

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO



FACULTAD DE INGENIERIA EN SISTEMAS, ELECTRONICA E INDUSTRIAL

CENTRO DE POSGRADOS

PROGRAMA DE MAESTRÍA EN QUÍMICA

Tema: “Incidencia del suelo para la bioacumulación de Cadmio en la almendra de cacao (*Theobroma cacao L.*) de dos variedades Fino de Aroma y CCN51 cultivadas en el cantón Santa Clara provincia de Pastaza”.

Trabajo de titulación previo a la obtención del Grado Académico de
Magister en Química mención Química - Física

Modalidad de Titulación: Proyecto de Desarrollo

Autor: Dr. Mario Germánico Guevara Uvidia, Mg.

Director: Lic. Jorge Alexander Briceño Carrasquel, PhD.

Ambato-Ecuador

Año 2021

APROBACIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

A la Unidad de Titulación/Unidad Académica de Titulación de la Facultad de Ingeniería en Sistemas, Electrónica e Industrial.

El Tribunal receptor de la Defensa del Trabajo de Titulación presidido por la Ing. Elsa Pilar Urrutia Urrutia, Mg. e integrado por los señores: Lcda. Noroska Gabriela Salazar Mogollón, PhD y el Dr. Manuel Antonio Meneses Freire, PhD, designados por la Unidad Académica de Titulación de Posgrado de la Facultad de Ingeniería en Sistemas, Electrónica e Industrial de la Universidad Técnica de Ambato, para receptor el Trabajo de Titulación con el tema “Incidencia del suelo para la bioacumulación de Cadmio en la almendra de cacao (*Theobroma cacao L.*) de dos variedades Fino de Aroma y CCN51 cultivadas en el cantón Santa Clara provincia de Pastaza”, elaborado y presentado por el Dr. Mario Germánico Guevara Uvidia para optar por el Grado Académico de Magíster en Química Mención Química-Física; una vez escuchada la defensa oral del Trabajo de Titulación el Tribunal aprueba y remite el trabajo para uso y custodia en las bibliotecas de la Universidad Técnica de Ambato.

Ing. Elsa Pilar Urrutia Urrutia, Mg.
Presidente y Miembro del Tribunal de Defensa



Firmado electrónicamente por:
**NOROSKA GABRIELA
SALAZAR MOGOLLON**

Lcda. Noroska Gabriela Salazar Mogollón, PhD
Miembro del Tribunal de Defensa

Dr. Manuel Antonio Meneses Freire, PhD
Miembro del Tribunal de Defensa

AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

La responsabilidad de las opiniones, comentarios y críticas emitidas en el trabajo de titulación presentado con el Tema: “Incidencia del suelo para la bioacumulación de cadmio en la almendra de cacao (*Theobroma cacao l.*) de dos variedades Fino de Aroma y CCN51 cultivadas en el cantón Santa Clara provincia de Pastaza”, le corresponde exclusivamente a: Dr. Mario Germánico Guevara Uvidia, Mg., Autor bajo la Dirección del Lcdo. Jorge Alexander Briceño Carrasquel, PhD, Director del Trabajo de Investigación; y el patrimonio intelectual a la Universidad Técnica de Ambato.

MARIO GERMANICO
GUEVARA UVIDIA

Firmado digitalmente por MARIO
GERMANICO GUEVARA UVIDIA
Fecha: 2021.07.31 15:04:57
-05'00'

Dr. Mario Germánico Guevara Uvidia, Mg.
AUTOR



Firmado electrónicamente por:
JORGE ALEXANDER
BRICENO CARRASQUEL

Lcdo. Jorge Alexander Briceño Carrasquel, PhD
DIRECTOR

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que el Trabajo de Titulación, sirva como un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedo los derechos de mi trabajo de titulación, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este, dentro de las regulaciones de la Universidad Técnica de Ambato.

**MARIO GERMANICO
GUEVARA UVIDIA**

Firmado digitalmente por MARIO
GERMANICO GUEVARA UVIDIA
Fecha: 2021.07.31 15:05:20 -05'00'

Dr. Mario Germánico Guevara Uvidia, Mg.
180220824-7

INDICE GENERAL

Contenido

PORTADA	i
APROBACIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN	ii
DERECHOS DE AUTOR.....	iv
INDICE GENERAL	v
INDICE DE TABLAS	ix
INDICE DE FIGURAS.....	x
AGRADECIMIENTOS	xi
DEDICATORIA	xii
EXECUTIVE SUMMARY	xv
CAPÍTULO I	1
1.1. Introducción	1
1.2 Justificación	2
1.3 Objetivos.....	4
1.3.1. General.....	4
1.3.2 Específicos	4
CAPÍTULO II.....	5
ESTADO DEL ARTE.....	5
2.1. Variedades de Cacao	5
2.1.1. El cacao ecuatoriano: su historia	5
2.1.2. Principales tipos de cacao en Ecuador.....	6
2.1.3. Variedad Fino de Aroma y CCN51	6
2.1.3.1. Características del Cacao Fino de Aroma.....	6
2.1.3.2. Características del cacao CCN51.....	7
2.2. Aplicación Industrial	7
2.2.1. Principales productos procesados con el cacao.....	7
2.3. Información Nutricional.....	9
2.3.1. Valor nutricional y funcional del cacao	9
2.3.2. Propiedades fisicoquímicas del chocolate	10
2.4. Zonas de Cultivo	11
2.4.1. Agricultura Tropical (Costa)	11
2.4.2. Agricultura Tropical (Amazonía)	13
2.5. Cosecha.....	14
2.5.1. Floración, fructificación y cosecha del cacao	14
2.6. Contaminación en cultivos y remediación de suelos	15
2.6.1. Presencia de metales pesados en cultivo de cacao	15

2.6.2. Causas posibles de presencia de metales pesados en el suelo	15
2.6.3. Remediación del suelo.....	17
2.6.4. Técnicas de remediación del suelo	17
2.6.5. Fitorremediación de suelos.....	17
2.6.6. Biorremediación de suelos	18
2.7. El cadmio	19
2.7.1. Fuentes que generan su presencia en el suelo	19
2.7.2. Efectos del cadmio en el suelo	20
2.7.3. Presencia de cadmio en los suelos del Ecuador	21
2.7.4. Toxicología del cadmio.....	22
2.7.5. Efecto del cadmio en las plantas y el ambiente	23
2.7.6. Efectos del cadmio en la salud	23
2.8. Técnicas de muestreo	24
2.9. Técnicas más comunes en el análisis de cadmio.....	25
2.9.1. Absorción atómica con horno de grafito.....	25
2.10. Método colorimétrico CIELAB.....	27
CAPITULO III.....	28
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN	28
3.1. Ubicación y delimitación demográfica	28
3.1.1. Zona de muestreo y ubicación geográfica.....	28
3.1.2. Características demográficas y ambientales de Santa Clara.....	28
3.2. Materiales y equipos	28
3.3. Diseño de la investigación.....	30
3.3.1. Tipo de Investigación	30
3.3.1.1. Descriptiva	30
3.3.1.2. Experimental.....	30
3.3.1.3. Comparativa	30
3.3.1.4. Delimitación espacial	31
3.4. Planteamiento de la Hipótesis	31
3.4.1. Delimitación temporal.....	31
3.4.2. Hipótesis nula:.....	31
3.4.3 Hipótesis alternativa:.....	31
3.4.4. Variables:	31
3.4.5. Operacionalización de las variables:	33
3.4.5.1 Variable Independiente.....	33
3.4.5.2 Variable Dependiente	34

3.5. Población y muestra	35
3.5.1. Población.....	35
3.5.2. Muestreo de suelo y con mazorcas de cacao.....	35
3.6. Plan de recolección de la información.....	36
3.6.1. Muestreo del suelo	36
3.6.2. Muestreo de las variedades de cacao	37
3.6.3. Análisis Físicoquímicos en suelo.....	37
3.6.3.1. Preparación de las muestras de suelo.....	37
3.6.3.2. Determinación de textura del suelo por el Método de Bouyoucos.....	37
3.6.3.3. Determinación de Materia Orgánica por el método de Walkley y Black	39
3.6.3.4. Determinación de pH por el Método Electrométrico	42
3.6.3.5. Determinación de micronutrientes en el suelo (Fósforo, Calcio y Magnesio).....	43
3.6.3.5.1. Determinación de Fósforo por el método de digestión ácida y colorimétrico de Molibdato-Vanadato.	43
3.6.3.5.2. Determinación de Calcio por Absorción Atómica de Llama.....	45
3.6.3.5.3. Determinación de Magnesio por Espectrofotometría de Absorción Atómica de Llama	49
3.6.3.6. Determinación de cadmio en el suelo por Espectrofotometría de Absorción Atómica con Horno de Grafito	52
3.6.4. Análisis Físicoquímicos en almendras de cacao.	56
3.6.4.1. Preparación de las almendras	56
3.6.4.2. Determinación de Acidez.....	56
3.6.4.3. Determinación de Color en almendras por método instrumental con colorímetro Sistema CIELAB(2006): Espacio de color "perceptivamente lineal"	57
3.6.4.4. Determinación de cadmio en almendras de cacao por Espectrofotometría de Absorción Atómica con Horno de Grafito (GFAAS)... ..	58
3.7. Análisis estadístico y procesamiento de la información	60
3.7.1. Diseño experimental.....	60
3.7.2. Análisis estadístico.....	61
3.7.3. Análisis de Correlación y prueba de Hipótesis	61
3.7.4. Reglamento de la Unión Europea sobre contenido de Cadmio en cacao	61
CAPITULO IV.....	63
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	63
4.1. Caracterización Físicoquímica de los tipos de Suelo.	63
4.1.1. Determinación Potencial de Hidrógeno (pH).....	64
4.1.2. Análisis de Materia Orgánica (MO)	64
4.1.3. Determinación de Textura	65

4.1.4. Análisis de Minerales	66
4.1.5. Determinación de cadmio en el suelo	66
4.2. Caracterización Fisicoquímica en variedades de cacao CCN51 y Fino de Aroma.....	67
4.2.1. Determinación de Acidez	68
4.2.2. Determinación de Color por Colorimetría Sistema CIELAB(1976): Espacio de Color perceptivamente Lineal.....	68
4.2.3. Determinación de cadmio en cacao	69
4.3. Correlación del tipo de suelo y su concentración de Cadmio con las dos variedades de cacao. 70	
4.3.1. Correlación entre el suelo y las almendras de cacao.....	70
4.4. Interpretación de matrices y confirmación de Hipótesis	73
Fuente (H. Lalinde et al., 2018).....	73
4.5. Correlación de variables	73
CAPÍTULO V.....	76
5.1. Conclusiones	76
5.2. Recomendaciones:.....	77
5.3. Bibliografía	78
5.4. Anexos	84

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Contenido de nutriente en algunos chocolates (100 g).....	11
Tabla 2. Equipos de Laboratorio.	29
Tabla 3. Operacionalización de la variable independiente: Tipo de suelo	33
Tabla 4. Operacionalización de la variable dependiente: Concentración de cadmio en dos variedades de cacao.....	34
Tabla 5. Curva de calibración para fósforo.....	45
Tabla 6. Soluciones para curva de calibración para calcio	48
Tabla 7. Diluciones para curva de calibración para magnesio	51
Tabla 8. Concentraciones para curva de calibración de cadmio.....	54
Tabla 9. Niveles máximos de cadmio en productos de cacao a partir de 1 de enero 2019...	62
Tabla 10. Caracterización fisicoquímica de los suelos muestreados para el cultivo de las dos variedades de cacao.....	64
Tabla 11. Caracterización fisicoquímica de las almendras para las dos variedades de cacao muestreadas.....	68
Tabla 12. Matriz inferior de correlación de parámetros fisicoquímicos entre el suelo y almendras de cacao de la variedad CCN51 y matriz superior de p-valores de test de correlación entre estos parámetros a un nivel de confianza de 95 %	71
Tabla 13. Matriz de correlación de parámetros fisicoquímicos entre el suelo y almendras de cacao de la variedad Fino de Aroma y matriz superior de p-valores de test de correlación entre estos parámetros a un nivel de confianza de 95 %	72
Tabla 14. Interpretación de los coeficientes de correlación de Pearson. Fuente (H. Lalinde et al., 2018)	73

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Flujo de cadmio en el medio	21
Figura 2. Representación esquemática de los componentes de un equipo de espectrofotometría de absorción atómica con horno de grafito	26
Figura 3. Zona, parcelas y puntos de muestreo.....	36
Figura 4. Ubicaciones coordenadas de color CIELab de las almendras de ambas variedades de cacao	69

AGRADECIMIENTOS

A mi familia que siempre me ha brindado su apoyo para alcanzar mis objetivos.

Un agradecimiento especial a mi tutor Lcdo. Jorge Alexander Briceño Carrasquel, PhD; quien con sus conocimientos, experiencia y profesionalismo dirigió permanentemente el desarrollo de mi proyecto de Tesis.

Al Ing. Alex Dahua Machoa, director distrital del Ministerio de Agricultura y Ganadería de Pastaza por su constante apertura para la ejecución del presente trabajo de titulación.

Mario Germánico Guevara Uvidia

DEDICATORIA

A Dios por sus permanentes bendiciones y darme la fortaleza una vez más para alcanzar mis metas profesionales.

A mi esposa y mis dos hijas quienes siempre me han apoyado en mis proyectos.

Mario Germánico Guevara Uvidia

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
**FACULTAD DE INGENIERÍA EN SISTEMAS, ELECTRÓNICA E
INDUSTRIAL**
MAESTRÍA EN QUÍMICA MENCIÓN QUÍMICA-FÍSICA

TEMA:

“INCIDENCIA DEL SUELO PARA LA BIOACUMULACIÓN DE CADMIO EN LA ALMENDRA DE CACAO (*THEOBROMA CACAO L.*) DE DOS VARIEDADES FINO DE AROMA Y CCN51 CULTIVADAS EN EL CANTÓN SANTA CLARA PROVINCIA DE PASTAZA”

AUTOR: Dr. Mario Germánico Guevara Uvidia, Mg.

DIRECTOR: Lcdo. Jorge Alexander Briceño Carrasquel, PhD

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN: Seguridad y Soberanía Alimentaria

FECHA: 14 de julio 2021

RESUMEN EJECUTIVO

El Ecuador ocupa el cuarto lugar en la producción mundial de cacao y actualmente un problema para los agricultores es la bioacumulación de cadmio en suelo y en cultivos de cacao. El objetivo fue analizar la incidencia del suelo para la bioacumulación de cadmio en las almendras de cacao de dos variedades cultivadas en una de las fincas del Cantón Santa Clara, provincia de Pastaza. Se aplicó una investigación experimental donde se desarrollaron ensayos fisicoquímicos en suelos y en almendras de cacao, un análisis comparativo donde los resultados alcanzados se relacionaron con las normas oficiales mexicanas de suelos y con el reglamento de la Unión Europea (UE) para cadmio en cacao. Los resultados de caracterización en los suelos muestreados presentaron una textura “areno francosa”, valores de pH clasificados como “moderadamente ácidos”, contenido de materia orgánica en el suelo donde se cultiva la variedad CCN51 presentó un contenido de carbono orgánico “clase alta” mientras que el suelo donde se cultivó la variedad Fino de Aroma se ubicó en categoría “clase media”, los minerales en suelo se determinaron como “clase alta” y el nivel de cadmio presentó una concentración que les clasifica con un “nivel normal”. Para los resultados

obtenidos en las almendras de cacao de las dos variedades muestreadas el contenido de cadmio presentó concentraciones inferiores a 0,80 mg/kg obtenido por espectrofotometría de absorción atómica con horno de grafito. Finalmente se concluyó que las concentraciones de cadmio de las dos variedades de cacao no superaron los niveles establecidos por la Unión Europea y de acuerdo a los análisis estadísticos realizados se encontró que la concentración de cadmio en los suelos no presentó ninguna correlación con la concentración de cadmio en las almendras de cacao muestreadas.

Descriptor: Absorción atómica, acidez, almendras de cacao, cadmio, correlación, horno de grafito, micronutrientes, materia orgánica, suelo, textura.

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

FACULTAD DE INGENIERÍA EN SISTEMAS, ELECTRÓNICA E INDUSTRIAL

MAESTRÍA EN QUÍMICA MENCIÓN QUÍMICA-FÍSICA

THEME:

“INCIDENCIA DEL SUELO PARA LA BIOACUMULACIÓN DE CADMIO EN LA ALMENDRA DE CACAO (*THEOBROMA CACAO L.*) DE DOS VARIEDADES FINO DE AROMA Y CCN51 CULTIVADAS EN EL CANTÓN SANTA CLARA PROVINCIA DE PASTAZA”

AUTHOR: Dr. Mario Germánico Guevara Uvidia, Mg.

DIRECTED BY: Lcdo. Jorge Alexander Briceño Carrasquel, PhD

RESEARCH LINE: Seguridad y Soberanía Alimentaria

DATE: June 21, 2021

EXECUTIVE SUMMARY

Ecuador ranks fourth in world cocoa production and currently a problem for farmers is the bioaccumulation of Cadmium in soil and in cocoa crops. The objective was to analyze the incidence of the soil for the bioaccumulation of cadmium in the cocoa beans of two varieties cultivated in one of the farms of the Santa Clara Canton, Pastaza province. An experimental investigation was applied where physicochemical tests were developed in soils and in cocoa beans, a comparative analysis where the results achieved were related to the official Mexican soil standards and the European Union (EU) regulation for cadmium in cocoa. The characterization results in the sampled soils presented a “loamy sand” texture, pH values classified as “moderately acidic”, organic matter content in the soil where the CCN51 variety is grown presented a “high class” organic carbon content while that the soil where the Fino de Aroma variety was cultivated was classified in the “middle class” category, the minerals in the soil were determined as “high class” and the cadmium level presented a concentration that classifies them with a “normal level”. For the results obtained in the cocoa beans of the two varieties sampled, the cadmium content presented concentrations lower than

0.80 mg / kg obtained by atomic absorption spectrophotometry with a graphite oven. Finally, it was concluded that the cadmium concentrations of the two cocoa varieties did not exceed the levels established by the European Union and, according to the statistical analyzes carried out, it was found that the cadmium concentration in the soils did not present any correlation with the cadmium concentration. in the sampled cocoa beans.

Keywords: Atomic absorption, acidity, cocoa beans, cadmium, correlation, graphite furnace, micronutrients, organic matter, soil, texture.

CAPÍTULO I

1.1. Introducción

El *Theobroma cacao* L. es uno de los cultivos de mayor importancia económica en el Ecuador y desde la década de los 80 generó importantes divisas para nuestro país convirtiéndose en el quinto producto agrícola más comercializado, ubicándose inclusive como uno de los principales exportadores a nivel mundial de cacao fino y de aroma. La producción de cacao en el Ecuador ocupó gran parte de la zona agrícola del país y sus cultivos se encontraron principalmente en las provincias de Manabí, Guayas, Esmeraldas, El Oro y Santo Domingo de los Tsáchilas, en la región Sierra en provincias como Cotopaxi, Bolívar, Cañar y se localizó también en las provincias de Orellana, Sucumbíos y Napo donde en los últimos años la superficie sembrada se incrementó en 20.000 hectáreas de cacao de tipo nacional convirtiéndose esta zona en una de las principales proveedoras con fines de exportación. En cuanto a la zona sur oriental, en particular en la provincia de Pastaza y Zamora Chinchipe, progresivamente ingresó en el mapa productor de cacao principalmente con la variedad Fino de Aromay CCN51 [1].

El Ecuador se caracterizó por poseer un cacao de excelente aroma y sabor, sin embargo, la regulación de cadmio en el chocolate amenazó en cierta forma con la sostenibilidad de la producción de cacao en el país y en general con las producciones y exportaciones en el suroeste de América. Si bien la tierra donde se cultivó el cacao contiene dosis importantes de minerales, también presentó cadmio como metal pesado que por alguna razón fue absorbido por la planta en mínimas cantidades y una de las partes de absorción fue precisamente en las almendras de cacao [2]. Otras posibles fuentes para la presencia de cadmio en el suelo fue por el uso de plaguicidas y fertilizantes donde un último estudio reveló que la acumulación del metal se presentó principalmente en sectores cercanos a las carreteras y por la quema de plásticos, factores que también son fuentes viables de contaminación [2].

El cadmio es un metal pesado no esencial y es tóxico para plantas, animales y seres vivos como en el caso de los seres humanos, su presencia se identificó como potencial peligro en temas de inocuidad alimentaria y al ser ingerido en nuestra dieta con niveles que superen los límites permisibles establecido por las regulaciones locales o

internacionales se convirtió en un factor de riesgo para la salud de los consumidores. Si se trata de comercializar este producto, la advertencia de la Unión Europea fue fijar concentraciones de cadmio que no superen el nivel máximo de 0,8 mg/kg para los países productores y exportadores entre los cuales se encontró Ecuador. Un informe de la United Nations Environment Programme (UNEP), señaló que en muchos países que poseen cultivos agrícolas de cacao, éstos presentaron niveles considerables de cadmio, es decir, que gran parte de la exposición crónica del metal pesado fue un resultado directo de la ingesta de alimentos derivados de sus cultivos [3].

El 16 de septiembre de 2013, la Unión Europea notificó al Comité de Medidas Sanitarias y Fitosanitarias de la Organización Mundial del Comercio (OMC) la enmienda al reglamento europeo No. 1881/2006, en la cual se estableció niveles máximos de cadmio para chocolate y productos derivados del cacao, que entró en vigor a partir del 1 de enero del 2019 [4].

En el Ecuador existen pocos estudios enfocados en la determinación de cadmio, un metal pesado proveniente de la absorción del suelo donde se cultivan diferentes variedades de *Theobroma cacao* L., principalmente en algunos sectores del oriente ecuatoriano dedicados entre otras actividades al cultivo del producto [5]. Estudios realizados en fincas de otras regiones productoras de cacao como en algunas ubicadas a lo largo de la vía Santo Domingo de los Tsáchilas – Esmeraldas revelaron que el metal se encontró con niveles promedio de 0,35 mg/kg [6]; pero no se dispone de estudios realizados en el oriente ecuatoriano como en el caso de la provincia de Pastaza, es por esta razón que la presente investigación se enfocó en analizar la incidencia del suelo y su bioacumulación de cadmio en la almendra de cacao donde la principal técnica analítica aplicable para su determinación fue mediante espectroscopía de absorción atómica con horno de grafito [6].

1.2 Justificación

El presente trabajo de investigación se alineó al proyecto de Seguridad y Soberanía Alimentaria y se enmarcó en el Eje 1, Objetivo 2 del Plan Nacional de Desarrollo Toda una Vida de Ecuador relacionado con “lograr la seguridad alimentaria, mejora de la nutrición y promover la agricultura sostenible”, así como con el Objetivo 8 sobre “promover el crecimiento económico sostenido, empleo pleno y productivo” establecido por el Gobierno Nacional desde el año 2017 [7].

El Ecuador fue considerado como uno de los principales productores de cacao fino y de aroma a nivel mundial con una producción superior al 60% utilizado para la fabricación de chocolates de alta calidad y de tipo gourmet. Actualmente las exportaciones del cacao ecuatoriano podrían verse amenazadas principalmente en el mercado europeo por la presencia de trazas de metales pesados en sus almendras, uno de estos metales fue el cadmio con niveles que podrían superar los valores permisibles a las Normativas Alimentarias de la Comunidad Europea (NACE). En el año 2010 la comisión reguladora de la Unión Europea planteó un valor límite de 0,8 mg/kg de contenido de cadmio en chocolate representando un problema para algunos países de América Latina entre ellos Ecuador. Los efectos nocivos del cadmio en la salud humana se manifestaron especialmente de forma renal, a nivel de huesos, riñones, disfunción por formación de radicales libres y en personas con bajos niveles de hierro que son las más vulnerables por los efectos adversos de este metal [8]

Estudios realizados en nuestro país relacionados con la presencia de metales pesados en el cacao principalmente por cadmio determinó que las provincias con mayores niveles del metal se encuentran en Manabí, El Oro, Guayas y Zamora Chinchipe con niveles que superan los 2,0 mg/kg [6].

