UNIVERSIDAD ESTATAL AMAZÓNICA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA VIDA

CARRERA DE INGENIERÍA AMBIENTAL

TEMA

PROPUESTA PARA LA EVALUACIÓN Y PREVENCIÓN DE LA CONTAMINACIÓN POR CADMIO EN LAS ALMENDRAS DE CACAO EN LA REGIÓN AMAZÓNICA

AUTOR

CALAPUCHA SIQUIGUA JAIME LUIS

GARCÍA UQUILLAS GENARO EDISON

DIRECTOR

DR. LUIS RAMÓN BRAVO SÁNCHEZ. PhD

PUYO-ECUADOR

FEBRERO 2021

DECLARATORIA DE AUTORIA Y CESIÓN DE DERECHOS

Quienes suscriben Calapucha Siquigua Jaime Luis con C.I. 2200196398 y García Uquillas Genaro Edison con C.I. 1600538241, hacen constar que son los autores del Proyecto de Investigación titulado: “Propuesta para la evaluación y prevención de la contaminación por cadmio en las almendras de cacao en la región amazónica”, el cual constituye una elaboración personal realizada únicamente con la dirección del Tutor de dicho trabajo Dr. Luis Ramón Bravo Sánchez. PhD. En tal sentido, manifiesto la originalidad de la conceptualización del trabajo como interpretación de datos y elaboración de conclusiones dejando establecido que aquellos aportes intelectuales de otros autores se han referenciado debidamente en el texto de dicho trabajo.

En el cantón Pastaza, a los 12 días del mes de febrero de 2021.





Calapucha Siquigua Jaime Luis

CI: 2200196398

García Uquillas Genaro Edison

C.I. 1600538241

CERTIFICADO DE APROBACIÓN POR EL TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN

El tribunal de sustentación del proyecto de investigación y desarrollo aprueba el proyecto de investigación de integración curricular titulado: Propuesta para la evaluación y prevención de la contaminación por cadmio en las almendras de cacao en la región amazónica



Firmado electrónicamente por:
LEO
MAXIMILIANO
RODRIGUEZ
BADILLO

M.Sc. Leo Maximiliano RodríguezBadillo

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL



Firmado electrónicamente por:
MARCOS
DAVID
LANDIVAR
VALVERDE

M.Sc. Marcos David Landívar Valverde

MIEMBRO DEL TRIBUNAL



Firmado electrónicamente por:
MARIO
JORGE
BONILLA
CHANGO

M.Sc. Mario Jorge Bonilla Chango

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

UNIVERSIDAD ESTATAL AMAZÓNICA

SISTEMA ANTIPLAGIO URKUND

Certificado No. 36-SAU-UEA-2021

Puyo, 18 de febrero de 2021

Por medio del presente **CERTIFICO** que:

El Trabajo de Integración Curricular correspondiente a los estudiantes: CALAPUCHA SIQUIGUA JAIME LUIS con C.I. 2200196398, y GARCÍA UQUILLAS GENARO EDISON con C.I. 1600538241, con el Tema: **"PROPUESTA PARA LA EVALUACIÓN Y PREVENCIÓN DE LA CONTAMINACIÓN POR CADMIO EN LAS ALMENDRAS DE CACAO EN LA REGIÓN AMAZÓNICA."**, de la carrera, Ingeniería Ambiental. Director de la investigación Dr.C.Luis Bravo, Phd., ha sido revisado mediante el sistema antiplagio URKUND, reportando una similitud del 9%, Informe generado con fecha 18 de febrero de 2021 por parte del director conforme archivo adjunto.

Particular que comunico a usted para los fines pertinentes.

Atentamente,

ITALO MARCELO

Ing. Italo Marcelo Lara Pilco M.Sc.
ADMINISTRADOR DEL SISTEMA ANTIPLAGIO URKUND – UEA - .

©2020, Jaime Luis Calapucha Siquigua, Genaro Edison García Uquillas.

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

Quienes suscriben Jaime Luis Calapucha Siquigua y Genaro Edison García Uquillas, declaramos que el presente proyecto de investigación es de nuestra autoría y que los resultados de este son auténticos y originales. Los textos constantes en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autores, asumimos la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este Trabajo de Integración Curricular.





Calapucha Siquigua Jaime Luis
No. Cédula: 220019639-8

García Uquillas Genaro Edison
No. Cédula: 160053824-1

DEDICATORIA

A Dios por todas las bendiciones, por permitirme conocer gente maravillosa que ha marcado mi vida con los mejores recuerdos y experiencias que las llevaré hasta el final de mis días.

A mis padres Limber y Bricila, mis hermanos Limbert, Alexandra, Celina, a mi querida sobrina Yescarleth por todo el apoyo incondicional que me han brindado, gracias por ser la fuerza y la inspiración para cumplir cada una de mis metas, son los pilares más importantes de mi vida. Los amo.

Calapucha Siquigua Jaime Luis

Mi proyecto de titulación se lo dedico con mucho cariño a mi padre García Edison y a mi madre Uquillas Ana a quienes respeto y quiero mucho por ser las personas que siempre han estado en todo momento apoyándome e inspirándome a alcanzar mis metas propuestas.

A mis hermanas por brindarme su apoyo, cariño y compañía cada vez que la necesitaba, especialmente en los momentos difíciles.

A mi novia quien ha llegado a mi vida para brindarme ímpetu para seguir adelante y buscar un futuro de éxitos.

Y a toda mi familia, en especial a mis tíos García Beatriz y Ziegler Dominic que se han hecho presentes en mi vida, motivándome a salir adelante cada día y siendo un ejemplo por seguir en transcurso de mi vida.

García Uquillas Genaro Edison

AGRADECIMIENTOS

El más sincero agradecimiento a la Universidad Estatal Amazónica, por brindarme la oportunidad de ser parte de esta reconocida institución y obtener un escalón más en mi vida profesional. A mi director de tesis Dr. Luis Bravo Sánchez, a M.Sc. Marcos Landívar, M.Sc. Leo Rodríguez y M.Sc. Jorge Bonilla, miembros del tribunal; por sus acertadas orientaciones y sugerencias para que la presente investigación llegue a su culminación. Y a cada uno de mis docentes porque con nobleza y entusiasmo me transmitieron sus conocimientos colaborando en mi formación profesional y personal. A mi familia por todo su apoyo incondicional.

Calapucha Siquigua Jaime Luis

Le agradezco a Dios por brindarme salud y vida, siendo mi guía a lo largo de mi carrera, que está llena de batallas, por ser mi fortaleza en los momentos de debilidad y por haberme brindado una vida llena de aprendizajes. Por bendecirme como su hijo para llegar hasta donde he llegado.

A toda mi familia por brindarme ese apoyo incondicional y haberme formado como a una persona bien con buenos valores, especialmente a mi madre por ser ese pilar fundamental en esta etapa de mi vida, siempre impulsándome cada día a sobresalir, enseñándome a romper obstáculos y barreras que siempre se presentan en la vida, acompañándome y ayudándome a cumplir con este gran sueño y éxito que es la carrera universitaria.

A la Universidad Estatal Amazónica (UEA) en general a todos los docentes que con sus enseñanzas hicieron posible que lograra cumplir esta meta. A todas las personas, familiares, amigos y a mi novia que con sus consejos y apoyo me alentaron siempre.

Y un sincero agradecimiento a mi director de proyecto de grado de tesis Dr. Luis Bravo Sánchez por su tiempo y asesoramiento en el progreso y culminación de este gran proyecto realizado con dedicación y esmero.

García Uquillas Genaro Edison

RESUMEN

En Ecuador, el cultivo de cacao representa una de las principales actividades agrícolas, sin embargo, es uno de los alimentos que posee antecedentes de contaminación por metales pesados. A través de una exhaustiva revisión bibliográfica se encontró que las zonas de la Región Amazónica donde hay mayor presencia de contenido de cadmio en el suelo y almendras de cacao se encuentran en las provincias de Orellana, Sucumbíos y Napo. Por otra parte, se pudo constatar que existe una relación significativa entre la concentración de cadmio en los suelos de la región amazónica y en las almendras de cacao. Se propuso un protocolo de análisis de cadmio aplicado a suelos y almendras de cacao que incluye los requisitos para el muestreo y preparación de las muestras, con la necesaria disminución del tamaño de partículas, previa a la extracción, así como la digestión ácida asistida por microondas de los sólidos pulverulentos de suelo y almendras. Se determinó que el análisis se deberá realizar por espectrofotometría de absorción atómica a 228.8 nm, con vaporización electrotérmica en horno de grafito para garantizar una adecuada sensibilidad y que la concentración debe calcularse a través de una curva de calibración. Se planteó que los agricultores deben considerar como estrategias de prevención de contaminación del cacao por cadmio el conocimiento de la concentración de este elemento en los suelos para el cultivo de cacao evitar realizar el secado de las semillas en las vías asfálticas. Para la mitigación de la contaminación por cadmio en suelos en la Amazonia ecuatoriana se trazó como efectivo el tratamiento con “biochar” que contribuye a inmovilizar los metales pesados como el cadmio y de esta manera reducir su presencia en las almendras de cacao.

Palabras clave: Cadmio, Suelo, Almendras de cacao, Espectrofotometría de Absorción Atómica.

ABSTRACT

In Ecuador, the cultivation of cocoa represents one of the main agricultural activities, however, it is one of the foods that has a history of contamination by heavy metals. Through an exhaustive bibliographic review, it was found that the areas of the Amazon Region where there is a greater presence of cadmium content in the soil and cocoa beans are found in the provinces of Orellana, Sucumbíos and Napo. On the other hand, it was found that there is a significant relationship between the concentration of cadmium in the soils of the Amazon region and in cocoa beans. A cadmium analysis protocol applied to soils and cocoa beans was proposed that includes the requirements for sampling and sample preparation, with the necessary reduction in particle size, prior to extraction, as well as microwave-assisted acid digestion of powdery solids of soil and almonds. It was determined that the analysis should be performed by atomic absorption spectrophotometry at 228.8 nm, with electrothermal vaporization in a graphite furnace to guarantee adequate sensitivity and that the concentration should be calculated through a calibration curve. It was suggested that farmers should consider as strategies for the prevention of cocoa contamination by cadmium, the previous knowledge of the concentration of this element in the soils for cocoa cultivation and also to avoid drying the seeds in asphalt roads. For the mitigation of cadmium contamination in soils in the Ecuadorian Amazon, the treatment with "biochar" was established as effective, which helps to immobilize heavy metals such as cadmium and thus reduce their presence in cocoa beans.

Keywords: Cadmium, Soil, Cocoa beans, Atomic Absorption Spectrophotometry.

CONTENIDO

RESUMEN ix

ABSTRACT x

CAPÍTULO I 16

1. INTRODUCCIÓN 16

1.1. Planteamiento del problema 17

1.2. Formulación del problema 18

1.3. Objetivos 18

1.3.1. Objetivo general 18

1.3.2. Objetivos específicos 18

1.4. Justificación 18

CAPÍTULO II 19

2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN 19

2.1. Cadmio 19

2.2. Principales fuentes de contaminación por cadmio 19

2.3. Niveles máximos permitidos de contenido de cadmio 20

2.4. Caracterización del suelo de la Amazonía 21

2.5. Suelos recomendados 25

2.6. Origen de la contaminación de suelo por cadmio 26

2.6.1. Origen natural 26

2.6.2. Origen antropogénico 26

2.7. Variedades de cacao 27

2.7.1. Cacao nacional 27

2.7.2. CEN-51 27

2.8. Composición química del cacao 27

2.9. Manejo postcosecha 28

2.9.1. Fermentación *28*

2.9.2. Secado natural o tradicional *28*

2.9.3. Causas de contaminación en el secado tradicional *28*

2.9.4. Secado artificial *29*

2.10. El cadmio en el cacao 29

2.11. Técnicas analíticas disponibles para determinación del cadmio en alimentos 30

2.11.1. Espectrofotometría de absorción atómica *30*

2.11.5. Espectrometría de emisión atómica *31*

2.11.7. Espectrometría de masas con plasma acoplado por inducción (ICP-MS) *32*

2.12. Método de determinación de cadmio en muestras biológicas (almendras de cacao) 32

2.12.1. Digestión ácida *32*

2.12.2. Procedimiento por vía seca (AOAC 999.11). *33*

CAPÍTULO III 35

3. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN 35

3.1. Tipo de investigación 35

3.1.1. Investigación exploratoria *35*

3.1.2. Investigación documental *35*

3.1.3. Métodos de la investigación 35

3.1.3.1. Áreas con presencia de cadmio en las principales zonas cacaoteras de la Región Amazónica. *35*

3.1.3.2. Protocolo de análisis de cadmio aplicado a suelos y almendras de cacao. *36*

3.1.3.3. Discutir estrategias destinadas a prevenir y reducir la incidencia de la acumulación de cadmio en las almendras de cacao *36*

CAPÍTULO IV 37

RESULTADOS. 37

4.1. *Conocer las áreas con presencia de cadmio en las principales zonas cacaoteras de la región amazónica.* 37

4.1.1. Zonas cacaoteras (2008-2009) *37*

4.1.1. Zonas cacaoteras (2018) *41*

4.2. Plantear un protocolo de análisis de cadmio aplicado a suelos y almendras de cacao. 44

4.2.1. Procedimientos de muestreo de suelo, almendras de cacao. *44*

4.2.2. Muestreo de almendras de cacao *54*

4.2.3. Desarrollo de la técnica analítica: *58*

4.3. Estrategias destinadas a prevenir y reducir la incidencia de la acumulación de cadmio en las almendras de cacao. 65

CONCLUSIONES 67

RECOMENDACIONES 68

BIBLIOGRAFÍA 69

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-2. La Unión Europea a partir del 01 de enero de 2019 aplicará los siguientes límites de cadmio para productos de cacao y chocolate. 21

Tabla 2-2. Características de los órdenes y subórdenes de los suelos representativos de la Amazonia. 22

Tabla 3-2. Características de los suelos, limitaciones, capacidad de uso y manejo para cada una de las provincias amazónicas. 23

Tabla 4-4. Tipos de muestras colectadas en las regiones del Ecuador durante la época seca del 2008-2009 en fincas cacaoteras del Ecuador. 37

Tabla 5-4. Valores promedio, mínimo de contenidos de Cd registrados en muestras de almendras de cacao provenientes de fincas de 17 provincias del Ecuador. Época seca 2008. 39

Tabla 6-4. Zonas Cacaoteras a nivel nacional en Ecuador. 41

Tabla 7-4. Cantidad mínima de puntos de muestreo**.** 50

Tabla 8-4. Subdivisión de los lotes en sublotes con productos que se comercializan en partidas a granel**.** 54

Tabla 9-4. Número mínimo de muestras elementales que deben tomarse del lote o sublote 55

Tabla 10-4. Número de muestras elementales de cacao en grano**.** 56

INDICE DE FIGURAS

Figura 1-4. Cultivo de cacao en seis provincias del Oriente y contenidos de Cd en 34 suelos en diferentes profundidades. 38

Figura 2-4. Mapa de contenido máximos y mínimos de Cd en almendras de cacao en zonas cacaoteras en la Región Amazónica. 40

Figura 3-4. Mapa de contenido de Cd en suelos en los primeros 5 cm de profundidad en zonas cacaoteras de la Región Amazónica 41

Figura 4-4. Mapa basado en contenido de Cd en almendras de cacao en diferentes fincas de la región Amazónica. 42

Figura 5-4. Mapa basado en la concentración de cadmio en suelos cacaoteros de la región amazónica en kos primeros 5 cm de profundidad. 43

Figura 6-4. Tipo de muestreo: A) aleatorio simple B) aleatorio estratificado. 46

Figura 7-4. Patrón de recorrido..... 49

Figura 8-4. Patrón de recorrido en zigzag. 50

Figura 9-4. Técnica de extracción de muestras. 57

Figura 10-4. Flujograma de procedimiento de muestreo de suelos en el cacao. 61

Figura 11-4. Flujograma del procedimiento de la preparación de muestras de suelos**.** 62

Figura 12-4. Flujograma de procedimiento de muestreo en almendras de cacao... 63

Figura 13-4. Flujograma de procedimiento de análisis de cadmio en almendras de cacao**.** 64

CAPÍTULO I

1. INTRODUCCIÓN

El cacao es una fruta que tiene mucha importancia en el país, donde es considerado una de las principales fuentes socioeconómicas. Un elemento destacable del cacao para su comercialización internacional es su calidad, aroma floral y excelente sabor, siendo Ecuador unos de los países que cumple con estos estándares y que se caracteriza por ser un gran productor cacaotero obteniendo varios reconocimientos a nivel mundial (Corporación Fortaleza del Valle, 2015).

