

Análisis del ciclo del nitrógeno en el medio ambiente con relación al agua subterránea y su efecto en los seres vivos

Julia Pacheco Avila¹, Roberto Pat Canul² y Armando Cabrera Sansores¹

RESUMEN

Debido al ciclo del Nitrógeno, la presencia de nitratos y nitritos en el ambiente se da de manera natural; sin embargo, las actividades humanas modifican sus concentraciones y pueden hacer que estos compuestos sean potencialmente peligrosos para la salud humana y animal. Los nitratos en el suelo y en las aguas subterráneas se originan de la descomposición natural por microorganismos de materiales nitrogenados orgánicos como las proteínas de las plantas, animales y excretas de humanos y de animales. Las fuentes ambientales más importantes son el uso de fertilizantes nitrogenados, la disposición de excretas y la disposición de desechos municipales e industriales. Aunque el nitrito es el compuesto tóxico, debido a que se forman a partir de los nitratos, un factor determinante en la incidencia de la toxicidad es la concentración de nitratos en el agua. El principal mecanismo de toxicidad de los nitritos es la oxidación del ion ferroso a ion férrico, lo que puede producir metahemoglobinemia, efectos cardiovasculares y efectos respiratorios. El riesgo para la salud debido a los nitratos y nitritos es función de la exposición, la existencia de condiciones favorables para la reducción de nitratos a nitritos y algunos factores inherentes al individuo, por lo que no se puede formular una relación dosis-respuesta con respecto a la presencia de nitratos en el agua.

El Nitrógeno es un elemento diatómico y se encuentra en estado gaseoso a temperatura y presión ordinaria, comprende el 78% de la atmósfera terrestre y en su forma elemental es relativamente inerte.

La química del Nitrógeno es compleja debido a los muchos estados de oxidación que puede asumir y al hecho de que ese cambio en el estado de oxidación puede ser llevado a cabo por organismos vivos. Este cambio en el estado de oxidación producido por las bacterias, puede ser positivo o negativo, dependiendo de las condiciones aeróbicas o anaeróbicas prevalecientes (Sawyer y Mc. Carty, 1978). Desde el punto de vista de la química inorgánica, el Nitrógeno puede existir en siete estados de oxidación (Tabla 1).

Tabla 1. Estados de oxidación de los compuestos del Nitrógeno

Compuesto	Estado de oxidación
NH ₃	-III
N ₂	0
N ₂ O	I
NO	II
N ₂ O ₃	III
NO ₂	IV
N ₂ O ₅	V

Debido a que los estados I, II y IV, tienen poca significancia en los procesos biológicos, la química del

¹ Profesor Investigador del Cuerpo Académico de Ingeniería Ambiental, FIUADY (pavila@tunku.uady.mx)

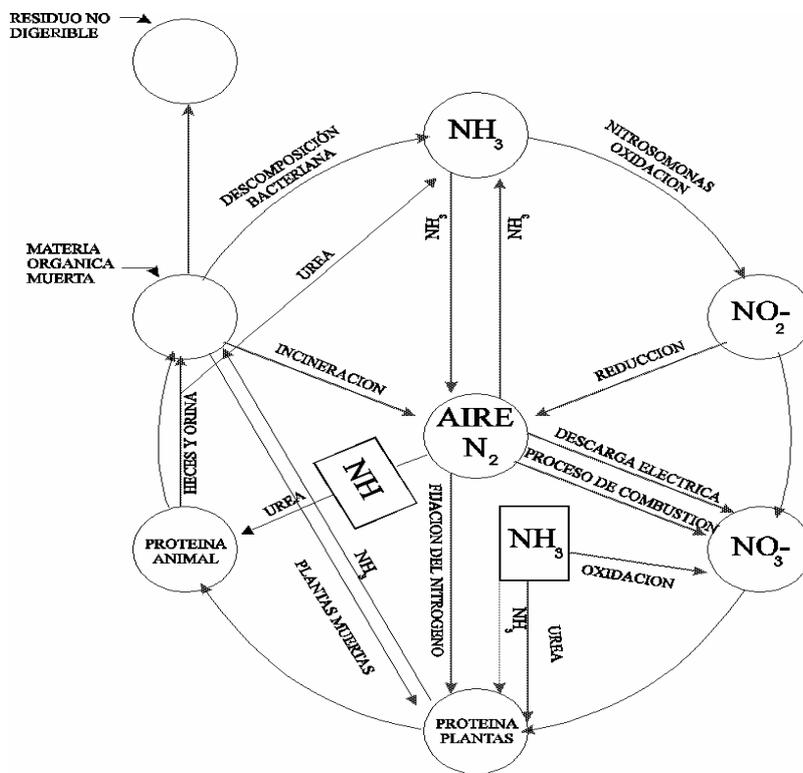
² Técnico Académico, colaborador del Cuerpo Académico de la Facultad de Ingeniería de la UADY

Nitrógeno de interés para el medio ambiente, puede resumirse en cuatro estados de oxidación (Tabla 2).