Investigaciones establecieron que la absorción de cadmio en el cacao no fue resultado únicamente de la clase de suelo donde se cultivó de forma natural, sino que su presencia también resultó de la actividad antropogénica, es decir; por el impacto ambiental ocasionado por el ser humano donde intervino otros factores como diferentes tipos de fertilizantes utilizados para su cuidado o factores relacionados a su manejo y entorno en el cual fue cultivado. Al ser absorbida por las plantas, el metal se concentró principalmente en las almendras, al ser tomados para su procesamiento y distribución se convirtió en un riesgo químico que afectó la inocuidad alimentaria del producto [9].

En algunas regiones del oriente ecuatoriano no se han realizado estudios para determinar el contenido de cadmio en los cultivos de cacao que permitan la posible comercialización a niveles nacionales e internacionales, por esa razón se planteó analizar la incidencia del suelo para la bioacumulación de cadmio en la almendra de cacao (*Theobroma cacao L.*) en dos variedades Fino de Aroma y CCN51 cultivadas en el cantón Santa Clara Provincia de Pastaza.

1.3 Objetivos:

1.3.1. General:

Analizar la incidencia del suelo para la bioacumulación de cadmio en la almendra de cacao (*Theobroma cacao L.*) en dos variedades Fino de Aroma y CCN51 cultivadas en el cantón Santa Clara Provincia de Pastaza.

1.3.2 Específicos.

1. Caracterizar el tipo de suelo y la concentración de cadmio en el que se encuentran sembrados las diferentes variedades de cacao.
2. Establecer el contenido de cadmio en cacao *Theobroma cacao L* en dos variedades Fino de Aroma y CCN51 por el método de espectrometría atómica a través de un horno de grafito.
3. Evaluar la correlación del tipo de suelo y su concentración de cadmio con las muestras de cacao para verificar que estén dentro de niveles permisibles de acuerdo con la normativa local e internacional para su comercialización.

CAPÍTULO II:

ESTADO DEL ARTE

2.1. Variedades de Cacao

2.1.1. El cacao ecuatoriano: su historia

El cacao en el Ecuador tuvo su origen en la Amazonía con de más de 5000 años de antigüedad mucho antes de la llegada de los conquistadores europeos, aunque la historia indicó también que su origen fue en países como México, Honduras y Guatemala. En la actualidad en el Ecuador existen cultivos de algunas variedades de cacao, pero nuestra historia se remontó al llamado “cacao nacional” que hace aproximadamente un siglo esta variedad desapareció por la presencia de plagas como la moniliasis que se caracterizó por ser un hongo que ocasiona la enfermedad en sus cultivos. Esto trajo como consecuencia que los productores de cacao desarrollen variedades híbridas más resistentes a la aparición de plagas que ocasionaron pérdidas económicas a pesar de que las variedades obtenidas si bien presentaron características similares a la variedad de origen no tienen completamente las propiedades del “cacao nacional” cultivado hace muchas décadas. Pruebas genéticas de ADN realizadas por el centro de cooperación internacional en investigación agronómica para el desarrollo (CIRAD), estudiaron huellas genéticas de especies vegetales entregadas por el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), demostraron que las variedades ancestrales de híbridos de cacao cultivados en las zonas costeras migraron a la región amazónica como Zamora Chinchipe y Pastaza. En el año 1890, Ecuador incrementó su producción y se declaró como el mayor exportador de cacao, pero en la década de 1920 la aparición de enfermedades en los cultivos ocasionó un decrecimiento del 30% del total de producción [10].

En la actualidad nuestro país cultiva entre otros dos tipos de cacao, el CCN51 y el fino de aroma conocido como “arriba” y de acuerdo a datos estadísticos del Instituto de promoción de exportaciones e inversiones del ministerio de comercio exterior (ProEcuador) estas variedades representaron aproximadamente el 63 % de su participación en el mercado mundial recibiendo reconocimientos a nivel mundial por su calidad, excelente sabor y aroma de sus granos [11].

2.1.2. Principales tipos de cacao en Ecuador

A nivel mundial la producción de cacao se centró en tres variedades: forastero, criollo y de la combinación genética de estos dos se obtuvo la variedad conocida como trinitario, de ellos el cacao ecuatoriano se identificó con la variedad forastero, pero a partir del año 2008 estudios científicos revelaron que ya no se puede relacionar con ninguna de las tres variedades mencionadas. La investigadora cubano-americana Maricel Presilla en su libro “The new taste of chocolate. Historia natural y cultura del cacao” en una convención realizada en la ciudad de Guayaquil a través de la Organización Internacional del Cacao (ICCO) destacó las propiedades y bondades de la variedad del grano ecuatoriano conocido como cacao “arriba” definido de esa manera porque históricamente fue sembrado río arriba del Guayas, en uno de sus artículos destacó el penetrante aroma floral y sabor frutal del cacao ecuatoriano que lo hizo único a nivel mundial. Por otra parte, en estudios realizados por el Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca (MAGAP) destacó que Ecuador presentó las dos mejores variedades de cultivo de cacao a nivel mundial como son: el fino y de aroma (arriba) y el CCN-51. La historia de la variedad CCN51 se debió a que es un cacao clonal realizado por el agrónomo Homero Castro Zurita en el año 1965 y que significó “Colección Castro Naranjal” que es el más productivo y está presente en muchos lugares de Centro y Suramérica. En la actualidad el cultivo de las dos variedades se extendió en diferentes regiones del país y con plantaciones de miles de hectáreas destinadas a la producción y exportación de estas variedades [12].

2.1.3. Variedad Fino de Aroma y CCN51

2.1.3.1. Características del Cacao Fino de Aroma

El cacao fino de aroma cultivado en Ecuador fue una de las variedades más buscadas por los productores de chocolate debido a sus propiedades y características distintivas en cuanto a su excelente sabor y aroma. Ecuador por su ubicación geográfica y su riqueza en recursos biológicos fue considerado el mayor productor por excelencia del cacao fino y de aroma abarcando el 63 % de la producción mundial donde su sabor y aroma fue reconocido mundialmente para la fabricación de chocolates refinados. Estas condiciones posicionaron al Ecuador como uno de los países más competitivos de

América Latina en su producción de cacao seguido de otros países como México, Venezuela y Panamá con producciones a menor escala [13].

2.1.3.2. Características del cacao CCN51

Sus frutos presentaron una coloración rojiza en su estado de desarrollo y madurez con un alto contenido en grasa. Fue una variedad que se caracterizó por su alta capacidad de producción con alrededor de cuatro veces más en relación a las otras variedades debido a su alta resistencia a las enfermedades que atacan al cultivo de cacao [13].

La variedad CCN51 fue un cacao clonado de origen ecuatoriano y es considerado en la actualidad como uno de los más productivos del mundo, con ésta declaratoria realizada por el Ministerio de Agricultura se dio mayor impulso para su producción, comercialización y exportación. De acuerdo a la asociación nacional de cacaoteros del Ecuador esta variedad se pudo cultivar de manera precoz a los 24 meses de cultivado con una producción promedio de 50 quintales por hectárea y su principal característica fue la de buen sabor que luego de una adecuada fermentación y tratamiento permitió obtener un chocolate de excelentes propiedades muy apetecido en el mercado extranjero. Su historia se remontó al año 1965 cuando el agrónomo Homero Castro Zurita obtuvo un clon tolerante a enfermedades que atacó a las otras variedades de cacao bautizándole con el nombre CCN51, en la actualidad sus cultivos se centran mayoritariamente en las zonas de las provincias de Los Ríos, El Oro y Manabí y se extendió hacia otras regiones del Oriente ecuatoriano como Pastaza, Zamora Chinchipe y en otros países como Brasil y Camerún [14].

2.2. Aplicación Industrial

2.2.1. Principales productos procesados con el cacao

La producción de cacao se destinó exclusivamente para la exportación de sus almendras, únicamente una reducida parte se empleó en la industria nacional para el procesamiento y fabricación de productos derivados del cacao. Entre los principales derivados podemos mencionar los siguientes: Licor o pasta de cacao que se obtuvo de la molienda del grano tostado separando las impurezas, cascarillas y se presentó como una pasta de color café, contenía toda la grasa y las características organolépticas del cacao y fue empleado en la preparación del chocolate. La manteca de cacao que fue la

materia grasa obtenida después de prensar el licor de cacao del cual se extrajo aproximadamente el 50 % de manteca con aplicaciones principalmente en la industria farmacéutica y cosmética. La torta de cacao, una vez que se realizó la extracción de la manteca de cacao, al someterse a molienda y pulverización se obtuvo el cacao en polvo considerado como principal ingrediente en la preparación de dulces y postres de chocolates. Dentro de los productos derivados se podría mencionar el cacao artesanal, producto que consumió aproximadamente el 5 % del total del cacao en grano y se comercializó internamente sobre todo en las zonas de la parte central de la sierra ecuatoriana y el cacao orgánico que tuvo esta denominación por tratarse de un producto libre de químicos y porque sus cultivos fueron libres de fungicidas, fertilizantes o insecticidas, con principios activos sintéticos a fin de garantizar un producto de alta calidad [15].

2.2.2. Procesamiento del cacao para la fabricación de chocolates

Una vez obtenida la manteca de cacao sus aplicaciones principales fueron en la elaboración de chocolates confiriéndoles las características sensoriales propias del producto. La correcta utilización de sus propiedades como su punto de fusión, cristalización y solidificación permitieron alcanzar un producto final de gran calidad acorde a las exigencias de la demanda del mercado. La manteca de cacao representó el principal ingrediente, constituyó aproximadamente la tercera parte del contenido final en el producto terminado y es el que le otorgó las características sensoriales como textura y apariencia al chocolate de alta calidad. Entre las principales etapas para la obtención de la manteca de cacao se podría mencionar la recolección de los frutos maduros, donde las mazorcas de cacao se abrieron para extraer los granos separándolos de la pulpa, su limpieza para eliminar cualquier residual de material extraño y su fermentación entre dos o tres días en el mismo lugar donde se producen. Otra de las etapas a mencionar fue el tueste de los granos para liberar el sabor y color del chocolate donde la temperatura, tiempo y el grado de humedad involucrados en el tostado dependieron del tipo de grano usado y del tipo de chocolate o producto a obtener. Los granos se trituraron para eliminar la cáscara y posteriormente se sometieron a un proceso de alcalinización generalmente con carbonato de potasio a fin de realzar su color y sabor. Los trozos de cacao triturado (nibs) se molieron para crear el licor de cacao, producto que se obtuvo de la molienda del cacao tostado, descascarillado, sin

germen. El licor de cacao se presionó para extraer la manteca de cacao que representó el 50 % del peso total, obteniéndose una masa sólida llamada torta de cacao. La manteca de cacao se usó para la elaboración del chocolate, pero la torta de cacao se desmenuzó en pequeños gránulos que luego se pulverizaron para obtener el polvo de cacao. Finalmente el licor de cacao se utilizó para la elaboración de productos derivados de chocolate con la adición de manteca de cacao y donde puede complementarse con azúcar, leche, agentes emulsificantes, entre otros [16].

2.3. Información Nutricional

2.3.1. Valor nutricional y funcional del cacao

El cacao en polvo fue un producto que se obtuvo de la molienda de la torta de cacao luego de someterse al prensado, eliminación de la grasa y donde el producto obtenido representó la materia prima importante para la fabricación de galletas, tortas, productos de panadería, helados, bebidas de chocolate de gran sabor y color. Además de sus propiedades sensoriales, el cacao natural en polvo se caracterizó por la presencia de un gran número de componentes funcionales que cada vez se relacionaron con efectos benéficos para la salud como por ejemplo a nivel cardiovascular, estas propiedades funcionales se debieron principalmente a la presencia de polifenoles y antioxidantes existentes en el cacao los cuales se relacionaron con un gran número de efectos que favorecen la salud. Entre los elementos antioxidantes se pudo mencionar entre otros algunos como polifenoles y flavonoles que son componentes mayoritarios entre los cuales se encontró presencia de proantocianidinas (58 – 65 %), catequinas (29 – 38 %), y antocianidinas (1,7 – 4,0 %). Estos polifenoles presentaron características similares a los encontrados en otros productos como el vino, té u otros vegetales que contribuyeron a la formación de precursores del sabor en el cacao y en el chocolate [17].

Entre las propiedades funcionales asociadas al consumo de polifenoles en el cacao una de ellas fue su capacidad antioxidante, siendo capaces de inhibir la peroxidación de los lípidos y evitar la presencia de radicales libres los cuales dañan el organismo a nivel celular, inclusive pueden aumentar el riesgo de desarrollar cáncer o enfermedades cardiovasculares, así como otras enfermedades degenerativas. Recientes estudios también relacionaron el consumo de polifenoles del cacao con la reducción

de la presión arterial, efectos analgésicos, antitrombóticos, antiinflamatorios, inmunitarios, antimicrobiales y vasodilatadores. Los polifenoles del cacao también demostraron tener actividad antimutagénica, además de reducir los niveles de 8-hidroxi-20-desoxiguanosina, un biomarcador de daño oxidativo al ADN. Además de los polifenoles, el cacao también es rico en otros componentes nutricionales como la fibra dietética y su consumo regular se asoció con menor incidencia en el trastorno crónico del intestino, obesidad, diabetes, enfermedades cardiovasculares y cáncer. Por último, la presencia de fibra dietética y polifenoles en el cacao despertó gran interés en el producto como un ingrediente potencial para la industria alimenticia [18].

2.3.2. Propiedades fisicoquímicas del chocolate

A través de un análisis fisicoquímico se puede determinar las principales características de los granos de cacao en muestras de almendras que podrían estar fermentadas, secas y acondicionadas en el laboratorio para su análisis biométrico. La composición proximal, algunos índices químicos y parámetros físicos se pueden realizar de acuerdo a varias metodologías, el perfil de ácidos grasos de la manteca extraída de las almendras también puede determinarse mediante la técnica HPLC según el método de Folch. De igual forma el contenido de proteína cruda podría ser mayor y la fibra cruda menor en distintas muestras de genotipos comparados con muestras comerciales. Los otros parámetros tales como contenido de ceniza, carbohidratos totales, azúcares totales, polifenoles, ácidos grasos saturados, ácidos palmítico, esteárico y oleico muestran diferencias significativas entre las distintas variedades de cacao [19].

En la Tabla 1 se puede apreciar el contenido de nutrientes tomados de algunas variedades de productos derivados del cacao para la obtención de chocolates por cada 100 g [8].

Tabla 1. Contenido de nutriente en algunos chocolates (100 g).

Parámetros Físicoquímicos	Chocolate negro	Chocolate con leche	Chocolate blanco
Carbohidratos (%)	63,50	56,9	58,3
Proteínas (%)	5,00	7,70	8,00
Grasa (%)	28,00	30,7	30,90
Hierro (mg)	2,30	1,40	0,20
Cobre (mg)	0,71	0,24	trazas
Zinc (mg)	1,30	1,10	0,09
Manganeso (mg)	0,63	0,22	0,02
Calcio (mg)	33	220	270
Magnesio (mg)	89	50	26
Fósforo (mg)	140	220	230
Potasio (mg)	300	390	350
Tiamina (mg)	0,04	0,07	0,08
Riboflavina (mg)	0,06	0,49	0,49
Niacina (mg)	0,40	0,40	0,20
Vitamina B12 (ug)	0,00	1,00	1,00
Vitamina E (mg)	1,44	0,45	1,14

Fuente: Tomado de las caracterización física y química de los granos de cacao [8].

2.4. Zonas de Cultivo

2.4.1. Agricultura Tropical (Costa)

El cacao en el Ecuador fue uno de los principales cultivos que se produjeron en la zona de la costa ecuatoriana y fue reconocido por su calidad en muchos países a nivel mundial. Entre las variedades con mayor producción de este cultivo esta la Colección Castro Naranjal conocida también como CCN51 que al contrario del cultivo del cacao criollo presentó mejor productividad, así como características que distinguen su sabor y aroma. Una de las zonas que produce este cultivo se encontró en la Península de Santa Elena en la costa ecuatoriana con un área de cultivo cacaotero cercana a las 100 hectáreas [20].

En la actualidad su producción ocupó el tercer lugar en el monto de exportaciones en el sector agrícola después de la producción y exportación de banano y flores. Se estimó que la producción anual de cacao en el Ecuador osciló entre los 800000 a 900000 toneladas métricas en un área aproximada de 287100 hectáreas y con un rendimiento promedio de 300 kg/ha. Del total el 60 % de la producción se exportó en forma de grano, el 35 % representó la materia prima para la fabricación de productos semi elaborados como torta, licor, pasta de cacao, polvo y manteca, utilizados para la

producción de chocolates, mientras el 5 % restante se utilizó en industrias artesanales. Las principales plantaciones de cacao se encontraron ubicadas en la región Litoral del país, a una altitud que va desde el nivel del mar hasta los 500 metros sobre el nivel del mar (m.s.n.m) donde se identificaron tres zonas: La zona norte abarcó las provincias de Manabí, Esmeraldas, las estribaciones occidentales de la cordillera concretamente en la provincia de Cotopaxi, Pichincha y dentro de ellas se encontraron plantaciones localizadas en Quinindé, San Lorenzo, Muisne, Viche. Si se considera dentro de la provincia de Manabí se tiene El Carmen, Chone, Rocafuerte y Calceta, mientras que otras zonas cacaoteras se ubicaron en la provincia de Santo Domingo de los Colorados. En Cotopaxi los sectores de mayor cultivo se encontraron en la Maná, San Miguel y El Corazón. En lo que corresponde a los cultivos de cacao en la zona central se encontraron en la parte norte de la cuenca del río Guayas principalmente en los sectores de Balzar, Santa Lucía, Colimes, Urvina Jado, en tanto que en la provincia de Los Ríos las zonas cacaoteras están en los sectores de Palenque, Pueblo Viejo, San Juan, Vinces, Baba, sur de Ventanas, Babahoyo, Ricaurte y Quevedo, zonas con excelentes condiciones de suelos fértiles, con una pluviosidad anual promedio de 1000 mm que se distribuye entre los meses de diciembre a julio y la principal variedad que cultivan son el cacao “Arriba” con plantaciones aproximadas de 107000 hectáreas. Finalmente la zona sur comprendió la parte sur de la provincia del Guayas como Tenguel, Balao, Naranjal, Milagro y Naranjito, mientras que la provincia de El Oro abarcó las zonas de El Guabo, Tendales, Machala y Santa Rosa con precipitaciones pluviales que oscilan entre 500 a 1000 mm anuales, con suelos fértiles para el cultivo y plantaciones anuales promedio de 80000 hectáreas [21].

Sin embargo, las regiones que sobresalen por su actividad de exportación en cuanto al cacao se encuentran en las provincia del Guayas con 34,89 %, Los Ríos con 24,85 % y Manabí con 11,67 % [22], descartando la región amazónica. Por lo que el estudio del cadmio en estas últimas se hace inminente a fin de conocer las características de producción del mismo que permitan ampliar las posibilidades de exportación aplicando buenas prácticas ambientales.

2.4.2. Agricultura Tropical (Amazonía)

La agricultura en la Amazonía se convirtió en una de las principales zonas del país para los cultivos de palma africana, palmito, café y cacao generando importantes divisas para el país por el cultivo de estos productos. Los suelos de la Amazonía son frágiles debido a que tienen una capa de cultivos muy superficial y son muy sensibles al lavado o lixiviado por la presencia de altas precipitaciones, característica que indica que no son aptos para los monocultivos sino para cultivos perennes, esto permite conservar la biodiversidad, la seguridad alimentaria y permite fortalecer el agronegocio de las familias amazónicas, es por estas razones que se da importancia al cultivo de palma africana, café y cacao como productos perennes y de largo rendimiento. El cacao fue considerado como uno de los principales cultivos de la Amazonía ecuatoriana con una extensión aproximada de 43000 hectáreas donde aproximadamente el 83 % de sus cultivos corresponde a la variedad de tipo nacional y para motivar a los agricultores de la zona a mejorar sus cultivos se impulsó programas de producción con enfoque a la comercialización hacia el mercado internacional [23].

En el norte de la Amazonía el cultivo de cacao tuvo una rápida evolución a través del fomento de nuevas siembras, la producción de cacao fino de aroma y CCN51 se proyectó como una oportunidad económica de gran relevancia para los habitantes de la zona en su mayoría indígenas donde la práctica de esta nueva expectativa requiere de una adecuada tecnología para su desarrollo. Entre las principales zonas de desarrollo para el cultivo está Sucumbíos, Orellana y Napo que se caracterizaron por disponer de un bosque húmedo, con una altitud entre 150 a 800 m.s.n.m., con una temperatura que osciló entre 23 y 26 °C y una precipitación de lluvias anual desde 2500 a 3500 milímetros distribuidos durante todo el año, condiciones que son propicias para el cultivo de cacao. Sin embargo, la Amazonía ecuatoriana presentó algunas condiciones extremas de clima que podrían afectar a la producción de cacao, una de ellas son las variaciones de temperatura de más de 9 °C que podrían afectar los procesos fisiológicos de los cultivos concretamente con la formación de flores y frutos y la segunda condición corresponde al exceso de lluvias y alta humedad del ambiente que propician la presencia de enfermedades como la moniliasis (*Moniliophthora roreri*) y la mazorca negra (*Phytophthora spp.*), pero también éstas regiones presentaron ciertas ventajas para el cultivo, entre ellas la energía radiante del sol en la

elaboración de los alimentos en la planta y la presencia constante de lluvias durante el año, factores que evitan la necesidad de riego artificial. En el caso de la moniliasis, la enfermedad ataca a los frutos del cacao en cualquier estado de desarrollo siendo más susceptible cuando el cultivo presentó menor crecimiento, sin embargo su ataque es a menudo tan severo que la enfermedad constituyó uno de los limitantes de mayor importancia en la producción de cacao en el Ecuador mientras que la segunda enfermedad conocida como la mazorca negra fue causada por un hongo del género *Phytophthora* donde las condiciones de mal manejo en el cultivo, principalmente el exceso de sombra, mal drenaje y falta de poda, fueron ambientes que favorecen la presencia de ésta enfermedad sobre todo cuando se presentan temperaturas más bajas y lluvias, caracterizándose por el ataque a todas las partes de la planta y en especial el daño ocasionado al fruto [24].

2.5. Cosecha

2.5.1. Floración, fructificación y cosecha del cacao

Desde la polinización de las flores del cacao hasta la fecundación de sus óvulos deben transcurrir aproximadamente seis meses para que se convierta en una mazorca fisiológicamente madura y del total de flores que un árbol de cacao produce, apenas el 0,1 % son fecundadas y si pocos óvulos son fecundados la flor no cuaja y se cae. Durante los primeros tres meses las mazorcas son susceptibles de pasmazón por motivos fisiológicos o nutricionales o por la presencia de enfermedades, plagas en cualquier edad del cultivo. La comprobación de la madurez fisiológica de las mazorcas de cacao se identificó por el cambio de coloración de la cáscara y de acuerdo a la variedad pueden tornarse amarillas en el caso de que las mazorcas son verdes cuando están en la etapa de inmadurez como en el caso de las variedades trinitario, nacional o forastero amazónico, pero en las variedades de cacao que presentan tono rojizo estas se tornan rojo amarillento, amarillentos rojizos o anaranjadas que en su mayoría se presentan en las variedades trinitarios. Al retirar las mazorcas del tronco o las ramas del árbol de cacao se debe tener especial cuidado en no dañar las partes leñosas del cultivo ya que el cacao es un árbol que tiene como particularidad florecer y fructificar solamente en las partes más viejas de la planta y que puede convertirse en una vía para la penetración de alguna enfermedad, por lo que es necesario evitar dañar durante el corte el llamado cojinete floral ya que es el sitio donde volverán a salir más flores y

lógicamente más frutos. La frecuencia de cosecha dependió en gran parte de la época del año y en la temporada de mayor cantidad de mazorcas se debe cosechar de cada 8 a 15 días, en cambio en las temporadas donde se desarrolla menor cantidad de frutos se debe recolectar las mazorcas cada mes [25].

