



MÁSTER EN HORTICULTURA MEDITERRÁNEA BAJO
INVERNADERO

Efecto de la iluminación artificial LEDs sobre el crecimiento y contenido de
nitratos en *microgreens* de lechuga

ALUMNO: FILIPPO BATTAFARANO
DIRECTOR: DR. MIGUEL URRESTARAZU

CURSO 2017-18
CONVOCATORIA: DICIEMBRE 2018

Efecto de la iluminación artificial LEDs sobre el crecimiento y contenido de nitratos en *microgreens* de lechuga

Filippo Battafarano, Miguel Urrestarazu

Universidad de Almería, Departamento de Agronomía, Almería, España.

ABSTRACT

Plantas de lechuga cultivadas con luz blanca artificial (LED) se recolectaron después de 10, 15, 35 y 50 días después la siembra para la producción de *microgreens*, brotes, *baby leaf* en una etapa inicial y *baby leaf*, respectivamente. Para todas las etapas de desarrollo del ciclo, se analizaron los contenidos de nitratos (NO_3^-). La acumulación de nitratos en los tejidos de las plantas fue claramente menor en las etapas iniciales (*microgreens* y brotes) de aproximadamente el 50% frente a las etapas finales (*baby leaf* inicial y *baby leaf*). Posteriormente, diferentes cvs. de *microgreens* de lechuga se cultivaron con diferentes tratamientos de lámparas LEDs: lámpara de luz blanca y dos lámparas para uso en horticultura cuyo espectro se ajusta más a la máxima efectividad fotosintética. La respuesta a la calidad del espectro de luz de la productividad y del contenido de nitratos fue variable para los diferentes cultivares. Sin embargo, cuando se utilizaban luces con un espectro continuo más cercano al ideal para la fotosíntesis frente a la luz blanca, se registraron diferencias significativas en el contenido de nitrato (< 20%) y mejoras en el rendimiento.

Palabras clave: nitratos, espectros de luz, lechuga, *microgreens*, *baby leaf*

1. Introducción

En los últimos años, los consumidores están buscando nuevos alimentos que, además de cubrir las necesidades nutricionales, puedan promover el bienestar, reducir el riesgo de enfermedades crónicas y, por lo tanto, promover un estilo de vida saludable (Kim et al., 2016). Algunos estudios han demostrado una correlación positiva entre el consumo de frutas y verduras y la reducción del riesgo de enfermedades crónicas como el cáncer, las enfermedades cardiovasculares y las enfermedades degenerativas (Boeing et al., 2012; Hung et al., 2004). Se supone que estos beneficios se deben a una alta concentración de compuestos bioactivos como el ácido ascórbico (vitamina C), carotenoides y tocoferoles ya conocidos para ser beneficioso para la salud humana (Xiao et al., 2012). Como resultado, a los productores e investigadores les interesa descubrir nuevos "*super alimentos*" que podrían representar una oportunidad para cumplir estas funciones.

Los *microgreens* son una nueva clase de vegetales comestibles, que se cosechan con hojas cotiledoneas bien expandidas y la presencia o ausencia de bocetos del primer par de hojas verdaderas (Kyriacou et al., 2016). La recolección, dependiendo de la especie, se lleva a cabo después de aproximadamente 7-21 días desde la germinación y al nivel del suelo, por lo que la porción comestible también incluye el hipocotilo (Sun et al., 2013). Los *microgreens* aparecieron en los menús de los restaurantes en San Francisco, California, a fines de los años 80 y desde entonces ganó popularidad entre los *chefs* y consumidores por la amplia gama de sabores intensos, la consistencia tierna y los colores brillantes que logran conferir a los platos (Renna et al., 2016). Además de estas características puramente organolépticas, estudios recientes han demostrado que los *microgreens* pueden contener cantidades más altas de fitonutrientes (ácido ascórbico, β -caroteno, filoquinona, α -tocóferoles), minerales y, además, una cantidad menor de nitratos en comparación con su producto en etapa madura (Pinto et al., 2015). Lester et al. (2010) han demostrado que las hojas jóvenes de espinaca generalmente presentan niveles más altos en el contenido de vitamina C, B9 y K1 y carotenoides (luteína, violaxantina, zeaxantina y β -caroteno) en comparación con las hojas maduras. Mientras, Oh y Carey (2010) mostraron que las plántulas jóvenes de lechuga, cosechadas 7 días después la germinación, registraban una mayor concentración fenólica total y capacidad antioxidante en comparación con las hojas maduras. En cambio, los *microgreens* de Brassicaceae (brócoli, repollo y rábano) son apreciados por la presencia de cantidades significativas de glucosilatonos, conocidos por combatir el cáncer (Kopsell y Sams., 2013). La concentración de nitrato acumulado en la planta depende de varios factores: de la variedad o cultivar (cv.) (Urrestarazu et al., 1998; Alvaro et al., 2016), desde la época del año en que se cultiva (Carrasco et al., 2006), de la radiación que recibe la planta (Roorda, 1984), del sistema de cultivo utilizado (Nicola et al., 2007), de las prácticas agronómicas y de los iones nutrientes aplicados (Urrestarazu et al., 1998; Fontana y Nicola., 2009). Las plantas, especialmente las de hojas verdes, son la principal fuente de ingesta de nitratos debido a su capacidad de acumulación (López et al., 2014) y, por lo tanto, pueden generar riesgos para la salud (Pinto et al., 2015). El nitrato solo no es perjudicial para el organismo, sin

