



FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL

DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

**“DETERMINACION DE ARSENICO, CADMIO Y PLOMO EN BARRAS DE
CHOCOLATE ADQUIRIDAS EN EL CENTRO COMERCIAL POLVOS
AZULES DE LIMA METROPOLITANA EN EL PERIODO ENERO –
FEBRERO 2016”**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

Presentado por:

Br. MIGUEL ANGEL VELAZQUE LEIVA

ASESOR:

Q.F. MANUEL GREGORIO HERNANDEZ AGUILAR

LIMA-PERÚ

2017

DEDICATORIA:

Esta tesis está dedicada a mi esposa, Rosalinda Tarazona Mejia e hija, Dasha Dafne Velazque Tarazona, las cuales me han apoyado en todo momento; además también a mis padres Moisés Velazque Ramírez y Carmen Leiva Benito, quienes siempre están apoyándome e inspirándome a ser mejor persona.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por permitirme poder seguir, aspirar y alcanzar mis metas y proyectos; además, estoy muy agradecido con mi Alma Mater por formarme en el profesional que me he convertido y a todos los docentes de esta facultad que me han brindado tanto.

ÍNDICE GENERAL

| | Pág. |
|--|-------------|
| DEDICATORIA | II |
| AGRADECIMIENTOS | III |
| ÍNDICE DE TABLAS | VIII |
| ÍNDICE DE FIGURAS | IX |
| RESUMEN | XI |
| SUMMARY | XII |
| | |
| INTRODUCCIÓN | 1 |
| I. EL PROBLEMA | 3 |
| 1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA | 3 |
| 1.2. OBJETIVOS | 3 |
| 1.2.1. Objetivo General | 3 |
| 1.2.2. Objetivos Específicos | 3 |
| 1.3. JUSTIFICACIÓN | 3 |
| 1.4. HIPÓTESIS | 4 |
| 1.4.1. Hipótesis General | 4 |
| 1.4.2. Hipótesis Específicas | 5 |
| 1.5. VARIABLES | 5 |
| 1.5.1. Variable Independiente | 5 |
| 1.5.2. Variable Dependiente | 5 |

| | |
|---|-----------|
| II. MARCO TEÓRICO | 7 |
| 2.1. ANTECEDENTES | 7 |
| 2.2. BASES TEÓRICAS | 8 |
| 2.2.1. EL CACAO | 8 |
| 2.2.1.1. Taxonomía | 8 |
| 2.2.1.2. Descripción botánica | 8 |
| 2.2.1.3. Aspectos del cultivo | 9 |
| 2.2.1.4. Clasificación del cacao | 10 |
| 2.2.1.5. Composición química | 11 |
| 2.2.1.6. Propiedades farmacológicas | 12 |
| 2.2.1.7. Usos y Aplicaciones | 14 |
| 2.2.1.8. Productos derivados del cacao | 14 |
| 2.2.1.9. El cacao en el Perú y el mundo | 17 |
| 2.2.2. NORMAS DE CALIDAD | 18 |
| 2.2.2.1. Normas Legales | 18 |
| 2.2.3. ARSENICO | 19 |
| 2.2.3.1. Toxicocinética | 19 |
| 2.2.3.2. Riesgo toxicologico | 21 |
| 2.2.4.CADMIO | 22 |
| 2.2.4.1. Características fisicoquímicas | 23 |
| 2.2.4.2. Usos y Aplicaciones | 23 |
| 2.2.4.3. Toxicocinética | 23 |
| 2.2.4.4. Toxicodinamia | 24 |
| 2.2.4.5. Manifestaciones clínicas | 26 |
| 2.2.4.6. Tratamiento | 26 |
| 2.2.5. PLOMO | 26 |

| | |
|--|-----------|
| 2.2.5.1. Características fisicoquímicas | 27 |
| 2.2.5.2. Usos y Fuentes de contaminación | 27 |
| 2.2.5.3. Toxicocinética | 27 |
| 2.2.5.4. Toxicodinamia | 29 |
| 2.2.5.5. Cuadro clínico | 31 |
| 2.2.5.6. Tratamiento | 32 |
| | |
| III. METODOLOGIA DEL ESTUDIO | 33 |
| 3.1. DISEÑO METODOLÓGICO | 33 |
| 3.1.1. Tipo de investigación | 33 |
| 3.1.2. Muestra | 33 |
| 3.1.3. Obtención de datos | 34 |
| 3.1.3.1. Recolección de muestras | 34 |
| 3.1.3.2. Método | 34 |
| 3.1.4. Técnica Operatoria | 42 |
| 3.1.4.1 Preparación de la muestra | 42 |
| 3.1.4.2. Determinación de arsénico | 43 |
| 3.1.4.3. Determinación de cadmio | 43 |
| 3.1.4.4. Determinación de plomo | 43 |
| | |
| IV. RESULTADOS | 44 |
| V. DISCUSIÓN | 56 |
| VI. CONCLUSIONES | 59 |
| VII. RECOMENDACIONES | 60 |
| VIII. GLOSARIO | 61 |
| IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 62 |

| | |
|--|-----------|
| X. ANEXOS | 68 |
| Anexo 1: hoja de datos para recolección de muestras | 68 |
| Anexo 2: reactivos, materiales y equipos | 69 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | Pág. |
|---|------|
| Tabla 1: Variables e Indicadores para Barras de Chocolate comercializados en el Centro Comercial Polvos Azules de Lima Metropolitana en el periodo de Enero – Febrero 2016..... | 6 |
| Tabla 2: Sustancias contenidas en la pepa de Cacao sin cáscara..... | 12 |
| Tabla 3: Comparación de la Toxicidad Aguda en los compuestos Arsenicales..... | 22 |
| Tabla 4: Parámetros para determinar Arsénico por Espectrometría de Absorción Atómica por Generación de Hidruros (FIAS)..... | 36 |
| Tabla 5: Calibración para el Arsénico..... | 37 |
| Tabla 6: Parámetros para determinar Cadmio por Espectrometría de Absorción Atómica por Horno de Grafito..... | 38 |
| Tabla 7: Calibración par el Cadmio..... | 39 |
| Tabla 8: Parámetros para determinar Plomo por Espectrometría de Absorción Atómica por Horno de Grafito..... | 40 |
| Tabla 9: Calibración para el Plomo..... | 41 |
| Tabla 10: Concentraciones de Arsénico (mg/kg) en barras de chocolate adquiridas en el Centro Comercial Polvos Azules en Lima Metropolitana en el periodo de Enero – Febrero 2016 vesus Codex Alimentarius..... | 44 |
| Tabla 11: Concentracion Promedio, Máximo y Mínimo de Arsénico (mg/kg) en barras de chocolate adquiridas en el Centro Comercial Polvos Azules en Lima Metropolitana en el periodo de Enero – Febrero 2016..... | 46 |
| Tabla 12: Concentraciones de Cadmio (mg/kg) en barras de chocolate adquiridas en el Centro Comercial Polvos Azules en Lima Metropolitana en el periodo de Enero – Febrero 2016 vesus Codex Alimentarius..... | 48 |
| Tabla 13: Concentracion Promedio, Máximo y Mínimo de Cadmio (mg/kg) en barras de chocolate adquiridas en el Centro Comercial Polvos Azules en Lima Metropolitana en el periodo de Enero – Febrero 2016..... | 50 |
| Tabla 14: Concentraciones de Plomo (mg/kg) en barras de chocolate adquiridas en el Centro Comercial Polvos Azules en Lima Metropolitana en el periodo de Enero – Febrero 2016 vesus Codex Alimentarius..... | 52 |

| | |
|---|----|
| Tabla 15: Concentracion Promedio, Máximo y Mínimo de Plomo (mg/kg) en barras de chocolate adquiridas en el Centro Comercial Polvos Azules en Lima Metropolitana en el periodo de Enero – Febrero 2016..... | 54 |
|---|----|

ÍNDICE DE FIGURAS

| | Pág. |
|---|------|
| Figura 1: Flujo de Producción de Productos derivados del Cacao..... | 15 |
| Figura 2: Metabolismo del Arsénico..... | 20 |
| Figura 3: Biotransformacion del Arsénico Inorganico..... | 21 |
| Figura 4: Toxicocinética del Cadmio..... | 25 |
| Figura 5: Ribete de Burton | 28 |
| Figura 6: Modelo Metabolico de Plomo en el ser Humano..... | 29 |
| Figura 7: Efectos del Plomo en la sintesis del Hem | 30 |
| Figura 8: Valores toxicos de Plomo en sangre..... | 31 |
| Figura 9: Curva de calibracion de Arsénico..... | 37 |
| Figura 10: Curva de calibracion de Cadmio..... | 39 |
| Figura 11: Curva de calibracion de Plomo..... | 41 |
| Figura 12: Concentraciones de Arsénico (mg/kg) en barras de chocolate adquiridas en el Centro Comercial Polvos Azules en Lima Metropolitana en el periodo de Enero – Febrero 2016..... | 45 |
| Figura 13: Concentraciones de Arsénico (mg/kg) en barras de chocolate adquiridas en el Centro Comercial Polvos Azules en Lima Metropolitana en el periodo de Enero – Febrero 2016 versus Codex Alimentarius..... | 47 |

| | |
|---|----|
| Figura 14: Concentraciones de Cadmio (mg/kg) en barras de chocolate adquiridas en el Centro Comercial Polvos Azules en Lima Metropolitana en el periodo de Enero – Febrero 2016..... | 49 |
| Figura 15: Concentraciones de Cadmio (mg/kg) en barras de chocolate adquiridas en el Centro Comercial Polvos Azules en Lima Metropolitana en el periodo de Enero – Febrero 2016 versus Codex Alimentarius..... | 51 |
| Figura 16: Concentraciones de Plomo (mg/kg) en barras de chocolate adquiridas en el Centro Comercial Polvos Azules en Lima Metropolitana en el periodo de Enero – Febrero 2016..... | 53 |
| Figura 17: Concentraciones de Plomo (mg/kg) en barras de chocolate adquiridas en el Centro Comercial Polvos Azules en Lima Metropolitana en el periodo de Enero – Febrero 2016 versus Codex Alimentarius..... | 55 |

RESUMEN

La presente tesis tiene por finalidad determinar las concentraciones de Arsénico (As), Cadmio (Cd) y Plomo (Pb) en barras de chocolate adquiridas en el Centro Comercial Polvos Azules de Lima Metropolitana. Se realizó la recolecta de marcas de chocolates comercializadas en el Centro Comercial Polvos Azules de Lima Metropolitana, teniendo un total de 10 muestras, los análisis se realizaron mediante el método de espectrofotometría de absorción atómica por generador de hidruro para el Arsénico y por horno de grafito para el Cadmio y Plomo. Las concentraciones de Arsénico vario desde 0,21 mg/kg hasta 0,47 mg/kg con un promedio de 0,30 mg/kg, las concentraciones de Cadmio vario desde 0,21 mg/kg hasta 0,57 mg/kg con un promedio de 0,34 mg/kg y las concentraciones de Plomo vario desde 0,15 mg/kg hasta 0,28 mg/kg con un promedio de 0,20 mg/kg. Se concluye que el 100% de las muestras de barras de chocolate adquiridas en el centro comercial de Polvos Azules de Lima Metropolitana en el periodo de Enero – Febrero 2016 contienen concentraciones de Arsénico, Cadmio y Plomo; y no superan la concentración máxima permisible establecida por el Codex Alimentario (1 mg/kg), para cada uno de estos.

Palabras clave:

Metales pesados, Arsénico, Cadmio, Plomo, Chocolate.

SUMMARY

The present thesis aims to determine the concentrations of Arsenic (As), Cadmium (Cd) and Lead (Pb) in bars of chocolate purchased at the Polvos Azules Shopping Center in Metropolitan Lima. The collection of brands of chocolates marketed at the Polvos Azules Shopping Center in Metropolitan Lima was carried out, with a total of 10 samples. The analyzes were carried out using the atomic absorption spectrophotometry method by hydride generator for Arsenic and by graphite furnace for Cadmium and Lead. Concentrations of Arsenic varied from 0,21 mg / kg to 0,47 mg / kg with an average of 0,30 mg / kg, the concentrations of Cadmium varied from 0,21 mg / kg to 0,57 mg / kg with an average of 0,34 mg / kg and concentrations of Lead varied from 0,15 mg / kg to 0,28 mg / kg with an average of 0,20 mg / kg. It is concluded that 100% of the samples of chocolate bars purchased at the Polvos Azules shopping center in Lima in the period January - February 2016 contain concentrations of Arsenic, Cadmium and Lead; and do not exceed the maximum permissible concentration established by the Codex Alimentarius (1 mg / kg), for each of these.

Keywords:

Heavy metals, arsenic, cadmium, lead, chocolate

INTRODUCCIÓN

Múltiples estudios demuestran una amplia gama de beneficios del consumo de derivados de cacao sobre la salud humana, siendo el más difundido el chocolate en sus diversas presentaciones. Evidentemente, estamos hablando de un chocolate con el contenido mínimo de cacao indicado por las normas establecidas, libre de contaminantes y sin aditivos que inhiban sus propiedades. Además, el chocolate es considerado como un alimento, es nutricionalmente completo, porque contiene aproximadamente 30% de materia grasa, 6% de proteínas, 61% de carbohidratos, y 3% de minerales (fósforo, calcio, hierro), asimismo aporta vitamina A y complejo B. La materia grasa del chocolate es la manteca de cacao, la que contiene 35% de ácido oleico, 35% de ácido esteárico, y 25% de ácido palmítico. El 5% restante está formado por diversos ácidos grasos de cadena corta cuya composición es típica de las diferentes almendras de cacao.

En los últimos años se ha incrementado la demanda de cacao con el consiguiente incremento en las exigencias de calidad. Dentro de los componentes de la calidad en el cacao, Las concentraciones de Arsénico, Cadmio y Plomo han adquirido mucha importancia, principalmente porque la mayoría de los productos a base de chocolate van dirigidos a niños. En la actualidad se sabe que estos metales pesados pueden llegar a contaminar los alimentos ya sea, porque contaminan las plantaciones o por el proceso de fabricación al que son sometidos, es así que el chocolate como producto derivado del cacao puede llegar a contener cantidades elevadas de Arsénico, Cadmio y Plomo, los cuales pueden ocasionar daños severos a la salud lo que representa un riesgo para el consumo humano.

Los principales riesgos del Arsénico, Cadmio y Plomo son su toxicidad ya que afecta prácticamente a todos los órganos y sistemas del organismo; se sabe también que para el desarrollo de una intoxicación por estos metales, no es necesaria una exposición aguda importante, porque el organismo acumula estos metales durante toda la vida y lo libera lentamente, por lo que incluso dosis pequeñas pueden producir, con el transcurso del tiempo, una intoxicación, pues de las cargas corporales totales de Arsénico, Cadmio y Plomo depende el riesgo

de presentarse efectos tóxicos; resultando entonces necesario conocer en términos cuantitativos su presencia.

Existen entidades reguladoras con la finalidad de proteger la salud de la población y de los consumidores, estos establecen los niveles máximos permisibles para determinados contaminantes, la Comisión del Codex Alimentarius establece las concentraciones máximas permisibles de Arsénico, Cadmio y Plomo, las cuales son de 1 mg/Kg para los 3 metales en chocolates.

El Codex Alimentarius se basa en principios científicos. Expertos y especialistas independientes de una gran variedad de disciplinas han contribuido a la labor de garantizar que sus normas resistan el examen científico más riguroso. La labor de la Comisión del Codex Alimentarius junto con la FAO y la OMS en sus funciones de apoyo, han proporcionado un centro de coordinación para la investigación científica y el estudio de cuestiones relacionadas con los alimentos, y la propia Comisión se ha convertido en un importante medio internacional para el intercambio de información científica en materia de inocuidad de los alimentos.

Se ha realizado estudios en los cuales se determinaron los niveles de metales pesados en el cacao en distintos países. En el presente trabajo se realizó un estudio, con el fin de determinar las concentraciones de Arsénico, Cadmio y Plomo en barras de chocolate adquiridas en el Centro Comercial Polvos Azules de Lima Metropolitana, luego comparar los resultados con las concentración máxima permisible establecida por el Codex Alimentarius, de esta manera saber a qué concentraciones de Arsénico, Cadmio y Plomo se expone la población que consume este producto.

I. EL PROBLEMA

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:

¿Cómo determinar la concentración de Arsénico, Cadmio y Plomo en barras de chocolate adquiridas en el Centro Comercial Polvos Azules de Lima Metropolitana en el periodo de Enero – Febrero 2016?

1.2. OBJETIVOS:

1.2.1. Objetivo General:

- ✓ Determinar las concentraciones de Arsénico, Cadmio y Plomo en barras de chocolate adquiridas en el Centro Comercial Polvos Azules de Lima Metropolitana en el periodo Enero – Febrero 2016.

1.2.2. Objetivos Específicos:

- ✓ Determinar la concentración de Arsénico en barras de chocolate adquiridas en el Centro Comercial Polvos Azules de Lima Metropolitana en el periodo Enero – Febrero 2016.
- ✓ Determinar la concentración de Cadmio en barras de chocolate adquiridas en el Centro Comercial Polvos Azules de Lima Metropolitana en el periodo Enero – Febrero 2016.
- ✓ Determinar concentración de Plomo en barras de chocolate adquiridas en el Centro Comercial Polvos Azules de Lima Metropolitana en el periodo Enero – Febrero 2016.

1.3. JUSTIFICACIÓN:

Se conoce de la acumulación de metales pesados en suelos y cultivos como resultado de la presencia de agroquímicos y contaminantes ambientales producto de las actividades industriales y quema de combustibles, dentro de esto el cacao no es la excepción.

El chocolate puede contener metales pesados en su composición final, esto es debido a que durante el proceso de fabricación, el cacao puede estar expuesto a estos metales, sobre todo por el arsénico, cadmio y plomo que pueden estar presentes en el suelo donde se cultiva, por la aplicación de fertilizantes y otros aditivos para los suelos, el tratamiento post cosecha, transporte, almacenamiento y la molienda.

Actualmente no sólo se busca que un alimento cumpla con su calidad en cuanto a las características organolépticas sino también calidad en cuanto a su composición, esto incluye que se encuentre libre de contaminantes, dentro de ellos los metales pesados como Arsénico, Cadmio y Plomo. Es así que la Comisión del Codex Alimentarius estableció las concentraciones máximas permisibles de Arsénico, Cadmio y Plomo para el chocolate, las cuales son de 1 mg/Kg para cada uno de los metales (As, Cd y Pb).

