

ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA Y AGROINDUSTRIA

**EVALUACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE CADMIO Y PLOMO
PRESENTE EN SUELO Y DIFERENTES PARTES DE LA PLANTA DE
CACAO NACIONAL (THEOBROMA CACAO L), Y SU MOVILIDAD EN
EL SISTEMA SUELO – PLANTA CON LA APLICACIÓN DE
BOCASHI.**

**PROYECTO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE MAGÍSTER EN
BIOCIENCIAS APLICADAS CON MENCIÓN EN BIODESCUBRIMIENTO**

FÁTIMA CECILIA MANTILLA CALERO

fátima.mantilla@epn.edu.ec

DIRECTORA: ING. JENNY CUMANDÁ RUALES NAJERA, Ph.D

jeny.ruales@epn.edu.ec

CO-DIRECTOR: ING. DAVID VANEGAS JÁCOME, M.Sc.

david.vanegas@ucuenca.edu.ec

Quito, octubre 2023

DERECHOS DE AUTOR

© Escuela Politécnica Nacional 2023
Reservados todos los derechos de reproducción

DECLARACIÓN

Yo, Fátima Cecilia Mantilla Calero, declaro bajo juramento que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

A través de la presente declaración dejo constancia de que la Escuela Politécnica Nacional puede hacer uso de los derechos correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normativa institucional vigente.



Firmado electrónicamente por:
**FATIMA CECILIA
MANTILLA
CALERO**

Fátima Cecilia Mantilla Calero

CERTIFICACIÓN

Certifico que el presente trabajo fue desarrollado por Fátima Cecilia Mantilla Calero, bajo mi supervisión.



Firmado electrónicamente por:
**JENY CUMANDA
RUALES NAJERA**

Ing. Jenny Ruales Najera Ph.D
DIRECTOR DEL PROYECTO



Firmado electrónicamente por:
**DAVID ENRIQUE
VANEGAS JÁCOME**

Ing. David Vanegas Jácome M.Sc.
CODIRECTOR DEL PROYECTO

DEDICATORIA

Este trabajo lo dedico con profundo amor a mi padre Jorge Mantilla, a mi madre Aida Calero y por supuesto a mi esposo Paúl Herrera, quienes me apoyaron y han confiado en mi para llegar a cumplir este objetivo.

AUSPICIO

La presente investigación contó con el auspicio financiero del proyecto CEPRA-XIII-2019-04, que se ejecuta en el Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos.

AGRADECIMIENTOS

Brindo mi total agradecimiento a Dios por darme todas fuerzas necesarias para seguir adelante frente a las adversidades que se me han presentado. A mis queridos y eternos padres, quienes confiaron tanto en mí y no dudaron en demostrarme su apoyo incondicional para que pueda cumplir todas mis metas. A mi familia por su apoyo moral y buenos deseos hacia mi persona. A todas las personas que estuvieron apoyando durante el tiempo que duró esta travesía. Mi total agradecimiento a mi directora de tesis, Dra Jenny Ruales, por su permanente apoyo académico y al Dr. David Vanegas por su valioso aporte a este proyecto. A todo el personal del Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos, en especial a Carolina, Yadira y al Dr. Pedro Maldonado quienes me apoyaron con sus conocimientos académicos incondicionalmente en lo que estuvo a su alcance.

Evaluación de la concentración de cadmio y plomo presente en el suelo y diferentes partes de la planta de cacao nacional (*Theobroma cacao L*), y su movilidad en el sistema suelo–planta con la aplicación de Bocashi.

Cecilia Mantilla¹

¹Escuela Politécnica Nacional (EPN), Facultad de Ingeniería Química y Agroindustrias, Quito, Ecuador.

Resumen:

Ecuador es uno de los principales países productores de cacao nacional, también conocido como “Cacao arriba”. Sin embargo, existe una deficiente composición nutricional en suelos con cultivos de cacao y en algunos casos, se encuentran contaminados con metales tóxicos. El Bocashi podría ayudar con esta problemática. El estudio fue realizado con plantas de cacao nacional cultivadas en la Joya de los Sachas, Provincia de Orellana. La concentración de cadmio (Cd) y plomo (Pb) en cacao y suelo mediante espectrofotometría de absorción atómica con horno de grafito, antes y después de la aplicación del Bocashi. Por una parte, los resultados de la aplicación del Bocashi mostraron una disminución del 33 % de Cd y 44 % de Pb en granos de cacao y una disminución del 20 % de Cd y 21 % de Pb en suelo. Por otra parte, el análisis de movilidad realizado antes y después de la aplicación del Bocashi presentó una transferencia de Cd de 2,13 % y 1,71 % en el sistema suelo-planta. Mientras que, la concentración de Pb estuvo por debajo del 1 %. Bajo este contexto, el uso de enmiendas orgánicas constituye un valor agregado para la solución en la biorremediación de suelos contaminados. Con base a los resultados obtenidos, se recomienda estudiar la estabilidad del pH y su influencia en la disponibilidad y movilidad de los metales tóxicos en el suelo.

Palabras clave: Bocashi, cacao, cadmio, espectrofotometría, movilidad, plomo.

Evaluation of the concentration of cadmium and lead present in the soil and different parts of the national cacao plant (*Theobroma cacao L*), and its mobility in the soil-plant system with Bokashi application

Abstract:

Ecuador is one of the main producing countries of national cacao, also known as “Cacao arriba”. However, there is a deficient nutritional composition in soils with cacao crop and in some cases, they are contaminated with trace elements. The Bokashi could help with this problematic. The study was carried out in plants of national cacao cultivated in Joya the Sachas, Orellana Province. The concentration of cadmium (Cd) and lead (Pb) was analyzed and evaluated in soil-plant system using atomic absorption spectrophotometry with graphite furnace, before and after the application of Bokashi. On the one hand, the of the Bokashi application showed a decrease of 33 % in Cd and 44 % in Pb in cacao beans and the soil shows a decrease of 20 % in Cd and 21 % in Pb. On the other hand, the analysis of mobility that was carried out before and after the application of Bokashi shows a Cd transfer of 2,13 % and 1,71 % in the soil-plant system. While the Pb concentration was below 1 %. Under this contest, the use of organic amendments constitutes an added value for the solution in the bioremediation of contaminated soils. Based on the results obtained, it is recommended to study the stability of pH and its influence on the availability and mobility of toxic metals in the soil.

Keywords: Bokashi, cacao, cadmium, spectrophotometry, mobility, lead.

1. INTRODUCCIÓN

El cultivo de cacao (*Theobroma cacao L.*) es muy importante en las actividades socioeconómicas en los países de América Latina (Hussain et al., 2023). Ecuador es uno de los principales países productores y exportadores de cacao nacional en el mundo (Maddela et al., 2020), conocido mundialmente por su excelente calidad en sabor y aroma (Pino Peralta et al., 2018). Por consiguiente, es una fuente de ingreso para la agricultura familiar y uno de los principales productos no petroleros de exportación (Streule et al., 2022). La producción de cacao en grano en el Ecuador en el año 2017 fue de 289.102 toneladas métricas (tM), la cual se exportó 247.483 tM a la Unión Europea (UE) y a Estados Unidos. Esto representó un ingreso de alrededor de 551.953 dólares americanos (Beillard & Vega, 2018; Chávez, 2018; Vignati & Gómez-García, 2020). En el año 2021, las exportaciones de cacao y sus elaborados solamente a la UE alcanzó un valor de 3.768,2 millones de dólares americanos (MPCEIP, 2023). Con estos antecedentes, este cultivo aporta a la dinámica de la economía con una mayor redistribución de la riqueza (Quezada-Campoverde et al., 2021).

El cacao es la materia prima para la elaboración de muchos productos a base de cacao. Por esa razón, existe mucha preocupación por parte de la Organización Mundial de la Salud (OMS), en lo que respecta a la seguridad alimentaria, debido a la presencia de elementos trazas como zinc (Zn), níquel (Ni), plomo (Pb), cadmio (Cd), arsénico (As), mercurio (Hg) y cobre (Cu) en cultivos, coproductos y derivados del cacao (Anyimah-Ackah et al., 2019). Estos elementos trazas, principalmente el Cd y el Pb son elementos tóxicos para el ser humano y pueden causar efectos adversos e irreversibles en los principales órganos humanos como el hígado, riñón, cerebro y corazón, alterando su morfología y funciones (Zhou et al., 2019; Zug et al., 2019). Una de las formas que puede ingresar al cuerpo, es por el consumo de productos derivados de cacao que se encuentren contaminados con estos elementos tóxicos (Ahmed et al., 2021; Joya-Barrero et al., 2023).

Los granos de cacao se ven afectados por la presencia de metales tóxicos como Cd y Pb, lo que afecta en la exportación de este producto agrícola (Engbersen et al., 2019; Romero-Estévez et al., 2019). La concentración máxima permitida de Cd es de 0,8 mg kg⁻¹ y de Pb es de 2 mg kg⁻¹ en chocolate (Codex alimentarius, 2015; European Commission, 2019). Estudios en 31 fincas de tres provincias de la amazonia ecuatoriana (Sucumbíos, Morona Santiago y Orellana), mostraron como resultado la presencia de Cd en cultivos de cacao: 1,26 ± 0,02 y 1,51 ± 0,05 mg kg⁻¹ (Barraza et al., 2018).

Bajo este contexto, la presencia de altas concentraciones de estos metales tóxicos en la Amazonia puede deberse a fenómenos naturales como erupciones volcánicas y/o a factores antropogénicos como malas prácticas agrícolas, mineras, petroleras e industriales, así como a residuos

sólidos urbanos (Argüello et al., 2019; Barraza et al., 2018). Esto puede generar grandes problemas de contaminación por la utilización de fertilizantes, pesticidas, insecticidas y plaguicidas (Idowu et al., 2022). Los fertilizantes químicos son uno de los principales contaminantes de los suelos agrícolas (Elbana et al., 2019). Si bien, tienen una composición baja en metales tóxicos, su elevado e incorrecto uso causa la acumulación y contaminación de elementos no deseados en los suelos de cultivo (Hu et al., 2018). Las raíces de las plantas absorben y transportan estos elementos que están biodisponibles en el suelo, hacia las hojas y frutos de las plantas en su proceso de nutrición (Dubey et al., 2021; Zakaria et al., 2021).

Los métodos químicos y físicos suelen ser muy costosos y si no son bien realizados y aplicados, pueden provocar una contaminación aún mayor, por lo que los suelos agrícolas corren un gran riesgo de degradarse con gran rapidez al contaminarse con sustancias nocivas (Milošević & Milošević, 2020; Rashid et al., 2023). Como consecuencia, existe una pobre población microbiológica en el suelo, junto a una deficiente fertilidad y calidad nutricional de las plantas (Gautam et al., 2023; Wood et al., 2018). La falta de fertilización con enmiendas orgánicas a los suelos en producción causa que los diferentes órganos de la planta absorban niveles preocupantes de metales tóxicos (Xu et al., 2019; Yan et al., 2018).

