



Acumulación de metales pesados (Pb y Cd) en almendras de cacao durante el proceso de fermentación y secado.

José Ricardo Álvarez Andrade

2018



***Acumulación de metales pesados (Pb y Cd) en
almendras de cacao durante el proceso de
fermentación y secado.***

José Ricardo Álvarez Andrade

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
MASTER EN GESTIÓN DE LA CALIDAD Y SEGURIDAD ALIMENTARIA

Trabajo de Maestría realizada por la orientación de Phd. Susana Mendes y la
co-orientación de Mg. Frank Intriago Flor

2018

Titulo: Acumulación de metales pesados (Pb y Cd) en almendras de cacao durante el proceso de fermentación y secado.

Copyright © José Ricardo Álvarez Andrade

Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar

Instituto Politécnico de Leiria

2018

La Escuela Superior de Turismo y Tecnología del Mar y el Instituto Politécnico de Leiria tienen el derecho, perpetuo y sin límites geográficos, de archivar y publicar esta disertación / trabajo de proyecto / informe de prácticas a través de ejemplares impresos reproducidos en papel o de forma digital o por cualquier otro medio conocido o que sea inventado, y de divulgarla a través de repositorios científicos y de admitir su copia y distribución con objetivos educativos o de investigación, no comerciales, siempre que se dé crédito al autor y editor.

Quiero agradecer a todos mis maestros ya que ellos me enseñaron a valorar los estudios y a superarme cada día, también agradezco a mis padres porque ellos estuvieron en los días más difíciles de mi vida como estudiante.

Y agradezco a Dios por darme la salud que tengo, por tener una cabeza con la que puedo pensar muy bien y además un cuerpo sano y una mente de bien.

Estoy seguro que mis metas planteadas darán fruto en el futuro y por ende me debo esforzar cada día para ser mejor y sin olvidar el respeto que engrandece a la persona.

Mi más sincero agradecimiento al gobierno nacional de Ecuador en especial a la Senescyt con su programa de Becas Internacionales además al Instituto Politécnico de Leiria en conjunto con la Universidad Técnica de Manabí.

Resumen

La presencia de metales pesados especialmente cadmio y plomo en cultivos de cacao (*Theobroma cacao L.*), es un problema tanto para agricultores y exportadores de cacao, como para los centros de acopio. La presente investigación tiene como objetivo determinar por espectrofotometría de emisión atómica con plasma inductivamente acoplado la concentración de Cd y Pb en las almendras de cacao que trata la Asociación de productores de cacao Fortaleza del Valle, en los estados de fresco, fermentado y secado. Se analizaron variables físico-químicas acorde a criterios de atributo de las almendras de cacao para lo cual se utilizó un DCA con cinco repeticiones. Las variables estudiadas se analizaron con un ANOVA al 95 % de nivel de confianza y se obtuvo para la humedad 6,33 %; el pH 6,24; el porcentaje de acidez 1,17 %, la determinación del índice de semilla 1,32; la determinación del índice de mazorca 21,94; la determinación del número de almendras por mazorca 40,43; la determinación del peso de 100 almendras 136,34 y la determinación del porcentaje en testa 19,12 %. Los valores promedio de concentración de Cd en las diferentes fases de postcosecha de cacao fueron 0,89 mg.kg⁻¹ para el mucílago, 0,73 mg.kg⁻¹ para el fermentado y 0,95 mg.kg⁻¹ para la almendra seca; así mismo los valores de concentración de Pb fueron para el mucílago 0,38 mg.kg⁻¹; para el fermentado 0,37 mg.kg⁻¹ y para la almendra seca 0,60 mg.kg⁻¹. Determinándose que estos valores se ubican por encima de los estipulados por el Reglamento (CE) n° 1881/2006.

Palabras claves: *Almendra, beneficiado, calidad, cadena alimenticia, antropogénico.*

Resumo

A presença de metais pesados, especialmente chumbo e cádmio em plantações de cacau (*Theobroma cacao L.*), é um problema tanto para os agricultores e exportadores de cacau e armazéns. Esta pesquisa tem como objetivo determinar por espectrometria de emissão atômica com concentração de plasma indutivo de Cd e Pb nas amêndoas de cacau que lida com a Associação dos produtores de cacau fortaleza do vale, na Estados frescos, fermentados e secados. Variáveis químicas analisadas de acordo com critérios de atributo de amêndoas de cacau para o qual foi usado um DCA com cinco repetições. As variáveis estudadas foram analisadas com ANOVA para o nível de confiança de 95 % e foi de 6,33 % de umidade; 6.24 pH; a percentagem de acidez 1,17 %, a definição de índice de semente 1.32; a determinação do índice do cob 21,94; a determinação do número de amêndoas por orelha 40,43; determinação do peso de 100 amêndoas 136,34 e a determinação da percentagem na testa 19,12 %. Os valores médios de concentração de Cd em diferentes fases de pós colheita de cacau foram 0,89 mg.kg⁻¹ por mucilagem, 0,73 mg.kg⁻¹ para a impermeabilização e 0.95 mg.kg⁻¹ por amêndoa seca; Da mesma forma, os valores de concentração de Pb foram de mucilagem 0,38 mg.kg⁻¹; para o fermentado 0,37 mg.kg⁻¹ e amêndoa seca 0,60 mg.kg⁻¹. Determinado que esses valores estão localizados acima da estipulada pelo Regulamento (CE) n. ° 1881 / 2006.

Palavras-chave: amêndoa, processamento, qualidade, cadeia alimentar, antropogénica.

Abstract

The presence of heavy metals especially lead and cadmium in crops of cocoa (*Theobroma cacao L.*), is a problem both for farmers and exporters of cocoa, and warehouses. This research aims to determine by spectrophotometry of Atomic emission with inductively coupled plasma concentration of Cd and Pb in the almonds of cocoa which deals with the Association of producers of cocoa fortress of the Valley, in the fresh, fermented and dried states. Analysed chemical variables according to criteria of cocoa almonds attribute for which a DCA with five replications was used. The studied variables were analyzed with ANOVA to the 95 % confidence level and it was 6.33 % humidity; 6.24 pH; the percentage of acidity 1.17 %, seed 1.32 index definition; the determination of the index of cob 21.94; the determination of the number of almonds per ear 40,43; determination of the weight of 100 almonds 136,34 and the determination of the percentage in testa 19.12 %. The average values of concentration of Cd in different phases of post harvest of cocoa were 0.89 mg.kg⁻¹ for mucilage, 0.73 mg.kg⁻¹ for proofing and 0.95 mg.kg⁻¹ for dry almond; likewise the Pb concentration values were for mucilage 0.38 mg.kg⁻¹; for the fermented 0.37 mg.kg⁻¹ and almond dry 0.60 mg.kg⁻¹. Determined that these values are located above the stipulated by Regulation (EC) No. 1881 / 2006.

Key words: *Almond, benefited, quality, food chain, anthropogenic.*

Índice de Materias

RESUMEN	V
RESUMO	VI
ABSTRACT	VII
OBJETIVOS	1
OBJETIVO GENERAL	1
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
INTRODUCCIÓN	4
METALES PESADOS	4
Definición y Generalidades	4
Cadmio	5
Plomo	6
METALES PESADOS EN EL AMBIENTE	7
Agua	7
Suelos	8
METALES PESADOS Y SUS EFECTOS EN LOS ALIMENTOS	8
Metales pesados y sus efectos en la salud humana	10
CARACTERÍSTICAS DEL CULTIVO DE CACAO (THEOBROMA CACAO)	11
Almendras de cacao	12
Producción de cacao orgánico	13
MARCO LEGAL	14
METODOLOGÍA	15
MUESTREO	15
Definición y Generalidades	15
ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO DE LAS ALMENDRAS DE CACAO	15
Determinación de la Humedad. NMX-F-268-1976	15
Determinación del pH de la testa. Método potenciométrico	16
Determinación de la acidez. Método REDOX	16

Determinación del Índice de semilla	16
Determinación del Índice de mazorca.....	17
Determinación del número de almendras por mazorca	17
Determinación del peso de 100 almendras	17
Determinación del porcentaje en testa	17
ANÁLISIS DE METALES PESADOS Cd Y Pb	17
TRATAMIENTO ESTADÍSTICO	18
RESULTADOS	20
ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO DE LAS ALMENDRAS DE CACAO.....	20
Determinación de la Humedad..	20
Determinación del pH de la testa.	20
Determinación de la acidez.....	21
Determinación del Índice de semilla	22
Determinación del Índice de mazorca.....	22
Determinación del número de almendras por mazorca	23
Determinación del peso de 100 almendras	24
Determinación del porcentaje en testa	24
ANÁLISIS DE METALES PESADOS (Cd / Pb) DE LAS ALMENDRAS DE CACAO	25
DISCUSIÓN DE RESULTADOS	27
BIBLIOGRAFÍA.....	29

Índice de Figuras

Figura 1. Mapa de los principales países productores de cacao (Theobroma cacao).....	11
Figura 2. Cacao (Theobroma cacao) y cultivo de cacao orgánico.	13
Figura 3. Análisis de coeficientes estandarizados del contenido de humedad de las almendras de cacao.....	20
Figura 4. Análisis de coeficientes estandarizados del valor de pH de las almendras de cacao.	21
Figura 5. Análisis de coeficientes estandarizados del valor de acidez de las almendras de cacao.	21
Figura 6. Análisis de coeficientes estandarizados del valor de índice de semilla del cacao evaluado.....	22
Figura 7. Análisis de coeficientes estandarizados del valor de índice de mazorca del cacao evaluado.....	23
Figura 8. Análisis de coeficientes estandarizados del valor del número de almendras del cacao evaluado.	23
Figura 9. Análisis de coeficientes estandarizados del valor del peso de 100 almendras del cacao evaluado.	24
Figura 10. Análisis de coeficientes estandarizados del valor del porcentaje de testa del cacao evaluado.	24
Figura 11. Medidas de Cd y Pb en ICP (mg.kg^{-1}) en tres fases de post cosecha del cacao: Mucílago, fermentado y seco.	26

Figura 12. Medidas de Cd y Pb en ICP ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) comparados con el Reglamento (CE) nº 1881/2006.26

Índice de Tablas

Tabla 1. Resultados obtenidos para el porcentaje de humedad, pH, porcentaje de acidez, índice de semilla, índice de mazorca, número de almendras, peso de 100 almendras y porcentaje de testa del cacao evaluado en el presente estudio.
.....25

OBJETIVOS

Objetivo general

El cacao también conocido como “ fruto de los dioses” cuyo nombre científico es *Theobroma cacao* de la familia *Malvaceae* es una planta tropical de gran importancia económica en el mundo debido a sus aplicaciones en la confitería, productos para el cuidado personal y elaboración de preparaciones culinarias (Arosemena, 1991).

Desde el año 2004, Ecuador se proyecta como el segundo mayor productor de cacao en América Latina Con un crecimiento de 0,8% en la producción anual del cultivo, esto debido principalmente a la implementación de la variedad resistente a la escoba de bruja CCN-51, Lo cual brinda una ventaja competitiva en la producción disminuyendo la necesidad de agroquímicos, aumentando la productividad y disminuyendo los costos de producción.

