

DETERMINACIÓN DE LOS NIVELES DE CATIONES Y ANIONES PRESENTES EN FRESAS (FRAGARIA X ANANASSA) CULTIVADAS EN LA COLONIA TOVAR, VENEZUELA, MEDIANTE ICP-OES Y CROMATOGRAFÍA IÓNICA

FÁTIMA RODRÍGUEZ¹, JANETH SALAS^{*2}, EUNICE MARCANO³, YORBIN GONZÁLEZ³, GUILLERMINA AGUIAR⁴

¹ Departamento de Ingeniería de Alimentos, Universidad de La Serena. Chile. e-mail: fjrodriguez@userena.cl

^{*2} Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas. Centro de Química. Laboratorio de Espectrometría de Masas. Venezuela. e-mail: jsalashplc@gmail.com

³ Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas. Centro de Química. Laboratorio de Química Analítica. Venezuela. e-mail: em2631@gmail.com

⁴ Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas. Centro de Ecología. Laboratorio de Ecofisiología Vegetal. Venezuela. e-mail: cologia@gmail.com

Recibido: octubre 2017

Aprobado para publicación: octubre 2017

RESUMEN

En las frutas, ciertos iones están de manera natural, mientras otros son adquiridos mediante diversos procesos, unos de los más influyentes son los de origen antropogénico. La fresa, ha sido uno de los rubros más estudiados por sus reconocidas propiedades y también desde el punto de vista toxicológico. La fresa es altamente consumida en muchos países, posee un alto contenido mineral, compuestos bioactivos, fibra, vitaminas, ácido fólico y polifenoles. El análisis de aniones Fluoruro (F⁻), Cloruro (Cl⁻), Bromuro (Br⁻), Nitrato (NO₃⁻), Sulfato (SO₄⁻²) y Fosfato (PO₄⁻³), por Cromatografía iónica y cationes Calcio (Ca), Magnesio (Mg), Fósforo (P), Hierro (Fe), Potasio (K), Zinc (Zn), Manganeseo (Mn), Sodio (Na), Cobre (Cu), Níquel (Ni), Cadmio (Cd), Cobalto (Co), Cromo (Cr) y Plomo (Pb) por Espectroscopia de Emisión Atómica con Plasma Inductivamente Acoplado (ICP-OES) en muestras de fresa (*Fragaria ananassa*) fue el objetivo de este estudio. Las concentraciones máximas encontradas en mg/kg para los aniones fueron: F⁻ (8,79±0,01), Cl⁻(713,59±0,02), Br⁻(1850,60±3,50), NO₃⁻(124,04±1,30), SO₄⁻²(94,28±0,07) y PO₄⁻³(623,69±0,49); mientras que para los cationes se obtuvo concentraciones en mg/kg en base húmeda Ca(160±1), Mg (82 ± 1), P(220±6), Fe(4,1±0,8), K(1251±55), Zn(0,67±0,09), Mn(2,05±0,05), Na(37±4), Cu(0,48±0,01), Ni, Cd, Co, Cr y Pb no fueron detectados.

Palabras clave: fresas, iones, cromatografía iónica, ICP-OES

DETERMINATION OF THE LEVELS OF CATIONS AND ANIONS PRESENT IN STRAWBERRIES (FRAGARIA X ANANASSA) CULTIVATED IN COLONIA TOVAR, VENEZUELA, THROUGH ICP-OES AND ION CHROMATOGRAPHY

ABSTRACT

Several ions are naturally present in fruits, while others are acquired through various processes, one of the most influential are those of anthropogenic origin. Fruits have been one of the most studied items not only for their recognized properties but also from a toxicological point of view. The strawberry is highly consumed in many countries, it has a high mineral content, bioactive compounds, fiber, vitamins, folic acid and polyphenols. The objective of this study was the analysis of anions Fluoride (F⁻), Chloride (Cl⁻), Bromide (Br⁻), Nitrate (NO₃⁻), Sulphate (SO₄⁻²) and Phosphate (PO₄⁻³) by Ion Chromatography and Cations Calcium (Ca), Magnesium (Mg), Phosphorus (P), Iron (Fe), Potassium (K), Zinc (Zn), Manganese (Mn), Cadmium (Cd), Cobalt (Co), Chromium (Cr) and Lead (Pb) by Atomic Emission Spectroscopy with Inductively Coupled Plasma (ICP-OES) in strawberry samples (*Fragaria ananassa*). The maximum concentrations found in mg/kg for the ions were: F⁻ (8,79±0,01), Cl⁻(713,59±0,02), Br⁻(1850,60±3,50), NO₃⁻(124,04±1,30), SO₄⁻²(94,28±0,07) and PO₄⁻³(623,69±0,49); while for the cations concentrations were obtained in mg/kg: Ca(160±1), Mg(82 ± 1), P(220±6), Fe(4,1±0,8), K(1251±55), Zn(0,67±0,09), Mn(2,05±0,05), Na(37±4), Cu(0,48±0,01) Ni, Cd, Co, Cr and Pb were not detected.