Las relaciones que existen entre las formas de los compuestos del Nitrógeno y los cambios que ocurren en la naturaleza, se ilustran en la Figura 1.

Tabla 2. Compuestos nitrogenados de interés para el medio ambiente

Compuesto	Estado de oxidación
NH_3	-III
N_2	0
N_2O_3	III
N_2O_5	V



Fuente: Sawyer y McCarty, 1978.

Figura 1. Ciclo del Nitrógeno

En este diagrama, puede observarse que la atmósfera sirve como un reservorio desde el cual el Nitrógeno es constantemente removido por la acción de las descargas eléctricas y por la fijación del nitrógeno por bacterias y algas. Durante las tormentas eléctricas, grandes cantidades de nitrógeno son oxidadas a N_2O_5 y

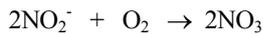
su unión con el agua produce Ácido Nítrico, el cual es llevado a la superficie de la tierra con la lluvia. Por otra parte, los compuestos de Nitrógeno son liberados en los productos de desechos del cuerpo durante toda la vida; así por ejemplo, la orina contiene el Nitrógeno resultante del desdoblamiento metabólico de las

proteínas. El Nitrógeno que existe en la orina, principalmente como Urea, es hidrolizada rápidamente por la enzima Ureasa a Carbonato de Amonio. Las heces de los animales contienen grandes cantidades de materia proteínica no asimilable (Nitrógeno orgánico); esta materia proteínica y la remanente en el cuerpo de los animales muertos y las plantas, son convertidas en gran medida a Amonio por la acción de las bacterias saprófitas, bajo condiciones aeróbicas o anaeróbicas.

Sin embargo, algo de Nitrógeno permanece como materia no digerible y pasa a ser parte del detritus o del humus. El Amonio liberado, puede ser usado por las plantas para producir proteínas, pero si se libera en exceso de lo que requiere la planta, el exceso es oxidado por bacterias nitrificantes autótrofas del grupo Nitrosomonas y lo convierten a nitrito.



Los nitritos son oxidados a nitratos por bacterias del grupo Nitrobacter.



Estos nitratos pueden servir como fertilizantes para las plantas y los que se producen en exceso, son llevados al agua a través de la percolación en los suelos. Bajo condiciones anaeróbicas los nitritos y nitratos son reducidos por el proceso de denitrificación.

Comportamiento hidroquímico del Nitrógeno

El contaminante inorgánico más común identificado en agua subterránea es el Nitrógeno disuelto en la forma de nitrato, debido a que es la forma más estable en que puede encontrarse el Nitrógeno y su presencia en concentraciones no deseables (mayor a 45 mg/l) es potencialmente peligrosa en los sistemas acuíferos (Freeze y Cherry, 1979). Aunque el nitrato es la forma principal en que el Nitrógeno está en el agua subterránea, también puede estar presente en la forma de amonio, amoníaco, nitrito, óxido nitroso y nitrógeno orgánico incorporado a sustancias orgánicas (Figura 2).

El Nitrógeno puede encontrarse en el agua en tres maneras diferentes: como gas disuelto, en combinaciones inorgánicas y en combinaciones orgánicas.

El nitrato, nitrito y el ion amonio son formas inorgánicas de nitrógeno que se encuentran en combinación con iones bivalentes y monovalentes. Por lo que se refiere al ion amonio, solamente a un pH superior a 9 se puede encontrar en concentraciones

importantes. En concentraciones normales, la fracción de amonio es muy pequeña y puede ser oxidado por acción química, fotoquímica y bacteriana. En las aguas, este proceso se acelera por la actividad de las bacterias. Una molécula de amonio puede combinarse con un protón disponible para formar un ion amonio cargado positivamente. En los suelos, las partículas sólidas cargadas negativamente se adhieren al ion amonio cargado positivamente.

Los suelos de bajo pH son más eficientes en el proceso de adsorción del ion amonio que aquellos de pH elevado y los suelos con alto contenido orgánico son menos eficientes que los suelos minerales con una capacidad similar de intercambio catiónico.