Teniendo en cuenta que el chocolate es un alimento de alto consumo que puede contener cantidades considerables de metales pesados, que afectarían la salud del consumidor, el presente trabajo tiene por finalidad dar a conocer las concentraciones de Arsénico, Cadmio y Plomo que contienen las barras de chocolate adquiridas en el Centro Comercial Polvos Azules de Lima Metropolitana en el periodo Enero – Febrero 2016 para luego compararlas con las concentraciones máximas permisibles establecidas por el Codex Alimentarius para Arsénico, Cadmio y Plomo.

1.4. HIPÓTESIS:

1.4.1. Hipótesis General:

- ✓ Las barras de chocolate adquiridas en el Centro Comercial Polvos Azules de Lima Metropolitana en el periodo Enero – Febrero 2016 contienen y superan las concentraciones máximas permisibles de Arsénico, Cadmio y Plomo, establecidas por el Codex Alimentarius.

1.4.2. Hipótesis Específicas:

- ✓ Las barras de chocolate adquiridas en el Centro Comercial Polvos Azules de Lima Metropolitana en el periodo Enero – Febrero 2016 contienen y superan la concentración máxima permisible de Arsénico establecida por el Codex Alimentarius.
- ✓ Las barras de chocolate adquiridas en el Centro Comercial Polvos Azules de Lima Metropolitana en el periodo Enero – Febrero 2016 contienen y superan la concentración máxima permisible de Cadmio establecida por el Codex Alimentarius.
- ✓ Las barras de chocolate adquiridas en el Centro Comercial Polvos Azules de Lima Metropolitana en el periodo Enero – Febrero 2016 contienen y superan la concentración máxima permisible de Plomo establecida por el Codex Alimentarius.

1.5. VARIABLES:

1.5.1. Variable Independiente:

Las Barras de chocolate adquiridas en el Centro Comercial Polvos Azules de Lima Metropolitana en el periodo Enero – Febrero 2016.

1.5.2. Variable Dependiente:

Las concentraciones de Arsénico, Cadmio y Plomo.

Tabla N°1: Variables e indicadores para barras de chocolate comercializadas en el Centro Comercial Polvos Azules de Lima Metropolitana en el periodo Enero – Febrero 2016.

| VARIABLES | INDICADORES |
|-------------------------------------|--|
| VARIABLE INDEPENDIENTE | |
| ✓ Barras de Chocolate | Comercializadas en el Centro Comercial Polvos Azules de Lima Metropolitana en el periodo Enero – Febrero 2016. |
| VARIABLE DEPENDIENTE | |
| ✓ Concentración de arsénico. | ➤ CODEX ALIMENTARIO: (1mg/kg). ⁽¹⁾ |
| ✓ Concentración de cadmio. | ➤ CODEX ALIMENTARIO: (1mg/kg). ⁽¹⁾ |
| ✓ Concentración de plomo. | ➤ CODEX ALIMENTARIO: (1mg/kg). ⁽¹⁾ |

II. MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES:

En la India, en el año 2005 se determinaron níquel, plomo y cadmio contenidos en 69 diferentes marcas de chocolates y caramelos disponibles en los mercados locales de las zonas suburbanas de Mumbai, India. La mayoría de estos chocolates y dulces están hechos principalmente de los sólidos de cacao, leche, frutas secas, sabores de fruta y azúcar. De las 69 marcas de chocolates y caramelos analizados, 23 fueron a base de cacao, 22 a base de leche y otros 24 eran de sabor a frutas y de base de azúcar. La concentración de cadmio varió desde 0,001 mg/Kg hasta 0,273 mg/Kg con un promedio de 0,105 mg/Kg y la concentración de plomo varió desde 0,049 mg/Kg hasta 0,804 mg/Kg con un promedio de 0,393 mg/Kg. Chocolates a base de cacao se encuentra que tienen un mayor contenido de metales pesados analizados que los chocolates a base de leche, dulces de sabor o a base de azúcar de la fruta. ⁽²⁾

En Nigeria en el año 2011, se realizó un estudio sobre determinación de las concentraciones de metales (Cd, Ni, Cr, Cu, Pb, Mn, Zn, Fe y Co) en dulces y chocolates que se consumen en el sur de Nigeria. Las concentraciones medias de metales en ambas confiterías oscilaron desde; 0,001 mg/Kg - 0,2 mg/Kg para el cadmio; y 0,08 mg/Kg - 2,3 mg/Kg para el plomo. ⁽³⁾

En Honduras en el año 2011, se realizó un estudio preliminar de niveles de cadmio y plomo en cacao hondureño, como resultado de la demanda de productos alimenticios inocuos en el mercado internacional. Se recolectó un total de 98 muestras de semilla y 83 de suelos en los departamentos de Atlántida, Cortés, Yoro, Colón, Gracias a Dios, Santa Bárbara y Olancho. Las muestras fueron analizadas en el Laboratorio Químico Agrícola de la fundación hondureña de investigación agrícola (FHIA). El 83,7% de las muestras de semilla estuvieron por debajo de 0,1 mg de plomo/kg y 6,1% estuvo arriba de 2 mg de plomo/kg. El 42,8% de las muestras de semilla tuvieron concentraciones arriba de 0,4 mg de cadmio/kg, niveles relativamente altos considerando los límites establecidos por la

Unión Europea para productos de cacao. Los suelos no muestran concentraciones particularmente altas de ninguno de los dos metales. ⁽⁴⁾

En Perú en el año 2012 se realizó un trabajo de investigación para determinar la presencia de metales pesados en el cultivo de cacao (*Theobroma cacao L.*) orgánico, se evaluaron los contenidos de cadmio y plomo en suelos y hojas del cacao en la región Huánuco y Ucayali. Para el efecto se recolectaron y analizaron en laboratorio muestras tomadas en 22 parcelas con cultivos orgánicos de esta especie, 17 en la región Huánuco y 5 en la región Ucayali. Se realizaron análisis de correlación de Pearson entre los contenidos de plomo y cadmio disponibles en el suelo con variables foliares (P, Mg, Ca, Zn, Cd, Pb) y del suelo (arena, arcilla y K). En los suelos, sólo en el caso de potasio se presentan deficiencias; mientras que en el tejido foliar se presentaron deficiencias de N, P, K, Mg y Zn. Los valores promedio de cadmio y plomo disponible en los suelos fueron 0,53 mg/Kg y 3,02 mg/Kg y en las hojas de cacao de 0,21 mg/Kg y 0,58 mg/Kg respectivamente. ⁽⁵⁾

2.2. BASES TEÓRICAS:

2.2.1. EL CACAO:

2.2.1.1. Taxonomía:

A) Familia: *Sterculiaceae*

B) Género: *Theobroma*

C) Especie: *Theobroma cacao L.*

D) Nombres comunes: “Bakau” (v. aguaruna-huambisa); “Cacahua”(v. pano); “Cacahua caspi”(v. quechua); “Cacachuillo”; “Cacao”; “Cacao arisco”; “Cacao común”; “Cacao criollo”; “Cacao dulce”; “Cacao silvestre”; “Canga” (v. piro); “Chocolate” (Inglés); “Cocoa”; “Turanqui” (v. shipibo); y “Turanti” (v. conibo).^(6,7,8,9)

2.2.1.2. Descripción Botánica:

El cacao es un árbol que alcanza 8 metros a 10 metros de altura, con flores que nacen directamente del tronco o de grandes ramas. Hojas grandes, simples, enteras, angostamente elípticas, acuminadas, de 10 cm a 20 cm de largo por 5

cm a 12 cm de ancho, borde con márgenes enteros y ondulados, haz de color verde más oscuro que el envés. Las flores son pequeñas, de cáliz rosado profundamente partido o lobulado en cinco pétalos amarillo pálido de 2,5 mm a 3mm de longitud que se abren en forma de estrella, cinco estambres fértiles, opuesto a los cinco sépalos color rosado de 5 mm a 6 mm de longitud; ovario sésil, ovoide, glabro, de 2 mm de longitud. Fruto voluminoso e indehiscente que mide entre 15 cm a 20 cm de longitud y 10 cm a 12 cm de anchura, con pared coriácea de coloración amarilla que pasa a rojo en la madurez, marcado con costillas longitudinales verrucosas y está sostenido por un pedúnculo fuerte. Cada fruto contiene de 20 semillas a 40 semillas ovoides y achatadas de 10 mm a 26 mm de largo por 7 mm a 18 mm de ancho, rodeadas por una pulpa blanca de sabor dulce. ^(7,8,9)

2.2.1.3. Aspectos del cultivo:

A) Hábitat:

El cultivo del cacao es delicado, necesita un suelo rico en nitrógeno y potasio, temperatura media de unos 24°C y humedad constante, con una precipitación anual de 1,500 mm – 2,000 mm. La temperatura influirá en el número de flores que tendrá el árbol ya que cuanto más elevada sea, más flores tendrá. Se reproducen por semillas sembradas directamente en el lugar en que se van a desarrollar o en semilleros, protegiendo a las plantas jóvenes del viento y exceso de luz. La altura de los árboles se reduce hasta 4 metros a 5 metros para facilitar la recolección. ^(6,10,11,12)

B) Época de floración y recolección:

La floración es de diciembre a enero y la recolección entre junio y julio. ⁽¹¹⁾

Aunque cada árbol da hasta seis mil flores, fructifican menos del 1%, produciendo de veinte frutos a cuarenta frutos por año cada árbol. Pueden verse simultáneamente flores y frutos de distinto tamaño en un árbol. El ciclo del árbol dura unos 30 años, pudiéndose realizar la primera recolección a los 3 años a 4 años, realizándose posteriormente dos recolecciones anuales. ^(7,10)

Cosechados los frutos, se abren, y la pulpa y semillas se echan en tanques en los que se deja fermentar la primera durante 5 días a 6 días.⁽⁷⁾

C) Enfermedades del cultivo de cacao:

Las enfermedades más frecuentes y de mayor importancia a nivel mundial son: La Mazorca negra (causada por varias especies de *Phytophthora*), la Escoba de bruja (causada por *Crinipellis pernicioso*) y la Moniliasis (causada por el hongo *Moniliophthora roreri*).⁽¹³⁾

D) Sustancias dañinas:

➤ **Metales pesados:**

La planta de cacao absorbe ligeramente los metales pesados que existen por naturaleza en los suelos y los concentra en las semillas grasosas. Según la región de cultivo, el grado de concentración de metales pesados es diferente. Las primeras investigaciones sistemáticas sobre el contenido de cadmio en cacao y productos de cacao se realizaron en 1979. Las investigaciones del año 1983 arrojaron coeficientes de 0,06 mg/Kg a 0,16 mg/Kg para variedades de consumo provenientes de Brasil (Bahía), Ghana, Costa de Marfil, Camerún y Nigeria. En algunas variedades finas los coeficientes oscilaron entre 0,66 mg/Kg y 2,60 mg/Kg (Granadina, Malasia, Trinidad, Venezuela, Ecuador). El contenido de plomo en la pepa osciló entre 0,10 mg/Kg y 0,85 mg/Kg.^(12,14)

➤ **Insecticidas:**

En muchas regiones de cultivo de cacao se emplearon hidrocarburos clorados como el DDT en el control de plagas durante los años 70. A consecuencia de ello se pueden detectar todavía los efectos de tales elementos.⁽¹²⁾

2.2.1.4. Clasificación del cacao:

A) Clasificación botánica del cacao: Desde el punto de vista botánico o genético, la especie *Theobroma cacao* L. puede clasificarse como sigue (Centro de Comercio Internacional UNCTAD/GATT, 1991):

- **Cacao Criollo:** Corresponde a una planta de poco vigor y bajo rendimiento, destacándose la alta calidad de sus semillas. Este tipo de cacao posee un cotiledón de color entre marfil pardusco y castaño muy claro, con un olor de cacao dulce unido a un aroma delicado característico. ⁽¹³⁾
- **Cacao Forastero:** Tiene el fruto rugoso, con semillas muy abundantes, de color púrpura y aplastadas; es de larga vitalidad y gran rendimiento. Se caracteriza por ser de mayor tolerancia a las enfermedades que el cacao criollo. Representa aproximadamente un 95% de la producción mundial, proveniente de los países de África Occidental y Brasil. ^(7,13)
- **Cacao Trinitario:** Es más resistente y productivo que el cacao “Criollo” pero de inferior calidad. Es el resultado del cruce entre el cacao “Forastero” y el “Criollo”. Es producido en Granada, Jamaica, Trinidad y Tobago, Colombia, Venezuela y América Central. ⁽¹³⁾

B) Clasificación comercial del cacao:

Desde el punto de vista comercial e industrial, en el mercado mundial generalmente se clasifican los granos de cacao en dos categorías:

- **Cacao ordinario:** Son considerados los granos producidos por el cacao tipo “Forastero”; éstos son utilizados en la fabricación de manteca de cacao y de productos que tengan una elevada proporción de chocolate. ⁽¹³⁾
- **Cacao fino o de aroma:** Corresponden a los granos de cacao “Criollo” y “Trinitario”. Éste es utilizado usualmente en mezclas con granos ordinarios para producir sabores específicos en los productos terminados. Los granos correspondientes a esta categoría dan características específicas de aroma o color en chocolates finos de revestimientos o capas de cobertura. ⁽¹³⁾

2.2.1.5 Composición química:

La almendra representa el 85 % - 90% del peso de la semilla, siendo su contenido en lípidos de unos 50%, principalmente constituidos por glicéridos de los ácidos

esteárico, palmítico y oleico, variando poco su constitución en relación con el origen geográfico. Los alcaloides están representados por teobromina (1% - 2%) y cafeína (0,05% - 0,3%).^(10,15)

Entre los metabolitos primarios, en 100g de la almendra se encuentran: proteínas 4,4 g, grasas 30 g, calcio 130 mg, fósforo 500 mg, hierro 5,8mg, caroteno (pro-Vitamina A) 40mg, tiamina (Vitamina B₁), 0,18mg, riboflavina (Vitamina B₂) 0,16mg, niacina 1mg, ácido ascórbico 3mg y biotina (Vitamina H).^(9,15)

Tabla 2: Sustancias contenidas en la pepa de cacao sin cáscara.⁽¹⁶⁾

| Sustancia contenida | Porcentaje |
|---|-------------------|
| Agua | 5% – 6% |
| Sustancias nitrogenadas | 14% |
| Grasas | 53% |
| Almidón | 7% – 10% |
| Taninos | 5% – 6 % |
| Ácidos orgánicos | 2% – 3 % |
| Pentosana (poli azúcares) | 1,5 % |
| Fibras brutas | 4 % |
| Ceniza (minerales) | 3 % |
| Fostatidas (Sustancia similar a la grasa) | 0,3% – 0,5% |
| Teobromina | 1% – 2 % |
| Cafeína | 0,2 % |

Fuente: Augstburger F, Berger J, Censkowsky U. Agricultura Orgánica en el Trópico y Subtrópico: Producción Orgánica de Cacao; 2000.

2.2.1.6. Propiedades farmacológicas:

La teobromina desempeña una función esencial a nivel cardíaco y respiratorio. Es, en efecto, un alcaloide que estimula los músculos lisos así como las funciones renales y que mejora la actividad muscular. La teobromina actúa, así mismo, acelerando la transmisión del influjo nervioso y reduciendo el tiempo de reacción

en el procedimiento de estimulación de los nervios periféricos. Contribuyendo pues a la facilitación del esfuerzo cardiaco, la teobromina posee, además, una propiedad broncodilatadora que permite optimizar el volumen respiratorio. ⁽¹¹⁾

La cafeína estimula el cerebro al interferir en la acción de la adenosina, un transmisor nervioso que produce calma y tranquilidad y provoca una sensación de euforia y de fuerza durante algunas horas. También facilita la actividad intelectual y la creatividad, al mantener despierto y en estado de alerta a su consumido. Todo esto ocurre junto con un incremento de los niveles de adrenalina y noradrenalina, que son neurotransmisores activadores. Sobre el sistema cardiovascular, la cafeína desarrolla un efecto inotrope positivo, taquicardia y aumento del débito cardiaco, un ligero efecto vasodilatador periférico y una discreta actividad diurética. ^(13,17)

➤ **Estudios Realizados:**

Los investigadores de la Escuela de Medicina Hull York hallaron resultados sorprendentes sobre los efectos del chocolate amargo en la serotonina del cerebro. Estos afirman que el chocolate, en dosis moderadas, combate el síndrome de fatiga crónica, que se caracteriza por una fatiga muscular profunda luego del esfuerzo físico extremo. ⁽¹⁸⁾

En un estudio realizado el año 2008, se evaluó la eficacia del consumo diario de una barra de chocolate que contiene flavonoides y esteroides vegetales sobre el perfil lipídico, la presión arterial y otros marcadores de la salud cardiovascular en una población con niveles séricos de colesterol elevados. Los resultados indican que el consumo regular de una barra de chocolate oscuro que contiene flavonoides del cacao y esteroides vegetales como parte de una dieta baja en grasas puede disminuir significativamente los niveles de colesterol en sangre. ⁽¹⁹⁾

Scholey A. y Owen L. en el año 2013, realizaron una revisión sistemática para evaluar si el chocolate o sus componentes eran capaces de influir en la función cognitiva y/o estado de ánimo. También se incluyeron los estudios que investigan las fracciones potencialmente psicoactivos de chocolate. Ocho estudios (en seis artículos) cumplieron los criterios de inclusión para la evaluación de chocolate o

de sus componentes en el estado de ánimo, de los cuales cinco mostraron una mejora, ya sea en el estado de ánimo o una atenuación de estado de ánimo negativo. En cuanto a la función cognitiva, ocho estudios (en seis artículos) cumplieron los criterios de inclusión, de los cuales tres revelaron evidencia clara de la mejora cognitiva. ⁽²⁰⁾

2.2.1.7. Usos y Aplicaciones:

Con el jugo fresco de la pulpa de cacao, que se obtiene durante su procesamiento, se pueden elaborar gelatinas o también bebidas alcohólicas y vinagre, previa fermentación. ⁽¹²⁾

Las semillas de la planta de cacao se utilizan en primer lugar en la elaboración de chocolates, bebidas chocolatadas y diversos dulces. ^(10,11,12)

En la industria cosmética, en la elaboración de lápices labiales, jabones y perfumes. ^(10,11,12)

2.2.1.8. Productos derivados del cacao:

A) Licor de chocolate:

El licor de chocolate contiene aproximadamente un 55% de grasa, un 17% de carbohidratos, un 11% de proteínas, un 6% de taninos, un 3% de cenizas, un 2,5% de ácidos orgánicos, un 1,5% de teobromina y trazas de cafeína. ^(21,22)

B) Manteca de cacao:

La grasa de cacao obtenida a partir del licor de chocolate se denomina manteca de cacao. ^(21,22)