2.6. Contaminación en cultivos y remediación de suelos

2.6.1. Presencia de metales pesados en cultivo de cacao

En la actualidad la presencia de metales pesados en los cultivos de cacao representa un posible problema de inocuidad para los productores en las distintas regiones del Ecuador y del mundo. Algunos estudios demostraron que algunos metales pesados como el cadmio podrían encontrarse de forma natural en la corteza terrestre como parte de los distintos minerales y que podrían ser absorbidos fácilmente por los cultivos del *Theobroma cacao* L. con riesgo de ingesta por el ser humano una vez consumidos en sus diferentes presentaciones principalmente como chocolate. El cadmio no representa un elemento esencial para los cultivos de cacao y no se han encontrado mecanismos de absorción específicos en la planta, los cultivos absorben los minerales del suelo y también la presencia de metales pesados concentrándolos en distintas partes, entre ellos en las almendras. Al evaluar su contenido en distintas zonas donde se cultivan y no solamente en nuestro país, revelaron en algunos casos presencia de cadmio en niveles que superaron los valores permisibles por las normativas principalmente las establecidas por la Unión Europea, lo que podría limitar su comercialización, principalmente en sus exportaciones [26].

2.6.2. Causas posibles de presencia de metales pesados en el suelo

Estudios revelaron que la actividad humana libera de 3 a 10 veces más cadmio al medio ambiente que los procesos naturales y en los últimos años la contaminación en el suelo aumentó a causa de actividades industriales como la minería, fundición de metales, quema de combustibles fósiles, cemento, fabricación y quema de plásticos, entre otros [27].

Niveles altos o bajos de metales pesados como cadmio, plomo, níquel y manganeso se encontraron en el suelo y en el agua utilizada para el riego de cultivos, éstos podrían

acumularse y por su condición no biodegradable ejercen toxicidad sobre los diferentes cultivos ocasionando un alto riesgo de peligrosidad en los productos agrícolas que se cosechan [28]. Los metales pesados usualmente se encontraron como componentes naturales en la corteza terrestre, en forma de sales u otros compuestos, podemos mencionar otros ejemplos de metales pesados como el mercurio, cromo, arsénico, talio que en mínimas concentraciones pueden generar una alta peligrosidad en el suelo o en el agua para riego [29]. Estos no pueden degradarse o destruirse fácilmente de forma natural o biológica ya que no presentaron funciones metabólicas específicas en los seres vivos, su bioacumulación en los cultivos significó un aumento en la concentración de un producto químico en un organismos vivo en un tiempo determinado en relación a la concentración de dicho producto químico en el ambiente y en pequeño grado podrían incorporarse en plantas o animales por vía del alimento presentándose también en agua contaminada o aire como medios de traslocación [30]. Algunos metales pesados como el zinc, selenio y cobre son considerados como esenciales para mantener un correcto funcionamiento metabólico en los seres vivos y particularmente en el cuerpo humano, pero en concentraciones excesivas pueden tornarse tóxicos y generar envenenamiento, su presencia puede ser resultado de factores antropogénicos o como componentes propios del suelo, en éstos pueden encontrarse como minerales que son parte de la corteza terrestre como el silicio, aluminio, hierro, calcio, sodio, potasio, magnesio, algunos de ellos son esenciales en la nutrición de las plantas y podrían ser imprescindibles en el fotosistema y activación de algunas enzimas para producir el metabolismo vegetal [28]. El uso de fertilizantes pudo ser también causa del incremento de ciertos componentes metálicos en el suelo que en ocasiones ha generado cambios en sus características, algunos fertilizantes como los nitrogenados que incluyen los nitratos de amonio (NH_4NO_3), de sodio (NaNO_3), la urea ($(\text{NH}_2)_2\text{CO}$), el fosfato de amonio ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$); los polifosfatos amónicos, entre otros aportan al suelo los nutrientes necesarios para el desarrollo de los cultivos pero pueden contener también residuos de metales pesados así como impurezas que podrían disolverse en el suelo y provocar daños en las plantas por bioadsorción. Las actividades geológicas naturales como desgaste de cerros o volcanes aportaron también de forma importante a la presencia de metales pesados en el suelo encontrándose como iones libres o disponibles, como compuestos de sales metálicas solubles o bien como compuestos insolubles, parcialmente solubilizables como óxidos, carbonatos o hidróxidos [28].

2.6.3. Remediación del suelo

Existen algunos estudios relacionados para resolver la contaminación generada por la presencia de metales pesados en el suelo, entre éstas la aplicación de plantas que tienen la propiedad de acumular metales pesados en su estructura, a este proceso es lo que se conoce como fitorremediación, su principal característica es la de remover, transferir, degradar, estabilizar, degradar y neutralizar compuestos orgánicos, inorgánicos y radiactivos que pueden producir toxicidad en el suelo y agua, uno de ellos plantas de tabaco utilizadas para la extracción de cadmio y plomo como especies potenciales para este propósito. Estas tecnologías tienen como propósito degradar o asimilar los metales pesados que se encuentran en el suelo, se caracterizaron por ser tecnologías que no requieren un gran costo de inversión y generan un impacto regenerativo en los lugares donde se destinan y como característica adicional su capacidad extractiva se mantiene debido al crecimiento vegetal [28].

2.6.4. Técnicas de remediación del suelo

Los cultivos de *Theobroma cacao* L. permanentemente incrementan su producción y rendimiento; sin embargo, los productores se exponen a una legislación ambiental cada vez más estricta principalmente la establecida por la Unión Europea respecto al contenido de metales pesados, entre ellos los niveles de cadmio que podrían encontrarse en productos como chocolates y que contienen una cantidad mayor o igual al 50 % de sólidos de cacao. Los problemas que podrían ocasionar en los consumidores de chocolate por presencia de metales pesados y las rutas a través de las cuales el cacao se contamina desde su cultivo hasta el procesamiento final, son factores que se han estudiado en los últimos años y donde generaron acciones encaminadas a crear técnicas que permitan mitigar los niveles de contaminación [31].

2.6.5. Fitorremediación de suelos

Las especies vegetales capaces de acumular y tolerar en sus tejidos concentraciones elevadas de metales pesados son ideales en los procesos de fitoextracción y estas tienen el poder de eliminar contaminantes mediante diversos mecanismos como la fitofiltración, fitoestabilización, fitoextracción, fitovolatilización y fitotransformación, así como la contención y degradación de metales, compuestos fenólicos,

contaminantes orgánicos e inorgánicos. Estudios de laboratorio demostraron que una especie de maíz (*Zea mays*. L) es un hiperacumulador de cobalto y cromo después de la aplicación de un quelante como el Etilen diamino tetra acético (EDTA), en cambio una variedad de planta de girasol (*Helianthus annuus*) demostró ser un hiperacumulador para el cadmio con un potencial de remoción del 56,03 %. Otras especies vegetales como la planta de nabo (*Brassica campestris*) demostró propiedades hiperacumulativas para metales pesados como el cromo, la arveja (*Pisum sativum*) se determinó que es un excelente acumulador de plomo sin la aplicación del quelato EDTA con una eficiencia de remoción del 96,23 %. Otras variedades de plantas como la soja (*Glycine max*) presentó una reducida habilidad para acumular metales pesados presentes en el suelo, sin embargo; se demostró que su poder acumulador se podría potencializar cuando se siembre en conjunto con una especie del género *Melastoma* o al complementar con la adición de 300 mg/kg de nano partículas de TiO₂ en el suelo, su poder hiperacumulador se incrementó hasta un 400 % adicional de µg de cadmio/planta. La especie de frijol (*Phaseolus vulgaris*) presentó una buena capacidad de extracción de contenido de plomo en el suelo mediante la activación de su sistema antioxidante propio de sus raíces. Otra variedad de plantas como la caña de azúcar y sorgo se reportó como ideales en estos procesos de fitorremediación por su capacidad fitoextractora de plomo, cobre y cadmio presentando factores de bioacumulación de metales con niveles óptimos de bioadsorción en sus tejidos. Otro cultivo promisorio para la extracción de metales pesados fue la colza o canola (*Brassica napus*) que tuvo gran capacidad para acumular metales pesados como el cadmio en una cantidad de 2000 mg/kg, generó biomasa y es una especie vegetal fácil de cultivar con una gran adaptabilidad climática. Se puede citar una gran cantidad de especies vegetales que tiene la capacidad de retener metales pesados en sus tejidos y la variedad de planta depende no sólo de su adaptación climática sino también de su capacidad de adsorción [32].

2.6.6. Biorremediación de suelos

A través de esta técnica se utilizó agentes biológicos (microorganismos) para la reducción o completa eliminación de contaminantes o sustancias tóxicas del medio ambiente, mientras que la transformación de contaminantes tóxicos en formas inocuas mediante transformaciones químicas podría llevarse a cabo por organismos vivos

como hongos o bacterias, a este proceso es lo que se le conoce como biotransformación. En los últimos años se han desarrollado varios trabajos de investigación encaminados a encontrar un método que permita biorremediar los suelos contaminados con metales pesados principalmente cuando estos están destinados a los cultivos de cacao, sin embargo, una de las principales dificultades que se presentó al aplicar ésta metodología es el tiempo prolongado para observar sus efectos y alcanzar resultados, dentro de ellos se encontró que las bacterias endófitas asociadas a especies vegetales hiperacumuladoras favorecieron la eficiencia del proceso de biorremediación incrementando la producción de biomasa vegetal mediante tres mecanismos como incremento de la superficie de la raíz y la formación de pelo radicales, incremento de la disponibilidad de los metales e incremento en la transferencia de metales solubles desde la rizósfera hasta la planta. Se pudo mencionar algunas de las especies de bacterias utilizadas para la extracción de metales pesados como *Burkholderia* sp., *Scirpus triqueter*, *Pseudomonas* sp., *Bacillus subtilis*, *Microbacterium* sp., *Delftia* sp., una de ellas; la especie *Brachiaria* se caracterizó por presentar un orden de eficacia de acumulación de biomasa de zinc, cobre, plomo y cadmio rehabilitando los suelos contaminados y contribuyendo a la revegetalización y renovación con nuevos materiales vegetales en zonas muy contaminadas. Los microorganismos disponían de amplias capacidades metabólicas que les permitió utilizar diferentes clases de sustratos con el propósito de obtener energía, en la mayoría de casos transformarlos y en el caso de los metales pesados utilizarlos como sustratos que pueden transformarse o inmovilizarse a través de éstos microorganismos demostrando con esto que la biorremediación al igual que la fitorremediación fueron consideradas en la actualidad como tecnologías promisorias en el tratamiento de suelos o agua con metales pesados [32].

2.7. El cadmio

2.7.1. Fuentes que generan su presencia en el suelo

El cadmio fue considerado como uno de los metales pesados con elevada toxicidad, este elemento se encontró ampliamente distribuido en la naturaleza y está asociado a depósitos de zinc. Su movilidad en el medio ambiente depende de diferentes factores físicos y químicos, entre ellos el pH, los óxidos de hierro, el potencial redox, la cantidad de materia orgánica, la presencia de arcillas y al ser emitido al medio

ambiente proviene de diferentes actividades relacionadas con la minería, metalurgia, aplicación de fertilizantes de fosfato, fuentes industriales, incineración de residuos urbanos, etc. Su exposición puede provenir de la dieta si el alimento está contaminado a través de las almendras de cacao, en el agua o por la inhalación de aerosoles de compuestos de cadmio y si presentan niveles excesivos generan efectos en la salud principalmente a nivel renal, cáncer y osteoporosis por lo que el cumplimiento de las normativas locales o internacionales es fundamental para reducir o eliminar el riesgo de estas enfermedades [26].

2.7.2. Efectos del cadmio en el suelo

La movilidad del cadmio en el suelo depende de varios factores, entre los principales se puede mencionar el pH, potencial redox y la cantidad de materia orgánica, generalmente el metal se une fuertemente a este último en el suelo y de esta manera pudo ser absorbido por los cultivos. Distintos estudios realizados acerca de la movilidad del cadmio en el suelo indicaron también que en suelos ácidos la materia orgánica y los sesquióxidos controlan la solubilidad del metal, mientras que en suelos alcalinos el metal no es móvil ya que precipita en forma de carbonatos y fosfatos insolubles, adicionalmente la formación de especies hidroxilo monovalentes como el CdOH^+ no pudieron ocupar fácilmente los sitios de unión en los complejos de intercambio iónico. En la Figura 1 se ilustra la circulación del metal en el medio en el que se encuentra donde se observa que los efectos antropogénicos son las principales fuentes de contaminación, las reacciones que se presentarían a nivel del suelo donde el Cadmio puede formar compuestos como CdOH^+ , CdCl^+ , CdHCO_3^+ , quelatos orgánicos entre otros y los procesos de absorción del metal con las raíces de las plantas, reacciones que se presentan principalmente en medios ácidos. La fijación de cadmio se puede incrementar en los suelos con mayor contenido de materia orgánica, textura fina, elevada capacidad de intercambio catiónico, sin embargo, en el medio ácido se intercambia con facilidad lo que le hace disponible para que las plantas absorban fácilmente el metal. En suelos con bajo potencial redox su solubilidad aumentó posiblemente debido a la disolución de los oxihidróxidos de Fe-Mn generando la liberación del metal [33].

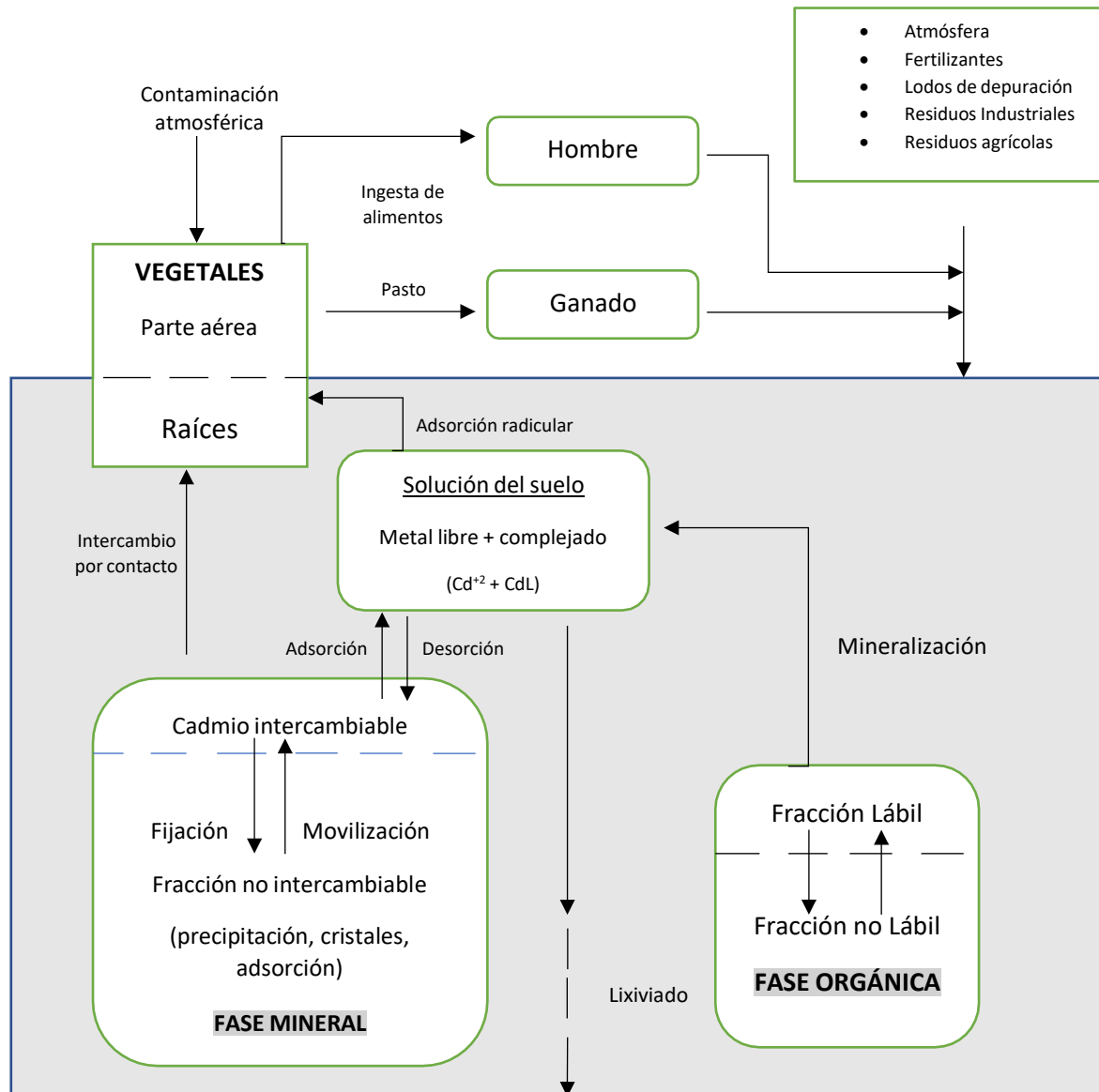


Figura 1. Flujo de cadmio en el medio[33].

2.7.3. Presencia de cadmio en los suelos del Ecuador

En la ciudad de Cuenca se tienen reportes de suelos contaminados en algunas fincas cacaoteras, de igual forma en Santa Rosa provincia del Oro y Naranjal en la provincia del Guayas, almendras de cacao con niveles mayores a 1 mg/kg de cadmio, también se reportó en algunos suelos del litoral ecuatoriano niveles de este metal de forma biodisponible en concentraciones mayores a las permisibles en el Codex Alimentarius. El Instituto nacional de investigaciones agropecuarias (INIAP) también reportó presencia de cadmio en niveles tóxicos en uno de los suelos cacaoteros de la provincia

de El Oro y también niveles altos en los cultivos de cacao en las provincias de Esmeraldas, Los Ríos, Francisco de Orellana, Guayas, Zamora, Los Ríos y algunas zonas de la región tropical de Pichincha donde la principal fuente de contaminación fue la quema de fundas plásticas usadas en la agricultura en las cercanías a las carreteras y el uso de agua de regadío proveniente de las minas. Por lo indicado anteriormente fue necesario realizar estudios en las áreas que presentaban acumulación de cadmio entre ellas la región amazónica que permitan iniciar acciones encaminadas a descontaminar el suelo mediante la aplicación de tecnologías que faciliten la remoción, lavado o a través de técnicas de fitorremediación o biorremediación indicadas anteriormente y que involucren la utilización de técnicas biológicas o químicas [5].

2.7.4. Toxicología del cadmio

Desde que inició la era industrial y desde la segunda guerra mundial, el ser humano vivió expuesto a contaminantes y soportó desastres químicos que han afectado no solamente el medio ambiente en el que vive sino también a su seguridad sanitaria. En el caso del cadmio, las alteraciones biológicas que provocan en el ser humano agravan la posibilidad de tener una vida media más prolongada si se consumen alimentos con la presencia de este contaminante, así como sus consecuencias a nivel ambiental por su presencia en suelos o agua y para enfrentar este problema se debió analizar de forma consiente las principales fuentes que generan esta contaminación. Una de las maneras para proteger al ser humano fue a través de la aplicación de criterios de valores límites umbrales e indicadores biológicos de exposición acorde con el estado actual del conocimiento que tenemos sobre este contaminante donde el hombre es el que produce constantemente estos desechos, adicionalmente para evitar su expansión fue necesario tomar medidas preventivas si se quiere disponer todavía de nuestros recursos y en este caso el suelo con menor proporción de cadmio lo que permitirá mejorar la sustentabilidad de nuestro entorno. Por estas razones se debería empezar con concientizar sobre la importancia de mantener la sustentabilidad y que tienda a hacer de nuestro planeta un lugar saludable para mitigar la contaminación que estamos generando por la presencia de desechos en su mayoría ocasionados por el ser humano, eliminación de basura, químicos arrojados al suelo o al agua, radiaciones, exceso de plaguicidas, pesticidas, etc., que han interferido con nuestro entorno y a su vez con el bienestar humano [34].

2.7.5. Efecto del cadmio en las plantas y el ambiente

Las plantas son organismos de la cadena alimentaria sensibles a los cambios que se presentan en el medio ambiente, reaccionan de forma rápida a contaminantes que provienen de otras fuentes lo que las convierten en elementos importantes por su capacidad de absorción para identificar contaminación. Desde hace pocos años las plantas se están utilizando inclusive como bioindicadores de contaminación y de acuerdo a sus propiedades y especie permitieron determinar con precisión el impacto ocasionado por efectos antropogénicos, estos biomarcadores ofrecen completa y relevante información biológica del impacto ambiental ocasionado por contaminantes tóxicos que ocasionaron daño a la salud de los organismos y en muchos casos son utilizados también como alarmas de contaminantes químicos. La exposición de plantas, cultivos, trae como consecuencia respuestas biológicas negativas a nivel celular, biológico, fisiológico y éstos cambios es lo que se conoce como biomarcadores donde la respuesta de los vegetales a la presencia de metales pesados reflejó un aumento en la peroxidación lipídica, variaciones en la relación clorofila-carotenoides, aumento en la concentración de ácido jasmónico que es una hormona endógena reguladora del crecimiento de las plantas, glutatión (tripéptido no proteínico formado por tres aminoácidos: glutamato, cisteína y glicina) y tioles, aparición de péptidos quelantes, fitoquelatinas y aumento en la actividad o inhibición en las enzimas antioxidantes. En el caso del cadmio, por tratarse de un metal pesado utilizado ampliamente en las industrias y estudiado en cultivos por sus efectos tóxicos las respuestas a este metal no fueron específicas y se realizaron investigaciones en plantas o cultivos como posibles bioindicadores de contaminación generados por diversas fuentes y donde la absorción del metal a través de sus raíces dependió también en gran medida de su biodisponibilidad así como de su concentración en el suelo, de la presencia de materia orgánica, pH, potencial redox, temperatura, intensidad de luz, entre otros factores que permitieron transportar por medio de sus raíces a través de los cultivos no solamente nutrientes como calcio, hierro y zinc necesarios para su crecimiento sino también estos metales pesados [35].

2.7.6. Efectos del cadmio en la salud

La presencia de metales pesados en los alimentos en inocuidad alimentaria representó un riesgo para la salud humana ocasionando que el promedio de vida de las personas

a nivel mundial tiende a disminuir. Como es de conocimiento la presencia de nuevas enfermedades generaron trastornos o quebrantos en la salud del hombre ocasionados por el consumo de alimentos contaminados por metales pesados o por exposición de las personas a ambientes con niveles de contaminación altos. Presencia de concentraciones elevadas de metales pesados en los alimentos como cobre, zinc, mercurio, plomo y cadmio, fueron considerados tóxicos en los alimentos y generan serios problemas de salud por su acumulación en distintos órganos del cuerpo. El primer caso de toxicidad por presencia de cadmio en una persona se detectó en los años setenta en la localidad de Jadun, una ciudad de Japón donde presentó contaminación elevada por acumulación de este metal en el arroz provocando un síndrome al que se le llamó enfermedad itai-itai y su principal característica afecciones renales graves y óseas, principalmente en mujeres de 45 a 70 años que habitaban junto a un río que provenía de una zona con una mina de cadmio. Los efectos tóxicos del cadmio se manifestaron en distintas partes del cuerpo humano donde las personas que presentaban bajos niveles de hierro fueron particularmente vulnerables a los efectos adversos por la presencia del metal en los alimentos, en esto radica la importancia de impulsar la educación para la salud con el propósito de impartir información sobre los efectos adversos que podría ocasionar su ingesta. Se estimó que el 80 % del cadmio ingerido proviene de cereales especialmente arroz y trigo, verduras de hoja, raíces entre ellas zanahorias y papas, algunas clases de mariscos y riñones de animales son alimentos que contienen concentraciones de cadmio superiores a 0,05 microgramos por gramo y si algunos alimentos son contaminados por el agua o la tierra por este metal las concentraciones pueden llegar a niveles de 1,0 microgramo por gramo [36].

