



Determinación de cadmio, plomo y ocratoxina en la harina proveniente de las cascarillas de dos variedades de cacao en Ecuador

Determination of cadmium, lead and ochratoxin in the flour coming from the shells of two varieties of cocoa in Ecuador

Ahmed El Salous^{1*}, Alina Pascual²

¹Universidad Internacional Iberoamericana-UNINI, México, ¹Docente de la Universidad Agraria del Ecuador

²Universidad Internacional Iberoamericana-UNINI, México

*Autor de correspondencia: eelsalous@uagraría.edu.ec

RESUMEN— En la presente investigación, se evaluó la presencia de cadmio, plomo y ocratoxina en la harina proveniente de las cascarillas de las variedades de cacao Nacional Arriba (cacao nativo, fino o de aroma) y el cacao Colección Castro Naranjal (CCN 51) en Ecuador, para su uso en los procesos de elaboración de galletas y panes.

Se tomaron cinco muestras de 2000 g cada una, de 5 lotes diferentes para cada variedad de cacao en dos industrias cacaoteras en la provincia del Guayas. Se realizó la molienda con un molino marca Oster, se homogenizaron las muestras y se empacaron 700 g de las cáscaras molidas de cada variedad de cacao en fundas de polietileno de baja densidad, para poder realizar la determinación de cadmio, plomo y ocratoxina. Las muestras fueron enviadas a un laboratorio certificado para realizar los análisis correspondientes. Debido a que en Ecuador no existe alguna norma de calidad para la harina proveniente de las cascarillas de cacao, se aplicaron las normas INEN 616 e INEN 621, las cuales definen los requisitos que debe cumplir la harina de trigo y los chocolates respetivamente para que sean aptos para el consumo humano. Los resultados comprueban que la harina proveniente de las cascarillas de ambas variedades cumple con los criterios establecidos en la norma INEN 621 y por consiguiente se garantiza su uso para la elaboración de panes, pasteles o galletas de chocolate como alternativa del uso del cacao en polvo.

Palabras claves— *Cacao en polvo, metales pesados, micotoxina.*

ABSTRACT— In the present investigation, the presence of cadmium, lead and ochratoxin in the flour from the cascarillas of the cacao varieties Nacional Arriba and the cacao CCN 51 in Ecuador was evaluated, for its use in the processes of cookies and breads making. Five samples of 2000 g each were taken, from 5 different lots for each variety of cocoa in two cacaoteras industries in the province of Guayas. The milling was carried out with an Oster mill, the samples were homogenized and 700 g of the ground husks of each variety of cocoa were packed in low density polyethylene covers, in order to perform the determination of cadmium, lead and ochratoxin. The samples were sent to a certified laboratory to perform the corresponding analyzes. Due to the fact that in Ecuador there is no quality standard for flour from cocoa husks, the INEN 616 and INEN 621 standards were applied, which define the requirements that wheat flour and chocolates must comply with in order to be fit for human consumption. The results prove that the flour from the husks of both varieties meets the criteria established in the INEN 621 standard.

Keywords— *Cocoa powder, heavy metals, mycotoxin.*

1. Introducción

El cultivo y la transformación del cacao en Ecuador tienen un gran aporte económico al país. Revisando los datos dados por la Asociación Nacional de Exportadores de Cacao (ANECACAO), se observó que durante el año 2015 la exportación de productos semielaborados (pasta, manteca y torta de cacao) y terminados del cacao (barras de chocolate y bombones rellenos) alcanzó 24,19 mil toneladas, según datos considerados hasta el mes de noviembre del mismo año [1].

Sin embargo, las cascarillas que se eliminan de los granos del cacao se consideran como desechos

agroindustriales, generando un problema en el manejo de las mismas ya que no son utilizadas para el consumo humano, ni genera un ingreso económico importante para las industrias. Se realizó un estudio en Venezuela utilizando las cascarillas para la elaboración de infusiones, las cuales tenían ventaja económica, pero la calidad microbiológica estuvo fuera de los límites permitidos según los parámetros del documento no oficial Convenin (2002) [2].

