

Trabajo Fin de Máster:

Aporte de nitratos procedente del agua embotellada

Nitrate intake from bottled water

Isaac Martín Lorenzo

Tutor: Dr. Ángel José Gutiérrez Fernández

Área de conocimiento: Toxicología

Departamento: Obstetricia y Ginecología, Pediatría, Medicina Preventiva y Salud Pública, Toxicología, Medicina Legal y Forense y Parasitología.

Curso 2022-2023 (Julio)

Índice

RESUMEN	3
ABSTRACT	3
1. INTRODUCCIÓN	4
1.2. Toxicidad de los nitratos	4
1.3. Ingesta de nitratos	5
2. OBJETIVOS DEL ESTUDIO	6
3. MATERIAL Y MÉTODOS	6
3.1. Muestras	6
3.2. Reactivos	7
3.3. Instrumentos	7
3.4. Preparación de muestras	7
3.5. Método de análisis	8
3.6. Análisis estadístico	9
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	10
4.1. Evaluación de la concentración de nitrato	10
4.2. Ingesta dietética y evaluación del riesgo toxicológico	13
5. CONCLUSIONES	15
6. BIBLIOGRAFÍA	15

RESUMEN

Los nitratos son compuestos iónicos que se forman de manera natural debido al ciclo de nitrógeno. Las fuentes de exposición a nitratos en la población general son el agua y los alimentos, sobre todo los vegetales de hoja verde, sin embargo, la principal vía de exposición es el agua. Los nitratos pueden producir metahemoglobinemia, la cual es una infección que afecta sobre todo a niños y lactantes.

En este Trabajo de Fin de Máster nos hemos centrado en la calidad de las aguas embotelladas debido a su gran crecimiento durante los últimos años. Para ello, hemos estudiado las concentraciones de nitratos en 36 muestras de aguas embotelladas de diferente tipo y marca mediante la técnica de espectrofotometría de absorción UV-Visible. Además, se realizó una evaluación del riesgo debido a la ingesta de nitratos suponiendo un consumo diario de 2 L para diferentes poblaciones con el fin de comprobar si podrían existir efectos negativos sobre la salud.

Por último, se hizo una comparación entre los resultados obtenidos y los valores establecidos en el Real Decreto 3/2023 de aguas de consumo humano, y resultó que todas las muestras analizadas estaban dentro del rango establecido, por lo que eran aptas para el consumo humano.

ABSTRACT

Nitrates are ionic compounds that are formed naturally due to the nitrogen cycle. Sources of exposure to nitrates in the general population are water and food, especially green leafy vegetables, but the main route of exposure is water. Nitrates can cause methemoglobinemia, which is an infection that mainly affects children and infants.

In this Master's thesis, we have focused on the quality of bottled water due to its high growth in recent years. For this purpose, we have studied the nitrate concentrations in 36 samples of different types and brands of bottled water using UV-Visible absorption spectrophotometry. In addition, a nitrate risk assessment was carried out assuming a daily consumption of 2 L for different populations in order to check whether there could be negative effects on health.

Finally, a comparison was made between the results obtained and the values established in Royal Decree 3/2023 on water for human consumption, and it turned out that all the samples analyzed were within the established range and were therefore fit for human consumption.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Generalidades y fuentes

El nitrato es una especie iónica natural que está formado por tres átomos de oxígeno, uno de nitrógeno y una carga negativa (figura 1). No tienen color ni sabor y se pueden encontrar en suelos y disueltos en agua como parte del ciclo de nitrógeno de la tierra (1).

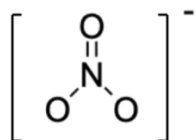


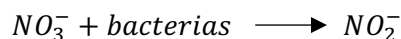
Figura 1. Estructura de los nitratos

Es un compuesto que se forma de manera natural como producto final de la descomposición de productos animales y vegetales, por lo que es la fuente principal de iones nitrato en el medio ambiente.

Como fuentes antropogénicas de los nitratos se encuentran los fertilizantes utilizados en la agricultura y desechos orgánicos de origen urbano o industrial. Así como los aditivos alimentarios y las excretas animales provenientes de explotaciones avícolas y ganaderas suponen una gran fuente de nitratos (2).

1.2. Toxicidad de los nitratos

Los nitratos son compuestos pocos tóxicos ya que son estables, sin embargo, su toxicidad viene determinada por su transformación en nitrito. Los nitratos pueden reconvertirse en nitritos debido a la reducción bacteriana tanto en alimentos (durante el procesado y el almacenamiento) como en el propio organismo (saliva y tracto gastrointestinal) (3).