2.8. Técnicas de muestreo

El muestro representativo de una muestra permite extrapolar y a la vez generalizar los resultados en ésta a la población accesible y a partir de ésta a la población blanco, en base a esto una población será representativa o no solo si fue seleccionada al azar, es decir; que todos los sujetos de la población blanco tuvieron la misma probabilidad de ser seleccionados en esta muestra y por lo tanto incluirse en el estudio y por otra parte que el número de sujetos seleccionados representen numéricamente a la población que le dio origen respecto de la distribución de la variable en estudio de la población, es decir; la estimación o cálculo del tamaño de la muestra. Es así como el análisis de una

muestra permite realizar inferencias, extrapolar o generalizar conclusiones a la población blanco con un alto grado de certeza, de tal forma que una muestra se considera representativa de la población blanco cuando la distribución y valor de las diversas variables se pueden reproducir con márgenes de error calculables, con lo expuesto; las técnicas de muestreo tienen por objetivo estudiar las relaciones existentes entre la distribución de una variable en la población blanco y las distribuciones de esta variable en la muestra a estudio. Para esto, es importante definir los criterios de inclusión como por ejemplo características demográficas, temporales y geográficas de los sujetos que componen la población de estudio, así como los criterios de exclusión como características de los sujetos que pueden interferir con la calidad de los datos o la interpretación de los resultados y donde finalmente el propósito del muestreo es entregar conocimientos generales respecto de las técnicas de muestreo más utilizadas en investigación. Una muestra puede obtenerse a través de dos técnicas de muestreo: probabilística y no probabilística, en el primer caso permiten conocer la probabilidad que cada individuo a estudio tiene que ser incluido en la muestra por medio de una selección al azar mientras que en las técnicas de muestreo no probabilístico la selección de los sujetos a estudio dependerá de ciertas características o criterios que el investigador considere en ese momento, por lo que pueden ser poco válidos, confiables o reproducibles debido a que este tipo de muestra no se ajusta a un fundamento probabilístico, es decir, no dan con certeza que cada sujeto a estudio represente la población blanco [37].

2.9 Técnicas más comunes en el análisis de cadmio.

2.9.1. Absorción atómica con horno de grafito

Uno de los métodos más importantes en el campo espectrométrico que permitió detectar y analizar la concentración de elementos metálicos de la tabla periódica es mediante la espectrometría de absorción atómica. Esta técnica transforma los elementos metálicos de una muestra en iones o átomos en una fase gaseosa a través de un procedimiento definido como atomización donde se conocen dos métodos, el de llama o más conocido como absorción atómica de llama o a través de un horno de grafito donde se aplica energía electrométrica, método más conocido como Espectrometría de Absorción Atómica con Horno de Grafito (GFAAS) el mismo que

permite determinar concentraciones del elemento en el orden de partes por billón lo que le distingue de los demás métodos de extracción. En la Figura 2 se puede ^{Detector} observar las partes principales de un equipo GFAAS y su fundamento consiste en la absorción de luz a través de un elemento que se encuentra en fase atómica y con una longitud de onda que es concreta para cada elemento que se analiza, se mide la disminución de la intensidad de luz producto de la absorción y donde se establece una proporcionalidad entre las cantidades de radiación absorbida con la de los átomos del elemento en análisis. En el método GFAAS intervienen dos procesos, la atomización de la muestra que se analiza y la absorción de luz radiante que viene de una fuente como producto de los átomos que están libres, mientras que la muestra se somete a un tratamiento hasta alcanzar la atomización donde constan fases como el secado cuando la muestra se inyecta en el tubo de grafito, el propósito de ésta fase es evaporar el solvente a temperatura, el calcinado con una temperatura que se encuentra entre los 350 a 1600 °C y que permite descomponer la materia sólida, finalmente la atomización donde el horno se calienta a elevadas temperaturas que van entre 1800 a 2800 °C con el propósito de vaporizar los residuos de la etapa anterior generando la formación de átomos libres para obtener la absorbancia [38].

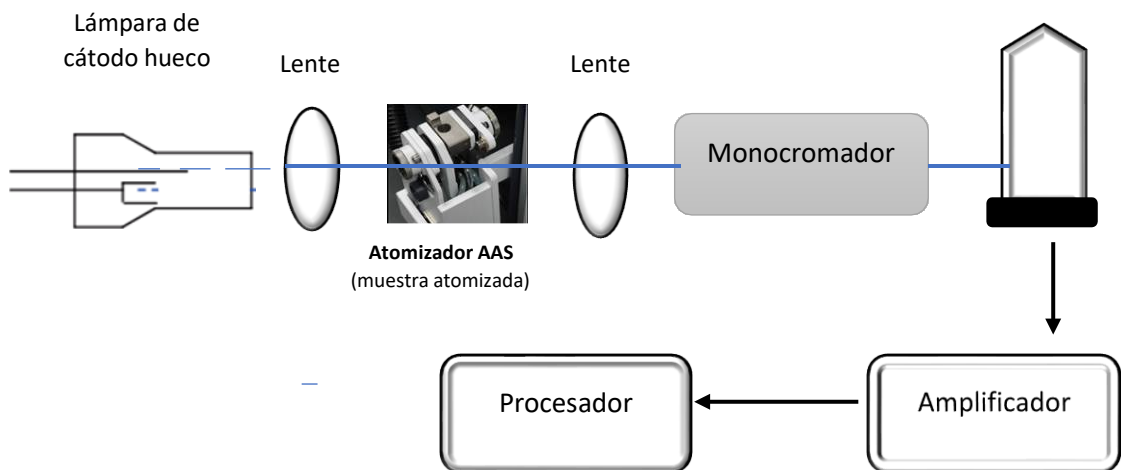


Figura 2. Representación esquemática de los componentes de un equipo de espectrofotometría de absorción atómica con horno de grafito [38].

2.10. Método colorimétrico CIELAB

Existe una organización que se encargó de desarrollar un modelo cromático que permite identificar los colores que el ojo humano puede distinguir, esta entidad se llama Comisión Internacional de Iluminación “CIE” (Commission Internationale d’Eclairage) la misma que establece lo que se conoce como espacio cromático a través de las llamadas coordenadas $L^*a^*b^*$ donde L^* representa una coordenada cilíndrica de claridad (luminosidad) mientras que a^* y b^* corresponden a las coordenadas rectangulares (cromaticidad) del espacio colorimétrico [39].

En el campo de los alimentos, el color es un parámetro que define un valor estético a los productos, así como agrega un detalle de frescura cuando se realizan trabajos sensoriales para determinar la calidad del alimento. En métodos de colorimetría el espacio CIELAB conocido como CIE 1976 $L^*a^*b^*$ midió cada uno de sus parámetros donde L^* representa la Luminosidad que va en un espacio de negro = 0 a 1 y que corresponde a blanco = 100, mientras que las coordenadas a^* van de rojo a verde donde un valor positivo de $+a^*$ indica rojo mientras que un valor negativo de $-a^*$ corresponde al verde, finalmente la coordenada b^* van del amarillo al azul donde un valor positivo de $+b^*$ representa el amarillo y un valor negativo de $-b^*$ corresponde al azul [40].

CAPITULO III

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Ubicación y delimitación demográfica

Santa Clara pertenece a uno de los cuatro cantones de la provincia de Pastaza ubicada al este del territorio nacional y en la zona central de Amazonía ecuatoriana la misma que limita al norte con las provincias de Napo y Orellana, al sur con la provincia de Morona Santiago, al este con Perú y al oeste con la provincia de Tungurahua. La provincia en sí cuenta con una extensión de 29643,33 km² de acuerdo a información proporcionada por el Comité Nacional de Límites Internos (CONALI, 2016) y con un clima cálido húmedo tropical característico de la región [41].

3.1.1. Zona de muestreo y ubicación geográfica

Para el desarrollo del presente trabajo de investigación las muestras de las dos variedades de cacao fino de aroma y CCN51, así como las muestras de suelo donde se cultivaron estas dos variedades fueron seleccionadas en una de las fincas del cantón Santa Clara ubicado a 40 Km de distancia vía Puyo-Tena, provincia de Pastaza. El sector donde se realizaron los muestreos se ubicó en las siguientes coordenadas geográficas UTM: X = 179463,3; Y = 9866057,5; zona 18; hemisferio sur.

3.1.2. Características demográficas y ambientales de Santa Clara

El cantón Santa Clara se ubicó en la amazonia ecuatoriana a una altitud aproximada de 595 metros sobre el nivel del mar (msnm) al noreste de la provincia de Pastaza, cuenta con una superficie aproximada de 400,2 km², con un clima que oscila entre los 18 y 24 °C, una precipitación anual promedio de 3000 mm, humedad variable entre 87 a 89 %, con una topografía irregular y con un suelo formado principalmente por sedimentos de suelo arcilloso [41].

3.2. Materiales y equipos

Todos los ensayos fueron realizados en el laboratorio de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Central del Ecuador (UCE), a excepción del Color (*) que se realizó en el Laboratorio de la empresa Ecuacerámica de la ciudad de Riobamba.

En la Tabla 2 se describe los principales equipos de laboratorio utilizados para las diferentes determinaciones fisicoquímicas de las muestras de suelo y cacao.

Tabla 2. Equipos de laboratorio empleados para los distintos análisis realizados.

Material/equipo	Marca	Método de Análisis
Hidrómetro de Bouyoucos (escala de 0-60 g/L)	H-B Instrument	
Cilindro de Bouyoucos	H-B Instrument	Textura en suelo por el Método de Bouyoucos
Termómetro (escala de -10 a 110 °C)	Taylor	
Termómetro (escala de -10 a 110 °C)	Taylor	
Balanza analítica	Mettler Toledo	Materia Orgánica por el Método de Walkley y Black
Buretas de 25 mL	Glassware	
Potenciómetro	Orion 520A	Medición lecturas de pH
Espectrofotómetro de Absorción Atómica	Perkin Elmer AA-100	Determinación de Minerales (fósforo, calcio y magnesio)
Balanza analítica	Ohaus	
Espectrofotómetro de Absorción Atómica	Perkin Elmer AA-100	Cadmio por
Horno de Grafito	GBS	Espectrofotometría de Absorción Atómica con Horno de Grafito
Mufla	Optic Ivymen System	
Plancha calentadora	Termo Scientific	
Balanza analítica	Mettler Toledo	
Bureta digital	Titrette	
Licuada	E-AL- 89	Acidez en almendras de cacao
Balanza Pioner	Ohaus	
Colorímetro (*)	X-Rite RM200QC	Color método CIELAB
Estufa	Memmert	

3.3. Diseño de la investigación

De acuerdo al planteamiento inicial del plan de titulación, el presente proyecto se desarrolló dentro de la modalidad de investigación cuantitativa - experimental de campo y de laboratorio. Experimental de campo debido a que las muestras de las dos variedades de cacao fino de aroma y CCN51, así como las muestras de suelo donde se cultivaron las dos variedades se tomaron en una de las fincas del cantón Santa Clara, provincia de Pastaza y experimental debido a que las muestras se analizaron en un laboratorio externo que contaba con todos los equipos necesarios para el desarrollo de la fase experimental.

3.3.1. Tipo de Investigación

Del mismo modo el tipo de investigación que se desarrolló para la presente investigación fue el siguiente:

3.3.1.1. Descriptiva: Donde se detalló los métodos y procedimientos que se aplicaron para la obtención de los resultados cuantitativos tomando como bases de datos, artículos científicos y otros documentos bibliográficos.

3.3.1.2. Experimental: Ya que se realizaron ensayos experimentales en la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Central del Ecuador donde se analizaron las variables de estudio en las muestras de suelo y con las dos variedades de cacao. Se encontraron resultados importantes con los objetos de estudio que demostraron la hipótesis planteada.

3.3.1.3. Comparativa: Porque se analizaron los resultados obtenidos con normativas internacionales como las establecidas por la Unión Europea para el caso del cacao y con las normas oficiales mexicanas en lo que correspondió al análisis de suelos. A través de estas normativas se establecieron respectivamente niveles máximos permisibles fundamentalmente en lo relacionado a las concentraciones de metales pesados como la presencia del cadmio en diversos alimentos y en el caso del suelo la normativa estableció límites permisibles en diferentes parámetros entre los que se encontraba también los relacionados con el metal de estudio.

3.3.1.4. Delimitación espacial

Las muestras de suelo y de las dos variedades de cacao se obtuvieron de una de las fincas del Cantón Santa Clara, Provincia de Pastaza, las mismas que debidamente muestreadas fueron empacadas y rotuladas trasladándose al siguiente día al laboratorio de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Central del Ecuador donde se desarrollaron cada una de las determinaciones cuantitativas, el laboratorio externo fue certificado años atrás por el SAE (Servicio de Acreditación Ecuatoriana) el mismo que contó con equipos calificados para los ensayos fisicoquímicos, principalmente para la determinación de cadmio por Espectrometría de Absorción Atómica con Horno de Grafito.

3.4. Planteamiento de la Hipótesis

3.4.1. Delimitación temporal

El proyecto de titulación se realizó en aproximadamente 24 meses a partir de su período de aprobación, tiempo en el cual mediante un cronograma se desarrolló cada una de las determinaciones descritas en el presente trabajo de investigación.

3.4.2. Hipótesis nula:

Ho: No es factible analizar la incidencia del suelo para la bioacumulación de Cadmio en la almendra de cacao (*Theobroma cacao L.*) en dos variedades Fino de aroma y CCN51 cultivadas en el cantón Santa Clara Provincia de Pastaza.

3.4.3 Hipótesis alternativa:

H1: Es factible analizar la incidencia del suelo para la bioacumulación de Cadmio en la almendra de cacao (*Theobroma cacao L.*) en dos variedades Fino de aroma y CCN51 cultivadas en el cantón Santa Clara Provincia de Pastaza.

3.4.4. Variables:

Variable Independiente: Tipo de suelo

En la Tabla 3 se resume la operacionalización de las variables independientes que fueron planteadas en el presente proyecto de investigación y donde se determinaron los principales indicadores relacionados con los diferentes análisis fisicoquímicos en los suelos muestreados.

Variable Dependiente: Concentración de cadmio en la almendra de cacao de dos variedades, Fino de aroma y CCN51.

En la Tabla 4 se describe la operacionalización de las variables dependientes donde se establecieron los indicadores a analizar en las almendras de cacao de las dos variedades muestreadas principalmente en lo que corresponde a la determinación de cadmio por el método de absorción atómica con horno de grafito.

3.4.5. Operacionalización de las variables:

3.4.5.1 Variable Independiente

Tabla 3. Operacionalización de la variable independiente: Tipo de suelo

Variable	Definición conceptual	Definición Operacional	Dimensiones	Indicadores	Unidad de medida	Escala
Tipo de suelo donde se cultivan las dos variedades de cacao fino de aroma y CCN-51 del cantón Santa Clara, provincia de Pastaza	Los suelos agrícolas pueden presentar características fisicoquímicas que pueden favorecer o impactar negativamente sus propiedades afectando a los cultivos principalmente por la presencia de metales pesados que se bioacumulan en el suelo para ser absorbidos por los cultivos [42]	Se recolectaron varias submuestras de suelo en diferentes puntos del área de cultivo aplicando la técnica de muestreo en zigzag.	Caracterización del suelo para el cultivo de cacao: <ul style="list-style-type: none"> ▪ Tipos de suelo ▪ Acidez/Alcalinidad ▪ Calidad del suelo ▪ Presencia de minerales asimilables ▪ Posible presencia de elementos contaminantes. 	Análisis fisicoquímicos en el suelo: <ul style="list-style-type: none"> • Textura • pH • Materia Orgánica • Calcio • Magnesio • Fósforo • Metales pesados (Cadmio) 	% Textura pH % CO mg/kg mg/kg mg/kg mg/kg	Nominal

3.4.5.2 Variable Dependiente

Tabla 4. Operacionalización de la variable dependiente: Concentración de cadmio en dos variedades de cacao

Variable	Definición conceptual	Definición Operacional	Dimensiones	Indicadores	Unidad de medida	Escala
Concentración de Cadmio en dos variedades de cacao fino de aroma y CCN-51 del cantón Santa Clara, provincia de Pastaza	La presencia de trazas de Cadmio en almendras de cacao para la elaboración de diversos productos representa un alto riesgo en la seguridad alimentaria por tratarse de un elemento metálico altamente tóxico que al ser ingerido ocasiona severos daños en la salud humana por insuficiencia renal [43]	Se tomaron varias submuestras de cacao en diferentes puntos del muestreo aplicado a dos variedades de cacao, fino de aroma y CCN51 empleando la técnica de muestreo en zigzag.	<p>Estudio realizado en las almendras de cacao:</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Color ▪ Acidez ▪ Determinación de Cadmio. 	<p>Análisis fisicoquímicos realizados en almendras:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Color • Acidez • Metales pesados (Cadmio) 	<p>L*a*b*</p> <p>% acidez</p> <p>mg/kg</p>	Nominal

3.5. Población y muestra

3.5.1. Población

Como población se consideró el suelo utilizado para el cultivo de las dos variedades de cacao Fino de Aroma y CCN51, así como sus almendras. Las muestras se tomaron en una de las fincas del cantón Santa Clara provincia de Pastaza.

3.5.2. Muestreo de suelo y con mazorcas de cacao

En la Figura 3 se graficó todos los muestreos que se realizaron aplicando la técnica en zigzag tanto para la toma de muestras de suelo como para las dos variedades de cacao. Se tomó 5 submuestras de suelo en 5 parcelas diferentes y de los mismos puntos de muestreo se recolectó también submuestras de mazorcas de cacao, es decir, se tomó 5 submuestras de cada variedad y de cada parcela.

En definitiva, se recolectó un total de 25 submuestras de suelo donde se cultivó la variedad Fino de Aroma, 25 submuestras de suelo donde se sembró la variedad de cacao CCN51, 25 submuestras de cacao de la primera variedad y 25 submuestras de cacao de la segunda variedad.

De cada 5 submuestras tomadas de suelo en cada parcela se obtuvo una muestra compuesta por lo que se dispuso de 5 muestras compuestas de suelo donde se cultivó la primera variedad de cacao, se procedió de igual forma para obtener 5 muestras compuestas de suelo donde se cultivó la segunda variedad. En el caso de las mazorcas el tratamiento fue similar para obtener 5 muestras compuestas con las almendras de cacao de la variedad Fino de Aroma y 5 muestras compuestas con la variedad CCN51 con el propósito de realizar cada uno de los análisis fisicoquímicos planteados en los objetivos del proyecto de investigación.

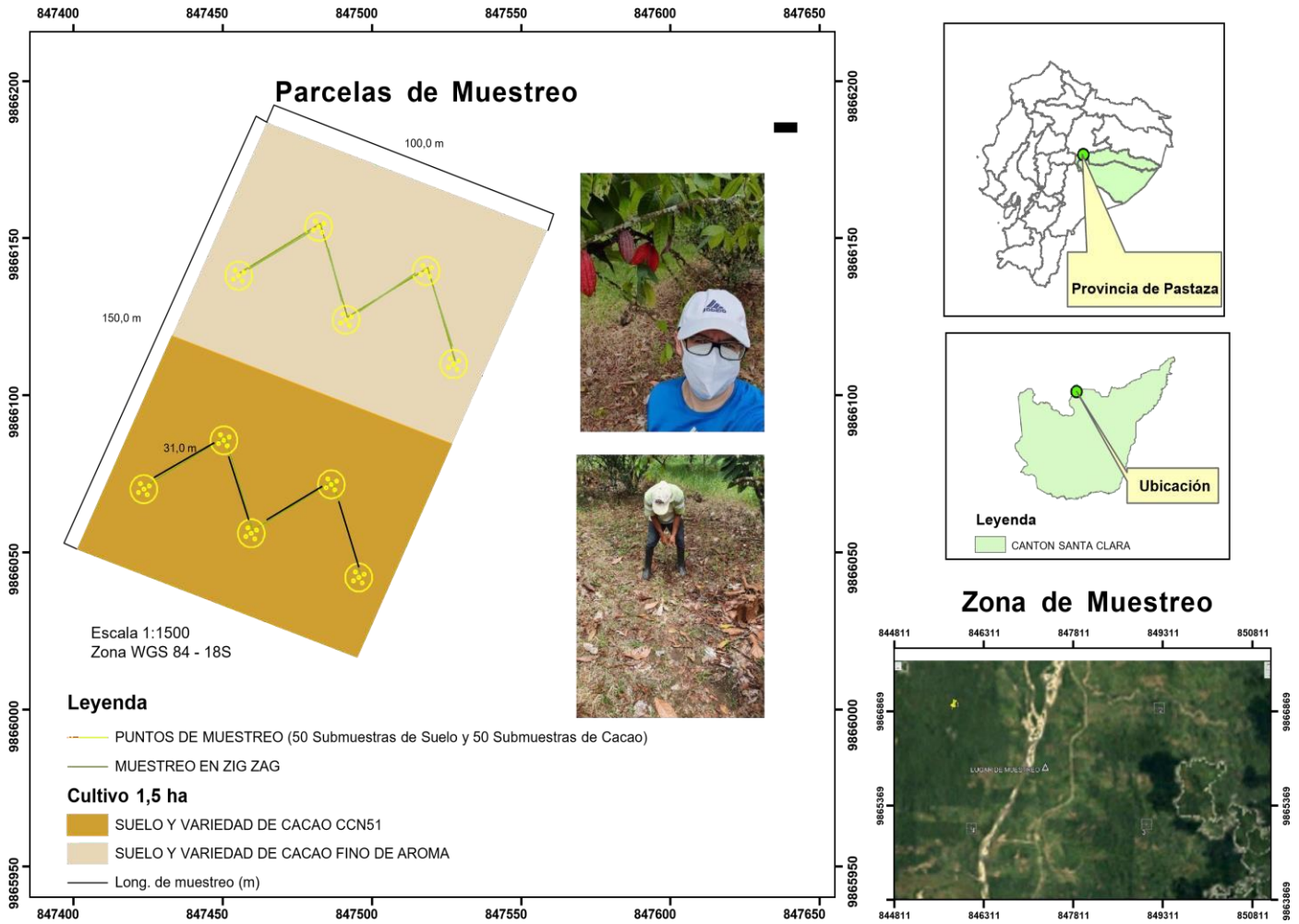


Figura 3. Zona, parcelas y puntos de muestreo

3.6. Plan de recolección de la información

3.6.1. Muestreo del suelo

Inicialmente el proyecto de titulación se planteó al Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca (MAGAP) a través de la Dirección Distrital de Pastaza, el mismo que se aprobó con oficio Nro. MAG-DDPASTAZA-2019-0224-O del 30 de septiembre 2019.

El muestreo se realizó en una de las fincas del cantón Santa Clara con el apoyo de los técnicos del MAGAP y se colectó muestras de suelo en un área estimada de 1.5 hectáreas, para esto se tomó 5 submuestras de suelo en 5 puntos diferentes del terreno

a través del método zigzag donde se cultivó el cacao fino de aroma con un peso aproximado de cada submuestra de 1 a 2 kg, a profundidades entre 10 a 25 cm en base a otros estudios relacionados para caracterización de suelos [44], las mismas que fueron colectadas en fundas plásticas, rotuladas e identificadas adecuadamente para su traslado al laboratorio, de igual forma se procedió con el muestreo para el suelo donde se cultivó la variedad CCN51.

3.6.2. Muestreo de las variedades de cacao

El muestreo se realizó también en zigzag y en los mismos puntos de las áreas donde se tomaron las muestras de suelo, es decir, se recolectó en cinco puntos diferentes 5 submuestras obteniéndose 5 muestras compuestas que equivalen aproximadamente de 1 a 2 kg de almendras de cacao de cada una de las variedades Fino de aroma y CCN51 para el desarrollo de los análisis de acidez, color y determinación de cadmio.

Las submuestras se almacenaron en fundas plásticas ziploc debidamente identificadas, codificadas y colocadas en varias hieleras para mantener su frescura hasta que se trasladó al laboratorio para sus análisis. Las mazorcas estuvieron en estado maduro, libres de posible presencia de plaga y seleccionadas adecuadamente para su posterior tratamiento.

3.6.3. Análisis Físicoquímicos en suelo.

3.6.3.1. Preparación de las muestras de suelo

La muestra de suelo se secó al aire, trituró y atravesó mediante un tamiz de 150 µm, se depositó en bolsas de polietileno transparentes, limpias, rotuladas y almacenadas en un lugar libre de humedad y contaminación para su posterior análisis de acuerdo a recomendaciones de otros estudios [45].