Las enmiendas orgánicas pueden ayudar a enriquecer la composición nutricional del suelo y por consiguiente los tejidos vegetales de las plantas (Babatunde et al., 2019). Pueden estar compuestas por biocarbón, materia orgánica y cal agrícola, los cuales ayudan en la disminución de la movilidad, solubilidad y disponibilidad de los metales tóxicos, haciendo difícil su absorción por las raíces de la planta (Ramtahal et al., 2019). La utilización de sistemas de biorremediación como el biocarbón y el compostaje orgánico *Bocashi* (COB), tiene beneficios en los cultivos de cacao como mayor disponibilidad de nutrientes, aumento de la producción, disminución del uso de fertilizantes químicos, entre otros. (Amponsah-Doku et al., 2022; Pohan et al., 2019). Por tanto, es de gran importancia realizar un correcto manejo integral de los cultivos de cacao, disminuyendo el uso de agentes químicos, mejorando la producción del cacao ecuatoriano y cumpliendo con los estándares internacionales de calidad (Charris, 2021; Pino Peralta et al., 2018).

El término “*bocashi*” proviene de una palabra japonesa y significa materia orgánica fermentada (FAO, 2011). Este producto es uno de los abonos orgánicos más novedosos utilizados por los agricultores para implementar en sus cultivos, debido a que es obtenido a partir de la descomposición y transformación de materia vegetal y animal, lo que contribuye de muchas maneras al cultivo orgánico (Anhar et al., 2018). El COB puede ser aplicado directamente al suelo ; al estar descompuesto, aumenta y activa los microorganismos del suelo, mejora el contenido

de materia orgánica y ayuda a ser una fuente de nutrientes para las plantas (Lew et al., 2021).

Estudios previos han comprobado que la aplicación de estas técnicas de biorremediación ayudan a disminuir la concentración, disponibilidad y movilidad de metales tóxicos en el sistema suelo-planta (Castebianco, 2018; Gong et al., 2019). Por tal razón, el objetivo de esta investigación es aplicar COB a un cultivo de plantas de cacao nacional (*Theobroma cacao L.*), para evaluar si existe disminución de Cd y Pb en el suelo, hojas, cáscara, testa y granos de cacao y su transferencia en el sistema suelo-planta.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Área de muestreo del estudio

El trabajo de campo del presente estudio se llevó a cabo en una finca ubicada en el cantón Joya de Los Sachas, provincia de Orellana, en la región amazónica de Ecuador. El cultivo de cacao utilizado fue el cacao nacional, seleccionado y denominado “súper árbol”. El experimento se realizó en dos parcelas experimentales con cultivos de esta variedad de cacao. Los análisis de laboratorio se realizaron en los laboratorios del Departamento de Ciencia de Alimentos y Biotecnología (DECAB) de la Facultad de Ingeniería Química y Agroindustria de la Escuela Politécnica Nacional, Quito-Ecuador.

2.2 Selección de las muestras y diseño experimental del estudio

Se identificaron las plantas experimentales del estudio, utilizando la técnica de muestreo probabilístico (aleatorio simple) en forma de zigzag (Otzen & Manterola, 2017). Para el muestreo, se seleccionó una población de 120 plantas, obteniéndose 16 plantas como tamaño de muestra de estudio, esto según la ecuación 1. Además, se tomaron 4 plantas como control, las cuales no se aplicó ningún tipo de tratamiento o enmienda con la finalidad de comparar los resultados obtenidos en las plantas tratadas. Obteniéndose un total de 20 plantas como unidades experimentales. Todas las plantas se encontraban en una topografía de terreno plano, misma variedad de cacao, recibían suficiente luz solar y tenían una edad aproximada de 8 años (Maiti & Bidinger, 1981; Mendis & Arce, 2003).

$$n = \frac{N \cdot Z_{\alpha}^2 \cdot p \cdot q}{e^2 \cdot (N-1) + Z_{\alpha}^2 \cdot p \cdot q} \quad (1)$$

Donde:

n: Tamaño de muestra buscado (20)

N: Tamaño de la Población o Universo (120)

Z: Parámetro estadístico que depende el Nivel de confianza del 95 %

e: Error de estimación máximo aceptado (9 %)

p: Probabilidad de que ocurra el evento estudiado (95 %)

q: Probabilidad de que no ocurra el evento estudiado (5 %)

2.2.1 Diseño de mezclas

Se realizó un diseño factorial mixto de 3 factores, donde el primer factor son las plantas de cacao: (4 controles y 16 diferentes plantas de cacao); el segundo factor son 2 niveles de contenido de abono Bocashi, (con tratamiento de abono y sin abono); y, el tercer factor corresponde al suelo y a las diferentes partes de la planta (cáscara, testa, granos y hojas). Por lo tanto, un total de 200 experimentos con 2 réplicas fueron aplicados a cada planta de cacao, siendo las variables de respuesta, las concentraciones de Cd y Pb.

2.3 Recolección de muestras

El primer muestreo se recolectaron 20 muestras de las unidades experimentales incluyendo las muestras de suelo de cada planta. Las plantas fueron marcadas y codificadas con cintas de colores para poder ser identificadas posteriormente y facilitar la continuidad del experimento.

Para el caso de las muestras de suelo, se aplicó el método de muestreo de identificación y de nivel de fondo (MINAM, 2014). Para este muestreo, se realizó la extracción de las muestras de suelo entre 70 y 100 cm de distancia alrededor de la planta (distancia entre plantas; 3 m) y a una profundidad de 5 y 20 cm, esto con la ayuda de una herramienta específica para este tipo de procedimientos (barreno). Se extrajeron 500 g de cada muestra y posteriormente se mezclaron estas dos muestras para obtener una muestra compuesta. Este procedimiento se realizó con cada una de las plantas seleccionadas para el experimento (Chávez & Argüello, 2022).

Muestras de hojas y frutos fueron tomadas de cada una de las 16 plantas experimentales y de las 4 plantas control seleccionadas para el estudio.

Para la recolección de las muestras de hojas, se verificó que se encuentren completamente verdes, es decir, sin daño visible por plagas y enfermedades de la planta. Se tomó la cuarta hoja desde la posición apical de la rama, siendo un total de 4 hojas de diferentes ramas ubicadas en el tercio medio de la planta.

Mientras que para la obtención de la muestra de frutos se verificaron las mismas condiciones que en las hojas, escogiendo dos frutos por cada planta, en estado maduro y lo suficientemente grande para obtener las muestras de cáscara, testa y granos de cacao requeridas para el análisis en laboratorio (Barrueta, 2013; Chávez & Argüello, 2022; Maiti & Bidinger, 1981).

Las muestras de hojas y frutos fueron recolectadas antes de la aplicación del COB. Todas las muestras obtenidas fueron almacenadas en fundas de polietileno con cierre hermético, etiquetadas y transportadas en hieleras (cooler) a una temperatura de 8 °C, manteniendo la misma con hielo en gel para mantener la temperatura hasta llegar al laboratorio y refrigerar hasta realizar el análisis. A excepción de las muestras de suelo que fueron transportadas a temperatura ambiente.

2.4 Preparación de las muestras

Las hojas se congelaron a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ en un ultra congelador (Thermo Fisher Scientific Asheville LLC, modelo RLE50086D, USA). Posteriormente se deshidrataron en un liofilizador (Table-top Freeze Dryer) a $61,7\text{ }^{\circ}\text{C}$ y a 130 Pa por 4 días. Para el caso de las muestras de frutos se dividieron de forma manual en cáscara, testa y granos con la ayuda de un cuchillo de teflón. Cada una de estas submuestras se almacenaron de forma individual y se congelaron a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 48 horas, posteriormente se liofilizaron en iguales condiciones que las hojas. Las muestras de suelo se secaron a temperatura ambiente ($20\text{ }^{\circ}\text{C}$) hasta que pierdan el contenido de humedad.

Muestras de hojas y frutos se trituraron de forma manual con la ayuda de un mortero de porcelana para evitar la contaminación, el material resultante fue tamizado con la ayuda de un tamiz no metálico, posteriormente fueron empacadas, etiquetadas en fundas de cierre hermético y finalmente se mantuvieron en refrigeración ($4\text{ }^{\circ}\text{C}$) hasta su disgregación y análisis.

2.5 Digestión ácida de las muestras

El proceso de digestión ácida se llevó a cabo utilizando un horno digestor de microondas (Milestone, modelo ETHOS UP, USA) potencia de 1800 Watts (W). Previo al tratamiento se lavaron los vasos digestores con peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y agua desionizada para garantizar que no exista contaminación por minerales.

Para el proceso de digestión de las muestras de suelo se utilizaron 0,10 g de muestra y se añadieron 7,5 ml de ácido nítrico (HNO_3) al 65 % de concentración y 2,5 ml de ácido clorhídrico (HCl) al 36 % de concentración, todos los ácidos utilizados fueron de grado analítico. El proceso de digestión se realizó en 3 etapas; calentamiento, mineralización y enfriamiento a 200, 200 y $100\text{ }^{\circ}\text{C}$, respectivamente, durante 15 minutos cada una.

Para el caso de hojas, cáscara, testa y granos de cacao se pesaron 0,50 g de cada una de las muestras y se añadieron 9 ml de HNO_3 al 65 % y 1 ml de H_2O_2 al 30 % para digerir las diferentes muestras. El proceso de digestión se realizó en 3 etapas; calentamiento, mineralización y enfriamiento a 200, 200 y $100\text{ }^{\circ}\text{C}$, respectivamente, durante 10 minutos cada una. Para las muestras control o blancos se utilizaron las mismas cantidades de reactivos.

2.6 Determinación de Cd y Pb

Una vez realizada la digestión ácida, la determinación de Cd y Pb se realizó mediante un Espectrofotómetro de Absorción Atómica con horno de grafito (Perkin Elmer, Optima model 4300 DV, Sunnyvale CA, USA) equipado con un atomizador de tubo de grafito THGA y un automuestreador. Se utilizó como gas de purga Argón (Ar) de alta pureza (99,99 %). Las longitudes de onda fueron de 228,8 nm para Cd y a 283,3 nm para Pb. Las muestras fueron analizadas por triplicado y los resultados expresados

en partes por millón (ppm). Se usaron muestras certificadas (CRM) como controles de calidad, ERM-BD512 Dark chocolate y BCR-700 Organic-Rich Soil. El análisis de la concentración de Cd y Pb presente en el suelo y las partes vegetales de la planta; hojas, cáscara, testa y grano de cacao se realizaron en todas las muestras obtenidas.