embargo, el 5% de lo ingerido se reduce en el tracto gastrointestinal en el anión nitrito (NO_2^-) y otros metabolitos que se consideran tóxicos y que pueden causar trastornos como la metahemoglobinemia, especialmente en niños (Santamaria, 2006). Además, los nitratos pueden combinarse con otras aminas secundarias para convertirse en nitrosaminas, lo que aumenta el riesgo de cáncer gastrointestinal (Hord et al., 2009). Precisamente debido a los elevados niveles de nitrato encontrados en las plantas, la Unión Europea estableció en 2011 los niveles máximos permitidos: por ejemplo, 5000 y 4000 $\text{mg NO}_3^- \text{kg}^{-1}$ de peso fresco para lechugas cosechadas en invierno y primavera, respectivamente; mientras que 2500 $\text{mg NO}_3^- \text{kg}^{-1}$ de peso fresco para lechugas tipo iceberg (EC, 2011). Las condiciones de iluminación son muy influyentes en la morfología de los *microgreens* y en la biosíntesis y acumulación de compuestos químicos, especialmente en condiciones de crecimiento controlado (Kyriacou et al., 2016). Las principales fuentes de luz utilizadas hasta ahora han sido las lámparas fluorescentes y las lámparas de alta presión de sodio. En la última década, uno de los mayores desarrollos de iluminación artificial en horticultura fueron las luces LED (Morrow, 2008). Los sistemas de iluminación LED tienen ventajas importantes sobre los sistemas de iluminación tradicionales, que incluyen su composición espectral, durabilidad, especificidad de longitud de onda, bajo calor radiante y eficiencia energética (Urrestarazu et al., 2016). Los efectos de la calidad del espectro de luz en los parámetros de producción y en el aumento de compuestos bioactivos en plantas ya se conocen en la literatura (Brazaityte et al., 2015; Samuolienė et al., 2017; Hasan et al., 2017; Urrestarazu et al., 2016). Sin embargo, existe escasa información que relacione el contenido de nitratos entre *microgreens* y los estadios más adultos (Pinto et al., 2015); asimismo del efecto de la calidad de la luz sobre el mismo contenido y el rendimiento en *microgreens* (Ohashi-Kaneko et al., 2007). El objetivo de este trabajo fue, por lo tanto, comparar el contenido de nitratos en distintas etapas de crecimiento del cultivo y la efectividad de la calidad de la luz sobre el contenido de nitratos y rendimiento en *microgreens*.

2. Materiales y métodos

El experimento se llevó a cabo en la Universidad de Almería (España), en una cámara de crecimiento controlado de (10 m x 2.5 m) entre 2017-2018.

2.1 Experimentos

El trabajo se dividió en dos experimentos con diferentes cultivares (cvs.) de lechuga:

2.1.1 Experimento I

Se utilizó una lechuga de tipo romana (*Lactuca sativa* cv. Cervantes). Las plantas se recolectaron en cuatro etapas distintas de su ciclo: *microgreens* con 0-1 hojas verdaderas, brotes con 2-3 hojas, *baby leaf inicial* con 7-8 hojas verdaderas y *baby leaf* con 15-16 hojas verdaderas, después de 10, 15, 35 y 50 días desde la siembra, respectivamente. Para los *microgreens* y brotes, se utilizaron 3.3 g de semillas por bandeja (43.5 cm x 28 cm), rellenas de fibra de coco, y que representaban una repetición. Para *baby leaf inicial* y *baby leaf* se usaron macetas de 1 L, rellenas de fibra de coco, que contenían 4 plantas cada una y que representaban una repetición. Después de la cosecha, las plantas se almacenaron en bolsas térmicas y se congelaron a una temperatura de -24 °C. Todas las plantas se fertilizaron con una solución nutritiva estándar recomendada por Sonneveld y Strasser (1994), a un pH de 5.8 y CE de 2.2 (dS m⁻¹). Las características físicas de la fibra de coco utilizada como sustrato han sido descritas anteriormente por (Morales y Urrestarazu, 2014).

2.1.2 Experimento II

Se utilizaron tres distintos cvs. de lechuga: (*Lactuca sativa* cv. Romana), (*Lactuca sativa* cv. Angel) y (*Lactuca sativa* cv. Mantecosa). Todas las plantas se recolectaron en la etapa de *microgreens* (0-1 hojas verdaderas) 10 días después de la siembra. Se utilizaron 3.3 g de semillas por cada cv. y por bandeja (43.5 cm x 28 cm), rellenas de fibra de coco, y que representaban una repetición. El resto de los procedimientos fue igual al experimento I.