3.6.3.2. Determinación de textura del suelo por el Método de Bouyoucos

Materiales:

- Hidrómetro de Bouyoucos (escala de 0 – 60 g/L)
- Probetas graduadas de 1000 mL
- Cilindro de Bouyoucos

- Agitador para dispersión mecánica
- Termómetro escala de -10 a 110 °C.
- Agitador

Reactivos:

- Solución de Oxalato de Sodio al 3 %
- Peróxido de Hidrógeno al 30 %
- Metaxilicato de Sodio con una lectura de 36 g/L con el hidrómetro
- Solución de Hexametáfosfato de sodio al 5 %

Procedimiento:

- Se tomó un vaso de precipitación de 500 mL y se pesó en su interior 60 g de muestra de suelo que presentó una textura fina (o en su lugar 120 g de muestra con textura gruesa), se añadió 40 mL de peróxido de hidrógeno y se sometió a evaporación hasta sequedad.
- Luego de llevar a sequedad, se pesó 50 g de suelo con textura arcillosa (o 100 g de suelo que presentó una textura arenosa) y se depositó en un vaso de precipitación de 250 mL. A este contenido se agregó agua hasta observar que cubre la muestra de suelo, se añadió 5 mL de solución de oxalato de sodio y 5 mL de metaxilicato de sodio. Se dejó en reposo al menos por 15 minutos.
- Se trasvasó las muestras de los vasos de precipitación al agitador mecánico y se dispersó su contenido por aproximadamente 10 minutos, una vez finalizado este tiempo se trasladó el contenido a una probeta de 1000 mL o al cilindro de Bouyoucos.
- Se añadió agua destilada hasta aforar a 1000 mL con el hidrómetro, cuando se trata de la probeta y en el caso del cilindro de Bouyoucos se aforó hasta la marca inferior de 1113 mL con el hidrómetro que contenía la suspensión.
- Se registró las lecturas del hidrómetro empezando desde los 40 segundos y después de 120 minutos una vez terminada la dispersión con un agitador manual.

- Para tomar una lectura se depositó el hidrómetro en el interior de la probeta 20 segundos antes de la determinación y se evitó que la suspensión de alguna forma sufra alteración.
- Se secó el hidrómetro luego de tomar la lectura, se lavó nuevamente, secó y tomó la temperatura.

Cálculos:

Se corrigió las lecturas del hidrómetro adicionando un factor de 0,36 por cada grado centígrado cuando supera una temperatura de 19,5 °C y se restó el mismo factor por cada grado cuando la temperatura fue inferior a la indicada.

Para realizar el ensayo de textura en el suelo se aplicó las ecuaciones 1, 2 y 3 que permiten identificar el porcentaje de cada una de las clases texturales:

$$\% \text{ Arena} = 100 - \frac{\text{Lectura corregida a los 40 seg.}}{\text{Peso de la muestra en gramos a } 105^{\circ}\text{C}} \times 100 \quad \text{Ecuación 1}$$

$$\% \text{ Arcilla} = \frac{\text{Lectura corregida a los 120 min.} \times 100}{\text{Peso de la muestra en gramos a } 105^{\circ}\text{C}} \quad \text{Ecuación 2}$$

$$\% \text{ Limo} = 100 - (\% \text{ Arcilla} + \% \text{ Arena}) \quad \text{Ecuación 3}$$

3.6.3.3. Determinación de Materia Orgánica por el método de Walkley y Black

Materiales:

- Matraz Erlenmeyer de 250 mL
- Balanza analítica
- Pipetas graduadas de 5 mL
- Pipetas volumétricas de 5 mL
- Bureta de 20 mL

Reactivos:

- Solución de Dicromato de Potasio 0,17 M
- Ácido Sulfúrico concentrado
- Ácido Fosfórico concentrado
- Solución de Sulfato Ferroso 0,5 M
- Indicador Difenilamina

Procedimiento:

- Se pesó 0,2 g de muestra de suelo seco en un matraz Erlenmeyer de 250 mL, se registró el peso con una aproximación analítica de cuatro cifras significativas.
- Se pesó cada una de las muestras.
- Se preparó un blanco con la solución de Dicromato de Potasio 0,17 M, para esto se agregó en un matraz vacío 5 mL de esta solución.
- De forma simultánea se agregó 5 mL de dicromato de potasio a cada matraz con muestra.
- Se agregó 10 mL de ácido sulfúrico con una pipeta a cada matraz empezando por el blanco.
- Se adicionó lentamente el ácido girando el matraz para evitar que el calor se concentre en un solo punto y se rompa, la adición de ácido liberó gas carbónico por lo que se debe evitar respirarlo.
- Se agitó cada matraz en sentido circular por el lapso de un minuto y se evitó que el suelo se adhiera a las paredes. Se tomó el tiempo.
- Cada muestra se mantuvo en reposo por un tiempo aproximado de 30 minutos, una vez cumplido el tiempo se agregó 100 mL de agua destilada con el propósito de parar la digestión.
- A cada matraz se agregó ácido fosfórico concentrado con una pipeta volumétrica de 5 mL.

- Se añadió 5 gotas del indicador difenilamina y tituló con una solución de sulfato ferroso 0,5 M hasta que se presentó un viraje de color verde esmeralda.
- Se dejó en reposo cada una de las muestras por un tiempo aproximado de 30 minutos, cumplido el tiempo se agregó 100 mL de agua destilada para detener la digestión.
- Se adicionó 5 mL de ácido fosfórico concentrado con una pipeta volumétrica a cada matraz.
- Se añadió 5 gotas del indicador difenilamina y tituló con solución de sulfato ferroso 0,5 M hasta que el viraje fue de un color verde esmeralda tomando precauciones de agregar con cuidado la solución de sulfato debido a que el cambio de viraje a verde esmeralda se presentó rápidamente.
- Para calcular la concentración de Sulfato Ferroso primero se aplicó la ecuación 4, de esta ecuación se despejó N_2 y de donde se obtuvo la concentración de $FeSO_4$ por determinar como indicó en la ecuación 5:

Cálculos:

a) Cálculo concentración de $FeSO_4$:

$$N_1V_1 = N_2V_2 \quad \text{Ecuación 4}$$

Despejando N_2 en la Ecuación 4 se tiene:

$$N_2 = \frac{N_1V_1}{V_2} \quad \text{Ecuación 5}$$

Donde:

N_1 = Concentración del reactivo 1 ($K_2Cr_2O_7$ 0,5 M)

V_1 = 5 mL de solución del reactivo 1

V_2 = Volumen de $FeSO_4$ gastado al titular el blanco

N_2 = Concentración molar de $FeSO_4$ a determinar

Para determinar el porcentaje de materia orgánica en suelo se aplicó la ecuación 6, cabe recalcar que debido a que cada muestra se trabajó por triplicado, se calculó los tres valores de materia orgánica y donde a cada peso correspondió un volumen de titulación y de los tres valores de materia orgánica de cada muestra, se obtuvo el valor promedio:

$$\% \text{ MO} = \frac{[(V_1C_1) - (V_2C_2)] \times 0,69}{\text{Peso exacto de la muestra (g)}} \quad \text{Ecuación 6}$$

Donde:

% MO = Porcentaje de Materia Orgánica

V_1 = Volumen de la solución del reactivo 1 (mL)

C_1 = Concentración del reactivo 1 ($K_2Cr_2O_7$ 0,5 M)

C_2 = Concentración de $FeSO_4$ que se calculó al titular el blanco, obtenido en la Ecuación 5 registrado como N_2 .

V_2 = Volumen de $FeSO_4$ (mL) gastado al titular cada una de las muestras, a partir de la Ecuación 5.

0,69 = Factor de corrección de humedad

3.6.3.4. Determinación de pH por el Método Electrométrico

Materiales:

- Potenciómetro
- Vaso de precipitación de 250 mL
- Balanza analítica
- Varilla de agitación
- Agitador mecánico

Reactivos:

- Soluciones buffer pH 4,0

- Soluciones buffer pH 7,0
- Soluciones buffer pH 10,0

Procedimiento:

- Se mezcló las submuestras de suelo para mejor homogeneidad las mismas que se encontraban secas por un período de 24 horas.
- Una vez obtenida la muestra seca de suelo se utilizó un tamiz con orificios circulares de 2 mm de diámetro para separación de sólidos gruesos entre ellos posible presencia de piedras que podían contener, de existir agregados de suelo fue necesario romperlos. Se utilizó el tamiz para pasar la muestra.
- Se tomó 20 g de la muestra de suelo tamizado y se agregó en un vaso de precipitación de 250 mL con 50 mL de agua destilada en una proporción de 1: 2,5; se agitó con un agitador mecánico por 5 minutos.
- Terminado el tiempo de agitación se dejó en reposo 30 minutos.

Cálculos:

- Antes de tomar las lecturas de pH se agitó nuevamente la suspensión de la muestra de suelo.
- Se introdujo el electrodo del equipo y se esperó hasta que la lectura de pH se estabilice. Se registró las lecturas.

3.6.3.5. Determinación de micronutrientes en el suelo (Fósforo, Calcio y Magnesio).

3.6.3.5.1. Determinación de Fósforo por el método de digestión ácida y colorimétrico de Molibdato-Vanadato.

Materiales y equipos:

- Espectrofotómetro Perkin Elmer AA-100
- Balanza analítica
- Pipetas volumétricas de 10, 50 y 100 mL
- Pipetas graduadas de 10 mL

- Balones aforados de 50, 100 y 1000 mL
- Embudos
- Aparato de filtración con bomba de vacío

Reactivos:

- Ácido Sulfúrico (H_2SO_4) p.a.
- Acido Perclórico ($HClO_4$) p.a.
- Ácido Nítrico (HNO_3) p.a.
- Ácido Clorhídrico (HCl) p.a.
- Solución etanólica de Fenolftaleína al 0,5 %
- Reactivo Vanadato - Molibdato

Procedimiento:

Preparación de la muestra:

- La muestra de suelo se mezcló completamente para lograr su homogeneidad, previamente se secó a temperatura ambiente por al menos 24 horas.
- Se tomó la muestra completamente seca y se pasó por un tamiz de 2 mm de diámetro, se separaron las piedras y de existir presencia de agregados fue necesario romperlos y tamizarlos.
- A partir de la muestra de suelo seca y tamizada se tomó una cantidad de 5 g y se realizó el tratamiento de digestión ácida total de la materia orgánica.
- Se agregó dos gotas de solución indicadora de fenolftaleína a la muestra fría y se neutralizó adicionando una solución de NaOH 4 M hasta que alcanzó una coloración ligeramente rosada.

Cálculos:

Preparación de la curva de calibración:

- a) De acuerdo a lo que se indicó en la Tabla 5, se seleccionó al menos 5 soluciones estándar para elaborar una curva de calibración a partir de una solución estándar de 50 mg/L de Fósforo:

Tabla 5. Curva de calibración para fósforo.

Concentración (mg/L)	Solución estándar de Fósforo de 50 mg/L (Volumen en mL)	Aforo de la solución (mL)
0,5	1	100
2,5	5	100
5,0	10	100
10,0	20	100
15,0	30	100

- b) Se tomó 35 mL de muestra previamente tratada en un matraz aforado de 50 mL y se agregó 10 mL de reactivo vanadato-molibdato, luego se diluyó hasta la señal de aforo con agua destilada.
- c) Se preparó un blanco con 35 mL de agua destilada en lugar de la muestra.
- d) Luego de 10 minutos o más se midió la Absorbancia de la muestra en la curva de calibración frente a un blanco a una longitud de onda promedio de 470 nm.
- e) Se consideró que la intensidad del color amarillo es proporcional a la concentración de Fosfato.
- f) El color se mantuvo estable durante algunos días y su intensidad no se afectó por las variaciones de temperatura ambiente.

3.6.3.5.2. Determinación de Calcio por Absorción Atómica de Llama

Equipos y materiales:

- Equipo de Absorción atómica Perkin Elmer AA-100 y equipo asociado que contenía una cabeza de quemador de óxido nitroso, se utilizó el cuerpo de mechero especial recomendado por el fabricante, válvula de unión en T u otra válvula de conexión para un cambio rápido de óxido nitroso a aire.

- Compresor
- Pipetas volumétricas de 5 y 10 mL
- Micropipetas
- Plancha calentadora
- Matraces aforados de 10, 25, 50, 100, 1000 mL

Reactivos:

- Ácido Nítrico concentrado (HNO_3)
- Ácido Sulfúrico concentrado (H_2SO_4)
- Gas Acetileno
- Óxido Nitroso

Preparación de la muestra:

- La muestra de suelo se mezcló para lograr homogeneidad y se secó a temperatura ambiente al menos durante 24 horas debido a que en el campo el suelo presentó diferente nivel de humedad.
- La muestra de suelo seca se pasó a través de un tamiz de 2 mm de diámetro, se rompió los agregados del suelo y se separó presencia de piedras para eliminar sólidos gruesos.

Digestión ácida:

- Se pesó 5 g de la muestra de suelo con una precisión de 0,1 g y se colocó en un matraz.
- Se agregó 5 mL de HNO_3 concentrado libre de metales y 20 mL de agua tipo I, se mezcló y cubrió con un vidrio de reloj, se calentó la muestra y sometió a reflujo durante 30 minutos sin que se presenten pérdidas.

Nota: si no se logró obtener la digestión completa agregar 5 mL de más de HNO_3 concentrado, colocar el vidrio de reloj y someter nuevamente a reflujo durante 30 minutos.

- Si se forman humos marrones por la oxidación del ácido nítrico repetir el último paso una y otra vez hasta completar la reacción (5 mL de HNO₃ concentrado/30 min.) hasta lograr una evaporación donde se llegue aproximadamente a 5 mL del digestado.
- Una vez completa la digestión y cuando la muestra se encontró fría, se filtró y aforó a 50 o 100 mL con agua tipo I.

Funcionamiento del equipo:

El equipo de Absorción Atómica puede funcionar de dos maneras, de forma directa a través del equipo o enlazarse a través de un software en la computadora. Para la determinación de metales con óxido nitroso se ajustó y reguló el quemador con la lámpara de calcio, una vez realizado esto se ubicó la lámpara de calcio y se empleó las condiciones del equipo, para desarrollar lo indicado fue necesario tener abiertos los tanques de acetileno y óxido nitroso. La llama debe tener un cono rojo encima del mechero, si no es así ajustar el flujo de combustible para conseguir el cono rojo. Una vez encendida la llama de óxido nitroso se dejó que el mechero alcance su equilibrio térmico antes de comenzar el análisis. Se atomizó un blanco constituido por agua desionizada que contiene 1,5 ml de HNO₃ concentrado y se comprobó la velocidad de flujo, se ajustó a una velocidad entre 3 y 5 mL/minuto, se encendió el equipo, se atomizó un patrón del metal deseado con una concentración próxima al punto medio del intervalo de concentraciones y se ajustó el mechero al trayecto luminoso para obtener la máxima respuesta. Se aspiró el blanco nuevamente y se encendió el instrumento el mismo que estaba listo para trabajar con patrones y muestras.

Nota: Apagar la llama y cerrar los gases, elimine los residuos de gases que pueden quedar en las tuberías. Este procedimiento eliminó el peligro de retorno de la llama que puede ocurrir en el encendido directo o en el cierre de óxido nitroso y acetileno.

Cálculos

Preparación de la curva de calibración:

- En base a la explicación de la Tabla 6, se seleccionó al menos cinco concentraciones de la solución madre de calcio y se procedió de la siguiente forma: a partir de la solución estándar de calcio de 1000 mg/L se preparó una solución madre de 100 mg/L de calcio, para esto se tomó 10 mL de solución

estándar de 1000 mg/L de calcio y se aforó a 100 mL. Se realizó las siguientes diluciones:

Tabla 6. Soluciones para curva de calibración para calcio

Concentración de calcio (mg/L)	Solución estándar de calcio de 100 mg/L (Volumen en μ L)	Aforo de la solución (mL)
1,0	100	10
2,0	200	10
3,0	300	10
4,0	400	10
5,0	500	10

Una vez obtenido los estándares de calibración se aspiró cada uno sucesivamente en la llama, el equipo entregó directamente la lectura de salida digital que permitió la calibración en términos directos de concentración. Al utilizar el software se apreció la curva de calibración, valores de Absorbancia, los picos obtenidos y los resultados en mg/L.

Análisis de las muestras:

- Se enjuagó el atomizador aspirando agua que contenía 1,5 mL de HNO_3 concentrado y se colocó en autozero el instrumento, se atomizó una muestra preparada y se determinó su concentración.

Nota: Si en una muestra la concentración está fuera de la curva de calibración, elaborar las respectivas diluciones para lograr que la muestra se encuentre dentro del rango de medición.

Cálculos:

- Para determinar la concentración de calcio se aplicó la ecuación 6 donde la concentración se leyó directamente del instrumento, si la muestra se diluyó multiplicar por el factor de dilución.
- Se registró las lecturas.

$$\text{Ca (mg/L)} = \text{Lectura (mg/L)} * \text{FD}$$

Ecuación 6

Donde:

Ca = Concentración de calcio expresado en mg/L

Lectura = Lectura de salida digital del equipo en mg/L en términos directos de concentración.

FD = Factor de dilución

3.6.3.5.3. Determinación de Magnesio por Espectrofotometría de Absorción Atómica de Llama

Equipos y materiales:

- Equipo de Absorción atómica Perkin Elmer AA-100
- Compresor
- Pipetas volumétricas de 5 y 10 mL
- Micropipetas
- Matraces aforados de 10 y 100 mL
- Plancha calentadora
- Matraces aforados de 10, 25, 50, 100, 1000 mL

Reactivos:

- Ácido Nítrico concentrado libre de metales (HNO₃)
- Ácido Sulfúrico al 1 % (v/v)
- Agua destilada
- Acetileno
- Aire

Procedimiento:

Preparación de la muestra:

- La muestra de suelo se mezcló para lograr homogeneidad y secó a temperatura ambiente al menos durante 24 horas debido a que en el campo el suelo presentó diferente nivel de humedad.
- Se pasó la muestra de suelo totalmente seca a través de un tamiz de 2 mm de diámetro, se rompió los agregados del suelo y separó posible presencia de piedras para eliminación de sólidos gruesos.

Digestión ácida:

- Se pesó 5 g de muestra de suelo con una precisión de 0,1 g y se colocó en un matraz.
- Se agregó 5 mL de HNO₃ concentrado libre de metales y 20 mL de agua tipo I, se mezcló y cubrió con un vidrio de reloj. La muestra se calentó y sometió a reflujo durante 30 minutos sin que se presenten pérdidas.

Nota: si no logró obtener la digestión completa, agregar 5 mL más de HNO₃ concentrado, colocar el vidrio de reloj y someter nuevamente a reflujo durante 30 minutos. Si se forman humos marrones por la oxidación del ácido nítrico repetir el último paso una y otra vez hasta completar la reacción (5 mL de HNO₃ concentrado/30 min.) hasta lograr evaporación donde se llegue aproximadamente a 5 mL de digestado.

- Una vez completa la digestión y cuando la muestra se encontró fría, se filtró y aforó a 50 o 100 mL con agua tipo I.

Cálculos.

Preparación de la curva de calibración:

- Se seleccionó al menos 5 concentraciones de la solución madre de magnesio, y se preparó de la siguiente forma:
- A partir de la solución estándar de magnesio de 1000 mg/L, se preparó 100 mL de una solución madre de 100 mg/L de magnesio, para esto se tomó 10 mL del estándar de 1000 mg/L y aforó a 100 mL.
- En la Tabla 7 resume la preparación de las 5 diluciones para elaborar la curva de calibración:

Tabla 7. Diluciones para curva de calibración para magnesio

Concentración (mg/L)	Solución de 100 mg/L de magnesio (Volumen μ L)	Aforo de la solución (mL)
0,1	10	10
0,2	20	10
0,3	30	10
0,4	40	10
0,5	50	10

- Una vez preparado los estándares, se aspiró cada uno sucesivamente en la llama, el equipo directamente entregó la lectura de salida digital que facilitó la calibración en términos directos de concentración. Cuando se utilizó el software se pudo apreciar la curva de calibración, los picos obtenidos, absorbancias y los resultados en mg/L.

Análisis de las muestras:

- Se enjuagó el atomizador aspirando agua que contenía 1,5 mL de HNO_3 concentrado, se colocó en auto cero el instrumento, se atomizó una muestra preparada para determinar su concentración.

Nota: Si en una muestra la concentración está fuera de la curva de calibración, elaborar las respectivas diluciones para lograr que la muestra se encuentre dentro del rango de medición.

- Aplicando la ecuación 7, la concentración de magnesio se leyó directamente del instrumento, la muestra diluida se multiplicó por el factor de dilución que le correspondía:
- Se registró las lecturas.

$$\text{Mg (mg/L)} = \text{Lectura (mg/L)} * \text{FD}$$

Ecuación 7

Donde:

Mg = Concentración de magnesio en mg/L

Lectura = Lectura de salida digital del equipo en mg/L en términos directos de concentración.

FD = Factor de dilución

3.6.3.6. Determinación de cadmio en suelo por Espectrofotometría de Absorción Atómica con Horno de Grafito.

Equipos y Materiales:

- Equipo de Absorción Atómica Perkin Elmer AA-100 y equipo asociado.
- Horno de Grafito GBS
- Balanza Analítica
- Compresor
- Plancha calentadora
- Micropipetas
- Matraces aforados de 10 y 100 mL
- Pipetas volumétricas de 5 y 10 mL
- Tamiz

Reactivos:

- Ácido Nítrico concentrado libre de metales (HNO₃)
- Ácido Clorhídrico concentrado (HCl)
- Peróxido de Hidrógeno (H₂O₂ al 30 %)
- Acetileno
- Aire
- Agua destilada

Procedimiento:

Preparación de la muestra:

- La muestra de suelo se mezcló para lograr homogeneidad y secó a temperatura ambiente al menos durante 24 horas debido a que en el campo el suelo presentó diferente nivel de humedad.
- Se pasó la muestra de suelo seca a través de un tamiz de 2 mm de diámetro, se rompió los agregados del suelo y separó presencia de piedras para eliminación de sólidos gruesos.

Digestión ácida:

- Se pesó 5 g de la muestra de suelo con una precisión de 0,1 g y se colocó en un matraz.
- Se agregó 5 mL de HNO₃ concentrado libre de metales y 20 mL de agua tipo I, se mezcló y cubrió con un vidrio de reloj, se calentó la muestra y sometió a reflujo durante 30 minutos sin que se presenten pérdidas.

Nota: si no se logró obtener la digestión completa agregar 5 mL de más de HNO₃ concentrado, colocar el vidrio de reloj y someter nuevamente a reflujo durante 30 minutos. Si se forman humos marrones por la oxidación del ácido nítrico repetir el último paso una y otra vez hasta completar la reacción (5 mL de HNO₃ concentrado/30 min.) hasta lograr una evaporación donde se llegue aproximadamente a 5 mL del digestado.

- Una vez completa la digestión y cuando la muestra se encontró fría, se filtró y aforó a 50 o 100 mL con agua tipo I.
- En el equipo se seleccionó la fuente luminosa y la longitud de onda de detección siguiendo las recomendaciones del fabricante, incluido la corrección de fondo.
- Se escogió un flujo adecuado del gas Argón, se ajustó las condiciones de temperatura del horno para maximizar la sensibilidad, minimizar interferencias y mejorar su precisión, así como se acondicionó el tubo de grafito antes de iniciar con las determinaciones.

- Se atomizó un blanco que contenía agua, libre de metales con 0,2 % de HNO₃ concentrado, se encendió el instrumento y procedió con la atomización de un patrón del metal con diferentes concentraciones de cadmio para elaborar la curva de calibración [46].

Cálculos:

Preparación de la curva de calibración:

- Se seleccionó al menos cinco concentraciones de solución patrón del metal.
- Se colocó en el automuestreador el estándar en el vial de plástico y en otro vial el blanco, se identificó la localización de los viales.
- El automuestreador tomó 20 µL de las soluciones y se colocó en el horno de grafito para su análisis donde el equipo automáticamente realizó la curva de calibración en cinco puntos. El equipo entregó directamente la lectura de salida digital que permitió la calibración de la curva en términos de concentración.
- La Tabla 8 resume las concentraciones utilizadas para elaborar la curva de calibración para la determinación de cadmio medidos a una longitud de onda de 228,8 nm. A través del software se visualizó la curva de calibración, los picos obtenidos, las lecturas de Absorbancia y el resultado en µg/L.

Tabla 8. Concentraciones para curva de calibración de cadmio.