2.7 Preparación Compostaje Orgánico Bocashi (COB)

El COB fue elaborado de forma artesanal a partir de desperdicios de verduras, hortalizas, legumbres, frutas y follaje de leguminosas obtenidos de un mercado local. Los demás ingredientes como el salvado de arroz y maíz, testa de arroz, gallinaza, melaza de miel de caña y biochar (carbón vegetal) fueron adquiridos en sus lugares de producción, mientras que la cal agrícola y levadura en tiendas locales. Se mezclaron todos los ingredientes de forma conjunta en una base de tierra, la mezcla se cubrió con plástico negro para intensificar su fermentación y se mantuvo bajo sombra para proteger de la lluvia y luz solar. Adicionalmente, se realizaron 2 volteos diarios por 3 días, y luego se realizó un volteo diario por los 18 días restantes de la elaboración del abono. El proceso consistió en una semi descomposición de materia orgánica en forma de fermentación aerobia por medio de poblaciones de microorganismos quimioorganotróficos como bacterias, levaduras y hongos filamentosos que existen en los desperdicios vegetales utilizados (FAO, 2011; O. López et al., 2015). El COB fue realizado una sola vez, obteniéndose un total 160 kg. En la tabla 1 se presenta la formulación de elaboración del Bocashi.

Tabla 1.
Formulación del COB

Ingredientes	Unidad	Cantidad	%
Follaje de leguminosas	kg	46	17%
Restos de frutas y verduras	kg	46	17%
Salvado de arroz y maíz	kg	23	8%
Testa de arroz	kg	32	12%
Gallinaza	kg	35	13%
Cal agrícola	kg	4,54	2%
Melaza de caña	kg/m ³	14	5%
Cepa de levadura de pan	kg	0,1	0,04%
Agua	kg/m ³	30	11%
Biocarbón	kg	46	17%
Total		277	100%

2.8 Aplicación COB

Se realizó una limpieza de la hojarasca a un metro de diámetro de cada planta con el fin de que el COB entre en contacto directo con el suelo y así mejorar su absorción. Posteriormente se aplicaron 2,5 kg de COB alrededor de cada planta. La aplicación del compostaje fue programada

para ser aplicado 1 vez cada 15 días por tres veces a cada una de las 16 plantas experimentales del estudio.

2.9 Muestreo después de la aplicación del COB

Una vez transcurridos tres meses a partir de la última aplicación del COB se realizó el segundo muestreo con las mismas condiciones y características mencionadas anteriormente en la sección 2.3. El segundo muestreo y el tratamiento de las muestras para el análisis se realizó utilizando la misma metodología descrita en las secciones 2.4, 2.5 y 2.6, respectivamente.

2.10 Análisis de muestras de licor de cacao

Se realizó una recolección de mazorcas de cacao de las mismas plantas de esta investigación. Se extrajeron y separaron los granos de cacao, un total de 4,5 kg y se liofilizaron en fresco (sin fermentar). A cada una de estas muestras se separaron los granos de cacao de la testa manualmente. Después de este proceso, las muestras fueron enviadas a la empresa "Aroma Ecuador", donde se las procesó para obtener el licor de cacao. De forma general, las muestras se dividieron en dos partes, una parte consistió en realizar el proceso de molienda sin tostar y la otra parte, se tostaron antes de la molienda. Una vez que las muestras fueron molidas, se tomaron las muestras de licor de cacao y también se analizó. El análisis de estas muestras fue en conjunto e iguales condiciones que las demás muestras de cacao descritas en las secciones 2.4, 2.5 y 2.6.

2.11 Análisis de movilidad de cadmio y plomo en el sistema suelo-planta

El estudio de movilidad se realizó aplicando la ecuación 2, que corresponde al factor de transferencia (FT), donde FT es el cociente entre la concentración del metal en las diferentes partes de la planta y el suelo. Los valores mayores a 1 indican que la planta tiene la capacidad de movilizar o transportar los metales tóxicos desde suelo hasta sus diferentes estructuras como hojas y frutos (cáscara, testa, granos) (Ali et al., 2013). Se hizo una comparación de los diferentes valores encontrados para obtener la estimación de la transferencia de los metales desde el suelo hacia las diferentes partes de la planta con y sin aplicación del COB y plantas control (Bello et al., 2018; Vásquez et al., 2005).

$$FT = \frac{[C]_{\text{planta}}}{[C]_{\text{suelo}}} \quad (2)$$

Donde:

FT: factor de transferencia o traslocación

[C] planta: concentración del metal en las diferentes partes de la planta

[C] suelo: Concentración del metal en el suelo

2.12 Análisis Estadístico

Todos los datos experimentales fueron procesados mediante el uso de la herramienta de análisis de datos Statgraphics

versión Centurion 19 para verificar si existen diferencias significativas entre las medias de los datos de los grupos experimentales. Los datos fueron analizados mediante un análisis de varianza (ANOVA) seguido de una prueba de Fisher al 95 % de confianza. Con los datos obtenidos se hizo una correlación de Pearson de la concentración de Cd y Pb presente en suelo con las diferentes partes vegetales de la planta.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Cadmio en suelo y en las diferentes partes vegetales de la planta

Los resultados de la concentración de metales tóxicos en suelo y las partes vegetales de la planta se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2.

Contenido de Cd y Pb en el suelo y las partes vegetales de la planta (expresados en mg kg⁻¹)

Metal	Parte planta	Contenido de COB		Diferencia entre sin COB y con COB	
		Sin COB	Con COB	Absoluta	Porcentual
Cadmio	Granos	3,15 ± 0,96 ^d	2,12 ± 0,42 ^c	1,03	33%
	Cáscara	3,11 ± 0,78 ^d	1,51 ± 0,45 ^{ab}	1,60	51%
	Testa	3,19 ± 0,86 ^d	1,44 ± 0,57 ^{ab}	1,75	55%
	Hoja	2,87 ± 0,49 ^d	1,66 ± 0,40 ^b	1,21	42%
	Suelo	1,48 ± 0,27 ^{ab}	1,18 ± 0,15 ^a	0,30	20%
Plomo	Granos	1,11 ± 0,12 ^b	0,62 ± 0,08 ^a	0,49	44%
	Cáscara	1,37 ± 0,10 ^b	0,55 ± 0,08 ^a	0,82	60%
	Testa	1,23 ± 0,12 ^b	0,63 ± 0,14 ^a	0,60	49%
	Hoja	1,17 ± 0,29 ^b	0,66 ± 0,16 ^a	0,51	44%
	Suelo	12,69 ± 1,20 ^d	10,07 ± 1,38 ^c	2,62	21%

n= 2; ^(a-d) diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre los valores de cada columna, $p \leq 0,05$. COB= Compostaje Orgánico Bocashi.

Se detectaron valores similares en los granos, testa y cáscara de cacao, la concentración más alta se encontró en la testa que es la que recubre el grano de cacao con un valor de 3,19 ± 0,86 mg kg⁻¹. En el caso de los granos de cacao se encontraron una concentración de Cd de 3,15 mg kg⁻¹. Las hojas tuvieron un valor de concentración de Cd de 2,87 ± 0,49 mg kg⁻¹, que representa un valor menor en comparación con las partes del fruto. Por último, el suelo, la media de concentración es de Cd (1,48 ± 0,27 mg kg⁻¹) y mostró una disminución en comparación con las concentraciones de Cd en hoja, cáscara, testa y granos de cacao (Figura 1).

Valores similares de concentración de Cd en granos de cacao fueron encontrados en cultivos de diferentes edades en la provincia de Esmeraldas, la concentración de Cd fue de 3,38 mg kg⁻¹ en un cultivo de cacao de 6 años, mientras que, en un cultivo adulto con una edad de 10 años, la concentración del metal fue mayor 3,92 mg kg⁻¹ (Barraza et al., 2019). Estos valores son semejantes a los encontrados en el presente estudio. Se evidenció que el Cd se concentra

en su mayoría en las partes del fruto de cacao. A pesar de que, en el suelo la concentración fue menor. Esto, según bibliografía consultada, uno de los factores puede ser la edad de la planta, en este caso, las plantas tenían una edad de 8 años y medio. Es así que, la concentración de Cd en granos de cultivo adulto puede llegar a ser mayor debido a la alta disponibilidad de este metal en el suelo según Engbersen (2019). Este autor encontró valores de Cd en granos de cacao en cultivo adulto de $3,44 \pm 0,26 \text{ mg kg}^{-1}$; mientras que, en cultivos jóvenes la concentración fue menor, $0,82 \pm 0,10 \text{ mg kg}^{-1}$.

Sin tomar en cuenta la edad de los cultivos, los estudios también mostraron una leve variabilidad de concentración de Cd en los granos de cacao. Así por ejemplo, en una investigación realizada en una finca de la región de Antioquia, Colombia, detectaron valores de concentración de Cd en granos de cacao que oscilaron entre 0,62 y 1,44 mg kg^{-1} (Gil et al., 2022). Valores similares fueron encontrados en localidades en Perú; allí los valores oscilaron entre una media de concentración de $0,17 \pm 0,41 \text{ mg kg}^{-1}$ para la localidad de Cusco y $1,78 \pm 0,35 \text{ mg kg}^{-1}$ para Tumbes (Arévalo-Gardini et al., 2017). En Costa Rica, en la región norte del país se reportó niveles de Cd de 1,00 a 1,80 mg kg^{-1} en granos de cacao, mientras que, en la región sur se encontró valores entre 0,56 a 8,7 mg kg^{-1} con un valor medio de $2,31 \pm 2,06 \text{ mg kg}^{-1}$. La concentración de Cd encontrado en los granos de cacao en la región norte de Costa Rica tuvo cercana similitud a los reportados en el presente estudio (Furcal-Beriguete & Torres-Morales, 2020).

Acercándonos a la zona de esta investigación, Romero-Estévez (2019) analizó el contenido de metales tóxicos en granos de cacao en diferentes provincias de Ecuador, los resultados reflejaron un rango de concentración de Cd del $0,27 \pm 0,08 \text{ mg kg}^{-1}$ en Napo y hasta de $1,72 \pm 0,09 \text{ mg kg}^{-1}$ en Guayas. Todas estas investigaciones han reportado diferentes resultados, esto puede deberse a muchas razones, no solamente la edad del cultivo, sino también a la presencia y disponibilidad de altas concentraciones de estos metales tóxicos en el suelo por su cercanía a zonas mineras, petroleras e industriales y también a fenómenos naturales como erupciones volcánicas y/o a factores antropogénicos como malas prácticas agrícolas, (Argüello et al., 2019; Barraza et al., 2018). En consecuencia a esto, la planta en su proceso de nutrición absorbe lo que se encuentra disponible en el suelo, generando la transferencia de Cd desde el suelo hacia los granos de cacao (Ahmed et al., 2021).