2.2 Tratamientos de luz

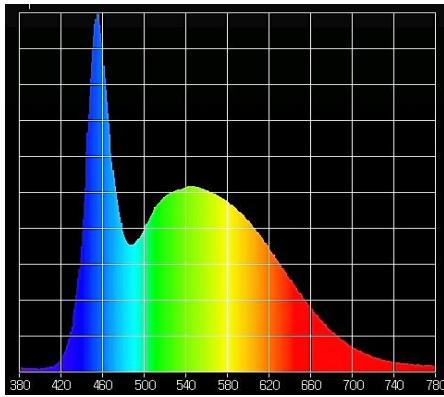
Para el primer experimento, se utilizaron lámparas LED blancas L 18 T8 Roblan® (Toledo, España). Para el segundo experimento se utilizaron lámparas LED blancas L 18 T8 Roblan® (Toledo, España) como control (T0), L 18 NS1 Valoya® (Helsinki, Finlandia) y L18 AP67 Valoya® (Helsinki, Finlandia), lámparas LED para uso agronómico, como los espectros a evaluar y respectivamente (T1) y (T2). Las especificaciones técnicas se muestran en la Tabla 1. Para la determinación de las características espectrales, se realizaron seis mediciones, a una distancia de 20 cm del panel en el que se alojaron los tubos de LED. Se usó un fotoradiómetro HD 2302.0 (Delta OHM®, Veneto, Italia) con sondas LP 471 PAR y LP 471 PHOT para medir la densidad del flujo fotónico ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\text{ s}^{-1}$) y la luminancia (lux), respectivamente. Los espectros de los tratamientos T0, T1 y T2 se presentan en la Figura 1 y se registraron con el espectrómetro UPRtek MK350S (Miaoli, Taiwán). El fotoperíodo fue de 16/8 h (día/noche) a una temperatura de 20 °C y humedad relativa entre 80 y 85%.

Tabla 1

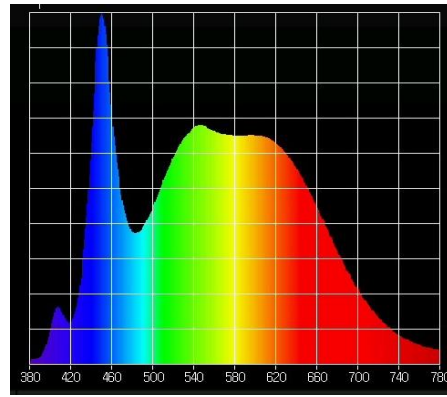
Datos de intensidad de flujo fotónico (PPF, $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\text{ s}^{-1}$) e iluminación (lux) de diodos emisores de luz (LED) de diferentes espectros de lámparas utilizadas en horticultura.

Tratamiento de luz	Tipo de lámpara LED	PPF	Iluminación
T0	L18 T8 Roblan	150±7	6447±186
T1	L 18 NS1 Valoya	141±19	5161±229
T2	L18 AP67 Valoya	107±7	3837±358

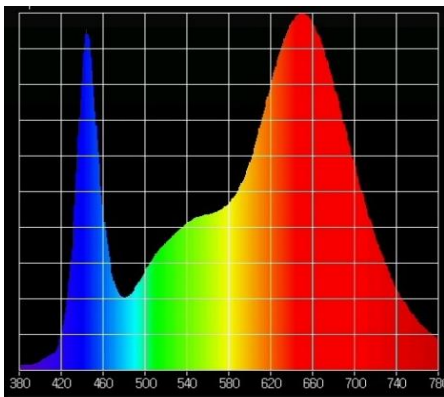
(n=6)



T0



T1



T2

Figura 1

Distribuciones del flujo fotónico en el espectro de 380 a 780 nm para los tratamientos. T0 = L18 T8 Roblan®, T1 = L18 NS1 Valoya®, T2 = L18 AP67 Valoya®.

2.3 Determinación del contenido de nitratos

El contenido de nitrato se midió con el LAQUAtwin NO₃⁻ (HORIBA, Kyoto, Japón) (Chang y Chang, 2014). De la muestra congelada de lechuga, se extrajo la linfa mediante molienda de la misma, posteriormente el jugo obtenido se almacenó en microtubos de 2 mL y se dejó reposar hasta alcanzar la temperatura de 20-22 °C. Se analizó la muestra agregando parte del jugo al sensor del aparato.

2.4 Análisis estadístico

El diseño experimental fue en bloques completos al azar con 8 repeticiones para 4 tratamientos y 3 tratamientos para los experimentos 1 y 2, respectivamente. Los datos se sometieron a un análisis de varianza y sus medias se compararon con una prueba de Tukey utilizando Statgraphics Centurion® 18 (Warrenton, VA) (2018).