Etiqueta de muestra (No. solución estándar)	Concentración de cadmio (µg/L)
1	0,50
2	1,00
3	1,50
4	2,00
5	2,50

Análisis de las muestras:

- Se enjuagó el atomizador aspirando agua que contenía 1,5 mL de HNO₃ concentrado, se colocó en autozero el instrumento, se atomizó una muestra preparada y determinó su concentración.

Nota: Si en una muestra la concentración está fuera de la curva de calibración, elaborar las respectivas diluciones para lograr que la muestra se encuentre dentro del rango de medición.

- Mediante la ecuación 8, la concentración de cadmio se leyó directamente del instrumento en mg/L y fue necesario realizar la conversión en mg/kg aplicando la ecuación 9.
- La muestra diluida se multiplicó por el factor de dilución respectivo.
- Se registró las lecturas obtenidas.

$$Cd \text{ (mg/L)} = \frac{\text{Lectura } (\mu\text{g/L})}{1000} \quad \text{Ecuación 8}$$

$$Cd \text{ (mg/kg)} = \frac{Cd \text{ mg} * FD * Aforo * 1000}{\overline{L}} \quad \text{Ecuación 9}$$

$1000 * \text{peso de la muestra}(g)$

Donde:

Cd = Concentración de cadmio en mg/kg

FD = Factor de dilución

Nota: En todos los casos el contenido de Calcio, Fósforo, Magnesio y Cadmio se expresó en mg/kg en base seca.

3.6.4. Análisis Fisicoquímicos en almendras de cacao.

3.6.4.1. Preparación de las almendras.

Las semillas de cacao se secaron con aireación en una estufa a una temperatura de 100 °C, durante 30 minutos. Posteriormente se mantuvieron a temperatura ambiente para separar las cascarillas de las almendras. Estas se trituraron en un homogeneizador para la posterior digestión, extracción y cuantificación de los elementos metálicos a evaluar[47].

3.6.4.2. Determinación de Acidez

Equipos y materiales:

- Bureta digital Titrette
- Balanza analítica
- Licuadora E-AL- 89
- Erlenmeyer de 125, 250 mL
- Probeta de 50 y 100 mL

Reactivos:

- Fenolftaleína al 1,0 %: disolver 1 gramo de fenolftaleína p.a. con solución alcohólica al 95 % y llevar a 100 mL.
- Solución de Hidróxido de Sodio (NaOH 0,1 M)
- Agua destilada para análisis

Procedimiento para cereales, frutas y derivados:

- Se pesó 2 g de muestra en un Erlenmeyer y se diluyó con 50 mL de agua destilada libre de CO₂ neutralizada.
- Se añadió unas gotas de indicador fenolftaleína y tituló con la solución de NaOH 0.1 M hasta cuando el viraje presentó una coloración rosa persistente.

Nota: En el caso de que el producto a analizar presente una coloración intensa es recomendable pesar entre 0,5 a 1 gramo de muestra y diluir con 100 mL de agua para análisis libre de CO₂ neutralizado y continuar con el procedimiento.

Cálculos:

- Se reportó los valores como porcentaje de acidez aplicando la ecuación 10 para el caso de frutas y derivados como se indica a continuación:

$$\text{Acidez (\%)} = \frac{(M \text{ NaOH} \times \text{pmeq ácido} \times V) \times 100}{m} \quad \text{Ecuación 10}$$

Donde:

M = Molaridad de NaOH

V = Volumen en mL de NaOH utilizados

pmeq = Peso del miliequivalente del ácido

m = Peso de la muestra en gramos

3.6.4.3. Determinación de Color en almendras por método instrumental con colorímetro Sistema CIELAB (2006): Espacio de color "perceptivamente lineal".

Equipos y materiales:

- Colorímetro X-rite RM200QC
- Estufa Memmert
- Cajas Petri de vidrio
- Mortero
- Papel aluminio

Reactivos:

Agua destilada

Procedimiento:

- Se secó las muestras con una estufa a 100 °C durante 30 minutos, una vez secas se retiró la cubierta y su mucílago.
- Se tomó 5 g de las almendras secas y se trituró en un mortero.
- Se colocó la muestra en cajas Petri.
- Se tomó las lecturas de color con el colorímetro X-rite RM200QC en modo CIELAB.
- Se registró las lecturas $L^*a^*b^*$ tomadas en dos días para observar una posible variación de color.

Cálculos:

- Se registró las lecturas de Luminosidad (L^*) y las coordenadas del espacio de color a^* y b^* (Cromaticidad).

3.6.4.4. Determinación de cadmio en almendras de cacao por Espectrofotometría de Absorción Atómica con Horno de Grafito (GFAAS).**Equipo y Materiales:**

- Espectrofotómetro de Absorción Atómica Perkin Elmer AA-100
- Horno de Grafito
- Mufla
- Balanza analítica
- Plancha calentadora
- Desecador
- Crisoles
- Baño de agua

Reactivos

- Agua para análisis
- Ácido Nítrico concentrado

Procedimiento:

Preparación de la muestra (cenizas):

- Se pesó una porción de 1 a 3 g de muestra en un crisol para cenizas relativamente ancho que ha sido quemado, enfriado en un desecador y pesado una vez que alcanzó temperatura ambiente.
- Se colocó los crisoles en una plancha eléctrica (cocineta) para que la muestra de almendras empiece a quemarse a baja temperatura y con la finalidad de subir gradualmente la temperatura hasta que no desprenda humo.
- La muestra se calcinó en una mufla a una temperatura de 450 °C hasta obtener una ceniza gris clara o hasta peso constante.
- Una vez calcinada se disolvió las cenizas con agua tipo I y 1 mL de ácido nítrico concentrado libre de metales.
- Se calentó por un tiempo aproximado de 8 minutos evitando llegar a ebullición y pérdidas.
- Se filtró y aforó en balones de 25 mL, 50 mL o 100 mL según correspondía.
- Se realizó la lectura de metales pesados con el método requerido.

Cálculos:

Preparación de la curva de calibración:

- Se seleccionó al menos cinco concentraciones de solución patrón del metal.
- Se colocó en el automuestreador el estándar en el vial de plástico y en otro vial el blanco, se identificó la localización de los viales.
- El automuestreador tomó 20 μL de las soluciones, se colocó en el horno de grafito para su análisis y el equipo automáticamente realizó la curva de calibración en cinco puntos. El equipo entregó directamente la lectura de salida digital que permite la calibración de la curva en términos de concentración.
- A través del software se visualizó la curva de calibración, los picos obtenidos, las lecturas de Absorbancia y el resultado en $\mu\text{g/L}$.

Análisis de las muestras:

- Se enjuagó el atomizador aspirando agua que contiene 1,5 mL de HNO₃ concentrado, se colocó en autozero el instrumento, se atomizó una muestra preparada y se determinó su concentración.

Nota: Si en una muestra la concentración está fuera de la curva de calibración, elaborar las respectivas diluciones para lograr que la muestra se encuentre dentro del rango de medición.

- La concentración se leyó directamente del instrumento en mg/L aplicando la ecuación 11 y se realizó la conversión en mg/kg aplicando la ecuación 12.
- Si la muestra se diluyó multiplicar por el factor de dilución
- Las lecturas se registraron.

$$Cd \text{ (mg/L)} = \frac{\text{Lectura } (\mu\text{g/L}) * FD}{1000} \quad \text{Ecuación 11}$$

$$Cd \text{ (mg/kg)} = \frac{Cd \left(\frac{mg}{L}\right) * FD * Aforo * 1000}{\text{peso de la muestra (g)} * 1000} \quad \text{Ecuación 12}$$

Donde:

Cd = Concentración de cadmio en mg/kg

FD = Factor de dilución

3.7. Análisis estadístico y procesamiento de la información

3.7.1. Diseño experimental

El diseño experimental aplicado para el presente proyecto de investigación fue completamente de forma aleatoria debido a que se tomaron al azar muestras de suelo y mazorcas de cacao en una de las fincas productoras del cantón Santa Clara de la provincia de Pastaza. A través del método de muestreo en zigzag se recolectó cinco submuestras con la finalidad de obtener muestras compuestas que permitieron desarrollar un análisis experimental de cinco réplicas en el suelo donde se cultivó la

variedad fino de aroma, cinco réplicas del suelo donde se cultivó la variedad CCN51, igual número de réplicas se aplicó para los análisis de cada una de las dos variedades de cacao con el propósito de analizar experimentalmente cada una de las variables independientes y dependientes para evaluar finalmente sus resultados.

3.7.2. Análisis estadístico

Con los resultados fisicoquímicos obtenidos experimentalmente en las muestras compuestas de suelo y de las dos variedades de cacao se planificó usar como software para análisis estadístico de datos el programa Real Statistics Resource Pack y también el software Past 4.

3.7.3. Análisis de Correlación y prueba de Hipótesis

Este análisis aplicado permitió determinar la existencia de correlación entre las concentraciones de Cadmio obtenidas con las muestras de suelo, almendras de cacao y con otras variables fisicoquímicas como pH, contenido de materia orgánica, minerales del suelo como Calcio, Fósforo y Magnesio, aplicando un nivel de significancia del 95 % ($\alpha = 0,05$). Los resultados obtenidos mediante la aplicación de los coeficientes de correlación de Pearson son los más empleados en el campo científico, técnico y permitió comprobar también la aceptación o rechazo de las hipótesis así como la correlación entre sus variables [48].

3.7.4. Reglamento de la Unión Europea sobre contenido de Cadmio en cacao

De acuerdo a lo que decretó la Unión Europea en su reglamento N488/2014 (UE2014) el contenido máximo de Cadmio fue de 0,8 mg/kg, “nivel que aplicará para productos cuyo contenido de materia seca de cacao sea superior a la mitad de su peso, esta concentración máxima de Cadmio podría aplicar también para las almendras de cacao” [47].

El 12 de mayo del 2014 fue modificado el reglamento (CE) N° 1881/2006 acerca de la concentración máxima de Cadmio en diversos alimentos a través de la Comisión Técnica de Contaminantes de la Cadena Alimentaria (Contam) quien determinó inclusive un límite máximo de ingesta semanal tolerable de 2,5 ug/kg de peso corpóreo

para este metal y que fue confirmado inclusive a través de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura y mediante la Organización Mundial de la Salud (FAO/OMS). Los diversos productos derivados del cacao distribuidos para consumo humano podrían contener altas concentraciones de cadmio y al momento de determinar su contenido máximo fue importante considerar su información en distintas presentaciones como chocolate o como cacao en polvo para su comercialización por lo que resultó necesario establecer diversos niveles máximos para artículos con distinto contenido de cacao como se indica en la Tabla 9 y que se están aplicando a partir del 1 de enero 2019 [49].

Tabla 9. Niveles máximos de Cadmio en productos de cacao a partir de 1 de enero 2019.

Especificaciones	Límites permisibles de Cadmio (mg/kg) a partir de 1 enero 2019
Chocolate con leche < 30 % de materia seca total de cacao.	0,10
Chocolate con un contenido de materia seca total de cacao < 50 %, chocolate con leche con un contenido de materia seca total de cacao \geq 30 %.	0,30
Chocolate con un contenido de materia seca total de cacao > 50 %.	0,80
Cacao en polvo distribuido al consumidor final o como ingrediente en cacao en polvo edulcorado vendido al consumidor final (chocolate para beber).	0,60

Tomado de la Norma Europea [49].

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el desarrollo de la presente investigación y la interpretación de sus resultados, se realizó tomando en consideración los lineamientos establecidos en cada uno de los objetivos específicos del plan de titulación. Consta de tres partes fundamentales, la primera se relaciona con la caracterización del tipo de suelo donde se cultivó las dos variedades de cacao en la zona de Santa Clara provincia de Pastaza, la segunda parte describió los resultados obtenidos con el contenido de Cadmio en las variedades de cacao muestreados como son CCN51, Fino de Aroma y finalmente se determinó la correlación que podría existir entre los diferentes parámetros físico-química de los dos tipos de suelo con los niveles del metal pesado mediante un análisis estadístico de correlación que permitió aceptar o rechazar la hipótesis nula o alternativa.

4.1. Caracterización Físicoquímica de los tipos de Suelo.

Las muestras de suelo recolectadas en la zona de estudio fueron homogenizadas previamente para obtener muestras compuestas para el desarrollo de los diferentes análisis con la finalidad de obtener una muestra compuesta de las diferentes subzonas de estudio.

En la tabla N° 10 se puede apreciar el resumen de los resultados promedios obtenidos con su desviación estándar de cada uno de los análisis físico-químicos para una población de $n = 5$ muestras de suelo donde se cultivan las dos variedades de cacao CCN51 y Fino de Aroma.

Tabla 10. Caracterización fisicoquímica de los suelos muestreados para el cultivo de las dos variedades de cacao.

Parámetros	Suelo CCN51	Suelo FA
Potencial de Hidrógeno (pH)	5,10 ± 0,12	5,22± 0,04
Materia Orgánica (%)	5,52 ± 1,73	2,26 ± 0,05
Arena (%)	86,40 + 0,55	86,20 + 0,45
Limo (%)	10,40 ± 0,89	10,60 ± 0,55
Arcilla (%)	3,40 ± 0,55	3,40 ± 0,55
Calcio (mg/kg)	334 ± 65	717 ± 244
Magnesio (mg/kg)	12,36 ± 5,24	6,30 ± 1,11
Fósforo (mg/kg)	2221 ± 628	2656 ± 543
Cadmio (mg/kg)	0,11 + 0,01	0,24 + 0,21

Se muestra el promedio para n=5 y la incertidumbre se expresa como desviación estándar.

Suelo CCN-51: Suelo donde se cultivó la variedad de cacao CCN-51

Suelo FA: Suelo donde se cultivó la variedad Fino de Aroma

4.1.1. Determinación Potencial de Hidrógeno (pH)

Los valores de pH obtenidos para cada una de las cinco muestras de suelo donde se cultivan las dos variedades de cacao determinaron que el valor promedio de pH de suelo de la variedad Fino de Aroma fue de 5,22 con una desviación estándar $S = 0,04$ en relación al valor promedio de pH del suelo de la variedad CCN51 que presentó un valor de 5,10 con una desviación estándar $S = 0,12$. No se encontró diferencia significativa en el pH de ambos suelos con un nivel de confianza del 95%.

Ambos suelos se encontraron en la categoría “Moderadamente Ácida” de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-021-Semarnat-2000 que presentó un rango de pH entre 5,1 – 6,5 [50] y en relación con los estudios realizados en otros países como en algunas regiones de las zonas norte, sur y zona central del Perú, el pH de sus suelos fluctuó en categorías que van desde fuertemente ácidos hasta moderadamente alcalinos [51].

4.1.2. Análisis de Materia Orgánica (MO)

La determinación de materia orgánica en el suelo de acuerdo a los resultados obtenidos en la Tabla 10 demostraron valores promedio de las cinco muestras compuestas, en el caso de la variedad CCN51 presentó un valor de 5,52% de MO con una desviación

estándar $S = 1,73$, este valor fue mayor que la cantidad promedio de MO obtenida en las muestras de suelo donde se cultiva la variedad de cacao Fino de Aroma donde se obtuvo un valor de 2,26% de MO y a diferencia del suelo de ésta última variedad la variabilidad de los resultados obtenidos fue menor considerando una desviación estándar $S = 0,05$. El contenido de MO en los suelos estudiados se evaluó mediante la Norma Oficial Mexicana, el cual clasificó al suelo de la variedad CCN51 con un contenido de Carbono Orgánico “clase alta” que fluctuó en un rango entre 3,6% – 6,0% de MO en relación al suelo de la variedad Fino de Aroma que se encontró en la categoría “clase media” la misma que esta entre 1,6% a 3,5% de MO aplicable para suelos minerales [50].

Se han reportado estudios realizados en suelos de regiones agrícolas como Tumbes, Piura, San Martín, El Dorado, Mariscal, Junín, etc. en el Perú donde el contenido de materia orgánica presentó también valores altos que influyen en la calidad de sus suelos para el cultivo de las diferentes variedades de cacao de la zona [51]

4.1.3. Determinación de Textura

En base a los resultados alcanzados en los análisis fisicoquímicos de suelos estudiados en el sector de Santa Clara, en la Tabla 10 se registraron también los porcentajes promedio de la clasificación de textura que presentaron las muestras compuestas de los suelos donde se cultivaron las dos variedades de cacao. Para las cantidades de arena, limo y arcilla no se encontró diferencia significativa con un 95% de confianza en ambos suelos estudiados, esto debido a que los cultivos se encontraron en la misma zona de muestreo tal como se indica en la figura 3 (Zona, parcelas y puntos de muestreo).

Para relacionar la textura de los suelos se empleó la Norma Oficial Mexicana NOM-021-Semarnat-2000, y se encontró que estos suelos correspondían a una clasificación “Areno Francosa”[50].

En base a los resultados de textura obtenidos y de acuerdo a estudios realizados en localidades de Jacintillo y Ramal de Aspuzana (Perú), una de las variedades que se cultivan en estas zonas fue el cacao CCN51 donde los análisis de granulometría utilizados para determinar la textura del suelo presentó una clasificación franco-

arcilloso, arcillo-arenoso para Jacintillo y una clasificación de textura franco-limoso y arcillo-limosos para la zona de Aspuzana [27].

4.1.4. Análisis de Minerales

El contenido de calcio en el suelo donde se cultivó la variedad CCN51 fue menor del 50 % que el encontrado en el suelo donde se cultivó la variedad fino de aroma. En los dos casos las concentraciones de calcio presentaron variación y al relacionar sus valores con la Norma Oficial Mexicana se interpretaron como una “clase alta” para el micronutriente cuando presentan concentraciones de Calcio mayores a 10 mg/kg.

El contenido de magnesio en el suelo donde se cultivó la variedad CCN51 fue el doble que el encontrado en el suelo donde se cultivó la variedad Fino de Aroma. Para ambos suelos el contenido de magnesio se encontró en la categoría “clase alta” con concentraciones superiores a los 3,0 mg/kg de acuerdo a lo indicado en la Norma Oficial Mexicana.

En lo que corresponde al contenido de fósforo en el suelo donde se cultivó ambas variedades de cacao no se encontró diferencias significativas para un 95% de confianza y corresponde a la categoría “clase alta” ya que sus valores son superiores a 30 mg/kg de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-021-Semarnat-2000 [50].

Estudios realizados en una finca cacaotera del Municipio de Yaguará en la localidad de Huila al sur de Colombia, determinó que las concentraciones de calcio, fósforo y magnesio entre otros minerales presentaron niveles que los clasificó también como suelos con contenido de micronutrientes “clase alta” muy importantes para el desarrollo agrícola donde se cultivan las diferentes variedades de cacao [52].

4.1.5. Determinación de cadmio en el suelo

Los resultados obtenidos en la determinación de este elemento contaminante se resumen en la Tabla 10, los valores de concentración promedio en los análisis realizados de las muestras compuestas de suelo determinó que la variedad CCN51 alcanzó un valor promedio de 0,11 mg/kg con una desviación estándar $S = 0,01$, mientras que para el suelo donde se cultivó la variedad Fino de Aroma, la

concentración promedio de cadmio fue de 0,24 mg/kg con una desviación estándar de 0,21. Como se puede apreciar, los resultados demostraron que los niveles promedio de Cadmio en el suelo de la variedad fino de aroma aproximadamente duplica el valor registrado por la segunda variedad analizada, sin embargo, éstos niveles para este elemento tóxico se encuentra dentro del valor permisible de Cadmio según la Norma Oficial Mexicana NOM-021-Semarnat-2000 de 0,35 mg/kg para una “clase o nivel normal” de suelo, mientras que la “clasificación de peligroso” son para suelos que presentan un mayor nivel de toxicidad y cuando superan una concentración de 3,0-5,0 mg/kg [50].

Si relacionamos también los niveles de Cadmio en los suelos donde se cultivaron las dos variedades de cacao muestreado, tampoco superan los niveles indicados por la Agencia del Medio Ambiente de los Estados Unidos (USEPA) quienes señalan un valor de 0,43 mg/kg de Cadmio en suelos agrícolas como nivel crítico, mientras que la Unión Europea (UE) mediante la directiva de Kelley estableció un nivel máximo entre 0 a 1 mg/kg para suelos no contaminados [53].

Investigaciones realizadas en otros países como en el caso de algunas regiones del norte y este de Honduras donde se cultivan distintas variedades de cacao, presentaron resultados similares a los análisis realizados en la presente investigación y donde las muestras de suelos arrojan concentraciones promedio de 0,25 mg/kg con una desviación estándar $S = 0,02$ lo que permite clasificarlos como suelos no contaminados [44].

4.2. Caracterización Físicoquímica en variedades de cacao CCN51 y Fino de Aroma

En la Tabla 11 se describe los resultados obtenidos de los diversos análisis físicoquímicos obtenidos en las dos variedades de cacao muestreados en la zona de Santa Clara.

Tabla 11. Caracterización fisicoquímica de las almendras para las dos variedades de cacao muestreadas.

Parámetros		CCN51	FA
Acidez (%)		0,39 ± 0,13	0,23 ± 0,05
Color CIELab	Coordenada L*	35,34 ± 1,28	33,72 ± 0,72
	Coordenadas a*	11,01 ± 0,40	10,39 ± 0,35
	Coordenadas b*	-0,89 ± 0,61	0,14 ± 0,70
Cadmio (mg/kg)		0,05 ± 0,014	0,402 ± 0,27

Se muestra el promedio para n=5 y la incertidumbre se expresa como desviación estándar.

CCN51: Variedad de cacao CCN51.

FA: Variedad de cacao Fino de Aroma.

4.2.1. Determinación de Acidez

De acuerdo a los resultados obtenidos en la Tabla 11 no se encontró diferencia significativa para la acidez de ambas variedades con un 95% de confianza. En ambos casos los valores estuvieron por debajo de lo encontrado por otros investigadores [54], que encontraron valores entre 0,8% hasta 3,7% de acidez en diversos genotipos de cacao incluida las variedades estudiadas en el presente proyecto.

4.2.2. Determinación de Color por Colorimetría Sistema CIELab (1976): Espacio de Color perceptivamente Lineal

Las coordenadas CIE L* a* b* obtenidas de las dos variedades de cacao se graficaron en el espacio de color como se demostró en la Figura 4 y donde se encontró que el color de ambos puntos se encuentra superpuestos.

Como se indicó en la Tabla 11 en cuanto al color de ambas variedades no se encontró diferencia significativa con un 95% de confianza para las coordenadas CIE L* a* b*.

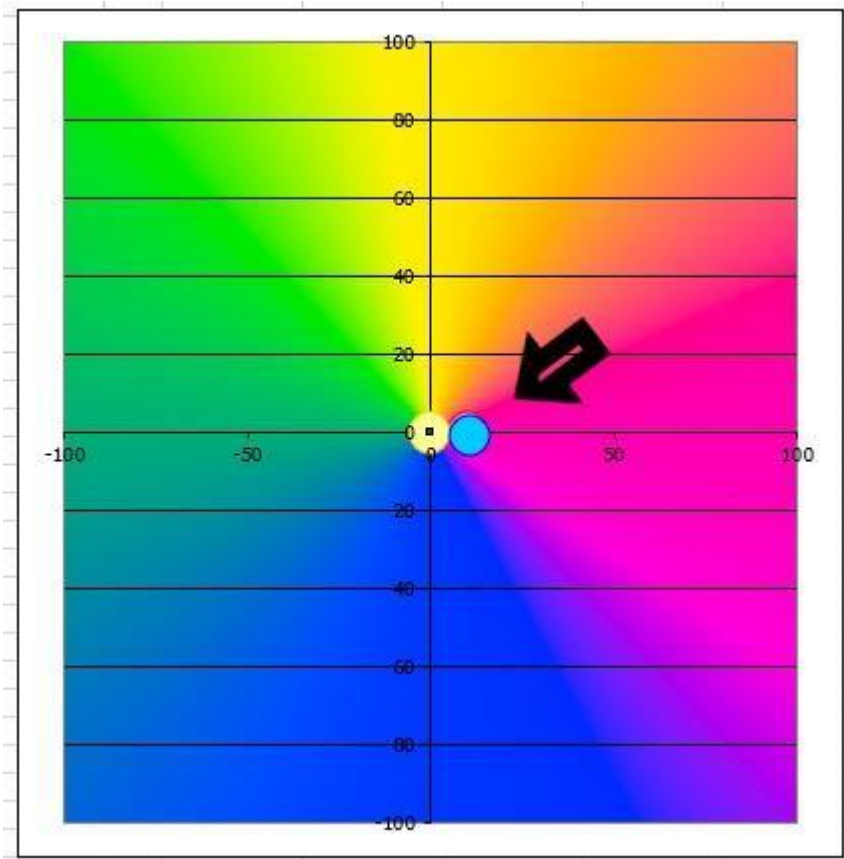


Figura 4. Ubicaciones coordenadas de color CIELab de las almendras de ambas variedades de cacao.