Ramtahal (2016) en su investigación realizada en una localidad de Trinidad y Tobago, detalla concentraciones de Cd de 0,53 a 4,49 mg kg^{-1} para cáscara y de 0,44 a 4,41 mg kg^{-1} para testa, los valores de testa y cáscara de este estudio están dentro de este rango. Sin embargo, este autor obtuvo muestras de diferentes lugares de cultivos de cacao (45), y esto limita mucho la comparación de los resultados con este estudio. En este sentido, Vanderschueren (2020) explicó que la variación de concentración de Cd en granos y testa

puede estar influenciada por la fermentación generada en los granos de cacao, es decir, el Cd migra desde los granos hasta la testa en condiciones de pH adecuadas. Mientras que, Rodríguez Giraldo (2022), concluyó que hay que tener mucho cuidado en el proceso de descascarillado de los granos de cacao debido a que, la testa concentra valores 3 o 4 veces más que los granos de cacao, lo que puede contaminar y afectar la calidad de los resultados. Así también, coincide el trabajo realizado por Lewis (2018), el cual indica que la testa tiene una concentración de Cd entre 18 y 56 % más que los granos de cacao.

Si bien es cierto, existe una normativa para el contenido máximo permitido de Cd en “productos a base de cacao”, no existe una normativa específica para granos de cacao.

Para el caso de las hojas, se encontró una media de concentración de Cd de $2,87 \pm 0,49 \text{ mg kg}^{-1}$, este valor es menor al encontrado en los granos, cáscara y testa de cacao, lo que indica, en este estudio, que este tejido vegetal acumula menor concentración de Cd que los granos de cacao. Esto puede ser una mala noticia, ya que el grano de cacao es la materia prima para la elaboración de muchos productos para el consumo humano. Sin embargo, otros estudios han encontrado resultados opuestos; en Honduras, se encontró una concentración de Cd en hojas de $2,60 \pm 0,40 \text{ mg kg}^{-1}$ y $1,11 \pm 0,10 \text{ mg kg}^{-1}$ para granos de cacao (Gramlich et al., 2018). En Perú, se encontró una concentración de Cd de $2,53 \text{ mg kg}^{-1}$ para hojas y un valor menor de $0,99 \text{ mg kg}^{-1}$ para granos de cacao (Oliva et al., 2020).

En lo que respecta a la concentración de Cd en suelo, se encontró una media de concentración de $1,48 \pm 0,27 \text{ mg kg}^{-1}$. Siguiendo la misma línea de discusión, en el suelo se encontró la menor concentración de Cd comparados con el resto de las muestras analizadas. Sin embargo, la concentración de Cd en los suelos de Ecuador es de moderada a alta comparado con promedios de la región (Argüello et al., 2023). Los resultados de concentración de Cd en el suelo reportados por Argüello (2019) fue de 0,02 a 6,90 mg kg^{-1} . Otro estudio realizado por Zug (2019) en una localidad de Perú, reportó valores de Cd en el suelo, en un rango de 0,2 a 12,56 mg kg^{-1} , este último bastante elevado, la media fue de 2,00 mg kg^{-1} . Un análisis realizado en el suelo de cultivo de cacao en Perú, dio como resultado valores de concentración de Cd de 1,6 a 2,3 mg kg^{-1} (Scaccabarozzi et al., 2020). Otro estudio realizado en fincas cacaoteras por Oliva (2020) encontraron una media de concentración de Cd en el suelo de 1,70 mg kg^{-1} , este valor fue similar al reportado en este estudio. Según el Ministerio del Ambiente (MINAM) de Perú, el valor máximo permitido de Cd en el suelo es de 1,40 mg kg^{-1} (Altamirano, 2014; MINAM, 2017).

Es importante aclarar que, de acuerdo con la ley Holandesa provisional se debe intervenir un suelo agrícola cuando este supera el límite máximo permisible de 0,8 mg kg^{-1} (Martínez & Charrupi, 2017). Pese a esto, otro autor

también indicó que, un suelo agrícola no está contaminado con Cd mientras no supere el límite máximo permisible de $1,1 \text{ mg kg}^{-1}$ (Kabata-Pendias, 2000). Un valor que apenas supera a los límites antes descritos fue el encontrado por Gramlich (2017), donde expresa que, las muestras de suelo tomadas de 0 a 10 cm de profundidad mostraron una media de concentración de Cd de $1,2 \text{ mg kg}^{-1}$. Estos datos corroboran que, algunos suelos con cultivos agrícolas se encuentran contaminados con metales tóxicos, especialmente con Cd, esto puede deberse a que, la absorción del Cd por parte de las plantas depende de muchos factores; geogénicos, antropogénicos, disponibilidad del metal tóxico, variación del pH, porcentaje de carbono orgánico en el suelo, entre otros (Argüello et al., 2019; Engbersen et al., 2019; Gramlich et al., 2017). Así también, otro autor afirmó en su investigación que siempre existe una discrepancia entre diferentes muestras de cacao del mismo país. Esta divergencia estaría dada por la geografía, la ubicación de los árboles de cacao, así como por la composición del suelo y la contaminación ambiental de la zona (Kruszewski et al., 2018).

3.2 Plomo en el suelo y en las diferentes partes de la planta

Las medias de concentración del metal tóxico Pb se detalla en la Tabla 2. Se encontraron valores de Pb en granos de cacao en un rango de $0,93$ a $1,39 \text{ mg kg}^{-1}$. Las concentraciones de Pb en cáscara y testa presentaron una concentración similar a la encontrada en las muestras de los granos de cacao, respectivamente. Por otro lado, la hoja presentó una media de concentración de Pb de $1,17 \pm 0,29 \text{ mg kg}^{-1}$ este valor es también bastante similar al encontrado en la estructura de los granos de cacao, cáscara y testa. En el caso del suelo, los valores encontrados oscilaron entre $10,66$ a $14,65 \text{ mg kg}^{-1}$. Este valor es alto en comparación a las partes vegetales de la planta.

La presencia de Pb en el cultivo de cacao es bastante común y a la vez, es uno de los más tóxicos después del Cd (Abt et al., 2018; Anyimah-Ackah et al., 2019). Arévalo-Gardini (2017), encontró valores similares a los encontrados en esta investigación, con una media de concentración de Pb para granos de cacao de $1,00 \pm 0,67 \text{ mg kg}^{-1}$ para la región de Cajamarca y de $3,78 \pm 0,39 \text{ mg kg}^{-1}$ para Piura, Perú, sin embargo; no fue igual para los valores reportados en las hojas, estos fueron más altos; $0,10 \pm 0,09 \text{ mg kg}^{-1}$ para la región de Cajamarca y $3,00 \pm 0,10 \text{ mg kg}^{-1}$ en otra localidad de la región centro del país. En esta misma línea, en el estudio realizado por Romero-Estévez (2019), en el cual se hizo un importante análisis de concentración de metales tóxicos en granos de cacao en diferentes provincias de Ecuador. El rango de concentraciones de Pb que encontró fue de $0,50 \pm 0,06 \text{ mg kg}^{-1}$ para una muestra de Napo y de hasta $1,97 \pm 0,18 \text{ mg kg}^{-1}$ para una muestra de Santo Domingo de los Tsáchilas.

La Figura 2 muestra los valores de Pb, estos datos encontrados en el suelo y en la planta se relacionan de forma inversa a los valores de Cd, es decir, en el caso de Cd el suelo tuvo menor concentración que las partes vegetales de la planta, mientras que, para el caso del Pb el suelo tuvo mayor cantidad que en las hojas, cáscara, testa y granos de cacao. Esto puede deberse a diferentes factores, como el mecanismo de absorción de las plantas para cada uno de los metales y su toxicidad, así como también a la disponibilidad y movilidad del Cd y Pb en el suelo (Zulfiqar et al., 2019, 2022).

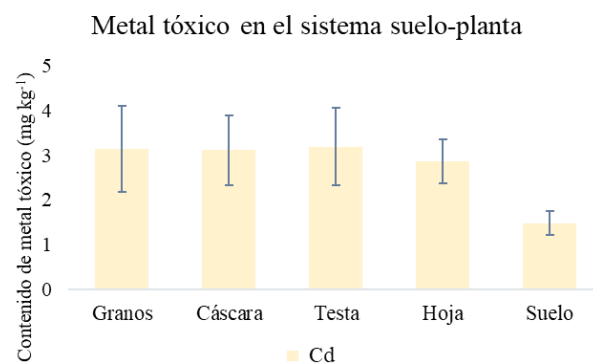


Fig. 1. Media de concentración de Cd encontrado en el suelo y partes vegetales de la planta

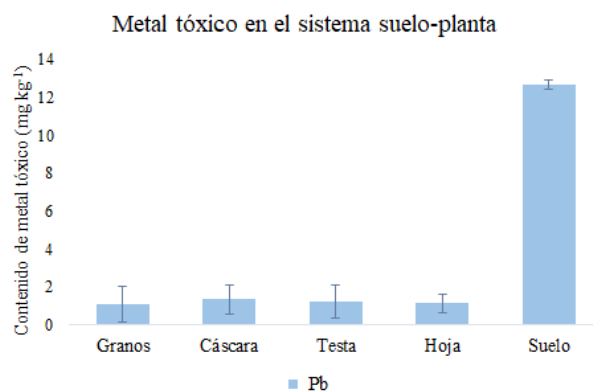


Fig. 2. Media de concentración de Pb encontrado en el suelo y partes vegetales de la planta

Con respecto al contenido de Pb encontrado en el suelo, este mostró una concentración de Pb considerable ($12,69 \pm 1,20 \text{ mg kg}^{-1}$). Arévalo-Gardini (2017) reportó valores similares de Pb en el suelo tomados de 0 a 20 cm de profundidad de $15,84 \pm 0,20 \text{ mg kg}^{-1}$ para la localidad de Tumbes, $15,37 \pm 0,41 \text{ mg kg}^{-1}$ en Huánuco, $21,81 \pm 0,08 \text{ mg kg}^{-1}$ en Cuzco y $19,44 \pm 14,53 \text{ mg kg}^{-1}$ en la región de Junín-Satipo, Perú. Acorde a estos valores reportados y según el MINAN, el cual establece un límite máximo permisible para este metal tóxico de $70,00 \text{ mg kg}^{-1}$ en el suelo, estas concentraciones y las de este estudio se encuentran dentro de los límites permitidos (Rosales Huamani et al., 2021).

Sin embargo, el Pb es bastante tóxico, abundante en el suelo, sin ninguna función biológica y considerado como un producto químico de gran preocupación debido a que puede acumularse en las diferentes partes de la planta y así entrar en la cadena alimentaria (Ahmed et al., 2021; Kushwaha et al., 2018). Por lo tanto, la contaminación del suelo agrícola por Pb es preocupante a nivel medioambiental y nutricional (Hou et al., 2020).