En continente Africano es uno de los mayores productores de Cacao en el mundo y también uno donde los controles del uso de químicos con metales pesados es menos controlado lo que conlleva a que se encuentren cantidades importantes de los mismos en el agua, tierra y alimentos (Ajayi & Kamson, 1983; Ndiokwere, 1984; Rankin *et al*, 2005)

El sello verde como herramienta de diferenciación de productos comerciales permite la creación de valor dentro de la cadena productiva a través de la reducción de agroquímicos en la producción de los alimentos, por este tipo de mercadería los mercados de la Unión Europea, está migrando hacia el comercio justo de productos orgánicos cada vez más saludables (Baldeón, 2013).

Metales pesados como el plomo (Pb) son utilizados comúnmente en insumos agrícolas organofosforados como plaguicidas de control de larvas de *Phyllophaga* sp. en raíces de cacao (Enríquez, 1987). Estas sustancias basadas en Pb generan afectaciones en el sistema respiratorio, renal, nervioso,

endocrino, reproductor humano, En el hombre se ha demostrado que puede generar producción de la libido y producciones irregulares de espermatozoides no viables para la reproducción (Yucra *et al*, 2008).

Cuando se trata de el cacao, la contaminación por metales pesados como el cadmio (Cd) y el Pb toma importancia, según Echeverry & Reyes (2016) la concentración de Cd., en chocolates procesados puede alcanzar valores promedio de 2,5 mg.kg⁻¹, lo cual está por encima de los límites máximos permitidos por el *Codex Alimentarium* que es de 2 mg.kg⁻¹.

La espectrometría de emisión atómica con plasma inductivamente acoplado es un método que a sido utilizado en la determinación de Cd y Pb., en muestras de cacao con un límite de detección de 0,0073 mg.kg⁻¹ de Cd y 0,008 mg.kg⁻¹ de Pb (Argota-Pérez *et al*, 2013).

La asociación de productores de cacao Fortaleza del Valle S.A. (Ecuador), es una empresa dedicada a la exportación y comercialización de cacao ecuatoriano variedad nacional con denominación de origen, la cual se enfoca en la calidad del producto que presenta a sus consumidores el cual es orgánico lo cual demuestra con sus certificaciones BIOSUISSE y USDA también basada en el comercio justo con certificaciones FAIRTRADE y FLO-CERT.

La producción de la asociación de productores de cacao Fortaleza del Valle S.A. se encuentra enfocada en la calidad y a través de sus certificaciones orgánicas y de calidad se encuentra en un proceso de mejora continua constante, razón por la cual desea estudiar el aporte que brindan sus granos de cacao en metales pesados a sus clientes y así demostrar que su producto está muy por debajo de los estándares de metales pesados que recomienda el *Codex Alimentarium*.

Estudios de metales pesados en cacao presentados por Garcia & Freile (2017), demuestran que en el cacao fino de aroma como el que se procesa en la asociación de productores de cacao Fortaleza del Valle S.A., la concentración de metales pesados es significativamente menor con respecto a otras variedades comerciales de cacao en concentraciones de Cd llegando a ser hasta

un 60% más bajo en el cacao fino de aroma el cual presentó valores de 0.14 mg.kg^{-1} en la almendra, Mite (2010) Reporta que para Manabí existe una concentración de 1.06 mg.kg^{-1} de Cd en la almendra de cacao.

El Instituto Nacional Ecuatoriano Normalización mediante la norma técnica NTE INEN 621:2010 para chocolates y sus derivados no establece ningún valor máximo sobre Cd y para Pb un máximo de 1 mg.kg^{-1} , el cual no se cumple en los estudios de Cd presentados por Garcia & Freile (2017). De esta manera surgió como objetivo de este trabajo determinar por espectrofotometría de emisión atómica con plasma inductivamente acoplado la concentración de Cd y Pb en las almendras de cacao que procesa la asociación de productores de cacao Fortaleza del Valle S. A., en los estados de fresco, fermentado y secado. Así mismo, se incluye una contextualización del beneficiado del cacao y el aumento de la concentración de Cd y Pb a nivel de la almendra y si estos se encuentran dentro de los niveles sugeridos por la Normativa Técnica Ecuatoriana mencionada anteriormente.

Objetivos específicos

En este trabajo se pretende determinar por el método espectrofotométrico de emisión atómica con plasma inductivamente acoplado la concentración de Cd y Pb en las almendras de cacao que procesa la asociación de productores de cacao Fortaleza del Valle S. A. en los estados de fresco, fermentado y seco.

- a. Realizar un análisis físico de las almendras de cacao de acuerdo a criterios de atributo en la asociación de productores de cacao Fortaleza del Valle S.A.
- b. Determinar la concentración de Cd y Pb de almendras de cacao en estado fresco, fermentado y seco de la empresa fortaleza del Valle S.A.
- c. Determinar si los niveles de Cd y Pb se encuentran dentro de los sugeridos por el Reglamento (CE) n° 1881/2006.

CAPÍTULO 1 – INTRODUCCIÓN

A. Metales Pesados

A.1 Definición y Generalidades

Los metales pesados son un conjunto de elementos que presentan propiedades metálicas, en el que se incluyen metales de transición, algunos semimetales, lantánidos y actínidos. El criterio más general para su clasificación se basa en la densidad específica, de acuerdo con la cual se incluyen en este grupo elementos con una densidad mayor a 5 g.cm^{-3} . Sin embargo, algunos autores consideran esta definición como inapropiada, pues la densidad específica no es una referencia en cuanto a la reactividad o toxicidad de un metal (Volke, 2005).

Las concentraciones de metales pesados en los suelos están asociadas a los ciclos biológicos y geoquímicos y pueden alterarse por actividades antropogénicas como las prácticas agrícolas, el transporte las actividades industriales la eliminación de residuos, entre otras. Por otra parte, es bien conocido que los metales pesados son peligrosos porque tienden a bioacumularse en los seres vivos (Navarro, 2007).

Actualmente, el término “metal pesado” es utilizado para referirse de una manera amplia a aquellos metales o metaloides con potencial de causar problemas de toxicidad (Alloway, 2013).

Los principales mecanismos de toxicidad a nivel molecular son:

1. Bloqueo de grupos funcionales esenciales en biomoléculas, debido a la alta afinidad de los cationes metálicos por los grupos sulfhidrilos de las proteínas, específicamente a los residuos de cisteína, lo que ocasiona su desnaturalización (Peralta, 2009);
2. El desplazamiento de centros catiónicos en enzimas importantes, como es el caso de la ribulosa 1-5 bisfosfato carboxilasa-oxigenasa (rubisco), la cual tiene un centro catiónico de Mg^{+2} que puede ser desplazado en presencia de cationes divalentes como Co^{+2} , Ni^{+2} y Zn^{+2} . Dicho

desplazamiento provoca que la mencionada enzima pierda su función (Smeets, 2005);

3. Por la formación de especies reactivas de oxígeno (ERO) debido a la autooxidación de metales como Fe^{+2} o Cu^{+} , lo que resulta en la formación de H_2O_2 y del radical $\cdot\text{OH}$ vía reacción de Fenton (Schützendübel, 2002). El radical $\cdot\text{OH}$ es uno de los más reactivos que se conocen, por su capacidad de iniciar reacciones en cadena de radicales libres que ocasionan modificaciones y daño irreversible a compuestos celulares como carbohidratos, ácido desoxirribonucleico (ADN), proteínas y particularmente lípidos (Mithöfer, 2004).

A.2 Cadmio

La presencia del Cd en el ambiente se debe a actividades volcánicas, incendios forestales y erosión de las rocas (Madeddu, 2005), según (Cabot, Poschenrieder, y Barcelo (1988), el cadmio proviene principalmente de fuentes antropogénicas, tales como:

- Emisiones al aire de incineradoras, quema de combustibles fósiles, fundiciones metálicas y de industrias relacionadas con manufactura de aleaciones, baterías y estabilización de plásticos.
- Combustión de carburantes fósiles.
- Utilización en la agricultura de lodos, fertilizantes y pesticidas que contengan Cd.

El Cd posee una dispersión ambiental muy elevada dentro de los metales pesados ya que tiene una relativa solubilidad de sus sales e hidróxidos, que lo convierten en un contaminante cosmopolita, llegando a causar un importante impacto ambiental (Ruíz, 2003).

Así mismo, Ramírez (2002), especifica que el Cd posee las características más temidas de un tóxico:

- a) Efectos adversos para el hombre y el ambiente;
- b) Bioacumulación;

- c) Persistencia en el ambiente;
- d) Viaja grandes distancias con el viento y en los cursos de agua.

No hay evidencia de que el Cd sea biológicamente esencial o benéfico, atribuyéndosele efectos carcinogénicos, mutagénicos y teratogénicos. Tanto, que se lo ha llegado a considerar un tóxico para toda forma de vida debido a que puede desplazar al zinc de algunos de sus sitios activos y competir con el calcio en ciertos sistemas biológicos (Baran, 1995).

A.3 Plomo

Este elemento metálico se halla ubicado dentro de la tabla periódica entre los elementos de alto peso molecular mayor a 60, es un elemento muy abundante en la litosfera, se lo usa principalmente en la industria metalúrgica, tuberías galvanizadas, en la manufactura de baterías, revestimiento de cables, barnices, pinturas a nivel naval y de autos, entre otros; además el Pb puede estar presente en la atmósfera producto del smog de los autos, humos de fábricas y cigarrillos (Abollino, 2002).

El Pb ocurre de forma natural en el ambiente, pero las mayores concentraciones que son encontradas en el ambiente son el resultado de las actividades humanas (Matte, 2003).

En los motores de los coches el Pb es quemado, eso genera sales de Pb (cloruros, bromuros, óxidos), dichas sales plúmbicas entran en el ambiente a través de los tubos de escape de los coches, las partículas grandes precipitarán en el suelo o la superficie de aguas, las pequeñas partículas viajarán largas distancias a través del aire y permanecerán en la atmósfera (Sauquillo, 2003). Parte de este Pb caerá de nuevo sobre la tierra cuando llueva. Este ciclo del Pb causado por la producción humana está mucho más extendido que el ciclo natural de este metal. El Pb puede terminar en el agua y suelos a través de la corrosión de las tuberías de Pb en los sistemas de transportes y a través de la corrosión de pinturas que contienen Pb .

De acuerdo a Spain, (2003); el Pb se acumula en los cuerpos de los organismos acuáticos y microorganismos del suelo. Estos experimentarán efectos en su metabolismo por envenenamiento por este metal pesado.

Las funciones del suelo son perturbadas por la intervención del Pb, especialmente cerca de las autopistas y tierras de cultivos, donde concentraciones extremas pueden estar presente. Los organismos del suelo también sufren envenenamiento por Pb. Es así, como este metal pesado es particularmente peligroso, y se puede acumular en organismos individuales, pero también entrar en las cadenas alimenticias.