Debido al interés del cacao en el mercado internacional, se busca mejorar la producción y al paso de los años se ha sometido a distintos tipos de controles de calidad, por ejemplo, desde 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, que tiene como objetivo los niveles máximos (NM) de metales pesados como el cadmio para el Cacao, con el fin de proteger la salud, la cual entró en vigor desde el 1 de enero del 2019. Por otra parte, sobre la base de criterios para determinar la calidad del suelo, en el Acuerdo Ministerial 097 – Anexo 2 de Norma de Calidad ambiental del recurso suelo y criterios de remediación para suelos contaminados, se establece el valor normal de 0.5 mg/kg de cadmio (Misterio del Ambiente, 2015).

El cacao ecuatoriano conocido como la pepa de oro, ha sido la base de la economía familiar campesina de la costa, estribaciones de la Cordillera de los Andes y el noroeste del Oriente (Vicepresidencia, 2015). Los productores de cacao tienen muchas problemáticas que requieren ser atendidas, una de ellas es la presencia de Cadmio en las semillas de cacao y su transmisión directa al consumo humano, pues este metal pesado se puede acumular en el organismo ocasionando enfermedades por su carácter tóxico; este se puede movilizar a través de agua, suelo y aire (Villavicencio, 2016).

La presente investigación bibliográfica fue realizada para presentar una propuesta de evaluación de la contaminación por cadmio en las almendras de cacao en la región amazónica; se selecciona este lugar debido a que existen pocos reportes de

investigaciones, enfocándose también en los suelos donde se desarrolla la mayor producción de cacao como los son los sectores de Sucumbíos y Orellana.

1.1. Planteamiento del problema

En la actualidad el surgimiento de nuevas enfermedades es evidente debido a diferentes factores relacionados con el desarrollo de la civilización. Algunas de estas enfermedades son generadas por ingerir productos alimenticios contaminados por metales pesados, por ejemplo, la presencia del cadmio en las almendras de Cacao (Roberts, 2018).

Esta contaminación puede estar dada porque el nivel de cadmio en el suelo puede provenir de forma natural o debido a la actividad humana, donde sobresalen las quemas de basuras por la presencia en plaguicidas, explotaciones mineras, quema de combustibles fósiles, etc. Las plantas cultivadas representan una importante vía para el movimiento de metales pesados potencialmente tóxicos desde el suelo hacia los humanos, acumulándolos en diferentes cantidades y en sus diferentes órganos vegetales y reproductivos, resultando en contribuciones venenosas a las dietas alimenticias que podrían causar inconvenientes en la comercialización del cacao por altos índice de contenido de cadmio en la almendra (Mite, Carrillo, & Durango, 2010).

El cacao se ha sometido a diferentes controles de calidad, por lo cual 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, donde presentaron los niveles máximos de metales pesados en este caso el cadmio para el chocolate y productos derivados del cacao, los cuales están en vigor a partir del 1 de enero del 2019 (Wong, 2017).

La presencia de cadmio en el cacao genera intranquilidad en el comercio nacional, por lo cual se han puesto en marcha investigaciones en diferentes sectores (INEN, 2019). La región Amazónica que mayormente se caracteriza por su agricultura cuenta con pocos reportes de investigaciones de evaluación y prevención de este tipo de contaminación además de no tener lugares accesibles donde se evalúe este contaminante, problemática que causa preocupación en las familias que tienen como principal ingreso la comercialización del producto.

1.2. Formulación del problema

¿A través de una propuesta para la evaluación y prevención de la contaminación por cadmio en la almendra de Cacao y suelos amazónicos, se podría contribuir a la mitigación de sus efectos nocivos en la región Amazónica?

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo general

Elaborar una propuesta para la evaluación y prevención de la contaminación por cadmio en la almendra de Cacao y suelos amazónicos que contribuya a mitigar su presencia y efecto.

1.3.2. Objetivos específicos

Realizar una investigación bibliográfica para conocer las áreas con presencia de Cd en las principales zonas cacaoteras de la Región Amazónica.

Plantear un protocolo de análisis de cadmio aplicado a suelos y almendras de cacao.

Discutir estrategias destinadas a prevenir y reducir la incidencia de la acumulación de cadmio en las almendras de cacao.

1.4. Justificación

El presente estudio es conveniente para la región amazónica, que requiere de investigaciones destinadas a la solución de la problemática que se presentan como la contaminación por cadmio en las Almendras de Cacao con el objetivo de garantizar la salud de la población de esta región.

La investigación presenta una relevancia social y los beneficiarios serán los agricultores que se dedican a cultivar Cacao, mediante la realización de estudios que aporten propuestas acerca de cómo evaluar y prevenir la contaminación por cadmio, resultados que influirán directa o indirectamente en el sector productivo de la Amazonia, para tener un mejor control en la producción.

El estudio presenta un valor teórico y con este trabajo se podrán identificar las técnicas analíticas para la evaluación de cadmio en la almendra de cacao, y conocer medidas de prevención referentes al contenido del metal pesado en la Región Amazónica.

CAPÍTULO II

2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN

2.1. Cadmio

Es un metal pesado que se produce de forma natural por la corteza terrestre y agua, que a su vez se encuentra en el ambiente de manera natural y antropogénica. De manera natural se encuentran en la erosión de los volcanes, la espuma del mar y la movilización de cadmio en el suelo, con respecto a las fuentes antropogénicas se establece el uso de fertilizantes, quemas de combustibles fósiles, la extracción de minerales, exposición de baterías recargables desechables o salidas de aguas residuales, entrando en relación con la cadena trófica por medio de la absorción foliar o radicular donde dicha transferencia va a depender de la composición del suelo (Martines Basto, 2013).

2.2. Principales fuentes de contaminación por cadmio

En lo ambiental, el cadmio es un elemento relativamente raro en la litosfera, sin embargo, existe una presencia debido a la actividad humana. Por su similitud química, se le encuentra junto al zinc, en equilibrio muy variable. Las principales fuentes de contaminación son:

- La minería de metales no ferrosos
- La metalurgia del hierro y acero
- La fabricación de fertilizantes Fosfatados
- La incineración de residuos de madera, carbón o “plástico”
- La combustión de aceite y gasolina
- Las aplicaciones industriales de cadmio (Ramírez, 2002).

La concentración de cadmio en el aire en áreas industriales suele ser de 9,1 a 26,7 mg/m^3 frente a 0,1 a 6 mg/m^3 para el caso del aire de áreas rurales. El tiempo de persistencia del cadmio en suelos es de 300 años y el 90% persiste sin transformarse (Ramírez, 2002).

En los terrenos agrícolas el cadmio llega al suelo por fertilizantes fosfatados (54%), deposición aérea (41%), por aplicación de abono de estiércol (5%), y asiduamente por efluentes que contienen residuos líquidos y sólidos de plantas hidrometalúrgicas de cadmio. En suelos contaminados, se ha encontrado que los niveles de cadmio alcanzan valores de hasta 1 mg de Cd por gramo y el agua de ríos contaminados puede contener hasta 0,14 mg de Cd por 1itro (Ramírez, 2002).

Las partículas de polvo de caucho provenientes de las ruedas de automóvil, de la galvanización con zinc de tuberías, de plásticos que contienen pigmentos colorados de cadmio y de la industria de cerámica glaseada, son considerados de menor importancia en contaminación ambiental por cadmio (Ramírez, 2002).

2.3. Niveles máximos permitidos de contenido de cadmio

Según el Ministerial 0,97- Anexo 2 del ministerio del ambiente del Ambiente del Ecuador, Norma de Calidad ambiental del recurso suelo y criterios de remediación para suelos contaminados, mencionan que el valor permisible declarado como normal es 0,5 mg/kg del metal pesado Cd.

En su octava reunión un Comité de la FAO acordó iniciar un nuevo trabajo sobre el establecimiento de niveles máximos (NM) para el cadmio en el chocolate y los productos derivados de cacao. La preocupación sobre contaminación por cadmio en el cacao y productos alcanzó dimensiones internacionales, por el hecho que en varios países exportadores e importadores se ejecutaron diversos estudios a fin de determinar la presencia de este metal. El comité acordó establecer un grupo electrónico de trabajo dirigido por Ecuador, comprendido por Ghana y Brasil a fin de preparar las propuestas sobre los NM para comentarios en el Trámite 3 y su consideración en el próximo periodo de sesiones del Comité (FAO/OMS, 2015).

Durante el año 2011-2012 en Ecuador se llevó a cabo un estudio con 144 muestras de barras de chocolate elaboradas con cacao provenientes de distintos lugares y distribuidas a nivel mundial para estudiar niveles de cadmio. El método de análisis utilizado fue espectrometría de masas con plasma acoplado por inducción (ICP-MS). Las muestras de concentraciones de solidos de cacao están entre 40% al 100%, con un promedio del 69,59%, y se logró para un chocolate con un contenido de materia seca total de cacao ≥ 50% (n=133), un intervalo de 0,03 a 1,56 mg/kg de cadmio y un promedio de 0,38 mg/kg

de cadmio y para el caso de chocolate con un contenido de materia seca total de 30%-50% (n=11) un promedio de 0,02 a 0,12 mg/kg de cadmio y un promedio de 0,06 mg/kg (Amores, 2012).

Tabla 1-2. La Unión Europea a partir del 01 de enero de 2019 aplicará los siguientes límites de cadmio para productos de cacao y chocolate.

Producto	mg/kg
Chocolate con leche con un contenido de materia seca total de cacao <30%:	0,1
Chocolate con un contenido de materia seca total de cacao <50%; chocolate con leche con un contenido de materia seca total de cacao ≥30%:	0,3
Chocolate con un contenido de materia seca total de cacao ≥50%;	0,8
Cacao en polvo vendido al consumidor final o como ingrediente en cacao en polvo edulcorado vendido al consumidor final (chocolate para beber);	0,6

Fuente: Reglamento (CE) N° 1881/2006 de la Comisión, de 19 de diciembre de 2006, por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios (DO L 364 de 20.12.2006, p. 5).

El cadmio entra en la alimentación humana con los vegetales y productos animales. Se fija a las plantas más rápidamente que el plomo. Los frutos y semillas contienen menos cadmio que las hojas. El pescado, los crustáceos, el riñón e hígado de animales acumulan cadmio en grado relativamente elevado. La IDD se estima entre 10 y 85 mg. Algunos países, como Japón y Canadá, tienen dietas con valores de Cd más elevados. En cuanto a la exposición industrial, el cadmio ingresa por inhalación de humos y vapores o por ingesta de los polvos de óxido de cadmio de sus compuestos. En el hombre, los efectos por exposición a cadmio están bien documentados: es irritante, tóxico respiratorio, tóxico renal, causa cierto tipo de osteomalacia y se ha asociado con cáncer (Ramírez, 2002).

2.4. Caracterización del suelo de la Amazonía

La mayor parte de los suelos amazónicos son pobres en nutrientes y tienen un bajo potencial de retención, especialmente en lo referente al calcio, al potasio y al fósforo. Sin embargo, sobre los suelos pobres crece una tupida vegetación, lo que ha llegado a

confundir a muchos, porque se supone “que debajo de un bosque ubérrimo existen suelos fértiles” (Díaz , 2018).

Tabla 2-2. Características de los órdenes y subórdenes de los suelos representativos de la Amazonia.

Orden	Características	Suborden	Características
INCEPTISOL	Áreas húmedas y subhúmedas presenta reacción ácida para ser productivos requieren encalados y fertilización.	ANDEPT	Elevado contenido de alófana, buena fertilidad alta retención de agua, textura franca.
		TROPEPT	Suelos formados sobre materiales residuales, superficiales a moderadamente profundos, topografía entre inclinada a muy empinada. Saturación básica inferior a un 40%. Porcentaje de saturación de bases mayor de 60%. Suelos arcillosos y muy húmedos.
		TROPEPT + ANDEPT	Superficiales a moderadamente profundos, topografía inclinada a muy empinada. Suelos de clima tropical húmedo.
HISTOSOL	Suelo orgánico de zonas pantanosas, puede ser fuertemente ácido, están saturados con agua. (Condiciones anaerobias)	AQUEPT (HEMIST)	Exceso de agua, materiales orgánicos parcialmente descompuestos.
		FIBRIST	Materiales orgánicos escasamente descompuestos.
MOLLISOL	Son muy fértiles, topografía ligeramente inclinada a extremadamente empinada.	UDOLL	Usualmente húmedos. Superficiales a moderadamente profundos, topografía con pendientes generalmente muy pronunciadas.
ENTISOL	Suelos recientes, no tienen horizontes formados, poco contenido de materia orgánica.	TYPIC UDIFLUVENTS	Suelos poco diferenciados, ligeramente ácidos, moderadamente saturados.
OXISOL	Suelos rojos y viejos, presenta una muy baja fertilidad y	ORTOX	Alta porosidad, muy friables, generalmente arcillosos, saturación básica muy baja.

	altos contenidos de aluminio tóxico.		

Fuente: USDA, 1975; Rodríguez et al. 1991; PRONAREG-ORSTOM, 2010.

A continuación, se describen las características de acuerdo con la Soil Taxonomy (1975), limitaciones, capacidad de uso y recomendaciones de manejo de los suelos de las seis provincias de la Amazonia **(Tabla 3).**

Tabla 3-2. Características de los suelos, limitaciones, capacidad de uso y manejo para cada una de las provincias amazónicas.

Provincia	**Material parental**	**Características de los suelos**	**Limitaciones**	**Uso y manejo**
Napo	Afloramiento de rocas volcánicas, lavas, piroclásticos, cenizas, basaltos. Capas meteorizadas, sueltas e inestables de granito.	Materiales rocosos o arenosos, poco o nada evolucionados, limosos, sueltos, inestables, de color negro a pardo amarillento	Clima y susceptibilidad de la erosión, baja fertilidad, fuertemente ácidos, con aluminio tóxico, degradados por sobre pastoreo. Pendientes, excesos de humedad, lixiviación de nutrientes.	Protección integral, reforestación, ganadería restringida (con baja carga), uso agropecuario muy restringido, evitar la quema en especial del matorral. Manejo integral agrosilvopastoril para regenerar la capa de hojarasca y fomentar el reciclaje de nutrientes.
Orellana	Conglomerado meteorizado bajo cobertura de cenizas. Profundas capas de areniscas verdes o grises, sedimentos arcillosos.	Arcilloso de color pardo amarillento y rojos, baja fertilidad, fuertemente ácidos, con aluminio tóxico.	Exceso de humedad y lixiviación de los suelos. Texturas muy arcillosas.	Protección manejo integral, agrosilvopastoril, regeneración de horizontes orgánicos, reciclajes de nutrientes.

				Cultivos de subsistencia. Uso forestal controlado, protección, reservas ecológicas y de vida silvestre.
Sucumbíos	Rocas volcánicas y metamórficas	Poco profundos erosionados y rocosos, de color negro a amarillento.	Presencia de aluminio soluble (tóxico), exceso de agua, acumulación de materia orgánica no descompuesta.	Cultivos de subsistencia, regeneración de horizontes orgánicos, reciclajes de nutrientes. Sistemas agroforestales y vida silvestre con chacras indígenas.
Pastaza	Materiales rocosos, escombros y arenas sobre rocas metamórficas	Sueltos con sustrato inestable, de colores negro-pardo o amarillo.	Baja fertilidad, fuertemente ácidos, elevada susceptibilidad a la erosión.	Protección, reforestación, uso agropecuario restringido en lugares factibles. Manejo integral agrosilvopastoril, uso forestal controlado, reservas ecológicas.
Morona Santiago	Rocas volcánicas y metamórficas, tobas y cenizas inestables.	Sueltos sobre sustratos inclinados e inestables limosos de color negro-pardo amarillentos o rojos.	Fertilidad baja con aluminio tóxico, arcillosos y lixiviados	Protección integral, reforestación, uso agropecuario muy restringido. Sistemas agroforestales y vida silvestre con

				chacras indígenas.
Zamora Chinchipe	Rocas metamórficas y graníticas.	Afloramientos rocosos, suelos superficiales, pedregosos y muy poco desarrollados. Arcillosos y muy pobres.	Fuertemente ácidos, baja saturación de bases y elevado contenido de aluminio intercambiable. Drenaje escaso.	Conservación estricta del medio natural y reforestación, bosque protector Manejo agrosilvopastoril en pendiente menores, drenajes, mejoramiento de pastizales y sistemas agroforestales.

Fuente: Valarezo, 2004; USDA, 1975.

2.5. Suelos recomendados

El cacao necesita suelos muy ricos en materia orgánica, francos arcillosos, con buen drenaje y topografía regular. El factor limitante del suelo en el desarrollo del cacao es la delgada capa húmica. Esta capa se degrada muy rápidamente cuando la superficie del suelo queda expuesta al sol, al viento y a la lluvia directa. Por ello, es común el empleo de planta leguminosas auxiliares que proporcionen la sombra necesaria y sean una fuente constante de sustancias nitrogenadas para el cultivo (Arvelo, González, Maroto, Delgado, & Montoya, 2017).