Por otro lado, en el trabajo realizado en Brasil (2017) sobre la aplicación de las cascarillas del cacao en la industria, se confirmó que las cascarillas tienen alto

Citación: A. El Salous y A. Pascual, "Determinación de cadmio, plomo y ocratoxina en la harina proveniente de las cascarillas de dos variedades de cacao en Ecuador", *Revista de I+D Tecnológico*, vol. 14, n.º 1, pp. 49-53, Jun. 2018.

Tipo de artículo: Original. **Recibido:** 26 de enero de 2018. **Recibido con correcciones:** 30 de enero de 2018. **Aceptado:** 11 de abril de 2018.

Copyright: 2018 A. El Salous y A. Pascual. This is an open access article under the CC BY-NC-SA 4.0 license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>).

valor nutricional y diferentes biocompuestos como los compuestos fenólicos, teobromina y fibras dietéticas. Además, el perfil de los lípidos es similar a la manteca del cacao; el color y sabor de las cascarillas son similares al del chocolate, por lo antes mencionado a la cascarilla del cacao se la considera materia prima con gran potencia para ser explotada en la industria, según los investigadores [3].

Con relación a la presencia de la ocratoxina en el cacao, una investigación se realizó en Perú para evaluar la presencia de ocratoxina en el cacao blanco durante el proceso de cosecha, fermentado, secado y almacenado, donde se observó la presencia de esta toxina solo durante la etapa de fermentación con una concentración de $(1,92 \pm 0,02 \mu\text{g kg}^{-1})$, estando ausente en el resto de las etapas [4]. Por otro lado, en un estudio realizado en Malasia para determinar los metales pesados en cacao y derivados de cacao, se determinó un nivel de contaminación con cadmio en las cascarillas del cacao tostado del $1,53 \text{ mg/Kg}$ al $2,11 \text{ mg kg}^{-1}$ mientras que, para la concentración de plomo en las cascarillas de cacao tostado, los investigadores determinaron un valor del $7,21 \text{ mg kg}^{-1}$ al $9,14 \text{ mg kg}^{-1}$ [5].

En base a estos antecedentes, el objetivo de esta investigación es determinar la presencia de ocratoxina, plomo y cadmio en la harina proveniente de las cascarillas del cacao de las variedades Nacional Arriba y CCN 51, debido a la falta de información científica sobre la presencia de los contaminantes antes mencionados en las cascarillas del cacao, con la finalidad de determinar su utilidad en los procesos de elaboración de productos de panadería como galletas, panes y pasteles para el consumo humano.

2. Materiales y métodos

La toma de muestras para la presente investigación fue realizada en la provincia del Guayas, Ecuador. Para llevar a cabo esta investigación, se tomaron cinco muestras de 2000 g de cascarillas de cacao tostado de cinco lotes diferentes en dos industrias cacaoteras, una industria facilitó las muestras provenientes del cacao Nacional Arriba y la otra industria facilitó las muestras provenientes del cacao CCN 51. De esta manera se contó con un total de 10 muestras para las dos variedades de cacao.

Para la obtención de la harina, las muestras de ambas variedades fueron molidas por separado en un molino

marca Oster para después ser homogenizadas y almacenadas en fundas de polietileno de baja densidad. Dos muestras de 500 g de cada variedad fueron enviadas a un laboratorio acreditado en la ciudad de Guayaquil para la determinación de cadmio y plomo, mientras que, para la determinación de la presencia de ocratoxina, dos muestras de 200 g de cada una fueron enviadas a un laboratorio acreditado en la ciudad de Quito.

Para la determinación de ocratoxina existen diferentes métodos, entre los cuales están: Cromatografía líquida acoplada a la espectrometría de masas (LC-MS-MS), Cromatografía líquida de alta resolución acoplada a un detector de fluorescencia, técnica cualitativa del Test (ELISA), empleo de inmunosensores específicos para la detección de OTA, extracción con polímeros de impronta molecular e inmunosensores nanoestructurados piezoeléctricos y electroquímicos; y detección de metabolitos fúngicos con actividad tóxica mediante bioensayos sobre *Artemia salina* [6].