3. Resultados y discusión

3.1 Experimento I. Crecimiento con luz artificial blanca

3.1.1 Crecimiento vegetativo

La Figura 2 muestra las etapas de crecimiento de la lechuga en función de su número de hojas. El crecimiento vegetativo expresado a través del peso fresco, tuvo un crecimiento curvilíneo polinomial con una significativa correlación ($R^2 = 0.8240$) superior a un ajuste líneal ($R^2 = 0.6362$). En la fase inicial tuvo una tendencia de crecimiento exponencial, pasando de la etapa inicial de *microgreens* a la etapa de brotes donde el peso fresco incrementó de un 122%; en cambio, en las siguientes etapas pasó de un 12 a un 10% entre las etapas de brote a *baby leaf inicial* y de esta a *baby leaf*, respectivamente. Se necesitaron 10, 15, 35 y 50 días para obtener *microgreens*, brotes, *baby leaf inicial* y *baby leaf*, respectivamente. Resultados similares fueron obtenidos por Pimpini et al. (2005) para la etapa de *baby leaf* en lechugas.

El incremento del número de hojas se ajustó a una curva sigmoidea. Hubo un desarrollo de hojas mas lento entre la fase de *microgreens* y brotes, con una diferencia significativa del 14%. Entre el estadio de brotes y *baby leaf inicial* se produjo un gran incrementó muy significativo de un 350%, para el siguiente paso (*baby leaf*) éste aumento siguió siendo significativo pero fue mucho mas moderado de un 12%.

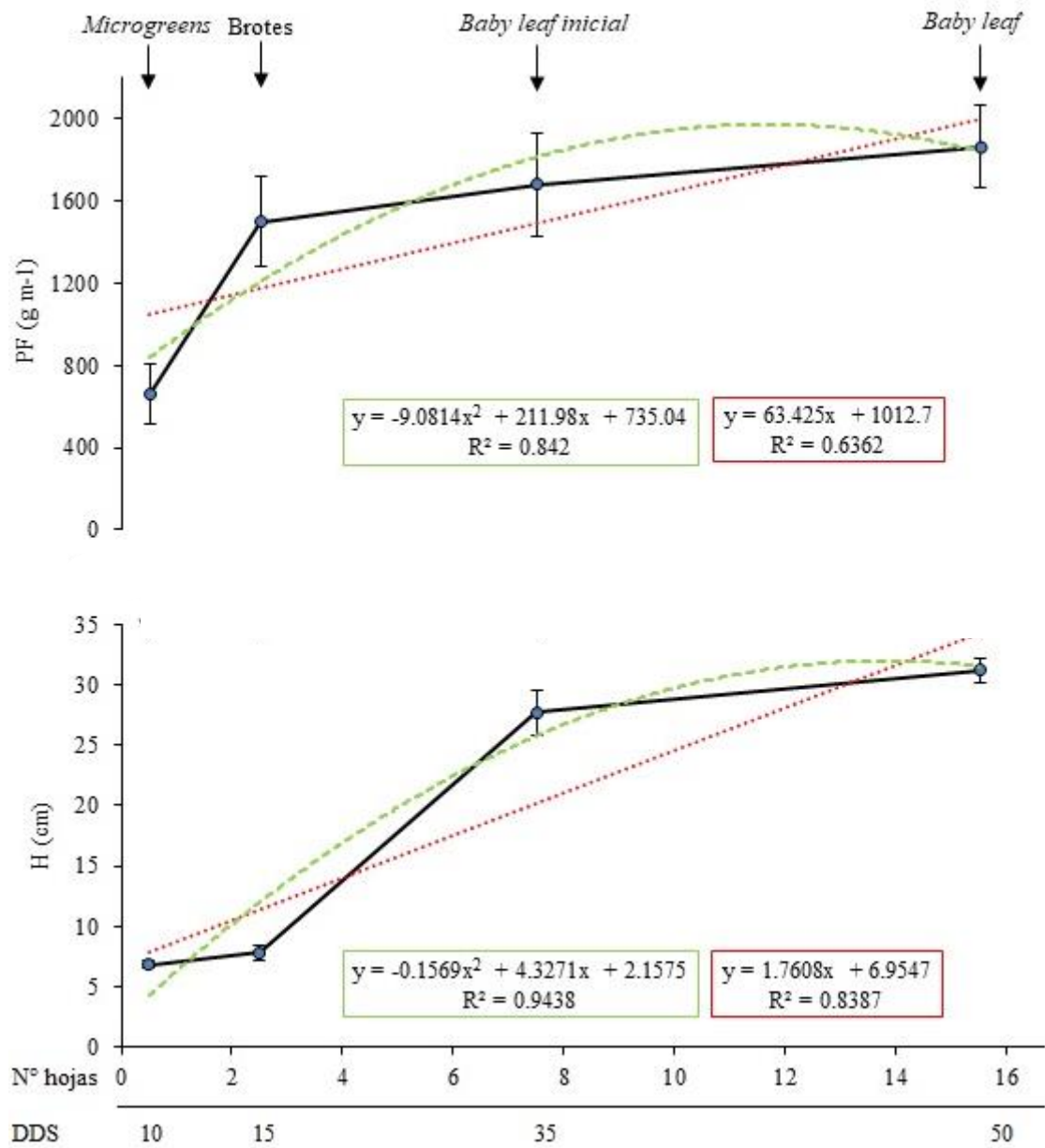


Figura 2. Peso fresco y altura de lechuga en función del estadio de desarrollo de su ciclo (n=8). DDS = días después de la siembra.