El nitrógeno orgánico no ha recibido mucha atención como una fuente potencial de contaminación pero la presencia de éste debe de esperarse en el agua subterránea ya que puede provenir de rellenos sanitarios, desechos de ganadería y plantas de tratamiento de aguas residuales.

El nitrógeno puede moverse a través del medio poroso por algunos métodos. Estos métodos pueden operar independientemente o en conjunto. Los compuestos de nitrógeno pueden moverse a través del suelo como gases o como solutos en soluciones acuosas.

El nitrógeno en la materia orgánica insoluble o en forma mineral puede ser transportado a través del perfil del suelo por organismos (a través de excreción o transporte mecánico) o por suspensión de partículas en suelo y agua. La distancia, dirección y cantidad de nitrógeno transportados varía con el tiempo y con las propiedades químicas, físicas y biológicas del suelo

Los microorganismos juegan un papel importante en el ciclo del nitrógeno. Alrededor del 90% del nitrógeno total en suelos está en forma orgánica no disponible. El nitrógeno orgánico en el suelo puede ser convertido por actividad microbiana a ion amonio por el proceso de amonificación (Kenney y Walsh, 1972). Los iones amonio positivos pueden ser atraídos por partículas cargadas negativamente como la arcilla y materia orgánica sólida y de esta forma ser resistentes a percolar. Los iones amonio pueden empezar a percolar hasta que la capacidad de intercambio catiónico del suelo sea satisfecha (Ayans, 1975).