El análisis para determinar la ocratoxina fue realizado en un laboratorio en la ciudad de Quito bajo el método Elisa (validado por el USDA/FGIS y método oficial AOACO) por su rapidez, alta sensibilidad y bajo costo.

Para determinar el cadmio y el plomo en las muestras de la harina de las cascarillas procedentes de ambas variedades de cacao, se utilizó el espectrofotómetro de absorción atómica.

Los espectrofotómetros de absorción atómica constituyen una de las técnicas más empleadas para la determinación de más de 60 elementos, principalmente en el rango de $\mu\text{g/ml}$ - ng/ml en una gran variedad de muestras [7].

El método de espectrofotómetro de digestión con horno de microondas debido a que, si bien es cierto el equipo utilizado es sustancialmente más caro, la manipulación de la muestra es mínima, evitándose la pérdida de analitos por volatilización, la contaminación de la muestra, la exposición por parte del analista a los vapores generados durante la digestión ácida y la disminución sustancial del tiempo invertido en la mineralización de la materia orgánica [8].

Para la determinación de metales pesados, se utilizó el método de espectrofotometría de absorción atómica, según los métodos de referencias: Pi_MP2 AOAC

999.10 Ed. 20, 2016 para la determinación de cadmio y Pi_MP3 AOAC 999.10 Ed. 20, 2016 para la determinación de plomo, donde se realizó la digestión de las muestras por microonda y espectroscopia de absorción atómica en horno de grafito.

Debido a que en Ecuador no existe alguna norma de calidad para la harina proveniente de las cascarillas de cacao, se aplicaron las normas INEN 616 e INEN 621, las cuales definen los requisitos que debe cumplir la harina de trigo y los chocolates respectivamente para que sean aptos para el consumo humano.

3. Resultados y discusión

Con relación a la presencia de la ocratoxina, los resultados de los análisis para la harina proveniente de las cascarillas de cacao CCN 51 y Nacional Arriba se detallan en la tabla 1, donde se puede observar que la harina proveniente de ambas variedades no cumple con los parámetros según la norma INEN 616 (2015) para harina de trigo, mientras que en la norma INEN 621 (2010) para chocolate, no se presenta una referencia para la ocratoxina. Así mismo, se puede observar que el valor obtenido para la presencia de dicha toxina es menor en la harina proveniente de las cascarillas del cacao Nacional Arriba.

Tabla 1: Determinación de ocratoxina en la harina proveniente de las cascarillas del cacao CCN 51 y del cacao Nacional Arriba

Variedad de cacao	Valor obtenido	Límite de aceptación según INEN 616	Límite de aceptación según INEN 621
CCN 51	25 $\mu\text{g kg}^{-1}$	5 $\mu\text{g kg}^{-1}$	No aplica
Nacional Arriba	7,5 $\mu\text{g kg}^{-1}$	5 $\mu\text{g kg}^{-1}$	No aplica

En un trabajo realizado en Brasil en el 2013 sobre la presencia de ocratoxina en cascarillas, almendras, pasta, torta, polvo de cacao y polvo alcalizado de cacao se determinó niveles de concentración en las cascarillas del $1.13 \pm 1.28 \mu\text{g kg}^{-1}$ mencionando que es el nivel más alto de ocratoxina encontrado con comparación a los restos de productos estudiados en dicha investigación, sin embargo esta concentración es mucho más baja que lo reportado en el presente trabajo [9].

Por otro lado, en una investigación realizada en Ecuador sobre 87 muestras de chocolate para la

determinación de ocratoxina y comparar los resultados con la norma brasileña, se confirmó que el 3,4% de las muestras se encuentran dentro de la norma (5 ppb) y el 96,6% se encuentran fuera de la norma [10].

Mientras que Soto, confirmó la ausencia de ocratoxina en todas las muestras de las cascarillas del cacao en su investigación realizada en Venezuela, justificando en sus resultados que la ausencia de contaminación en el cacao fue por utilizar equipos de secado [2], por lo que la contaminación de las muestras en el estudio actual puede deberse al secado solar o por fermentación inadecuada de las almendras del cacao.