3.3 Efecto de la enmienda orgánica Bocashi en la concentración de metales tóxicos en el suelo y granos de cacao

La Fig. 3 muestra la disminución de la concentración de Cd y Pb en el suelo, cáscara, testa, hojas y granos de cacao comparados con los controles. Para el caso de los granos, inicialmente mostraron una concentración de Cd de $3,15 \text{ mg kg}^{-1}$ sin la aplicación del COB. Mientras que, con la aplicación del COB hubo disminución del metal tóxico y el valor encontrado fue de $2,02 \pm 0,96 \text{ mg kg}^{-1}$. De forma general, hubo un efecto positivo en la disminución de la concentración de Cd y Pb con la aplicación del COB. Mientras que el suelo mostró un efecto positivo menor en la disminución del Cd y Pb en su estructura. Un estudio realizado por Florida Rofner & Escobar-Mamani (2019) en Perú, evaluó el efecto de la aplicación del compostaje orgánico en suelo y los granos de cacao, concluyendo que este tipo de enmienda orgánica reduce la concentración de Cd en los granos de cacao, principalmente.

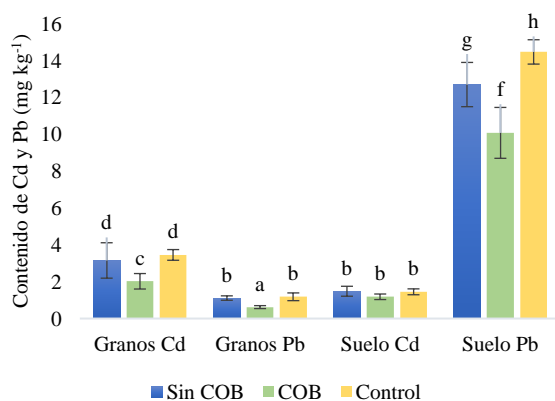


Fig. 3. Efecto de la aplicación del COB en el suelo y las partes vegetales de la planta

Estudios previos han aplicado en gran medida el biocarbón en sus experimentos, y en este caso, el biocarbón fue uno de los ingredientes del COB utilizado en este trabajo. Este producto ha demostrado ser útil en la reducción de Cd en el suelo y en las partes vegetales de la planta de cacao (J. E. López et al., 2022). En otro experimento, se aplicó biocarbón y cal agrícola por separado y ambas estrategias de mitigación redujeron el Cd disponible en el suelo y en las plantas de cacao (Ramtahal et al., 2019). La aplicación de biocarbón (solo o combinado) ha sido utilizado ampliamente y tiene gran potencial para remediar suelos

contaminados con Cd y Pb (Hamid et al., 2020). Muchos estudios han comprobado diferentes resultados, entre ellos, que la aplicación de enmiendas orgánicas mejora la calidad del suelo y reducen la disponibilidad de Cd (Khan et al., 2017). Por consiguiente, pueden ayudar a reducir la absorción y traslocación de los metales tóxicos desde el suelo hacia las partes vegetales de la planta (Gutiérrez et al., 2022; Hussain et al., 2023).

Los factores de la planta, del suelo y de manejo determinan la absorción de Cd en el sistema suelo-planta. La concentración de Cd en el tejido vegetal puede estar influenciada con el contenido de materia orgánica presente en suelo y en el sistema de cultivo (Gramlich et al., 2017). Uno de los factores que afectan la calidad de los cultivos está el uso inadecuado de fertilizantes químicos, lo que produce un efecto negativo en los granos de cacao (Engbersen et al., 2019; Zug et al., 2019). La utilización de fertilizantes organofosforados son los que mayormente aportan gran cantidad de elementos trazas contaminantes a la composición del suelo (Bravo et al., 2021). Frente a esto, Hu (2018) indicó que las actividades antropogénicas son las que más influyen en la contaminación de metales tóxicos en los suelos en comparación con las fuentes geogénicas o naturales. Agregó también, que la aplicación de fertilizantes químicos tiene una influencia de 30.8 % en la contaminación a los suelos. Por el contrario, Vanderschueren (2021) concluyó con base en su investigación, que en la mayoría de cultivos agrícolas de América Latina, la contaminación es de origen geogénico, es decir, por medio de fuentes naturales.

A causa de las razones antes mencionadas, es importante considerar todos estos aspectos y aplicar un buen manejo de cultivo agrícola a los suelos que probablemente ya se encuentran contaminados por diferentes fuentes. Entre ellos, disminuir la aplicación de fertilizantes químicos organofosforados que aumentan el nivel de concentración de metales tóxicos en el suelo (Joya-Barrero et al., 2023). Los fertilizantes químicos pueden ser sustituidos de forma paulatina por las enmiendas orgánicas y de esta manera disminuir la contaminación de los suelos en los que se cultivan productos que sirven de materia prima para la elaboración de productos de consumo humano (Qaswar et al., 2020). Además, son una alternativa amigable con el medio ambiente y bastante económica al utilizar residuos de alimentos y otros ingredientes de fácil manejo y adquisición (Khan et al., 2017).

3.4 Análisis de correlación

La figura 4 muestra el análisis de relación de Pearson, los resultados detallan una correlación directa positiva de concentración de Cd entre el suelo y las partes vegetales de la planta, a excepción de testa. La concentración de Cd encontrado en los granos, cáscara y hoja de cacao pareció estar relacionado con el Cd presente en la estructura del suelo. Así también, se encontró que la concentración de Cd

en los granos de cacao tiene una correlación positiva con la concentración de Cd encontrado en la cáscara. En cuanto al Pb, se encontró una débil relación entre los granos y hoja de cacao.

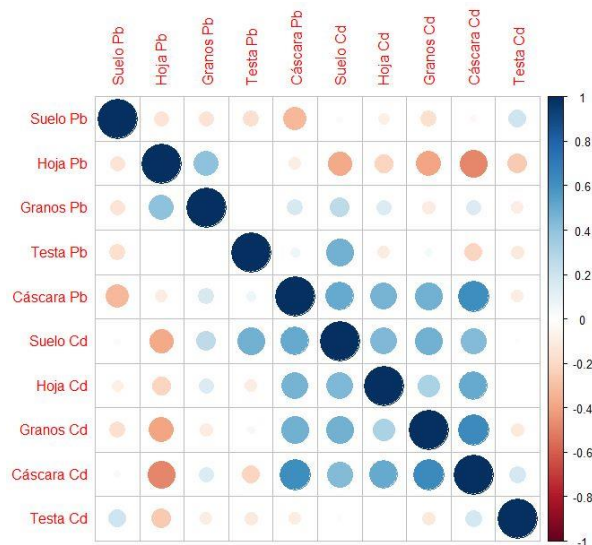


Fig. 4. Correlación de muestras de granos, cáscara, testa, hojas y suelo y su concentración de Cd y Pb sin la aplicación del COB.

Con respecto al análisis de correlación del suelo y las diferentes partes de la planta luego de la aplicación del COB (Figura 5), se encontró una correlación positiva de concentración de Cd entre la cáscara y la testa de cacao. A esto le sigue la correlación positiva de Cd entre el suelo y los granos de cacao. Por último, la concentración de Pb encontrados en el suelo y la hoja de cacao también mostraron una notable correlación positiva directa.

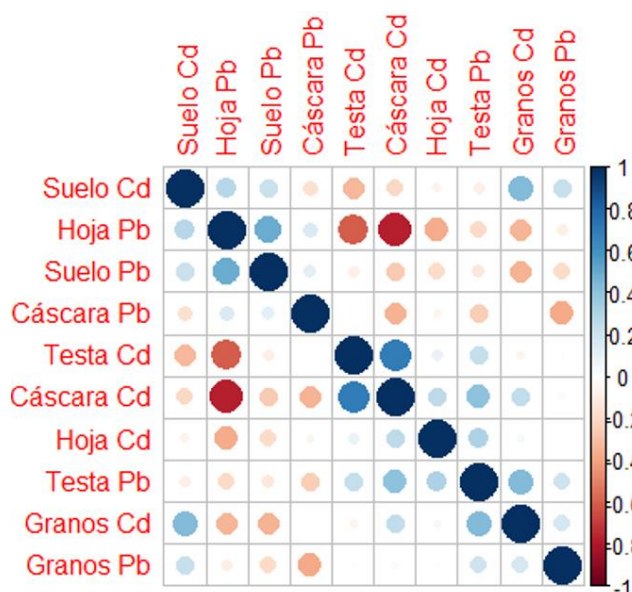


Fig. 5. Correlación de muestras de granos, cáscara, testa, hojas y suelo y su concentración de Cd y Pb con la aplicación del COB.

Resultados similares se reportó en un estudio realizado en la Provincia de Orellana, Ecuador. En el cual se indicó que existe una fuerte correlación positiva entre la concentración de Cd en el suelo y las partes vegetales de la planta de cacao nacional (Barraza et al., 2021).

3.5 Análisis de movilidad en el sistema suelo-planta

La planta mostró una mayor transferencia de Cd en granos de cacao $2,13 \text{ mg kg}^{-1}$ sin COB y $1,71 \text{ mg kg}^{-1}$ con COB y en la testa $2,16 \text{ mg kg}^{-1}$ sin COB y $1,22 \text{ mg kg}^{-1}$ con COB. Los factores de transferencia del suelo a las partes vegetales de la planta se muestran en la Tabla 3. Los valores de factor de transferencia fueron calculados con las medias de las concentraciones encontrados en el suelo con las diferentes partes de la planta. Estos datos mostraron que en efecto existe una transferencia de Cd desde el suelo hacia la planta y los frutos.

Tabla 3. Factor de transferencia de Cd y Pb en el sistema suelo-planta

Parte planta	FT Cd		FT Pb	
	Sin COB	Con COB	Sin COB	Con COB
Granos	2,13	1,80	0,09	0,06
Cáscara	2,10	1,28	0,11	0,05
Testa	2,16	1,22	0,10	0,06
Hoja	1,94	1,41	0,09	0,07

COB= Compostaje Orgánico Bocashi. FT= Factor de Transferencia ($[C_{\text{planta}}]/[C_{\text{suelo}}]$).

Para el caso del Pb, los valores fueron similares en las partes vegetales de la planta tanto sin aplicación del COB como con la aplicación. Esto quiere decir que, las hojas, cáscara, testa y granos de cacao apenas recibieron una parte muy pequeña del Pb que originalmente estaba en el suelo. A pesar de que la concentración de Pb del suelo era alta en comparación con el resto de las partes de la planta.

Se aprecia que tanto el Cd como el Pb no se quedan en el suelo, sino que se transfieren a la planta, particularmente el Cd lo hizo en mayor proporción. Por lo que lo hace potencialmente peligroso en lo que concierne a la seguridad alimentaria (Barraza et al., 2017; Lewis et al., 2021). Los factores de transferencia de los metales tóxicos desde el suelo hacia las hojas y frutos puede deberse a diferentes causas, algunas de ellas puede ser la movilidad y disponibilidad de los metales en el suelo (Vanderschueren et al., 2021). Song (2017) concuerda que el Cd es altamente soluble y móvil en comparación con otros elementos traza, lo que facilita su transferencia y acumulación en las hojas y frutos de las plantas. Es importante mencionar que, con respecto a la concentración de metales en el suelo, faltan investigaciones sobre el cacao; y es esencial para gestionar la biodisponibilidad de metales inofensivos y nocivos en la agricultura (Lewis et al., 2021).