Hay numerosos estudios que manifiestan que tanto los nitratos como los nitritos pueden ocasionar cáncer gastrointestinal, cáncer colorrectal, cáncer esofágico, cáncer de tiroides, hipertiroidismo, metahemoglobinemia y cáncer de mama (4).

Sin embargo, el efecto tóxico más importante es la aparición de la metahemoglobinemia o síndrome azul del lactante. Se trata de un cuadro de intoxicación aguda producido por la transformación de nitrato a nitrito en el organismo. Este actúa como agente oxidante,

por lo que el nitrito oxida el hierro de la hemoglobina provocando un deficiente transporte de oxígeno hacia los tejidos (5). Presenta dos tipos de síntomas:

- Color azulado (cianosis) característico de piel y mucosas: De ahí el nombre de síndrome de bebe azul.
- Síntomas debido a la falta de oxígeno en los tejidos que provoca dificultad respiratoria, taquicardia, náuseas y vómitos.

Los lactantes, como se ha comentado son el principal grupo de riesgo a la metahemoglobinemia, sin embargo, existen otras personas que pueden tener riesgo:

- Embarazadas
- Pacientes en tratamientos con medicamentos como la benzocaína (6). También se encuentran implicados pacientes medicados con ciertos antibióticos como, por ejemplo, la dapsona (6). Estos, actúan como agentes oxidantes indirectos, convirtiendo a forma férrica el hierro que existe en los hematíes (7).
- Personas con déficit hereditarios en metahemoglobina-reductasa
- Personas con hemoglobinopatías.

También, el nitrito reacciona con aminas formando nitrosaminas que presentan acción carcinógena demostrada en animales y algunos estudios epidemiológicos en humanos (8).

1.3. Ingesta de nitratos

Los nitratos pueden llegar a nuestro organismo mediante el consumo de alimentos como vegetales y hortalizas de hoja verde (9). Es importante destacar que la población, tanto vegetariana como vegana puede sufrir intoxicaciones por la ingesta de altas cantidades de nitritos. También se pueden encontrar en la elaboración de embutidos y otros productos cárnicos cuya función es antimicrobiana, además de estabilizar y favorecer la coloración y desarrollo del aroma (2).

Sin embargo, la principal fuente de nitratos es el agua de bebida (4). Tradicionalmente, el agua del grifo ha sido la contribución más importante a la ingesta total de agua diaria, sin embargo, en las últimas décadas ha habido un aumento del consumo de las aguas envasadas. En un estudio que se realizó en España durante los años 2000 y 2021 muestra la evolución de consumo de aguas envasadas (10). En el gráfico 4 se muestra como el volumen de consumo de este tipo de bebida aumentó en aproximadamente 1.590 millones de litros, situándose a cierre de 2021 en torno a los 3.040 millones.

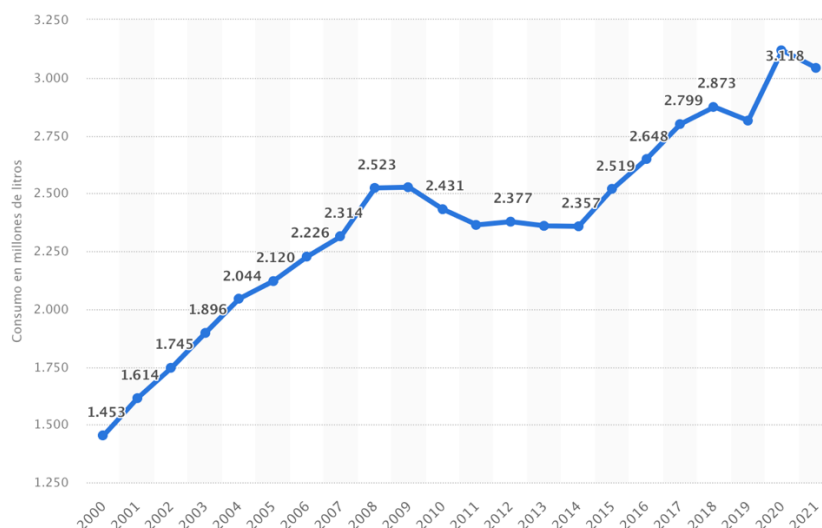


Gráfico 1. Consumo de aguas emvasadas durante los años 2000 y 2021

Es por ello, que debido al creciente consumo de este tipo de aguas, se debe conocer sus efectos sobre la salud (11).