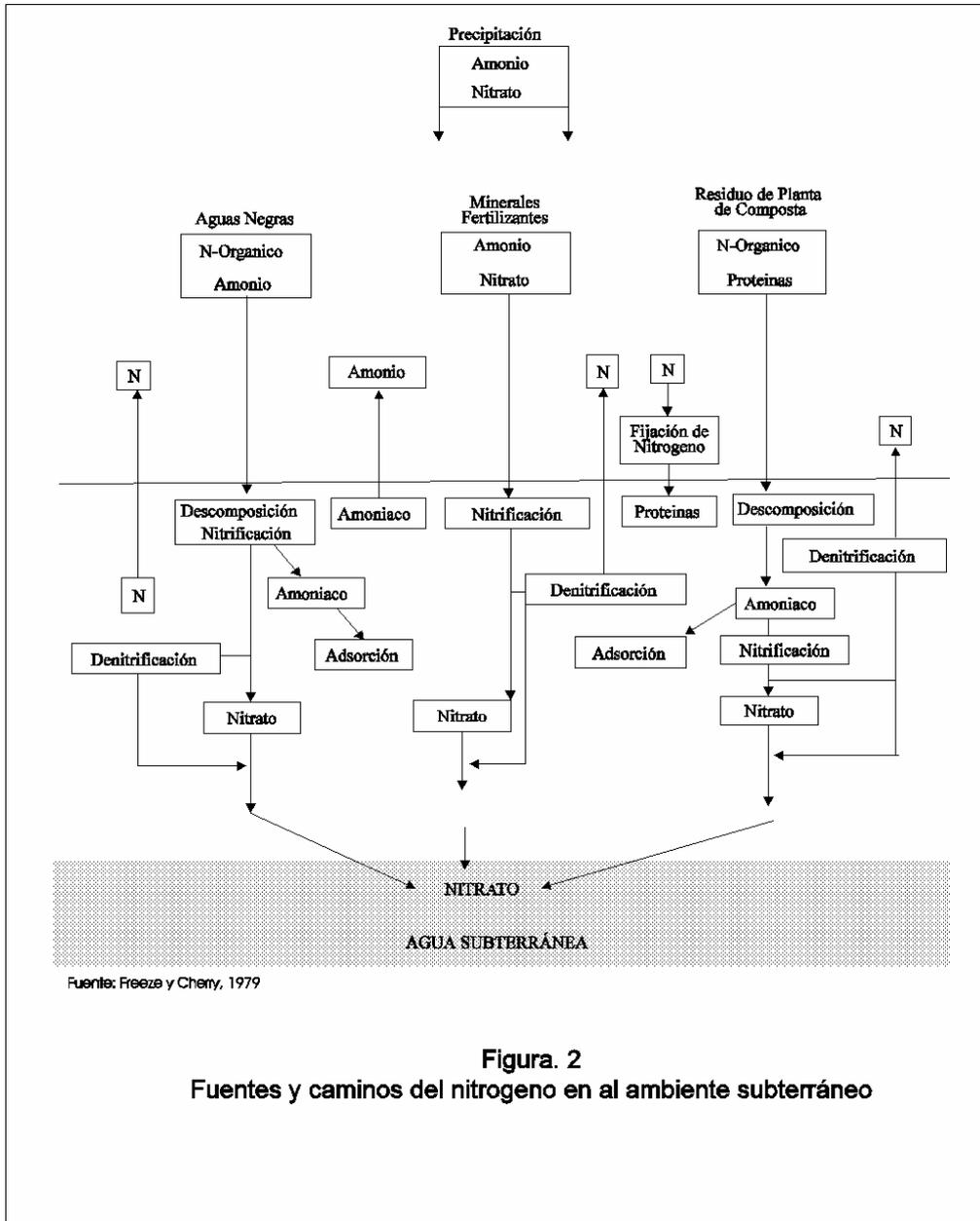


Figura. 2
Fuentes y caminos del nitrógeno en al ambiente subterráneo

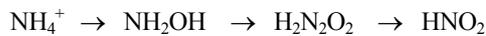
Las altas concentraciones de calcio y magnesio probablemente interfieren con la adsorción de amonio (Coffe y Bartholomew, 1964). La amonificación depende de la temperatura del suelo, aeración y el pH del suelo. El siguiente paso en la reacción del nitrógeno es la Nitrificación, que es un proceso de oxidación microbiológica del ion amonio a la forma de nitrato. Esto ocurre rápidamente bajo condiciones aireadas con una temperatura entre 15 a

30°C y un pH de 6.5 a 7.5 (Keeney et al, 1972). De las numerosas reacciones de oxidación y de reducción, la nitrificación inicial por las bacterias, hongos y organismos autótrofos se puede expresar como: (Kuznetsov, 1970):



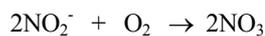
Esta ecuación, se desarrolla a través de una serie de estados de oxidación pasando por

hidroxilaminas y oxima pirúvica hasta ácido nitroso (Wetzel, 1981):

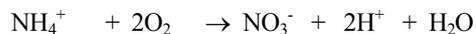


Estos productos intermedios son altamente lábiles a la oxidación física y heterotrófica, y se encuentran raramente en cantidad significativa si los comparamos con otras formas de nitrógeno combinado (Baxter et al., 1973). Las bacterias nitrificantes capaces de oxidar el NH_4^+ a NO_2^- , son principalmente del género *Nitrosomonas* (*Nitrosobacteriaceae*, orden *Pseudomonadales*), aunque se conocen otros géneros que pueden realizar este proceso (Alexander, 1965).

Estas bacterias son mesófilas, tolerando amplios límites de temperatura (1 a 37°C), y muestran un crecimiento óptimo a un pH próximo a la neutralidad. Posteriormente el nitrito se oxida a nitrato:



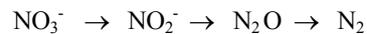
Nitrobacter es el género principal de bacterias implicado en esta oxidación y es menos tolerante a las bajas temperaturas y a pH elevado, condiciones que pueden llevar a una ligera acumulación de $\text{NO}_2\text{-N}$. El total de reacciones de nitrificación requiere 2 moles de oxígeno para la oxidación de uno de NH_4^+ :



Aunque para que se produzca la nitrificación el medio debe ser aeróbico, estos procesos continúan produciéndose hasta que se alcanzan concentraciones de 0.3 mg de O_2 /l, en cuyo caso el ritmo de difusión de oxígeno a las bacterias alcanza un punto crítico.

En los suelos, el movimiento de los nitratos es dependiente de la cantidad de agua que está infiltrando el suelo y el contenido de humedad de este depende de la precipitación, porosidad y permeabilidad. Durante los períodos lluviosos, incrementa el percolado de nitratos ya que los niveles de humedad del suelo son altos y la tasa de evapotranspiración es reducida (Alexander, 1965).

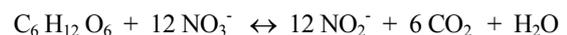
Así también, los nitratos pueden ser reducidos a nitrógeno gaseoso por microorganismos mediante el proceso llamado denitrificación. La denitrificación bacteriana consiste en la reducción bioquímica de los aniones de nitrógeno oxidados, $\text{NO}_3\text{-N}$ y $\text{NO}_2\text{-N}$, para la oxidación de la materia orgánica. Los pasos generales de este proceso son los siguientes:



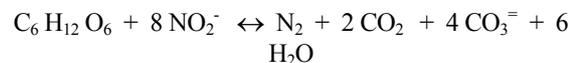
lo cual provoca una disminución significativa del nitrógeno combinado que puede perderse parcialmente si no es refijado.