Las plantaciones están localizadas en suelos que varían desde arcillas pesadas muy erosionadas hasta arenas volcánicas recién formadas y limos, con pH que oscilan entre 4,0 y 7,0. Se puede decir que el cacao es una planta que prospera en una amplia diversidad de tipos de suelos (Arvelo, González, Maroto, Delgado, & Montoya, 2017).

2.6. Origen de la contaminación de suelo por cadmio

2.6.1. Origen natural

La disponibilidad del Cd en la capa superficial del suelo puede deberse a procesos mecánicos, químicos, o biológicos. Por tanto, este metal puede originarse de la roca madre liberados por meteorización, también puede originar debido a las cenizas volcánicas y lixiviadas de mineralizaciones, los denominados como geogénicos (Torres Quispe, 2018). Cuando el Cd se meteoriza, se concentra en el suelo y de allí pueden ser absorbidas por las plantas, incluso hasta concentraciones que les pueden causarefectos tóxicos, y acumularse en órganos que son utilizados para la alimentación de los consumidores, donde también pueden causar toxicidad (Abanto Aguirre, 2016).

2.6.2. Origen antropogénico

a) Origen por medio de las actividades mineras y refinería

La industria minera es una de las actividades económicas de mayor tradición contaminante, la cual es mayoritariamente metálica y se dedica principalmente a la producción de cadmio. Esta actividad tiene un alto impacto ambiental, ya que afecta desde el subsuelo hasta la atmosfera, incluyendo suelos y cuerpos de agua. Debido al procesamiento de los recursos minerales, se han generado grandes cantidades de residuos sólidos, líquidos y gaseosos que han ocasionado una gran cantidad de sitios contaminados (Amaya, y otros, 2008)

b) Origen por medio de agua de riego y productos químicos

Según Cuenca (2012), la utilización de fertilizantes, principalmente sintéticos, constituye un riesgo de contaminación por metales pesados a los acuíferos subterráneos, concretamente cuando sus aplicaciones se realizan sin la orientación técnica, como el balance de nutrientes. Estas aguas contaminadas luego son utilizadas para el riego de los cultivos. La fertilización fosforada es una de las principales fuentes del Cd, porque la principal materia prima de estos fertilizantes es la roca fosfórica, constituidos principalmente por apatita, que contiene fosforo y Cd, este último en cantidades que varían entre 8 y 500 mg/kg (Bonomelli, Bonilla, & Valenzuela, 2003).

2.7. Variedades de cacao

2.7.1. Cacao nacional

El cacao fino y de aroma tiene características distintivas de aroma y sabor buscadas por los fabricantes de chocolate. Representa únicamente el 5% de la producción mundial de cacao. Ecuador, por sus condiciones geográficas y su riqueza en recursos biológicos, es el productor por excelencia de Caco Arriba fino y de aroma (63% de la producción mundial) proveniente de la variedad Nacional cuyo sabor ha sido reconocido durante siglos en el mercado internacional. Este tipo de grano es utilizado en todos los chocolates refinados. Sin embargo, los que muchos no saben que el chocolate fino se distingue por su pureza, específicamente, el sabor y fragancia que el cacao tiene (ANECACAO, 2015).

Del total de la exportación ecuatoriana se estima que un 75% es caco fino de aroma mientras que el restante 25% pertenece a otras variedades como el CCN51. Ecuador se posiciona como el país más competitivo de América Latina en este campo seguido de lejos por Venezuela, Panamá y México, que son países que poco a han incrementado su participación en el mercado mundial del caco fino en grano (ANECACAO, 2015).

2.7.2. CEN-51

Los frutos tienen una coloración rojiza en su estado de desarrollo y en su madurez. Contienen cantidades de grasa, por lo que define sus propios nichos de mercados.

Es una variedad que se caracteriza por su capacidad productiva, siendo esta cuatro veces mayor a las clásicas producciones y a su vez por ser resistente a las enfermedades (ANECACAO, 2015).

*2.8. **C**omposición química del cacao*

La composición química de los gramos de cacao depende de varios factores entre los que puede citar: Tipo de cacao, origen geográfico, grado de madurez, calidad de la fermentación y el secado y además el subsiguiente procesamiento de los granos. Los principales constituyentes químicos del cacao son: agua, grasa, compuestos fenólicos, materia

nitrogenada (proteínas y purinas, incluyendo teobromina y cafeína, almidón y otros carbohidratos además de materia orgánica (Wakao, 2002).

2.9. Manejo postcosecha

2.9.1. Fermentación

La fermentación es un proceso bioquímico y microbiológico que se lleva a cabo dentro como fuera de la semilla en la que ocurren cambios en la estructura y se forman compuestos precursores del color, sabor y aroma del cacao (Wacher, 2011). Los microorganismos se encargan de descomponer el mucilago (pulpa blanca y azucarada que envuelve los granos), luego por efecto de compuestos aromáticos aumenta la temperatura y se produce la muerte del embrión y se inicien los cambios bioquímicos y enzimáticos dentro de la almendra que van a ser los responsables de la formación de los compuestos precursores del sabor a chocolate (Cubillos, Merizalde, & Correa, 2008).

2.9.2. Secado natural o tradicional

Es el procedimiento más común empleado por los agricultores mediante la utilización de tendales, pero su uso depende de la época y la zona, (puede variar entre cinco y seis días). Los tendales pueden ser de cemento los cuales deben tener una ligera pendiente para facilitar el drenaje, el otro tipo es de caña picada sobre montículos de arena para lo cual se utiliza la caña de bambú que resulta económico para el productor del cultivo de cacao. En el primer día de secado se aconseja extender los granos en una capa gruesa de unos 8 cm de espesor, para ir disminuyendo su espesor los días siguientes (Cubillos, Merizalde, & Correa, 2008).

Otro tipo de tendal son las denominadas marquesinas que son de madera o de caña con un caballete sobre el cual se despliega una lámina plástica térmica transparente para evitar las lluvias y bajas temperaturas.

2.9.3. Causas de contaminación en el secado tradicional

Una práctica que se debe erradicar es el uso de las carreteras asfaltadas para el secado de cacao, puesto que el asfalto contiene metales pesados que dañan la calidad, así mismo el humo de los escapes de los automotores contaminan el cacao, los cuales se adhieren trastornando los sabores y adquiriendo un olor indeseable. Por otro lado, la presencia de

cadmio puede darse más frecuentemente cuando se trabaja cerca de áreas urbanas en las que aumentan la posibilidad de contaminación con residuos de combustible y otros materiales contaminantes. La primera posibilidad para disminuir la contaminación con cadmio es por tanto usar lotes limpios, alejados de carreteras, basurales y ciudades (INIAP, 2015).

2.9.4. Secado artificial

Se realiza mediante el uso de secadoras y por lo general se las utiliza en zonas donde no es posible realizar el secado natural debido a la baja incidencia de la luz solar directa. Es de mencionar que las condiciones que se obtienen con el secado artificial no son las mismas que proporciona el secado natural, lo único que garantiza es un rápido secado del producto. En el caso del uso de secado artificial debe iniciarse con una temperatura no mayor a 35 grados centígrados (Cubillos, Merizalde, & Correa, 2008).

2.10. El cadmio en el cacao

Los metales pesados se conocen desde hace mucho tiempo como contaminantes de difícil solución que, una vez que ingresan en los suelos agrícolas y a la cadena alimenticia, permanecen por mucho tiempo en el sistema. Los valores tolerables en presencia de metales pesados varían entre pocos miligramos hasta solamente microgramos en el producto final comercial, estos rangos extremadamente bajos vuelven todavía más complicada la comercialización. El cadmio (Cd) es tal vez el metal pesado con más atención por su relación con una serie de trastornos, incluidos el cáncer, y por su extremadamente bajo valor de tolerancia en productos derivados del cacao; investigaciones por parte de la Unión Europea establecieron un intervalo de aceptación entre 0,2-0,5 mg/kg de este metal en productos de chocolate y cacao en polvo (INIAP, 2015).

El rango tolerable de Cd, según la organización mundial de la salud es de 7 mg por kg de peso corporal/semana, es decir, 60-70 mg por día para adultos (Orozco Aguilar & López Sampson, 2015). El cacao tiene aparentemente mayor predisposición para absorber cadmio, pues los estudios y muestreos consistentemente encuentran mayor concentración en el chocolate terminando en comparación con otros alimentos y bebidas.

El cadmio en el fruto del cacao se distribuye de manera desigual; en una investigación realizada en Ecuador se ha encontrado que la mayor cantidad de cadmio se acumula en el

jugo y la pulpa (mucílago) del cacao. Este cadmio puede moverse hacia la testa y almendra del cacao y terminar finalmente en el chocolate. Estrategias sencillas tales como lavar la pulpa del grano antes del proceso de fermentación, pueden eliminar cantidades importantes de contaminantes sin afectar la calidad del grano fermentado y secado (INIAP, 2015).

2.11. Técnicas analíticas disponibles para determinación del cadmio en alimentos

2.11.1. Espectrofotometría de absorción atómica

En química analítica, la espectrometría de absorción atómica es una técnica recomendada para determinar la concentración de un elemento metálico determinando en una muestra. Puede utilizarse para analizar la concentración de más de 62 metales diferentes en una disolución. La técnica hace uso de la espectrometría de absorción para evaluar la concentración de un analito en una muestra se basa en gran medida en la ley de Beer-Lambert (Sayet, 2013).

2.11.2. Espectrometría de absorción atómica con llama (F-AAS)

El espectrómetro de absorción atómica de llama (FAAS) permite la detección y determinación de metales en cualquier tipo de muestra industrial siempre y cuando pueda ser solubilizada. Los límites de detección en este caso son del orden de la ppm (partes por millón). Esta técnica analítica está especialmente indicada para determinar elementos alcalinos, alcalinotérreos y metales pesados presentes en cualquier tipo de muestra susceptible de ser disuelta (Sayet, 2013).

2.11.3. Espectrometría de absorción atómica con horno de grafito (GFAAS)

El espectrómetro de absorción atómica con horno de grafito (GFAAS), también llamada con atomización electrotérmica, permite trabajar con muestras de volumen muy reducido (interior a 100 µL) o directamente sobre muestras orgánicas líquidas. Habitualmente se analizan muestras de material biológico de origen clínico (sangre, suero, orina, biopsias hepáticas, etc.). Por su elevada sensibilidad (niveles de ppb), la técnica se aplica en la detección de metales en productos de alta pureza, como, por ejemplo: fármacos, alimentos (peces y carne) y productos industriales, y también en aguas de bebida y de acuíferos (determinación de la presencia de Cu, Cd, Pb, As, Hg, etc.) (Sayet, 2013).

2.11.4. Espectrometría de absorción atómica con generación de hidruros (HG-AAS)

Es una técnica mono elemental restrictiva a elementos refractarios, que presenta una alta sensibilidad, pero sujeta a interferencias químicas debidas a altas concentraciones de los metales de transición, aunque controlando la acidez del medio y la concentración de $NaBH_4$, son dos factores que permiten reducir al mínimo dichas interferencias (Sayet, 2013).

2.11.5. Espectrometría de emisión atómica

La espectrometría de emisión es una técnica espectroscópica que analiza las longitudes de Espectrometría Atómica de Emisión con Plasma de Acoplado por Inducción (ICP-AES onda de los fotones emitidos por los átomos o moléculas durante su transición desde un estado excitado a un estado de inferior energía. Cada elemento emite un conjunto característico de longitudes de onda discretas en función de su estructura electrónica. Mediante la observación de estas longitudes de onda puede determinarse la composición elemental de la muestra (Sayet, 2013).

2.11.6. Espectrometría de emisión atómica con llama (F-AES)

Presenta la ventaja que la llama actúa como fuente, no necesitando como los métodos de absorción una lámpara diferente para cada elemento. La calidad del monocromador no tiene que ser tan alta para alcanzar el mismo grado de selectividad, pero también sufre interferencias químicas semejantes (Sayet, 2013).

Técnica con gran aceptación hoy en día, que está justificada por las características analíticas de la misma:

- Un gran número de elementos determinables (>70)
- Una reproducibilidad de hasta 0,3% en los mejores casos
- Buena exactitud
- Técnica multielemental
- Pocos efectos de matriz o químicos
- Una dinámica lineal de concentración cubriendo varios ordenes de magnitud.

El plasma acoplado por inducción (ICP) tiene una excelente reputación con respecto a los efectos de matriz, particularmente cuando se compara con métodos alternativos como la Espectroscopia de Absorción Atómica (AAS). Sin embargo, los efectos de matriz pueden ser observados en ICP-AES, aunque usualmente la magnitud del efecto es baja. En el caso de disoluciones, el concepto de matriz incluye no disolventes ácidos u orgánicos, debido a que su naturaleza y concentración pueden influir en la intensidad de la señal del analito (Sayet, 2013).

2.11.7. Espectrometría de masas con plasma acoplado por inducción (ICP-MS)

Esta técnica de análisis elemental e isotópico se ha venido imponiendo para las más diversas aplicaciones en las últimas dos décadas. Esto se debe principalmente a su capacidad de discriminar isotopos y sus bajos límites de detección, que pueden llegar a ser inferiores a los 10-6 mg/L Con la Espectrometría de Masas medimos la relación masa/carga de los iones producidos en un Plasma Óptico de Acoplamiento Inductivo ICP-MS, tiene escasas interferencias de matriz, las cuales se pueden corregir con el uso de patrón interno (Sayet, 2013).

2.12. Método de determinación de cadmio en muestras biológicas (almendras de cacao)

2.12.1. Digestión ácida

La digestión ácida es el método tradicional utilizado en la preparación de varios tipos de muestras a fin de transferir por completo los analitos en disolución para que puedan ser analizados en forma líquida mediante técnicas analíticas como la espectrometría de absorción atómica y la paleografía. En esencia, el objetivo de todo proceso de digestión acida por lo tanto es la solución completa de analitos y la descomposición total de la muestra evitando la pérdida o contaminación de la sustancia de interés. Los métodos de digestión se usan para reducir interferencias debido a la presencia de materia orgánica y convertir los metales a una manera en que se pueda analizar (generalmente el metal puro) (Sayet, 2013).

En la mayoría de casos la digestión es llevada a cabo con ácido nítrico, ya que es adecuado para la extracción de diversos metales, además de que los nitratos proporcionan una buena matriz para las determinaciones mediante espectrometría de absorción atómica, sin embargo algunas muestras necesitan de la adición de diferentes ácidos fuertes tales como el ácido

perclórico, ácido sulfúrico o ácido clorhídrico para producir una digestión acida lo suficientemente agresiva para lograr una digestión completa. Aunque en algunos casos estos ácidos pueden interferir en el análisis de algunos metales, y todos ellos proporcionan una matriz más pobre para realizar un análisis espectrométrico (Sayet, 2013).

Este método hace necesario reducir al máximo la manipulación y los tiempos de proceso a fin de asegurar una digestión simple, reproducible y segura, además de la intervención de factores como la presión y la temperatura, siendo este último el determinante de la calidad en el proceso de digestión. También se hace conveniente llevar a cabo la digestión en un sistema cerrado, ya que, al contrario de un sistema abierto, esté no está limitado por el punto de ebullición de la solución de ácido. Una de las técnicas analíticas más empleadas para el análisis de muestras previamente preparadas mediante digestión acidad es la espectrometría de absorción atómica (AA). La cual es una técnica para determinar la concentración de un elemento metálico determinado en una muestra y se basa en la propiedad de los elementos para absorber longitudes de onda únicas (Sayet, 2013).

La preparación de muestras mediante digestión acida no solo está limitada al análisis dentro del laboratorio, sino que se aplica también en muchos otros casos como por ejemplo en la determinación de toxicidad en las muestras de suelos, en el campo de la minería, en el análisis de muestras biológicas, metalúrgicas, farmacéuticas, de alimentos y del medio ambiente, convirtiéndose así en un método fundamental y practico (Sayet, 2013).

2.12.2. Procedimiento por vía seca (AOAC 999.11).

Este procedimiento se lleva a cabo según dos procedimientos:

a. Elevadas temperaturas: Se realiza en un horno mufla y en varias etapas. La primera consiste en un secado a temperaturas que oscilan entre 105 y 150°C, luego de una pre-calcinación entre 200 y 400°C para finalmente proceder al calcinado principal entre 450 y 550°C.

Si no se desean determinar elementos volátiles, el calcinado principal se puede realizar a temperaturas próximas a los 800°C, Se debe poner especial cuidado en no elevar la temperatura en demasía puesto que se pueden formar compuestos refractarios difíciles de disolver posteriormente por los métodos tradicionales. Las cenizas resultantes se pueden

disolver en ácidos o mezclas de ellos. Se emplean habitualmente HCL, HNO3 y H2SO4. Cuando la muestra tiene cantidades importantes de fosfatos y uratos, es recomendable el empleo final de agua regia como disolvente (Sayet, 2013).