2. OBJETIVOS DEL ESTUDIO

Teniendo en cuenta lo expuesto anteriormente, los principales objetivos de este Trabajo de Fin de Máster son los siguientes:

1. Determinar la concentración de nitratos de diferentes marcas y tipos de agua embotellada
2. Comparar el contenido de nitratos considerando el tipo de agua y marca comercial.
3. Estudiar si estas concentraciones cumplen con la legislación vigente y son aptas para el consumo humano.
4. Evaluar si existe riesgo tóxico debido al consumo de nitratos presentes en las aguas embotelladas.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. Muestras

Se analizaron 36 muestras tomadas a partir de botellas individuales que fueron adquiridas en una gran superficie comercial. El agua de todas las muestras se encontraba emvasada en botellas de plástico y se mantuvieron a temperatura ambiente, sin estar en contacto con el sol o la humedad y se mantuvieron cerradas hasta el momento en el que se realizó la toma de muestras. Se determinaron 4 marcas de agua embotellada para su consumo,

diferenciadas por tipo de agua: 12 muestras de agua de manantial, 12 muestras de agua mineral y 12 muestras de agua potable preparada tal y como se muestra en la tabla 1.

Tabla 1. Características de las muestras analizadas

Marca	Tipo de agua	Número de muestras
Fuentealta	Manantial	12
Teleno	Mineral	6
Auchan	Mineral	6
BB	Potable preparada	12

3.2. Reactivos

- Solución estándar de nitrato de nitrógeno 1000 mg/L, NON_3 (conversión a nitrato: 4430 mg/L)
- Ácido clorhídrico 1N
- Agua Milli-Q

3.3. Instrumentos

- Espectrofotómetro de absorción UV-VIS
- Micropipetas automáticas con punta desechable de plástico de volumen variable de 1 a 10 mL y 100 a 1000 μL
- Matraces aforados de 25 mL

3.4. Preparación de muestras

Antes de realizar el análisis de muestras, en primer lugar, se preparó la recta patrón con concentraciones de nitratos conocidas (de 0 a 25 ppm). La recta de calibrado se realiza en matraces aforados de 25 mL, en los que se vierten 0,5 mL de HCl 1N para inhibir las posibles interferencias, el volumen conocido de nitrato y agua Milli-Q para enrasar. Los datos de la recta de calibrado se pueden ver en la tabla 2:

Tabla 2. Datos para la realización de la recta de calibrado

Nº de patrón	$[\text{NO}_3]$ mg/L	Volumen de material certificado (μL)
1	0	0
2	5	125
3	10	250
4	15	375
5	20	500
6	25	625

Una vez obtenida la recta de calibrado se realiza un análisis de regresión en Microsoft Excel obteniendo de este modo la siguiente recta de calibrado (figura 2):