El color y sus coordenadas podrían variar con el tiempo y depende del estado de fermentación y maduración de las semillas de cacao. Esta variación de color se debe a la presencia de Flavonoles entre los que se puede mencionar las Procianidinas, Catequinas, Epicatequinas y debido a otros compuestos polifenólicos del cacao como las Antocianidinas , compuestos orgánicos que imparten el color púrpura característico de las almendras sin fermentar como mencionan estudios desarrollados por investigadores en temas relacionados con el espacio de color CIELab en almendras de cacao [55].

4.2.3. Determinación de cadmio en cacao

El contenido de Cadmio encontrado en la variedad Fino de Aroma fue superior al encontrado en la variedad CCN51, sin embargo, en ambos casos los niveles estuvieron por debajo de los valores máximos establecidos por la Unión Europea para cacao que es 0,8 mg/kg de acuerdo a lo establecido en el Reglamento modificado (UE) No. 488/2014 de la Comisión [49].

En Ecuador también existen estudios relacionados sobre análisis de Cadmio en almendras de cacao principalmente en la zona de Flavio Alfaro ubicado en la provincia de Manabí donde se tomaron muestras de cuatro fincas de las cuales dos de ellas presentaron concentraciones de 0,26 mg/kg, la tercera finca con un nivel de Cadmio de 0,56 mg/kg y la cuarta finca con el nivel más bajo de 0,146 mg/kg, todas las fincas cacaoteras no superaban el nivel máximo establecido por la Unión Europea de 0,8 mg/kg que entró en vigencia desde enero 2019 [56].

Estudios realizados por otros investigadores en distintas regiones cacaoteras de Sudamérica como en el caso de las zonas de Tumbes, Piura, Amazonas, Junín, Cusco, San Martín, Ucayali, Huánuco y entre otras regiones del Perú, demostraron variabilidad en los niveles de Cadmio en las almendras de cacao que en su mayoría presentaron una concentración promedio de $0,91 \pm 0,48$ mg/kg y que superaban los valores permisibles establecidos por la Unión Europea lo que inclusive podría representar un riesgo para las exportaciones de sus productos [57].

4.3. Correlación del tipo de suelo y su concentración de Cadmio con las dos variedades de cacao.

4.3.1. Correlación entre el suelo y las almendras de cacao.

En las tablas 12 y 13 se muestran las matrices de correlación existentes entre los parámetros fisicoquímicos de las muestras estudiadas. En las matrices superiores se evaluó la correlación de las diferentes variables mediante los p-valores obtenidos, aplicando un análisis estadístico a través de los coeficientes de correlación de Pearson los mismos que se encuentran resaltados con fondo gris, mientras que en las matrices inferiores se evaluó los Coeficientes de Correlación R de las diferentes variables que se encuentran detalladas con fondo blanco.

Estudios realizados por otros investigadores en plantaciones de cacao en diferentes zonas de Perú también realizaron una matriz de correlación similar a la empleada en este trabajo [31].

Tabla 12. Matriz inferior de correlación de parámetros fisicoquímicos entre el suelo y almendras de cacao de la variedad CCN51 y matriz superior de p-valores de test de correlación entre estos parámetros a un nivel de confianza de 95 %.

	% MO	pH	Ca	P	Mg	Cd suelo	Acidez	Cd cacao
% MO		0,4341	0,623	0,30333	0,29229	0,16131	0,29565	0,58287
pH	0,46139		0,77862	0,49908	0,48628	0,53672	0,24946	0,96355
Ca	0,30069	0,17476		0,74772	0,81582	0,42482	0,87887	0,39397
P	0,58192	-0,40476	0,19947		0,05311	0,29495	0,78311	0,91544
Mg	-0,59263	0,41578	-0,14516	-0,87328		0,6644	0,77473	0,43958
Cd suelo	-0,73013	-0,37268	-0,46963	-0,59004	0,26678		0,98191	0,54968
Acidez	-0,58936	-0,63526	-0,095278	0,17119	0,17787	-0,014205		0,20512
Cd cacao	-0,33393	-0,028632	0,49731	-0,06646	0,45655	-0,36173	0,68154	

Tabla 8. Matriz de correlación de parámetros fisicoquímicos entre el suelo y almendras de cacao de la variedad Fino de Aroma y matriz superior de p-valores de test de correlación entre estos parámetros a un nivel de confianza de 95 %.

	% MO	pH	Ca	P	Mg	Cd suelo	Acidez	Cd cacao
% MO		0,49503	0,90769	0,1521	0,48841	0,65942	0,86163	0,46398
pH	0,40825		0,1782	0,68254	0,28914	0,0023286	0,15837	0,19522
Ca	-0,072566	0,711		0,92889	0,032361	0,18953	0,095238	0,50226
P	-0,7408	-0,25202	0,055881		0,51741	0,81253	0,74498	0,77439
Mg	-0,41395	0,5957	0,90926	0,38908		0,2312	0,11819	0,57228
Cd suelo	0,27084	0,98442	0,69845	-0,14778	0,65402		0,1261	0,23143
Acidez	-0,10889	0,73351	0,81174	-0,20167	0,78189	0,77203		0,88156
Cd cacao	0,43514	0,69224	0,40204	0,17814	0,34277	0,65378	0,093161	

4.4. Interpretación de matrices y confirmación de Hipótesis

Para comprobar la factibilidad de las hipótesis planteadas en el presente proyecto de investigación, se aplicó un estudio estadístico a través de un análisis de coeficientes de correlación de Pearson como se muestra en las Tablas 12 y 13, donde los p-valores obtenidos presentan valores que superan el “nivel de significancia $\alpha = 0,05$ ” lo que demuestran que no existe correlación entre las variables, excepto entre el pH con la concentración de cadmio en el suelo como uno de los factores que influyen en la movilidad de los metales pesados en el suelo [28] y entre las concentraciones de calcio y magnesio de acuerdo a los resultados obtenidos (Tabla 13).

Por otro lado, para interpretar los coeficientes de correlación R se consideró que estos valores varían desde -1 hasta 1 y se aplicó el principio indicado en la Tabla 14 para establecer un criterio de correlación [48].

Tabla 9. Interpretación de los coeficientes de correlación de Pearson.

Intervalo de valores de r_{xy}		Criterio de correlación
Desde	Hasta	
$\pm 0,00$	$\pm 0,09$	Correlación nula
$\pm 0,10$	$\pm 0,19$	Correlación muy débil
$\pm 0,20$	$\pm 0,49$	Correlación débil
$\pm 0,50$	$\pm 0,69$	Correlación moderada
$\pm 0,70$	$\pm 0,84$	Correlación significativa
$\pm 0,85$	$\pm 0,95$	Correlación fuerte
$\pm 0,96$	$\pm 1,00$	Correlación perfecta

Fuente (H. Lalinde et al., 2018).

4.5. Correlación de variables

Para la variedad CCN51 (Tabla 12) y de acuerdo con el criterio de correlación indicado en la Tabla 13 se encontraron las siguientes correlaciones:

Se alcanzó correlación inversa nula entre la concentración calcio con acidez, entre pH del suelo con concentración de cadmio en cacao, entre la concentración de fósforo con concentración de cadmio y entre acidez con concentración de cadmio en el suelo.

Se obtuvo correlaciones directas muy débiles entre el pH del suelo y la concentración de calcio, entre acidez con las concentraciones de fósforo y magnesio, entre las concentraciones de calcio con la concentración de fósforo y correlación inversa muy débil entre la concentración de calcio y la concentración de magnesio.

Se halló correlación directa débil entre el % MO con el pH del suelo y con la concentración de calcio, entre pH del suelo con concentración de magnesio, entre la concentración de calcio con la concentración de cadmio en cacao, entre concentración de magnesio con la concentración de cadmio en el suelo y con el cadmio del cacao. En la misma tabla se encontró correlación inversa débil entre el % MO con cadmio en cacao, entre el pH con la concentración de fósforo y con la concentración de cadmio en el suelo, entre la concentración de calcio con la concentración de cadmio en el suelo y entre la concentración de cadmio en el suelo con la concentración de cadmio en cacao.

También se alcanzó una correlación directa moderada entre el % MO con la concentración de fósforo, entre acidez con la concentración de Cadmio en cacao, existe también una correlación inversa moderada entre % MO con la concentración de magnesio y acidez, entre el pH del suelo con acidez y entre la concentración de fósforo con la concentración de cadmio en el suelo.

Se halló una correlación inversa significativa entre el % MO y la concentración de cadmio en el suelo.

Finalmente, de acuerdo a las correlaciones de esta tabla se alcanzó una correlación inversa fuerte entre las concentraciones de fósforo y magnesio.

Para la variedad fino de aroma (Tabla 13) se consiguieron las siguientes correlaciones: correlación inversa nula entre la concentración calcio con % MO y correlación directa nula entre la concentración de fósforo con la concentración de calcio y entre acidez con cadmio en cacao.

Se alcanzó una correlación directa muy débil entre la concentración de fósforo con la concentración de cadmio en cacao y correlación inversa muy débil entre acidez con % MO y entre la concentración de fósforo con la concentración de cadmio en el suelo.

Se halló una correlación directa débil entre pH del suelo con % MO, entre la concentración de fósforo con la concentración de magnesio, entre la concentración de cadmio en cacao con la concentración de magnesio y correlación inversa débil entre la concentración de fósforo con pH del suelo y acidez.

Se registró una correlación directa moderada entre el pH del suelo con las concentraciones de magnesio y cadmio del cacao, entre cadmio del suelo con las concentraciones de calcio y magnesio, correlación entre la concentración de cadmio de cacao con la concentración de cadmio en el suelo. También se encontró estudios relacionados con la correlación directa entre el pH del suelo y la concentración de cadmio con otros autores [53].

Se encontró una correlación directa significativa entre el pH con la concentración de calcio en el suelo y acidez, entre las concentraciones de calcio, magnesio con acidez y entre cadmio del suelo con acidez. Una correlación inversa significativa entre el % MO con la concentración de fósforo.

Existe una correlación directa fuerte entre las concentraciones de calcio y magnesio. Finalmente se halló una correlación directa perfecta entre el pH y la concentración de cadmio en el suelo.

Resultados de otras investigaciones demostraron una correlación directa significativa entre el cadmio del suelo con el pH y minerales, entre ellos los analizados en el presente trabajo [51].

CAPÍTULO V

5. Conclusiones y recomendaciones

5.1. Conclusiones

- En el presente proyecto de investigación se alcanzó los objetivos establecidos sobre la incidencia del suelo para la bioacumulación de cadmio en la almendra de cacao (*Theobroma cacao* L.) en dos variedades Fino de Aroma y CCN51 cultivadas en el cantón Santa Clara Provincia de Pastaza.
- De acuerdo a los resultados obtenidos se puede indicar que los suelos analizados en el presente estudio reflejaron apropiadas características fisicoquímicas para el cultivo de las dos variedades de cacao con valores de pH para suelos con características ácidas, materia orgánica con niveles aceptables, textura característica de un suelo propio de una región tropical como el de la Amazonía Ecuatoriana.
- El contenido de cadmio en el suelo donde se cultivó la variedad Fino de Aroma fue mayor que el encontrado en el suelo donde se cultivó la variedad CCN51, sin embargo, en todos los casos estos valores se encontraron dentro de los niveles permitidos en las normas consultadas.
- Para las muestras seleccionadas, el contenido de cadmio en cacao de las dos variedades cultivadas en Santa Clara no superó los niveles establecidos por la Unión Europea, por lo tanto, las dos variedades resultaron aptas para su consumo sin que signifique un posible riesgo para la salud humana lo que posibilita inclusive su comercialización a mercados extranjeros.
- En base a los resultados obtenidos con el análisis estadístico de correlación de Pearson, la concentración de cadmio en las almendras de las dos variedades de cacao muestreadas no está correlacionada con la concentración de cadmio de los suelos.
- Se encontró que en las muestras seleccionadas de cacao existe una variedad que tiene mayor tendencia en acumular cadmio en sus almendras en relación con la otra variedad, sin embargo, mantienen sus concentraciones dentro del nivel máximo que indica la UE.

5.2. Recomendaciones:

- Se recomienda realizar otro proyecto de investigación para correlacionar la incidencia del cadmio en suelo con la presencia de cadmio en las almendras de cacao de las dos variedades de cacao a diferentes profundidades del suelo.
- Analizar una posible correlación entre la concentración de cadmio en el suelo con los diferentes tejidos vegetales del cultivo de cacao, entre ellos el tallo, las hojas y con las mazorcas.
- Incluir en futuros trabajos de investigación relacionados a este proyecto a otras variedades de cacao que se cultivan en la misma zona de Santa Clara y analizar la presencia de otros metales pesados.
- Socializar los resultados obtenidos con los productores de cacao de la zona de Santa Clara en la provincia de Pastaza a través del Ministerio de Agricultura con el propósito de mantener buenas prácticas agrícolas para evitar una posible contaminación de los suelos por el uso excesivo de fertilizantes o fungicidas en sus cultivos como principales factores de contaminación.

5.3. Bibliografía

- [1] N. Engbersen *et al.*, “Cadmium accumulation and allocation in different cacao cultivars,” *Sci. Total Environ.*, vol. 678, pp. 660–670, 2019, doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.05.001.
- [2] D. Argüello, E. Chavez, F. Laurysen, R. Vanderschueren, E. Smolders, and D. Montalvo, “Soil properties and agronomic factors affecting cadmium concentrations in cacao beans: A nationwide survey in Ecuador,” *Sci. Total Environ.*, vol. 649, pp. 120–127, 2019, doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.08.292.
- [3] C. Lewis, A. M. Lennon, G. Eudoxie, and P. Umaharan, “Genetic variation in bioaccumulation and partitioning of cadmium in *Theobroma cacao* L.,” *Sci. Total Environ.*, vol. 640–641, pp. 696–703, 2018, doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.05.365.
- [4] E. Chavez *et al.*, “Concentration of cadmium in cacao beans and its relationship with soil cadmium in southern Ecuador,” *Sci. Total Environ.*, vol. 533, pp. 205–214, 2015, doi: 10.1016/j.scitotenv.2015.06.106.
- [5] F. Mite, M. Carrillo, and W. Durando, “Avances del monitoreo de presencia de cadmio en almendras de cacao, suelos y aguas de Ecuador,” *Xii Congr. Ecuatoriano la Cienc. del suelo*, pp. 17–19, 2010.
- [6] S. Acosta and P. Pozo, “Determinación de cadmio en la almendra de cacao (*Theobroma cacao*) de cinco fincas ubicadas en la vía Santo Domingo - Esmeraldas, mediante espectrofotometría de absorción atómica con horno de grafito,” *infoANALÍTICA*, vol. 1, no. 1, pp. 69–82, 2013.
- [7] P. N. de Desarrollo, “‘Plan Nacional de Desarrollo 2017-2021 Toda una Vida’ de Ecuador. Observatorio Regional de Planificación para el Desarrollo,” 2021. [Online]. Available: <https://observatorioplanificacion.cepal.org/es/planes/plan-nacional-de-desarrollo-2017-2021-toda-una-vida-de-ecuador>. [Accessed: 12-Jun-2021].
- [8] L. M. Perez E, Alvarez C., “Caracterización física y química de los granos de cacao fermentados secos y tostados,” 2012.
- [9] A. Gramlich *et al.*, “Cadmium uptake by cocoa trees in agroforestry and monoculture systems under conventional and organic management,” *Sci. Total Environ.*, vol. 580, pp. 677–686, 2017, doi: 10.1016/j.scitotenv.2016.12.014.
- [10] Anecacao del Ecuador, “El cacao ecuatoriano y su historia.,” 2015. [Online].

- Available: [http://www.anecacao.com/es/quienes-somos/historia del cacao.html](http://www.anecacao.com/es/quienes-somos/historia-del-cacao.html). [Accessed: 09-Feb-2020].
- [11] G. Guerrero, “El Cacao ecuatoriano,” 2018. [Online]. Available: <https://www.revistalideres.ec/lideres/cacao-ecuatoriano-historia-empezo-siglo.html>. [Accessed: 09-Feb-2020].
- [12] F. del Valle, “Ecuador tiene dos tipos de cacao,” 2016. [Online]. Available: <https://fortalezadelvalle.org/ecuador-tiene-dos-tipos-de-cacao/>. [Accessed: 16-Feb-2020].
- [13] E. Anecacao, “El Cacao del Ecuador,” 2015. [Online]. Available: <http://www.anecacao.com/es/quienes-somos/cacao-nacional.html>. [Accessed: 19-Feb-2020].
- [14] J. Guzmán, “Cacao CCN51 se reconoce como de alta productividad,” 2015. [Online]. Available: <https://www.eluniverso.com/2005/07/19/0001/9/2D498EAC6A2C48F5B794AFA40F1F83E0.html>. [Accessed: 20-Feb-2020].
- [15] I. Morán, “Factibilidad de la producción y comercialización del cacao,” 2018. [Online]. Available: <http://repositorio.iaen.edu.ec/handle/24000/410>. [Accessed: 20-Feb-2020].
- [16] M. Codini, F. Díaz, M. Ghirardi, and I. Villavicencio, “Obtención y utilización de la manteca de cacao en la fabricación de chocolates.,” *Rev. Investig. Académica Inven.*, vol. 7, no. 0329–3475, pp. 143–148, 2004.
- [17] E. O. Afoakwa, A. Paterson, M. Fowler, and A. Ryan, “Flavor formation and character in cocoa and chocolate: A critical review,” *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, vol. 48, no. 9, pp. 840–857, Oct. 2008, doi: 10.1080/10408390701719272.
- [18] J. M. B. Durá, Sonia Esteve, Edgar Perez ESteve, Ana Fuentes López, “Estudio del valor nutricional y funcional de cacao en polvo con diferentes grados de alcalinización,” *Tesis Maestría, Dpto. Tecnología de Alimentos, Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, España.*, 2018. [Online]. Available: <https://riunet.upv.es/handle/10251/65834>. [Accessed: 21-Feb-2020].
- [19] M. C. L. Clímaco Álvarez, Evelina Pérez, “Caracterización física y química de almendras de cacao fermentadas, secas y tostadas cultivadas en la región de Cuyagua, estado Aragua,” 2017.

- [20] M. Montaña Rea, D. X. Arosemena Navas, and H. Medrano, “Formulación de un proyecto en producción de cacao (*Theobroma cacao* L.) en la costa ecuatoriana.” 2011.
- [21] R. Larcher, “Agricultura tropical Ecuador: El Cacao Ecuatoriano,” 2010. [Online]. Available: <http://agricultura-tropical-ecuador.blogspot.com/2010/11/el-cacao-ecuatoriano.html>. [Accessed: 27-Feb-2020].
- [22] C. Vicuña, “Análisis de la importancia que tiene el Biocomercio para la exportación de cacao ecuatoriano región costa.,” *Trab. Titulación*, p. 1, 2018.
- [23] E. Productor, “La productividad de cacao en la Amazonía y su aporte al mundo.,” 2014. [Online]. Available: <https://elproductor.com/noticias/la-productividad-de-la-amazonia-y-su-aporte-al-mundo/>. [Accessed: 28-Feb-2020].
- [24] F. Sánchez, J. Zambrano, J. Vera, R. Rommel, F. Gárces, and G. Vásconez, “Productividad de clones de cacao tipo nacional en una zona del bosque tropical de la provincia de Los Ríos,” *CienciaTecnología*, vol. 7, no. 1, pp. 33–41, 2013.
- [25] A. del Ecuador, “Floración, fructificación y cosecha del cacao en la Amazonía.,” 2018. [Online]. Available: <http://www.anecacao.com/index.php/es/servicios/articulos-tecnicos/floracion-fructificacion-y-cosecha-del-cacao.html>. [Accessed: 29-Feb-2020].
- [26] H. A. Huamaní-Yupanqui, M. Á. Huauya-Rojas, L. G. Mansilla-Minaya, N. Florida-Rofner, and G. M. Neira-Trujillo, “Presencia de metales pesados en cultivo de cacao [*Theobroma cacao* L.] orgánico,” *Acta Agron.*, vol. 61, no. 4, pp. 339–344, 2012.
- [27] E. Tantalean Pedraza and M. Á. Huauya Rojas, “Distribución del contenido de cadmio en los diferentes órganos del cacao CCN-51 en suelo aluvial y residual en las localidades de Jacintillo y Ramal de Aspuzana,” *Rev. Investig. Agroproducción Sustentable*, vol. 1, no. 2, p. 69, Aug. 2017, doi: 10.25127/aps.20172.365.
- [28] P. Méndez, G. Ramírez, A. César, R. Gutiérrez, D. Alma, and P. García, “Plant Contamination and Phytotoxicity Due To Heavy Metals From Soil and Water,” *Trop. Subtrop. Agroecosystems*, vol. 10, no. 1, pp. 19–44, 2008.
- [29] O. Abollino, M. Aceto, M. Malandrino, E. Mentasti, C. Sarzanini, and F.

- Petrella, “Heavy metals in agricultural soils from Piedmont, Italy. Distribution, speciation and chemometric data treatment,” *Chemosphere*, vol. 49, no. 6, pp. 545–557, Nov. 2002, doi: 10.1016/S0045-6535(02)00352-1.
- [30] C. A. Lucho-Constantino, M. Álvarez-Suárez, R. I. Beltrán-Hernández, F. Prieto-García, and H. M. Poggi-Varaldo, “A multivariate analysis of the accumulation and fractionation of major and trace elements in agricultural soils in Hidalgo State, Mexico irrigated with raw wastewater,” *Environ. Int.*, vol. 31, no. 3, pp. 313–323, Apr. 2005, doi: 10.1016/J.ENVINT.2004.08.002.
- [31] E. Arévalo-Gardini, C. O. Arévalo-Hernández, V. C. Baligar, and Z. L. He, “Heavy metal accumulation in leaves and beans of cacao (*Theobroma cacao* L.) in major cacao growing regions in Peru,” *Sci. Total Environ.*, vol. 605–606, no. 2017, pp. 792–800, 2017, doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.06.122.
- [32] J. A. Casteblanco, “Técnicas de remediación de metales pesados con potencial aplicación en el cultivo de cacao,” *La Granja*, vol. 27, no. 1, pp. 21–35, 2018, doi: 10.17163/lgr.n27.2018.02.
- [33] G. Sanchez Barrón, “Ecotoxicología del Cadmio: Riesgo para la Salud de la Utilización de Suelos Ricos en Cadmio,” *Fac. Farm. Univ. Complut. Trab.*, p. 23, 2016.
- [34] A. Ramirez, “Toxicología del cadmio. Conceptos actuales para evaluar exposición ambiental u ocupacional con indicadores biológicos,” *Red Rev. Cient. Am. latica y el caribe, españa y Port.*, vol. 63, no. 1, pp. 51–64, 2012, doi: ISSN: 1025-5583.
- [35] B. Pernía *et al.*, “Biomarcadores de contaminación por Cadmio en plantas,” 2008.
- [36] P. García, P. Esmeralda, A. Cruz, and M. Isabel, “Los efectos del cadmio en la salud,” 2012.
- [37] T. Otzen and C. Manterola, “Técnicas de Muestreo sobre una Población a Estudio,” *Int. J. Morphol.*, vol. 35, no. 1, pp. 227–232, 2017, doi: 10.4067/S0717-95022017000100037.
- [38] N. Mañay, G. Clavijo, and L. Díaz, “Absorción atómica con horno de grafito,” 2015.
- [39] G. C. Chire, P. A. Verona, and J. H. Guzmán, “Color changes during post harvest of peruvian cocoa beans from Piura,” 2016.
- [40] V. Romero, “Características Físicoquímicas y Colorimétricas de licores de

- cacao obtenidos de los clones TCS 06, FEAR 5 y FSV 41,” no. 1, pp. 40–59, 2019.
- [41] L. E. García Reyes, “Plan de desarrollo y ordenamiento territorial de la provincia de Pastaza 2019-2023,” *J. Chem. Inf. Model.*, vol. 53, no. 9, pp. 1689–1699, 2019.
- [42] K. Andrade Linarez, I. Castillo Coaquira, and R. Quispe Riquelme, “Determinación de metales pesados en suelos agrícolas y suelos para cultivo de *Solanum tuberosum* de la Bahía interior de Puno.,” *Investig. Desarro.*, vol. 20, no. 1, pp. 147–153, Jul. 2020, doi: 10.23881/idupbo.020.1-11i.
- [43] N. R. Maddela, D. Kakarla, L. C. García, S. Chakraborty, K. Venkateswarlu, and M. Megharaj, “Cocoa-laden cadmium threatens human health and cacao economy: A critical view,” *Sci. Total Environ.*, vol. 720, p. 137645, Jun. 2020, doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.137645.
- [44] A. Gramlich *et al.*, “Soil cadmium uptake by cocoa in Honduras,” *Sci. Total Environ.*, vol. 612, pp. 370–378, Jan. 2018, doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.08.145.
- [45] Navarro M. y Ramirez M., “Heavy Metal Analysis on Soils Irrigated with Water from the Guatiquía River,” *Análisis Met. pesados en suelos Irrig. con agua del río Guatiquía*, vol. 6, no. 2, pp. 167–175, 2015.
- [46] U. E. M. 3050 Norma Epa, “Método determinación de metales pesados por FGAAS,” pp. 1–4, 2020.
- [47] J. Gregorio *et al.*, “Evaluación del contenido de metales pesados en cacao (*Theobroma cacao* L .) de Santa Bárbara de Zulia, VENEZUELA,” *Multidiscip. del Cons. Investig. la Univ. del Oriente*, vol. 28, no. 1, pp. 106–115, 2016.
- [48] H. Lalinde *et al.*, “Sobre el uso adecuado del coeficiente de correlación de Pearson: definición, propiedades y suposiciones,” 2018.
- [49] L. A. Comisi *et al.*, “Statement on tolerable weekly intake for cadmium according to the European Union.,” *EFSA J.*, vol. 9, no. 2, pp. 10–14, 2014, doi: 10.2903/j.efsa.2011.1975.
- [50] N. Oficial Mexicana, Q. DE Establece Las Especificaciones Fertilidad, S. Y. Clasificación De Suelos Estudios, and M. Y. Análisis, “Normas Oficiales Mexicanas NOM-021-RECNAT-2000 1 Fuente : Diario Oficial de la Federación Fecha de publicación: 31 de Diciembre de 2002.”
- [51] E. Arévalo-Gardini, M. E. Obando-Cerpa, L. B. Zúñiga-Cernades, C. O.