B. Metales pesados en el ambiente

La contaminación por metales pesados es un problema que ha ido en aumento debido principalmente a actividades antrópicas. Entre las principales fuentes de contaminación se encuentran la minería, la metalúrgica, la agricultura, los vehículos automotores y el aporte natural en ciertos acuíferos (Covarrubias, 2017).

Según Martínez, *et al.* (2010), la polución por metales puede producir acidificación, transformaciones en las propiedades redox, alteración en la temperatura y humedad de los suelos. Algunos metales como el cobalto (Co), cromo (Cr), hierro (Fe), manganeso (Mn) y zinc (Zn), son vitales en procesos metabólicos pues hacen parte de las metaloenzimas, mientras otros como el arsénico (As), Cd, mercurio (Hg) y Pb no presentan efectos beneficiosos y no se conocen mecanismos de homeostasis. En los seres humanos, la deficiencia o el exceso de un oligoelemento, puede influenciar la adsorción, distribución, metabolismo y supresión de otros.

B.1 Agua

Estudios realizados por Huang, *et al.* (2014), determinan que evidentemente, la contaminación del agua por metales pesados ya sea por vía antropogénica o natural, está en detrimento de la salud humana y atenta contra la seguridad alimentaria.

En los últimos tiempos, se reporta la presencia de metales pesados y metaloides tales como Hg, As, Pb, Cd, Zn, Ni y Cr en hortalizas como la lechuga, repollo, calabaza, brócoli y papa (Chen, 2013).

Esta polución, proviene principalmente de las aguas que se usan para riego de los cultivos (Francisca, *et al.* 2015). De la misma forma, también se ha detectado metales pesados en diversas concentraciones en peces, moluscos, carnes y leche producto de la bioacumulación y dinámica desde el ambiente hacia los cuerpos acuáticos (Li, 2015).

B.2 Suelos

Un elemento químico metálico puede considerarse en metal pesado cuando este tenga una alta densidad o peso específico por lo que puede constituirse en tóxico o venenoso aún en concentraciones bajas (Lucho, 2005). De esta manera, de acuerdo con Micó *et al.*, (2006), la evaluación regional del contenido de metales pesados en suelos agrícolas es determinante para la identificación de áreas con problemas de contaminación (Micó, 2006).

De acuerdo con Garrido, *et al.* (2008), los metales pesados son los que tienen densidad igual o superior a 5 g.cm^{-3} , siendo de mayor peso que los minerales formadores de roca en su forma elemental. Además, su número atómico es superior a 20, excluyendo los metales alcalinos y alcalinotérreos. La presencia de estos elementos en la corteza terrestre es inferior al 0.1% y casi siempre menor de 0.01%.

Así mismo, Ósteras, 2006 determina que las altas concentraciones de calcio (Ca) en los suelos puede reducir la absorción de metales pesados como el Cd y el cobre (Cu) por parte de plantas, debido a que existe una competencia iónica entre ellos.

C. Metales pesados y sus efectos en los alimentos

La absorción de Pb por los animales es baja, inferior al 1% (Underwood y Suttle, 1999) y parece existir un cierto mecanismo de regulación de forma que al aumentar la exposición a fuentes de Pb, no aumenta linealmente la retención en el organismo.

Las exposiciones crónicas a bajos niveles de Pb no causan síntomas clínicos en vacuno, porque los huesos secuestran el Pb y lo liberan lentamente a sangre para que sea excretado (NRC, 2001). El Pb se acumula más en huesos que en

tejidos blandos, por esta razón los aportes de las carnes en Pb a la dieta son muy bajos.

Al igual que para el Cd, el control de Pb en alimentación animal pasaría por un control de piensos representativos de las fabricaciones normales y el control particular de los fosfatos (Mendez, 2001)

En los diez últimos años, los contenidos de Pb de los productos alimenticios se redujeron sensiblemente porque aumentó la sensibilización ante el problema sanitario que puede representar el Pb y por los esfuerzos realizados para reducir la emisión de Pb en su origen.

En el dictamen de 19 de junio de 1992, el Scientific Committee Food (SCF) establecía que el contenido medio de Pb de los productos alimenticios no parece ser causa de alarma pero que debe de proseguirse la acción a largo plazo con el objetivo de continuar reduciendo los contenidos medios de Pb en los productos alimenticios (Diario Oficial de las Comunidades Europeas - DOCE, 2001).

La absorción de Cd por los animales es baja, particularmente en rumiantes, donde los porcentajes de absorción no sobrepasan el 1%, pero la retención en el organismo es muy elevada, particularmente en los riñones, donde la vida media puede ser de varios años en rumiantes. En animales de abasto donde el tiempo de crianza es muy reducido, particularmente en monogástricos, las acumulaciones de cadmio serán muy reducidas con prácticas normales de manejo (Mendez, 2001).

Hay que tener en cuenta que los distintos alimentos no tienen la misma receptividad para los diversos tipos de contaminantes, Por ejemplo, dentro del grupo de pescados, los grasos son más receptivos para el Hg, otros como los moluscos, lo son para el Cd (Curtis, 2008).

Aun dentro del mismo animal hay variaciones de localización y concentración de tóxicos y es bien conocido como en el hígado, por su papel central en el metabolismo, se acumulan gran cantidad de elementos que pueden ser tanto positivos como negativos para la nutrición. Dentro de cada órgano, la contaminación es muy diferente según la edad del animal y esto se aprecia,

especialmente, en el caso del ganado vacuno. no tienen la misma receptividad para los diversos tipos de contaminantes (Gunnar, 2007)

C.1 Metales pesados y sus efectos en la salud humana

Aproximadamente se absorbe un 5 % del Cd presente en los alimentos. Este porcentaje puede alcanzar el 15 % si hay deficiencia de hierro. En el riñón puede concentrarse hasta el 85 % de la carga corporal de Cd (WHO, 1992).

El Pb se va acumulando en el organismo, afectando a diversos sistemas del mismo, con efectos especialmente dañinos en los niños de corta edad.

Una vez dentro del cuerpo, el Pb se distribuye hasta alcanzar el cerebro, el hígado, los riñones, depositándose en dientes y huesos, donde se va acumulando con el paso del tiempo, liberándose en forma continua produciendo cuadros de intoxicación (USDA., 2010).

No existe un nivel de concentración de Pb en sangre que pueda considerarse exento de riesgo. Sí se ha confirmado, en cambio, que cuanto mayor es el nivel de exposición a este metal, más aumentan la diversidad y la gravedad de los síntomas y efectos a él asociados. Incluso las concentraciones en sangre que no superan los 5 $\mu\text{g}\cdot\text{dl}^{-1}$ (nivel hasta hace poco considerado seguro) pueden entrañar una disminución de la inteligencia del niño, así como problemas de comportamiento y dificultades de aprendizaje.

La absorción de Pb por vía oral es cercana al 10 % en adultos y se incrementa hasta el 50 % en niños (WHO, 1995).

La exposición al Pb se cobra cada año un total estimado de 143 000 vidas, registrándose las tasas más altas de mortalidad en las regiones en desarrollo.

D. Características del cultivo de cacao (*Theobroma cacao*)

El cacao es originario de las regiones tropicales, específicamente se cultiva de forma comercial en las regiones tropicales (figura 1). Es comercialmente cultivado entre 15° al norte y 15° al sur de la línea ecuatorial. La temperatura promedio anual va de 23 a 30 °C. Se cultiva desde el nivel del mar hasta los 1.200 msnm. Así mismo, necesita humedad relativa anual promedio de entre el 70 - 80 % (Vizcaíno, 2014).

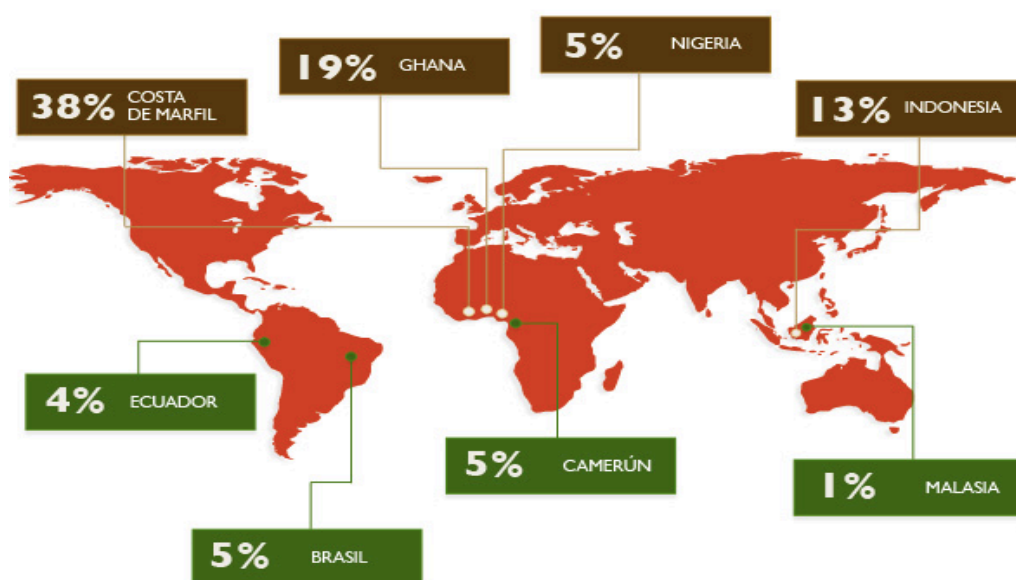


Figura 1. Mapa de los principales países productores de cacao (*Theobroma cacao*).

Según, Vanhove, *et al* (2016); la producción mundial de cacao (*T. cacao L.*) ha crecido linealmente desde 1,2 millones de toneladas en 1961 a 4,6 millones de toneladas de grano seco de cacao en 2013, durante este período, la superficie anual de cacao tuvo un requerimiento anual promedio del 2,5%. Como vemos la producción de cacao sigue aumentando por lo que la producción tiene que volverse resiliente a factores naturales y antropogénicos que incluyen plagas y enfermedades, disminución de la fertilidad del suelo y un clima cada vez más caliente y seco (Blaser, 2017).

El cacao es un rubro económico que tiene además valor de legado social y ambiental. En Ecuador es considerado como materia prima para la producción

de confites en industria chocolatera, logrando productos de calidad y exquisitos sabores, ya que sus propiedades sensoriales hacen que sea reconocido como un producto fino y de agradable aroma. Así mismo, este producto se encuentra dentro de los principales artículos básicos de los países productores y consumidores, por tanto las probabilidades de consumo de Cd en alimentos provenientes del cacao son altas. Debido a su demanda en el mercado este metal tiene un período de semidesintegración biológica sumamente larga en los seres humanos y se acumula en los tejidos del organismo, en particular en el hígado y los riñones (Aikpokpodion, 2010)

Esta planta, crece en topografía plana u ondulada en terrenos que sobrepasan el 50 % de pendiente, en cañadas, a orilla de arroyos. Exige temperaturas medias anuales elevadas con fluctuaciones pequeñas, una gran humedad y una cubierta que le proteja de la insolación directa y de la evaporación. La precipitación debe ser de 1.300 a 2.800 mm por año con una estación seca corta, menor de 2 meses y medio. El clima debe ser constantemente húmedo, con temperatura media diaria entre 20 y 30 ° C, con una mínima de 16 ° C. Para su pleno desarrollo exige suelos profundos (1 m como mínimo), fértiles y bien drenados. Deben evitarse suelos arcillosos, arenosos, mal drenado o muy superficial con presencia de rocas y un nivel freático poco profundo. Suelos: negro rocoso, café-rojizo barroso, aluvial.