Keywords: strawberry, ions, Ion Chromatography, ICP-OES

INTRODUCCIÓN

El consumo de frutas y vegetales ha sido asociado a una reducción del riesgo de enfermedades crónicas degenerativas, cáncer y enfermedades cardiovasculares (Méndez-Laguna, Rodríguez-Ramírez, Cruz-Gracida, Sandoval-Torres y Barriada-Bernal, 2017). Específicamente, las frutas poseen una demanda elevada porque proporcionan fibra, vitaminas, antioxidantes y minerales que son esenciales para la salud humana. Dentro de ellas, ha resaltado la fresa (*Fragaria X ananassa*), la cual, al igual que otras bayas, es altamente consumida en forma natural en muchos países, posee un alto contenido mineral, así como también es fuente importante de compuestos bioactivos, propiedades antioxidantes conocidas y anti cancerígenas, fuente de fibra, vitaminas (B, C y K), ácido fólico, ácidos grasos y polifenoles (Correa et al. 2018; Giampieri et al. 2012).

El contenido de los componentes orgánicos e inorgánicos en las frutas puede variar según la planta, la madurez, las condiciones del suelo, el clima y las prácticas agrícolas. Muchos de ellos son esenciales pero no pueden ser sintetizados y deben ser suministrados por la dieta en cantidades regulares de absorción (Giampieri et al., 2012; Grembecka y Piotr, 2013; Nabrzyski, 2007).

El estudio de la presencia de los elementos inorgánicos en alimentos, así como las interacciones entre ellos y su biodisponibilidad, son escasos. El análisis de cationes y aniones inorgánicos en frutas y vegetales tiene importancia, no solo desde el punto de vista nutricional, sino también toxicológico, considerando que aunque ellos pueden tener lugar de manera natural, también son producto del efecto de agentes externos, incluyendo la manipulación industrial (Buldini, Ferri y Sharma, 1997; López, 2000) y el mal uso de fertilizantes y plaguicidas, entre otros (Dugo et al., 2007).

Los nitratos están presentes en muchos alimentos; estos, al ser consumidos pueden ser sometidos a ciertos procesos de reducción en el tracto digestivo que dan lugar a la presencia de nitritos e inducir una metahemoglobinemia (Buldini et al., 1997). La ingesta de fluoruros es necesaria para preservar la integridad del sistema óseo, pero un exceso puede desencadenar una fluorosis (Dugo et al., 2007). El cloruro tiene una función relevante en el equilibrio metabólico ácido-base del organismo, se encuentra comúnmente en los alimentos en forma de NaCl, empleado altamente como preservativo. Los fosfatos están presentes en la estructura de los ácidos nucleicos y también se encuentran depositados en huesos y dientes, el bromuro es uno de los iones más importantes en términos de contaminación de

alimentos. debido a su potencial toxicidad (Dugo et al., 2007). Los estrechos límites de tolerancia de este anión hacen que su determinación sea muy importante para evitar riesgos a la salud humana, ya que especies de este anión han sido establecidas como carcinógenas con riesgos de tumores renales a concentraciones $>0,05\mu\text{g/l}$, por la Agencia Internacional para la Investigación en Cáncer (IARC) (Bagdatlioglu, Nergiz y Ergonul, 2010; Buldini et al., 1997).

En general, los elementos son importantes para la buena salud si provienen de una fuente orgánica o vegetal; sin embargo, si proceden de una fuente inorgánica o metálica se vuelven tóxicos en el organismo (Radwan y Salama., 2006). La contaminación por metales tóxicos puede ocurrir por diferentes factores (Radwan et al., 2006; Tuzen y Soylak, 2007), por lo que un control de calidad de estos alimentos es necesario para garantizar un consumo seguro de los mismos, considerando los factores ambientales a los que estamos sometidos en la actualidad y los avances tecnológicos que aumentaron de manera significativa la producción mundial de alimentos.

En los últimos años, mundialmente se han establecido normativas para efectuar controles en la comercialización de frutas y vegetales en cada una de sus etapas (Union, 2007), orientados hacia el aseguramiento de la calidad de los productos frescos, la erradicación de la inseguridad alimentaria y la malnutrición. En Venezuela, la regulación del uso de agroquímicos adquiere importancia debido a la alta actividad agrícola ejercida en zonas rurales del país. Tales reglamentos otorgan responsabilidades a la Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN), de la que podemos citar específicamente la COVENIN 3031-93 (COVENIN, 1993), la cual contempla las características generales y requisitos que deben cumplir los productos conocidos bajo la denominación de frutas en almíbar y al natural, destinadas a consumo humano. El análisis de la composición química en frutos y vegetales es por tanto de gran importancia a nivel nacional, ya que muchos de estos se distribuye directamente del productor al consumidor.