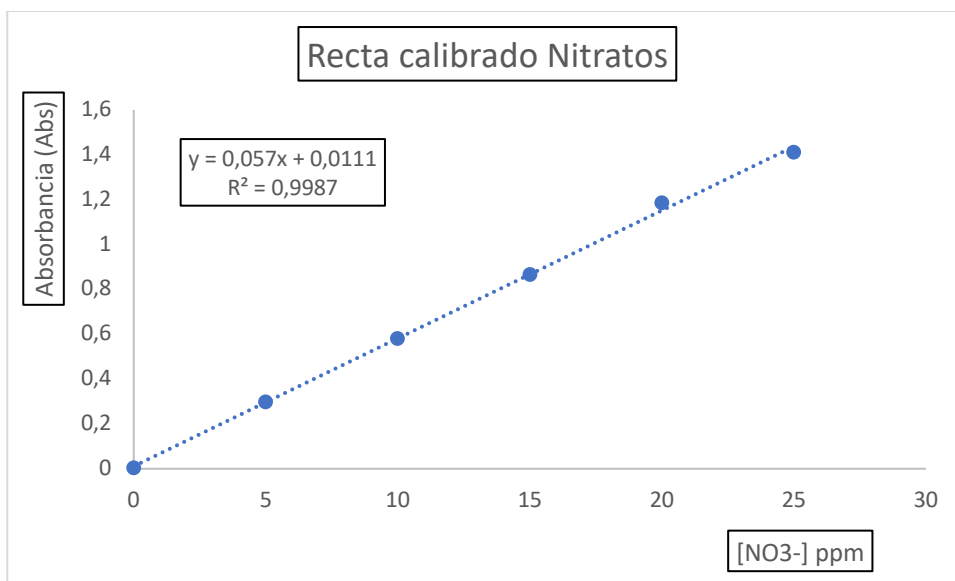


Figura 2. Recta de calibrado de nitratos

Cuando se obtiene y verifica la recta de calibrado, se procede a la preparación de las muestras. Con una pipeta aforada de doble enrase se toman 25 mL de muestra, luego se añaden 0,5 mL de HCl 1N y se homogeniza. A continuación, se vierte en la cubeta de cuarzo, debiendo estar limpia para evitar obtener valores erróneos. Finalmente, se procede a la lectura de las muestras a 220 y 275 nm, esta última longitud de onda nos permite eliminar cualquier interferencia debido a la presencia de restos de materia orgánica en las muestras. Se realizan tres mediciones en el espectrofotómetro UV-Vis para evaluar su repetitividad.

3.5. Método de análisis

Para llevar a cabo el análisis de las muestras se utilizó la técnica de espectrofotometría de absorción UV-Visible. Esta técnica es una técnica de análisis ampliamente utilizada y utilizada para el estudio cuantitativo y cualitativo de los analitos. La UV es un medio de análisis rápido y puede dar gran precisión y funciona según la ley de Lambert-Beer (12). El fundamento de la espectroscopía se debe a la interacción de la radiación electromagnética con la materia (13). La espectroscopía UV-Visible (espectros electrónicos) se debe a la capacidad de las moléculas de absorber energía UV-Visible y originar un salto desde un estado energético fundamental, E_1 , a un estado de mayor

energía (estado excitado), E_2 (figura 3). A causa de los diferentes tipos de energía (de los electrones, la rotación de las moléculas, los movimientos vibracionales de las mimas, etc.), las moléculas pueden interaccionar con las radiaciones electromagnéticas en un rango de longitudes de onda, dando lugar a diferentes tipos de espectroscopia (14).

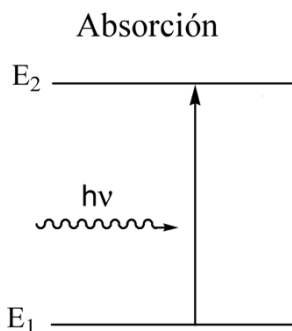


Figura 3. Diagrama de niveles de energía en una molécula (15)

La medida de absorbancia se realiza en espectrofotómetros, el cuál está compuesto de una lampara como fuente de energía radiante, monocromadores como filtros o prismas que controlan la longitud de onda de la radiación que incide sobre la muestra, cubetas de cuarzo para colocar la muestras, un detector de luz y un sistema de lectura de datos (16).

3.6. Análisis estadístico

El análisis estadístico se ha realizado usando el software IBM Statistics SPSS 22.0. En primer lugar, se utilizaron los tests de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilik con el fin de comprobar si existía normalidad en los resultados. Ambos test nos indicaron que no existía normalidad en los datos, por tanto, el resultado del estadístico de Leve para la homocedasticidad no es vinculante, ya que se iban a utilizar test no paramétricos para continuar con el análisis estadístico.

El test de Kruskal Wallis nos señaló si existía diferencias significativas entre la concentración de nitratos para distintos tipos de agua. Además, para saber entre que tipos y marca de agua había diferencias estadísticamente significativas se utilizó el test de U de Mann Whitney.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Evaluación de la concentración de nitrato

En la Tabla 3 se recogen a modo de resumen los valores obtenidos para cada tipo y marca de agua.

Tabla 3. Concentraciones de nitrato para distintos tipos de agua y marca

Marca	Tipo	[NO ₃] (mg/L)		
		Media	Máximo	Mínimo
Fuentealta	Manantial	10,25 ± 0,12	10,53	10,04
Auchan	Mineral	0,73 ± 0,15	1,08	0,64
Teleno		6,07 ± 0,11	6,34	5,92
BB	Potable preparada	1,87 ± 0,55	2,04	1,79

En España el Real Decreto 3/2023, de 10 de enero, establece los criterios técnico-sanitarios de la calidad del agua de consumo, su control y suministro (17). Esta normativa nos indica que el nivel máximo tolerable de nitratos en agua de bebida envasada es el que se muestra en la tabla 4:

Tabla 4. Valor límite de concentración para nitratos

Ión	Valor máximo orientativo
Nitrato NO ₃ ⁻	50 mg/L

Con este decreto se pretende regular la calidad de las aguas para disminuir la posibilidad de que el consumo de aguas suponga un riesgo para la salud. Este reglamento fija unos parámetros y valores paramétricos que se deben de cumplir en las aguas de consumo humano y se han fijado en base a las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS).