Muchas bacterias anaeróbicas facultativas, especialmente de los géneros *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Escherichia*, *Bacillus* y *Micrococcus*, pueden usar el nitrato como aceptor exógeno terminal de H^+ en la oxidación de los substratos orgánicos (Alexander, 1965). Las reacciones de denitrificación están asociadas con la enzima nitrógeno reductasa y con cofactores de hierro y molibdeno y operan tanto bajo condiciones aeróbicas como anaeróbicas (Bamdurski, 1965).

Un ejemplo de la reacción de oxidación de la glucosa y de reducción de nitrato es el siguiente (Hutchinson, 1957):



y de la reducción de nitrito a nitrógeno molecular:



Las reacciones de denitrificación adquieren gran intensidad en los ambientes anaeróbicos como el hipolimnion de lagos eutróficos y en los sedimentos anóxicos, donde los substratos orgánicos oxidables son relativamente abundantes.

Los niveles de reducción-oxidación de las especies del nitrógeno en el agua subterránea, son determinados esencialmente por la introducción de oxígeno en los cuerpos de agua subterránea ocasionada por la circulación y por el consumo de oxígeno debido a la descomposición de materia orgánica. Las variables más importantes en estos sistemas, son: el contenido de oxígeno en el agua de recarga, la distribución y reactividad de la materia orgánica, la presencia de otros reductantes en el acuífero y la tasa de circulación del agua subterránea (Drever, 1988).

Efectos de los nitratos en los seres vivos

En el hombre, la metahemoglobinemia es el principal efecto tóxico de la ingestión de nitratos y

nitritos. La metahemoglobinemia es causada por nitritos, que son los productos de reducción de los nitratos. La reducción, por lo común, se realiza mediante acción microbiana en el medio ambiente o en el organismo. En consecuencia, los riesgos de salud de la exposición a los nitratos están vinculados no sólo con su concentración en el agua y los alimentos, sino también con la presencia o ausencia de condiciones favorables a su reducción a nitritos. Los lactantes son el grupo más vulnerable por las siguientes razones:

- 1) La menor acidez de su estómago, que permite el desarrollo de ciertos microorganismos que contienen enzimas capaces de reducir nitratos a nitritos;
- 2) La hemoglobina fetal, que constituye una proporción considerable de la hemoglobina del lactante, y a los eritrocitos que durante la niñez pueden ser más susceptibles a la conversión a metahemoglobina por la acción de los nitritos;
- 3) El sistema enzimático que puede reducir metahemoglobina a hemoglobina, es deficiente en el lactante, y
- 4) La ingesta de líquidos en el lactante, es más elevada que la del adulto en relación con el peso corporal.

El mecanismo de formación de la metahemoglobina es el siguiente: la hemoglobina (Hb) es una proteína conjugada cuyo grupo posee cuatro átomos de hierro, y el estado de oxidación es Fe^{2+} . En la metahemoglobina (MetHb) el hierro se encuentra en su forma oxidada Fe^{3+} . Los eritrocitos contienen normalmente pequeñas cantidades de MetHb, que resultan de la oxidación espontánea de la Hb a diferencia de la Hb, la MetHb no transporta oxígeno; por lo tanto su presencia en cantidades elevadas es incompatible con la vida.

Los eritrocitos poseen dos sistemas enzimáticos que reducen la MetHb a Hb; ellos son: la diaforasa I, que utiliza el dinucleótido de nicotinamida y adenina reducida (NADH) como coenzima, y la diaforasa II, que utiliza el fosfato de NADH (NADPH) como coenzima. El primer sistema mantiene el nivel de MetHb entre 1 y 2%.

Se suele considerar que el contenido medio de metahemoglobina en poblaciones sanas es inferior al 2% de la concentración de la hemoglobina total (Comité sobre Acumulación de Nitratos, 1972; Gobbi et al, 1974; Smith, 1972). A partir de aproximadamente 10% la metahemoglobinemia puede producir cianosis asintomática, en tanto que los niveles de 20-50% se

acompañan de cianosis manifiesta, y, signos y síntomas hipóxicos, como debilidad, disnea por el ejercicio, cefalalgia, taquicardia y pérdida del conocimiento (Arena, 1970; Comité sobre Acumulación de Nitratos, 1972).

Aunque no se conoce la concentración letal de metahemoglobina se sabe que puede ocurrir la muerte a niveles superiores al 50% (Comité sobre Acumulación de Nitratos, 1972).