El cultivo de fresas no constituye el rubro de mayor producción en Venezuela (FAOSTAT, 2016); sin embargo, ha sido altamente cultivada de manera tradicional a campo abierto en las zonas altas de los estados Mérida, Táchira, Trujillo, Aragua, Miranda y Monagas (Pérez de Camacaro, Ojeda, Mogollón, Giménez, 2013). Estudios enfocados en la composición elemental de este rubro han sido limitados, por lo que el objetivo del presente trabajo fue evaluar diversas metodologías de extracción para el análisis de aniones (Cl^- , F^- , NO_3^- , PO_4^{3-} , SO_4^{2-} y Br^-) y cationes (Ca , Mg ,

P, Fe, K, Zn, Mn, Cd, Co, Cr, Pb, Na, Cu y Ni) mediante Cromatografía de Intercambio Iónico (CI) y Espectroscopia de Emisión Atómica con Plasma Inductivamente Acoplado (ICP-OES), respectivamente, en fresas provenientes de la Colonia Tovar, estado Aragua, Venezuela, para establecer así la calidad nutricional del fruto y su composición mineral.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para el análisis de los aniones inorgánicos, todos los reactivos fueron grado analítico al 99.99% de pureza: NaCl, NaF, Na₂SO₄, NaNO₃, KBr y Na₃PO₄·12H₂O (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA). La fase móvil fue NaOH (Merck, Darmstadt, Alemania). El análisis se llevó a cabo con un cromatógrafo de iones marca DIONEX DX500 (Sunnyvale, CA, USA), con un sistema de inyección de loop de 10µl, columna analítica ION PAC AS11 (4X250mm), guarda columna ION PAC AG11 (4X50mm), marca DIONEX, regenerador de iones ASRS-11-4 mm y detector de conductividad DIONEX. El agua desionizada fue obtenida con un sistema Milli-Q de purificación de agua con resistividad de 18.2 cm. MΩ (Millipore, Bedford, MA, USA). Ultrasonido (Cole-Parmer, modelo 8851, Vernon Hills, USA) y Centrifugadora (SIGMA, modelo 204, Shropshire, UK). Cartuchos de extracción en fase sólida C18 (Waters Associates ® modelo SEP-PAK, Milford, MA, USA).

Para el análisis de los cationes inorgánicos por ICP-OES, la preparación de todas las soluciones se realizó con agua desionizada. Las curvas de calibración de los elementos traza se realizaron con una solución estándar multielemental IV (MERCK, Darmstadt, Alemania). Los metales mayoritarios se prepararon con estándares que contienen 1000 mg.L⁻¹ de Ca, Mg, Na y P (MERCK, Darmstadt, Alemania) y K (Fisher Scientific Company, NJ, USA). Para el análisis de las muestras se empleó HNO₃ suprapuro (MERCK, Darmstadt, Alemania) al 65%, H₂O₂ grado analítico (Riedel de Haen, Seelze, Germany) al 30% y HClO₄ grado analítico (MERCK, Darmstadt, Alemania) al 37%. El equipo empleado para la digestión cerrada fue un horno microondas (CEM Corporation, MARS5 Matthews, NC, USA). Para la digestión abierta se empleó una plancha de calentamiento y agitación múltiple de nueve posiciones (Cole-Parmer, Vernon Hills, USA). El análisis se llevó a cabo con un ICP-OES marca Perkin Elmer Optima 3000 XL (Norwalk, CT, USA) de configuración radial. Las condiciones del método empleado fueron potencia del generador (1500W), altura de observación (12 cm), flujo del gas plasmógeno (12 L.m⁻¹), flujo auxiliar (0,5L.m⁻¹) y flujo del nebulizador (0,6 L.m⁻¹). Las longitudes de onda empleadas para los elementos analizados fueron Ca (317,933 nm), P (214,914 nm), K

(766,490), Mg (285,213), Cd (214,440 nm), Co (228,616 nm), Cr (205,560 nm), Cu (324,752 nm), Na (589,592 nm), Ni (231,604 nm), Pb (220,353 nm), Zn (202,548 nm), Fe (259,939 nm), Mn (260,568 nm).

Área de muestreo

El área de estudio seleccionada es el sector Cumbote 10°25'30" LN – 67°15'05" LO a 1600 msnm, municipio Ricaurte-Colonia Tovar, estado Aragua. Se ubica a 42Km de la capital de Venezuela a una altitud de aproximadamente 2200 metros sobre el nivel del mar.

Tratamiento de muestra

Se trabajó con un lote de muestra preparado con fresas suministradas por productores del área de muestreo establecida, el cual consistió de fresas maduras recién cortadas y libres de malezas, cuyo peso aproximado fue de 600 gramos. Dicho lote fue trasladado al laboratorio donde fueron inicialmente trituradas y homogeneizadas en un mortero de cerámica hasta obtener una pasta que luego fue transferida a un envase de vidrio ámbar y congelado a una temperatura de -18°C hasta el momento del análisis de los iones.

Metodología de análisis para los aniones

Se tomó 2,0 g de la muestra previamente homogeneizada, se colocó en un tubo centrifuga Falcon® de 50 mL, se agregó 25 mL de agua desionizada y posteriormente se realizó la extracción en un baño ultrasónico a 23°C y a 60°C por 30 minutos. Seguidamente, la muestra fue pasada a través de un cartucho C18 previo a su análisis en el cromatógrafo, con la finalidad de obtener una solución de aniones libre de interferentes de naturaleza orgánica. La fase móvil empleada fue NaOH 12mM a un flujo 1mL.min⁻¹ de manera isocrática. Los experimentos fueron realizados por duplicado.