C) Torta de cacao:

Su contenido graso puede modificarse mediante el control de las condiciones de prensado. ^(21,22)

D) Chocolate:

Según la Norma Técnica Peruana (NTP – INDECOPI) se puede denominar chocolate al alimento que tenga un mínimo de 35% de extracto seco total de cacao en su composición, del cual un 18% como mínimo sea manteca de cacao (mantequilla de cacao) y un 14% materia seca de cacao (pasta de cacao).⁽²³⁾ Para el chocolate con leche deberá tener un mínimo de 25% de extracto seco total de cacao.⁽²³⁾

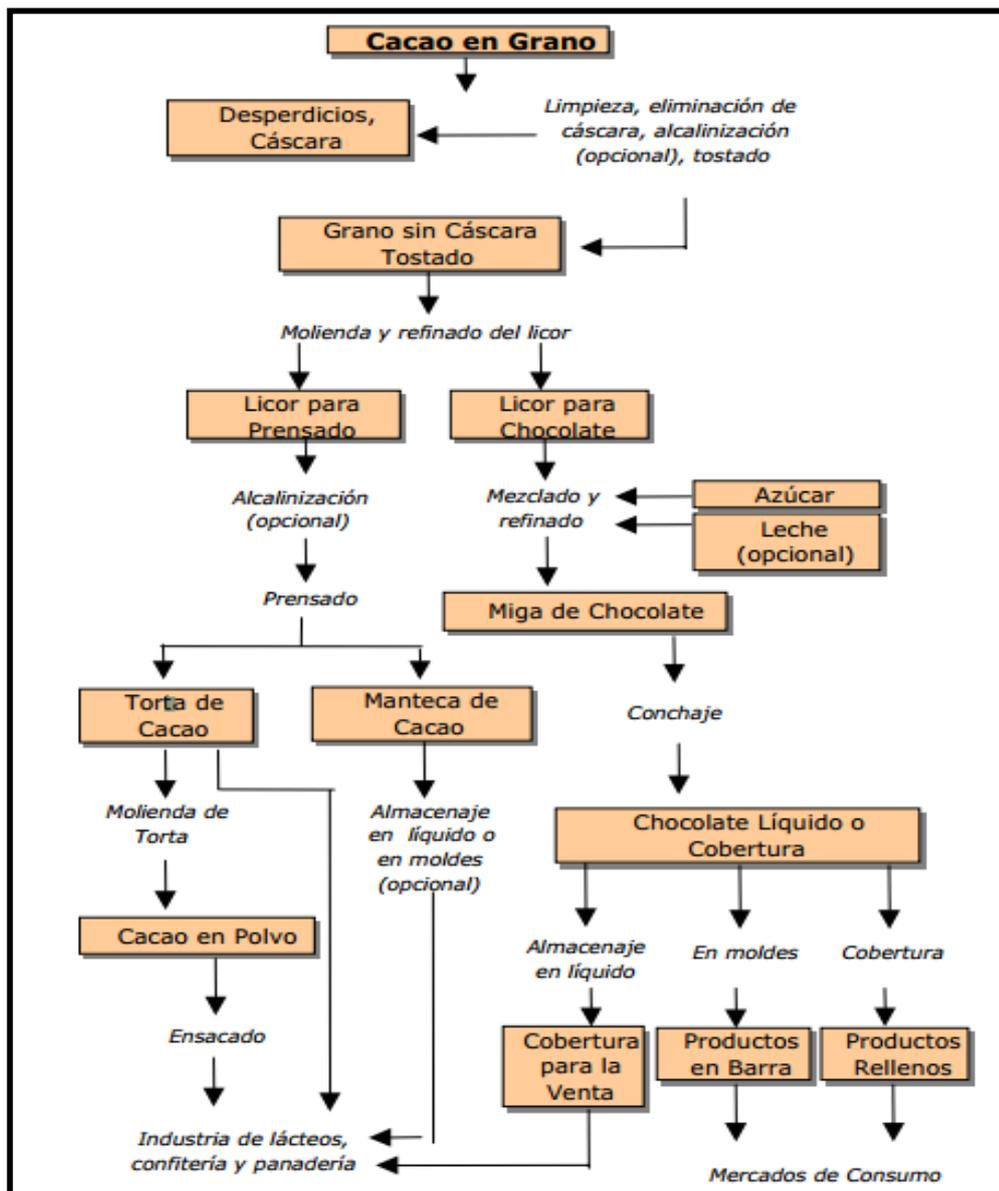


Figura 1: Flujo de Producción de Productos derivados del Cacao.⁽²⁴⁾

Fuente: Perfil de Mercado y competitividad exportadora del Cacao. Mincetur.gob.pe

D.1) Tipos de chocolates según su composición:

- ✓ **Chocolate Negro:** El chocolate negro es el chocolate con alto contenido de cacao puro (65% - 90%), sin leche y con bajo porcentaje de azúcar. ⁽²⁵⁾
- ✓ **Chocolate de cobertura:** Es un tipo de chocolate muy rico en manteca de cacao (32%) por lo que es apto para fines de cobertura.^(6,22)
- ✓ **Chocolate con Leche:** Contiene un 35% de pasta de cacao, con la adición de azúcares y de los siguientes productos lácteos: leche en polvo, leche condensada, leche evaporada, crema de leche, o grasa láctea anhidra.^(6,22)
- ✓ **Chocolate Blanco:** Es aquel que utiliza solamente la manteca de cacao combinada con azúcar en polvo y leche.^(6,22)
- ✓ **Chocolate compuesto:** Es aquel producto al que se le incorpora productos alimenticios naturales o procesados, debidamente autorizados, con excepción de harinas, almidones y grasa, salvo que estén incluidos en los ingredientes permitidos ⁽²²⁾
- ✓ **Chocolate gianduja:** Es el producto obtenido de la mezcla de un chocolate con un contenido mínimo de extracto seco total de cacao del 32% (incluido un contenido mínimo de extracto seco desengrasado de cacao del 8%) con sémola fina de avellana, almendra o maní mínimo 20% respecto al producto final. ⁽²²⁾
- ✓ **Chocolate para taza:** Se caracteriza por estar elaborado a partir de la pasta de cacao y algún espesante que suele ser fécula, como la harina de maíz. ⁽⁶⁾

D.2) Tipos de chocolates según sus formas:

- ✓ **Chocolate en grano y chocolate en copos/ojuelas:**

El chocolate en grano se presenta en forma de granos cilíndricos cortos, y el chocolate en escamas, en forma de trozos pequeños y planos. Estos tipos de

chocolates no deberán contener menos del 32% del extracto seco total de cacao, del cual al menos el 12% de manteca de cacao y el 14% de extracto seco magro de cacao. ⁽¹⁾

✓ **Chocolate relleno:**

El centro o interior podrá contener sustancias alimenticias de uso permitido, con o sin aromatizantes o colorantes permitidos. La parte de chocolate del revestimiento debe representar al menos el 25% del peso total del producto. ^(1,22)

✓ **Bombones de chocolate:**

Son los productos del tamaño de un bocado y tienen diferentes formas, en los cuales la cantidad del componente de chocolate no deberá ser inferior al 25% del peso total del producto. ^(1,22)

2.2.1.9. El Cacao en el Perú y el mundo:

La Cadena de Cacao - Chocolate, es actualmente una de las que ha tomado mayor dinamismo tanto comercial, como en su marco de desarrollo institucional, de la mano de alianzas entre el sector público y privado. Tanto las organizaciones de productores, su representación nacional APPCACAO, y la industria de derivados y productos finales del grano de cacao, han crecido en cuanto a volúmenes de producción y exportación. Cabe señalar que el Perú ya es reconocido por la Organización Mundial del Cacao como proveedor de cacao fino y de aroma a los mercados más exigentes del Mundo. ^(25,26)

Las principales zonas productoras de cacao son: el Valle de Urubamba en La Convención y Lares, Quillabamba (Cusco); Valle del Río Apurímac-Ene (Ayacucho); Tingo María (Huánuco); Satipo (Junín); Jaén, Bambamarca y San Ignacio (Cajamarca); Bagua y Alto Marañón (Amazonas). El departamento que tradicionalmente concentra la mayor producción de cacao es Cusco con una participación de 33,1% del total, seguido por Ayacucho 22,3%, Amazonas 12,6% y Junín 9,9%. Estos cuatro departamentos concentran el 78% de la producción nacional. ^(25,26)

El Perú es el segundo productor mundial de cacao orgánico, alberga el 60% de las variedades de cacao que existen en el mundo, y es poseedor de una increíble diversidad y variabilidad genética, informó el Ministerio de Agricultura. ^(25,26)

2.2.2. NORMAS DE CALIDAD:

Las características de calidad del chocolate son el sabor, olor, pureza, porcentaje de manteca de cacao y el grado de humedad. Además las materias primas para la elaboración de los chocolates, deberán ser sanas y limpias; y los residuos de pesticidas, plaguicidas y otras sustancias tóxicas como los metales pesados no están regulados en el Perú, aplicándose por ende los límites máximos permisibles por el Codex alimentario y el FDA. ^(1,12,22)

2.2.2.1. NORMAS LEGALES:

A) Normativas que establecen los requisitos que deben cumplir los chocolates:

Codex Alimentario (CODEX STAN 87-1981, Rev.1-2003). Norma para el chocolate y los productos del chocolate: El límite máximo permitido de Arsénico (As), Cadmio (Cd) y Plomo (Pb) para el chocolate y los productos del chocolate (1mg/ Kg). ⁽¹⁾

B) Normativas que establecen los métodos para la determinación de plomo y cadmio en productos de cacao:

- ✓ **Norma Técnica Peruana (NTP 208.030: 2012). 2^{da} edición. Productos de Cacao. Determinación de arsénico, plomo, cadmio, cobre, hierro y zinc.:** El método para la determinación de Cadmio y Plomo en cacao y productos de cacao es mediante espectrofotometría de absorción atómica con horno de grafito y para la determinación de Arsenico, en cacao y productos de cacao, es mediante espectrofotometría de absorción atómica por formación de hidruros (FIAS) ⁽²³⁾

2.2.3. ARSÉNICO:

Es un metaloide que puede presentarse en tres estados alotrópicos: gris, negro y amarillo. El más estable es el gris, como una masa cristalina, de aspecto metálico, brillante y frágil. De color negro es un polvo amorfo que a 360°C se convierte al estado gris. El arsénico amarillo es una forma cristalina meta - estable que se oxida a temperatura ambiente por la acción del aire y revierte al estado gris por la acción de la luz. Los compuestos más utilizados en la industria son el anhídrido arsénico, arseniato de calcio, tricloruro de arsénico y los arsenitos. El arsénico es soluble en agua y en ácidos fuertes. ^(27,28)

2.2.3.1. Toxicocinética del Arsénico

Absorción

Los datos en los humanos y en los animales indican que el arsénico se absorbe en pocas horas por encima del 90% de la dosis ingerida si el arsénico inorgánico está disuelto (tri o pentavalente). En el caso del trióxido de arsénico, que es ligeramente soluble en agua, la absorción gastrointestinal es más lenta y depende del tamaño de partícula y del pH del jugo gástrico. Los compuestos orgánicos de arsénico contenidos en los productos del mar, se absorben rápidamente después de la ingestión. ^(27,28)

Distribución

En el hombre, así como en la mayoría de las especies animales, el arsénico se distribuye uniformemente por todos los órganos y tejidos, excepto pelo y uñas, en donde se ha observado un tiempo de retención más largo, aunque después de la exposición puede concentrarse inicialmente más en el hígado, riñón y en los pulmones. ^(27,28)

Metabolismo del arsénico.

El destino del metabolismo de los agentes arsenicales en los humanos es incierto. Nunca se han encontrado niveles elevados de arsénico inorgánico, ácidos metilarsónico (AMMA) o ácidos dimetilarsínico (ADMA) en la sangre o en la orina

humana, sugiriendo que los compuestos órgano arsenicales se excretan sin mezclarse con el total del arsénico inorgánico del organismo.^(27,28)

El metabolismo del arsénico se puede observar en la Figura 2.

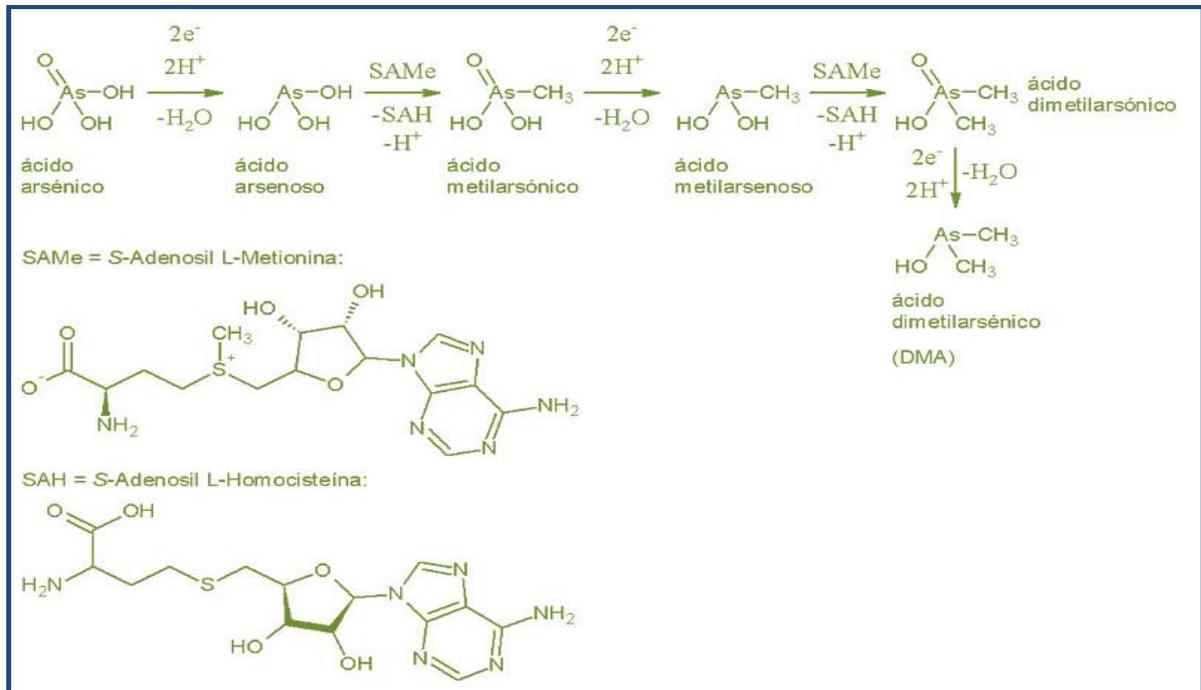


Figura 2: Metabolismo de arsénico en el organismo.⁽²⁷⁾

Fuente: Bataller SR. Toxicología clínica: Intoxicaciones por metales pesados. Universidad de Valencia: Romeu; 2004. p. 171-90.

Excreción

La excreción del arsénico absorbido se realiza principalmente por la orina. Sólo se excreta una pequeña cantidad en las heces. Las investigaciones recientes utilizando técnicas radio-analíticas, han mostrado que la retención del arsénico inorgánico en diferentes animales se correlaciona estrictamente con la habilidad de las distintas especies para metilar el arsénico inorgánico, dependiendo también del grado de interacción y unión con los constituyentes intracelulares. La excreción tiene lugar en tres fases, con vidas medias de alrededor de 24 horas, 84 horas y 8 días, respectivamente. ^(27,28) Observar la Figura 3.

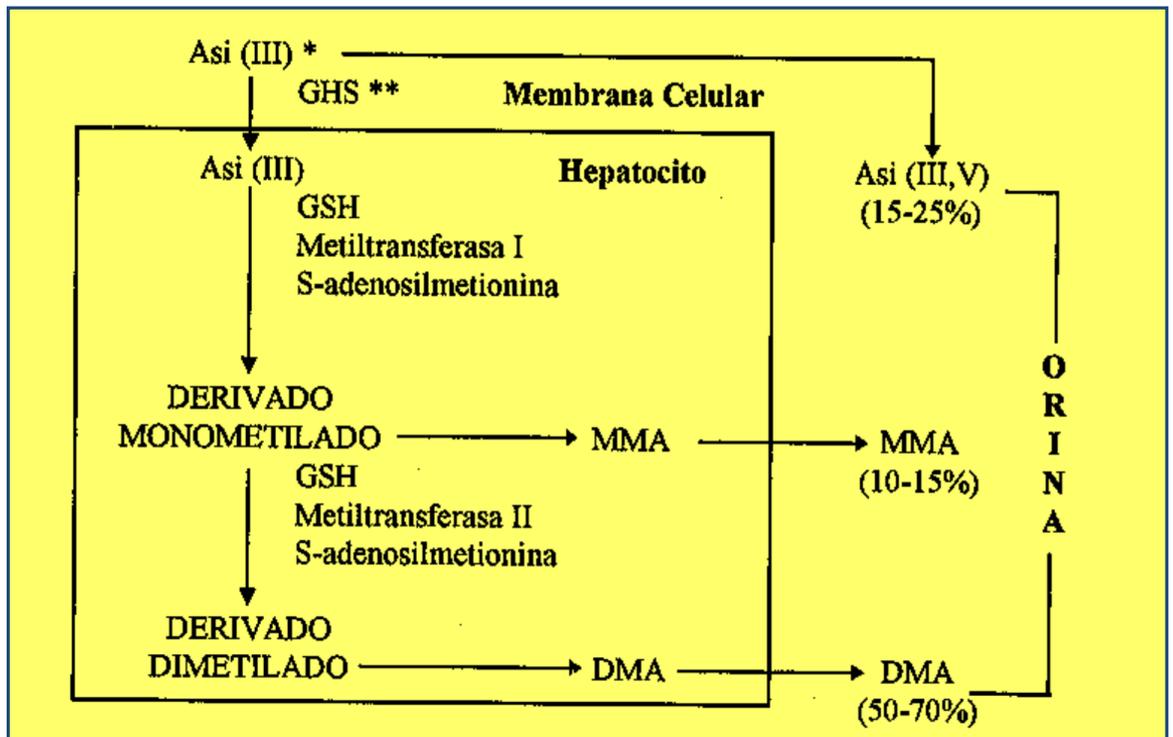


Figura 3: Biotransformación de Arsénico Inorgánico.⁽²⁷⁾

* Arsénico inorgánico. ** Glutatión reducido

Fuente: Bataller SR. Toxicología clínica: Intoxicaciones por metales pesados. Universidad de Valencia: Romeu; 2004. p. 171-90.