La principal ventaja de este método es su simplicidad y las desventajas están relacionadas con las perdidas por volatilización, largos tiempos de calcinación y contaminación causada por las impurezas introducidas por el aire y el container empleado para la calcinación como el caso del vidriado con oxido de Ti y Zn en los crisoles de porcelana (Sayet, 2013).

a. Bajas temperaturas: Las temperaturas empleadas son de 100 a 200°C y se calcinan entre 1 y 5 g de muestra en una atmosfera de oxígeno generada por un campo magnético de alta frecuencia. Es útil para aquellos casos en que se desea evitar pérdidas de elementos volátiles como Pb y Cd.

CAPÍTULO III

3. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Tipo de investigación

El presente proyecto será una investigación cualitativa, de tipo exploratoria documental.

3.1.1. Investigación exploratoria

"Los estudios exploratorios se realizan cuando el objetivo es examinar un tema o problema de investigación poco estudiado, del cual se tienen muchas dudas o no se ha abordado antes. Es decir, es decir cuando existen ideas vagamente relacionadas con el tema" (Hernández Sampieri, Fernández , & Baptista, 2006, págs. 100,101).

3.1.2. Investigación documental

En la investigación se analizará un tema que afecta a nivel mundial y se centrará en la región amazónica del Ecuador, acerca de la cual existen insuficientes reportes bibliográficos por el poco desarrollo de técnicas de análisis para la evaluación de cadmio en el cacao; por tanto, se deberá analizar bibliografía a nivel mundial para posteriormente proponer técnicas que se apliquen en la Región Amazónica.

3.1.3. Métodos de la investigación

Los métodos de la investigación del presente trabajo se constituyen por métodos cualitativos a través de un estudio descriptivo comparativo, en el cual se sintetizará la información de fuentes bibliográficas sobre métodos de determinación de cadmio en muestras de cacao, análisis e interpretación de resultados y finalmente sugerencias de prevención.

3.1.3.1.Áreas con presencia de cadmio en las principales zonas cacaoteras de la Región Amazónica.

Para dar cumplimiento al primer objetivo se investigó mediante la base de datos Docplayer y Science Direct, artículos científicos de gran relevancia que presenten estudios de

contenidos de cadmio en suelos y almendras de cacao en los principales sistemas de cultivos cacaoteros en la región Amazónica:

- Avances del monitoreo de presencia de cadmio en almendras de cacao, suelos y aguas en Ecuador" (INIAP, 2010).
- Concentración de cadmio en almendras de cacao y su relación con el cadmio del suelo en el sur de Ecuador (Chavez, y otros, 2015).
- Propiedades del suelo y factor agronómico que afectan las concentraciones de cadmio en granos de cacao: una encuesta a nivel nacional en Ecuador (Arguello , y otros, 2018).

3.1.3.2.Protocolo de análisis de cadmio aplicado a suelos y almendras de cacao.

Para cumplir con el segundo objetivo se va a tomar en cuenta los métodos de análisis disponibles para la determinación de cadmio en suelos y almendras de cacao. Para ello se investigó diferentes bases de datos como Dialnet, Scielo, Science Direct, Slideshare, para finalmente tomar como metodología la guía titulada:

- Guía metodología para el muestro y detección de cadmio en suelos, agua, fertilizantes, almendras de cacao y productos derivado (Sayet, 2013).

3.1.3.3.Discutir estrategias destinadas a prevenir y reducir la incidencia de la acumulación de cadmio en las almendras de cacao.

Para poder realizar la investigación se buscó información en Base de Datos como Dialnet, Scielo, Science Direct, para el cual se encontró ciertos Artículos Científicos de los años 2019, donde se puedo extraer información necesaria sobre estrategias de prevención para concentración de Cadmio en las almendras de Cacao.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS.

4.1. Conocer las áreas con presencia de cadmio en las principales zonas cacaoteras de la región amazónica.

4.1.1. Zonas cacaoteras (2008-2009)

En el estudio titulado: "Avances del monitoreo de presencia de cadmio en almendras de cacao, suelos y aguas en Ecuador" realizado en el año 2008-2009, se determinó la presencia de cadmio en los principales sistemas de cultivo de cacao en Ecuador.

Tabla 4-4. Tipos de muestras colectadas en las regiones del Ecuador durante la época seca del 2008-2009 en fincas cacaoteras del Ecuador.

REGIÓN	PROVINCIA	No. Muestras Colectadas			
		SUELOS	TEJIDOS	CENTRO ACOPIO	AGUA
Litoral	Esmeraldas	9	11	6	-
	Manabí	14	17	2	-
	Los Ríos	18	20	13	1
	Guayas	26	37	8	11
	Sta. Elena	3	5	-	-
	El Oro	19	19	5	10
Sierra	Azuay	2	2	-	3
	Bolívar	7	7	1	-
	Cotopaxi	3	3	-	-
	Pichincha	2	4	2	1
	Sta. Domingo	5	5	-	-
Amazonía	M. Santiago	1	2	-	-
	Napo	8	8	4	-
	Orellana	12	12	6	1
	Pastaza	3	3	-	-
	Sucumbíos	6	6	7	-
	Z. Chinchipe	4	4	-	1
	Subtotal	142	165	54	28
	Total	568	803	108	28
	Suma			1507	

Fuente: (INIAP, 2010)

Se realizó un muestreo a nivel nacional de suelo de 142 fincas cacaoteras de 25 organizaciones beneficiarias de la Agencia de Cooperación Alemana (GTZ) establecidas en

las regiones litoral, sierra y oriente (Mite , Carrillo , & Durango, 2010). En este estudio se colectaron 568 muestras de suelo en época seca en el año 2008 para la determinación de los contenidos totales de Cd (**Ver Tabla 4**).

La **Figura 1**, indica los resultados de contenidos de Cd en suelo de las provincias en la región Amazónica, dando valores que sobresalen en las provincias de Napo (NA4), Zamora (ZC4) y Sucumbíos (SU3), con valores de 1,73;1,24 y 1,15 mg kg^{-1} en los primeros 5 cm de profundidad. Se identifica la presencia en la parte superficial de Cd, probablemente se debe al metal pesado presente en la materia orgánica, que proviene de las mismas plantas de cacao, las cuales son absorbidas por estratos inferiores y que al pasar el tiempo han reciclado primero la biomasa y luego por el desprendimiento de las hojas que se han depositado sobre la capa superficial del suelo. También podría deberse a la absorción del elemento que se encuentran en la atmosfera y haya sido absorbida por las plantas. Por lo tanto, las mayores concentraciones de cadmio disponibles se encontraron en la parte superficial del suelo. (Mite , Carrillo , & Durango, 2010)

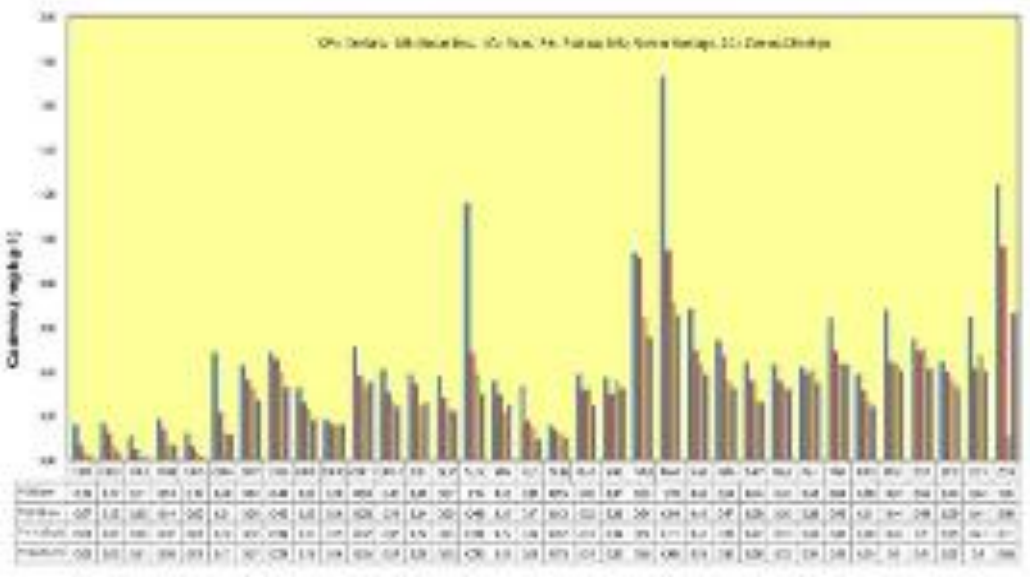


Figura 1-4. Cultivo de cacao en seis provincias del Oriente y contenidos de Cd en 34 suelos en diferentes profundidades.

Fuente: (Mite F. , 2010).

En las muestras de almendras de cacao analizadas en las 17 provincias se encontró un promedio en 0,84 mg kg-1 de Cd y analizando la región amazónica se obtiene un promedio de 0,82 mg kg^{-1} de Cd, encontrando el mayor promedio de concentración de Cd en las almendras de cacao en las provincias de Orellana, Z. Chinchipe, Napo y Sucumbíos con 1,15;1,05;0,80 y 0,77 mg kg-1 (Ver tabla 5).

Tabla 5-4. Valores promedio, mínimo de contenidos de Cd registrados en muestras de almendras de cacao provenientes de fincas de 17 provincias del Ecuador. Época seca 2008.

REGIÓN	PROVINCIA	PROMEDIO	MÍNIMO	MÁXIMO	MUESTRAS
		mg kg -1			N°
Litoral	Esmeraldas	0,96	0,30	1,96	11
	Manabí	1,06	0,23	3,46	14
	Los Ríos	0,57	0,23	1,23	16
	Guayas	1,04	0,24	3,57	37
	Sta. Elena	1,32	0,84	1,65	5
	El Oro	1,35	0,47	4,08	18
Sierra	Azuay	1,07	0,44	1,70	2
	Bolívar	0,53	0,15	0,84	7
	Cotopaxi	0,5	0,16	0,72	3
	Pichincha	0,21	0,19	0,38	2
	Sta. Domingo	0,68	0,38	1,26	5
Amazonía	M. Santiago	0,47	0,39	0,71	3
	Napo	0,80	0,20	2,18	8
	Orellana	1,15	0,34	2,18	12
	Pastaza	0,68	0,38	1,25	3
	Sucumbíos	0,77	0,24	1,24	6
	Z. Chinchipe	1,05	0,31	2,13	4
	PROMEDIO	0,84	0,32	1,80	

Fuente: (Mite F. , 2010)

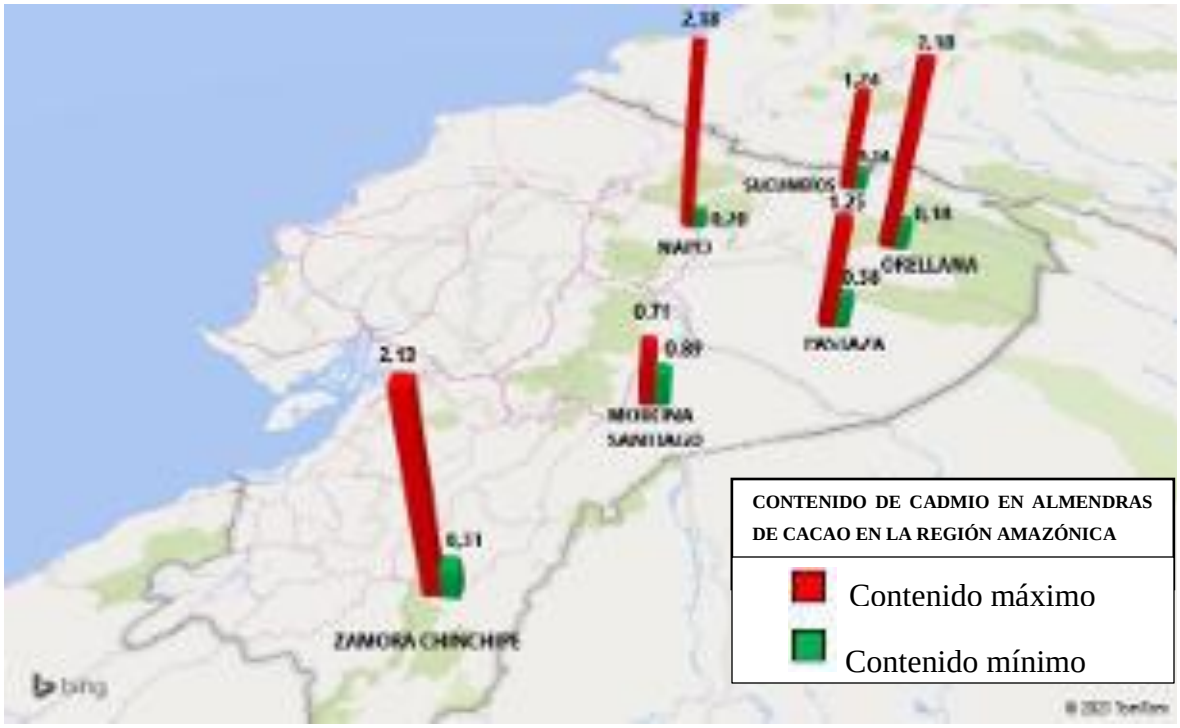


Figura 2-4. Mapa de contenido máximos y mínimos de Cd en almendras de cacao en zonas cacaoteras en la Región Amazónica.

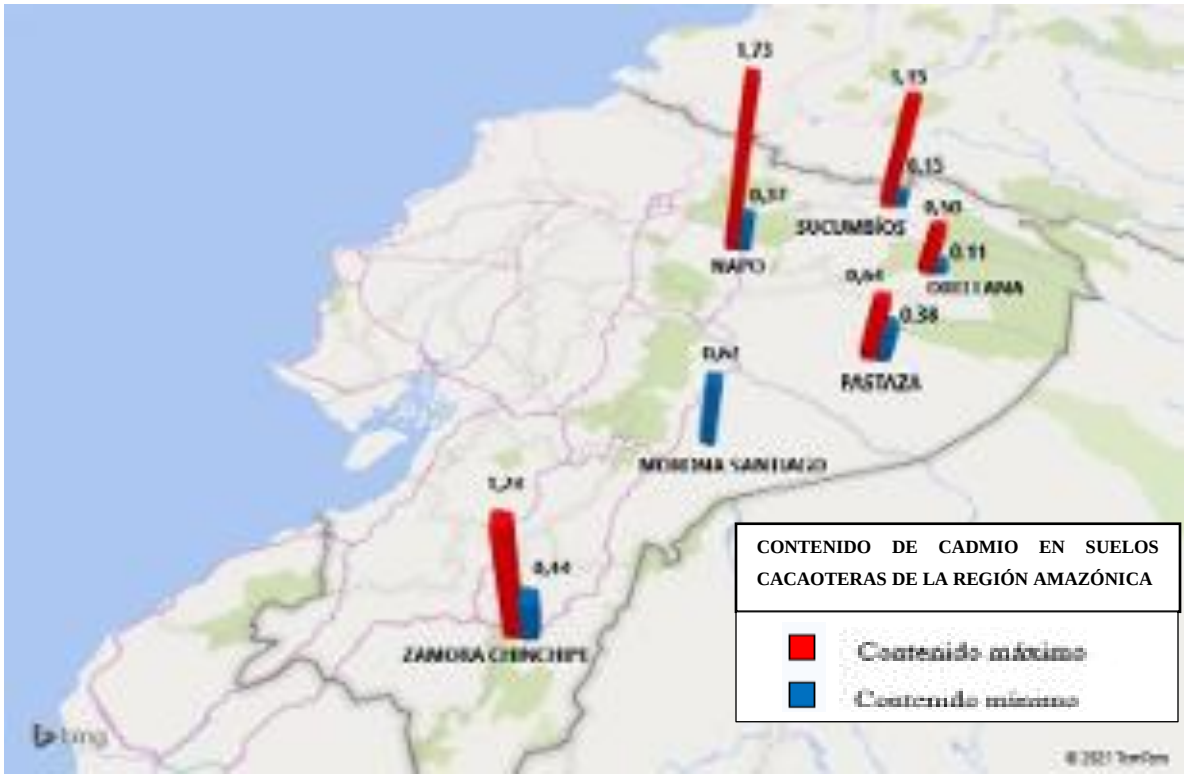


Figura 3-4. Mapa de contenido de Cd en suelos en los primeros 5 cm de profundidad en zonas cacaoteras de la Región Amazónica

Fuente: INIAP-GTZ-ANECACAO-CORPEI.

La comparación de los mapas en la región Oriental sobre los contenidos de Cd del suelo y almendras evidencia que los contenidos de cadmio tienen mayor presencia de concentración de Cd en las provincias de Sucumbíos, Orellana, Zamora Chinchipe y Napo, por lo tanto, en base a la información presentada se observa una evidente relación respecto en el comportamiento de la disponibilidad de Cd en suelos y en las almendras.