Como se puede observar en la tabla 3 ninguno de las aguas analizadas se acerca al valor paramétrico de nitratos recogido en el Real Decreto 3/2023 que es de 50 mg/L, por tanto, todas las aguas envasadas de nuestro estudio son aptas para el consumo humano. Asimismo, en el gráfico 1 se muestra la comparación de la concentración de nitratos para los distintos tipos de agua: manantial, mineral y potable preparada.

Como se observa, el agua de manantial destaca notablemente sobre los otros tipos de agua, con una concentración media de 10,25 ± 0,12 mg/L. Asimismo, el agua mineral destaca ya que posee un intervalo de concentración en nitratos bastante grande, debido a

que se estudiaron dos tipos de marcas. Aunque fueran el mismo tipo de agua, estas presentaban una gran diferencia de concentración de nitratos entre ellas. En último lugar, se encuentra el agua potable preparada que posee una concentración media de $1,87 \pm 0,55$ mg/L.

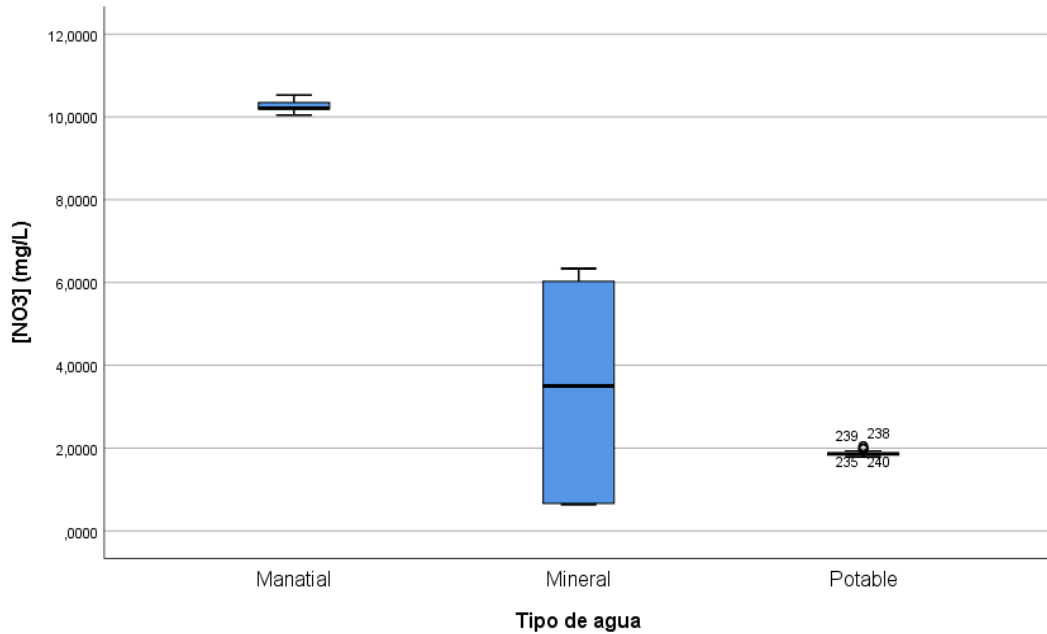


Gráfico 2. Concentraciones de nitratos en distintos tipos de agua

Tal y como podemos observar en la tabla 5, una vez realizada la prueba de Kruskal-Wallis, se reveló la existencia de diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tipos de agua: manatíal, mineral y potable preparada.

Tabla 5. Prueba de Kruskal-Wallis

Resumen de prueba de hipótesis				
	Hipótesis nula	Prueba	Sig.	Decisión
1	La distribución de [NO3] (mg/L) es la misma entre las categorías de Tipo de agua.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	,000	Rechazar la hipótesis nula.