2.2.3.2. Riesgo Toxicológico

Intoxicación Aguda:

Tras la ingestión de altas dosis el paciente comienza con cefalea, vértigos, debilidad, un cuadro de gastroenteritis muy grave, con dolor quemante en esófago, náuseas, vómitos, diarrea acuosa o sanguinolenta muy abundante conteniendo fragmentos de mucosa (riciforme). Posteriormente la piel se torna fría y pegajosa, desciende la presión arterial y la debilidad es marcada. La muerte ocurre por insuficiencia circulatoria. Las convulsiones y el coma son los signos terminales. Las dosis cercanas a la letal (ver Tabla 3) causan: inquietud, náusea, vómito, cefalea, vértigo, escalofrío, calambres, irritabilidad y parálisis variable, que pueden progresar en un período de varias semanas. Pueden ocurrir arritmias ventriculares. ^(29,30)

Tabla 3: Comparación de la Toxicidad Aguda en los compuestos Arsenicales.⁽²⁷⁾

| Compuesto | DL ₅₀ (mg/Kg) | Animal/Vía |
|--------------------------------|--------------------------|----------------------|
| Arsenito de sodio | 4.5 | Rata/Intraperitoneal |
| Arseniato de sodio | 14-18 | Rata/Intraperitoneal |
| Ácido monometil arsonico (MMA) | 1800 | Ratón/Oral |
| Ácido dimetil arsínico (DMA) | 1200 | Ratón/Oral |
| Arsenobetaína | 10000 | Ratón/Oral |

Fuente: Bataller SR. Toxicología clínica: Intoxicaciones por metales pesados. Universidad de Valencia: Romeu; 2004. p. 171-90.

Intoxicación Crónica:

- ✓ **Sistema Nervioso Central:** polineuritis mixtas que avanzan centrípetamente, neuritis óptica, anestias y parestias tales como dolores quemantes en pies y manos. Los trastornos psíquicos son muy constantes (depresión, demencia) pero difíciles de evaluar.^(29,30)
- ✓ **Piel:** bronceamiento, edema localizado, y dermatitis.^(29,30)
- ✓ **Aparato Digestivo:** cirrosis hepática, náuseas, vómitos, calambres abdominales, salivación y anorexia.^(29,30)
- ✓ **Generales:** anemia y pérdida de peso. Anemia aplásica. Debilidad.^(29,30)
- ✓ **Sistema Cardiovascular y Riñones:** nefritis crónica, insuficiencia cardíaca, edema de zonas declive.^(29,30)

2.2.4. CADMIO:

El cadmio se encuentra ampliamente distribuido de forma natural en el medio ambiente, aunque en concentraciones relativamente bajas. Este elemento existe como mineral en forma de sulfuro de cadmio y se encuentra casi siempre

asociado a la presencia de zinc, siendo descrito como “uno de los más peligrosos elementos traza que aparece en los alimentos y en el medio humano”.⁽³¹⁾

2.2.4.1. Características fisicoquímicas:

El cadmio (Cd) en su forma elemental es un metal blanco plateado, dúctil y maleable, pertenece al grupo II B de la tabla periódica, su número atómico 48, masa atómica 111,40, densidad 8,65 g/mL, punto de fusión 320,9°C, punto de ebullición 770°C, su número de valencia es + 2. La solubilidad de las sales de cadmio en agua es muy variable, ya que los halogenuros, el sulfato y el nitrato son relativamente solubles mientras que el óxido, el hidróxido y el carbonato son prácticamente insolubles en agua. El cadmio tienen una presión de vapor elevada por lo que durante su refinación y fundición, se libera óxido de cadmio, que constituye un elevado peligro potencial para la salud.⁽³¹⁾

2.2.4.2. Usos y aplicaciones:

- ✓ Como pigmento en pinturas, esmaltes, plásticos, textiles, vidrios, tintas de impresión, caucho, lacas.⁽³¹⁾
- ✓ En aleación con cobre, aluminio y plata.⁽³¹⁾
- ✓ En la producción de pilas de cadmio-níquel.⁽³¹⁾
- ✓ Como estabilizador de termoplásticos, como el PVC.⁽³¹⁾
- ✓ En fotografía, litografía y procesos de grabado.⁽³¹⁾
- ✓ Como “endurecedor” de ruedas y llantas de automóvil.⁽³¹⁾
- ✓ En fabricación de “controles” de reactores nucleares.⁽³¹⁾

2.2.4.3. Toxicocinética:

A) Absorción:

La absorción del cadmio se lleva a cabo a través de un proceso similar al de la absorción de metales esenciales como el hierro y zinc; esta absorción es potenciada cuando existen deficiencias de calcio y hierro en la dieta o dietas bajas en proteínas.⁽³¹⁾

B) Distribución:

La fracción que pasa a sangre se distribuye en 3 compartimentos de recambio: ⁽³¹⁾

- ✓ Compartimento 1 de “recambio rápido” y, por tanto, no genera acumulación.
- ✓ Compartimento 2 de “recambio medio”, constituido por los hematíes, en los que se acumula en pequeñas cantidades.
- ✓ Compartimento 3 de “recambio lento”; aquí, una fracción significativa de cadmio se une a la metalotioneína y va a depositarse en los órganos blanco.

Los compartimentos 1 y 3 son los de mayor intercambio con los demás órganos y se estima que desde el compartimento 1 la tasa de transferencia a otros tejidos es de 50% y al hígado de 16%. Entre los tres compartimentos hay equilibrio dinámico, sin embargo, existiría un aporte extra del riñón hacia el compartimento 1. En el riñón, el compartimento 3, aunque en forma lenta, es el de mayor intercambio y por tanto no se produce acumulación, pero sí filtración por el glomérulo. Una parte se reabsorbe en el túbulo, contribuyendo así a su acumulación. El excedente se excreta con la orina. ⁽³¹⁾

La vida media del cadmio en el organismo total es de 30 años a 40 años. ⁽³¹⁾

C) Eliminación:

Las principales vías de excreción son orina y heces (Ver figura 4). Por orina, diariamente se elimina 0,007% del contenido corporal y por heces 0,03%. La vida media de excreción urinaria es de hasta 40 años. ⁽³¹⁾

2.2.4.4. Toxicodinamia:

Teóricamente, la acción tóxica del cadmio se debería a su afinidad por radicales de los grupos –SH, –OH, carboxilo, fosfatil, cisteinil e histidil y a su acción competitiva con otros elementos funcionalmente esenciales, Zn⁺², Cu⁺², Fe⁺³, y Ca⁺². Sus principales interacciones serían: ⁽³¹⁾

- ✓ Unión fuerte del Cd^{+2} a los grupos $-SH$ de las proteínas intracelulares, que inhibiría las enzimas que poseen estos grupos.
- ✓ Desplazamiento del Zn^{+2} a los enlaces $-S-$ y la consiguiente alteración enzimática y de sus procesos bioquímicos, que se refleja en su deficiencia relativa.

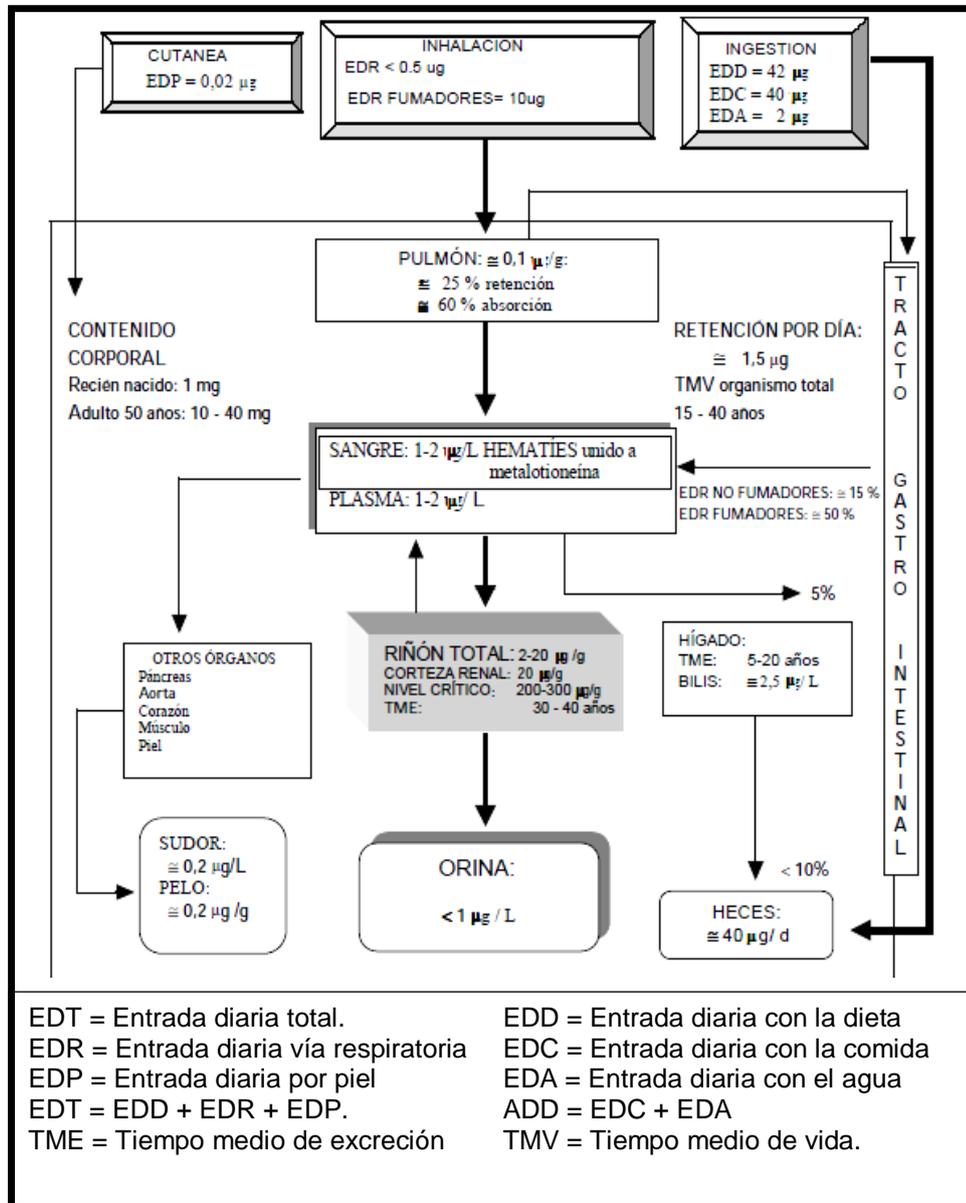


Figura 4: Toxicocinética del cadmio.⁽³¹⁾

Fuente: Ramírez A. Toxicología del cadmio. Conceptos actuales para evaluar exposición ambiental u ocupacional con indicadores biológicos. Anales de la Facultad de Medicina. UNMSM. 2002;63(1):54.

2.2.4.5. Manifestaciones clínicas:

A) Intoxicación Aguda:

Los efectos iniciales son por irritación local. En el caso de ingesta oral, aparecen náuseas, vómitos, salivación, diarrea, que puede ser sanguinolenta, y dolor abdominal. En el caso de inhalación, aparece una neumonitis con tos, disnea, escalofríos, taquicardia, y puede progresar a edema pulmonar no cardiogénico.^(27,29)

B) Intoxicación Crónica:

La intoxicación crónica puede provocar una nefropatía en forma de tubulopatía proximal o glomerulopatía, y cursa con proteinuria, leucocituria, microhematuria, aminoaciduria, glucosuria e hipertensión. La afectación crónica pulmonar cursa con enfisema con fibrosis peri bronquial y peri vascular. Otras alteraciones son la rinitis y anosmia por lesión del nervio olfatorio, pigmentación amarilla de los dientes, astenia y anorexia. La alteración ósea producida por el cadmio cursa con osteopenia y osteomalacia, y se manifiesta clínicamente con dolores óseos y fracturas.^(27,29)

2.2.4.6. Tratamiento:

No existe una terapia efectiva para el tratamiento de la intoxicación con cadmio, el tratamiento es sintomático. En las exposiciones agudas el quelante indicado es el EDTA CaNa₂, aunque de moderada eficacia. La dosis es de 75mg/Kg dividida en 3 dosis a 6 dosis durante 5 días, y se repite un segundo ciclo sin exceder la dosis de 500mg/Kg. En las intoxicaciones crónicas el tratamiento quelante no tiene eficacia.^(27,29)

2.2.5. PLOMO:

El plomo (Pb) es un metal pesado ampliamente distribuido en el medio ambiente pero sin ninguna función biológica en el ser humano. Es el 16^{avo} componente de la corteza terrestre y el 9^{no} en el agua del mar, siendo los principales países productores Estados Unidos de América y Rusia.^(27,32,33)

2.2.5.1. Características fisicoquímicas:

El plomo es un metal pesado, de color gris azulado, inodoro e insoluble en agua, brillante en las superficies recientes, tan blando que se raya con la uña, muy maleable, mal conductor de la electricidad y resistente a la corrosión; posee gran densidad y punto de fusión bajo, cristaliza en octaedros, y deja en el papel una mancha gris. ^(32,34)

La densidad del plomo es de 11,4 g/mL, este valor, es el más alto dentro de la familia IVA, es uno de los factores que lo convierte en un metal denso, tóxico y acumulativo. ⁽³²⁾

Su número atómico es 82, peso atómico 207,21, punto de fusión 327°C y punto de ebullición es 1740°C. El plomo existe en los estados de valencia +2, +4 y sus isótopos naturales son: 204 (1,5%), 206 (23,6%), 207 (22,6%), 208 (52,3%). ⁽³²⁾

Es un metal resistente a la acción del ácido sulfúrico, pero se disuelve fácilmente con ácido nítrico y en ácidos orgánicos dando lugar a sales solubles. ⁽³⁴⁾

2.2.5.2. Usos y fuentes de exposición:

Algunos cultivos de exportación como el cacao, son secados en las orillas de carreteras sin el debido cuidado, por lo que se presume que sus almendras pueden ser contaminadas con plomo proveniente de la combustión de la gasolina que realizan los vehículos que circulan por las mismas y/u otros agentes contaminantes ^(35,36)

2.2.5.3. Toxicocinética:

A) Absorción:

Se absorbe activamente, dependiendo de la forma, tamaño, tránsito gastrointestinal, estado nutricional y la edad; hay mayor absorción de plomo si la partícula es pequeña, si hay deficiencia de hierro y/o calcio, si hay gran ingesta de grasa ó inadecuada ingesta de calorías, si el estómago está vacío y si se es niño,

ya que en ellos la absorción de plomo es de 50 % mientras que en el adulto es de 10%.⁽³³⁾

B) Distribución:

El plomo se distribuye en tres compartimentos, en primer lugar circula en un 95% - 99% transportado por los hematíes, unido a la hemoglobina y otros compuestos. Se distribuye desigualmente en los tejidos del organismo; cerca del 10% del plomo es almacenado en los tejidos blandos, conteniendo el tejido óseo el 90% restante. En el hueso, el plomo es incorporado a los cristales de hidroxapatita.⁽³³⁾

La semivida del plomo circulante es de unos 36 días, el plomo de los tejidos blandos 40 días y el plomo depositado en los huesos puede ser de hasta 3 años. Por ello, el plomo en hueso puede ser utilizado para describir, en el tiempo, el contenido corporal del mismo. ⁽³³⁾

C) Eliminación:

Se excreta fundamentalmente por orina (80%) y de forma secundaria por heces. Cualquier vía de ingestión de plomo tiene su punto final en el hígado, eliminando una parte por la bilis. Cuando existe una insuficiencia hepática o la concentración del metal es excesiva se elimina por el sudor la saliva y orina. Se deposita en pelos y uñas. A partir de la saliva se puede formar un depósito de sulfuro de plomo en el borde marginal de las encías que se conoce como ribete de Burton (ver Figura 5) ^(27,33)



Figura 5: Ribete de Burton.⁽³⁷⁾

Fuente: Valdivia IM. Intoxicación por plomo. Revista social peruana de medicina interna. 2005;18(1):26

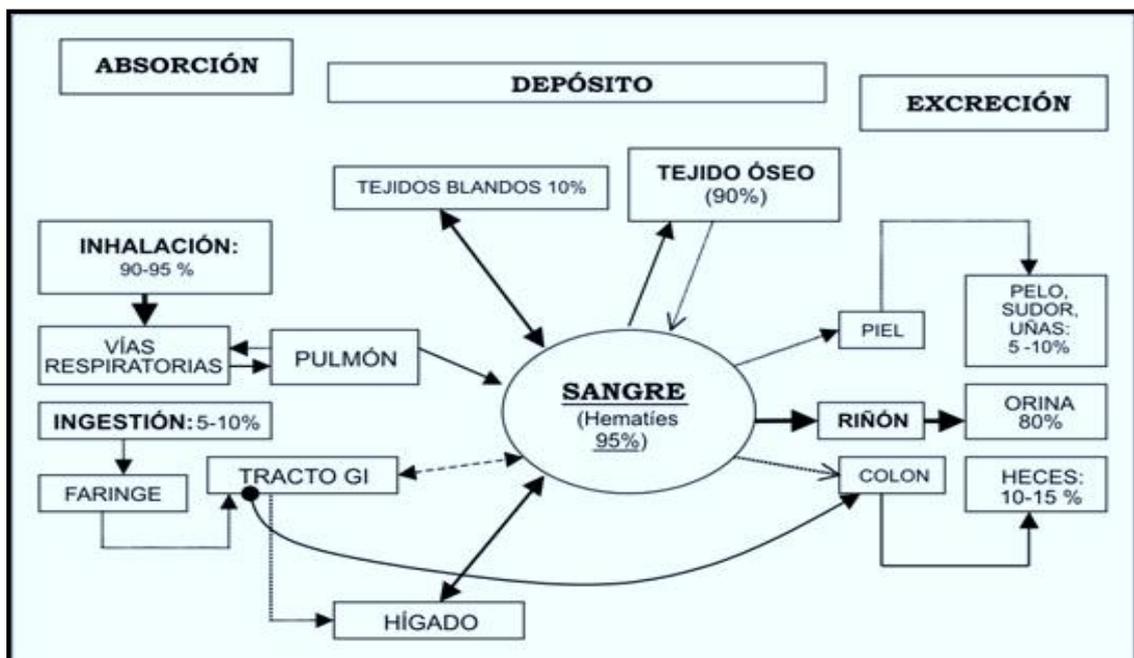


Figura 6: Modelo metabólico del plomo en el ser humano.⁽³⁸⁾

Fuente: Ramírez AV. El cuadro clínico de la intoxicación ocupacional por plomo. Anales de la Facultad de medicina.2005;66(1)