- Arévalo-Hernández, V. Baligar, and Z. He, “Heavy metal in soils of cocoa plantations in three regions of Perú.,” *Ecol. Apl.*, vol. 15, no. 2, p. 81, 2016, doi: 10.21704/rea.v15i2.747.
- [52] K. L. Ortiz-Valbuena and R. Álvarez-León, “Efecto del vertimiento de subproductos del beneficio de cacao (*Theobroma cacao* L.) sobre algunas propiedades químicas y biológicas en los suelos de una finca cacaotera, municipio de Yaguará (Huila, Colombia),” *Bol. Cient. del Cent. Museos*, vol. 19, no. 1, pp. 65–84, 2015, doi: 10.17151/bccm.2015.19.1.5.
- [53] N. Florida Rofner, S. L. Claudio Melchor, and R. Gómez Bernal, “EL pH y la absorción de Cadmio en almendras de cacao orgánico (*Theobroma cacao* L.) en Leoncio Prado, Huánuco, Peru.,” *Folia Amaz.*, vol. 27, no. 1, pp. 1–8, 2019, doi: 10.24841/fa.v27i1.438.
- [54] E. J. Boza *et al.*, “Genetic characterization of the cacao cultivar CCN 51: Its impact and significance on global cacao improvement and production,” *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, vol. 139, no. 2, pp. 219–229, Mar. 2014, doi: 10.21273/jashs.139.2.219.
- [55] E. Acosta-Otálvaro, “*Predicción del contenido de polifenoles totales de extractos de cacao, a partir del espacio de color CIElab.*” Agri-food Research, 2020.
- [56] S. Araujo-Abad, W. Tapia, and A. Villamarín-Ortiz, “Verification of the atomic absorption spectroscopy with graphite furnace analytical method for the quantification of cadmium in cocoa almonds (*Theobroma cacao*),” *Granja*, vol. 31, no. 1, pp. 59–73, 2020, doi: 10.17163/lgr.n31.2020.04.
- [57] N. F. Rofner, “Cadmium in soil and cacao beans of Peruvian and South American origin,” *Rev. Fac. Nac. Agron. Medellín*, vol. 74, no. 2, pp. 9499–9515, 2021, doi: 10.15446/rfnam.v74n2.91107.

5.4. Anexos

Anexo 1. Certificado de acreditación laboratorio Facultad de Ciencias Químicas.

 SERVICIO DE ACREDITACIÓN ECUATORIANO

CERTIFICADO DE ACREDITACIÓN

**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS DE LA UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
(LABORATORIO OFERTA DE SERVICIOS Y PRODUCTOS [OSP])**

QUITO - ECUADOR

Se encuentra acreditado por el Servicio de Acreditación Ecuatoriano en cumplimiento con los requisitos establecidos en la:

Norma NTE – INEN ISO/IEC 17025:2006 "Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración", equivalente a la Norma ISO/IEC 17025:2005.

Esta acreditación demuestra la competencia técnica para la ejecución de los ensayos detallados en el Alcance de Acreditación *, que se realizan en las localizaciones identificadas en el mismo.



Mgs. Carlos Echeverría Cueva
DIRECTOR EJECUTIVO
SERVICIO DE ACREDITACIÓN ECUATORIANO



Acreditación N° SAE LEN 04-002
LABORATORIO DE ENSAYOS



ACREDITACIÓN INICIAL:	2004/08/17	EXPIRA:	2009/08/16
RENOVACIÓN 2:	2013/12/23	EXPIRA:	2018/12/22
RENOVACIÓN 3:	2019/02/14 (Resolución N° SAE-ACR-0047-2019)	EXPIRA:	2024/02/13

La acreditación está condicionada al cumplimiento continuo por parte del laboratorio con los requisitos de acreditación, por lo que la vigencia del presente certificado de acreditación debe ser consultada en la página web del SAE, www.acreditacion.gob.ec.

El SAE es firmante de los Acuerdos de Reconocimiento Mutuo firmado entre Organismos Nacionales de Acreditación con IAAC e ILAC

* El presente certificado solo tiene validez con su correspondiente Alcance de Acreditación

*Este certificado reemplaza al certificado N° OAE LE 1C-04-002.

Ley del Sistema Ecuatoriano de la Calidad Art. 21

F P011 04 R04

18014/LEN003.6/19.02.14

Anexo 2. Carta de aceptación MAG.DD PASTAZA



Ministerio de Agricultura
y Ganadería

Oficio Nro. MAG-DDPASTAZA-2021-0078-O

Puyo, 31 de mayo de 2021

Asunto: CERTIFICADO

Ingeniera Mg.
Pilar Urrutia

**PRESIDENTA UNIDAD ACADÉMICA DE TITULACIÓN
FACULTAD DE INGENIERÍA EN SISTEMAS, ELECTRÓNICA
E INDUSTRIAL
UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO**

Presente

De mis consideraciones

Yo Ing. Nelson Alex Dahua Machoa portador de la CI No. 1600668196 en mi calidad de Director Distrital de Ministerio de Agricultura y Ganadería en Pastaza certifico que he recibido en conformidad el trabajo de investigación desarrollado con el tema **“INCIDENCIA DEL SUELO PARA LA BIOACUMULACIÓN DE CADMIO EN LA ALMENDRA DE CACAO (*Theobroma cacao L.*) DE DOS VARIETADES FINO DE AROMA Y CCNS1 CULTIVADAS EN EL CANTÓN SANTA CLARA PROVINCIA DE PASTAZA”**, desarrollado por el Dr. Mario Germánico Guevara Uvidia, Portador de la CI No. 180220824-7, maestrante del programa de Maestría en Química Mención Química-Física Cohorte 2019 que se desarrolló en la Facultad de Ingeniería en Sistemas, Electrónica e Industrial de la Universidad Técnica de Ambato.

Con sentimientos de distinguida consideración.

Atentamente,



Ing. Nelson Alex Dahua Machoa
DIRECTOR DISTRITAL PASTAZA

Anexo 3. Resultados de cadmio en variedad de cacao CCN-51



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
OFERTA DE SERVICIOS Y PRODUCTOS

LABORATORIO DE QUÍMICA AMBIENTAL
INFORME DE RESULTADOS

INF. LAB. AMB 52466
 ORDEN DE TRABAJO No. 63582

SOLICITADO POR ¹ :	QUEVARA UVIDIA MARYO GERMANICO		
DIRECCION DEL CLIENTE ¹ :	MARIANO POZO Y JUAN BARREZUETA / QUITO NORTE		
MUESTRA DE ² :	ALIMENTO		
DESCRIPCION ³ :	MUESTRAS COMPUESTAS VARIEDAD DE CACAO CCN-51		
FECHA DE RECEPCION:	18/3/2021	HORA DE RECEPCION:	09H00
FECHA DE ANALISIS:	DEL 18/03/2021 AL 18/04/2021		
FECHA DE ENTREGA DE RESULTADOS A LA SECRETARIA:	4/3/2021		
CARACTERISTICAS DE LA MUESTRA			
CARACTERISTICA:	CARACTERISTICO	ESTADO:	SOLIDO
		CONTENIDO:	300 g
OBSERVACIONES:	¹ Los resultados que constan en el presente informe se refieren a la muestra entregada por el cliente al OSP. ² La fecha de recepción corresponde a la fecha en que se emite el orden de trabajo.		

RESULTADOS DE CADMIO

PARAMETROS	UNIDADES	RESULTADOS	LIMITE MAXIMO (SEGUN REGLAMENTO UNION EUROPEA No 468/2014 A PARTIR 01/2019) mg/kg	METODOS
CCCN1	mg/kg	0,003	0,80	DIGESTION POR VIA SECA/HORNO DE GRAFITO
CCCN2	mg/kg	0,039		
CCCN3	mg/kg	0,004		
CCCN4	mg/kg	0,034		
CCCN5	mg/kg	0,046		

3: DATOS PROPORCIONADOS POR EL CLIENTE Y DE SU RESPONSABILIDAD.

CCCN: CORRESPONDE A LOS RESULTADOS DE "MUESTRAS COMPUESTAS DE CACAO" DE 5 PUNTOS DE MUESTREO TOMADOS EN DIBAZO DE LA VARIEDAD CCN-51

"Laboratorio de ensayo acreditado por el SAE con acreditación N° OAE LE 1C 04-002"

B.F. ALICIA CEPA
RESPONSABLE DEL AREA DE AMBIENTAL



11/1

R-GO-01-26

Dirección: Francisco Viteri s/n y Gilberto Gallo Sobral- Teléfonos: 2502-262 / 2502-456, ext. 15,16,21,31,33
 Teléfono: 3216740 - E-mail: fcy.osp@uce.edu.ec

Anexo 4. Resultados de cadmio en variedad de cacao fino de aroma



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
OFERTA DE SERVICIOS Y PRODUCTOS

LABORATORIO DE QUÍMICA AMBIENTAL
 INFORME DE RESULTADOS

INF. LAB. AMB 52466
 ORDEN DE TRABAJO No. 63582

SOLICITADO POR ¹ :	QUEVARA UVEDIA MARIO GERMANICO		
DIRECCION DEL CLIENTE ² :	MARIANO POZO Y JUAN BARREZUETA / QUITO NORTE		
MUESTRA DE ³ :	ALIMENTO		
DESCRIPCION ⁴ :	MUESTRAS COMPUESTAS VARIEDAD DE CACAO FINO DE AROMA		
FECHA DE RECEPCION:	18/3/2021	HORA DE RECEPCION:	09H00
FECHA DE ANALISIS:	DEL 18/03/2021 AL 18/04/2021		
FECHA DE ENTREGA DE RESULTADOS A LA SECRETARIA:	4/3/2021		
CARACTERISTICAS DE LA MUESTRA			
CARACTERISTICA:	CARACTERISTICO	ESTADO:	SOLIDO
		CONTENIDO:	300 g
OBSERVACIONES:	¹ Los resultados que constan en el presente informe se refieren a la muestra entregada por el cliente al OSP. ² La fecha de recepción corresponde a la fecha en que se emite el orden de trabajo		

RESULTADOS DE CADMIO

PARAMETROS	UNIDADES	RESULTADOS	LIMITE MAXIMO (SEGUN REGLAMENTO UNION EUROPEA No 468/2014 A PARTIR 01/2019) mg/kg	METODOS
CA1	mg/kg	0,093	0,80	DIGESTION POR VIA SECA/HORNO DE GRAFITO
CA2	mg/kg	0,280		
CA3	mg/kg	0,258		
CA4	mg/kg	0,653		
CA5	mg/kg	0,739		

3: DATOS PROPORCIONADOS POR EL CLIENTE Y DE SU RESPONSABILIDAD.

CA: CORRESPONDE A LOS RESULTADOS DE "MUESTRAS COMPUESTAS DE CACAO" DE 5 PUNTOS DE MUESTREO TOMADOS EN ZIGZAG DE LA VARIEDAD FINO DE AROMA.

"Laboratorio de ensayo acreditado por el SAE con acreditación N° OAE LE 1C 04-002"

B.F. ALICIA CEPA
 RESPONSABLE DEL AREA DE AMBIENTAL



Anexo 5. Acidez de almendras



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
 FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
 OFERTA DE SERVICIOS Y PRODUCTOS

LABORATORIO DE ALIMENTOS
 INFORME DE RESULTADOS

INF. LAB. ALI- 27872
 ORDEN DE TRABAJO No. 63581

SOLICITADO POR: ¹	GUEVARA UNIVI MARCO GERMANICO
DIRECCIÓN DEL CLIENTE: ¹	MARIANO POZO Y JUAN BARREZUETA (QUITO - NORTE)
MUESTRA DE: ²	CACAO
DESCRIPCIÓN: ³	VER ABAJO
LOTE: ⁴	---
FECHA DE ELABORACIÓN: ⁵	---
FECHA DE VENCIMIENTO: ⁶	---
FECHA DE RECEPCIÓN:	24/03/2021
HORA DE RECEPCIÓN:	10:00
FECHA DE ANÁLISIS:	25/03/2021 - 14/04/2021
FECHA DE ENTREGA DE RESULTADOS A LA SECRETARÍA:	22/04/2021
CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA	
COLOR:	Característico
OLOR:	Característico
ESTADO:	SOLIDO
Contenido: 1000 g	
CONSERVACIONES:	
Los resultados que constan en el presente informe se refieren a la muestra entregada por el cliente al OSP	
MUESTREADO POR:	El Cliente

INFORME				
DESCRIPCIÓN	PARÁMETRO	UNIDAD	RESULTADO	METODO
PROVINCIA: PASTAZA CANTÓN: SANTA CLARA 17/03/2021 CACAO CCN01 CODIGO: C CCN1	Acidez (ácido acético)	%	0.54	MAL-01/ACAC 947.05
PROVINCIA: PASTAZA CANTÓN: SANTA CLARA 17/03/2021 CACAO CCN01 CODIGO: C CCN2			0.20	
PROVINCIA: PASTAZA CANTÓN: SANTA CLARA 17/03/2021 CACAO CCN01 CODIGO: C CCN3			0.40	
PROVINCIA: PASTAZA CANTÓN: SANTA CLARA 17/03/2021 CACAO CCN01 CODIGO: C CCN4			0.34	
PROVINCIA: PASTAZA CANTÓN: SANTA CLARA 17/03/2021 CACAO CCN01 CODIGO: C CCN5			0.46	
PROVINCIA: PASTAZA CANTÓN: SANTA CLARA 17/03/2021 CACAO PINO ARDINA CODIGO: C PA1			0.23	

Dr. Geovany Garófalo
 RESPONSABLE AREA DE ALIMENTOS





UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
OFERTA DE SERVICIOS Y PRODUCTOS

LABORATORIO DE ALIMENTOS
INFORME DE RESULTADOS

INF. LAB. ALI- 27872
ORDEN DE TRABAJO No. 63581

DESCRIPCIÓN	PARÁMETRO	UNIDAD	RESULTADO	METODO
PROVINCIA: PASTAZA CANTÓN: SANTA CLARA 17/03/2021 CACAO FINO AROMA CÓDIGO: C FA3	Acidez (ácido acético)	%	0.25	MAL-01/AOAC 947.05
PROVINCIA: PASTAZA CANTÓN: SANTA CLARA 17/03/2021 CACAO FINO AROMA CÓDIGO: C FA3			0.23	
PROVINCIA: PASTAZA CANTÓN: SANTA CLARA 17/03/2021 CACAO FINO AROMA CÓDIGO: C FA4			0.18	
PROVINCIA: PASTAZA CANTÓN: SANTA CLARA 17/03/2021 CACAO FINO AROMA CÓDIGO: C FA3			0.30	

3: Datos proporcionados por el cliente y de su responsabilidad.

Dr. Geovany Garófalo
RESPONSABLE AREA DE ALIMENTOS



1 2/2

R-GO-01-24

Dirección: Francisco Viteri s/n y Gilberto Gatto Sobreal. Teléfonos: 2502-262 / 2502-456, ext. 15,18,21,31,33
Teléfono: 3216740 - E-mail: fisp.osp@uce.edu.ec

Anexo 6. Análisis de muestras de suelo donde se cultiva variedad fino de aroma



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
OFERTA DE SERVICIOS Y PRODUCTOS

LABORATORIO DE QUÍMICA AMBIENTAL
 INFORME DE RESULTADOS

INF. LAB. AMB 52476
 ORDEN DE TRABAJO No. 63583

SOLICITADO POR ¹ :	QUEVARA UVIDIA MARIO GERMÁNICO				
DIRECCION DEL CLIENTE ² :	MARIANO POZO Y JUAN BARREZUETA / QUITO NORTE				
MUESTRAS DE ³ :	SUELO DONDE SE CULTIVA LA VARIEDAD DE CACAO FINO DE AROMA				
FECHA DE RECEPCIÓN:	28/3/2021	HORA DE RECEPCIÓN:	08H00		
FECHA DE ANÁLISIS:	DEL 28/03/2021 AL 28/04/2021				
FECHA DE ENTREGA DE RESULTADOS A LA SECRETARÍA:	4/5/2021				
CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA					
CARACTERÍSTICA:	CAFÉ	ESTADO:	SÓLIDO	CONTENIDO:	500 g
OBSERVACIONES:	¹ Los resultados que constan en el presente informe se refieren a la muestra entregada por el cliente al OSP. ² La fecha de recepción corresponde a la fecha en la que se emite la orden de trabajo.				

RESULTADOS

PARAMETROS	UNIDADES	SFA1	SFA2	SFA3	SFA4	SFA5
* CADMIO	mg/Kg	0,12	0,15	0,21	0,12	0,61
* CALCIO	mg/Kg	564	935	537	320	1027
* FOSFORO TOTAL	mg/Kg	4,6	7,2	7,2	6,7	5,8
* MAGNESIO TOTAL	mg/Kg	2079	3175	2652	2162	3235
* MATERIA ORGÁNICA	%	2,3	2,2	2,2	2,3	2,3
POTENCIAL HIDROGENO	-	5,2	5,2	5,2	5,2	5,3
* TEXTURA		ARENO FRANCO	ARENO FRANCO	ARENO FRANCO	ARENO FRANCO	ARENO FRANCO
	% ARENA	87	86	86	86	86
	% LIMO	10	11	10	11	11
	% ARCILLA	3	4	4	3	3

3: DATOS PROPORCIONADOS POR EL CLIENTE Y DE SU RESPONSABILIDAD.

SFA: CORRESPONDE A LOS RESULTADOS DE "MUESTRAS COMPUESTAS DE SUELO" DE 5 PUNTOS DE MUESTREO TOMADOS EN ZIGZAG DONDE SE CULTIVA LA VARIEDAD DE CACAO FINO DE AROMA.

¹ "Laboratorio de ensayo acreditado por el SAE con acreditación N° OAE LE 1C 04-002"

B.F. ALICIA CEPA
 RESPONSABLE DEL AREA DE AMBIENTAL



11/1

R-GO-01-26

Dirección: Francisco Viteri s/n y Gilberto Gallo Sobral- Teléfono: 2502-262 / 2502-456, ext. 15,16,21,31,33
 Teléfono: 3216740 - E-mail: foq.osp@uce.edu.ec

Anexo 7. Análisis muestras de suelos donde se cultiva variedad CCN-51



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
OFERTA DE SERVICIOS Y PRODUCTOS

LABORATORIO DE QUÍMICA AMBIENTAL
INFORME DE RESULTADOS

INF. LAB. AMB 52476
ORDEN DE TRABAJO No. 63583

SOLICITADO POR ¹ :	QUEVARA UNIDIA MARIO GERMANICO				
DIRECCION DEL CLIENTE ¹ :	MARIANO POZO Y JUAN BARREZUETA / QUITO NORTE				
MUESTRAS DE ¹ :	SUELO DONDE SE CULTIVA LA VARIEDAD DE CACAO CCN-51				
FECHA DE RECEPCION:	18/3/2021	HORA DE RECEPCION:	09:00		
FECHA DE ANÁLISIS:	DEL 18/03/2021 AL 28/04/2021				
FECHA DE ENTREGA DE RESULTADOS A LA SECRETARIA:	4/5/2021				
CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA					
CARACTERÍSTICA:	CAFÉ	ESTADO:	SOLIDO	CONTENIDO:	500 g
OBSERVACIONES:	* Los resultados que constan en el presente informe se refieren a la muestra entregada por el cliente al OSP. * La fecha de recepción corresponde a la fecha en la que se emite la orden de trabajo.				

RESULTADOS

PARAMETROS	UNIDADES	SCCN1	SCCN2	SCCN3	SCCN4	SCCN5
* CADMIO	mg/Kg	0,10	0,11	0,11	0,11	0,13
* CALCIO	mg/Kg	321	321	440	326	280
* FOSFORO TOTAL	mg/Kg	15,2	8,2	11,8	10,8	7,0
* MAGNESIO TOTAL	mg/Kg	2429	2549	2308	1127	2092
* MATERIA ORGANICA	%	5,8	6,9	5,2	7,1	2,8
POTENCIAL HIDROGENO	-	5,1	5,3	5,1	5,0	5,0
* TEXTURA		ARENO FRANCO	ARENO FRANCO	ARENO FRANCO	ARENO FRANCO	ARENO FRANCO
	% ARENA	86	87	87	86	86
	% LIMO	11	9	11	10	11
	% ARCILLA	3	4	3	4	3

1: DATOS PROPORCIONADOS POR EL CLIENTE Y DE SU RESPONSABILIDAD.

SCCN: CORRESPONDE A LOS RESULTADOS DE "MUESTRAS COMPUESTAS DE SUELO" DE 5 PUNTOS DE MUESTREO TOMADOS EN DIOZAS DONDE SE CULTIVA LA VARIEDAD DE CACAO CCN-51.

Laboratorio de ensayo acreditado por el SAE con acreditación N° OAE LE 1C 04-002

B.F. ALICIA CEPA
RESPONSABLE DEL AREA DE AMBIENTAL



11/1

R-GO-01-26

Dirección: Francisco Vitorri s/n y Gilberto Gallo Sobral- Teléfono: 2502-262 / 2502-456, ext. 15,18,21,31,33
Teléfono: 3216740 - E-mail: foq.osp@uce.edu.ec

Anexo 8. Muestreo de suelo y cacao con técnicos del Ministerio de Agricultura y Ganadería de Pastaza



Anexo 5. Muestreo de cacao



Anexo 6. Submuestras de suelo y cacao variedad fino de aroma



Anexo 71. Submuestras de suelo y cacao variedad CCN51



Anexo 12. Almendras variedades de cacao zona Santa Clara.



Anexo 13. Preparación de muestras almendras para medición de color CIELAB.