No obstante, que la característica sobresaliente de la toxicidad del nitrato es el desarrollo de la metahemoglobinemia, los nitratos pueden también causar vasodilatación que agrava los efectos de la metahemoglobinemia. En 1895, se reconoció por primera vez la intoxicación aguda por nitrato en ganado vacuno (Wright y Davidson, 1964), en tanto que Comly, en 1945 fue el primero en notificar la intoxicación por nitratos en lactantes debido al consumo de agua de pozo en E.U.A., éste investigador encontró elevados niveles de metahemoglobina y los signos conexos del nitrato en dos lactantes que habían consumido agua que contenía concentraciones elevadas de nitratos (619 y 388 mg/l).

Bayley (1966), notificó 10 casos de lactantes a los que se administraron preparaciones de leche en polvo elaboradas con agua de pozo con concentraciones de nitratos superiores a 75 mg/l. Dos de los lactantes cuyas preparaciones de leches se habían hecho con agua de pozos que contenían nitrato en concentraciones de 1200-1300 mg/l desarrollaron cianosis rápidamente en ambos casos, pereciendo antes que pudiera aplicarse alguna terapia.

En el Estado de Minesota (E.U.A) Bosch et al., (1950) informaron de 139 casos de metahemoglobinemia infantil a causa de la ingestión de agua de pozo con un alto contenido de nitrato (más de 89 mg/l); la tasa de mortalidad fue del 10%. En Kansas se notificaron 13 casos de metahemoglobinemia infantil incluyendo tres defunciones, causadas por el consumo de agua de pozo entre el principios del decenio de 1940 a 1950 (Walton, 1951). Por otra parte no se observaron casos de metahemoglobinemia infantil en zonas urbanas de Nueva York ni en la provincia de Ontario, Canadá donde eran bajas las concentraciones de nitrato en el agua (Ciavaglia y Thompson, 1969). Knotek y Schmidt (1964) informaron de 115 casos de metahemoglobinemia sobre un total de 5,800 niños nacidos en la parte central de Checoslovaquia entre 1953 y 1960. De estos casos el 8% fueron fatales, el 52% graves y el 40% leves. La mayor parte de las defunciones estuvieron asociadas con el consumo de agua que contenían concentraciones de nitrato en una

amplitud de 70-250 mg/l. En estos casos la metahemoglobinemia estuvo invariablemente asociada con el consumo de preparaciones de leche para lactantes, que contenían microorganismos, como *B. subtilis*, que pueden reducir nitratos a nitritos. Estos investigadores informaron del efecto inhibitor del suero de mantequilla sobre esta conversión. Atribuyeron este efecto a la presencia de *Streptococcus lactis*, que produce el antibiótico nisina y puede prevenir el desarrollo de las esporas de *B. subtilis*.

Shuval y Gruener (1972) estudiaron comunidades con diversas concentraciones de nitratos en el agua potable de Israel. Las concentraciones de nitrato reportadas fueron de 50-90 mg/l. Se compararon con testigos donde el nivel medio eran de 5 mg/l. Estos investigadores no comprobaron casos claros de metahemoglobinemia ni advirtieron diferencias significativas en las concentraciones de metahemoglobina. Sin embargo, se observó que había un consumo general de zumos cítricos y que el consumo de agua en las preparaciones de leche para lactantes era bajo.

La bibliografía de la URSS registra información respecto de un número relativamente reducido de casos de metahemoglobinemia asintomática causada por nitratos en el agua (Diskalenko, 1969; Molitev, 1969). En los niños cuya agua potable contenía concentraciones elevadas de nitratos, la metahemoglobinemia, por lo común no pasaba del 10%, si bien ocasionalmente se observaron niveles más altos. Sattelmacher (1962) y Simón et al., (1964) compilaron 1060 y 745 casos respectivamente de metahemoglobinemia infantil causada por agua contaminada por nitratos en la República Federal de Alemania. La mayor parte de los casos estuvieron relacionados con agua de pozos privados, y en 84-90% de los casos el agua contenía una concentración de nitratos superior a 100 mg/l (si bien se notificaron unos cuantos casos de metahemoglobinemia con agua que contenía menos de 50 mg/l).