2.2.5.4. Toxicodinamia:

El plomo es un tóxico que actúa en el organismo a múltiples niveles por inhibición de diversos sistemas enzimáticos, al combinarse con grupos sulfhidrido de las proteínas principalmente. El plomo interfiere con el metabolismo del calcio y se altera de las siguientes formas: ⁽³³⁾

- ✓ Reemplaza al calcio y se comporta como un segundo mensajero intracelular, alterando la distribución del calcio en los compartimentos dentro de la célula. ⁽³³⁾
- ✓ Activa la proteinquinasa C, una enzima que depende del calcio y que interviene en múltiples procesos intracelulares. ⁽³³⁾
- ✓ Se une a la calmodulina más rápidamente que el calcio. ⁽³³⁾
- ✓ Inhibe la bomba de Na-K-ATP asa, lo que aumenta el calcio intracelular. Finalmente esta alteración a nivel del calcio traería consecuencias en la neurotransmisión y en el tono vascular lo que explicaría en parte la hipertensión y la neurotoxicidad. ⁽³³⁾

Por otro lado, el plomo es tóxico para las enzimas dependientes del zinc, los órganos más sensibles a la toxicidad son el sistema hematopoyético, el sistema nervioso central y el riñón. A nivel hematológico, el plomo interfiere en la síntesis del Hem, ya que se une a los grupos sulfhidrilos de las metaloenzimas como son la D-aminolevulínico deshidratasa, copro porfirinógeno oxidasa y la ferroquelatasa, que se muestra en la Figura 9; siendo el resultado final, el aumento de las protoporfirinas como la zinc-protoporfirina (ZPP) y la anemia. ⁽³³⁾

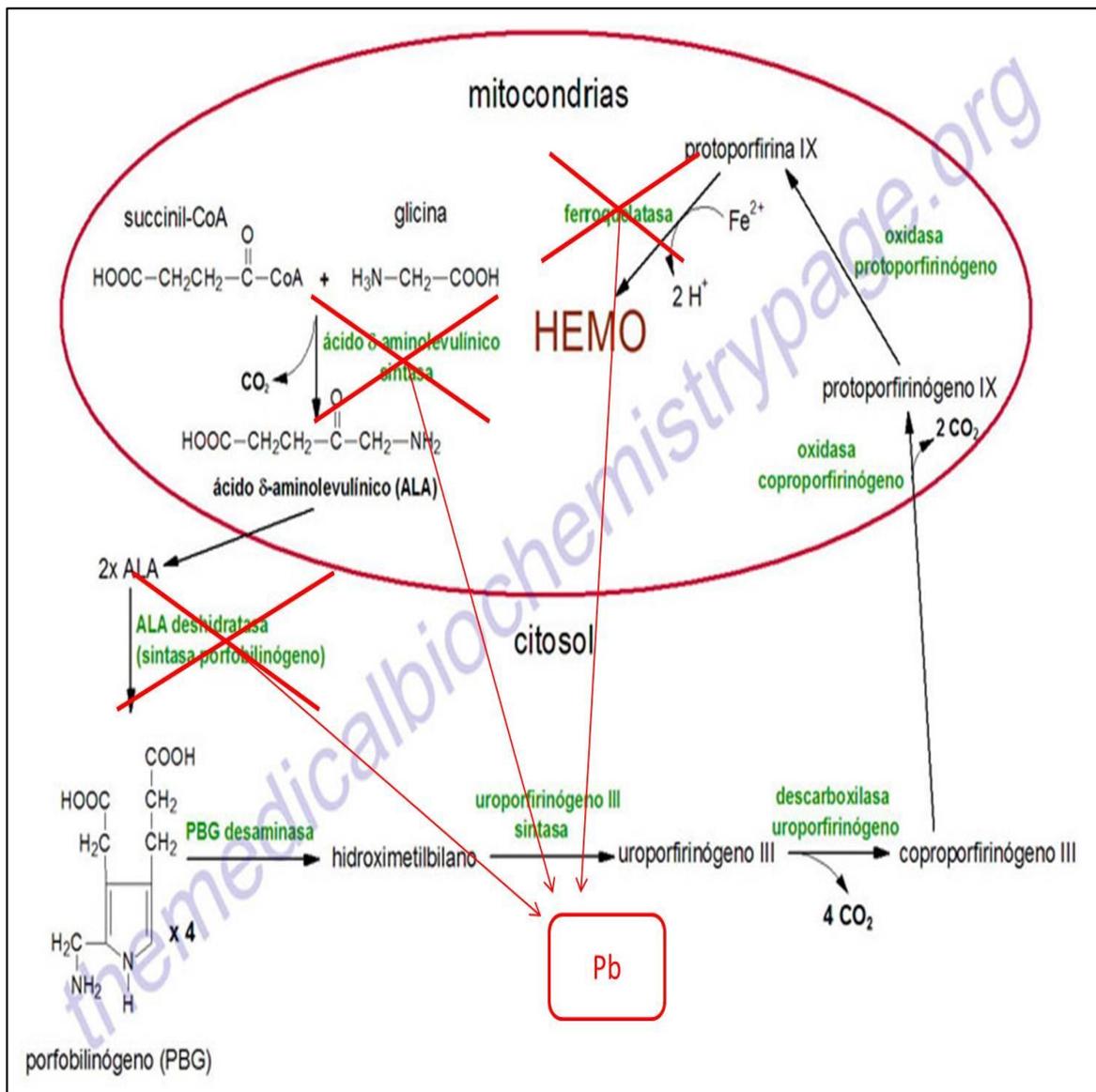


Figura 7: Efectos del plomo en la síntesis del Hem

Fuente: Disponible en: <http://themedicalbiochemistrypage.org/images/hemesynthesis-porphyrins.jpg>

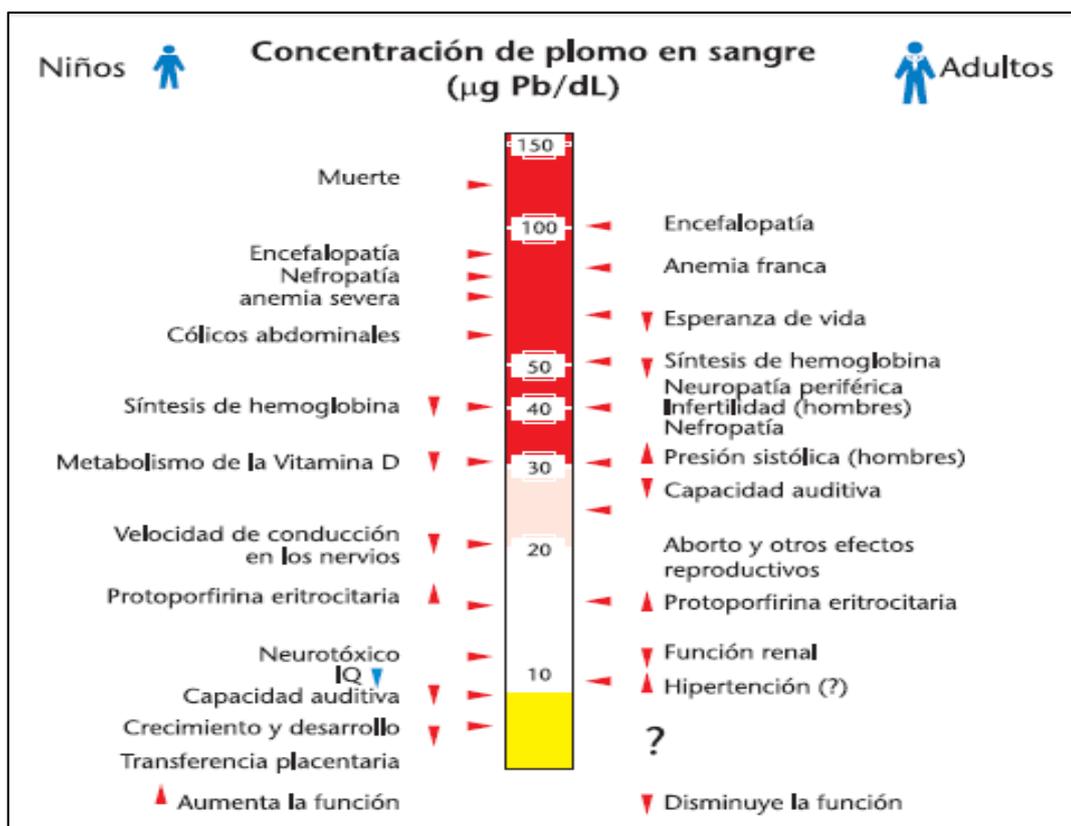


Figura 8: Valores tóxicos de plomo en sangre.⁽³⁷⁾

Fuente: Valdivia IM. Intoxicación por plomo. Revista social peruana de medicina interna. 2005;18(1):26

2.2.5.5. Cuadro clínico:

➤ Intoxicación Aguda:

La intoxicación aguda es poco frecuente y se produce habitualmente tras la ingestión de una sal soluble en medio ácido o la inhalación de vapores de plomo.^(27,33)

➤ Intoxicación Crónica:

Es la forma más frecuente de presentación tanto en niños como en adultos. La intoxicación crónica cursa con una fase pre-clínica o de impregnación en la cual el paciente se encuentra asintomático o presenta síntomas inespecíficos como astenia, dispepsia, artralgias, mialgias, adelgazamiento, dolor abdominal, alteraciones del carácter. Suele corresponder a unas concentraciones de plomo

en sangre de entre 30 y 50 $\mu\text{g}/\text{dL}$. En la exploración clínica, se puede evidenciar el ribete de Burton (Ver la Figura 5).⁽²⁷⁾

La fase clínica cursa con empeoramiento de la sintomatología anterior, anemia y cólico saturnino que consiste en una crisis de dolor abdominal agudo, peri umbilical con vómitos y estreñimiento.⁽²⁷⁾

La encefalopatía por plomo cursa como un síndrome de hipertensión endocraneal.⁽²⁷⁾

La polineuropatía de predominio motor, bilateral, simétrico y de afectación predominante en extremidades superiores produce una parálisis radial que da lugar a una mano péndula.⁽²⁷⁾

2.2.5.6. Tratamiento:

El tratamiento, tanto de la intoxicación aguda como crónica, se basará en apartar al paciente de la fuente de exposición junto al tratamiento concomitante de los cuadros clínicos que acontezcan. Si ha habido una ingesta oral aguda, se deben realizar las medidas de descontaminación digestiva rutinarias (Lavado gástrico, carbón activado).⁽²⁷⁾

Edetato-Disódico-Cálcico (EDTA Ca) a dosis de 30-50 mg/kg/día (1 500 mg/m²/d) diluido en dextrosa al 5% (para una dilución de 2 a 4 mg/mL), a pasar por goteo endovenoso en 6 a 8 horas, por 5 días consecutivos.⁽³³⁾

Dimercaprol (BAL) que se asocia a EDTA-Ca en casos de encefalopatía o plumbemia mayor a 100 mg/dL en adultos y mayor a 60 mg/dl en niños a dosis de 3 a 5 mg/kg/dosis, por vía intramuscular, 4 horas previa al EDTA cálcico, el 1º y 2º día cada 4 horas, el 3º y 4º día cada 6 horas y el 5º día cada 12 horas.⁽³³⁾

Ácido dimercaptosuccínico (DMSA), tiene la ventaja de que provoca pocos efectos adversos y se usa por vía oral a dosis de 10 mg/Kg/dosis repartidos cada 8 horas por 5 días, luego cada 12 horas por 14 días más. Este quelante no redistribuye el plomo a cerebro.⁽³³⁾

III. METODOLOGIA DEL ESTUDIO

3.1. DISEÑO METODOLÓGICO:

3.1.1. Tipo de Investigación: Observacional, descriptivo y transversal.

- ✓ **Observacional:** Es observacional dado que se tendrá una medición a partir de las concentraciones de Arsénico, Cadmio y Plomo; porque el investigador no modifica ninguna variable.
- ✓ **Descriptivo:** Se basa en las situaciones, actitudes predominantes a través de la descripción de las actividades, objetos y procesos conocidos.
- ✓ **Transversal:** Las variables del estudio en la determinación de Arsénico, Cadmio y Plomo se medirán en un momento y tiempo definido.

3.1.2. Muestra:

- ✓ **Muestra:**

El tamaño de la muestra está comprendido por 10 muestras de barras de chocolate comercializadas en el Centro Comercial Polvos Azules de Lima Metropolitana en el periodo Enero – Febrero 2016 y sus formas de presentación. El tamaño de la muestra fue igual al universo.

- **Criterios de inclusión:** Se incluyeron las barras de chocolate comercializadas en el Centro Comercial Polvos Azules de Lima Metropolitana en el periodo Enero – Febrero 2016.
- **Criterios de exclusión:** Se excluyeron las barras de chocolate con empaque deteriorado y con fecha vencida.

3.1.3. Obtención de Datos:

3.1.3.1. Recolección de las muestras:

- Las muestras fueron obtenidas mediante un sistema de compras en el Centro Comercial Polvos Azules de Lima Metropolitana en el periodo Enero – Febrero 2016.
- Para la recolección de la muestra se contó con una hoja de datos en el cual se registró la marca comercial, forma de presentación, procedencia, fecha de vencimiento y registro sanitario (ver Anexo I).
- Se colocó en cada empaque de chocolate la etiqueta correspondiente indicando el número de muestra y se realizó el llenado de datos.

3.1.3.2. Método:

➤ Espectroscopía de Absorción Atómica:

Fundamento: La espectroscopía de absorción atómica (EAA) es una técnica que se basa en la absorción específica de radiación por átomos no excitados. Es un método de elección para el análisis elemental de soluciones y específicamente para la determinación de trazas de metales en muestras líquidas. La sensibilidad de esta técnica es tan elevada que permite determinar elementos diferentes a concentraciones de 1ppm o menores. En los átomos las transiciones de los electrones de las capas externas corresponden a la absorción o emisión de radiación electromagnética en la región UV-VIS del espectro. En EAA los átomos no excitados de un elemento absorben radiación a partir de una fuente externa siempre que se cumpla que la radiación absorbida corresponde exactamente a la energía necesaria para que tenga lugar una transición del átomo del elemento problema desde el estado fundamental a otro estado excitado de mayor energía. La diferencia de energía entre el estado final y el inicial nos da las líneas de absorción. ^(39,40,41)

➤ **Espectrofotometría de absorción atómica con horno de grafito:**

En un horno de grafito de EAA, un tubo calentable de grafito está colocado como dispositivo de atomización en la trayectoria del rayo. Una gotita de la muestra se pipetea en el tubo de grafito, donde se seca mediante calefacción eléctrica, y los residuos se calcinan. En el siguiente paso de calefacción a muy elevada temperatura, los elementos presentes en el residuo son atomizados. Durante esta fase, la atenuación de la radiación de la lámpara por la atomización en el estrecho volumen del tubo de grafito puede medirse con muy buena sensibilidad. Los límites de detección resultantes, muy bajos, hacen del horno de grafito EAA, un método de alto rendimiento para el análisis de trazas de elementos. La necesidad de lámparas específicas de cada elemento y los largos programas de temperatura del horno de grafito constituyen las desventajas respecto a demora de tiempo en estas técnicas de análisis. ^(39,40,41)

A) Parámetros de lectura para Arsénico(As):

Tabla 4: Parámetros para determinar Arsénico por Espectrometría de Absorción Atómica por Generación de Hidruros (FIAS).

| PARÁMETROS DE INSTRUMENTO | |
|--|--------------------------------|
| <i>Tipo de Sistema</i> | Generación de Hidruros (FIAS). |
| <i>Elemento</i> | As |
| <i>Matriz</i> | HCl 30% |
| <i>Corriente de Lamp.</i> | 8,00mA |
| <i>Longitud de Onda</i> | 193.70nm |
| <i>Ancho de corte</i> | 2,00 nm |
| <i>Tamaño de Apertura</i> | Reducido |
| <i>Modo de Instrumento</i> | Apagar Abs. BC |
| PARAMETROS DE CALIBRACIÓN | |
| <i>Modo de Calibración</i> | LS Lineal a través de Cero |
| <i>Muestra fuera de rango de acción</i> | No |
| <i>Unidades de Conc.</i> | ppb |
| <i>Punto decimal de Conc.</i> | 2 |
| <i>Falla de Calibración</i> | No |
| <i>Acción de fallo de cal.</i> | Parar |
| <i>Medir muestra en Blanco después de Cal.</i> | No |
| <i>Auto-guardar método después de cal.</i> | Si |
| PARÁMETROS DE MEDICIÓN DE MUESTRA | |
| <i>Modo de Medición</i> | Integración |
| <i>Introducción de Muestras</i> | Manual. |
| <i>Constante de Tiempo</i> | 0,00 s |
| <i>Replicas</i> | 3 |
| PARAMETROS CONTROL DE FLAMA | |
| <i>Tipo de Flama</i> | Aire- Acetileno |
| <i>Combustible</i> | 1,100 l/min |
| <i>Flujo de Aire</i> | 11,10 |
| <i>Angulo de Quemador</i> | 0,00 ° |

Tabla 5: calibración para el Arsénico

| Muestra Etiquetada | Conc. As (ppb) | Media Abs |
|--------------------|----------------|-----------|
| Cal. Blanco | ----- | 0,0000 |
| Estándar 1 | 2,50 | 0,145 |
| Estándar 2 | 5,00 | 0,295 |
| Estándar 3 | 7,50 | 0,439 |
| Estándar 4 | 10,00 | 0,590 |