Un diseño factorial 2² y un análisis de varianza (ANOVA) fueron aplicados para estimar el efecto de los factores principales y sus interacciones sobre la extracción de los aniones: Cl⁻, F⁻, NO₃⁻, PO₄³⁻, SO₄²⁻, Br en fresas. Los factores estudiados se especifican a continuación: 1) Extracción de la muestra: Con Cartucho C18 (Nivel+) y Sin Cartucho C18 (Nivel-); 2) Temperatura de extracción: 60°C (Nivel+) y 23°C (Nivel -). El diseño factorial genera cuatro experimentos y la matriz de experiencia aplicada para la obtención de las respuestas obtenidas con sus respectivas replicas es mostrada en la Tabla 1. El análisis estadístico se realizó empleando el software STATGRAPHICS Centurion

6.0 (STSC, Rockville, MD, USA).

Tabla 1. Matriz de experiencia generada por el diseño 2² con sus respectivas réplicas

Nº Experimentos	Extracción	Temperatura de extracción
1	+	+
2	-	+
3	+	-
4	-	-
1	+	+
2	-	+
3	+	-
4	-	-

Metodología de análisis para los cationes

Partiendo de la pasta homogénea de fresas, se pesaron aproximadamente 45 g de la muestra y fue llevado a estufa a 60°C por siete horas hasta evaporar la mayor cantidad de agua y obtener una pasta seca. El contenido de humedad fue determinado. Posteriormente, se llevaron a cabo los dos esquemas para la digestión de los cationes de la muestra: digestión abierta y digestión por microondas. Adicionalmente, se realizó un análisis de los cationes definidos empleando las metodologías de digestión estudiadas a un material de referencia de tomate SRM 1573^a (NIST, USA) para efecto del estudio de exactitud del método.

Para la digestión abierta, se pesaron por triplicado 0,5 g de muestras a partir de la pasta seca de fresas y fueron llevados a vasos de precipitado para digestión de 100 mL. Posteriormente, se añadió 5 mL de HNO₃ a cada muestra y se llevó a calentamiento a 60°C por 45 min. Transcurrido

dicho tiempo, las muestras se dejaron enfriar por 15 min y se adicionó 2 mL de HClO₄ y se llevó a calentamiento a 80°C hasta obtener una solución transparente. Finalmente, la solución fue filtrada y transferida a un balón aforado de 25 mL para su posterior análisis por ICP-OES. Para la digestión por microondas, se pesaron aproximadamente 0,25 g por muestra y transferidas a envases de microondas de 50 mL, se agregaron 5 mL de HNO₃ concentrado y se sometió a un esquema de digestión de una sola etapa, según las siguientes condiciones instrumentales: potencia 400 W (100%), tiempo 10 minutos, presión máxima 800 psi, temperatura 150°C por 15 minutos. Por último, la solución final fue filtrada y transferida a un balón aforado para su posterior análisis por ICP-OES.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Determinación de aniones

Los parámetros analíticos fueron calculados partiendo de la curva de calibración para cada anión estudiado. Los límites de detección en mg.L⁻¹ fueron F(0,0001), Cl(0,0001), Br (0,002), NO₃⁻(0,0012), SO₄⁻²(0,001), PO₄⁻³(0,015). El valor de los R² mostró buena distribución lineal para cada anión estudiado.

El diseño de experimento 2² fue aplicado para estudiar el efecto de la temperatura de extracción y el uso de un cartucho de extracción C18, el cual permite retener los compuestos orgánicos a fin de obtener una extracción de los aniones libres de interferentes orgánicos en la matriz acuosa. La respuesta obtenida en este diseño fue la concentración en mg.kg⁻¹ de los aniones en la muestra, dichos resultados son mostrados en la Tabla 2.

Los resultados arrojados en el análisis multifactorial del diseño factorial 2² aplicado a las variables estudiadas son mostrados en la Tabla 3.

Tabla 2. Concentraciones en mg.kg⁻¹ obtenidas de los aniones estudiados al aplicar la matriz de experiencia del diseño 2² en muestras de fresa (*Fragaria X ananassa*)

Nº	F ⁻	Cl ⁻	Br	NO ₃ ⁻	SO ₄ ⁻²	PO ₄ ⁻³
1	8,79±0,01	73,590,02	1739,94±2,87	119,43±0,06	79,66±2,42	606,41±7,99
2	4,79±0,01	71,63±0,05	1779,92±7,57	120,15±0,27	88,42±0,04	609,96±0,45
3	5,68±0,01	50,47±0,05	1378,00±1,23	122,44±0,35	92,88±0,08	623,53±0,55
4	3,31±0,31	47,94±4,37	1346,38±4,98	123,99±0,58	91,73±1,11	615,53±0,43
1	8,70±0,02	67,36±0,90	1850,60±3,50	121,41±1,40	81,07±0,05	598,42±11,2
2	4,78±0,05	71,57±0,02	1778,68±1,31	121,81±2,34	88,40±0,07	608,84±0,37
3	5,69±0,01	50,56±0,05	1381,22±1,65	122,47±0,11	92,84±0,01	623,69±0,49
4	3,62±0,10	42,97±1,35	1379,70±1,05	124,04±1,30	94,28±0,07	583,92±0,08