4.1.1. Zonas cacaoteras (2018)

Principales áreas de producción de cacao en Ecuador en el año 2018. **(Ver Tabla 6).**

Tabla 6-4. Zonas Cacaoteras a nivel nacional en Ecuador.

Provincias	Área de producción de cacao por provincia (ha)	% del total del área	# de fincas muestreadas	# de muestras por provincia	% del total de muestras	Altura promedio (m)	Precipitación promedio (mm/año)
Azuay	6785	1.21%	2	17	3.04%	103	1375
Bolívar	11030	1.97%	1,97	8	1.43%	232	1875
Cañar	7780	1.39%	5	18	3.21%	153	1264
El Oro	21613	3.86%	5	16	2.86%	27.3	625
Esmeraldas	71390	12.8%	32	93	16.6%	121	2704
Guayas	101724	18.2%	25	108	19.3%	55.5	1403
Los ríos	125839	22.4%	30	121	21.6%	56.1	2001
Manabí	125839	22.5%	34	110	19.6%	77.9	1075
Morona Santiago	661	0.12%	3	9	1.61%	283	3250
Napo	11082	1.98%	6	10	2.32%	479	3865

Orellana	8155	1.46%	3	2	1.61%	298	3417
Pastaza	432	0.08%	3	21	1.79%	700	4200
Santo Domingo	26923	4.81%	1	5	0.36%	411	1875
Sucumbíos	20587	3.68%	6	20	3.75%	299	3774
Zamora Chinchipe	898	0.16%	2	5	0.89%	813	1875
Otras provincias	14526	2.60%	0	0	-	-	-
Zonas no delimitadas	5006	0.8%	0	0	-	-	-
Total	559617	100%	159	560	100%		

Fuente: (Arguello , y otros, 2018)

Respecto al área de producción de cacao en la región amazónica se obtiene un total de 41815 ha, siendo las provincias de mayor área de producción de cacao Sucumbíos con 20587 ha, Napo 11082 ha y Orellana 8185 ha **(Ver Tabla 6-4).**

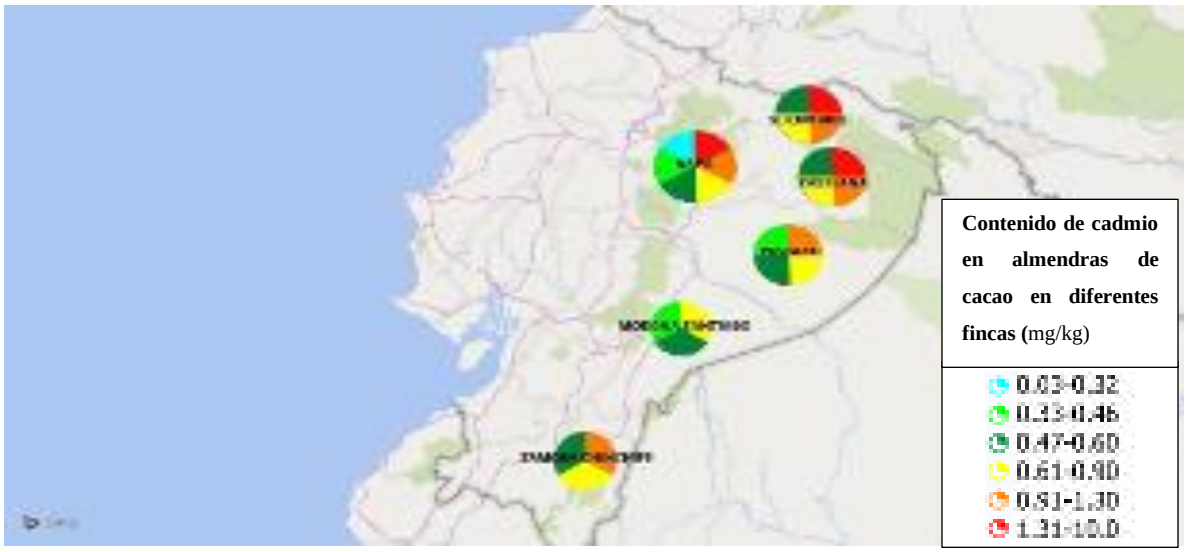


Figura 4-4. Mapa basado en contenido de Cd en almendras de cacao en diferentes fincas de la región Amazónica.

Fuente: (Arguello , y otros, 2018).

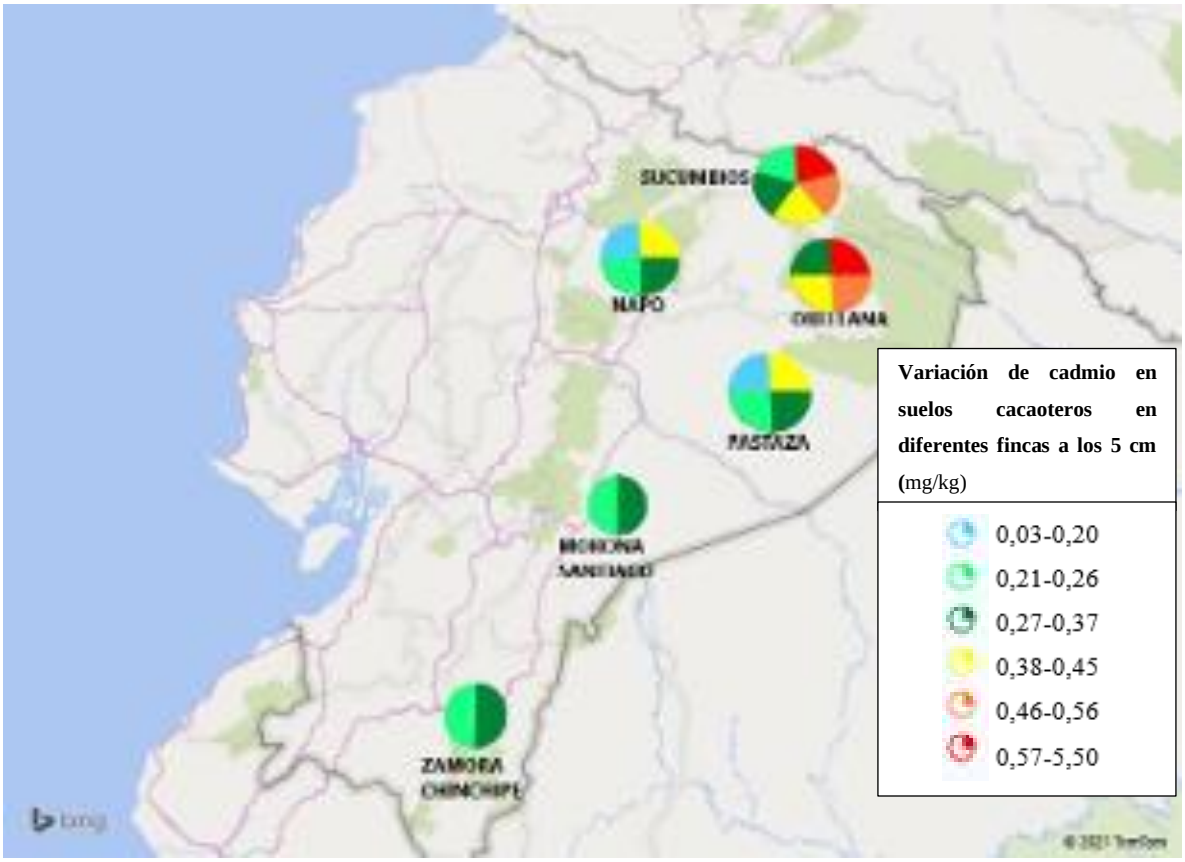


Figura 5-4. Mapa basado en la concentración de cadmio en suelos cacaoteros de la región amazónica en kos primeros 5 cm de profundidad.

Fuente: (Arguello , y otros, 2018).

En el mapa basado en almendras de cacao se observó que las concentraciones van desde menor concentración de cadmio que se identifica con el color verde, en un intervalo desde 0,03-0,32 mg/kg, hasta mayor concentración representada con el color rojo en un intervalo desde 1,35- 10 mg/kg, analizando únicamente los resultados la región Amazónica se evidenció que las provincias como Sucumbíos, Orellana, Napo presentan altas concentraciones de cadmio. Sin embargo, las zonas de color rojo de mayor concentración de Cd, en el mapa basado en suelos donde se cultiva cacao en la Amazonía, se encuentran en las provincias de Sucumbíos y Orellana. Por lo tanto, se confirma que la bioacumulación de cadmio en las almendras de cacao tiene cierta relación con el origen de los suelos cacaoteros amazónicos.

Además, según Arguello et al. (2018) en los resultados de los análisis de correlación se indica que las concentraciones de Cd en almendras están fuertemente correlacionadas con el contenido total de cadmio en el suelo. La relación de la acumulación de cadmio por las almendras de cacao se ve influenciada por la cantidad y disponibilidad de cadmio presente en el suelo. A niveles más altos de contenido total de cadmio presentes en el suelo representan un mayor potencial para la absorción de cadmio (Meter, Atkinson, & Laliberte, 2019).

4.2. Plantear un protocolo de análisis de cadmio aplicado a suelos y almendras de cacao.

De acuerdo con los resultados obtenidos, se presenta la siguiente propuesta para la evaluación de cadmio en suelos amazónicos y en almendras de cacao, en el cual se plantea seguir el siguiente protocolo (PEE/B/14) acorde con formatos determinados por Agrocalidad.

4.2.1. Procedimientos de muestreo de suelo, almendras de cacao.

4.2.1.1.Muestreo de suelos

Respecto al análisis de suelos, el muestreo se considera el procedimiento más frágil, por lo tanto, para obtener resultados íntegros requiere que la muestra sea representativa del lote muestreado. Obtener información confiable es el objetivo de un muestreo de suelo. No obstante, las muestras se recaudan para conseguir información respecto al cuerpo de suelo más grande denominado "población", tales muestras podrán ser o no representativas de la misma, dependiendo de cómo hayan sido seleccionadas y colectadas (Barrueta, 2013).

Cabe mencionar que el muestreo y trabajo analítico pueden parecer costosos; sin embargo, la biorremediación de un suelo contaminado con cadmio puede ser más costosa, esto va a depender si excede las concentraciones aceptables, por lo que la concentración de cadmio en los granos de cacao dependerá de cuan contaminada se encuentre el suelo (Barrueta, 2013).

Barrueta (2013) afirma que "El análisis de suelo permitirá medir el contenido de metales pesados para llegar a tomar las medidas adecuadas" (p.12).

A continuación, según Barrueta (2013) las condiciones de la toma y composición de muestras:

- Las muestras individuales deben representar un mismo espesor del suelo y tener un mismo volumen.
- Las operaciones de cultivos, pendientes y los accidentes naturales deben ser evitados siendo atravesados transversalmente por los que se recomienda realizar muestreo al azar.
- Seleccionar un número adecuado de muestras individuales de acuerdo con las dimensiones (volumen) del área y la variabilidad de la propiedad estudiada.
- En el material de la muestra compuesta no deben producirse interacciones químicas.
- Para cumplir con el objetivo del análisis de suelo se debe seleccionar una muestra compuesta que debe ser homogénea. Un campo debe dividirse en diferentes áreas, estratificarse, en función de las heterogeneidades que presente. Definidas estas áreas homogéneas, se constituyen muestras compuestas de cada unidad homogénea por separado (Barrueta, 2013).

Según Barrueta (2013) los principales interrogantes en la toma de muestra de suelo son:

- ¿Qué tipo de muestreo y patrón de recorrido se debe usar?
- ¿Qué número de muestras/superficie se debe tomar?
- ¿Cuál es la profundidad apropiada para la toma de muestras en suelos de cacao?

Tipo de muestreo

El objetivo de un muestreo es obtener datos representativos. En este aspecto Barrueta (2013) afirma:

El muestreo representativo es de vital importancia en la calidad y la utilidad de los datos analíticos. Por la tanto, el muestreo representativo debe tener niveles de precisión y exactitud los cuales garanticen que una muestra o grupo

de muestras sea representativa y proporcione con precisión las características del sitio y que los resultados sean reproducibles. Ambos parámetros están determinados por el número de muestras tomadas en el campo. Según como se eleva el número de muestras, aumenta la exactitud y la precisión. El diseño de un muestreo puede ser (i) a juicio (no probabilístico) o bien, (ii) aleatorio simple, estratificado o sistemático (probabilístico) (pág.13).Referente a los

cultivos de cacao, el método de Muestreo Aleatorio Estratificado (MAE) es utilizado para la determinación del número de muestras requerido por Provincia y se ha utilizado con asignación proporcional, que consiste en conocer el número de productores de cacao por provincia y región, mediante el empleo de referencias estadísticas, en las que se basa el MAE (Barrueta, 2013).

En el análisis de suelos de cacao se ha utilizado para distintas investigaciones el método de MAE, por ello el ingeniero Barrueta (2013) menciona que "en este tipo de muestreo (Figura 1), la población en estudio se subdivide en estratos o subgrupos que tienen cierta homogeneidad en el terreno y en cada estrato se realiza un muestreo aleatorio simple" (p.13).

Aplicar este método de muestreo requiere de un requisito principal que es el conocimiento previo de información que permita subdividir la población (Barrueta, 2013).

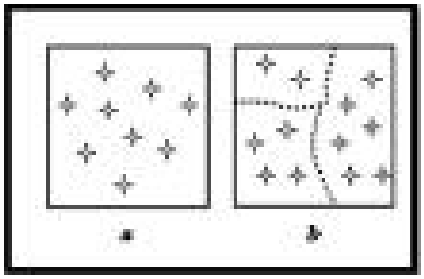


Figura 6-4. Tipo de muestreo: A) aleatorio simple B) aleatorio estratificado.

Fuente: (Barrueta, 2013).

Por ejemplo, la división se puede realizar con base en la topografía, los horizontes del suelo, los cambios de color en el suelo, el crecimiento irregular de las plantas, etc. Esto garantiza que los puntos de muestreo se encuentren repartidos a más uniformemente toda la zona, en función al tamaño del estrato y permite además conocer de forma independiente las características particulares de cada estrato. Es recomendable para áreas mayores de diez hectáreas y cuando el terreno no es uniforme (Barrueta, 2013, p. 14).

Consideraciones generales para el muestreo de suelos

Para garantizar una adecuada manipulación de las muestras in situ, es fundamental que las muestras no sufran cambios significativos en sus característica físicas, químicas y biológicas por lo tanto es indispensable escoger atentamente los recipientes que contendrán las dichas muestras, en segundo lugar, se debe evitar la pérdida de analitos en los diferentes trasvases a los que son sometidos dichas muestras y por último, se recomienda preservar las muestras siguiendo los procedimientos adecuados (Barrueta, 2013).

Según Barrueta (2013) los puntos clave para la manipulación de las muestras son los siguientes:

- Definir el volumen de la muestra a extraer previo a una consulta en el laboratorio donde se llevará en análisis.
- Se debe considerar que los recipientes deben ser compatibles con la naturaleza de la muestra, por lo que se recomienda que sean nuevos y que los recipientes mantengan una limpieza adecuada y de tal manera cumplir con las exigencias del análisis a realizar.
- Se sugiere que durante el trasvase de las muestras se debe evitar la pérdida de analitos.
- Las muestras deberán ser preservadas para evitar cambios en la composición anteriores al análisis.

Materiales y herramientas necesarias para el muestreo de suelos

Barrueta (2013) sugiere que para el cumplimiento del muestreo es de suma importancia asegurarse que las herramientas estén completamente limpias, libres de superficies oxidadas y que no contengan residuos de otros materiales, también ser fabricados de materiales inertes de modo que no alteren la composición de las muestras. A continuación, se mencionan las herramientas y materiales de uso común en el muestreo de suelos.

- Mapa o croquis del predio
- Machete
- Barreno holandés, pala o palín
- Cuchillo
- Balde plástico o galvanizado limpio para recolectar las submuestras

- Marcadores
- Etiquetas o tarjetas para la identificación de las muestras
- Hilo
- Marcadores de tinta permanentes para identificar las muestras
- Libreta de campo
- GPS

Recipientes o Envases para las muestras

De acuerdo con el planteamiento de Barrueta (2013), las muestras en los recipientes deben poseer un tamaño idóneo, asimismo de ser sellables, herméticos, resistentes y permitir un inteligible etiquetado. Además, el material de envasado se optará teniendo siempre en cuenta que las características de las muestras no han de sufrir variación alguna. En base a la naturaleza de los parámetros cuya determinación se persigue, se considerarán los siguientes factores:

- Posibilidad de contaminación de la muestra.
- Perdida de compuestos químicos por difusión a través del material de envasado.
- Alteración de las características de la muestra a través de, por ejemplo, la introducción de aire o la modificación de la estructura del suelo.