3.1.2 Contenido de nitratos

Los valores del contenido en nitratos de las lechugas del experimento I se muestran en la Tabla 2. Todos los valores medios del contenido de nitratos estuvieron muy por debajo de los límites legales establecidos por las regulaciones europeas (EC, 2011). Este menor contenido varió entre un 80% menor (para *microgreens* y brotes) hasta un 70% a 50% en el caso de *baby leaf inicial* y *baby leaf*, respectivamente.

Los resultados de contenido en nitratos de estas primeras etapas también fueron menores a los valores publicados para Europa en el informe “*European Food Safety Authority*” (EFSA, 2008), o con los publicados por Sánchez et al. (2005) para USA, excepto para *baby leaf*.

Se registró una importante y muy significativa variación del contenido de nitratos en las diferentes etapas de desarrollo.

A partir del estadio de *baby leaf inicial* se incrementaba significativamente el contenido en nitratos hasta un 1250 mg kg⁻¹ peso fresco, que supone un 56% más alto que los brotes y *microgreens*. El valor más alto se registraba en la fase de *baby leaf* con un 230% más que los brotes y *microgreens*. Pinto et al. (2015) trabajando con lechugas en invernaderos con iluminación natural encontraron que los contenidos de nitratos en las lechuga *baby leaf* eran un 80% menor que en el estadio más maduro. En la acelga, los valores medios de nitrato están entre 3800 y 4500 mg kg⁻¹ (Santamaria et al., 1999), pero Bulgari et al., (2016) han alcanzado valores inferiores a aproximadamente un tercio en la etapa de *microgreens*.

Tabla 2

Contenido de nitratos (mg·kg⁻¹ PF) en lechuga con iluminación LED.

N° Hojas			
0-1	2-3	7-8	15-16
870 c	730 c	1250 b	1913 a

PF = peso fresco.

Diferentes letras mayúsculas entre las columnas indican diferencias significativas a $P \leq 0.05$ en un test de Tukey (n=8).

3.2 Experimento II. Efecto del espectro de iluminación

3.2.1 Crecimiento vegetativo

El efecto de los tres espectros estudiados fue variable, pero en ningún caso la luz blanca, testigo (T0), tuvo un mejor rendimiento que las iluminarias comerciales diseñadas para su uso en iluminación artificial en horticultura que ajustan el espectro a la mejor eficiencia para la fotosíntesis (T1 y T2) (Tabla 3).

El espectro T2, a excepción del peso fresco del cv. Romana, en todos los casos tuvo un mejor comportamiento para el crecimiento que el testigo. De las tres variedades ensayadas fue el cv. Mantecosa quien registró el mejor comportamiento en los parámetros de peso fresco y altura de la planta, con un significativo incremento del 51 y 40% del T2 frente al testigo, respectivamente. Para el espectro T1 también solo el cv. Mantecosa registró una significativa mejora respecto a la luz blanca (T0). Por tanto los resultados del crecimiento de T1 no fueron tan claros a los obtenidos para el T2.

El cv. Romana fue de los tres evaluados el que menor respuesta al espectro registró.

Ya se obtuvieron resultados similares en Urrestarazu et al. (2016) trabajando con la misma iluminaria que corresponde al tratamiento T2 en lechuga, tomate y pimiento; también Chang y Chang (2014) en lechuga habían encontrado un mejor crecimiento cuando utilizaban iluminarias de mejor ajuste a la fotosíntesis que la luz blanca. Goins et al. (2001) registraron igualmente un aumento significativo en la biomasa fresca, en radicchio y lechuga, al utilizar LED con radiación roja prevalente en comparación con las lámparas blancas fluorescentes. Una consideración equivalente es la que se obtiene cuando algunos autores alcanzan resultados similares al adicionar a la luz blanca el espectro rojo, alcanzado un significativo aumento (28%) en *baby leaf* de lechuga (Li y Kubota., 2009).

Tabla 3

Desarrollo vegetativo de peso fresco (PF, g m⁻²) y altura (H, cm) de tres cvs. de lechuga para la producción de *microgreens* en función de diferentes espectros de luz.

	PF			H		
	Mantecosa	Angel	Romana	Mantecosa	Angel	Romana
T0	800 bA	529 bB	914 aA	5.12 cB	3.30 bC	6.52 bA
T1	1090 aA	593 bB	1060 aA	6.26 bA	3.49 bB	6.75 abA
T2	1211 aA	694 aC	892 aB	7.28 aA	4.42 aB	7.21 aA

T0 = L18 T8 Roblan®, T1 = L18 NS1 Valoya®, T2 = L18 AP67 Valoya®.

Distintas letras minúsculas y mayúsculas indican diferencias significativas a $P \leq 0.05$ en un test de Tukey entre tratamiento de luz y cvs., respectivamente (n=8).

3.2.2 Efecto sobre el contenido de nitratos

Todos los niveles del contenido en nitrato, al igual que ocurrió en el experimento I, estuvieron por debajo de los límites regulados en Europa (EC, 2011), así como de la media del informe EFSA (2008) y de la referencia en USA de Sánchez et al. (2005).