3.6 Efecto del uso de implementos metálicos en el proceso de elaboración de productos de cacao

Se detectaron niveles de concentración de Cd y Pb en todas las muestras de granos y testa de cacao, tostado y sin tostar y en licor de cacao (tostado) (Tabla. 4). Los valores más altos fueron encontrados en las muestras de testa sin tostar con una concentración de Cd de $2,23 \pm 0,08 \text{ mg kg}^{-1}$. Mientras que, luego del proceso de tostado se encontró una concentración de $3,81 \pm 0,24 \text{ mg kg}^{-1}$. Del mismo modo, los granos de cacao mostraron un incremento de la concentración de Cd al someterse al proceso de tostado, cuyo valor aumenta de $1,86 \pm 0,34 \text{ mg kg}^{-1}$ a $3,49 \pm 0,63 \text{ mg kg}^{-1}$. Se puede notar el incremento de la concentración tanto de Cd como de Pb en el proceso de tostado.

Tabla 4. Concentración de Cd y Pb en muestras de granos de cacao sin tostar y tostado, expresados en (mg kg^{-1}).

Cacao	Concentración de Cd (mg kg^{-1})	
	Sin tostar	Tostado
Granos	$1,36 \pm 0,34^b$	$2,24 \pm 0,15^c$
Testa	$2,23 \pm 0,08^c$	$3,19 \pm 0,20^d$
Licor	-	$1,01 \pm 0,21^a$
Cacao	Concentración de Pb (mg kg^{-1})	
	Sin tostar	Tostado
Granos	$0,04 \pm 0,01^a$	$0,48 \pm 0,14^b$
Testa	$0,14 \pm 0,06^{ab}$	$0,17 \pm 0,07^b$
Licor	-	$0,14 \pm 0,06^c$

n=3. ^(a-d) Letras diferentes en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas, $p \leq 0,05$.

Sin embargo, la concentración de Cd y Pb encontrado en el licor de cacao tostado disminuyó luego de este proceso y fue menor en comparación con los granos y testa, que, en su caso, su valor aumentó. Resultados similares fueron reportados por Ferreira de Oliveira (2021), quien indicó que, durante la fase de molienda, la mayor parte del Cd quedó retenido en el residuo del molino (59%), mientras que el 35% fue transferido al licor de cacao y el 6% permaneció en la testa. En el proceso de tostado es donde se pueden incrementar los valores de concentración de Cd y Pb en el producto final (Kruszewski et al., 2018). Esta investigación mostró que, el contenido de Cd encontrado en licor de cacao tostado fue de $1,01 \pm 0,21 \text{ mg kg}^{-1}$ y apenas excedió el nivel máximo permitido por el reglamento N°. 488/2014 expedido por la UE, el cual indica una concentración máxima de $0,8 \text{ mg kg}^{-1}$. Mientras que el Pb si se encuentra dentro de los límites máximos permitidos, 2 mg kg^{-1} (Codex alimentarius, 2015; European Commission, 2019). Frente a esto, se recomienda poner especial atención en los procesos de secado, tostado y molienda, debido a que son fases críticas dependiendo de la forma, tiempo y temperatura (Vanderschueren et al., 2021). Sin embargo, hay poca evidencia científica estudiada en cuanto a la forma y distribución de la contaminación de metales tóxicos en las

diferentes etapas de procesamiento de los granos de cacao, debido a que no se realizaron análisis de concentración de Cd y Pb en otros coproductos de cacao como cacao en polvo, manteca de cacao, sino, solo en muestras de licor de cacao.

4. CONCLUSIONES

Se evaluó la presencia de Cd y Pb en suelo y en las diferentes partes de la planta de cacao nacional. Inicialmente, se encontró mayor concentración de Cd en los granos de cacao y con respecto al Pb, fue el suelo la muestra con mayor concentración. Con la aplicación del COB, de forma general los resultados mostraron una disminución del nivel de concentración tanto para Cd como para Pb. En cuanto a la movilidad del sistema suelo-planta, se demostró que si existe transferencia mayormente de Cd desde el suelo hacia las partes vegetales de la planta. Con base en los resultados obtenidos en este estudio se debe estudiar con mayor enfoque en la estabilidad del pH y su influencia en la disponibilidad y movilidad de los metales tóxicos en el suelo.

5. AGRADECIMIENTOS

Se agradece al Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (DECAB) de la Escuela Politécnica Nacional, al programa de la Maestría en Biociencias Aplicadas con mención en Biodescubrimiento, al proyecto VLIR-Network, al Programa Súper Árboles de Cacao ESS de la Fundación Alianza CEIDE Conservación y Desarrollo (C&D), a la empresa "Aroma Ecuador" y finalmente al proyecto CEPRA-XIII-2019-04, el cual financió esta investigación.

6. REFERENCIAS

- Abt, E., Fong Sam, J., Gray, P., & Robin, L. P. (2018). Cadmium and lead in cocoa powder and chocolate products in the US Market. *Food Additives and Contaminants: Part B Surveillance*, 11(2), 92–102. <https://doi.org/10.1080/19393210.2017.1420700>
- Ahmed, A., Sara Taha, A., Sundas, R. Q. and, & Man-Qun, W. (2021). Heavy Metals and Pesticides Toxicity in Agricultural Soil and Plants: Ecological Risks and Human Health Implications. *Toxics*, 9, 42.
- Ali, H., Khan, E., & Sajad, M. A. (2013). Phytoremediation of heavy metals-Concepts and applications. *Chemosphere*, 91(7), 869–881. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.01.075>
- Altamirano, E. (2014). Guía para muestreo de suelos. *Ministerio Del Ambiente*, 38. http://www.minam.gob.pe/wp-content/uploads/2014/04/GUIA-MUESTREO-SUELO_MINAM1.pdf
- Amponsah-Doku, B., Daymond, A., Robinson, S., Atuah, L., & Sizmur, T. (2022). Improving soil health and

- closing the yield gap of cocoa production in Ghana – A review. *Scientific African*, 15(2022), 1–14.
<https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2021.e01075>
- Anhar, A., Junialdi, R., Zein, A., Advinda, L., & Leilani, I. (2018). Growth and Tomato Nutrition Content with Bandotan (*Ageratum Conyzoides* L) Bokashi Applied. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 335(1), 1–8.
<https://doi.org/10.1088/1757-899X/335/1/012017>
- Anyimah-Ackah, E., Oforu, I. W., Lutterodt, H. E., & Darko, G. (2019). Exposures and risks of arsenic, cadmium, lead, and mercury in cocoa beans and cocoa-based foods: A systematic review. *Food Quality and Safety*, 3(1), 1–8.
<https://doi.org/10.1093/fqsafe/fyy025>
- Arévalo-Gardini, E., Arévalo-Hernández, C. O., Baligar, V. C., & He, Z. L. (2017). Heavy metal accumulation in leaves and beans of cacao (*Theobroma cacao* L.) in major cacao growing regions in Peru. *Science of the Total Environment*, 605–606(2017), 792–800.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.06.122>
- Argüello, D., Chavez, E., Gutierrez, E., Pittomvils, M., Dekeyrel, J., Blommaert, H., & Smolders, E. (2023). Soil amendments to reduce cadmium in cacao (*Theobroma cacao* L.): A comprehensive field study in Ecuador. *Chemosphere*, 324, 138318.
<https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2023.138318>
- Argüello, D., Chavez, E., Laurysen, F., Vanderschueren, R., Smolders, E., & Montalvo, D. (2019). Soil properties and agronomic factors affecting cadmium concentrations in cacao beans: A nationwide survey in Ecuador. *Science of the Total Environment*, 649(2019), 120–127.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.08.292>
- Babatunde, A. K., Samuel, A., & Peter, A. O. (2019). Effects of Organic Amendments on Growth, Establishment and Yield of Cacao (*Theobroma cacao* L) in Southwestern Nigeria. *Asian Research Journal of Agriculture*, 11(2), 1–14.
<https://doi.org/10.9734/arja/2019/v11i230052>
- Barraza, F., Maurice, L., Uzu, G., Becerra, S., López, F., Ochoa-Herrera, V., Ruales, J., & Schreck, E. (2018). Distribution, contents and health risk assessment of metal(loid)s in small-scale farms in the Ecuadorian Amazon: An insight into impacts of oil activities. *Science of the Total Environment*, 622–623(2018), 106–120.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.11.246>
- Barraza, F., Moore, R. E. T., Rehkämper, M., Schreck, E., Lefeuvre, G., Kreissig, K., Coles, B. J., & Maurice, L. (2019). Cadmium isotope fractionation in the soil-cacao systems of Ecuador: A pilot field study. *RSC Advances*, 9(58), 34011–34022.
<https://doi.org/10.1039/c9ra05516a>
- Barraza, F., Schreck, E., Lévêque, T., Uzu, G., López, F., Ruales, J., Prunier, J., Marquet, A., & Maurice, L. (2017). Cadmium bioaccumulation and gastric bioaccessibility in cacao: A field study in areas impacted by oil activities in Ecuador. *Environmental Pollution*, 229(2017), 950–963.
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.07.080>
- Barraza, F., Schreck, E., Uzu, G., Lévêque, T., Zouiten, C., Boidot, M., & Maurice, L. (2021). Beyond cadmium accumulation: Distribution of other trace elements in soils and cacao beans in Ecuador. *Environmental Research*, 192(2021), 110241.
<https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.110241>
- Barrueta, S. (2013). *Guía de metodos de deteccion y analisis de cadmio en cacaox by Red de Investigación e Innovación en Cacao y Chocolate - issue* (p. 76).
https://issuu.com/riicchperu/docs/guia_metodologica_muestreo
- Beillard, M., & Vega, H. (2018). *This report contains assessments of commodity and trade issues made by usda staff and not necessarily statements of official u cracking open Japan’s Craft Beer Market.*
[https://gain.fas.usda.gov/Recent GAIN Publications/Cracking Open Japan’s Craft Beer Market_Tokyo ATO_Japan_8-31-2018.pdf](https://gain.fas.usda.gov/Recent%20GAIN%20Publications/Cracking%20Open%20Japan’s%20Craft%20Beer%20Market_Tokyo%20ATO_Japan_8-31-2018.pdf)
- Bello, A. O., Tawabini, B. S., Khalil, A. B., Boland, C. R., & Saleh, T. A. (2018). Phytoremediation of cadmium-, lead- and nickel-contaminated water by *Phragmites australis* in hydroponic systems. *Ecological Engineering*, 120(2018), 126–133.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2018.05.035>
- Bravo, D., Santander, M., Rodríguez, J., & Escobar, S. (2021). Cadmium in Cacao: “From Soil to Bar” the Journey of Cadmium at a Farm Level. *Research Square*, 2021, 1–16. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-199662/v1>
- Castebianco, J. A. (2018). Heavy metals remediation with potential application in cocoa cultivation. *Granja*, 27(1), 21–35.
<https://doi.org/10.17163/igr.n27.2018.02>
- Charris, E. (2021). Manejo agronómico de un sistema productivo de cacao *Theobroma cacao* L. en el corregimiento de Villa Germania municipio de Valledupar Cesar. *Ciencia Unisalle*.
https://ciencia.lasalle.edu.co/ingenieria_agronomica/204
- Chávez, & Argüello. (2022). Muestreo De Suelo, Hojas, Almendras Para Análisis De Cadmio En Cultivos De