Para la toma de muestras de suelo en la detección de metales pesados entre los recipientes más adecuados y habitualmente utilizados son las siguientes (Barrueta, 2013).

- Bolsa de polietileno
- Frascos de plástico PET[1]
- Frasco de cristal con tapón de PTFE[2] u otro material polimérico
- Camisa metálica con recubrimiento interior de plástico
- Camisa de plástico

Los envases de polietileno requieren una limpieza con HNO_3 y agua destilada antes de la toma de las muestras. (Barrueta, 2013)

Instrucciones para el muestreo de suelos:

A continuación, se mencionan las tareas a realizar previo al muestreo.

Definir las unidades de muestreo

Previo a realizar el muestreo se requerirá la siguiente información al dueño o encargado de la parcela: Lugar de muestreo, tipo y edad del cacao, manejo agronómico, sistema de cultivo, entre otros, que podrían ayudar a comprender mejor los resultados alcanzados (Barrueta, 2013).

Además, se debe solicitar o elaborar un mapa general, donde se recalque la forma y superficie del sector a muestrear, con estos antecedentes se realizaran un croquis del lugar, esta información ayudara a comprender mejor los resultados (Barrueta, 2013).

Es fundamental delimitar las áreas de muestreo lo más homogénea posible, para consecutivamente pasar a identificarlas, observando los límites que estos suelos tienen dentro del paisaje y los diferentes tipos de suelos en la parcela (Barrueta, 2013).

Definir el patrón de recorrido

Como señalo Barrueta, (2013)" El patrón de recorrido para la extracción de submuestras al azar dentro de las parcelas de cacao puede ser en cuadricula, en zigzag, en diagonales o sinuosa" (p.16).

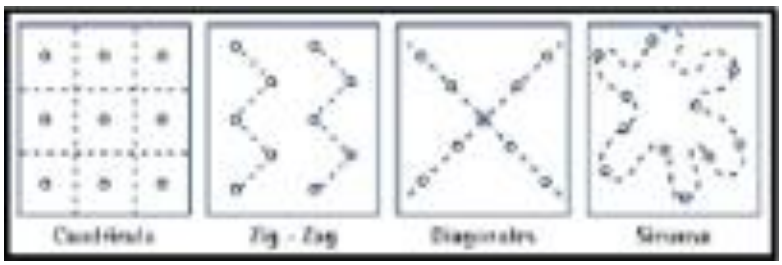


Figura 7-4. Patrón de recorrido.

Fuente: (Barrueta, 2013).

Podría decirse que "En la mayoría de los casos se utilizan el patrón de recorrido en zigzag, tomando submuestras en casa vértice donde cambie la dirección del recorrido" (Barrueta, 2013, p. 17).

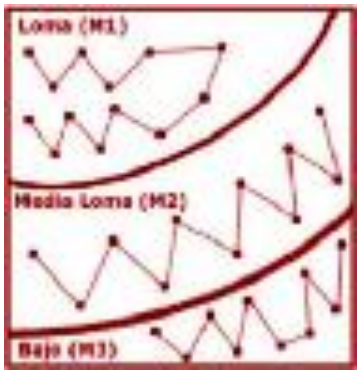


Figura 8-4. Patrón de recorrido en zigzag**.**

Fuente: (Barrueta, 2013).

Determinar la intensidad de muestreo o puntos mínimos de muestreo:

Una vez definido el plan o patrón de recorrido, se establece la cantidad mínima de puntos para la obtención de las submuestras, algunos laboratorios consideran la cantidad mínima de puntos de muestreo según el Cuadro 01. No obstante, en algunas metodologías para el muestreo de suelos empleados por las investigaciones realizadas la COOPAIN en Tingo María, Huánuco, y el CITE cacao en San Martin, se han considerado la toma de 20 submuestras de suelos por parcela (Barrueta, 2013, p. 17).

Tabla 7-4. Cantidad mínima de puntos de muestreo.

SUPERFICIE	CANTIDAD MINIMA DE PUNTOS A MUESTREAR
0 a 2 Hectáreas	9
2 a 6 Hectáreas	13
7 a 14 Hectáreas	17
Más de 14 Hectáreas	21

Fuente: ANDES COTROL Analítico Muestreo en Predio.

Determinar la profundidad de muestreo

En general se recomienda una profundidad de 20 cm para la gran mayoría de cultivos agrícolas. Esto coincide con la mayor concentración de raíces en el suelo (Barrueta, 2013).

Para las plantaciones de cacao, es necesario tomar dos tipos de muestra, una de 0-20 cm y otra de 20-40 cm de profundidad; en la mitad de la gotera del árbol (la sombra proyectada por el árbol a mediodía), según la guía de muestreo de suelos de la Universidad Nacional de Colombia. Está confirmado según investigaciones ejecutadas en Ecuador y Perú con relación a suelos de cacao, donde el cadmio se concentra en los primeros 20 cm de suelo. También se puede tomar muestras de suelo a profundidades mayores, dependiendo de la intensidad de la contaminación del suelo (Barrueta, 2013).

Procedimiento de muestreo de suelos de cacao

Uno de los instrumentos más confiable para muestreo es el Barreno Tubular debido por su 1uniformidad en la profundidad y el tamaño reducido de las muestras que se obtienen, sino se cuenta con un Barreno, también se puede obtener una muestra empleando una pala (Barrueta, 2013).

El muestreo se llevará a cabo en un recorrido en forma de zigzag, esto permitirá que el muestreo sea representativo por lo que cubrirá toda el área del lote, tomando en cada punto una muestra simple (submuestra). Lo cual posteriormente se mezclará con las demás muestras a cada profundidad y así luego llevarlas a su previo análisis (Barrueta, 2013).

Pasos para tener en cuenta en el muestreo de suelos de cacao (Barrueta, 2013).

a. Señalar los puntos a muestrear creando un trazo en zigzag. La muestra se tomará a la mitad de la proyección de la copa del árbol de cacao.
b. Para cada sitio de muestreo es necesario remover las plantas y hojarasca fresca (1-3 cm) de un área de 40 cm x 40 cm.
c. Enterrar el barreno o pala y transferir 100 a 200 g de suelo a un balde que este limpio libre de impurezas, en el cual se marca la profundidad de muestreo cuando se toman muestras en más de un sustrato. Se recomienda limpiar las herramientas después de tomar cada submuestra.

No obstante, al utilizar una pala se debe hacer un hueco en forma de "V" ancho de una pala de 0-20 cm de profundidad, y ágilmente tomar de una de las paredes una porción de 10x10x 3 cm para transferir a un balde de plástico limpio. Se deberá repetir esta operación para cada uno de los puntos del zigzag.

d. Preparación y cuarteo de la muestra compuesta. Después de obtener las submuestras, se procede a mezclar bien el suelo extraído.

   El proceso de mezclado y cuarteo se realiza sobre un plástico limpio, libre de impurezas con el fin de realizar la homogenización en seguida se distribuye formando un círculo que se divide en cuatro cuadrantes. Se descartan los cuadrantes opuestos y los otros se vuelven a mezclar. El procedimiento se repite hasta reducir la muestra a 1.5 o 2 kg.

Se recomienda eliminar los restos de materia orgánica, piedras o gravas que se encuentre presentes durante el proceso de cuarteo o reducción de la muestra, pues estos materiales no se incluyen en el análisis (Barrueta, 2013).

Envasado e identificación de la muestra

Luego de haber hecho el cuarteo transferir la cantidad resultante de 1 kg de suelo a una doble bolsa plástica limpia. Colocando la identificación entre la bolsa, para luego sellarla de manera segura (Barrueta, 2013).

Según Barrueta (2013) las muestras deben ser envasadas y etiquetadas conforme a las siguientes especificaciones:

- El envase debe ser cerrado de manera hermética garantizando su protección hasta su llegada al laboratorio.
- Los recipientes deber ser etiquetados inmediatamente después de recoger cada una de las muestras
- La etiqueta debe colocarse en un lugar adecuado y que sea visible.
- La etiqueta que este en la muestra debe incluir por lo menos su clave de identificación, lugar del muestreo, fecha y hora del muestreo, nombre del propietario, ubicación, edad del cultivo, así como las iniciales de las personas que toma la muestra.

- Las muestras deberán ser identificadas de acuerdo con el croquis del terreno en el que se definieron las unidades de muestreo (sectores homogéneos), para su respectivo envió al laboratorio.

Conservación de la muestra

Las muestras de suelos contenidos en bolsas plásticas o frascos de polietileno totalmente estériles y herméticos deben ser refrigeradas, manteniendo una temperatura ≤6 ˚C, hasta el análisis, el mismo que deberá realizarse a la brevedad. Para fines de almacenamiento por más tiempo, las muestras se deben secar y conservarse a temperatura ambiente hasta por 3 meses (Barrueta, 2013, p. 21).

Cuidados y recomendaciones para la toma de muestras

Cabe mencionar que durante el muestreo de suelo es necesario evitar fumar, comer o manipular otros productos (cal, fertilizantes, cemento, etc.) para no causar alteraciones en la muestra y obtener resultados erróneos.

A continuación, se menciona uno de los pasos a seguir para la realización del muestro:

- Evitar tomar muestras cerca de los caminos canales, viviendas, linderos, establos, saladeros, estiércol, estanques o lugares donde se almacenen productos químicos, materiales orgánicos, o en lugares donde hubo quemas recientes.
- Lavarse bien las manos antes de realizar el muestreo.
- No utilice bolsas o costales donde pueda haber restos de impurezas.
- No muestrear después de un riego o lluvia, esperar por lo menos dos días.
- Es conveniente esperar de 1 a 2 meses donde se haya fertilizado o encalado el suelo.
- Para facilitar la toma de la muestra la humedad debe ser moderada.
- Evitar el uso de elementos metálicos porque pueden contaminar las muestras
- Identificar correctamente sin mezclar áreas y profundidades y no colocar la tarjeta en contacto directo con la muestra húmeda.
- Entregar al laboratorio un plano con las áreas de muestreo identificadas el N ˚ y una breve historia de estas.

4.2.2. Muestreo de almendras de cacao

Un correcto muestreo representativo del lugar es fundamental para la determinación de cadmio para ello en este capítulo se ha tomado en consideración el plan de muestreo de alimentos y la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 177:95 sobre muestreo de granos de cacao.

Cabe destacar que evaluar la concentración y presencia de cadmio es el objetivo principal del muestreo de las almendras de cacao.

Consideraciones para el muestreo de almendras de cacao

Basado en el Reglamento CE N ˚ 333/2007, en cual se establecen métodos de muestreo para el control de contaminantes químicos como el cadmio, por lo que se subdividirán los lotes de gran tamaño en sublotes, a condiciones de que estos puedan separarse físicamente (Barrueta, 2013).

En el caso de productos que se comercialicen a granel como los granos de cacao, será de aplicación:

Tabla 8-4. Subdivisión de los lotes en sublotes con productos que se comercializan en partidas a granel.

Peso del lote (en toneladas)	**Peso de los sublotes o número de sublotes**
≥ 1500	500 toneladas
>300 y < 1500	3 sublotes
≥100 y ≤300	100 toneladas
<100	.....

Fuente: Reglamento CE N°333/2007

"La muestra global será de al menos 1 kg o 1 L, salvo cuando no sea posible, como ocurre, por ejemplo, cuando la muestra se compone de un envase o cuna unidad" (Barrueta, 2013, p. 38).

El número mínimo de muestras elementales que deberán tomarse del lote o sublote. (Ver tabla 8.)

Tabla 9-4. Número mínimo de muestras elementales que deben tomarse del lote o sublote**.**

Peso o volumen del lote/sublote (en kg o lb)	Número mínimo de muestras elementales que deben tomarse
<50	3
≥50 y ≤ 500	5
>500	10

Fuente: Reglamento CE N°333/2007

Barrueta (2013) señala que "las muestras elementales tendrán un peso análogo. El peso de una muestra elemental deberá ser de 100 g o 100 ml como mínimo, el cual da como resultado una muestra global de al menos 1 kg aproximadamente" (p.37).

Materiales y herramientas necesario:

- Saca muestras o caladores
- Divisores: Divisor tipo boerner o cuarteador para reducir la muestra.
- Bolsas de polietileno
- Ligas o grapas para el sellado de las bolsas

Instrucciones para el muestreo de almendras de cacao:

Basado en la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 177:95

- Si el cacao en grano que se va a muestrear se encuentra en envases de distintos tamaños se procederá agrupar en cada lote envases de una misma capacidad.
- El número de muestras elementales extraídas completamente al azar, y serán tomadas en gramos.
- Las muestras elementales que en conjunto forman la muestra global, podrán ser de aproximadamente 100 a 1000 gramos, las mismas que serán divididas se acuerdo al método de cuarteo, hasta obtener una muestra reducida de 1500 a 2000 gramos.
- Las muestras en los lotes para producto envasado o empacado se obtendrán realizando un muestreo al azar, para lo cual se enumerarán las unidades del lote se utilizarán los números aleatorios y el número de muestras. La muestra se adquirirá de los envases, introduciendo el calador en un solo punto, este deberá penetrar por lo menos hasta la mitad diagonal del saco y por lo menos en tres puntos seleccionados al azar

- Cuando por condiciones del sitio de almacenamiento no sea posible movilizar el producto, se podrá muestrear las caras visibles del lote.
- Siempre se utilizará un sistema de muestreo aleatorio, para lo cual el número de muestras serán divididas para el número de caras visibles del lote
- Cuando el producto este en movimiento, durante las operaciones de carga y descarga, la toma de unidades de muestreo se hará a base del tiempo que va a durar el producto en movimiento y se dividirá dicho tiempo para el número de muestras elementales que se deben tomar. El resultado indica la frecuencia de la extracción.
- El lote de productos a granel se reducirá matemáticamente a sacos de (n) kilogramos y se aplicará la siguiente tabla:

Tabla 10-4. Número de muestras elementales de cacao en grano.

Tamaño del lote (número de sacos)	**Número mínimo de muestras elementales**
2 a 8	2
9 a 15	3
16 a 25	5
26 a 50	8
51 a 90	13
91 a 150	20
151 a 280	32
281 a 500	50
501 a 1200	80
1201 a 3200	125
3201 a 10000	200
10001 a 35000	315
35001 a 150000	500
150001 a 500000	800
mayor a 500001	1250
• El tamaño de la muestra puede cambiar dependiendo del nivel inspección acordado entre comprador y vendedor. Muestreo por atributos.	

Fuente: NTE INEN 177:95 Muestreo de granos de cacao.

Procedimiento para el muestreo de almendras de cacao

Para realizar el muestreo de las almendras de cacao se procederá cuando estas se encuentren almacenadas en sacos y mediante la utilización de caladores cónicos de mano (Barrueta, 2013).

Las dimensiones de los caladores cónicos serán acorde:

- Tamaño del grano.
- Tomando en cuenta el material: El tejido del empaque, prestar atención que sus bordes laterales no tengan filo, para evitar al máximo daños al empaque y posteriores derrames al grano
- La longitud del muestreador: Esta debe ser la idónea para alcanzar el centro del envase y el grosor tal que admita el libre flujo del grano.



Figura 9-4. Técnica de extracción de muestras**.**

Fuente: (Barrueta, 2013).

El muestreo se realizará de la siguiente manera:

- Ubicar la bolsa al calador para recibir la muestra.
- Colocar el calador al centro del saco con una inclinación que permita que el grano fluya con rapidez, tanto cuando se tenga acceso únicamente a la parte lateral, como cuando se tenga acceso a la parte frontal.
- Posteriormente cuando el calador se encentre ya insertado en el saco, se procede a drenar el grano con movimientos ligeros hacia dentro y hacia afuera, los números de movimientos deberá ser igual para todos los sacos, para lograr una distribución

igual de proporción de grano en cada saco calado y que la muestra sea más representativa.

- Cuando se culmine la extracción de porción de grano requerida, se deberá cerrar la abertura realizada por el calador corriendo los hilos de la trama del saco con la punta del muestreador en forma de cruz con el objetivo de evitar derrames del grano.
- Si la muestra representativa alcanza un valor mayor a los 1500 g se realizará la homogenización y reducción, mediante la técnica de cuarteo utilizando un equipo de Boerner.
- Una vez realizada la reducción de la muestra se la dividirá en 2 partes iguales como mínimo, posteriormente se las envasará en bolsas de polietileno o de material impermeable que se encuentre completamente limpio y seco, finalmente debe cerrarse herméticamente para impedir la influencia del medio ambiente (Barrueta, 2013).

4.2.3. Desarrollo de la técnica analítica:

4.2.3.1. Preparación de disolución estándar de cadmio

La disolución estándar de cadmio se deberá preparar, disolviendo 1000 mg de Cd en 14 mL de agua desionizada + 7 mL de HNO_3 al 65%, en un matraz cónico de 1 L, luego diluir al volumen con agua desionizada, con ello se obtendrá un patrón de 1000 mg/L (Barrueta, 2013).