Se muestran significaciones asintóticas. El nivel de significación es de ,C

Posteriormente, se realizó el test de U de Mann-Whitney con el fin de conocer entre que tipos de agua existían diferencias estadísticamente significativas. El resultado de la prueba nos indicó que existían diferencias significativas entre el tipo de agua manatíal y los tipos de agua mineral y potable preparada, esto se debe a que la concentración de nitratos del agua de manatíal es muy superior al resto de aguas.

Por otro lado, al realizar la prueba de U de Mann-Whitney entre el agua mineral y potable preparada, se muestran que no existen diferencias estadísticamente significativas entre ellas ($p > 0,05$).

En la gráfica 2 nos encontramos la comparación del contenido en nitratos de las marcas “Auchan” y “Teleno”, las cuales son dos tipos de marcas de agua mineral. A simple vista destaca como existe una diferencia tan grande entre marcas que pertenecen al mismo tipo de agua. La concentración media para la marca “Teleno” fue de $6,07 \pm 0,11$ mg/L, mientras que para la marca “Auchan” fue de $0,73 \pm 0,15$ mg/L por lo que, estamos ante el agua envasada analizada que menos concentración de nitratos posee.

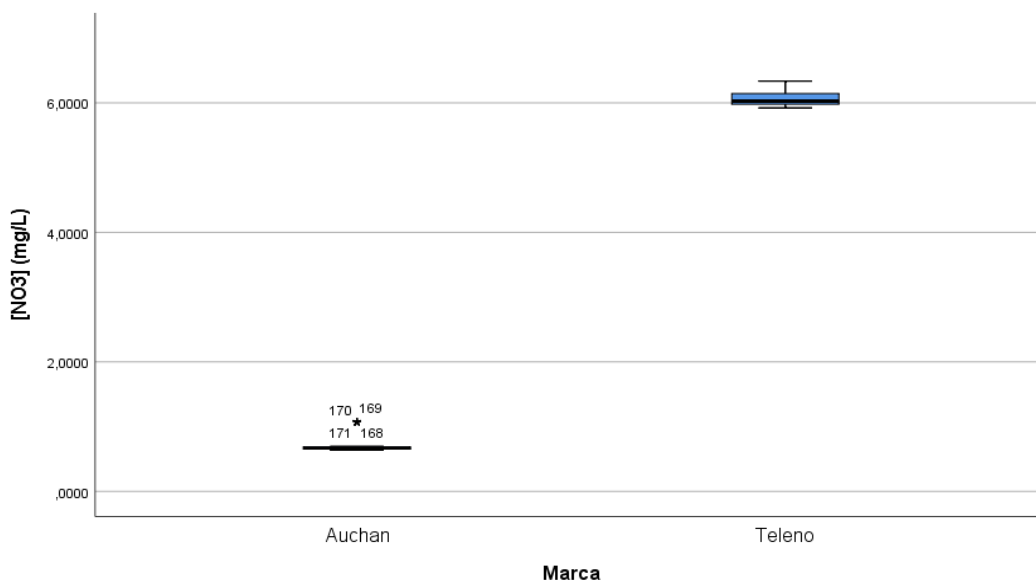


Gráfico 3. Concentraciones de nitratos para aguas de mismo tipo

Tal y como se puede observar en la tabla 6, también se realizó la prueba de U de Mann-Whitney para distintas marcas dentro del mismo tipo de agua, con el fin de conocer si existían diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 6. Prueba U de Mann-Whitney

Resumen de prueba de hipótesis				
	Hipótesis nula	Prueba	Sig.	Decisión
1	La distribución de [NO3] (mg/L) es la misma entre las categorías de Marca.	Prueba U de Mann-Whitney para muestras independientes	,000	Rechazar la hipótesis nula.

Se muestran significaciones asintóticas. El nivel de significación es de ,05

El resultado de la prueba nos indicó que existe diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre las distintas marcas que pertenecen al mismo tipo de agua. Esto se debe, a que existe gran diferencia de concentración de nitratos entre ellas.

4.2. Ingesta dietética y evaluación del riesgo toxicológico

Con el fin de comprobar si el consumo de estas aguas podría suponer riesgo para la población debido a la presencia nitratos debemos de hacer una evaluación del riesgo.

Para ello suponemos un consumo diario de 2 L/día de agua por parte de un niño de 20 kg de peso corporal, un adolescente de 55 kg de peso corporal y un adulto de 80 kg de peso corporal. Además, hay que tener en cuenta la Ingesta Diaria Admisible (IDA) para los nitratos, que tiene un valor de 3,7 mg/kg de peso corporal/día y que fue establecido por el comité conjunto de la FAO/OMS (JEFCA) en el año 2002 (18).