Con relación a la determinación de plomo y cadmio en la harina proveniente de las cascarillas del cacao, los resultados se presentan en las tablas 2 y 3 respectivamente. Para la harina proveniente de las cascarillas del cacao CCN 51 como se puede observar en la tabla 2, el contenido de cadmio está por encima de los límites de aceptación según la norma INEN 616 (2015) [8], con un valor de $0,54 \text{ mg kg}^{-1}$, mientras que la norma INEN 621 (2010) [9] no establece ningún criterio para este metal.

Tabla 2: Resultados de la determinación de cadmio y plomo en la harina proveniente de las cascarillas del cacao CCN 51

Parámetro	Valor obtenido	Límite de aceptación según INEN 616	Límite de aceptación según INEN 621
Cadmio	0,54 mg kg^{-1}	0,2 mg kg^{-1}	No aplica
Plomo	0,17 mg kg^{-1}	0,2 mg kg^{-1}	1 mg kg^{-1}

Por otro lado, los resultados sobre la presencia de cadmio y plomo en la harina proveniente de las cascarillas del cacao Nacional Arriba reflejan valores más altos para ambos metales, en comparación con los resultados reportados para la harina proveniente de las cascarillas de cacao CCN 51, tal como se puede observar en la tabla 3.

Tabla 3: Resultados de la determinación de cadmio y plomo en la harina proveniente de las cascarillas del cacao Nacional Arriba

Parámetro	Valor obtenido	Límite de aceptación según INEN 616	Límite de aceptación según INEN 621

Cadmio	1,11 mg kg ⁻¹	0,2 mg kg ⁻¹	No aplica
Plomo	0,34 mg kg ⁻¹	0,2 mg kg ⁻¹	1 mg kg ⁻¹

Según la norma INEN 616 (2015) los resultados de la presencia de cadmio y plomo están por encima de los límites de aceptación en ambas variedades [11], pero según la norma INEN 621 (2010) el nivel de plomo está en el rango de aceptación, sin embargo, esta norma no exige límite para el cadmio [12]. En un estudio realizado en el año 2017 para determinar los niveles de metales tóxicos en el polvo de cacao utilizando el método de Espectrometría de masas de plasma acoplado por inducción, se reportó una concentración de $0,303 \pm 0,035$ mg kg⁻¹ para el cadmio, valor más bajo del reportado en la presente investigación para ambas variedades; y para el plomo la concentración fue de $1,228 \pm 0,146$ mg kg⁻¹ valor aproximadamente más alto con 350% que lo reportado para la cascarillas de la variedad Nacional Arriba y aproximadamente 700% más alto que lo reportado para las cascarillas del cacao CCN 51 [13].

Un estudio realizado confirmó que la intoxicación humana por cadmio es muy rara y la exposición crónica a altos niveles de cadmio puede aumentar la acumulación de este metal en algunos órganos del cuerpo humano [14].

En el trabajo realizado sobre la determinación de metales pesados en las almendras de cacao en Venezuela, para el periodo 2013, se encontró que niveles de contaminación con cadmio entre 1,74 y 2,09 mg kg⁻¹ para el cacao híbrido, mientras que, para el cacao porcelana, los valores de contaminación de este metal estuvieron entre 1,82 y 1,9 mg kg⁻¹. Para ambos tipos de cacao estudiados, se reportaron niveles más altos de este metal que los reportados en esta investigación [15].

Los resultados de cadmio obtenidos en las harinas del cacao Nacional Arriba y del cacao CCN 51 fueron comparados con los niveles establecidos en el documento titulado Propuestas de niveles máximos para el cadmio en el chocolate y productos derivados de cacao, elaborado por la Comisión de Codex Alimentarios en el año 2015 [16], donde se reportan niveles de cadmio en polvo de cacao hasta de 1,5 mg kg⁻¹, mientras que para chocolate con contenido de materia seca total de cacao $\geq 50\%$, valores hasta de 2 mg/Kg, los cuales son niveles más altos que los reportados en

esta investigación, mientras que el documento antes mencionado no establece niveles de plomo.