Promedio ± desviación estándar en base fresca

Tabla 3. Valor- P obtenido en el análisis de varianza para los aniones estudiados

Factores	F ⁻	Cl ⁻	Br	NO ₃ ⁻	SO ₄ ⁻²	PO ₄ ⁻³
A:Extracción	0,0000	0,3793	0,6036	0,1762	0,0048	0,3587
B:Temperatura	0,0000	0,0003	0,0001	0,0172	0,0003	0,5190
INTERACCION: AB	0,0004	0,1956	0,9922	0,4822	0,0057	0,1314

Nivel de confianza 95,0%

El ANOVA realizado permitió descomponer la variabilidad de cada anión en contribuciones debidas a los factores estudiados. Los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores evaluados. El análisis de varianza para el Flúor arrojó que tres valores-P son menores que 0,05, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre Flúor con un 95,0% de nivel de confianza. Las variables que resultan estadísticamente significativas son el tipo de extracción, la temperatura y las interacciones entre ambas variables (Tabla 3). Para el cloruro, la temperatura tiene un efecto estadísticamente significativo sobre la extracción, el factor tipo de extracción no arrojó ningún efecto significativo así como las interacciones entre la temperatura y el tipo de extracción. Los resultados arrojados en el análisis estadísticos en general muestran que la variable temperatura resulta estadísticamente significativa en la extracción de todos los aniones excepto para el fosfato, el cual no arrojó ningún efecto. La variable tipo de extracción arrojó que solo para los aniones fluoruro y sulfato hubo un efecto significativo en los resultados obtenidos, así como también en la interacción temperatura y tipo de extracción.

A fin de poder discernir el nivel (+ o -) para el cual las variables estudiadas resultaron estadísticamente significativa, se construyeron los diagramas de interacción (Pérez, Salas y Amaro, 2015). El análisis de los resultados arrojados en estos diagramas revelan que para el F⁻ la mejor respuesta se obtiene cuando los dos factores están en su nivel +, o sea, con el uso del cartucho C18 y cuando la temperatura es de 60°C, para el Cl⁻ los resultados muestran que la mayor respuesta la obtenemos sin cartucho C18 y con temperatura de 60°C. En el estudio realizado para el bromuro la mejor condición se obtiene cuando la temperatura es de 60°C y cuando se usa el cartucho C18 a pesar de que el factor tipo de extracción no fuera importante en el análisis estadístico. Para el NO₃⁻ y SO₄⁻² los resultados muestran un aumento de la respuesta sin la presencia del cartucho y a la temperatura del baño ultrasonido de 23°C. El uso del cartucho solo es importante cuando se analiza el ion fluoruro. Las concentraciones de los aniones obtenidas con las mejores condiciones de estudios evaluadas son de 8,75 mg.kg⁻¹ para el F⁻; 71,60 mg.kg⁻¹ para el Cl⁻; 1794,50 mg.kg⁻¹ para el Br⁻; 124,02 mg.kg⁻¹ el NO₃⁻; 93,01 mg.kg⁻¹ SO₄⁻² y 623,61 mg.kg⁻¹ el PO₄⁻³. Existen estudios donde han

establecido límites de ingesta diaria para el flúor en donde se toma como valor 0,05 mg de F⁻ por kg por peso corporal por día. Para el ion Br se observa que el valor promedio más alto encontrado en la muestra de fresas representativa es de 1794,50 mg.kg⁻¹. Las altas concentraciones de este anión en muestras de frutas y vegetales han sido atribuidas al posible uso de insecticidas para el control de plagas (López-Medina et al., 2007).

Estudios toxicológicos han mostrado que la dosificación mínima farmacológicamente eficaz de bromuro en el adulto humano es de aproximadamente 900 mg de KBr, equivalente a 600 mg de ion Br diariamente. Suponiendo un peso adulto de 60 kg, esta dosis en el hombre es de aproximadamente 10 mg.kg⁻¹ de peso corporal por día (FAO/OMS, 1966). El Límite Máximo de Residuos (LMR) es la concentración máxima de un residuo de plaguicida resultante del uso de un plaguicida de acuerdo a prácticas agrícolas correctas recomendadas por la Comisión del Codex Alimentarius FAO/OMS. En frutos frescos los LMR permitidos de bromuro son de 20 mg.kg⁻¹ de peso corporal y la ingesta diaria admisible de Br inorgánico es de 1 mg.kg⁻¹ de peso corporal (ONU/OMS, 1989). Los fertilizantes a bases de nitrógeno, fósforo y sulfatos son ampliamente usados en la agricultura vegetal, las concentraciones de NO₃⁻ en frutas y vegetales son atribuidos a la aplicación de estos fertilizantes a los suelos. Los resultados encontrados en este estudio para los aniones NO₃⁻, SO₄⁻² y PO₄⁻³ muestran que estos valores son comparables con los obtenidos por Caruso, Villari, Melchionna, Conti (2011), quienes reportan las siguientes concentraciones de aniones en fresa: 570 mg.kg⁻¹ NO₃⁻; 426 mg.kg⁻¹ PO₄⁻³; 760 mg.kg⁻¹ SO₄⁻² y 1070 mg.kg⁻¹ Cl⁻, el F⁻ no fue evaluado por los autores. Radojevic y Bashkin (1999), reportan valores máximos permisibles de niveles de nitratos en vegetales, en USA: 3600 mg.kg⁻¹, Rusia: 2100 mg.kg⁻¹, República Checa: 730 mg.kg⁻¹. Uwah, Akan, Moses, Abah, Ogugbuaja, (2007) reportaron el contenido de nitrato, nitrito, sulfato y fosfato en vegetales provenientes del estado de Borno, Nigeria, encontrando que los niveles de nitratos en estos vegetales variaban desde 41,15 mg.kg⁻¹ para los tomates hasta 873,31 para la espinaca. Para sulfatos y fosfatos los valores reportados en esos vegetales varían en un rango de 1520 mg.kg⁻¹ a 12.500 mg.kg⁻¹ para sulfatos y 967 mg.kg⁻¹ hasta 3390 mg.kg⁻¹ para fosfatos. Si comparamos los resultados obtenidos en esta