D.1 Almendras de cacao

Según, Calderón, (2002); la calidad en el cacao radica principalmente en el proceso de beneficio en el cual son tratadas las almendras de cacao. En la cosecha se recolectan frutos sanos, del cual se retiran las almendras que se colocan en recipientes especiales; posteriormente, en condiciones adecuadas, sufren una serie de transformaciones físicas y químicas que le permiten desarrollar su calidad. Un punto muy importante es que el cacao apropiadamente fermentado y secado, produce el verdadero sabor a chocolate, lo que está determinado por su genética (Quiroz, 2013)

En el procesamiento del cacao existen dos etapas críticas, que son: el secado y la fermentación. Estos procesos ocasionan que las paredes celulares se destruyan, permitiendo que los contenidos de la semilla estén expuestas a otros constituyentes químicos que afectan sus propiedades organolépticas (Perea, 2010). El aroma del cacao es una condición innata, los tratamientos post-cosecha, incluida la torrefacción, son los factores determinantes de la expresión de ese potencial aromático y sensorial. La calidad del cacao es integral debido a que la tendencia de los mercados industriales es identificar nuevos sabores especiales (Fito, 2007).

D.2 Producción de cacao orgánico

Como se observa en la figura 2; el cultivo orgánico del cacao requiere de una conservación o incremento de materia orgánica, lo cual soluciona algunos de los problemas de fertilidad, retención adecuada del agua de la lluvia y una buena circulación del aire en el suelo (Enríquez, 2003).



Figura 2. Cacao (*Theobroma cacao*) y cultivo de cacao orgánico.

Un cacaotal con una buena nutrición es capaz de soportar mejor las adversidades del clima los insectos, las enfermedades y algunos patógenos del suelo, desarrollar mejor el potencial genético de su genoma y dar un producto de alta calidad.

Hay varios abonos o fertilizantes que son permitidos en agricultura orgánica, de los que se debe tener toda la información posible, y su composición química,

algunos de ellos son: aceites vegetales y animales, harinas de diferentes materias, algas, hierro, azufre, jabón potásico, polvo de roca, bentonita, kainita, boratos solubles, bórax, magnesio potásico, muriato de potasa, cal en diferentes formas, molibdato de sodio, cal dolomita, manganeso, carbonato de calcio de minas, polvo de basalto, cenizas de vegetales, polvo de cantera, cobre de varias formas, entre otros.

E. Marco Legal

Bajo los criterios de la legislación de la UE (Reglamento (CE) No 178/2002) (UE, 2002), el término “trazabilidad” se refiere a la posibilidad de encontrar y seguir el rastro, a través de todas las etapas de producción, transformación y distribución, de todo alimento o sustancia destinado al consumo. La trazabilidad de materias primas constituye un requisito básico para la calidad, la seguridad alimentaria y la sostenibilidad. En condiciones ideales, debe ser posible trazar un determinado lote de cacao en grano desde el usuario final hasta el agricultor que lo produjo. En la práctica, sin embargo, esto resulta muy difícil, debido tanto al pequeño tamaño de las explotaciones de cacao como a los sistemas de exportación de mezclas de cacao empleados en algunos países productores. No obstante, contamos ya con algunos ejemplos buenos en los que el marcaje de los sacos se ha empleado como parte de un sistema de trazabilidad. De hecho, el proyecto de la Calidad Total de la ICCO ha demostrado que es posible lograr un alto nivel de trazabilidad de las exportaciones de cacao ordinario desde un país productor como Cote d'Ivoire, con beneficios para todos los participantes en la cadena de suministro, desde el agricultor hasta el consumidor (ICCO, 2013). Para que funcione un sistema de trazabilidad, es esencial que se mantengan registros y sistemas de marcaje/codificación adecuados a nivel del agricultor y del recolector o de la cooperativa en adelante, y que se asegure la integridad de los lotes, evitando las mezclas en toda la cadena de suministro.

CAPÍTULO 2 – METODOLOGÍA

A. Muestreo

A.1 Definición y Generalidades

Las muestras para el presente proyecto estuvieron constituidas por almendras de cacao en diferentes fases, dichas etapas fueron: almendras frescas, almendras fermentadas y almendras secas; obtenidas de la Asociación Fortaleza del Valle. Se tomaron 20 sub muestras de forma aleatoria y al azar, posterior a esto se procedió a realizar el método de cuarteo hasta obtener 1 kg de muestra, para después introducirla en fundas de cierre de presión Ziploc y se etiquetarla para ser enviadas a los laboratorios de análisis del CIAT Cali-Colombia a realizar los análisis respectivos para hallar la concentración de Cd y Pb en las diferentes fases de las almendras de cacao y compararlos con la Normativa Europea.

B. Análisis físico-químico de las almendras de cacao

B.1 Determinación de la Humedad. NMX-F-268-1976

Se pesan 10 gramos de almendras de cacao y se proceden a triturar una por una con la ayuda de un mortero por espacio de un minuto hasta que el tamaño de las partículas mayores no excedan de 5 mm, evitando la formación de una pasta.

$$\% \text{ Humedad} = P1 - P2 \frac{100}{P1 - P0}$$

Donde:

P0 = Peso en gramos de la caja vacía con su tapadera

P1 = Peso en gramos de la caja, tapadera y porción de prueba antes del secado en el horno.

P2 = Peso en gramos de la caja, tapadera y porción de prueba después del secado en el horno.

B.2 Determinación del pH de la testa. Método potenciométrico

Para determinar el valor del pH de la testa se detalló en 30 almendras de cacao, para lo cual se separó la testa del cotiledón; posteriormente tanto el cotiledón como la testa, de manera individual fueron triturados usando una licuadora (Oster 3 velocidades) y 100 ml de agua destilada, por un lapso de 2 a 3 minutos, luego la determinación del pH fue establecido con un pH-metro de laboratorio de mesa con electrodo intercambiable (Hanna).

B.3 Determinación de la acidez. Método REDOX

Para calcular la acidez se preparó una solución de Éter-Alcohol en proporción tres a uno (3:1); ya que la muestra a analizar tenía un alto contenido de grasa, además de esto se utilizó una solución de NaOH 0.0092 N.

La acidez se calcula mediante la ecuación siguiente:

$$A = 0,090 \frac{V \times N}{m} \times 100$$

Donde:

A = Acidez titulable, en porcentaje de ácido láctico

V = Volumen de la solución de hidróxido de sodio empleado en la titulación en ml

N = Normalidad de la solución de hidróxido de sodio

m = peso de la muestra en gramos

B.4 Determinación del Índice de semilla

Para realizar este procedimiento se tomó el peso promedio (g) de 300 almendras fermentadas y secas elegidas al azar, se aplicó la siguiente formula:

$$IS = \frac{\text{Peso de 300 almendras fermentadas y secas (g)}}{300}$$

B.5 Determinación del Índice de mazorca

Este índice determina el número de mazorcas que se necesitan para completar un kilogramo de almendras de cacao fermentadas y secas, se muestrearon al azar 20 mazorcas fisiológicamente maduras; luego de extraer sus almendras se procedió a fermentar y secar las mismas. Para determinar el índice de mazorca se utilizó la siguiente formula:

$$IM = \frac{20 \text{ mazorcas (g)}}{\text{Peso de las almendras secas de 20 mazorcas}} * 100$$

B.6 Determinación del número de almendras por mazorca

Se determinó por conteo directo del número de almendras por cada mazorca muestreada y se calculó el promedio.

B.7 Determinación del peso de 100 almendras

Se muestrearon al azar 100 almendras fermentadas y secas y se detalló su peso tomadas al azar, en gramos, usando una balanza de precisión (Adams 0,0001 mg).

B.8 Determinación del porcentaje en testa

Para este parámetro se determinó el porcentaje de cascarilla que tenían las muestras respecto al índice de semilla, aplicando la siguiente formula:

$$\text{Testa (\%)} = \frac{\text{Peso de la testa}}{\text{Peso de 30 almendras}} * 100$$

C. Análisis de metales pesados Cd y Pb

Previo a la digestión de las muestras, se requiere retirar el mucilago 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 tomara 0,5 g. Luego tomar 0,5 g de la muestra y se someter a una solución ácida nítrico: perclórico, en una relación de extracto 1:4 4 (según Carillo, 2003. citado por MITE, 2010). Los tejidos vegetales molidos deben ser mezclados con HNO₃ (8 ml) y HClO₄ (2 ml) durante una hora y se calentó a 180 ° C por 90 minutos hasta la total digestión de la muestra. Luego filtrar este extracto en balón de 50 ml y llevar a volumen con agua desionizada.

Según la normativa EPA 6010, el extracto obtenido puede ser leído en el equipo de espectrometría de emisión acoplado con plasma inducido Óptica 3000 DV, s/n 069N-Na, Perkin Helmer. Se utilizó como el gas de la purga Argón de alta-pureza (99,999%, Martins blanco, Brasil). Se realizó una técnica comparativa para las determinaciones de Cd y Pb en las muestras de almendras de cacao

Las curvas de calibración se realizaron por dilución de los patrones a las concentraciones deseadas y específicas para cada metal. Las curvas analíticas se obtuvieron con una respuesta lineal para los rangos de concentración que se escogieron, se tomaron como referencia los datos consultados en la literatura referidos a los niveles de concentración de estos analitos presentes en las almendras de caco. El volumen de inyección que se utilizó fue de 20 µL. Para la cuantificación se utilizó patrón externo.

D. Tratamiento estadístico

Para el tratamiento estadístico de los resultados obtenidos experimentalmente, Las muestras se tomaron según diseño aleatorio y estratificado descrito por Proctor y Meullnet (1998).

Para las variables de comparación de las fases de postcosecha de las almendras de cacao, se utilizó el método paramétrico de análisis de varianza unidireccional (ANOVA). Para el tratamiento de los resultados obtenidos experimentalmente, todos los datos se probaron con respecto a los supuestos de ajuste de los datos a la distribución normal y a la homogeneidad de varianzas (Zar, 2009). Todas las diferencias se consideraron estadísticamente significativas siempre que se

observó $p\text{-value} < 0,05$. Todos los cálculos se realizaron a través del software estadístico IBM® SPSS® Statistics, versión 24.

CAPÍTULO 3 – RESULTADOS

A Análisis físico-químico de las almendras de cacao

A.1 Determinación de la Humedad.