Por otro lado, en un estudio realizado en Pakistán para determinar la concentración de cadmio y plomo en derivados de chocolate, se encontraron concentraciones de 1,4 mg/Kg para el plomo y 0,19 mg/Kg para el cadmio [17]. Comparando estos resultados con los resultados de la presente investigación, se puede observar que la concentración de plomo reportada por Rehman y Husnain (2012) es más alta que la concentración de plomo reportada en ambas harinas, sin embargo, la concentración de cadmio es menor que las concentraciones encontradas en ambas harinas de este estudio.

Según la investigación realizada en 2013, se confirmó que la presencia de cadmio en los granos de cacao tiene relación con el pH del suelo [18]. Es importante indicar que en la investigación antes mencionada no se evidenció acumulación o concentración del cadmio en las cascarillas del cacao. Sin embargo, la acumulación del cadmio en los granos podrá ser considerado como un indicador al absorber este metal desde el árbol del cacao, y por consecuencia, en las cascarillas de las almendras del cacao.

Con relación a la contaminación del cacao con plomo, se confirmó que la contaminación con este metal tiene un nivel promedio de $\leq 0,5$ ng g⁻¹ para los granos frescos tomados de seis fincas cacaoteras en Nigeria, lo cual es una concentración que aumenta durante el proceso de elaboración de derivados del cacao hasta alcanzar un valor de, 230 ngg⁻¹ para cacao en polvo y hasta 70 ng g⁻¹ para chocolate. Este aumento se atribuye a la contaminación atmosférica debido a la capacidad de las cascarillas del cacao a absorber el plomo [19], como por ejemplo la contaminación por los gases emitidos por los automóviles, ya que el secado solar de las almendras del cacao se realiza en el paso cerca de las vías y a veces sobre el asfalto, o también por los equipos que trabajan con combustible durante la fabricación de derivados de cacao.

4. Conclusiones

Las harinas provenientes de las cascarillas de las variedades de cacao analizadas tienen niveles altos de ocratoxina según la norma INEN 616, sin embargo, no fue posible realizar una comparativa con la norma INEN 621 debido a que no establece límites para esta toxina.

Con relación a la presencia de plomo, los valores obtenidos en la harina proveniente de las cascarillas tanto del cacao CCN 51 como del cacao Nacional Arriba cumplen con los parámetros establecidos en la norma INEN 621.

Respecto al nivel de cadmio en la harina proveniente de las cascarillas del cacao CCN 51, el valor determinado supera el límite máximo según la norma INEN 616, mientras que, los niveles de cadmio y plomo obtenidos en la harina proveniente de las cascarillas del cacao Nacional Arriba sobrepasan los límites máximos establecidos en esta norma.

Por tanto, la harina proveniente de las cascarillas del cacao analizada en este estudio, se considera como un derivado de cacao y podrá ser comercializada según la norma INEN 621 para chocolates siempre y cuando se realizaran los análisis nutricionales correspondientes según las normas del país.

Dicha harina podrá ser considerada como una alternativa del uso de la cocoa o cacao en polvo para la elaboración de panes, pasteles o galletas de chocolate.