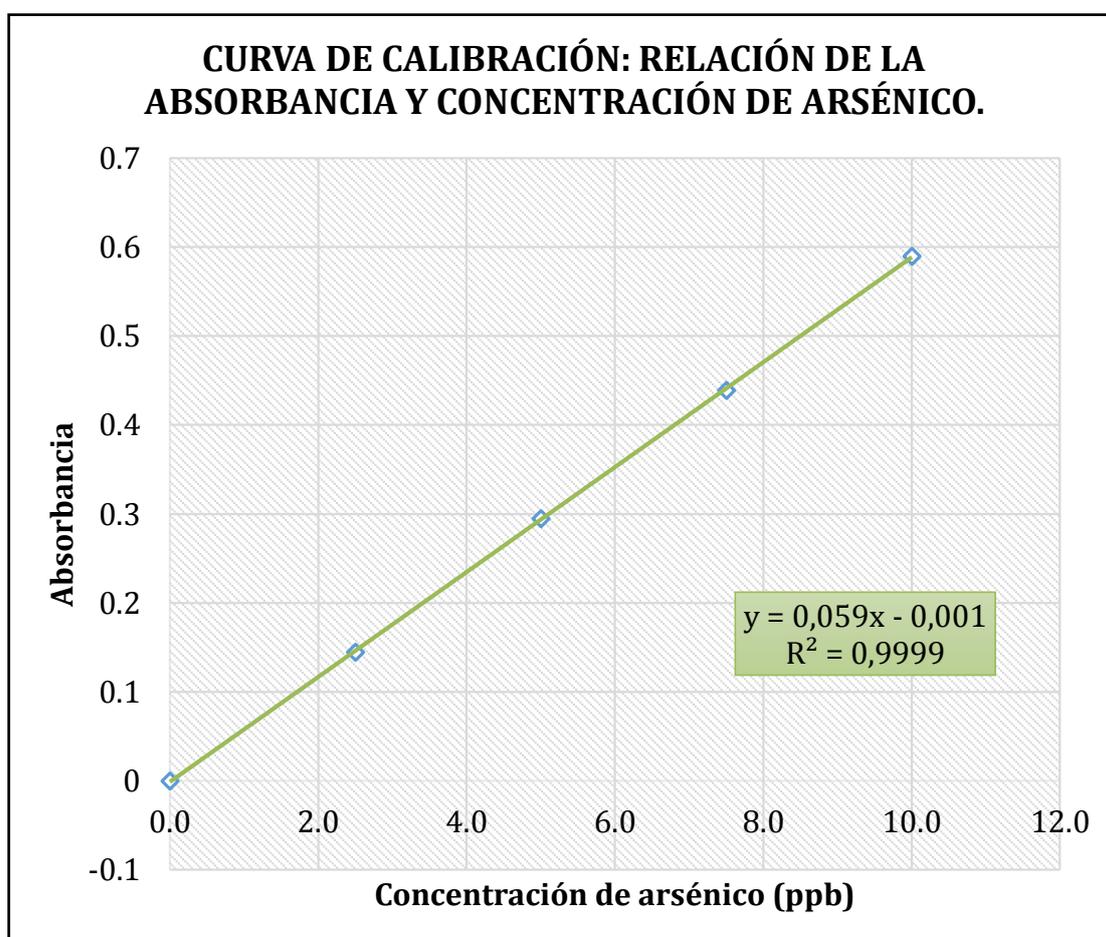


Figura 9: Curva de calibración para el Arsénico

B) Parámetros de lectura para Cadmio (Cd):**Tabla 6: Parámetros para determinar Cadmio por Espectrometría de Absorción Atómica por Horno de Grafito.**

| PARÁMETROS DE INSTRUMENTO | |
|--|----------------------------|
| Tipo de Sistema | Horno |
| Elemento | Cd |
| Matriz | Ácido Fosfórico. |
| Corriente de Lamp. | 3,00mA |
| Longitud de Onda(nm) | 228,80nm |
| Ancho de corte | 2,00 nm |
| Tamaño de Apertura | Reducido |
| Modo de Instrumento | Encender Abs. BC |
| PARAMETROS DE CALIBRACIÓN | |
| Modo de Calibración | LS Lineal a través de Cero |
| Muestra fuera de rango de acción | No |
| Unidades de Conc. | ppb |
| Punto decimal de Conc. | 2 |
| Falla de Calibración | No |
| Acción de fallo de cal. | Continuar. |
| Medir muestra en Blanco después de Cal. | No |
| Auto-guardar método después de cal. | Si |
| PARÁMETROS DE MEDICIÓN DE MUESTRA | |
| Modo de Medición | Área máxima. |
| Introducción de Muestras | Automático |
| Constante de Tiempo | 0,00 |
| Replicas | 1 |

Tabla 7: Calibración para el Cadmio

| Muestra Etiquetada | Conc. Cd (ppb) | Media Abs |
|--------------------|----------------|-----------|
| Cal. Blanco | ----- | 0,0000 |
| Estándar 1 | 0,25 | 0,0420 |
| Estándar 2 | 0,50 | 0,0908 |
| Estándar 3 | 0,75 | 0,1387 |
| Estándar 4 | 1,00 | 0,1827 |

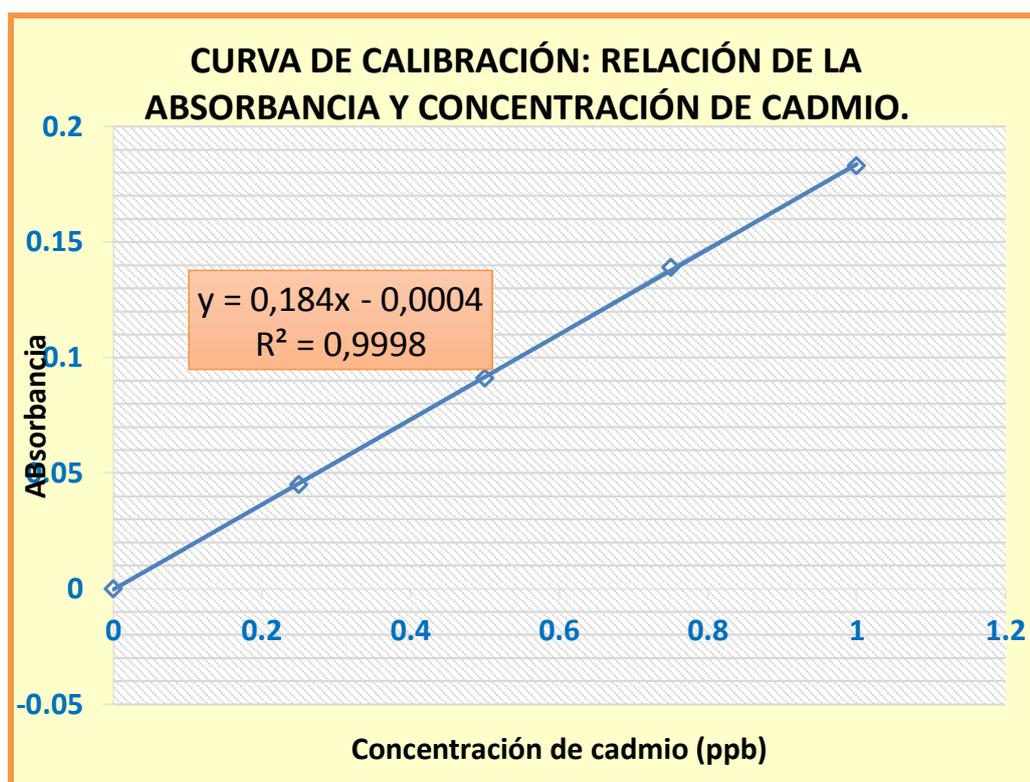


Figura 10: Curva de Calibración para el Cadmio.

C) Parámetros de lectura para Plomo (Pb):

Tabla 8: Parámetros para determinar Plomo por Espectrometría de Absorción Atómica por Horno de Grafito.

| PARÁMETROS DE INSTRUMENTO | |
|--|----------------------------|
| Tipo de Sistema | Horno de grafito |
| Elemento | Plomo |
| Matriz | Ácido Fosfórico. |
| Corriente de Lamp. | 5,00mA |
| Longitud de Onda (nm) | 283,30nm |
| Ancho de corte | 0,50nm |
| Tamaño de Apertura | Reducido |
| Modo de Instrumento | Encender Abs. BC |
| PARÁMETROS DE CALIBRACIÓN | |
| Modo de Calibración | LS Lineal a través de Cero |
| Muestra fuera de rango de acción | No |
| Unidades de Conc. | ppb |
| Punto decimal de Conc. | 2 |
| Falla de Calibración | No |
| Acción de fallo de cal. | Continuar |
| Medir muestra en Blanco después de Cal. | No |
| Auto-guardar método después de cal. | No |
| PARÁMETROS DE MEDICIÓN DE MUESTRA | |
| Modo de Medición | Área máxima. |
| Introducción de Muestras | Automático |
| Constante de Tiempo | 0,00 |
| Replicas | 2 |

Tabla 9: Calibración para el Plomo

| Muestra Etiquetada | Conc. Pb (ppb) | Media Abs. |
|--------------------|----------------|------------|
| Cal Blanco | ----- | 0,0000 |
| Estándar 1 | 25,00 | 0,0627 |
| Estándar 2 | 50,00 | 0,120 |
| Estándar 3 | 75,00 | 0,1819 |
| Estándar 4 | 100,00 | 0,2310 |

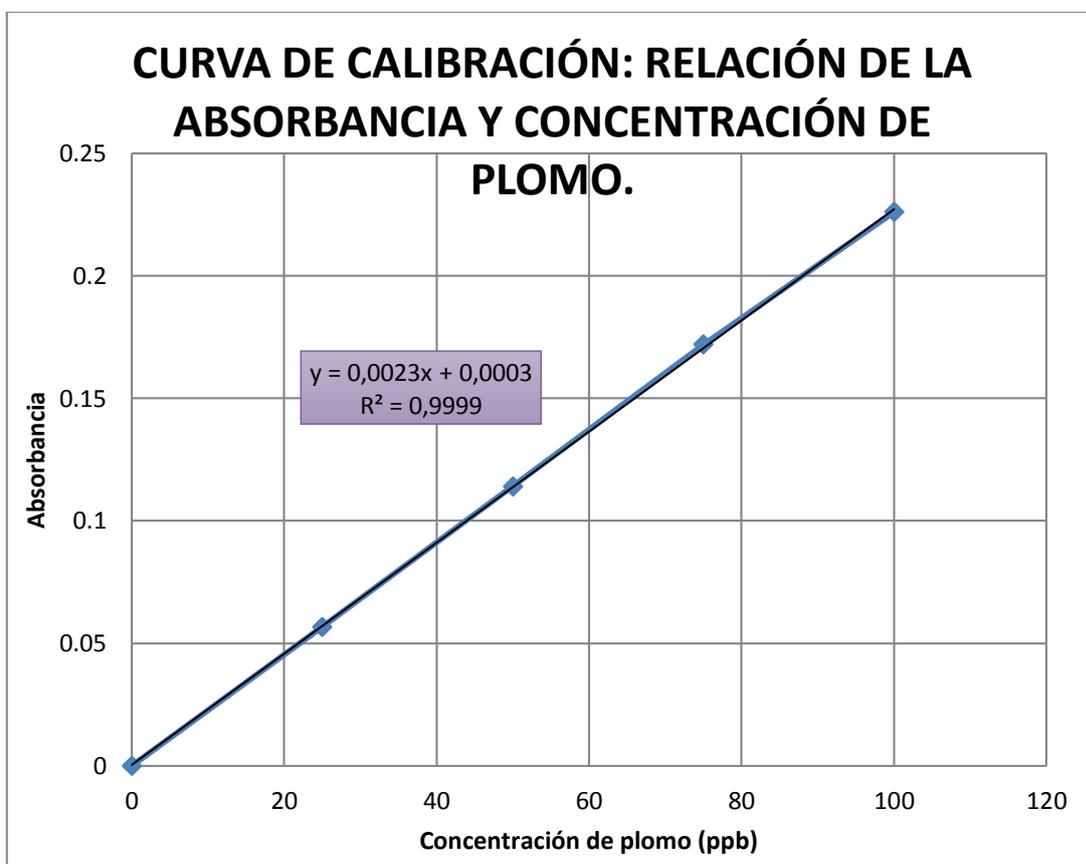


Figura 11: Curva de Calibración para el Plomo

3.1.4. Técnica operatoria:

3.1.4.1. Preparación de la muestra:

- **Limpieza y acondicionamiento de material:** Todo el material de vidrio utilizado en este análisis después de su lavado fue enjuagado con ácido Nítrico y con agua ultrapura y finalmente secado en estufa.
- **Cantidad de muestra a utilizar:** Se pesó en la balanza analítica 0,5 g de cada muestra de chocolate.
- **Destrucción de la materia orgánica por el método del Digestión Asistida por Microondas:**

La primera etapa consiste en la digestión de la muestra (chocolates), es decir la destrucción de la materia orgánica por oxidación con la ayuda del digestor de microondas con el fin de romper la unión entre los metales y la materia orgánica.

Se coloca 0,5 g de muestra de chocolate en un tubo de teflón al que se le adicionará 6 mL Ácido Nítrico Ultra puro más 1 mL de Ácido Clorhídrico Ultrapuro y 0,5 mL de Agua oxigenada Ultrapura al 30% se sella y es llevado al Digestor de Microondas a una potencia de 1600w, durante un tiempo de 30 minutos y de 15 minutos de enfriamiento.

Luego fueron transvasados a fioles de 25 mL y enrasados con agua ultrapura tipo I quedando listos para su correspondiente lectura al Espectrofotómetro de Absorción Atómica con horno de grafito.

- **Método: Digestión Asistida por Microondas:**

Fundamento: El presente método emplea la vibración de los enlaces de las moléculas de agua cuando estos son expuestos a la radiación Microondas generando calor y por ende la destrucción de la materia orgánica.

3.1.4.2. Determinación de Arsénico:

Se empleó una lámpara de cátodo hueco para arsénico a una longitud de onda de 193,7 nm con tubo de grafito con plataforma de L'vov, con corrección de fondo con Deuterio por generador de hidruro.

3.1.4.3. Determinación de Cadmio:

Se empleó una lámpara de cátodo hueco para cadmio, a una longitud de onda de 228,8nm con tubo de grafito con plataforma de L'vov, con corrección de fondo con Deuterio.

3.1.4.4. Determinación de Plomo:

Se empleó una lámpara de cátodo hueco para plomo, a una longitud de onda de 283,3nm con tubo de grafito con plataforma de L'vov, con corrección de fondo con Deuterio. La plataforma denominada L'vov es un accesorio que va dentro del tubo de grafito y es la facilita la lectura de los elementos metálicos volátiles.

IV. RESULTADOS:

Tabla 10: Concentraciones de Arsénico (mg/kg) en barras de chocolate adquiridas en el Centro Comercial Polvos Azules de Lima Metropolitana en el periodo Enero – Febrero del 2016 versus Codex Alimentarius.

| Nº | MARCA | ARSENICO(mg/Kg) | CODEX ALIMENTARIUS(mg/Kg) |
|----|------------------|-----------------|---------------------------|
| 1 | NOIR 70% CACAO | 0,21 | 1 |
| 2 | POBEDA 57% CACAO | 0,36 | 1 |
| 3 | LINDT | 0,28 | 1 |
| 4 | SCGOGETTEN | 0,27 | 1 |
| 5 | JUBILEN | 0,22 | 1 |
| 6 | MONTBLANC 30% | 0,38 | 1 |
| 7 | COSTA 62% | 0,47 | 1 |
| 8 | SALUT 50% | 0,33 | 1 |
| 9 | MILK | 0,21 | 1 |
| 10 | TORRAS | 0,27 | 1 |

Interpretación:

Todas las barras de chocolate adquiridas en el Centro Comercial Polvos Azules de Lima Metropolitana en el periodo Enero – Febrero del 2016 contienen concentraciones de Arsénico entre 0,21 mg/kg hasta 0,47 mg/kg, y comparándolas con el Codex Alimentarius (1mg/kg), no superan la concentración máxima permisible establecida por esta.

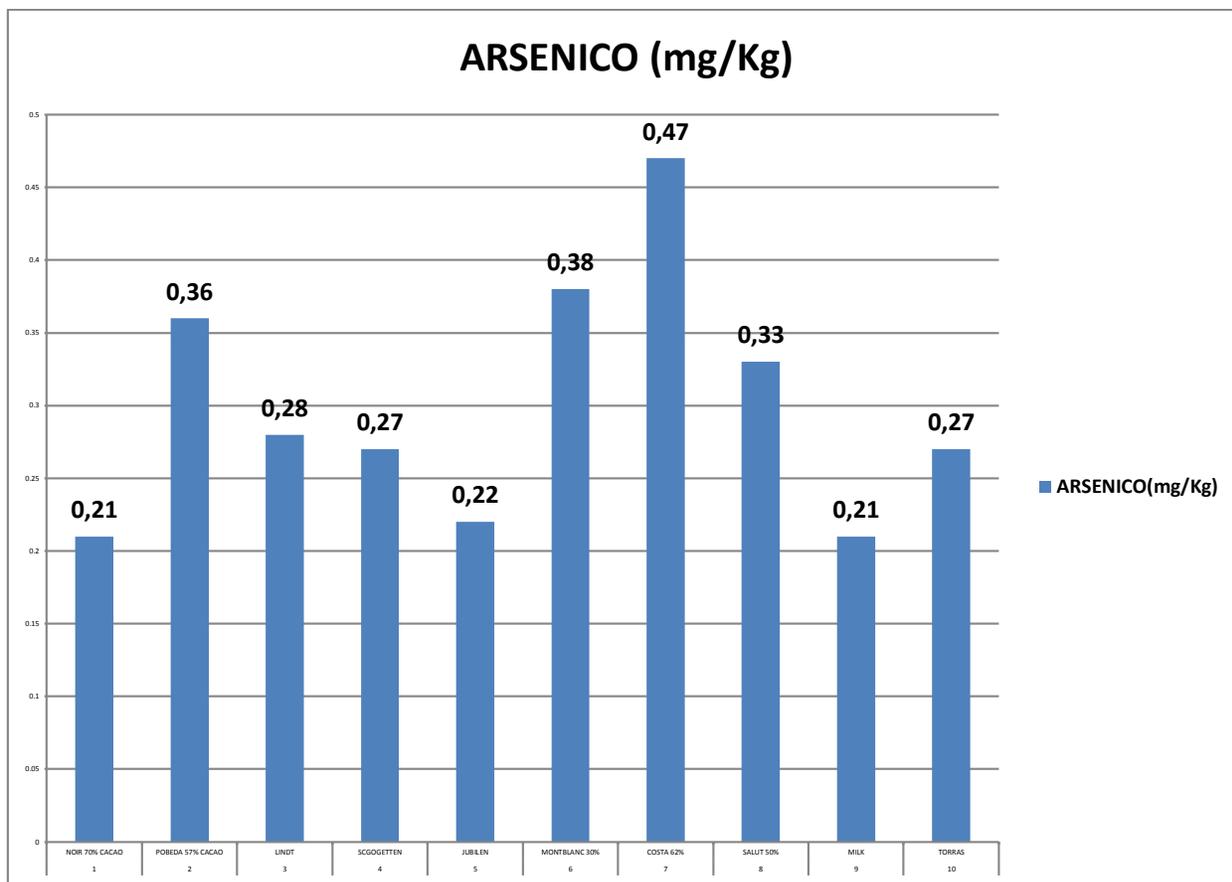


Figura 12: Concentraciones de Arsénico (mg/kg) en barras de chocolate adquiridas en el Centro Comercial Polvos Azules de Lima Metropolitana en el periodo Enero – Febrero del 2016.