Curva de calibración para cadmio

- Para la elaboración de la curva de calibración, se tendrá en cuenta el instrumento de espectrometría a utilizar, sin embargo, a continuación, se menciona un ejemplo de preparación de las soluciones estándar para realizar la curva de calibración en un espectrómetro de absorción atómica.
- Tomar 5 ml de un patrón de cadmio 1000 mg/ L, colocar en un matraz aforado de 500 ml, y aforar con HNO3 al 1%. Esta solución de 10 mg/L de cadmio será rotulado como “disolución madre”.

- De la solución madre se tomarán alícuotas de 1,2,3,5,7,10,13 y 15 ml que serán aforados a 100 ml con agua destilada en HNO3 al 1% para preparar patrones de 0,1;0,2;0,3;0,5;0,7; 1,0; 1,3 y 1,5 mg/ L de cadmio, respectivamente. Preparar un blanco que contenga agua destilada en HN03 al 1% (Barrueta, 2013).

4.2.3.2. Procedimientos para la preparación de las muestras para la determinación de cadmio

Preparación de las muestras de suelos:

Dispersar las muestras de suelo en bandejas y secarlas al ambiente bajo sombra, luego realizar la molienda en un mortero porcelana y pasar por tamiz de 150 μg.

ISO 11466

- Pesar aproximadamente 3 g de la submuestra de suelo con una precisión de 0,001 g, en el balón de reacción de 250 mL.
- Humedecer el suelo con 0,5-1 mL de agua destilada o desionizada y añadir agitando, 21 mL de ácido clorhídrico seguido de 7 mL de ácido nítrico, gota a gota si es necesario para evitar la producción de espuma.
- Añadir 15 mL ácido nítrico al balón reacción y dejar en un reposo durante 16 h. y cubrir con una luna de reloj.
- Aumentar lentamente la temperatura de la mezcla de reacción hasta condiciones de reflujo y mantenerla durante 2 h.
- Una vez transcurridas las 2h, dejar enfriar la muestra.
- Luego decantar el extracto sobrenadante sobre papel de filtro Whatman 40, recoger el filtrado en un matraz aforado de 100 mL. Hacer pasar a través del papel de filtro la totalidad del extracto y lavar el residuo insoluble con el mínimo volumen de ácido nítrico.
- El extracto preparado de esta manera es adecuado para la determinación de metales mediante los métodos apropiados (Barrueta, 2013).

Preparación de las muestras de almendras de cacao:

- Previo a la digestión de las muestras, se requiere retirar el mucílago de las muestras de cacao fresco, y luego secar en el horno a 75 °C durante 24 horas. Proceder de la misma forma con las muestras de almendras de cacao procedente de los centros de acopio.
- Descascarillar las almendras con ayuda de una navaja de material adecuado y estéril que no contamine las muestras.
- Triturar las muestras, de este triturado se tomará 0,5 g.
- Tomar 0,5 g de la muestra y se somete a una solución acida nítrico perclórico, en una relación de extracto 1:4 4 (según Carrillo, 2003. Citado por MITE. 2010). Los tejidos vegetales molidos deben ser mezclados con HNO3 (8 ml) y HCLO4 (2 ml) durante una hora y calentar a 180 °C por 90 minutos hasta la digestión total.
- Luego filtrar este extracto en balón de 50 ml y llevar a volumen con agua desionizada.
- El extracto obtenido puede ser leído en el equipo de espectrometría (Barrueta, 2013).

4.2.3.4. Procedimiento de análisis para la determinación de cadmio

Se propone utilizar la espectrofotometría de absorción atómica, la cual se fundamenta en la absorción de una luz monocromática a 228.8nm por los átomos libres de cadmio. El método involucra dos procesos: la atomización de la muestra mediante el horno de grafito y la absorción de radiación proveniente de una lámpara de cátodo hueco. Los cálculos deben ser realizados a través del método de la curva de calibración.

Procedimiento de muestreo de suelo en el cacao.

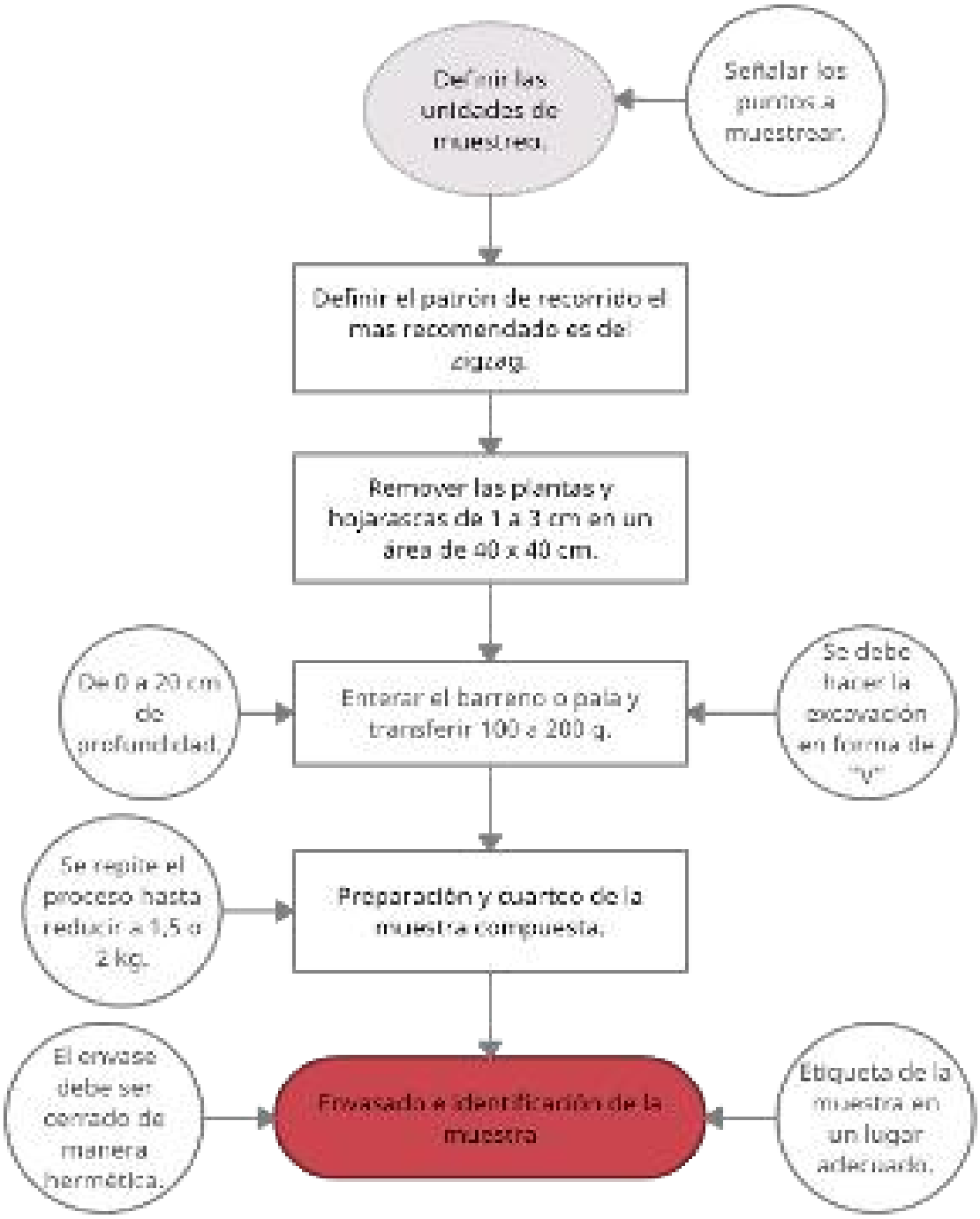


Figura 10-4. Flujograma de procedimiento de muestreo de suelos en el cacao.

Fuente: Elaboración propia de los autores utilizando paquete informático (creately, 2021)

Procedimiento para la preparación de las muestras de suelo para la determinación de cadmio.

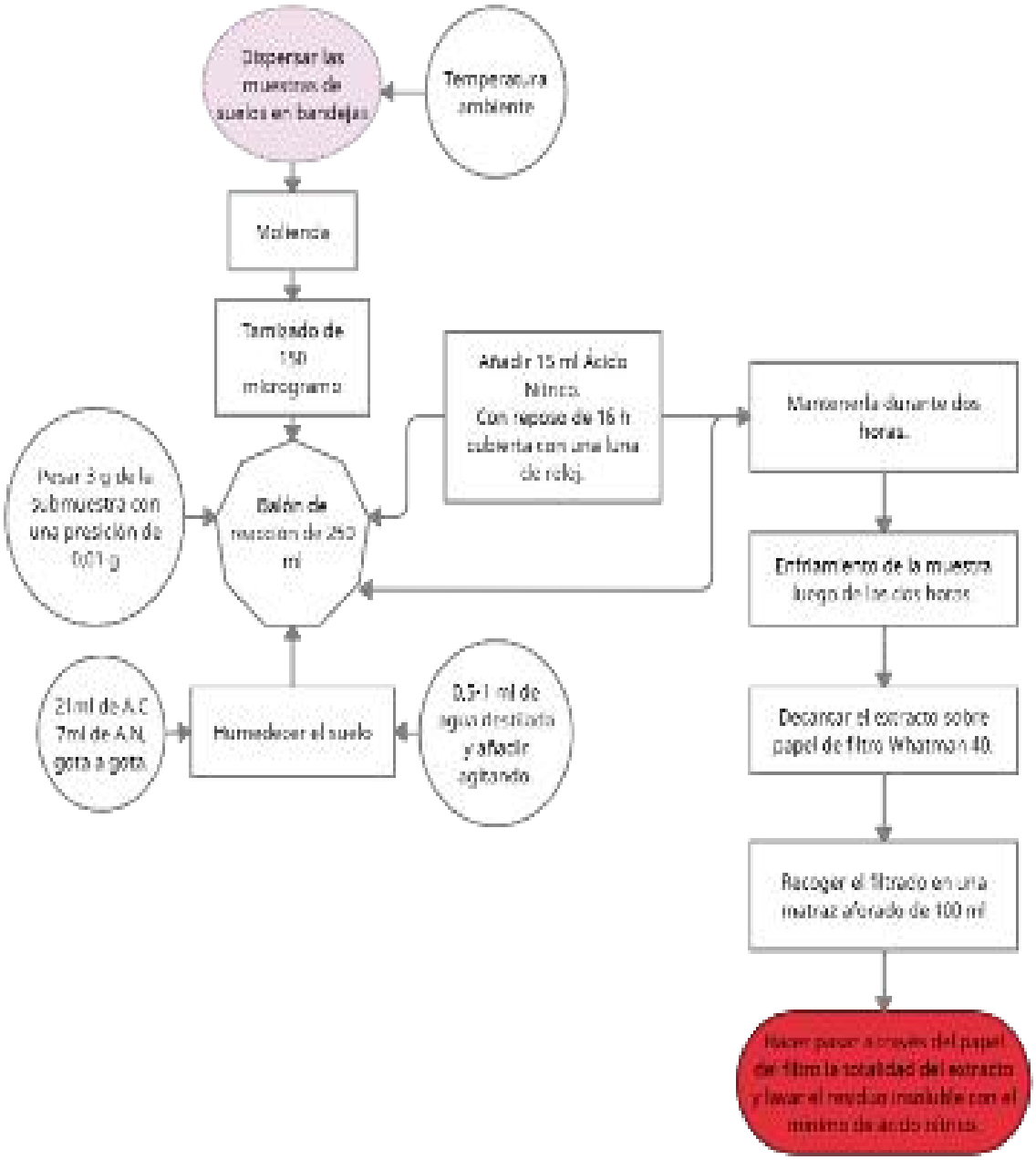


Figura 11-4. Flujograma del procedimiento de la preparación de muestras de suelos.

Fuente: Elaboración propia de los autores utilizando paquete informático (creately, 2021).

Procedimiento de muestro en almendras en el cacao y análisis para determinación de cadmio

En las figuras 12-4 y 13-4 se presentan los flujogramas para el muestreo y determinación de cadmio en almendras de cacao.

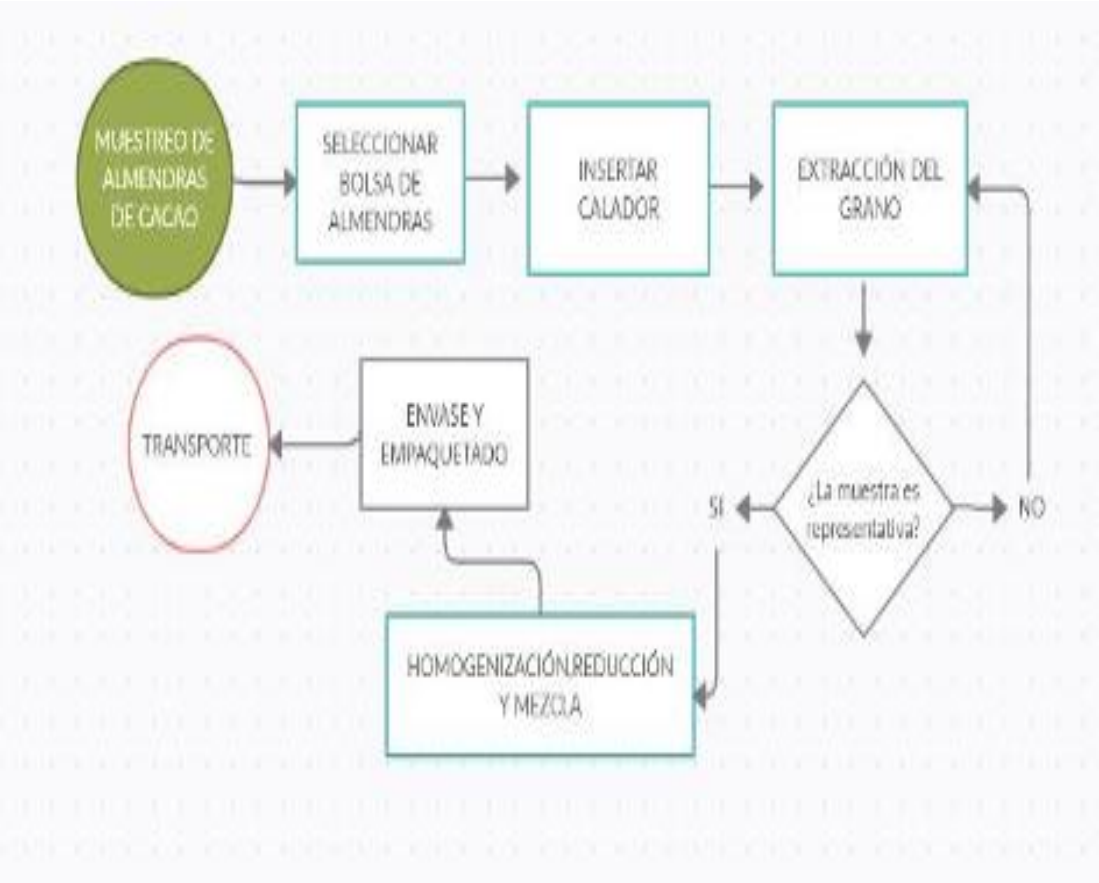


Figura 12-4. Flujograma de procedimiento de muestreo en almendras de cacao

Fuente: Elaboración propia de los autores utilizando paquete informático (creately, 2021).

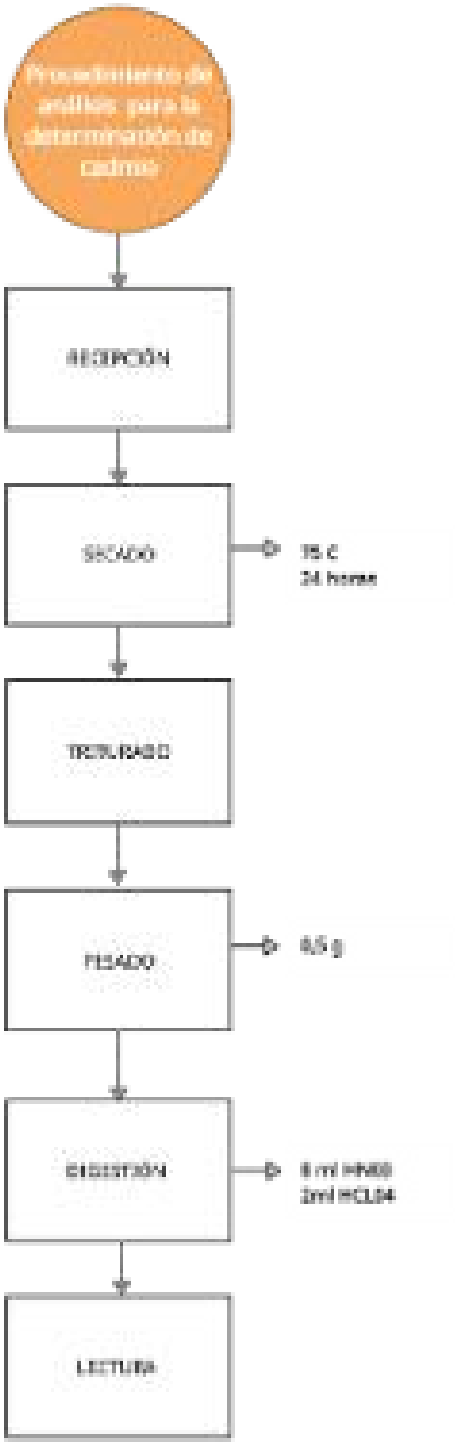


Figura 13-4. Flujograma de procedimiento de análisis de cadmio en almendras de cacao.