investigación con los reportados por estos investigadores podemos inferir que los valores obtenidos son comparables con los obtenidos por otras investigaciones y que están dentro de los límites permisibles de consumo en la dieta diaria.

Determinación de cationes

Los parámetros analíticos fueron calculados para el análisis de los catorce elementos analizados en las muestras de fresas. Las curvas de calibración externas de los elementos

estudiados exhibieron R^2 con una buena distribución lineal, los límites de detección fueron determinados encontrado valores en mg/L para los elementos: (Ca= 0,09); (P= 0,022), (Mg= 0,005), (K=0,2) (Na= 0,2)(Cd=0,0002), (Co=0,00001), (Cr=0,00005), (Mn= 0,00001), Pb= 0,003), (Zn= 0,0002)(Cu= 0,0001, (Ni= 0,0005), (Fe=0,0004). La precisión y exactitud del método se confirmó mediante el análisis del material de referencia de tomate SRM 1573a. Los resultados de las mediciones de los bioelementos y metales tóxicos del material SRM 1573a se presentan en la Tabla 4.

Tabla 4. Concentraciones en mg.kg⁻¹ de los cationes analizados en fresa (*Fragaria X ananassa*)

Cationes	Digestión abierta	Digestión por microondas	Declarada en material de referencia de tomate	Digestión abierta	Digestión por microondas
Ca	151,75 ± 2,07	159,57 ± 0,73	5050 ± 90	4990±50	4750 ± 150
Cd	ND	ND	1,52 ± 0,04	ND	ND
Co	ND	ND	0,57 ± 0,02	ND	ND
Cr	ND	ND	1,99 ± 0,06	1,89 ± 0,01	1,78 ± 0,02
Cu	0,5 ± 0,01	0,48 ± 0,01	4,70 ± 0,14	4,79 ± 0,15	4,92 ± 0,25
Fe	4,13 ± 0,59	4,06 ± 0,83	368 ± 7	362 ± 10	303 ± 15
K	1244,82 ± 50,38	1250,79 ± 55,20	2700 ± 150	2650 ± 50	245 0 ± 100
Mg	93,39 ± 7,27	82,26 ± 0,64	1,2±0,23	1,15 ± 0,35	1,13 ± 0,50
Mn	1,94 ± 0,09	2,05 ± 0,05	246 ± 8	242 ± 10	219 ± 15
Mo	ND	ND	136 ± 4	141 ± 5	143 ± 10
Na	35,09 ± 6,04	37,18 ± 4,58	1,59 ± 0,07	ND	ND
Ni	ND	ND	0,216 ± 0,004	0,210 ± 0,010	0,193 ± 0,015
P	240,80 ± 7,35	219,54 ± 6,13	-	ND	ND
Pb	ND	ND	30,9 ± 0,07	30 ± 1	26 ± 2
Zn	0,95 ± 0,05	0,67 ± 0,09	5,05 ± 0,09	4,99 ± 0,05	4,75 ± 0,15

Promedio ± desviación estándar en base fresca

El análisis estadístico de los resultados obtenidos por ambas metodologías de digestión solo mostró diferencia significativa para los elementos Mg, P y Zn. En el resto de los elementos estudiados no se observó diferencias significativas en los niveles de concentración obtenidos para cada catión empleando las dos metodologías de digestión. Los elementos que se encontraron en mayor proporción fueron K > Ca > P > Mg > Na, los cuales son reconocidos por encontrarse comúnmente en mayor proporción en las frutas. Los oligoelementos Fe, Mn, Zn y Cu fueron encontrados en menor proporción. Aquellos elementos no esenciales y algunos de estos considerados tóxicos, tales como Cd, Co, Cr, Ni y Pb no fueron detectados en el presente estudio. Los resultados obtenidos cuando se evaluó la exactitud del método con el material de referencia de tomate SRM 157 (Tabla 4), mostraron buena concordancia si se compara los resultados declarados con