- Cacao. *Cefaecuador*, 1–19.
https://cefaecuador.org/wp-content/uploads/2022/05/Guia_4.pdf
- Chávez, C. (2018). Observatorio del cacao fino y de aroma para América Latina. In *Iniciativa Latinoamericana del Cacao* (Vol. 3).
http://scioteca.caf.com/bitstream/handle/123456789/1258/OLC_CAF_boletin_3_Español-final.pdf
- Codex alimentarius, F.-W. (2015). *Joint FAO/WHO food standards programme CODEX committee on contaminants in foods*.
http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/98388/1/9789241209830_eng.pdf
- Dubey, R. S., Srivastava, R. K., & Pessaraki, M. (2021). Physiological Mechanisms of Nitrogen Absorption and Assimilation in Plants under Stressful Conditions. In *Handbook of Plant and Crop Physiology* (pp. 579–616). CRC Press.
<https://doi.org/10.1201/9781003093640-36>
- Elbana, T., Gaber, H. M., & Kishk, F. M. (2019). *Soil Chemical Pollution and Sustainable Agriculture*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-95516-2_11
- Engbersen, N., Gramlich, A., Lopez, M., Schwarz, G., Hattendorf, B., Gutierrez, O., & Schulin, R. (2019). Cadmium accumulation and allocation in different cacao cultivars. *Science of the Total Environment*, 678(2019), 660–670.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.05.001>
- European Commission. (2019). *The cadmium level in chocolate is lower than in the cocoa beans due to the processing of cocoa beans into chocolate*.
https://ec.europa.eu/info/index_es
- FAO. (2011). Elaboración y uso del Bocashi. In *Ministerio De Agricultura Y Ganadería*.
<http://www.fao.org/3/at788s/at788s.pdf>
- Ferreira de Oliveira, A. P., Milani, R. F., Efraim, P., Morgano, M. A., & Tfouni, S. A. V. (2021). Cd and Pb in cocoa beans: Occurrence and effects of chocolate processing. *Food Control*, 119(2021), 107455.
<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107455>
- Florida Rofner, N., & Escobar-Mamani, F. (2019). EFECTO DE COMPOST Y NPK SOBRE LOS NIVELES DE MICROORGANISMOS Y CADMIO EN SUELO Y ALMENDRA DE CACAO. *Revista de Investigaciones Altoandinas - Journal of High Andean Research*, 21(4), 264–273.
<https://doi.org/10.18271/ria.2019.503>
- Furcal-Beriguete, P., & Torres-Morales, J. L. (2020). Determinación de concentraciones de cadmio en plantaciones de *Theobroma cacao* L. en Costa Rica. *Revista Tecnología En Marcha*, 33(1), 122–137.
<https://doi.org/10.18845/tm.v33i1.5027>
- Gautam, K., Sharma, P., Dwivedi, S., Singh, A., Gaur, V. K., Varjani, S., Srivastava, J. K., Pandey, A., Chang, J. S., & Ngo, H. H. (2023). A review on control and abatement of soil pollution by heavy metals: Emphasis on artificial intelligence in recovery of contaminated soil. *Environmental Research*, 225, 115592.
<https://doi.org/10.1016/j.envres.2023.115592>
- Gil, J. P., López-Zuleta, S., Quiroga-Mateus, R. Y., Benavides-Erao, J., Chaali, N., & Bravo, D. (2022). Cadmium distribution in soils, soil litter and cacao beans: a case study from Colombia. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 19(4), 2455–2476. <https://doi.org/10.1007/s13762-021-03299-x>
- Gong, Q., Chen, P., Shi, R., Gao, Y., Zheng, S. A., Xu, Y., Shao, C., & Zheng, X. (2019). Health assessment of trace metal concentrations in organic fertilizer in Northern China. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(6), 1031. <https://doi.org/10.3390/ijerph16061031>
- Gramlich, A., Tandy, S., Andres, C., Chincheros Paniagua, J., Armengot, L., Schneider, M., & Schulin, R. (2017). Cadmium uptake by cocoa trees in agroforestry and monoculture systems under conventional and organic management. *Science of the Total Environment*, 580(2016), 677–686.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.12.014>
- Gramlich, A., Tandy, S., Guggel, C., López, M., Perla, D., Gonzalez, V., & Schulin, R. (2018). Soil cadmium uptake by cocoa in Honduras. *Science of the Total Environment*, 612(2018), 370–378.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.145>
- Gutiérrez, E., Chávez, E., Gamage, K. H. H., Argüello, D., Galkaduwa, M. B., & Hettiarachchi, G. M. (2022). Cadmium fractionation in soils affected by organic matter application: Transfer of cadmium to cacao (*Theobroma cacao* L.) tissues. *Frontiers in Environmental Science*, 10(September), 1–13.
<https://doi.org/10.3389/fenvs.2022.954521>
- Hamid, Y., Tang, L., Hussain, B., Usman, M., Liu, L., Cao, X., Ulhassan, Z., Bilal Khan, M., & Yang, X. (2020). Cadmium mobility in three contaminated soils amended with different additives as evaluated by dynamic flow-through experiments. *Chemosphere*, 261, 127763.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127763>
- Hou, D., O'Connor, D., Igalavithana, A. D., Alessi, D. S., Luo, J., Tsang, D. C. W., Sparks, D. L., Yamauchi, Y., Rinklebe, J., & Ok, Y. S. (2020). Metal contamination and bioremediation of agricultural

- soils for food safety and sustainability. *Nature Reviews Earth and Environment*, 1(7), 366–381. <https://doi.org/10.1038/s43017-020-0061-y>
- Hu, W., Wang, H., Dong, L., Huang, B., Borggaard, O. K., Bruun Hansen, H. C., He, Y., & Holm, P. E. (2018). Source identification of heavy metals in peri-urban agricultural soils of southeast China: An integrated approach. *Environmental Pollution*, 237(2018), 650–661. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.02.070>
- Hussain, B., Liu, S., Rahman, S. U., Leiva-Espinoza, S. T., Javed, K., Pu, S., & Farooq, M. (2023). Cadmium Prevalence in Cacao (*Theobroma cacao* L.) and Potential Remediation Strategies. In *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* (Vol. 23, Issue 3, pp. 2938–2954). Springer Science and Business Media Deutschland GmbH. <https://doi.org/10.1007/s42729-023-01349-6>
- Idowu, G. A., Aiyesanmi, A. F., & Oyegoke, F. O. (2022). Organochlorine pesticide residues in pods and beans of cocoa (*Theobroma cacao* L.) from Ondo State Central District, Nigeria. *Environmental Advances*, 7(2022), 100162. <https://doi.org/10.1016/j.envadv.2021.100162>
- Joya-Barrero, V., Huguet, C., & Pearse, J. (2023). Natural and Anthropogenic Sources of Cadmium in Cacao Crop Soils of Santander, Colombia. *Soil Systems*, 7(1), 1–18. <https://doi.org/10.3390/soilsystems7010012>
- Kabata-Pendias, A. (2000). Trace Elements in Soils and Plants. In *Trace Elements in Soils and Plants*. CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781420039900>
- Khan, M. A., Khan, S., Khan, A., & Alam, M. (2017). Soil contamination with cadmium, consequences and remediation using organic amendments. *Science of the Total Environment*, 601–602(2017), 1591–1605. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.06.030>
- Kruszewski, B., Obiedziński, M. W., & Kowalska, J. (2018). Nickel, cadmium and lead levels in raw cocoa and processed chocolate mass materials from three different manufacturers. *Journal of Food Composition and Analysis*, 66(2017), 127–135. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2017.12.012>
- Kushwaha, A., Hans, N., Kumar, S., & Rani, R. (2018). A critical review on speciation, mobilization and toxicity of lead in soil-microbe-plant system and bioremediation strategies. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 147, 1035–1045. <https://doi.org/10.1016/J.ECOENV.2017.09.049>
- Lew, P. S., Nik Ibrahim, N. N. L., Kamarudin, S., Thamrin, N. M., & Misnan, M. F. (2021). Optimization of bokashi-composting process using effective microorganisms-1 in smart composting bin. *Sensors*, 21(8), 1–15. <https://doi.org/10.3390/s21082847>
- Lewis, C., Lennon, A. M., Eudoxie, G., Sivapatham, P., & Umaharan, P. (2021). Plant metal concentrations in *Theobroma cacao* as affected by soil metal availability in different soil types. *Chemosphere*, 262, 127749. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127749>
- Lewis, C., Lennon, A. M., Eudoxie, G., & Umaharan, P. (2018). Genetic variation in bioaccumulation and partitioning of cadmium in *Theobroma cacao* L. *Science of the Total Environment*, 640–641(2018), 696–703. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.05.365>
- López, J. E., Arroyave, C., Aristizábal, A., Almeida, B., Builes, S., & Chavez, E. (2022). Reducing cadmium bioaccumulation in *Theobroma cacao* using biochar: basis for scaling-up to field. *Heliyon*, 8(6). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e09790>
- López, O., Ramírez, S. I., Espinosa, S., Moreno, J. L., Ruiz, C., Villarreal, J. M., & Rojas, J. L. (2015). *Manejo agroecológico de la nutrición en el cultivo del cacao*. http://www.espacioimasd.unach.mx/libro/num7/Manejo_agroecologico_de_la_nutricion_en_el_cultivo_del_cacao.pdf
- Maddela, N. R., Kakarla, D., García, L. C., Chakraborty, S., Venkateswarlu, K., & Megharaj, M. (2020). Cocoa-laden cadmium threatens human health and cacao economy: A critical view. *Science of the Total Environment*, 720(2020), 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137645>
- Maiti, & Bidinger. (1981). Lineamientos de muestreo para la determinación de niveles de cadmio en suelos, hojas, granos y productos derivados de cacao. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), 1689–1699.
- Martínez, D., & Charrupi, N. (2017). Estudio ambiental del cadmio y su relación con suelos destinados al cultivo de cacao en los departamentos de Arauca y Nariño. In *Universidad de La Salle - Ciencia UNISALLE*. https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=1717&context=ing_ambiental_sanitaria
- Mendis, I., & Arce, P. (2003). *Ministerio de agricultura programa para el desarrollo de la amazonia proamazonia manual de cultivo del cacao*.
- Milošević, T., & Milošević, N. (2020). Soil fertility: Plant nutrition vis-à-vis fruit yield and quality of stone fruits. In *Fruit Crops* (pp. 583–606). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818732-6.00041-1>