En el contenido de humedad de la almendra de cacao (Figura 3), según el análisis de varianza, no presento diferencias estadísticas significativas ($p\text{-value} > 0.05$), donde todas las muestras estaban dentro del rango de 6 a 7% de humedad, de acuerdo a lo recomendado por Braudeau (1970) y Álvarez *et al.* (2007).

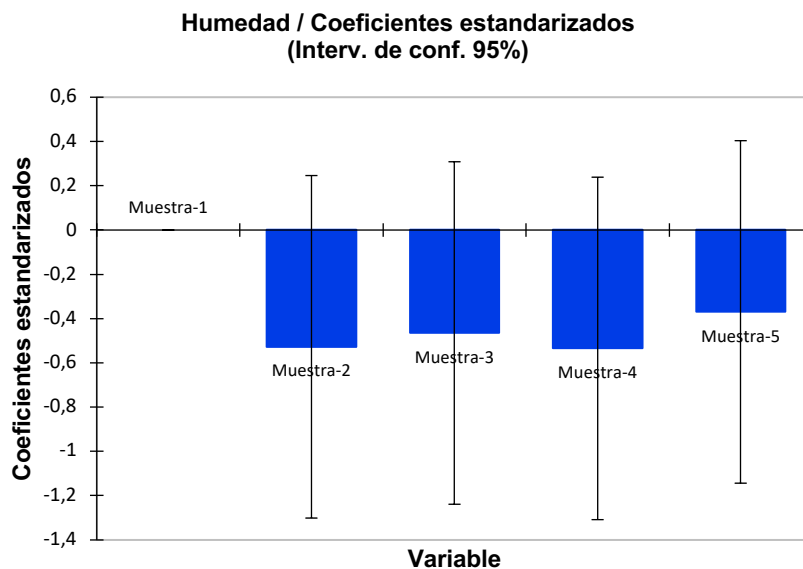


Figura 3. Análisis de coeficientes estandarizados del contenido de humedad de las almendras de cacao.

A.2 Determinación del pH de la testa.

Las almendras de cacao no presentaron diferencias estadísticas ($p\text{-value} > 0.05$), en el pH de la testa. El mayor valor se registró con 6,90; en cuanto al menor valor tenemos 5,42; obteniendo como promedio general de 6,29 y un valor de coeficiente de variación de 6,99 % (Figura 4).

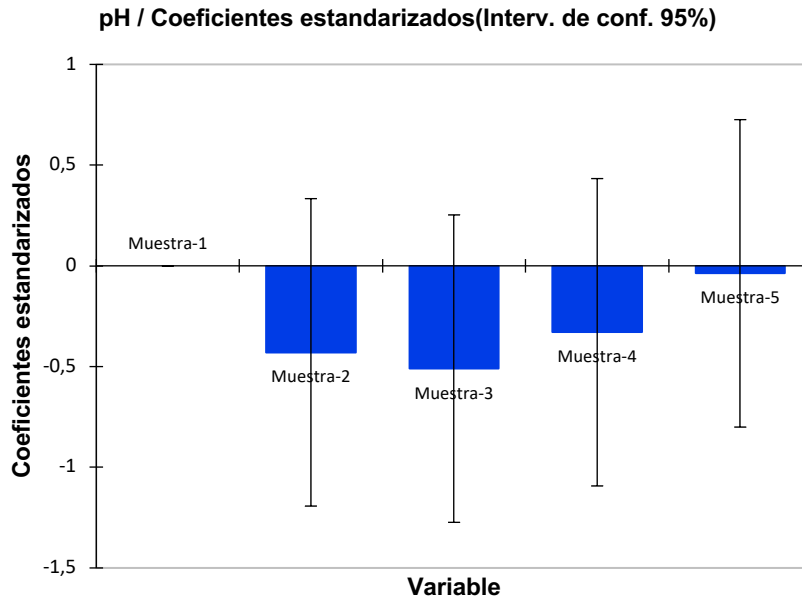


Figura 4. Análisis de coeficientes estandarizados del valor de pH de las almendras de cacao.

A.3 Determinación de la acidez.

El valor de esta variable estuvo comprendida entre 1,12 y 1,22 % (Figura 5), por lo que no se presentaron diferencias significativas ($p\text{-value} > 0.05$), producto del efecto de secado, según Lares (2006), reportó similares resultados por efecto del proceso de secado al sol y el tostado a 150 °C por 30 min.

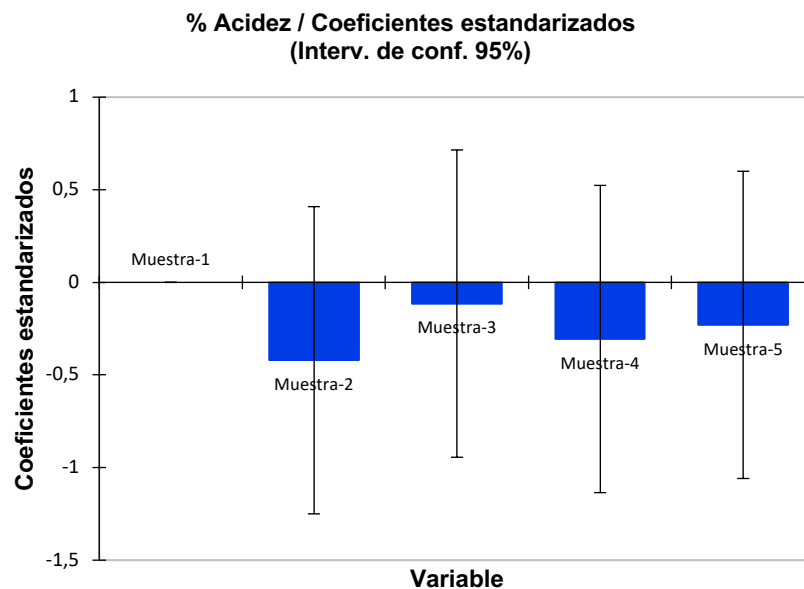


Figura 5. Análisis de coeficientes estandarizados del valor de acidez de las almendras de cacao.

A.4 Determinación del Índice de semilla

Se determina que para este índice existen diferencias significativas ($p \text{ value} < 0.05$) entre las almendras de cacao evaluadas para esta variable. El mayor índice se presentó con 1,64 g; el menor con 0,93 g obteniendo un promedio general de 1,32 g con un coeficiente de variación de 14,33 % (Figura 6).

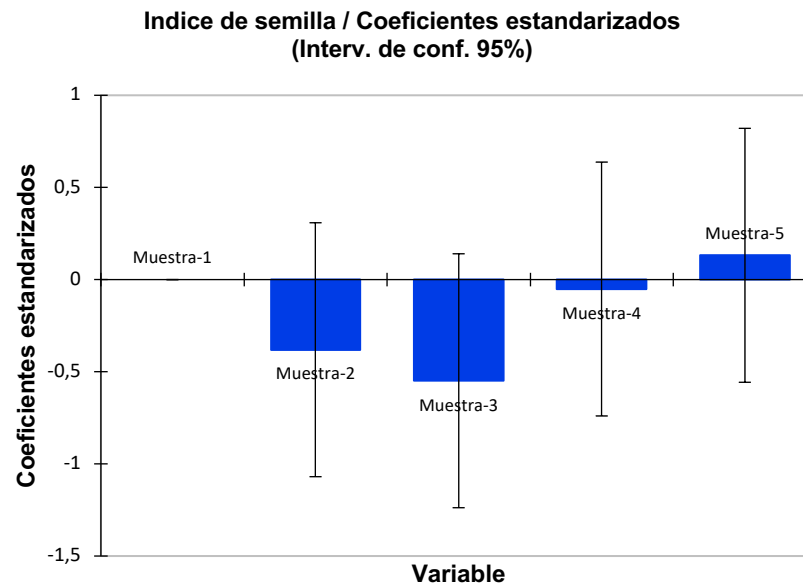


Figura 6. Análisis de coeficientes estandarizados del valor de índice de semilla del cacao evaluado.

A.5 Determinación del Índice de mazorca

Para esta variable, en el ANOVA se encontró diferencias entre las mazorcas de cacao evaluadas. El mayor índice de mazorca se registró con 34,35 g mientras que el índice más bajo fue 13,89 gramos. El promedio general es 21,94 g con un coeficiente de variación de 35.10% (Figura 7). Como podemos evidenciar en la figura se muestra que existen diferencias significativas ($p \text{ value} < 0.05$).

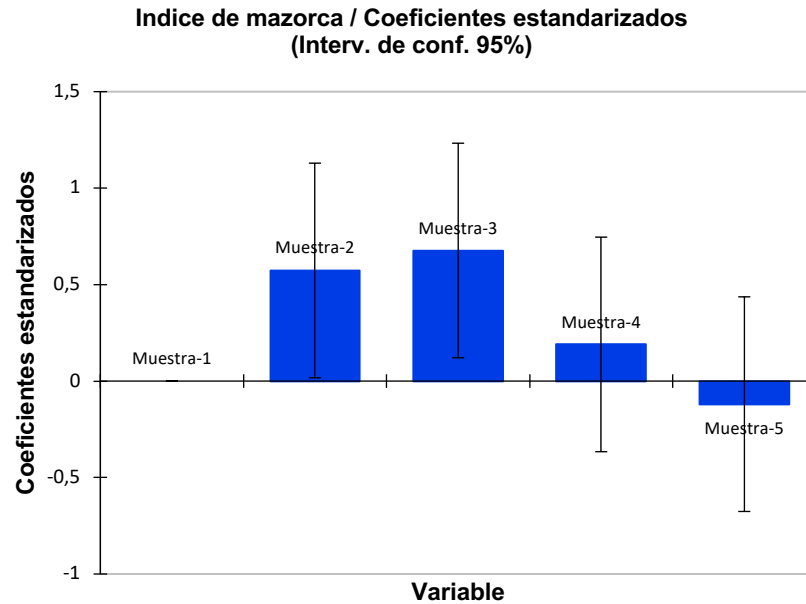


Figura 7. Análisis de coeficientes estandarizados del valor de índice de mazorca del cacao evaluado.

A.6 Determinación del número de almendras por mazorca

Con respecto al numero de almendras, el ANOVA no presentó diferencias significativas ($p\ value > 0.05$), con valores que variaron desde 35,06 hasta 46,36. Por lo que se registró un promedio de 40,43 y un coeficiente de variación de 8,69 % (Figura 8).