Para hacer la evaluación del riesgo, en primer lugar, debemos de calcular cual es la Ingesta Diaria Estimada (IDE), para ello utilizamos la siguiente formula:

$$IDE = \text{Concentración de nitratos} \left(\frac{mg}{L} \right) \times \text{Consumo diario (L)}$$

En este caso la concentración de nitratos va a ser la media de las concentraciones obtenidas experimentalmente para cada marca de agua. Se obtuvieron los valores que se pueden observar en la tabla 7:

Tabla 7. Valores obtenidos para la Ingesta Diaria Estimada

	IDE (mg)
Fuentealta	20,5
Auchan	1,46
Teleno	12,14
BB	3,74

A continuación, calculamos la Ingesta Diaria Admisible de nitratos por peso (IDA) a partir de la siguiente formula:

$$IDA \text{ por peso} = IDA \text{ para nitratos} \left(\frac{mg}{L} \right) \times \text{Peso del individuo (kg)}$$

Se obtuvieron los resultados que se observan en la tabla 8:

Tabla 8. Valores obtenidos para la Ingesta Diaria Admisible

IDA de nitratos por peso (mg)		
Niño de 20 kg	Adolescente de 55 kg	Adulto de 80 kg
74	203,5	296

Con los resultados obtenidos anteriormente, podemos determinar el porcentaje de contribución a la IDA de nitratos con el consumo de 2 L de agua envasada. Para calcularlo se hace uso de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Contribución IDA} = \left[\text{IDE} \left(\frac{\text{mg}}{\text{día}} \right) / \text{IDA} \left(\frac{\text{mg}}{\text{día}} \right) \right] \times 100$$

Para realizar una valoración de los valores obtenidos del porcentaje de contribución debemos fijarnos en la siguiente imagen (figura 3):

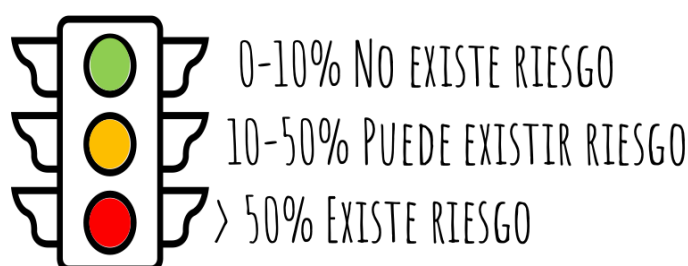


Figura 4. Semáforo de riesgo

Los valores del % de contribución obtenidos se presentan en la tabla 9:

Tabla 9. Valores obtenidos para el porcentaje de contribución

	% Contribución IDA		
	Niño de 20 kg	Adolescente de 55 kg	Adulto de 80 kg
Fuentealta	27,70	10,07	0,63
Auchan	1,97	0,72	0,25
Teleno	16,41	5,97	2,05
BB	5,05	1,84	0,63

A la vista de los resultados que se obtuvieron podemos comentar que ninguno de los porcentajes de contribución supone la existencia de riesgo puesto que no se supera el valor de 50%. Sin embargo, a la vista del semáforo de riesgo, es importante mencionar que el grupo que puede llegar a sufrir riesgos son los niños puesto que el valor de contribución obtenido para el agua “Fuentealta” y “Teleno” se encuentra en el intervalo entre 10 y 50%.

5. CONCLUSIONES

1. El agua de manantial es el tipo de agua que presenta mayor concentración media de nitratos ($10,25 \pm 0,12$ mg/L), mientras que el agua potable preparada es la que registra la menor concentración ($1,87 \pm 0,55$ mg/L)
2. Dentro de las aguas minerales, el contenido de nitratos de la marca "Teleno" presenta una mayor concentración ($6,07 \pm 0,11$ mg/L) con respecto a la marca "Auchan" ($0,73 \pm 0,15$ mg/L).
3. Ninguna de las muestras analizadas supera el valor paramétrico establecido por el Real Decreto 3/2023, por lo que todas las aguas analizadas son aptas para el consumo humano.
4. La evaluación del riesgo por ingesta de nitrato pone de manifiesto que no existe riesgo para la salud humano. Sin embargo, hay que tener especial precaución con los niños, ya que podrían llegar a sufrir riesgos según los valores obtenidos debido que se encuentran en el intervalo 10-50% del porcentaje de contribución.