5. Referencias

- [1] ANECACAO. (s.f.). Recuperado el 11 de Junio de 2016, de <http://www.anecacao.com/index.php/es/estadisticas/estadisticas-actuales.html>.
- [2] Soto, M. (Marzo de 2012). Desarrollo del proceso de producción de cascarilla de semilla de cacao en polvo destinada al consumo humano. Obtenido de Tesis de grado, Universidad de Simón Bolívar: <http://159.90.80.55/tesis/000155680.pdf>
- [3] Okiyama, D., Navarro, S., Rodríguez, C. (2017). Cocoa shell and its compounds: Applications in the food industry. *Trends in Food Science & Technology, Volume 63*, 103-112.
- [4] Ramos, N., Castro, A., Juárez, J., De la Cruz, O., Rodríguez, N., Blancas, B., Escudero, J. y Navarro, A. (23 de Enero de 2017). Evaluación De Ocratoxina A En Theobroma Cacao L. Cacao Blanco” Durante El Proceso De Cosecha, Fermentado, Secado Y Almacenado. *Rev Soc Quím Perú*. Obtenido de SCIELO PERU: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v82n4/a05v82n4.pdf>
- [5] Lee, C. y Low, K. (1985). Determination of Cadmium, Lead, Copper and Arsenic in Raw Cocoa, Semifinished and Finished Chocolate Products. Obtenido de *Pertanika*, vol.8 N.2, Universiti Putra Malaysia: http://psasir.upm.edu.my/2305/1/Determination_of_Cadmium,_Lead,_Copper_and_Arsenic_in.pdf
- [6] Abreu, A., Armendáriz, C., Fernández, A. y De la Torre, A. (2011). La ocratoxina A en alimentos de consumo humano: revisión. *NUTRICIÓN HOPITALARIA*. ISSN 0212-1611, 1215-1226.
- [7] Razmilic, B. (1994). *CONTROL DE CALIDAD DE INSUMOS Y DIETAS ACUICOLAS- SPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA*. Obtenido de FAO: <http://www.fao.org/docrep/field/003/ab482s/ab482s04.htm>
- [8] Silva, P. (2012). Digestión en horno de microondas para determinación de contenido de hierro y zinc totales en alimentos. *Tecnología en Marcha, Vol. 25, N.º 3*, 96-100.
- [9] Copettia, M., Iamanaka, B., Nester, M., Efraim, P., Taniwaki, M. (2013). Occurrence of ochratoxin A in cocoa by-products and determination of its reduction during chocolate manufacture. *Food Chemistry, Volume 136, Issue 1.*, 100-104.
- [10] Bonilla, W. y Cazar, M. (Marzo de 2013). Análisis De Ocratoxina En Chocolate De Hoja Comercializado En Los Mercados De La Ciudad De Cuenca. Tesis De Maestría. Obtenido de UNIVERSIDAD DE CUENCA: <http://dspace.uazuay.edu.ec/bitstream/datos/2525/1/09713.pdf>
- [11] INEN. (2015). INEN 616. Obtenido de <http://www.normalizacion.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2015/02/n-te-inen-616-4.pdf>.
- [12] INEN. (2010). INEN 621. Obtenido de <http://normaspdf.inen.gob.ec/pdf/n-te/621.pdf>
- [13] Lo Dico, G., Galvano, F., Dugo, G., D'ascenzi, C., Macaluso, A., Vella, A., Giangrosso, G., Cammilleri, G., Ferrantelli, V. (15 de Abril de 2017). Toxic metal levels in cocoa powder and chocolate by ICP-MS method after microwave-assisted digestion. *FOOD CHEMISTRY, Volume 245.*, 1163-1168.
- [14] Page, A. El-Amamy, M y Chang, A. (2017). Cadmium in the Environment and its Entry into Terrestrial Food Chain Crops. En A. E.-A. Page, *Handbook of Experimental Pharmacology* (págs. 33-74). Springer. VENEZUELA. Saber, Universidad de Oriente, Venezuela. ISSN: 1315-0162, 106-115.
- [15] Lanza, J., Cesar, P., Liendo, N. y López, V. (2016). Evaluación Del Contenido De Metales Pesados En Cacao (Theobroma Cacao L.) de Santa Bárbara Del Zulia.
- [16] CODEX. (16-20 de Marzo de 2015). Anteproyecto De Niveles Máximos Para El Cadmio En El Chocolate Y Productos Derivados De Cacao. Obtenido de FAO: ftp://ftp.fao.org/codex/meetings/cccf/cccf9/cf09_06s.pdf
- [17] Rehman, S. y Husnain, S. (2012). Assessment of trace metal contents in chocolate samples. *Journal of Trace Element Analysis*, 1-11.
- [18] Crozier, J. (2013). Heavy Metals in Cocoa. Obtenido de CABI: <https://www.icco.org/sites/sps/documents/Cadmium%20Workshop/CABI.pdf>
- [19] Rankin, C., Nriagu, J., Aggarwal, J., Arowolo, T., Adebayo, K., y Flagal, A. (26 de Octubre de 2005). Lead Contamination in Cocoa and Cocoa Products: Isotopic Evidence of Global Contamination. Obtenido de *Environ Health Perspect*: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1281277/>