La luz LED blanca obtuvo siempre una significativa y mayor concentración de nitratos (del 20%) que los espectros T1 y T2 (Tabla 4).

Al comparar T1 frente a T2 los resultados fueron dispares. El espectro T1 en el cv. Mantecosa fue mejor, mientras que para la cv Angel el espectro T2 fue el que presentó el mejor comportamiento, en cambio para cv. Romana no se registró diferencias en el contenido de nitratos entre los espectros T1 y T2.

Ohashi et al. (2007) ya publicaron en estudios anteriores que la cantidad de nitrato es significativamente menor (64%) en los tratamientos con luz roja, azul o una mezcla entre los dos en comparación con la luz blanca en lechuga y espinacas. Lin et al. (2013), por otro lado, encontraron una reducción de nitrato del 22% en lechugas cultivadas con una combinación de rojo, azul y blanco en comparación con aquellas cultivadas con lámparas fluorescentes. Lillo y Appenroth (2001) ya encontraron un descenso de los niveles de nitratos utilizando luz roja ya que estimulaba la actividad de la enzima nitrato-reductasa, lo que permite obtener mejoras en la salud de la ingesta de lechuga. También se obtuvieron resultados similares de Chang y Chang (2014) en lechuga y de Qi et al. (2007) en espinacas. Probablemente se deba a que las luces rojas y azules promueven el crecimiento y el nivel de carbohidratos en las plantas (Matsuda et al., 2004; Yorio et al., 2001) que también había descrito Champigny (1995) argumentando que los carbohidratos pueden proporcionar energía para el metabolismo del nitrógeno y, por lo tanto, estimular el metabolismo de los nitratos.

Tabla 4

Contenido de nitratos ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ PF) en *microgreens* de diferentes cvs. de lechuga en función de diferentes espectros de luz.

Tratamiento	Mantecosa	Angel	Romana
T0	1008 aAB	932 aB	1125 aA
T1	803 bA	823 abA	783 bA
T2	925 abA	787 bAB	717 bB

T0 = L18 T8 Roblan[®], T1 = L18 NS1 Valoya[®], T2 = L18 AP67 Valoya[®]

Diferentes letras minúsculas y mayúsculas indican diferencias significativas a $P \leq 0.05$ en un test de Tukey entre tratamiento de luz y cvs., respectivamente (n=8).

5. Conclusiones

En el crecimiento desde semilla a baby leaf (50 días) se duplica el contenido de nitratos. Por tanto es preferible el consumo de microgreen en comparación a plántulas de lechuga de más de 7-8 hojas verdaderas desde un punto de vista de salud humana.

En un cultivo de microgreens utilizando lámparas LEDs de mejor calidad de su luz (espectros continuos más ajustados a una efectividad de la fotosíntesis) siempre se produce una mejora del rendimiento.

La respuesta a la calidad de la luz de la productividad y del contenido en nitratos fue distinta en función del cultivar. El cv. Romana no tuvo una respuesta clara frente al rendimiento en función de la calidad de la luz pero fue el cv. que más redujo la concentración de nitratos al aplicarle un adecuado espectro de luz LED frente al testigo de luz blanca.

El contenido de nitratos resultó claramente y significativamente reducido (>20%) cuando se mejoraba la calidad de la luz.

Referencias

- Álvaro, J.A., Carrasco, S., & Urrestarazu, M., (2016). Effect of the organic production system and seasonality on nitrate content in vegetables from Spanish supermarkets. *Sylwan*, 160(1), 348–363.
- Boeing, H., Bechthold, A., Bub, A., Ellinger, S., Haller, D., Kroke, A., Leschik-Bonnet, E., Müller, M. J., Oberritter, H., Schulze, M., Stehle, P., & Watzl, B. (2012). Critical review: Vegetables and fruit in the prevention of chronic diseases. *European Journal of Nutrition*, 51(6), 637–663. <https://doi.org/10.1007/s00394-012-0380>
- Brazaityte, A., Sakalauskiene, S., Samuoliene, G., Jankauskiene, J., Viršile, A., Novičkovas, A., Sirtautas, R., Miliauskiene, J., Vastakaite, V., Dabasinskas, L., & Duchovskis, P. (2015). The effects of LED illumination spectra and intensity on carotenoid content in Brassicaceae microgreens. *Food Chemistry*, 173, 600–606. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.10.077>
- Bulgari, R., Baldi, A., Ferrante, A., & Lenzi, A. (2016). Yield and quality of basil, Swiss chard, and rocket microgreens grown in a hydroponic system. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 45(2), 119–129.
- Carrasco, G., Tapia, J., & Urrestarazu, M., (2006). Nitrate content in lettuces grown in hydroponic systems. *Idesia*, 24(1), 25–30. <https://doi.org/10.4067/s0718-34292006000100005>.
- Champigny, M. L. (1995). Integration of photosynthetic carbon and nitrogen metabolism in higher plants. *Photosynthesis Research*, 46(1–2), 117–127. <https://doi.org/10.1007/BF00020422>
- Chang, C. L., & Chang, K. P. (2014). The growth response of leaf lettuce at different stages to multiple wavelength-band light-emitting diode lighting. *Scientia Horticulturae*, 179, 78–84. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2014.09.013>
- EC, 2011. European Commission Regulation No. 1258/2011 of 2 December 2011 amending Regulation No. 1881/2006 as regards maximum levels for nitrates in foodstuffs. OJ. L. 320, 15–17.
- EFSA, 2008. European Food Safety Authority. Nitrate in vegetables. Scientific opinion of the panel on contaminants in the food chain. J 689, 1–79.
- Fontana, E., & Nicola, S., (2009). Traditional and soilless culture systems to produce corn salad (*Valerianella oleratoria* L.) and rocket (*Eruca Sativa* Mill.) with low nitrate content. *Journal of Food Agriculture and Environment*, 7(2), 405–410.
- Goins, G. D., Ruffe, L. M., Cranston, N. A., à, N. C., Wheeler, R. M., & Sager, J. C. (2001, July). Salad Crop Production Under Different Wavelengths of Red Light-emitting Diodes (LEDs). SAE Technical Paper presentation at 31st International Conference on Environmental Systema, Orlando, Florida. <https://doi.org/10.4271/2001-01-2422>
- Hasan, M. M., Bashir, T., Ghosh, R., Lee, S. K., & Bae, H. (2017). An overview of LEDs' effects on the production of bioactive compounds and crop quality. *Molecules*, 22(9), 1–12. doi.org/10.3390/molecules22091420