Interpretación:

Entre las muestras analizadas, la muestra de la marca Costa contiene la mayor concentración de Arsénico (0,47 mg/kg) y las muestras de las marcas Noir y Milk contienen la menor concentración de Arsénico (0,21 mg/kg).

Tabla 11: Concentraciones promedio, máximo y mínimo de Arsénico (mg/kg) en barras de chocolate adquiridas en el Centro Comercial Polvos Azules de Lima Metropolitana en el periodo Enero – Febrero del 2016.

**CONCENTRACIONES PROMEDIO, MÁXIMO Y MÍNIMO DE ARSENICO (mg/kg)
EN BARRAS DE CHOCOLATE ADQUIDIDAS EN EL CENTRO COMERCIAL
POLVOS AZULES DE LIMA METROPOLITANA EN EL PERIODO DE ENERO -
FEBRERO 2016.**

| | |
|---|-------------|
| Concentración máxima de Arsénico (As) en mg/kg | 0,47 |
| Concentración mínima de Arsénico (As) en mg/kg | 0,21 |
| Concentración promedio de Arsénico (As) en mg/kg | 0,30 |

Interpretación:

Al analizar las muestras de las barras de chocolate, se obtuvo concentraciones de Arsénico que variaban desde 0,21 mg/kg hasta 0,47 mg/kg, con un promedio de 0,30 mg/kg.

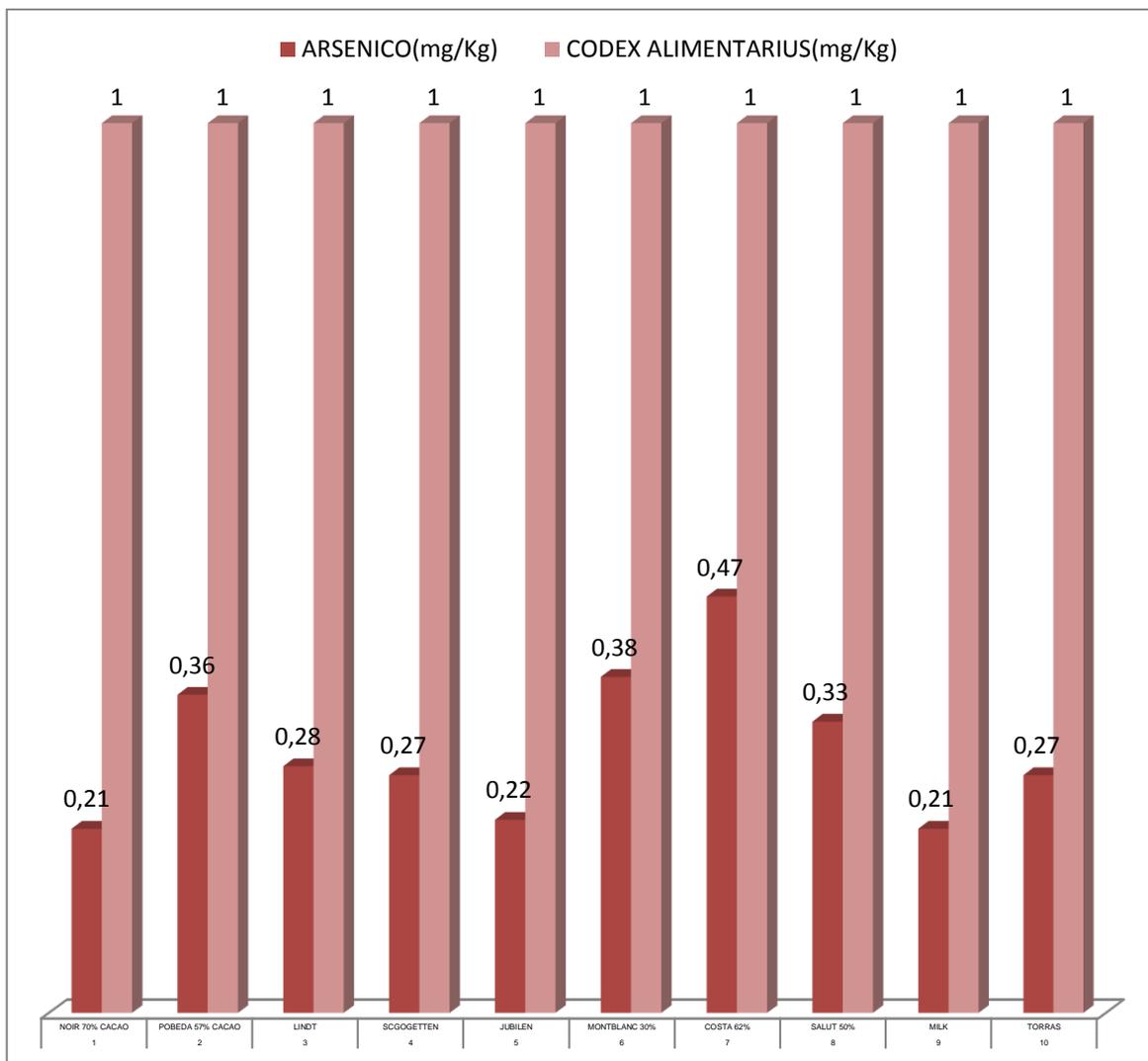


Figura 13: Concentraciones de Arsénico (mg/Kg) en barras de chocolate adquiridas en el Centro Comercial Polvos Azules de Lima Metropolitana en el periodo Enero – Febrero del 2016 versus Codex Alimentarius.

Interpretación:

Todas las barras de chocolate adquiridas en el Centro Comercial Polvos Azules de Lima Metropolitana en el periodo Enero – Febrero del 2016 contienen concentraciones de Arsénico entre 0,21 mg/kg hasta 0,47 mg/kg, y comparándolas con el Codex Alimentarius(1mg/kg), no superan la concentración máxima permisible establecida por esta.

Tabla 12: Concentraciones de Cadmio (mg/kg) en barras de chocolate adquiridas en el Centro Comercial Polvos Azules de Lima Metropolitana en el periodo Enero – Febrero del 2016 versus Codex Alimentarius.

| Nº | MARCA | CADMIO(mg/Kg) | CODEX ALIMENTARIUS(mg/Kg) |
|----|------------------|---------------|---------------------------|
| 1 | NOIR 70% CACAO | 0,31 | 1 |
| 2 | POBEDA 57% CACAO | 0,57 | 1 |
| 3 | LINDT | 0,22 | 1 |
| 4 | SCGOGETTEN | 0,46 | 1 |
| 5 | JUBILEN | 0,21 | 1 |
| 6 | MONTBLANC 30% | 0,35 | 1 |
| 7 | COSTA 62% | 0,51 | 1 |
| 8 | SALUT 50% | 0,33 | 1 |
| 9 | MILK | 0,23 | 1 |
| 10 | TORRAS | 0,28 | 1 |

Interpretación:

Todas las barras de chocolate adquiridas en el Centro Comercial Polvos Azules de Lima Metropolitana en el periodo Enero – Febrero del 2016 contienen concentraciones de Cadmio entre 0,21 mg/kg hasta 0,57 mg/kg, y comparándolas con el Codex Alimentarius(1mg/kg), no superan la concentración máxima permisible establecida por esta.

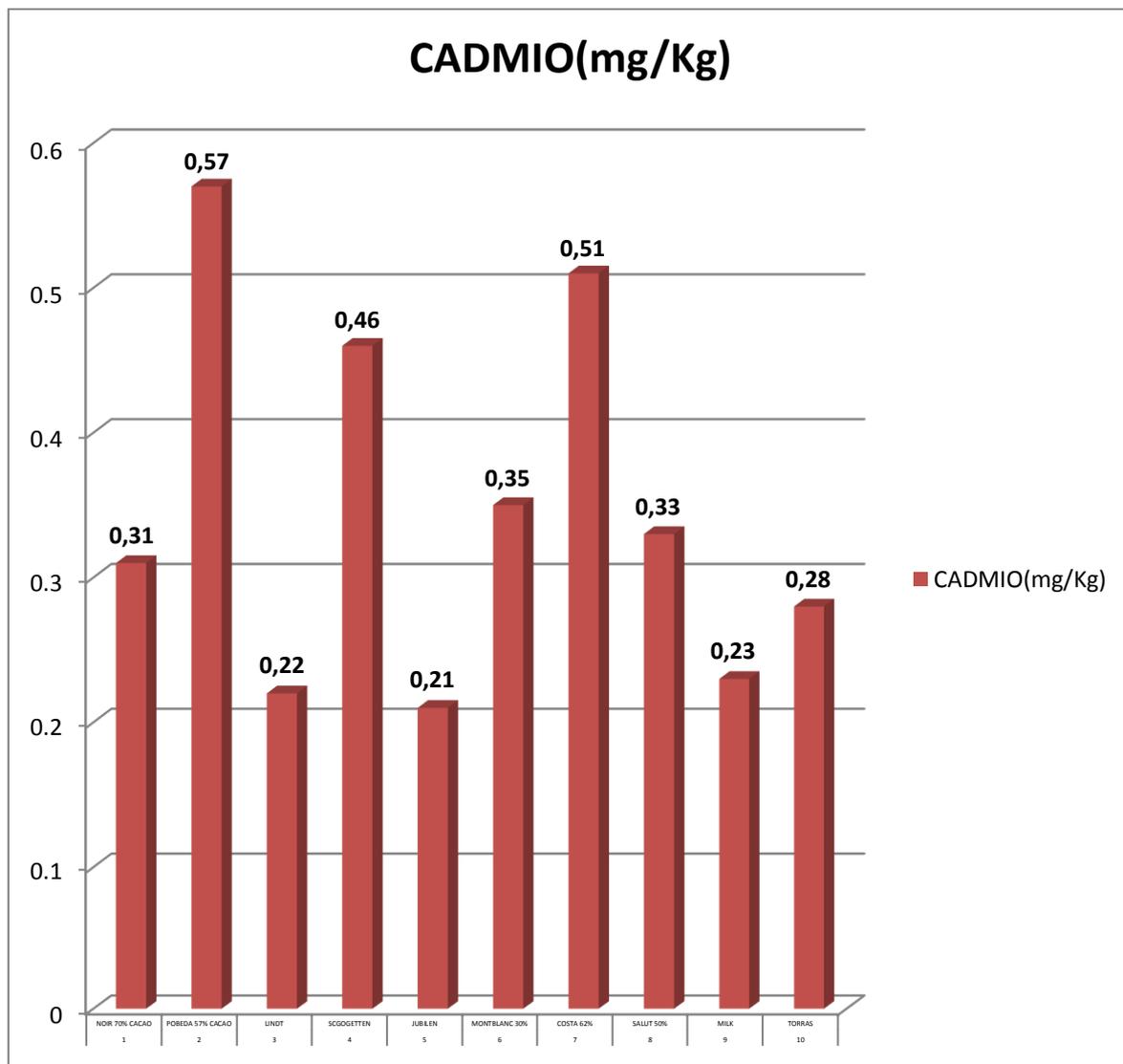


Figura 14: Concentraciones de Cadmio (mg/kg) en barras de chocolate adquiridas en el Centro Comercial Polvos Azules de Lima Metropolitana en el periodo Enero – Febrero del 2016.

Interpretación:

Entre las muestras analizadas, la muestra de la marca Probeda contiene la mayor concentración de Cadmio (0,57 mg/kg) y la muestra de la marca Jubilen contienen la menor concentración de Cadmio (0,21 mg/kg).

Tabla 13: Concentraciones promedio, máximo y mínimo de Cadmio (mg/kg) en barras de chocolate adquiridas en el Centro Comercial Polvos Azules de Lima Metropolitana en el periodo Enero – Febrero del 2016.

| CONCENTRACIONES PROMEDIO, MÁXIMO Y MÍNIMO DE CADMIO (mg/kg) EN BARRAS DE CHOCOLATE ADQUIRIDAS EN EL CENTRO COMERCIAL POLVOS AZULES DE LIMA METROPOLITANA EN EL PERIODO ENERO – FEBRERO DEL 2016. | |
|---|-------------|
| Concentración máxima de Cadmio (Cd) en mg/kg | 0,57 |
| Concentración mínima de Cadmio (Cd) en mg/kg | 0,21 |
| Concentración promedio de Cadmio (Cd) en mg/kg | 0,34 |

Interpretación:

Al analizar las muestras de las barras de chocolate, se obtuvo concentraciones de Cadmio que variaban desde 0,21 mg/kg hasta 0,47 mg/kg, con un promedio de 0,34 mg/kg.

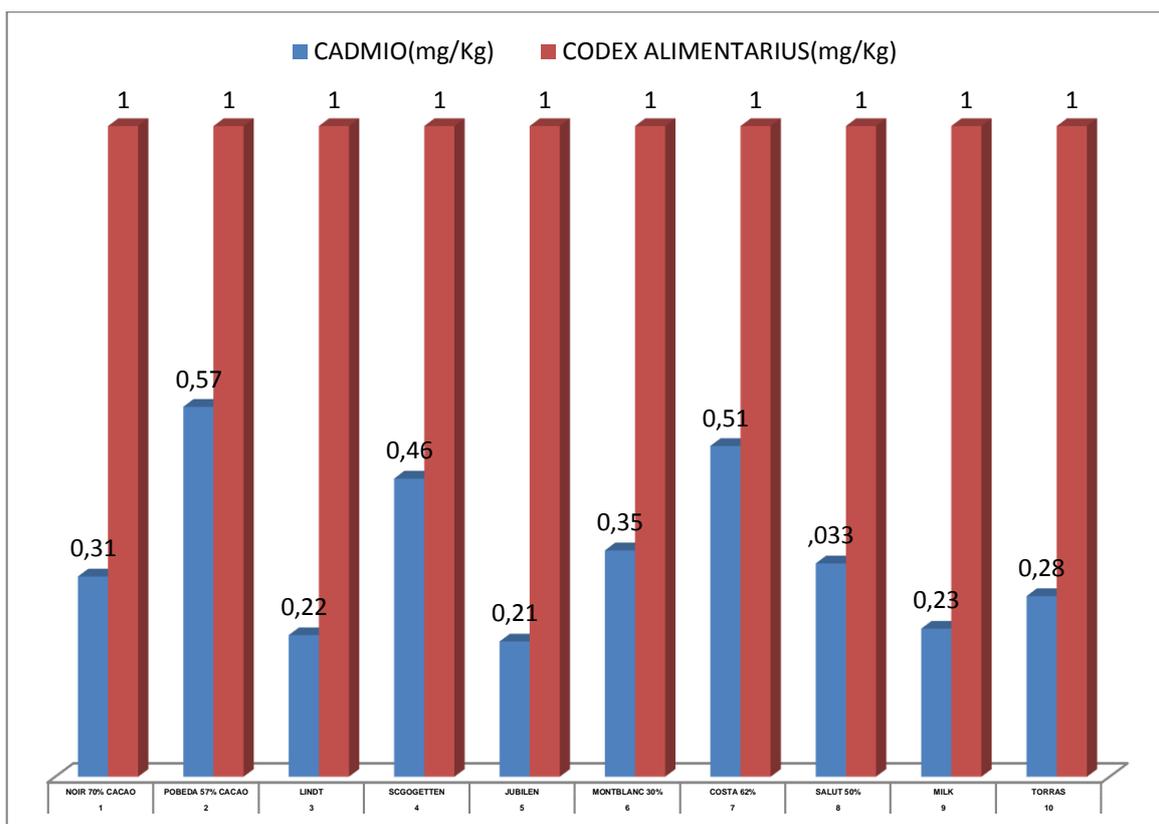


Figura 15: Concentraciones de Cadmio (mg/Kg) en barras de chocolate adquiridas en el Centro Comercial Polvos Azules de Lima Metropolitana en el periodo Enero – Febrero del 2016 versus Codex Alimentarius.

Interpretación:

Todas las barras de chocolate adquiridas en el Centro Comercial Polvos Azules de Lima Metropolitana en el periodo Enero – Febrero del 2016 contienen concentraciones de Cadmio entre 0,21 mg/kg hasta 0,57 mg/kg, y comparándolas con el Codex Alimentarius(1mg/kg), no superan la concentración máxima permisible establecida por esta.

Tabla 14: Concentraciones de Plomo (mg/kg) en barras de chocolate adquiridas en el Centro Comercial Polvos Azules de Lima Metropolitana en el periodo Enero – Febrero del 2016 versus Codex Alimentarius.

| Nº | MARCA | PLOMO(mg/Kg) | CODEX ALIMENTARIUS(mg/Kg) |
|-----------|-------------------------|---------------------|----------------------------------|
| 1 | NOIR 70% CACAO | 0,23 | 1 |
| 2 | POBEDA 57% CACAO | 0,21 | 1 |
| 3 | LINDT | 0,28 | 1 |
| 4 | SCGOGETTEN | 0,19 | 1 |
| 5 | JUBILEN | 0,16 | 1 |
| 6 | MONTBLANC 30% | 0,23 | 1 |
| 7 | COSTA 62% | 0,21 | 1 |
| 8 | SALUT 50% | 0,18 | 1 |
| 9 | MILK | 0,16 | 1 |
| 10 | TORRAS | 0,15 | 1 |

Interpretación:

Todas las barras de chocolate adquiridas en el Centro Comercial Polvos Azules de Lima Metropolitana en el periodo Enero – Febrero del 2016 contienen concentraciones de Plomo entre 0,15 mg/kg hasta 0,28 mg/kg, y comparándolas con el Codex Alimentarius(1mg/kg), no superan la concentración máxima permisible establecida por esta.