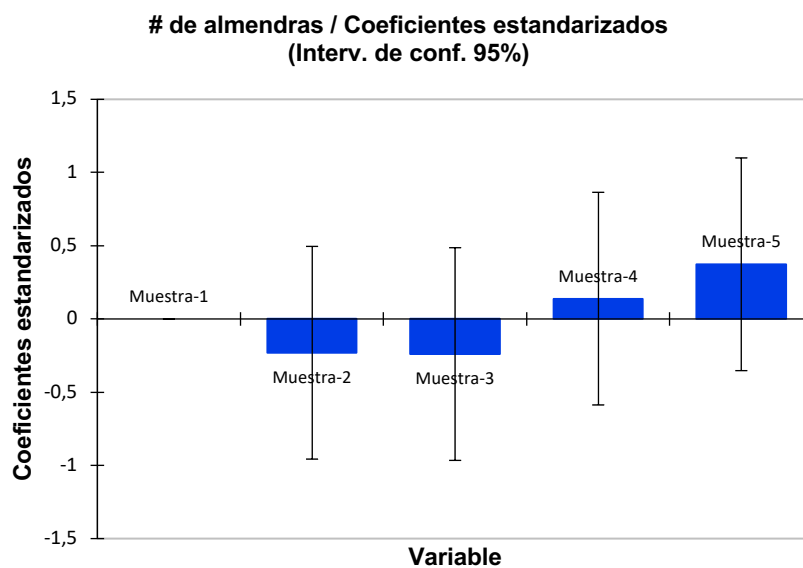


Figura 8. Análisis de coeficientes estandarizados del valor del número de almendras del cacao evaluado.

A.7 Determinación del peso de 100 almendras

En lo que respecta a la determinación de este parámetro el ANOVA realizado no presenta diferencias estadísticas ($p \text{ value} > 0.05$). El promedio general fue 136,34 g con un coeficiente de variación de 15,78 % (Figura 9).

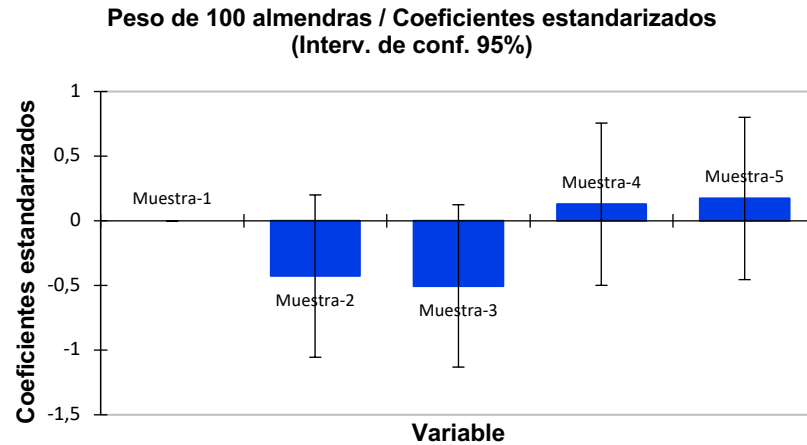


Figura 9. Análisis de coeficientes estandarizados del valor del peso de 100 almendras del cacao evaluado.

A.8 Determinación del porcentaje en testa

Al momento de practicar el ANOVA a este parámetro se evidenció que no existieron diferencias significativas ($p \text{ value} > 0.05$), los valores obtenidos en este análisis variaron desde 9,29 % hasta 39,47 %. El promedio general del porcentaje de testa fue 19,11 con un coeficiente de variación de 44 % (Figura 10).

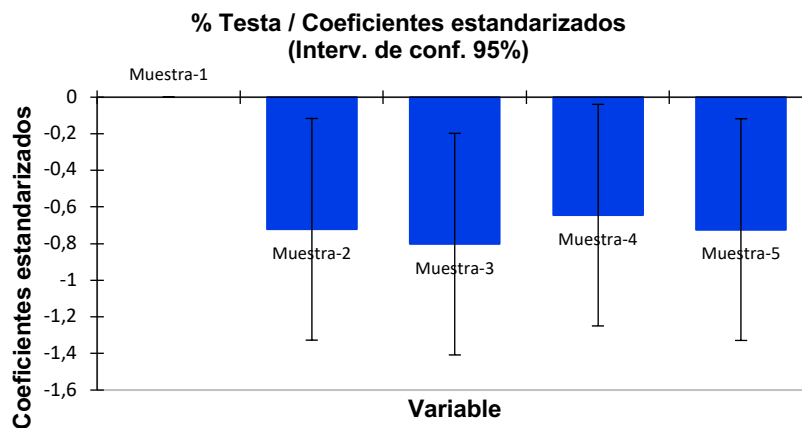


Figura 10. Análisis de coeficientes estandarizados del valor del porcentaje de testa del cacao evaluado.

A manera de resumen se plantea la tabla 1 donde se detallan los valores con sus respectivos valores obtenidos después de analizar dichas variables.

Tabla 1. Resultados obtenidos para el porcentaje de humedad, pH, porcentaje de acidez, índice de semilla, índice de mazorca, número de almendras, peso de 100 almendras y porcentaje de testa del cacao evaluado en el presente estudio.

Muestra	Humedad	pH	% Acidez	Índice de semilla	Índice de mazorca	# de almendras	Peso de 100 almendras	% Testa
1	7,01 ^a	6,11 ^a	1,22 ^a	1,25 ^a	15,81 ^a	43,57 ^a	122,30 ^a	39,47 ^b
1	7,27 ^a	6,75 ^a	1,13 ^a	1,64 ^a	19,56 ^a	41,08 ^a	148,65 ^a	14,93 ^b
1	6,36 ^a	6,86 ^a	1,21 ^a	1,29 ^a	18,3 ^a	36,43 ^a	157,69 ^a	38,20 ^b
2	6,09 ^a	5,44 ^a	1,17 ^a	1,11 ^a	27,60 ^{bc}	35,82 ^a	109,30 ^a	14,15 ^a
2	6,77 ^a	6,56 ^a	1,15 ^a	1,35 ^a	18,12 ^{bc}	37,79 ^a	136,36 ^a	14,73 ^a
2	6,34 ^a	6,34 ^a	1,13 ^a	1,20 ^a	34,35 ^{bc}	41,60 ^a	116,32 ^a	19,74 ^a
3	6,01 ^a	6,62 ^a	1,12 ^a	1,28 ^a	31,64 ^c	38,56 ^a	133,99 ^a	15,78 ^a
3	6,44 ^a	5,42 ^a	1,21 ^a	0,93 ^a	31,21 ^c	35,06 ^a	95,01 ^a	18,60 ^a
3	6,92 ^a	6,04 ^a	1,20 ^a	1,22 ^a	21,98 ^c	41,36 ^a	121,18 ^a	9,29 ^a
4	6,8 ^a	6,30 ^a	1,19 ^a	1,29 ^a	22,36 ^{abc}	39,07 ^a	156,00 ^a	17,38 ^a
4	6,38	6,05 ^a	1,16 ^a	1,46 ^a	21,56 ^{abc}	39,20 ^a	161,03 ^a	15,98 ^a
4	6,00 ^a	6,31 ^a	1,13 ^a	1,36 ^a	18,50 ^{abc}	46,34 ^a	131,69 ^a	19,97 ^a
5	6,50 ^a	6,25 ^a	1,18 ^a	1,61 ^a	13,89 ^a	46,36 ^a	165,65 ^a	16,70 ^a
5	6,36 ^a	6,45 ^a	1,20 ^a	1,21 ^a	18,72 ^a	43,62 ^a	127,98 ^a	14,86 ^a
5	6,77 ^a	6,90 ^a	1,12 ^a	1,54 ^a	15,55 ^a	40,60 ^a	161,98 ^a	16,95 ^a
Promedio	6,53	6,29	1,17	1,32	21,94	40,43	136,34	19,12
CV (%)	5,77	7,05	3,09	14,33	28,96	8,69	15,78	44,00

a, b, c y d: Los superíndices con letras minúsculas diferentes denotan diferencias significativas entre muestras.

CV: Coeficiente de variación.

B Análisis de metales pesados (Cd / Pb)

En lo que respecta al análisis espectrofotométrico por ICP tenemos que los valores de metales pesados muestran niveles promedios: en fase de mucílago 0,89 m.kg⁻¹ para Cd y 0,37 m.kg⁻¹ para Pb; en fase de fermentación 0,73 m.kg⁻¹ para Cd y 0,33 m.kg⁻¹ para Pb y fase de secado 0,95 m.kg⁻¹ para Cd y 0,74 m.kg⁻¹ para Pb (Figura 11).

Por lo que podemos apreciar que no existen diferencias significativas cuando se comparan las tres fases de postcosecha de cacao mucílago, fermentado y seco (*p-value* < 0.05).

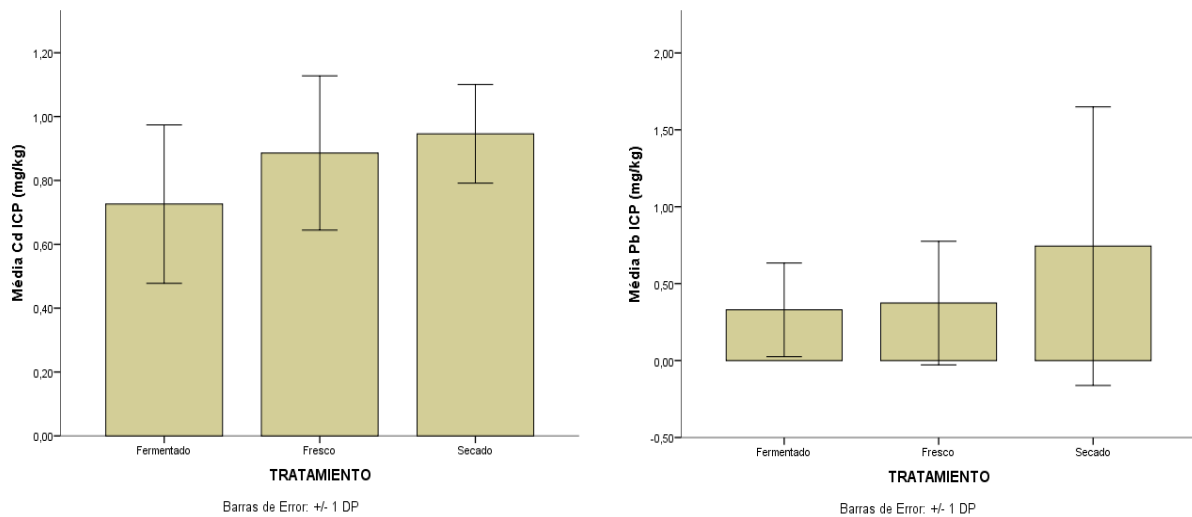


Figura 11. Medidas de Cd y Pb en ICP ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) en tres fases de post cosecha del cacao: Mucílago, fermentado y seco.

Para establecer un análisis comparativo de los niveles de Cd y Pb reportados en el presente estudio y relacionarlos con el Reglamento (CE) n° 1881/2006, que establece el contenido máximo de determinados contaminantes en productos alimenticios, se presenta la figura 12.