6. BIBLIOGRAFÍA

- (1) *Contaminación del agua por nitratos y técnicas para su tratamiento.* (s/f). Esferadelagua.es.
<https://www.esferadelagua.es/agua-y-tecnologia/contaminacion-del-agua-por-nitratos-y-tecnicas-para-su-tratamiento>
- (2) *Nitratos y nitritos.* (2019, abril 3). ELIKA Seguridad Alimentaria.
<https://seguridadalimentaria.elika.eus/fichas-de-peligros/nitratos-y-nitritos/>
- (3) Greenpeace. (s. f.). *¿Qué son los nitratos?* Greenpeace España. <https://es.greenpeace.org/es/en-profundidad/un-agua-de-mierda-el-legado-de-las-macrogranjas/que-son-los-nitratos/>
- (4) Karwowska, M., & Kononiuk, A. (2020). Nitrates/nitrites in food-risk for nitrosative stress and benefits. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 9(3), 241.
<https://doi.org/10.3390/antiox9030241>

- (5) Martínez de Zabarte Fernández, J. M., García Íñiguez, J. P., & Domínguez Cajal, M. (2018). *Medicina Clinica*, 151(7), 278–280. <https://doi.org/10.1016/j.medcli.2017.12.009>
- (6) *Metahemoglobinemia: MedlinePlus enciclopedia médica*. (s. f.). <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/000562.htm>
- (7) Metahemoglobinemia inducida por dapsona: presentación de un caso pediátrico. (2018). *Archivos Argentinos De Pediatría*, 116(4). <https://doi.org/10.5546/aap.2018.e612>
- (8) Vitoria, I., Maraver, F., Sánchez-Valverde, F., & Armijo, F. (2015). Contenido en nitratos de aguas de consumo público españolas. *Gaceta sanitaria*, 29(3), 217-220. <https://doi.org/10.1016/j.gaceta.2014.12.007>
- (9) Aesan - Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición. (s/f). Gob.es. https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/web/seguridad_alimentaria/subdetalle/nitratos.htm
- (10) Statista. (2022, 1 agosto). *Consumo de agua envasada en España 2000-2021*. <https://es.statista.com/estadisticas/481159/consumo-de-agua-ensuada-en-espana/>
- (11) Martínez-Ferrer, Á., Peris, P., Reyes, R., & Guañabens, N. (2008). Aporte de calcio, magnesio y sodio a través del agua embotellada y de las aguas de consumo público: implicaciones para la salud. *Medicina clinica*, 131(17), 641–646. <https://doi.org/10.1157/13128721>
- (12) Análisis de Laboratorio. (2023, mayo 9). *Ventajas y desventajas de la espectroscopia UV visible*. Ciencia y Datos. <https://cienciaydatos.org/espectroscopia/ventajas-y-desventajas-de-la-espectroscopia-uv-visible/>

- (13) Oscar Vargas, G. (2019, noviembre). DETERMINACIÓN DE NITRATOS POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VISIBLE EN PRODUCTOS CÁRNICOS. Biblioteca Digital Universidad Nacional de Cuyo. https://bdigital.uncuyo.edu.ar/objetos_digitales/13774/tesis-brom.-villegas-gabriel-2019.pdf
- (14) 8. *Espectrofotetría: Espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas*. (s/f). Docplayer.Es. <https://docplayer.es/7159987-8-espectrofotetría-espectros-de-absorción-y-cuantificación-colorimétrica-de-biomoléculas.html>
- (15) (S/f). Wwww.uv.es. Recuperado el 4 de junio de 2023, de https://www.uv.es/qflab/2021_22/descargas/cuadernillos/qf1/castellano/Teoria/Absorbancia.pdf
- (16) Mäntele, W., & Deniz, E. (2017). UV–VIS absorption spectroscopy: Lambert-Beer reloaded. *Spectrochimica Acta. Part A, Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 173, 965–968. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2016.09.037>
- (17) BOE-A-2023-628 Real Decreto 3/2023, de 10 de enero, por el que se establecen los criterios técnico-sanitarios de la calidad del agua de consumo, su control y suministro. (s/f). <https://www.boe.es/buscar/act.php?id=BOE-A-2023-628>
- (18) *EFSA explains risk assessment: nitrites and nitrates added to food*. Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. <https://www.efsa.europa.eu/es/corporate/pub/nitritesandnitrates170614>