- Hord, N.G., Tang, Y.P., & Bryan, N.S., (2009). Food sources of nitrates and nitrites: the physiologic context for potential health benefits. *American Journal of Clinical Nutrition*, 90(1), 1–10.
- Hung, H. C., Joshipura, K. J., Jiang, R., Hu, F. B., Hunter, D., Smith-Warner, S. A., Colditz, G. A., Rosner, B., Spiegelman D., & Willett, W. C. (2004). Fruit and vegetable intake and risk of major chronic disease. *Journal of the National Cancer Institute*, 96(21), 1577–1584. <https://doi.org/10.1093/jnci/djh296>
- Kim, M. J., Moon, Y., Tou, J. C., Mou, B., & Waterland, N. L. (2016). Nutritional value, bioactive compounds and health benefits of lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Journal of Food Composition and Analysis*, 49, 19–34. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2016.03.004>
- Kopsell, D. A., & Sams, C. E. (2013). Increase in shoot tissue pigments, glucosinolates, and mineral elements in sprouting broccoli after exposure to short-duration blue light from light emitting diodes. *Journal of American Society of Horticultural Science*, 138(1), 31–37.
- Kyriacou, M. C., Roupael, Y., Di Gioia, F., Kyratzis, A., Serio, F., Renna, M., De Pascale, S., & Santamaria, P. (2016). Micro-scale vegetable production and the rise of *microgreens*. *Trends in Food Science & Technology*, 57(1), 103–115. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.09.005>
- Lester, G. E., Hallman, G. J., & Pérez, J. A. (2010). γ -Irradiation dose: Effects on baby-leaf spinach ascorbic acid, carotenoids, folate, α -tocopherol, and phylloquinone concentrations. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(8), 4901–4906. <https://doi.org/10.1021/jf100146m>
- Li, H., Tang, C., & Xu, Z. (2013). The effects of different light qualities on rapeseed (*Brassica napus* L.) plantlet growth and morphogenesis in vitro. *Scientia Horticulturae*, 150, 117–124.
- Li, Q., & Kubota, C. (2009). Effects of supplemental light quality on growth and phytochemicals of baby leaf lettuce. *Environmental and Experimental Botany*, 67(1), 59–64. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2009.06.011>
- Lillo, C., & Appenroth, K. J. (2001). Light regulation of nitrate reductase in higher plants: Which photoreceptors are involved?. *Plant Biology*, 3(5), 455–465. <https://doi.org/10.1055/s-2001-17732>
- Lin, K. H., Huang, M. Y., Huang, W. D., Hsu, M. H., Yang, Z. W., & Yang, C. M. (2013). The effects of red, blue, and white light-emitting diodes on the growth, development, and edible quality of hydroponically grown lettuce (*Lactuca sativa* L. var. capitata). *Scientia Horticulturae*, 150, 86–91. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2012.10.002>
- López, A., Javier, G. A., Fenoll, J., Hellín, P., & Flores, P. (2014). Chemical composition and antioxidant capacity of lettuce: Comparative study of regular-sized (Romaine) and baby-sized (Little Gem and Mini Romaine) types. *Journal of Food Composition and Analysis*, 33(1), 39–48. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2013.10.001>
- Matsuda, R., Ohashi-Kaneko, K., Fujiwara, K., Goto, E., & Kurata, K. (2004). Photosynthetic characteristics of rice leaves grown under red light with or without supplemental blue light. *Plant and Cell Physiology*, 45(12), 1870–1874. <https://doi.org/10.1093/pcp/pch203>
- Morales, I., & Urrestarazu, M. (2014). Effect of a Passive Mixing Device on the Electrical Conductivity