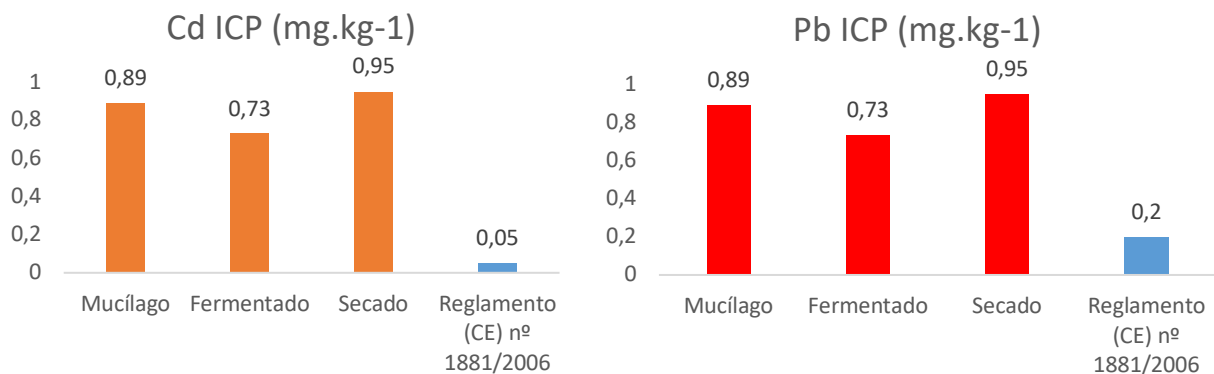


Figura 12. Medidas de Cd y Pb en ICP ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) comparados con el Reglamento (CE) n° 1881/2006.

CAPÍTULO 4 – Discusión de Resultados

Los valores obtenidos para la humedad en este proyecto se encuentran enmarcados dentro del rango establecido por la normativa ecuatoriana NTE-INEN 173; además de acuerdo a Bekele, (2000) declara que la humedad es un parámetro que evalúa la calidad del cacao a la hora de tomar decisiones en lo que respecta a la preservación, empaque, transporte y almacenamiento del producto.

Los valores obtenidos en lo que se refiere al pH están por encima de los hallados por Calderón (2004), que fueron por debajo de 5 y que dichos valores de pH dan como consecuencia que ingrese ácido acético hacia el embrión lo que lleva a una baja de pH.

De acuerdo con Lares (2007), detalló valores similares en almendras de cacao secadas al sol tostadas a 150 °C por 30 minutos, por lo que se atribuye a que la remoción de ácidos volátiles es eficiente, de acuerdo a los tipos de secado y tostado. Así mismo, Jinap, *et al* (1994); atribuyeron el cambio de la acidez al aumento del ácido butírico y a la reducción de los ácidos volátiles indicando que los ácidos cítrico, láctico, succínico y málico no cambian mientras se realiza el proceso de secado.

Los resultados obtenidos para el índice de semilla tuvieron similaridad con estudios realizados anteriormente en 1992 por Pastorelly, donde indica que las muestras tienen valores que varían entre 0,76 y 1,89 teniendo un valor promedio de 1,32 g.

El índice de mazorca es una característica preponderante en la industria y en la clasificación del material para la mejora genética, siendo preferente seleccionar materiales con un índice menor a 20 mazorcas para completar un kilogramo de cacao fermentado y seco (Saucedo, 2003).

El número de semillas es cambiante y está ligado al acondicionamiento genético y ambiental, determinándose que esta variable es importante durante la fecundación de la flor, posiblemente ligado al rendimiento y al peso promedio de

la almendra influida por la época estacional. Se considera que un rango entre 20 hasta 60 almendras por mazorca, es considerado un valor óptimo (Sánchez, 2007).

En lo que respecta al parámetro del peso de 100 almendras de cacao, se mostro similitud entre los resultados de las almendras fermentadas y secas; esto de acuerdo a la normativa ecuatoriana NTE-INEN 175 determina que es las almendras de estos cacaos son catalogados como “finos” debido a su buena fermentación y a sus características de aroma y sabor.

Los resultados de este estudio mostraron que almendras grandes presentaron un porcentaje más elevado de testa, esto en contraposición a lo señalado por Sánchez (2007) quien menciona que el contenido de testa de la almendra guarda relación inversamente proporcional con su tamaño, pero posiblemente esto se de en cacaos del mismo genotipo y no en el caso de genotipos contrarios.

De acuerdo con Prieto, *et al* (2009), los metales pesados se presentan en los suelos asociados a los componentes naturales del mismo o como consecuencia de las actividades antropogénicas. En lo que concierne, a la presencia de metales pesados como Cd en las almendras de cacao, estudios realizados por Mite, *et al* (2010); acotan que este factor puede deberse potencialmente a la incineración de residuos sólidos urbanos, uso de lodos residuales urbanos en las labores agrícolas, agroquímicos, derivados petroquímicos al secar el cacao en la carretera. Las concentraciones de Pb en los granos de cacao oscilaron de la siguiente manera $0,89 \text{ mg.kg}^{-1}$; $0,73 \text{ mg.kg}^{-1}$ y $0,95 \text{ mg.kg}^{-1}$ para almendra en mucílago, fermentada y seca respectivamente; con una concentración promedio de Pb en almendras en sus diferentes etapas de post-cosecha de $0,86 \text{ mg.kg}^{-1}$. Estos valores promedio son comparables a valores obtenidos en estudios realizados por (Tahvonen, 1995).

Finalmente, de acuerdo a Pavesi y Siqueira (2001); concuerdan que existen varios métodos para tratar de remediar el efecto de la por metales pesados, en este caso Cd y Pb, que pueden ser usados como alternativas prometedoras a este inconveniente como son: la remoción, lavado, la fitorremediación que involucra el empleo de técnicas biológicas y químicas.

BIBLIOGRAFÍA

- Álvarez, E., & Pérez, D. (2015). Utilización de ají (*Capsicum frutesces*) en la alimentación de pollos de engorde: desempeño productivo. Corporación Universitaria Santa Rosa de Cabal. Facultad de Ciencias Pecuarias., Zootécnica. Santa Rosa de Cabal: Corporación Universitaria Santa Rosa de cabal. Facultad de Ciencias Pecuarias. Zootécnica.
- Alloway, B. (2013). Heavy metals in soils, trace metals and metalloids in soils and their bioavailability. Springer, Reading. 3ra edición., 587.
- Alvarez-Parrilla, E. d. (2011). La actividad antioxidante de F. fresca y procesados Jalapeño y Serrano pimientos. *Agric. Food Chem.*, 163-173.
- Abollino, O. A. (2002). Distribution and Mobility of Metals in Contaminated Sites. Chemometric Investigation of Pollutant Profiles. . *Environmental Pollution.*, 177.
- Aikpokpodion, P. (2010). Nutrients Dynamics in Cocoa Soils, leaf and beans in Onto State. *J. Agri. Sci.*, 1-9.
- Ajila, M. (2017). Control de Calidad en la elaboración de queso fresco mediante Diagrama de Flujo. Machala, El Oro, Ecuador: Universidad Técnica de Machala. Unidad Académica de Ciencias Químicas y de Salud. Carrera de Ingeniería en Alimentos.
- ANMAT. (5 de Marzo, 2011 de 2004). Obtenido de Guía de interpretación de resultados microbiológicos de alimentos. Administración nacional de medicamentos, alimentos y tecnología médica.: http://www.anmat.gov.ar/alimentos/Guia_de_interpretacion_resultados.

- Asensio, C. (2013). Utilización de aceites esenciales de variedades de orégano como conservante antimicrobiano, antioxidante y de las propiedades sensoriales de alimentos: quesos cottage, ricota y aceite de oliva. Córdoba, Argentina: Tesis Doctoral.
- Azizi A., Y. F. (2009). Herbage yield, essential oil content and composition of three oregano (*Origanum vulgare* L.) populations as affected by soil moisture regimes and nitrogen supply. *Industrial Crops and Products*, 554-561.
- Blaser, W. O. (2017). Shade trees have limited benefits for soil fertility in cocoa agroforests. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 83-91.
- Baran, J. (1995). Determinación de trazas de cadmio en cholga (*Aulacomya ater*), chorito (*Mytilus chilensis*) y ostra chilena (*Ostrae chilensis*) en la zona de Chiloé (Hueihue). Chile: Tesis de Grado presentada como parte de los requisitos para optar de Químico Farmacéutico, Universidad Austral – Chile.
- Bekele, F. y. (2000). Proposed short list cocoa descriptors for characterization. *Working procedures for cocoa germplasm evaluation and selection (Proceedings of the CFC/ICCO/IPGRI project Workshop 1–6)*, 41-48.
- Calderón, D. (2004). Caracterización y evaluación de accesión de cacao Amazónico con énfasis en su comportamiento sanitario y productivo. Babahoyo, Los Ríos, Ecuador: Tesis Ing. Agr. Universidad Técnica de Babahoyo. Facultad de Ciencias Agropecuarias.
- Catão, R. y. (2001). *Listeria* spp., coliformes totais e fecháis e *E. coli* no leite cru e pasteurizado de uma industria de laticínios, no estado da Paraíba (Brazil). *Ciênc Tecnol Aliment* , 281-287.

- Chen, Y. e. (2013). Accumulation and health risk of heavy metals in vegetables from harmless and organic vegetable production systems of China. *Ecotoxicology and Environmental Safety*.
- Citti, R. S. (1999). Aislamiento de *L. monocytogenes* en muestras de queso blanco duro tipo llanero del distrito sanitario Uno del estado Aragua, Venezuela. . *Rev Fac Cs Vets*, 101-110.
- Covarrubias, S. y. (2017). Contaminación ambiental por metales pesados en México: Problemática y Estrategias de Fitorremediación. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* , 7-21.
- Crețu C., F. V.-C. (2009). The influence of pH and temperature on *Salmonella* spp. from fresh, chilled and frozen poultry carcasses. . *Cercetări Agronomice în Moldova.*, 79-84.
- Córdova, A., Yescas, C., & Ortiz-Estrada, A. &. (2016). Invited review: Artisanal Mexican Cheeses. 1–13. <http://doi.org/10.3168/jds.2015-10103>.
- Curtis, D. (2008). Casarett and Doull's, toxicology, the basic science of poisons. New York.: McGraw-Hill.
- Díaz, R. C. (18 de Enero de 2005). *Staphylococcus aureus* en queso blanco fresco y su relación con diferentes microorganismos indicadores de calidad sanitaria. Obtenido de *Rev. Salud. (Online).*: www.uanl.mx/publicaciones/respyn/ii3/articulos/saureus-1.html.
- Dubach, J. (1980). El "ABC" para la quesería Rural del Ecuador. Ecuador, Ecaudor.
- Durán, M. M. (2010). Evaluación higiénico-sanitaria y acción antagónica de cepas de lactobacilos comerciales frente a microorganismos patógenos (*Escherichia coli*) presentes en el queso de Capa del municipio de Mompox. *Revista Científica FCV-LUZ.*, 312-317.

