23 de dezembro de 2003. Dispões sobre agricultura orgânica e dá outras providências. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Presidência da República, Brasília, 23 dez 2003. Seção 1, p.8. 2003
- CATALDO, D.A.; *et al.* Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v.6, p.71-80, 1975.
- COMETTI N.N; BUGBEE B. Acúmulo de nitrato na alface em cultivo hidropônico em função da temperatura, concentração do nitrato e do pulso de amônio na solução nutritiva. 2010. **Horticultura Brasileira** 28: S885-S892.
- COMISSÃO DAS COMUNIDADES EUROPEIAS. Regulamento (ue), n.º 1258/2011 43 de 2 de dezembro de 2011. **Jornal Oficial da União Europeia**, Bruxela, p. 1-3, 2011.
- FAQUIN, V. **Nutrição mineral e diagnose do estado nutricional de hortaliças**. Lavras: UFLA/FAEPE, 88 p. 2004.
- FELTRIN, A. L.; FILHO, A. B. C.; BRANCO, R. B. F.; BARBOSA, J. C; SALATIEL L. T. Produção de alface americana em solo e em hidroponia, no inverso e verão, em Jaboticabal, SP. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.9, n. 4, p. 505-509, 2005.
- FOLLETT, M.J.; RATCLIFF, P.W. Determination of nitrite and nitrate in meat products. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.14, p.138-144, 1963.
- FURTADO, L. F. **Vazões de aplicação de solução nutritiva, teor de nitrato em alface sob cultivo hidropônico e aceitabilidade sensorial**. 2008. 62 p.

- Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, 2008.
- GONÇALVES, T.O.; CORINGA, E. A. O. Caracterização Físico-Química e Teor de Nitrato em Alface do Tipo Crespa e Americana Cultivadas Sob Sistema Hidropônico e Convencional. **Higiene Alimentar**, v.31, n. 272/273, p. 102-106, 2017.
- GUADAGNIN, S.G.; RATH, S.; REYES, F. G. R. Evaluation of the nitrate content in leaf vegetables produced through different agricultural systems, **Food Additives & Contaminants**, v. 22, n. 12, p. 1203-1208, 2005.
- IBD Certificações. **IBD Orgânico e Orgânico Brasil**. Disponível em: <http://ibd.com.br/pt/lbdOrganico.aspx>. Acesso em: 10 out. 2018.
- LUZ, G.L. *et al.* A questão do nitrato em alface hidropônica e a saúde humana. **Cienc. Rural**, Santa Maria, v.38, n.8, p.2388-2394, Nov. 2008.
- LUZ, J.M.Q.; GUIMARÃES, S.T.M.R.; KORNDORFER, G.H. Produção hidropônica de alface em solução nutritiva com e sem silício. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.24, n.3, p.295-300, Sept.2006.
- MAYNARD, D.N.; *et al.* Nitrate accumulation in vegetables. **Advances in Agronomy**, New York, v.28, p.71-118, 1976.
- MEDEIROS, D. C.; *et al.* Produção de mudas de alface com biofertilizantes e substratos. **Horticultura Brasileira**, v. 25, n. 3, p. 433-436, 2007.
- MIYAZAWA M; KHATOUNIAN CA; ODENATH-PENHA LA. Teor de nitrato nas folhas de alface produzida em cultivo convencional, orgânico e hidropônico. **Agroecologia**, v. 2, p.23. 2001.
- MOGHARBEL, A. D. I.; MASSON, M. L. Perigos associados ao consumo de alface, (*Lactuca sativa*), in natura. **Alimentos e Nutrição**, v. 16, n. 1, p. 83-88, 2005.
- OHSE, S. *et al.* **Composição centesimal e teor de nitrato em cinco cultivares de alface produzidas sob cultivo hidropônico**. *Bragantia*, Campinas, v. 68, n. 2, p. 407-414, 2009.
- PÔRTO M.L. *et al.* Nitrate production and accumulation in lettuce as affected by mineral nitrogen supply and organic fertilization. **Horticultura Brasileira**, v. 26, p. 227-230. 2008.
- PRIMAVESI, A. **O Manejo Ecológico do Solo: A Agricultura em Regiões Tropicais**. São Paulo: Nobel, 1980.

- SAMINÊZ, T.C.O., *et al.* Princípios norteadores. In: HENZ, G.P.; ALCÂNTARA, F.A.; RESENDE, F.V. (eds). **Produção orgânica de hortaliças: o produtor pergunta, a Embrapa responde**. Brasília: Embrapa Informações Tecnológicas. p. 17-28. 2007
- SILVA, E.M.N.C.P. *et al.* Qualidade de alface crespa cultivada em sistema orgânico, convencional e hidropônico. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 2, p. 242-245, jun. 2011.
- TRANI, P.E. *et al.* Hortaliças: Alface (*Lactuca sativa* L.). **Boletim 200: Instruções Agrícolas Para as Principais Culturas Econômicas**, Campinas, v. 7, n. 200, p.8-10, jun. 2014.
- WRIGHT, M.J.; DAVISON, K.L. Nitrate accumulation in crops and nitrate poisoning in animals. **Advances in Agronomy**, New York, v.16, p.197-274, 1964.
- XAVIER, Viviane Lansky. **Teor de Nitrato em Alfaces Comercializadas na Cidade do Recife Produzidas Sob Diferentes Sistemas de Cultivo**. 2011. 73 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Saúde e Meio Ambiente, Universidade Federal de Pernambuco, Vitória de Santo Antão, 2011.
- YURI, J.E. *et al.* Nutrição e adubação da cultura da alface. In: PRADO, R. M.; CECÍLIO FILHO, A.B. (eds). **Nutrição e adubação de hortaliças**. Jaboticabal: FCAV/CAPEL. p. 559-570. 2016.