- and pH Values of a Nutrient Solution. *Journal of Irrigation and Drainage Engineering*, 140(4), 04013022. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)IR.1943-4774.0000699](https://doi.org/10.1061/(ASCE)IR.1943-4774.0000699)
- Morrow, R. C. (2008). LED lighting in horticulture. *HortScience*, 43, 1947–1950.
- Nicola, S., Hoeberechts, J., & Fontana, E., (2007). Ebb-and-flow and floating systems to grow leafy vegetables: a review for rocket, corn salad, garden cress and purslane. *Acta Horticulturae*, 747, 585–592.
- Oh, M., & Carey, E. E. (2010). Regulated Water Deficits Improve Phytochemical Concentration in Lettuce. *Journal of American Society of Horticultural Science*, 135(3), 223–229. <https://doi.org/10.1525/sp.2007.54.1.23>.
- Ohashi-Kaneko, K., Takase, M., Kon, N., Fujiwara, K., & Kurata, K. (2007). Effect of light quality on growth and vegetable quality in leaf lettuce, spinach and komatsuna. *Environmental Control Biology*, 45, 189–198.
- Pimpini, F., Giannini, M., & Lazzarin, R. (2007). *Ortaggi da foglia da taglio*. Italy: Veneto Agricoltura, (Chapter 4).
- Pinto, E., Almeida, A. A., Aguiar, A. A., & Ferreira, I. (2015). Comparison between the mineral profile and nitrate content of *microgreens* and mature lettuces. *Journal of Food Composition and Analysis*, 37(3), 38–43. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2014.06.018>
- Qi, L. D., Liu, S. H. Q., Xu, L., Yu, W. Y., Lang, Q. L., & Hao, S. H. Q. (2007). Effects of light qualities on accumulation of oxalate, tannin and nitrate in spinach. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Engineering*, 4, 201–205.
- Renna, M., Di Gioia, F., Leoni, B., & Santamaria, P., (2016). Due espressioni dell'agrobiodiversità in orticoltura: germogli e micrortaggi. *Italus Hortus*, 23(1), 31–44.
- Roorda, E.J.P., (1984). Nitrate in vegetables under protected cultivation. *Acta Horticulturae*, 145, 251–256.
- Samuolienė, G., Viršilė, A., Brazaitytė, A., Jankauskienė, J., Sakalauskienė, S., Vaštakaitė, V., Novickovas, A., Viskeliene, A., Sasnauskas, A., & Duchovskis, P. (2017). Blue light dosage affects carotenoids and tocopherols in *microgreens*. *Food Chemistry*, 228, 50–56. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.01.144>
- Sánchez, C.A., Crump, K.S., Krieger, R.I., Khandaker, N.R., & Gibbs, J.P., (2005). Perchlorate and nitrate in leafy vegetables of North America. *Environmental Science Technology*, 39(24), 9391–9397.
- Santamaria, P., (2006). Nitrate in vegetables: toxicity, content, intake and EC regulation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(1), 10–17.
- Santamaria, P., Elia, A., Serio, F., Gonnella, M., & Parente, A., (1999). Comparison between nitrate and ammonium nutrition in fennel, celery, and Swiss chard. *Journal of Plant Nutrition*, 22, 1091–1106.

- Sonneveld, C., & Straver, N., (1994). Voedingsoplossinger voor groenten en bloemen geteeld in water of substraten (Nutrient solutions for vegetables and flower grown in water or substrates). 10th ed. Proefstation voor Tuinbouw order Glas, Naaldwijk, Netherlands.
- Statgraphics Centurion X.V.I.I. 2018. Statgraphics Net for Windows 7. 10 Jan. 2018. <https://www.statgraphics.net/descargas-centurion-xvii/>.
- Sun, J., Xiao, Z., Lin, L. Z., Lester, G. E., Wang, Q., Harnly, J. M., & Chen, P. (2013). Profiling polyphenols in five brassica species *microgreens* by UHPLC-PDA-ESI/HRMSn. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(46), 10960–10970. <https://doi.org/10.1021/jf401802>
- Urrestarazu, M., Nájera, C., & Gea, M.M., (2016). Effect of the spectral quality and intensity of light-emitting diodes on several horticultural crops. *HortScience*, 51(3), 268–271.
- Urrestarazu, M., Postigo, A., Salas, M.C., Sánchez, A., & Carrasco, G., (1998). Nitrate accumulation reduction using chloride in the nutrient solution on lettuce growing by NFT in semiarid climate conditions. *Journal of Plant Nutrition*, 21, 1705–1714. doi: 10.1080/01904169809365515.
- Xiao, Z., Lester, G. E., Luo, Y., & Wang, Q. (2012). Assessment of vitamin and carotenoid concentrations of emerging food products: Edible *microgreens*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(31), 7644–7651.
- Yorio, N. C., Goins, G. D., Kagie, H. R., Wheeler, R. M., & Sager, J. C. (2001). Improving spinach, radish, and lettuce growth under red light-emitting diodes (LEDs) with blue light supplementation. *Hortscience*, 36, 380–383.