Commoner et al., (1972) observaron elevaciones subclínicas pequeñas, aunque estadísticamente significativas, en la metahemoglobinemia de adultos expuestos a ingestas elevadas de nitratos en una zona rural cuando se les comparó con una población urbana testigo. Asimismo, existen algunos datos que indican que, en condiciones similares, las embarazadas de zonas rurales tienen niveles de metahemoglobina más altos que la de las zonas urbanas. Esta circunstancia reviste particular interés por cuanto investigadores anteriores han notificado de una mayor susceptibilidad a los nitratos en

las mujeres embarazadas (Skrivan, 1971). Por lo tanto se ha pensado con inquietud en los efectos que sobre el feto puede tener la reducción general de la tensión del oxígeno. Gelperin et al., (1971) informaron recientemente de la presencia de metahemoglobinemia en un recién nacido presumiblemente expuesto a nitratos por vía trasplacentaria. Las 72 madres y lactantes incluidos en este estudio habían estado expuestos a agua con concentraciones de nitrato de 28-45 mg/l en un lapso de dos meses. En las dos semanas de máxima concentración (45 mg/l) los niveles medios de metahemoglobina fueron de 1.18% en las madres y 1.91% en los recién nacidos y los de una madre y un niño se elevaron a 6.39% y 5.87% respectivamente.

Se observó que los niños de 12 a 14 años de edad que bebían agua con 105 mg/l de nitrato tenían reacciones levemente diferidas a los estímulos luminosos y acústicos y una metahemoglobinemia media de 5.3 % en comparación con niños testigos que bebían agua con 8 mg/l y cuyas metahemoglobinemias promediaban 0.75% (Petukhov e Ivanov, 1970).

Un estudio realizado en una región rural al norte del estado de Yucatán, mostró que existían grandes diferencias en las concentraciones de nitratos en pozos cercanos, como resultado de las condiciones y características de cada pozo en particular, debido a la naturaleza kárstica del subsuelo. Asimismo, se encontró que la tendencia de las concentraciones de este contaminante en el agua subterránea es de naturaleza estacional, con las mayores concentraciones asociadas a los centros poblacionales que conforman dicha área de estudio (Pacheco, 1985). Respecto a la relación de la presencia de nitratos con la salud, las estadísticas para la incidencia de la mortalidad infantil en los Estados Unidos Mexicanos para el período 1940-1975, indican que no existen registros para la metahemoglobinemia infantil (cianosis) dentro de las principales causas de defunción en niños menores de un año reportado por el INEGI en 1981.

Agradecimientos

Este estudio fue realizado a través de proyectos de investigación financiados por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Claves: 2191P-B9507 y 27912T) y por la Universidad Nacional Autónoma de México (PAEP, 103314 y 030623). Asimismo, J. Pacheco agradece al CONACyT y al PROMEP, el apoyo económico otorgado para realizar estudios de doctorado.

Referencias

- Alexander M. (1965). Nitrification. *Agronomy.*, Vol.10, pp. 307-343
- Walton G. (1951). Survey of literature relating to infant methemoglobinemia due to nitrate-contaminated water. *Am. J. Public Health.*, No. 41, pp. 986-999
- Arena J.M. (1970). *Poisoning, Toxicology, Symptoms and Treatment.* 2a. Edition. Springfield (Illinois): Banerston House., 9 p.
- Ayans J.E. (1975). *Salt Transport in Irrigated Soils*, Ph.D. Dissertation, Colorado Estate University., USA.
- Bamdurski R.S. (1965). Biological Reduction of Sulfate and nitrate. In J. Bonner and J.E. Varner, Eds. *Plant Biochemistry - New York*, Academic Press, pp. 467-490
- Baxter R.M., Wood R.B., Prosser M.V. (1973). The probable Occurence of hidroxilamine in the Water of an Ethiopian lake. *Limnol. Oceanogr.*, Vol. 18, pp. 470-472
- Bayley W.P. (1966). Methemoglobinemia - acute nitrate poisoning in infants: second report. *J. Am. Osteopath. Assoc.*, No. 66 pp. 431-434
- Bosh H.M., Rosenfield A.B., Huston R., Shipaman H.R., Woodward F.L. (1950). Methemoglobinemia and Minnesota Well Supplies., *J. Am. Water Assoc.*, No. 42, pp. 1161-1170
- Coffe R.C., Bartholomew W.F. (1964). Some aspects of Sorption By Soil Surface. *Soil sc. Society of America., Proc.*, Vol 28, No. 4, pp. 485-490
- Ciavaglia F., Thompson R.P. (1969). Infant methemoglobinemia. Absence in areas with low concentrations of nitrate-nitrogen in water supply. *N.Y. State., Journal Med.* No. 69, pp. 3128-3129
- Comité de Estudio de la Acumulación de Nitratos. (1972). *Acumulación of Nitrate.* Washington, D.C., Academia Nacional de Ciencias. pp. 48
- Comly H.H. (1945). Cyanosis in infants caused by nitrates in well water. *J. Am. Med. Assoc.*, No. 129, pp. 112-116
- Commoner B., Shearer G., Kohl D. (1972). *A Estudy of Certain Ecological, Public and Economic consequences of The Use of Inorganic Nitrogen Fertilizer.* Saint Louis, Universidad de Washington. Primer Informe Anual de Adelantos, Subsidio NSF GI29926x
- Diskalenko A.P. (1969). Metahemoglobinemia causada por nitratos hallados en el agua y medidas profilácticas. *Kisinev.* pp. 35-42
- Drever J.I. (1988). *The geochemistry of natural waters.* prentice Hall., pp. 352-355.
- Freeze R. A., Cherry J. A. (1979). *Groundwater.* Prentice - Hall, Inc. pp. 367-389
- Gelperin A., Jacobs E.E., Kletke L.S. (1971). The Development of methemoglobin in mothers and newborn infants from nitrate in Water supplies. *Ill. Med. J.*, No. 140, pp. 42- 44