- MINAM. (2014). Guía para muestreo de suelo. *Ministerio de Medio Ambiente Perú*, 72. <http://www.minam.gob.pe/wp-content/uploads/2018/07/GUIA-PARA-EL-MUESTREO-DE-SUELO.pdf>
- MINAM. (2017). Decreto Supremo N° 011-2017-MINAM. *El Peruano*, 1–4.
- MPCEIP. (2023). *Acuerdo Comercial de Ecuador con Unión Europea arroja resultados positivos*. Ministerio de Producción Comercio Exterior Inversiones y Pesca. <https://www.produccion.gob.ec/acuerdo-comercial-de-ecuador-con-union-europea-arroja-resultados-positivos/>
- Oliva, M., Rubio, K., Epquin, M., Marlo, G., & Leiva, S. (2020). Cadmium uptake in native cacao trees in agricultural lands of Bagua, Peru. *Agronomy*, 10(10), 1–11. <https://doi.org/10.3390/agronomy10101551>
- Otzen, T., & Manterola, C. (2017). Técnicas de Muestreo sobre una Población a Estudio Sampling Techniques on a Population Study. *Int. J. Morphol*, 35(1), 227–232. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022017000100037>
- Pino Peralta, S. ., Aguilar Azuero, H. ., & Sisalema Morejón, L. . (2018). La Denominación de origen para cacao arriba. En busca del Santo Grial. *Espacios*, 39(16), 1–13. <https://www.revistaespacios.com/a18v39n16/a18v39n16p13.pdf>
- Pohan, S., Amrizal, A., Masni, E., Puspitasari, W., Puspitasari, W., Malau, N., Pasaribu, R., Pasaribu, R., & Siregar, R. (2019). *The Use of Bokashi Compost as a Soil Fertility Amendment in Increasing Vegetative Growth of Organic Tomato (Lycopersicum Esculentum Mill.)*. 1–9. <https://doi.org/10.4108/eai.18-10-2018.2287296>
- Qaswar, M., Yiren, L., Jing, H., Kaillou, L., Mudasar, M., Zhenzhen, L., Hongqian, H., Xianjin, L., Jianhua, J., Ahmed, W., Dongchu, L., & Huimin, Z. (2020). Soil nutrients and heavy metal availability under long-term combined application of swine manure and synthetic fertilizers in acidic paddy soil. *Journal of Soils and Sediments*, 20(4), 2093–2106. <https://doi.org/10.1007/s11368-020-02576-5>
- Quezada-campoverde, J. M., Agropecuaria, E., Machala, D., Comercial, I., & Sistemas, A. De. (2021). Kevin Segundo Alcívar-Córdova. *Polo Del Conocimiento*, 6(3), 2430–2444. <https://doi.org/10.23857/pc.v6i3.2522>
- Ramtahal, G., Umaharan, P., Hanuman, A., Davis, C., & Ali, L. (2019a). The effectiveness of soil amendments, biochar and lime, in mitigating cadmium bioaccumulation in *Theobroma cacao* L. *Science of the Total Environment*, 693, 133563. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.07.369>
- Ramtahal, G., Umaharan, P., Hanuman, A., Davis, C., & Ali, L. (2019b). The effectiveness of soil amendments, biochar and lime, in mitigating cadmium bioaccumulation in *Theobroma cacao* L. *Science of the Total Environment*, 693(2019), 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.07.369>
- Ramtahal, G., Yen, I. C., Bekele, I., Bekele, F., Wilson, L., Maharaj, K., & Harrynanan, L. (2016). Relationships between Cadmium in Tissues of Cacao Trees and Soils in Plantations of Trinidad and Tobago. *Food and Nutrition Sciences*, 07(01), 37–43. <https://doi.org/10.4236/fns.2016.71005>
- Rashid, A., Schutte, B. J., Ulery, A., Deyholos, M. K., Sanogo, S., Lehnhoff, E. A., & Beck, L. (2023). Heavy Metal Contamination in Agricultural Soil: Environmental Pollutants Affecting Crop Health. *Agronomy*, 13(6), 1521. <https://doi.org/10.3390/agronomy13061521>
- Rodríguez Giraldo, Y., Rodríguez Sánchez, E., Torres, L. G., Montenegro, A. C., & Pichimata, M. A. (2022). Development of validation methods to determine cadmium in cocoa almond from the beans by ICP-MS and ICP-OES. *Talanta Open*, 5(2022), 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.talo.2021.100078>
- Romero-Estévez, D., Yáñez-Jácome, G. S., Simbaña-Farinango, K., & Navarrete, H. (2019). Content and the relationship between cadmium, nickel, and lead concentrations in Ecuadorian cocoa beans from nine provinces. *Food Control*, 106(2019), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106750>
- Rosales Huamani, J. A., Centeno Rojas, L., Cajacuri Perez, J. R., Breña Ore, J., & Chávez Chapana, C. (2021). Identificación de Cadmio y Plomo en los cultivos de Cacao ubicados en la zona de Satipo - Junín. *Tecnia*, 21(2), 83–89. <https://doi.org/10.21754/tecnica.v21i2.1062>
- Scaccabarozzi, D., Castillo, L., Aromatisi, A., Milne, L., Castillo, A. B., & Muñoz-Rojas, M. (2020). Soil, site, and management factors affecting cadmium concentrations in cacao-growing soils. *Agronomy*, 10(6), 1–15. <https://doi.org/10.3390/agronomy10060806>
- Song, Y., Jin, L., & Wang, X. (2017). Cadmium absorption and transportation pathways in plants. *International Journal of Phytoremediation*, 19(2), 133–141. <https://doi.org/10.1080/15226514.2016.1207598>
- Streule, S., Freimüller Leischtfeld, S., Galler, M., & Miescher Schwenninger, S. (2022). Monitoring of

- cocoa post-harvest process practices on a small-farm level at five locations in Ecuador. *Heliyon*, 8(6), e09628.
<https://doi.org/10.1016/J.HELIYON.2022.E09628>
- Vanderschueren, R., Argüello, D., Blommaert, H., Montalvo, D., Barraza, F., Maurice, L., Schreck, E., Schulin, R., Lewis, C., Vazquez, J. L., Umaharan, P., Chavez, E., Sarret, G., & Smolders, E. (2021). Mitigating the level of cadmium in cacao products: Reviewing the transfer of cadmium from soil to chocolate bar. *Science of the Total Environment*, 781(2021), 146779.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146779>
- Vanderschueren, R., De Mesmaeker, V., Mounicou, S., Isaure, M. P., Doelsch, E., Montalvo, D., Delcour, J. A., Chavez, E., & Smolders, E. (2020). The impact of fermentation on the distribution of cadmium in cacao beans. *Food Research International*, 127(2019), 1–9.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108743>
- Vásquez, A. A., Cajuste, L. J., Carrillo, R., Zamudio, B., Alvares, E., & Castellanos, J. (2005). "Límites Permisibles de Acumulación de Cadmio, Níquel y Plomo en Suelos del Valle del Mezquital, Hidalgo". *Terra Latinoamericana*, 23(4), 447–455.
- Vignati, F., & Gómez-García, R. (2020). Iniciativa Latinoamericana del Cacao: Boletín N° 8. *Iniciativa Latinoamericana Del Cacao*, 8, 1–3.
<http://scioteca.caf.com/handle/123456789/1530%0A>
https://scioteca.caf.com/bitstream/handle/123456789/1530/Iniciativa_Latinoamericana_del_Cacao_Boletín_No.8.pdf?sequence=1
- Wood, S. A., Tirfessa, D., & Baudron, F. (2018). Soil organic matter underlies crop nutritional quality and productivity in smallholder agriculture. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 266(2018), 100–108.
<https://doi.org/10.1016/j.agee.2018.07.025>
- Xu, J., Liu, C., Hsu, P. C., Zhao, J., Wu, T., Tang, J., Liu, K., & Cui, Y. (2019). Remediation of heavy metal contaminated soil by asymmetrical alternating current electrochemistry. *Nature Communications*, 10(1), 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-10472-x>
- Yan, X., Liu, M., Zhong, J., Guo, J., & Wu, W. (2018). How human activities affect heavy metal contamination of soil and sediment in a long-term reclaimed area of the Liaohe River Delta, North China. *Sustainability (Switzerland)*, 10(2), 338.
<https://doi.org/10.3390/su10020338>
- Zakaria, Z., Zulkafflee, N. S., Mohd Redzuan, N. A., Selamat, J., Ismail, M. R., Praveena, S. M., Tóth, G., & Abdull Razis, A. F. (2021). Understanding potential heavy metal contamination, absorption, translocation and accumulation in rice and human health risks. *Plants*, 10(6), 1070.
<https://doi.org/10.3390/plants10061070>
- Zhou, F., Yin, G., Gao, Y., Liu, D., Xie, J., Ouyang, L., Fan, Y., Yu, H., Zha, Z., Wang, K., Shao, L., Feng, C., & Fan, G. (2019). Toxicity assessment due to prenatal and lactational exposure to lead, cadmium and mercury mixtures. *Environment International*, 133(2019), 1–13.
<https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105192>
- Zug, K. L. M., Huamaní Yupanqui, H. A., Meyberg, F., Cierjacks, J. S., & Cierjacks, A. (2019). Cadmium Accumulation in Peruvian Cacao (*Theobroma cacao L.*) and Opportunities for Mitigation. *Water, Air, and Soil Pollution*, 230(3), 1–18.
<https://doi.org/10.1007/s11270-019-4109-x>
- Zulfiqar, U., Farooq, M., Hussain, S., Maqsood, M., Hussain, M., Ishfaq, M., Ahmad, M., & Anjum, M. Z. (2019). Lead toxicity in plants: Impacts and remediation. *Journal of Environmental Management*, 250(September).
<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.109557>
- Zulfiqar, U., Jiang, W., Xiukang, W., Hussain, S., Ahmad, M., Maqsood, M. F., Ali, N., Ishfaq, M., Kaleem, M., Haider, F. U., Farooq, N., Naveed, M., Kucerik, J., Brtnicky, M., & Mustafa, A. (2022). Cadmium Phytotoxicity, Tolerance, and Advanced Remediation Approaches in Agricultural Soils; A Comprehensive Review. *Frontiers in Plant Science*, 13(2022), 1–33.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2022.773815>