- Economou G., P. G. (2011). Variability in essential oil content and composition of *Origanum hirtum* L., *Origanum onites* L., *Coridothymus capitatus* (L.) and *Satureja thymbra* L. populations from the Greek island Ikaria. *Industrial Crops and Products.*, 236-241.
- Enríquez, G. (2003). Cultivo limpio (ecológico) del cacao, con miras a la certificación. Guía para productores ecuatorianos. Quito, Pichincha, Ecuador : INIAP (Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias).
- FAO/OMS. (2008). Leche y productos lácteos. Norma General del Codex para el queso. Codex Stan 283-1978.
- FENAP. (1996). *Escherichia coli* serotype O157:H7. Novel vehicles of infection and emergente of phenotypic variants. Synopsis. Washington D. C., USA: FDA. Doc. Tec. No. 1, 1:1-9.
- Fiol, C. P. (2016). Nettle cheese : Using nettle leaves (*Urtica dioica*) to coagulate milk in the fresh cheese making process. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 19-24.
- Fito, P. L. (2007). Advanced food process engineering to model real food and processes: The “SAFES” methodology. *Journal of Food Engineering.* , 173-185.
- Fox, F. y. (1996). Proteolysis in cheese during ripening. . *Food Reviews International.*, 457-509.
- Fox, P. G. (2000). *Fundamentals of Cheese Science*. Aspen Publishers., 392-422.

- García, B. (2006). Caracterización fisicoquímica de diversos tipos de quesos elaborados en el valle de Tulancingo Hidalgo con el fin de proponer normas de calidad. . Hidalgo, México: Universidad del Estado de Hidalgo. Instituto de Ciencias Agropecuarias.
- García-Islas, B. (2006). Caracterización fisicoquímica de diversos tipos de quesos elaborados en el Valle de Tulancingo Hgo con el fin de proponer normas de calidad. México: Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Tulancingo, Hgo.
- Gunasekaran, S. y. (2003). Cheese Rheology and Texture. CRC Press., 437.
- Gunnar, F. (2007). Handbook on the toxicology of metals . ACADEMIC PRESS, Elsevier B.V. A.
- ICCO. (2013). Project 146 Supply Chain Management for Total Quality Cocoa- Pilot Phase. Obtenido de <http://www.icco.org/projects/projects-home/10-projects/146-supply-chain-management-for-total-quality-cocoa-pilot-phase.html>
- INEN. (1996). Control microbiológico de los alimentos. Salmonella. Método de detección. NTE-INEN 1529-15:95. Quito, Pichincha, Ecuador.
- INEN. (1998). Enterobacteriaceae. Recuento en placa por siembra en profundidad. 1529-11:98. Quito, Pichincha, Ecuador.
- INEN. (1998). Staphylococcus aureus. Recuento en placa de siembra por extensión en superficie. NTE-INEN 1529-14:98. Quito, Pichincha , Ecuador.
- INEN. (2012). Norma General para Quesos Frescos no madurados. Requisitos. 1528. Quito, Pichincha, Ecuador.

- Jinap, S. a. (1994). Effect of drying on acidity and volatile fatty acids content of cocoa beans. . *Journal of Science of Food and Agriculture.*, 67-75.
- Johnson, M. y. (2011). *The fundamentals of cheese technology.* . Reino Unido: Wiley Blackwell.
- Juarez, C. (1995). Estudio comparativo entre la calidad bacteriológica de quesos frescos y quesos secos en diez plantas procesadoras de productos lácteos. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
- Kongo, J. &. (2016). Cheese: Types of Cheeses. Module in Food Science Encyclopedia of Food and Helath.
- Laciar, A. V. (1999). *Listeria spp. en alimentos de origen animal.* Rev Argent Microbiol., 25-30.
- Lares, M. (2007). Diferenciación, caracterización y composición lipídica de la manteca extraída del cacao en dos de los procesos poscosecha. Venezuela: Tesis Doctoral. Postgrado Interfacultades en Ciencia y Tecnología de Alimentos, Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela.
- Ledesma, L. F. (2007). Cambios de la composición mineral de quesos de cabra en función de la dieta y el cuajo usado. *Archivos de Zootecnia*; 568(1):, 719-723.
- Li, N. e. (2015). Concentration and transportation of heavy metals in vegetables and risk assessment of human exposure to bioaccessible heavy metals in soil near a waste-incinerator site, South China. *Science of the Total Environment.*, 521-522.

- LIDERES. (Febereoo de 2015). Obtenido de www.ElComercio.com:
<http://www.revistalideres.ec/lideres/ecuador-produccion-lactea-queso.html>. ElComercio.com
- Lucho, C. A. (2005). A multivariate analysis of the accumulation and fractionation of major and trace elements in agricultura! soils in Hidalgo State, Mexico irrigated with raw wastewater. *Environmental International*.
- Lu, N. S. (2008). Effects of pH on the textural properties and meltability of pasteurized process cheese made with diffeerent types of emulsifying salts. . *JFS: Food Engineering and Physical Properties.*, E363-E369.
- Maldonado, R. y. (2008). studio de la calidad del queso de mano comercializado en el municipio Girardot, estado Aragua, Venezuela. . *Rev. Científica FCV LUZ.*, 431-436.
- Madeddu, R. (2005). Estudio de la influencia del cadmio sobre el medioambiente y el organismo humano: perspectivas experimentales epidemiológicas y morfofuncionales en el hombre y los animales de experimentación. . Murcia, España : Tesis doctoral, Universidad de Murcia – España.
- Matte, T. (2003). Efectos del Plomo en la Salud de la Niñez. ISSN: 00363634., 220-224.
- Mendez, B. (2001). Metales pesados en alimentación animal, XVII Curso de Especialización FEDNA. Obtenido de www.produccion-animal.com.ar
- Micó C, R. L. (2006). Assessing heavy metal sources in agricultural soils of an European Mediterranean area by multivariate analysis. *Chemosphere.*, 863-872.
- Mite, F. C. (2010). Avances del monitoreo de presencia de cadmio en almendras de cacao, suelos y aguas en Ecuador. XII Congreso Ecuatoriano de la Ciencia del Suelo.

- Mithöfer, A., S. B.-W. (2004). Biotic and heavy metal stress response in plants: evidence for common signals. *FEBS Lett.*, 1-5.
- Navarro, J. A. (2007). Aspectos bioquímicos y genéticos de la tolerancia y acumulación de metales pesados en plantas. . *Ecosistemas.*, 10-25.
- Osorio, J. C. (2004). Caracterización Textural y Fisicoquímica del queso Edam. *Revista facultad Nacional de Agronomía.*, 1-11.
- Pastorelly, D. (1992). Evaluación de algunas características del cacao tipo Nacional de la colección de la zona de Tenguel. Tesis Ing. Agr. Universidad Agraria del Ecuador, .
- Pastorino, A. H. (2003). Effect of pH on the chemical Composition and Structure function relationships of cheddar Cheese. *Journal of Dairy Science.*, 2751-2760.
- Pavesi, J. y. (2001). Solos contaminados por metaís pesados: características, implicaijóes e reinedicáo. *Informe Agropecuário.*, 18-26.
- Peralta, J. L. (2009). The biochemistry of environmental heavy metal uptake by plants: Implications for the food chain. . *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 1665-1677.
- Perea, J. R. (2010). Caracterización fisicoquímica de materiales regionales de cacao colombiano. *Bioteconología en el sector Agropecuario y Agroindustrial.*, 35-42.
- Pinho, O. M. (2004). Chemical, physical, and sensorial characteristics of “Terrincho” ewe cheese: Changes during ripening and intravarietal comparison. *Journal of Dairy Science.*, 249-257.

- Prieto, J. G. (2009). Contaminación y fitotoxicidad en plantas por metales pesados provenientes de suelos y agua. *Tropical and Subtropical Agroecosystems.*, 29-44.
- Quiroz, D. (2013). Comportamiento productivo, sanitario y de calidad en 12 clones de cacao (*Theobroma cacao* L.) en la zona Quevedo y Tenguel. . Quevedo, Los Ríos, Ecuador: Tesis Ing. Agr. Universidad Técnica Estatal de Quevedo.
- Ramírez, C. y. (2012). Quesos Frescos: propiedades, métodos de determinación y factores que afectan su calidad. *Temas selectos de Ingeniería de Alimentos.*, 131-148.
- Revilla, R. (1983). *Tecnología de la leche: Procesamiento, manufactura y análisis.* México.: Herrera Hermanos.
- Ruíz, J. (2003). *Didáctica de la Química y Vida Cotidiana.* Sección de Publicaciones de la Escuela Técnica Superior de Ingenieros Industriales., 275-280.
- Schöbitz, R. (2009). Obtenido de <http://mingaonline.uach.cl/pdf/agrosur/v37n1/art01.pdf>.
- Schützendübel, A. y. (2002). Plant responses to abiotic stresses: heavy metal-induced oxidative stress and protection by mycorrhization. *J. Exp. Bot.*, 1351-1365.
- Sánchez J., C. V. (2016). Diagnóstico de la calidad sanitaria en las queserías artesanales del municipio de Zacazonapan, Estado de México. . *Salud Pública de México.*

- Sánchez, C. (2007). Caracterización organoléptica del cacao (*Theobroma cacao* L.) para la selección de árboles con perfiles de árboles de interés comercial. Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Facultad de Ciencias Agrarias.
- Saucedo, A. (2003). Comportamiento de híbridos de cacao (*Theobroma cacao* L.) tipo Nacional en la zona de Quevedo. Comportamiento genético del cacao. Sistemas de incompatibilidad. . Babahoyo, Quevedo, Ecuador: Tesis Ing. Agr. Universidad Técnica de Babahoyo.
- Sauquillo, A. R. (2003). Overview of the use of Leaching/Extraction Tests for Risk Assessment of Trace Metals in Contaminated Soils and Sediments. . Trends in Analytical Chemistry., 152-159.
- Silva, D. (2008). Manual de métodos de análisis químico de los alimentos. Machala, El Oro, Ecuador: Facultad de Ciencias Químicas.
- Smeets. K., C. A. (2005). Induction of oxidative stress and antioxidative mechanisms in *Phaseolus vulgaris* after Cd application. Plant Physiol. Biochem., 437-444.
- Tahvonen, R. &. (1995). Lead and cadmium in some berries and vegetables on the Finnish market in 1991–1993. Food Additives & Contaminants., 263-279.
- USDA. (2010). Introduction to food toxicology,. Department of Environmental Toxicology, University of California.
- Vanhove, W. N. (2016). Effect of shade tree planting and soil management on rehabilitation success of a 22-year-old degraded cocoa (*Theobroma cacao* L.) plantation. Agriculture, Ecosystems & Environment, 14-25.
- Vélez, J. (2009). Rheology and texture of cheese. Nova Science Publishers., 87-122.

- Vizcaíno, D. y. (2014). Obtenido de www.agrocalidad.gob.ec: <https://goo.gl/XsmQy5>. Manual de Aplicabilidad de Buenas Prácticas Agrícolas para Cacao.
- Volke, T. V. (2005). Suelos contaminados por metales y metaloides: muestreo y alternativas para su remediación. . México. D. F., México: Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Instituto Nacional de Ecología. .
- Walstra, P. (1990). On the stability of casein micelles. *Journal of Dairy Science*, 1965-1979.
- Yildiz, G. R. (2016). Ultrasound-assisted cutting of cheddar ,mozzarella and Swiss cheeses – Effects on quality attributes during storage. *Innovative Food Science and Emerging Technologies.*, 1-9.
- Zar, J. (2009). *Biostatistical Analysis*. United States of America: Pearson.