los valores obtenidos tanto con la digestión abierta como la digestión realizada con el microondas. La metodología por digestión abierta puede ser la metodología más accesible en términos de disponibilidad de equipo y costos; sin embargo, consume tiempo y requiere un mayor volumen de reactivos químicos tóxicos. Por su parte, la digestión vía horno microondas, aunque es reconocido el costo de operación y mantenimiento, puede llevar a cabo este proceso de manera más rápida, segura con una cantidad mínima de muestra y un volumen más pequeño de reactivo (Bizzi, flores, Barin, Garcia, Nóbrega, 2011; Gholami, Behkami, Zain, Bakirdere, 2016). En los resultados de la muestra de fresa predominó en concentración los macroelementos K (1251 mg.kg⁻¹), Na (37 mg.kg⁻¹), Ca (160 mg.kg⁻¹), Mg (83 mg.kg⁻¹) y P (220 mg.kg⁻¹). El potasio fue el elemento mayoritario, cuyo consumo lo recomienda la OMS en una proporción de aproximadamente 3510 mg.día⁻¹ para reducir la tensión

arterial y riesgo de enfermedades cardiovasculares (OMS, 2013), por lo que una porción fresca de esta fruta puede complementar la ingesta requerida. Las concentraciones de los macroelementos fueron similares a los establecido por la USDA (United States Department Agriculture) en su base de datos de proporción de los nutrientes consumidos en los alimentos (USDA, 2016), en 100 gramos de fresa fresca. Otros estudios con fresa *Arbutus unedo L* cosechadas en Mersin, Turkía (Musa y Haciseferogullari, 2007), mostraron valores que son comparables con los arrojados en esta investigación.

La proporción que necesita el cuerpo de oligoelementos o micronutrientes por día son pequeñas; sin embargo, algunos de ellos resultan esenciales para diversos procesos de carácter metabólico. El hierro, por ejemplo, es el elemento constituyente vital de la hemoglobina; el Zn interviene en el metabolismo de las proteínas y ácidos nucleicos; el Cu forma parte de los tejidos corporales y el Mn es el constituyente de ciertas enzimas (Reynaud, 2014). Los resultados obtenidos en la muestra de fresa analizada para los elemento Fe, Mn, Zn y Cu fueron: 4,06; 2,05; 0,67 y 0,48 mg.kg⁻¹ respectivamente. La USDA reporta que en 100 gramos de fresa fresca la ingesta de Fe y Zn sería de 0,41g.100g⁻¹ y 0,14g. 100g⁻¹ (USDA, 2016), si se comparan estos valores con los encontrados en las fresas de la Colonia Tovar, para el Fe el valor encontrado fue similar y ligeramente inferior para el Zn . Otros autores reportaron rangos similares a los encontrados para Cu (0,20-0,99 mg.kg⁻¹) y Mn (2,2-28,7 mg.kg⁻¹), en un estudio a diferentes bayas cultivadas en Brasil (Correa et al. 2018). COVENIN establece como nivel máximo para Cu y Zn 5 mg.kg⁻¹ para frutas en almíbar y al natural (COVENIN, 1993). Los elementos Cd, Co, Cr, Ni, Pb no fueron detectados por la metodología empleada en las muestras de fresa. COVENIN establece al As, Pb y Hg como contaminantes y los límites para los mismos son 0,2; 0,3 y 0,05 mg.kg⁻¹, respectivamente (COVENIN, 1993). En un estudio de metales pesados a diversas frutas en Manisa, Turquía (Bagdatlioglu et al., 2010) se encontró que los rangos de Pb fueron de 0,003-0,010 mg.kg⁻¹ para fresa y el Cd no fue detectado.

CONCLUSIONES

En el estudio de los aniones inorgánicos se observó que la temperatura resultó significativamente importante en la extracción de los analitos, mientras que el tipo de extracción solo resultó significativo cuando se analiza el ion fluoruro. Las concentraciones de los aniones arrojaron valores que están dentro de los niveles permitidos en la ingesta diaria. Para el estudio de los cationes los resultados arrojaron que las concentraciones encontradas en los elementos

estudiados están dentro de los niveles exigidos por las normas nacionales e internacionales.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Rafael Pérez, Juan De Sousa y Ana Baños, por sus valiosos aportes en la realización de esta investigación, quienes iniciaron con dedicación y compromiso los primeros experimentos para llevar a cabo este trabajo.