Fuente: Elaboración propia de los autores utilizando paquete informático (creately, 2021).

4.3. Estrategias destinadas a prevenir y reducir la incidencia de la acumulación de cadmio en las almendras de cacao.

Una vez investigado las distintas estrategias para prevenir y reducir el cadmio en las almendras de cacao, se tomó en consideración ciertas estrategias que servirán en la Amazonia donde se aplicara:

Para plantaciones nuevas es necesario seguir estas estrategias:

- Sembrar las plantaciones en suelos agrícolas que tengan menos de 14 mg/kg de cadmio (Cd) total.
- Por otro lado, es necesario en áreas que estén rotundamente alejadas a las carreteras para poder prevenir los gases de los vehículos que posiblemente pueden contener cadmio el cual pueden afectar a los cacaotales.

Para plantaciones ya instaladas es coherente seguir estas estrategias:

- Incrementar los niveles de zinc y manganeso en el suelo, se ha demostrado que cuando hay deficiencia de estos micronutrientes el cadmio tiene más probabilidades de ingresar a la planta y a la almendra del cacao.
- Para precipitar el cadmio se necesita aplicar niveles en bajas dosis (2 a 3 t/ha de dolomita) para incrementar lentamente el pH incorporar calcio y magnesio que son fundamentales para el crecimiento de cacao.
- El cadmio se encuentra como impureza de menor tamaño en las fosforitas de origen ígneo, por ello se debe evitar el uso de los fertilizantes y roca fosfórica sedimentaria.
- Está demostrado que en suelos bien provistos de nutrientes las probabilidades de bioacumulación del cadmio son menores. Además, se recomienda utilizar fertilizantes nitrogenados y potásicos por lo que es común que presenten muy bajos contenidos de cadmio y de preferencia abonos compuestos como el 20-20-20 (N-P_2O_5-K_2O), constatando el análisis de metales pesados.
- Para disminuir la disponibilidad de cadmio en el suelo por el mecanismo de absorción es necesario hacer una preparación y uso de carbono activado, utilizando biomasa residual o rastrojos de palma aceitera o cacao.

- Para la inmovilización del cadmio se debe aplicar vinaza (el concho de la destilación del mosto), como fertilizante líquido, rico como fuente de potasio.
- Para la captación del cadmio presentes en el suelo se recomienda utilizar micorrizas de preferencia nativas de la zona y otros biorremediadores.
- Aconsejar y Prohibir a los agricultores o campesinos el secado del cacao en las vías asfaltadas (IICA, 2017).

Al comparar los resultados obtenidos del presente estudio, Según Chávez (2019) menciona que la estrategia para la mitigación de cadmio en suelos de la Amazonía es la aplicación del biochar. El estudio se lo va a ejecutar en 11 fincas de los cuales 1 en la amazonia, el tiempo tardío va a ser de unos 3 años en donde serán monitoreadas las muestras (hojas, almendras, suelo) serán recolectadas periódicamente. Cabe mencionar que se realizó un invernadero con experimento biochar un trabajo realizado en cooperación con la Universidad de Medellín y EAFIT (Medellín), donde el Cd total y extraíble serán medidos en suelo y el material con mayor potencial será probado en campo.

Según FAO (2019) menciona que, dentro de las estrategias para inmovilizar el cadmio en el suelo, se ha demostrado que la aplicación de biochar reduce la biodisponibilidad del cadmio en las almendras de cacao. Por ello las tasas de reducción son comparables al encalado y tiene una influencia aditiva al encalado. Si bien, el carbón activado es una enmienda costosa para el suelo y no es beneficioso para los cacaoteros.

CONCLUSIONES

Las zonas de la Región Amazónica donde existe mayor presencia de contenido de cadmio en el suelo y almendras de cacao se encuentran en las provincias de Orellana, Sucumbíos y Napo.

Existe una relación significativa entre la concentración de cadmio en los suelos de la región amazónica y en las almendras de cacao; la mayor concentración de cadmio en suelo se encontró en las profundidades 0-5 cm.

El protocolo de análisis de cadmio aplicado a suelos y almendras de cacao debe incluir en ambos casos un muestreo, basado en técnicas establecidas, que garanticen representatividad; para el suelo, el muestreo debe ser aleatorio estratificado y las muestras deben ser trituradas y tamizadas; las almendras deben ser divididas en sublotes y se debe realizar un muestreo al azar de los granos, seguido de secado, molido y tamizado. Debe realizarse digestión ácida asistida por microondas de los sólidos pulverulentos de suelo y almendras y el análisis se deberá realizar por espectrofotometría de absorción atómica a 228.8 nm, con vaporización electrotérmica en horno de grafito para garantizar una adecuada sensibilidad; la concentración debe calcularse a través de una curva de calibración.

Los agricultores deben considerar como estrategias de prevención de contaminación del cacao por cadmio: conocer, en primer lugar, que la concentración de cadmio en los suelos donde se vaya a realizar la siembra de plantación de cacao sea inferior a 14 mg/kg de cadmio total y en segundo lugar no realizar el secado en las vías asfálticas, práctica muy común en la región amazónica que puede conducir a contaminación.

Para la mitigación de la contaminación por cadmio en suelos en la Amazonia ecuatoriana, es muy efectivo el tratamiento con “biochar” porque contribuye a inmovilizar los metales pesados como el cadmio y de esta manera se puede reducir su presencia en las almendras de cacao; el carbón activado también puede ser utilizado con estos fines, sin embargo, es una enmienda costosa y no resulta rentable.

RECOMENDACIONES

Dar seguimiento a esta propuesta de evaluación, prevención y mitigación de la contaminación por cadmio a las plantaciones de cacao de la Amazonía para llegar en unos años a evaluar lograr una mejor calidad en las producciones de cacao.

Generar confianza con los agricultores o dueños de fincas cuando se decida utilizar las estrategias planteadas con el fin de que se comprenda la necesidad de evitar la presencia de cadmio en las almendras de cacao y a su vez precautelar la salud del consumidor.

BIBLIOGRAFÍA

Abanto Aguirre, M. (2016). *Fuente fosfatadas en dos suelos en la concentración de cadmiofoliar en maíz bajo condiciones de invernadero.* UNAM, Puno,Perú. Recuperado el 16 de Diciembre de 2020, de https://bit.ly/2OQmGUv

Amaya, M., García, V., Félix, A., Barragán, C., MT, Tapia, A., & FJ. (2008). Biosorción de cobre en sistema por lote y continio con bacterias aerobias inmovilizadas en zeolita natural (clinoptilolita). *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 24(3):107-115. Recuperado el 16 de Diciembre de 2020, de https://bit.ly/2PEhcv1

Amores, F. (2012). *Cadmio en suelos, almendras de chocolates;Implicaciones para.*

ANECACAO. (2015). *Cacao nacional un producto emblematico del Ecuador*. Obtenido de http://www.anecacao.com/es/quienes-somos/cacao-nacional.html

Arguello , D., Chavez , E., Lauryssen , F., Vanderschueren, R., Smolders, E., & Montalvo , D. (2018). Soil properties and agronomic factor affecting cadmium concentrattions in cacao beans: A natiowide survey in Ecuador. *ELSEVIER*.

Arvelo, M., González, D., Maroto, S., Delgado, T., & Montoya, P. (2017). *IICA*. Obtenido de https://www.iica.int/es

Asamblea Nacional Constituyente. (2008). *Constitución de la República del Ecuador*. Obtenido de https://www.acnur.org/fileadmin/Documentos/BDL/2008/6716.pdf

Barrueta, S. (Diciembre de 2013). *slideshare*. Recuperado el 31 de Diciembre de 2020, de https://es.slideshare.net/RIICCHPeru/gua-metodolgica-muestreo-y-deteccin-de-cadmio

Bonomelli, C., Bonilla, C., & Valenzuela, A. (2003). Efecto de la fertilización fosforada sobre el contenido de cadmio en cuatro suelos de Chile(en línea) Pesquisa Agropecuária Brasileira. 38(10):1119-1186. Recuperado el 16 de Diciembre de 2020, de https://bit.ly/32CBzOd

CEPAL. (2015). *Vicepresidencia Republica del Ecuador* . Obtenido de https://www.vicepresidencia.gob.ec/wp-content/uploads/2015/07/Resumen-Cadena-de-Cacao-rev.pdf

Chavez, E., He, Z., Stoffella, P., Mylavarapu, R., LI, Y., Moyano, B., & Baligar, V. (2015). Concentración de cadmio en granos de cacao y su ralacion con el cadmio en suelo en el sur de Ecuador. (F.M.Tack, Ed.) *ELSEVIER*. Recuperado el 30 de DIciembre de 2020, de https://www.researchgate.net/publication/280124611_Concentration_of_cadmium_in_cacao_beans_and_its_relationship_with_soil_cadmium_in_southern_Ecuador

Consulting, C. (2020). *Proamazonia*. Obtenido de https://www.proamazonia.org/wp-content/uploads/2020/07/Presentaci%C3%B3n-institucional-v2-20200709.pdf

Corporación Fortaleza del Valle. (2015). El cacao ecuatoriano cuativa al mercado internacional.Obtenido de https://fortalezadelvalle.org/el-cacao-ecuatoriano-cautiva-al-mercado-internacional/#:~:text=La%20producci%C3%B3n%20cacaotera%20del%20Ecuador,para%20los%20negocios%20de%20exportaci%C3%B3n.&text=El%20cacao%20ecuatoriano%20es%20reconocido,chocolates%20finos

Cubillos, G., Merizalde, G. J., & Correa, E. (2008). *Manual de beneficio del cacao.* Medellin.

Cuenca. (2012). *Efecto de la materia orgánica y Fuentes de calcio en la toxicidad de cadmio en maíz (Zea mays L.) (en línea) Tesis. Magister Scientiae en suelos.* UNALM, Lima,Perú. Recuperado el 16 de Diciembre de 2020, de https://bit.ly/38xlFYX

Díaz , A. (Julio de 2018). *INIAP*. Obtenido de https://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/5446/1/Caracterizaci%c3%b3n%20de%20los%20suelos%20de%20la%20Amazon%c3%ada%20ecuatoriana.pdf

Europian Comission. European Food Safety Authority. (2013). COMMISSION REGULATION (EU) No 1881/2006 as regards maximum levels of cadmium in foodstuffs.

ESPOL. (2018). *EXPRESO.* Obtenido de http://www.espol.edu.ec/sites/default/files/docs_escribe/Cinco%20provincias%20con%20zonas%20cr%C3%ACticas%20de%20cadmio.pdf

FAO/OMS. (2015). *PROGRAMA CONJUNTO FAO/OMS SOBRE NORMAS ALIMENTARIAS COMITÉ DEL CODEX SOBRE CONTAMINANTES DE LOS ALIMENTOS.* Obtenido de ///C:/Users/Usuario/Desktop/codex%20amimentarius%20Cadmio%20inv

Hernández Sampieri, R., Fernández , C., & Baptista, P. (2006). Metodología de la Investigación. McGRAW-HILL.

IICA. (2017). *repositorio.* Obtenido de http://repositorio.iica.int/bitstream/handle/11324/6456/BVE18029639e.pdf;jsessionid=8B89A5CCC5DC9D9E28343676FDBAF528?sequence=1

INEN. (2019). *SERVICIO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN* . Obtenido de https://www.normalizacion.gob.ec/material-de-referencia-de-cadmio-en-cacao-en-proceso-de-certificacion-por-el-inen/

INIAP. (2010). AVANCES DEL MONITOREO DE PRESENCIA DE CADMIO EN LAS ALMENDRAS DE CACAO,SUELOS Y AGUAS EN ECUADOR. *XII CONGRESO ECUATORIANO DE LA CIENCIA DEL SUELO*, 4. Recuperado el 16 de Diciembre de 2020, de https://docplayer.es/amp/11429002-Xii-congreso-ecuatoriano-de-la-ciencia-del-suelo.html

INIAP. (2015). Obtenido de http://nla.ipni.net/ipniweb/region/nla.nsf/e0f085ed5f091b1b85257900005790

Korsezkwa, K. (2020). *Mundo Agropecuario*. Obtenido de https://mundoagropecuario.com/reducir-los-niveles-de-cadmio-en-el-cacao/

Martí, L., Troilo, S., Filippini, M., Salcedo, C., Bermejillo, A., & Valdés , A. (2008). Monitoreo de cadmio y plomo en los principales fungicidas cúpricos comercializados en Mendoza, Argentina (en línea). Obtenido de https://bit.ly/31KqOZ4

Martines Basto, G. R. (2013). *Determinacion de metales pesasdos cadmio y plomo en suelos y granos de cacao frescos y fermentados mediante espectroscopia de absorción atómica de llama.*

Mehlich, A. (1984). *Mehlich 3 soil test extractact a modification of Mehlich 2 extractant.Commun.Soil Sci. Plant Anal.*

Meter, A., Atkinson, R., & Laliberte, B. (octubre de 2019). *Cadmio en el cacao de America Latina y el Caribe-Análisis de la investigacion y soluciones potenciales para la mitigación.* (B. International, Ed.) Recuperado el 28 de Diciembre de 2020, de https://scioteca.caf.com/bitstream/handle/123456789/1505/Cadmio_en_el_cacao_de_America_Latina_y_el_Caribe.pdf

Miranda, F. (2019). Cacao el sabor dulce del Ecuador. *El productor* , 3-40.

Mite , F., Carrillo , M., & Durango, W. (2010). *Congreso Ecuatoriano de la Ciencia del Suelo.* Obtenido de http://www.secsuelo.org/wp-content/uploads/2015/06/6.-Francisco-Mite.-Cadmio.-INIAP.pdf

Mite, F. (2010). *Congreso Ecuatoriano de la Ciencia del Suelo* . Obtenido de http://www.secsuelo.org/wp-content/uploads/2015/06/6.-Francisco-Mite.-Cadmio.-INIAP.pdf

Núñez, L. T. (2015). *Misterio del Ambiente.* Obtenido de https://www.gob.ec/sites/default/files/regulations/2018-09/Documento_Registro-Oficial-No-387-04-noviembre-2015_0.pdf

Observatorio del cacao . (2016). Obtenido de http://www.observatoriodelcacao.com/origen/

Orozco Aguilar, L., & López Sampson, A. (2015). *Cacao y contenido de metales pesado.* Obtenido de https://www.researchgate.net/publication/281210344_Esquina_Tecnica_12_Agosto_2015_Cacao_y_contenido_de_metales_pesados

Ramírez, A. (2002). *sisbib.* Obtenido de https://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/anales/v63_n1/toxicologia.htm

Roberts, C. (01 de October de 2018). *Consumer Reports*. Obtenido de https://www.consumerreports.org/es/los-metales-pesados-se-relacionan-con-enfermedades-cardiacas-y-a/

Sayet. (2013). *Métodos de detección y análisis de cadmio en cacao*. Obtenido de https://es.slideshare.net/RIICCHPeru/guia-de-metodos-de-deteccion-y-anlisis-de-cadmio-en-cacao

Torres Quispe, N. (2018). *Evaluación de la concentración de metales pesados como A, Cu, Cd, Hg y Pb en el botadero de Cancharani de la ciudad de Puno(en línea).Tesis Ing Agro.* UNAP, Puno,Perú. Recuperado el 16 de Diciembre de 2020, de https://bit.ly/2IXnfIq

VIcepresidencia República del Ecuador. (07 de 2015). *Vicepresidencia.* Obtenido de https://www.vicepresidencia.gob.ec/wp-content/uploads/2015/07/Resumen-Cadena-de-Cacao-rev.pdf

Villavicencio, J. L. (2016). *Revista Naturaleza Interior*. Obtenido de https://www.naturalezainterior.org.pe/index.php/mundo-forestal/item/527-contenido-de-cadmio-en-el-cacao-preocupacion-mundial

Wakao. (2002). Estudio de la variacion de alcaloides en cacao (Theobrama cacao L.) de produccion nacional durante el proceso de beneficio. Quito-Ecuador.

Wong, A. (2017). *Universidad de Guayaquil.* Obtenido de http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/23213/1/ANDRES-WONG-TESIS-FINAL.pdf