- Gobbi A., Soverini R., Grisler R. (1974). (Cifras normales de metahemoglobinemia observadas en 500 habitantes de la ciudad de Milán.) *Med. Lav.*, No. 65, pp. 306-310
- Hutchinson G.E. (1957). *A treatise on limnology. I. Geography Physics, and Chemistry.* New York, Jhon Wiley & Sons, Inc., Inc. pp. 1015
- INEGI (1981). *Incidencia de la mortalidad infantil en los Estados Unidos Mexicanos, (1940-1975).* Secretaría de Programación y Presupuesto. Coordinación General de los Servicios Nacionales de Estadística, Geografía e Informática. p. 215
- Keeney D.R., Walsh L.W. (1972). Available Nitrogen in rural ecosystems. Sources and fate. *Hortscience.*, Vol. 7, No. 3, pp. 219-223
- Knotek Z., Schmidt P. (1964). Pathogenesis, incidence and possibilities of preventing alimentary nitrate methemoglobinemia in infants. *Pediatrics.*, No. 34, pp. 78-83
- Kuznetsov S.I. (1970). *Microflora of Lakes and their Geochemical Activities.* Leningrad , Izdatel' Stvo Naudaka, p. 440
- Molytev V.D. (1969). El problema de la methamoglobinemia causada por nitratos y nitritos, y su profilaxia, en relación con la edad del individuo. Resumen del autor, de una tesis para obtener el grado de Candidato a las Ciencias Médicas. *Lenningrado* pp. 157
- Pacheco J. (1985). *Evaluación del Contenido de Nitratos del Agua Subterránea en una Región al Norte de la Península de Yucatán.* En opción al Grado de Maestro en Ingeniería Ambiental UADY. 61 p.
- Petukhov N.I., Ivanov A.V. (1970). Investigación de algunas reacciones Psicofisiológicas en niños con metahemoglobinemia debida a la presencia de nitratos en el agua. *Gig. Sanit.* No.35, Vol. 1, pp. 26-28
- Sattelmacher P.G. (1962). *Metahemoglobinemia por nitratos en el agua de beber.* *Schriften ver Wasser Boden Luftyg.*, No. 21, pp. 56-61
- Sawyer C.N., Mc Carty, P.L. (1978). *Chemistry For Environmental Engineering.* 3 th. edition. Mc. Graw -Hill Book Company. 534 p.
- Shuval H.I., Gruener N. (1972). Epidemiological and toxicological aspects of nitrates y nitrites in the environment. *Am. J. Public Heath* No. 62, pp. 1045-1062
- Skrivan J. (1971). *Methemoglobinemia in pregnancy.* *Acta Universitatis Carolinae medica* No. 17, pp. 123-160
- Smith C.H. (1972). Polycythemia, methemoglobinemia, sulfhemoglobinemia y miscellaneous anemias. En: *Blood Diseases of Infancy and Childhood.* 3a. edición. San Louis (Missouri): The C.V. Mosby Company, pp. 450-454
- Simon C., Manzke H., Kay H., Mrowetz G. (1964). On the occurrence, pathogenesis, and possibilities for profilazis of the methemoglobinemia caused by nitrite. *Z Kinderheilkd* No. 91, pp. 124-138
- Walton G. (1951) *Survey of literature relating to infant methemoglobinemia due to nitrate-contaminated water.* *Am. J. Public Health.*, No. 41, pp. 986-996
- Wetzel R.G. (1981). *Limnología.* Ediciones Omega, S.A., Barcelona. 672 p.
- Wright A.J., Davidson K.L. (1964). Nitrate accumulation in crops and nitrate poisoning in animals. *Adv. Agron.*, Vol. 16, pp. 197-247.