REFERENCIAS

- Bagdatlioglu, N., Nergiz, C., & Ergonul, P. G. (2010). Heavy metal levels in leafy vegetables and some selected fruits. *J. Verbr. Lebensm.* (5), 421–428.
- Bizzi, C. A., Flores, E. M. M., Barin, J. S., Garcia, E. E., & Nóbrega, J. A. (2011). Understanding the process of microwave-assisted digestion combining diluted nitric acid and oxygen as auxiliary reagent. *Microchem. J.* 99(2), 193–196.
- Buldini, P. L., Ferri, D., & Sharma, J. L. (1997). Determination of some inorganic species in edible vegetable oils and fats by ion chromatography. *J. Chromatogr. A.* (789), 549–555.
- Caruso, G., Villari, G., Melchionna, G., & Conti, S. (2011). Effects of cultural cycles and nutrient solutions on plant growth, yield and fruit quality of alpine strawberry (*Fragaria vesca L.*) grown in hydroponics. *Sci. Hortic.* 129(3), 479–485.
- Correa, C., Do Nascimento da Silva, E., Ossanes de Souza, A., Antunes Vieira, M., Schwingel Ribeiro, A., & Cadore, S. (2018). Evaluation of the bioaccessibility of minerals from blackberries, raspberries, blueberries and strawberries. *J. Food Comp. Anal.* (68), 73-78.
- COVENIN. Norma Venezolana COVENIN 3031-93: Frutas en almíbar y al natural. (1993). Venezuela.
- Dugo, G., Pellicano, T. M., La Pera, L., Lo Turco, V., Tamborrino, A., & Clodoveo, M. L. (2007). Food Chemistry Determination of inorganic anions in commercial seed oils and in virgin olive oils produced from de-stoned olives and traditional extraction methods, using suppressed ion exchange chromatography (IEC). *Food Chem.* 102, 599–605.

- FAO/OMS. (1966). EVALUATION OF SOME PESTICIDE RESIDUES IN FOOD. In *Joint Meeting of the FAO Working Party and the WHO Expert Committee*. (pp. 1–11). Geneva.
- FAOSTAT. (2016). Cultivos en Venezuela 1994-2004. Retrieved from <http://www.fao.org/faostat/es/?#data/QC/visualize>
- Gholami, M., Behkami, S., Zain, S., & Bakirdere, S. (2016). A simple design for microwave assisted digestion vessel with low reagent consumption suitable for food and environmental samples. *Nature*. (37186), 1–8.
- Giampieri, F., Tulipani, S., Alvarez-Suárez, J., Quiles, J., Mezzetti, B., & Battino, M. (2012). The strawberry : Composition , nutritional quality , and impact on human health. *Nutrition*, 28, 9–19.
- Grembecka, M., & Piotr, S. (2013). Comparative assessment of essential and heavy metals in fruits from different geographical origins. *Environ Monit Assess*, (185), 9139–9160.
- López-Medina, J., López-Aranda, J. M., Medina, J. J., Miranda, L., Soria, C., Domínguez, F., ... Flores, F. (2007). Strawberry production from transplants fumigated with methyl bromide alternatives. *Span. J. Agric. Res*. 5(3), 407–416.
- López, B. (2000). Advances in the determination of inorganic anions by ion chromatography. *J. Chromatogr. A*. (881), 607–627.
- Méndez-Laguna, L., Rodríguez-Ramírez, J., Cruz-Gracida, M., Sandoval-Torres, S., & Barriada-Bernal, G. (2017). Convective drying kinetics of strawberry (*Fragaria ananassa*): effects on antioxidant activity, anthocyanins and total phenolic content. *Food Chem.*, 230, 174–181.
- Musa, M., & Haciseferogullari, H. (2007). The Strawberry (*Arbutus unedo* L .) fruits : Chemical composition , physical properties and mineral contents. *J. Food Eng.* , 78, 1022–1028.
- Nabrzyski, M. (2007). Functional role of some minerals in foods. In P. Szefer & J. O. Nriagu (Eds.), *Mineral components in food. Chemical and functional properties of food components series*. CRC Press, Boca Ratón, FL.
- OMS. (2013). *Directrices: Ingesta de potasio en adultos y niños*. Geneva.
- ONU/OMS. (1989). *Comisión del codex alimentarius. ALINORM 89/35-Parte 1*. Ginebra.
- Pérez, R., Salas, J., & Rosa Amaro. (2015). Comparación de dos métodos de extracción para la determinación de pesticidas organoclorados y organofosforados en fresas. *Ciencia*, 23(3), 158–167.
- Pérez de Camacaro, M., Ojeda, M., Mogollón, N., & Giménez, A. (2013). Efecto de diferentes sustratos y ácido giberélico sobre el crecimiento , producción y calidad de fresa (*Fragaria x ananassa Duch*) CV. CAMAROSA. *Bioagro*, 25(1), 31–38.
- Radojevic, M., & Bashkin, V. (1999). *Practical Environmental Analysis*. Cambridge: Royal Society of Chemistry.
- Radwan, M. A., & Salama, A. K. (2006). Market basket survey for some heavy metals in Egyptian fruits and vegetables, *Food Chem. Toxicol.* 44, 1273-1278.
- Reynaud, A. C. (2014). Requerimiento de micronutrientes y oligoelementos. *Rev Per Ginecol Obstet.* 60(2), 161–170.
- Tuzen, M., & Soylak, M. (2007). Food Chemistry Determination of trace metals in canned fish marketed in Turkey. *Food Chem.*, 101, 1378–1382.
- Union, E. (2007). *COMMISSION REGULATION (EC) No 1580/2007* (Vol. 2005).
- USDA. (2016). *National Nutrient Database for Standard Reference Release 28 slightly, Basic Report 09316 , Strawberries , raw*. USA.
- Uwah, E. ., Akan, J. ., Moses, E. ., Abah, J., & Ogugbuaja, V. . (2007). Some anion levels in fresh vegetable in Maiduguri, Borno State, Nigeria. *Agric. J.* 2(3), 392–396.