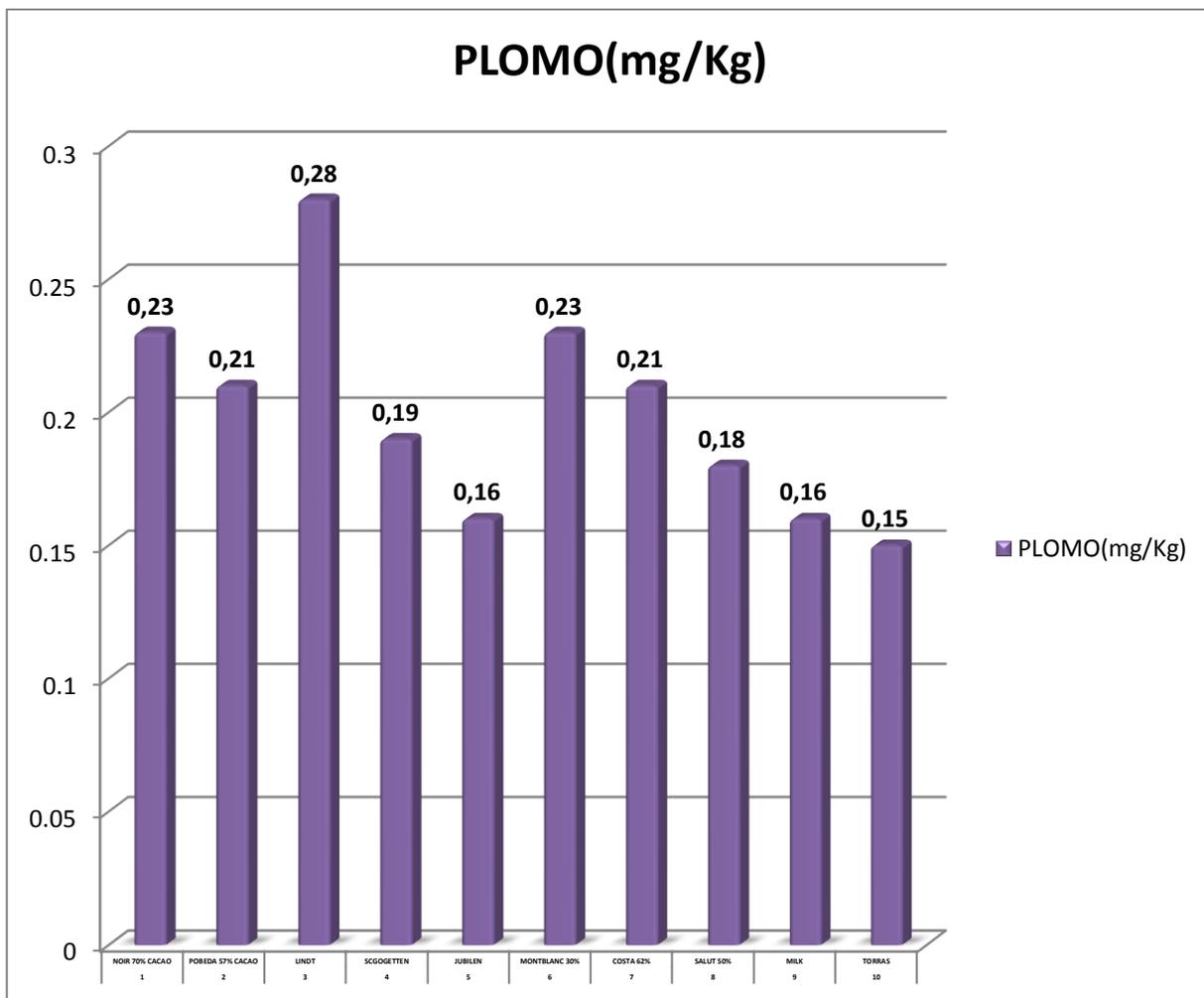


Figura 16: Concentraciones de Plomo (mg/kg) en barras de chocolate adquiridas en el Centro Comercial Polvos Azules de Lima Metropolitana en el periodo Enero – Febrero del 2016.

Interpretación:

Entre las muestras analizadas, la muestra de la marca Lindt contiene la mayor concentración de Plomo (0,28 mg/kg) y la muestra de la marca Torras contienen la menor concentración de Plomo (0,15 mg/kg).

Tabla 15: Concentraciones promedio, máximo y mínimo de Plomo (mg/kg) en barras de chocolate adquiridas en el Centro Comercial Polvos Azules de Lima Metropolitana en el periodo Enero – Febrero del 2016.

| CONCENTRACIONES PROMEDIO, MÁXIMO Y MÍNIMO DE PLOMO (mg/kg) EN BARRAS DE CHOCOLATE ADQUIRIDAS EN EL CENTRO COMERCIAL POLVOS AZULES DE LIMA METROPOLITANA EN EL PERIODO ENERO – FEBRERO DEL 2016. | |
|--|-------------|
| Concentración máxima de Plomo (Pb) en mg/kg | 0,28 |
| Concentración mínima de Plomo (Pb) en mg/kg | 0,15 |
| Concentración promedio de Plomo (Pb) en mg/kg | 0,20 |

Interpretación:

Al analizar las muestras de las barras de chocolate, se obtuvo concentraciones de Plomo que variaban desde 0,15 mg/kg hasta 0,28 mg/kg, con un promedio de 0,20 mg/kg.

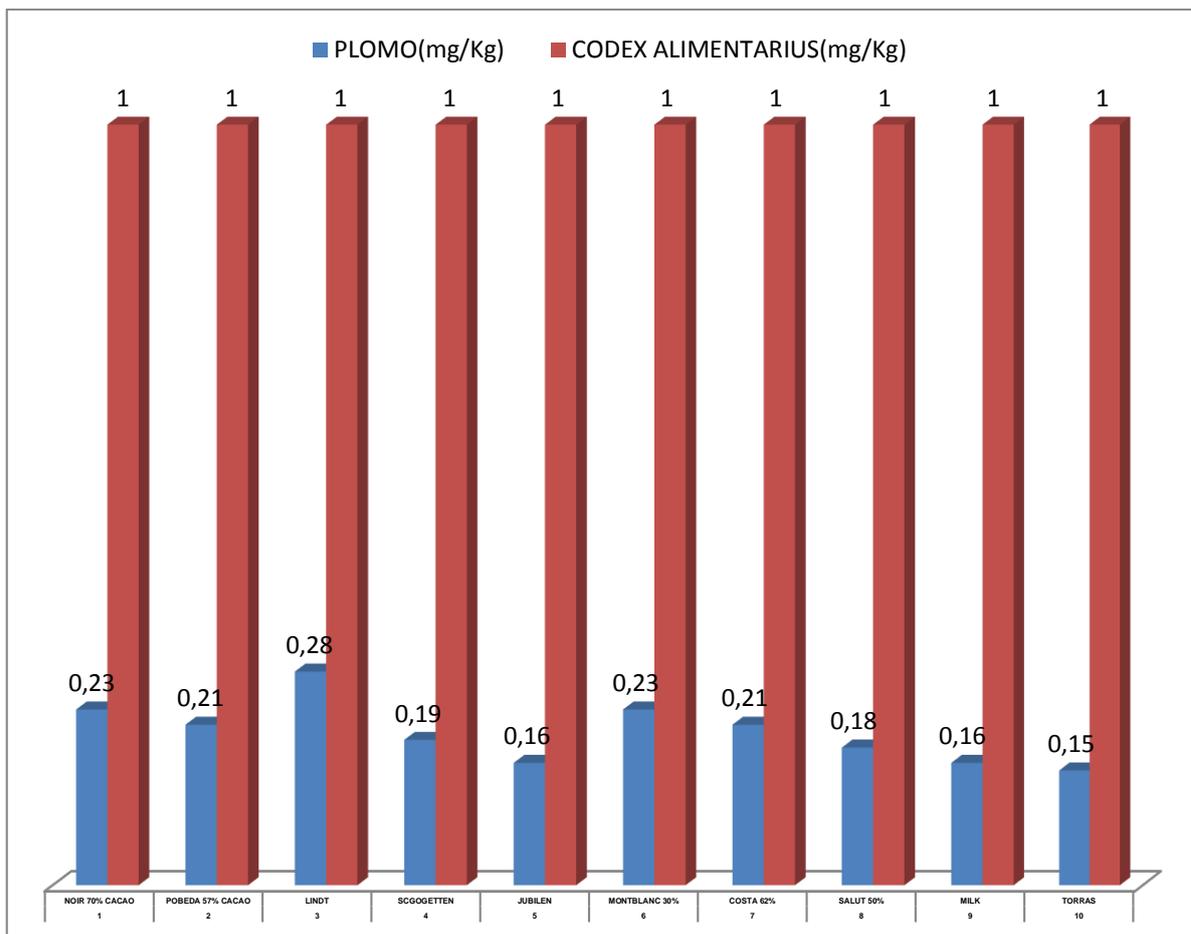


Figura 17: Concentraciones de Plomo (mg/Kg) en barras de chocolate adquiridas en el Centro Comercial Polvos Azules de Lima Metropolitana en el periodo Enero – Febrero del 2016 versus Codex Alimentarius.

Interpretación:

Todas las barras de chocolate adquiridas en el Centro Comercial Polvos Azules de Lima Metropolitana en el periodo Enero – Febrero del 2016 contienen concentraciones de Plomo entre 0,15 mg/kg hasta 0,28 mg/kg, y comparándolas con el Codex Alimentarius(1mg/kg), no superan la concentración máxima permisible establecida por esta.

V. DISCUSIÓN:

Se creyó conveniente realizar esta investigación porque estos metales pesados son causantes de múltiples trastornos y tienen un alto grado de toxicidad para los humanos y se sabe por estudios anteriores que el Arsénico, Cadmio y Plomo están presentes en los chocolates y que además existen factores que influyen en sus concentraciones tales como; la región geográfica del cultivo del cacao, el tratamiento con fertilizantes y las variedades vegetales.

En la presente tesis se determinó la concentración de arsénico, cadmio y plomo en barras de chocolate expendidas en el Centro Comercial Polvos Azules de Lima Metropolitana en el periodo enero – febrero del 2016, mediante el método de Espectrofotometría de Absorción Atómica con Generador de Hidruro para determinar arsénico y Horno de Grafito para determinar cadmio y plomo, abarcando las distintas marcas y variedades comercializadas, siendo 10 variedades de barras de chocolate.

En nuestro país no existe una norma técnica sobre la concentración máxima permitida de arsénico, cadmio y plomo, por lo tanto tomamos como marco de referencia las concentraciones máximas permisibles establecidas por la comisión del Codex Alimentarius para Arsénico, Cadmio y Plomo(1 mg/kg para cada metal).

En la Tabla 11 se puede observar que ninguna de las muestras supera el límite máximo permitido de arsénico emitido por la Comisión del Codex Alimentario (1 mg/kg), cumpliendo todas las muestras con dicha norma.

Analizando el resultado de nuestro estudio (Tabla 12) se obtuvo como promedio de la concentración de arsénico en las muestras de barras de chocolate 0,30 mg/Kg con cifras extremas de 0,21 mg/Kg y 0,47 mg/Kg.

En la Tabla 13 se puede observar que ninguna de las muestras supera el límite máximo permitido de cadmio emitido por la Comisión del Codex Alimentario (1 mg/kg), cumpliendo todas las muestras con dicha norma.

Analizando el resultado de nuestro estudio (Tabla 14) se obtuvo como promedio de la concentración de cadmio en las muestras de barras de chocolate 0,34 mg/Kg con cifras extremas de 0,21 mg/Kg y 0,57 mg/Kg.

En la Tabla 15 se puede observar que ninguna de las muestras supera el límite máximo permitido de plomo emitido por la Comisión del Codex Alimentario (1 mg/kg), cumpliendo todas las muestras con dicha norma.

Analizando el resultado de nuestro estudio (Tabla 16) se obtuvo como promedio de la concentración de plomo en las muestras de barras de chocolate 0,20 mg/Kg con cifras extremas de 0,15 mg/Kg y 0,28 mg/Kg.

Además se encontró concentraciones más elevadas de cadmio (0,57 mg/Kg) en las muestras de barras de chocolate comercializados en Polvos Azules de Lima Metropolitana que las concentraciones de arsénico (0,47 mg/kg) y de plomo (0,28 mg/Kg). Teniendo como referencia investigaciones realizadas en otros países podemos hacer un contraste en cuanto a los resultados obtenidos.

Comparando con el estudio que realizó Dahiya S. Karpe R. Hegde A.G. en la India, 2005, los valores hallados por ese estudio 0,049 mg/Kg hasta 0,804 mg/Kg con un promedio de 0,093 mg/Kg para plomo y 0,001 mg/Kg hasta 0,273 mg/Kg, con un promedio de 0,105 mg/kg para cadmio, presentan promedio mayor de concentración de plomo y menor de cadmio que el obtenido en este estudio.

Según Chukwujindu M. en Nigeria, 2011, se realizó un estudio y los resultados se presentan para el plomo 0,08 -2,3 mg/Kg y para cadmio 0,001-0,2 mg/Kg. Al ser comparados se encuentra que la concentración máxima de plomo fue mayor y de cadmio menor que el obtenido en el presente estudio.

Comparando los resultados de los valores promedios encontrados en esta investigación con las demás estudios que se han realizado, se logra demostrar la presencia de arsénico, cadmio y plomo en los chocolates comercializados en Polvos Azules de Lima Metropolitana. Queda demostrado que una de las principales fuentes de contaminación es la presencia de metales en los suelos de cultivo de la planta de cacao (Huamaní Y.H. Perú, 2012), donde los valores

promedio de arsénico, cadmio y plomo encontrados en los suelos fueron 0,67 , 0,53 y 3,02 mg/Kg, y que los niveles de estos metales en el chocolate están fuertemente relacionados con los niveles habidos previamente en la materia prima, es decir, las semillas (Sánchez J.A. Honduras, 2011), donde 42,8% de las muestras de semilla tuvieron concentraciones arriba de 0,4 mg/kg de cadmio, por lo que no se debe perder de vista el control exhaustivo y minucioso en esta clase de productos que son blanco fácil de contaminación por estos metales, y pueden significar un alto riesgo para la salud del consumidor

VI. CONCLUSIONES:

Las muestras de chocolate contienen una concentración de Arsénico promedio de 0,30 mg/kg, de las cuales, la marca Costa, es la que contiene la máxima concentración encontrada (0,47mg/kg) y las marcas Noir y Milk son las que contienen la concentración mínima encontrada (0,21mg/kg); en donde el 100% de las muestras de barras de chocolate adquiridas en el centro comercial de Polvos Azules de Lima Metropolitana en el periodo de Enero – Febrero 2016 contienen concentraciones de Arsénico y no superan la concentración máxima establecida por el Codex Alimentario (1 mg/kg)

Las muestras de chocolate contienen una concentración de Cadmio promedio de 0,34 mg/kg, de las cuales, la marca Pobeda, es la que contiene la máxima concentración encontrada (0,57mg/kg) y la marca Jubilen es la que contiene la concentración mínima encontrada (0,21mg/kg); en donde el 100% de las muestras de barras de chocolate adquiridas en el centro comercial de Polvos Azules de Lima Metropolitana en el periodo de Enero – Febrero 2016 contienen concentraciones de Cadmio y no superan la concentración máxima establecida por el Codex Alimentario (1 mg/kg)

Las muestras de chocolate contienen una concentración de Plomo promedio de 0,20 mg/kg, de las cuales, la marca Lindt, es la que contiene la máxima concentración encontrada (0,28 mg/kg) y la marca Torras es la que contiene la concentración mínima encontrada (0,15mg/kg); en donde el 100% de las muestras de barras de chocolate adquiridas en el centro comercial de Polvos Azules de Lima Metropolitana en el periodo de Enero – Febrero 2016 contienen concentraciones de Plomo y no superan la concentración máxima establecida por el Codex Alimentario (1 mg/kg)

VII. RECOMENDACIONES:

Se debería crear una Norma Técnica en el Perú, en la cual se determine los límites máximos permisibles de plomo y cadmio en los chocolates fabricados en el país, con el fin de llevar un mayor y mejor control en la comercialización de estos, y asegurar así que sean inocuos y seguros para el consumo de la población.

El ministerio de agricultura debe diseñar e implementar una política de reducción de metales pesados en chocolates, ya que estos son alimentos de alto consumo siendo los niños la población mayoritaria. En nuestro país hay concursos para el mejor cacao del Perú, en busca de calidad en cuanto a su sabor y aroma, lo mismo se debe hacer en cuanto a su contenido de metales pesados.

Realizar futuras investigaciones para determinar la presencia de otros metales pesados como el Talio, Mercurio, etc., que pudieran también estar presentes en los chocolates como contaminantes.

Tener en cuenta el lugar de procedencia de los chocolates ya que queda demostrado que la contaminación por plomo y cadmio en este producto está vinculado con la cantidad de éste en los suelos de cultivo de Cacao, para esto se debe informar y concientizar a las cooperativas y los productores de cacao sobre la importancia de su adecuado cultivo, cosecha, post cosecha y procesos que terminan con el almacenaje para obtener productos de calidad.

La fábrica de procesamiento de chocolates debe contar con detectores de metales usados en el proceso de fabricación.

El chocolate, y todos los productos derivados del cacao, han sido puestos en valor como nutracéuticos por su contenido de antioxidantes y otros elementos favorables a la salud humana, lo que se sustenta en diversos estudios científicos, por lo tanto se recomienda consumir chocolates libre de contaminantes y aditivos.

VIII. GLOSARIO:

1. Cacao en grano: Semilla proveniente del fruto del árbol *Theobroma cacao*, limpio y seco.

2. Espectrometría de absorción atómica: Es la rama del análisis instrumental en el cual un elemento es atomizado en forma tal que permite la observación, selección y medida de su espectro de absorción.

3. Fertilizantes: Sustancias naturales o sintéticas que se añaden al suelo o a la planta para poner a su disposición las sustancias nutritivas para su desarrollo.

4. Límite máximo: Es la cantidad establecida de aditivos, microorganismos, parásitos, materia extraña, plaguicidas, metales pesados y metaloides, entre otros, que no se debe exceder en un alimento, bebida o materia prima.

5. Manteca de cacao: Es la grasa producida de una o más de las siguientes fuentes: granos de cacao, licor de cacao, torta de cacao y aquella extraída mediante procesos mecánicos y/o por la vía de solventes permitidos, de la torta o polvo de cacao fino.

6. Metales pesados: Son aquellos cuya densidad es por lo menos cinco veces mayor que la del agua. El término de metal pesado refiere a cualquier elemento químico metálico que tenga una relativa alta densidad y sea tóxico o venenoso en concentraciones bajas. Su toxicidad depende de las dosis en que se ingieran, así como de su acumulación en el organismo.

7. Plaguicida, Se entiende por plaguicida cualquier sustancia o mezcla de sustancias que se destina a controlar cualquier plaga, incluidos los vectores que transmiten las enfermedades humanas y de animales, las especies no deseadas que causen perjuicio o que interfieran en el proceso de los productos.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Codex Alimentario. Norma para el chocolate y los productos del chocolate (CODEX STAN 87-1981, Rev.1-2003).
2. Dahiya S, Karpe R, Hegde AG, Sharma RM. El plomo, el cadmio y el níquel en chocolates y dulces de las zonas suburbanas de Mumbai, India. Diario de Composición y Análisis de Alimentos. [Internet]. Setiembre 2005 [Fecha de acceso: 18 de setiembre de 2015];18(6).Disponible en:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0889157504000900>
3. Chukwujindu M. Las concentraciones de metales seleccionados de dulces y chocolates que se consumen en el sur de Nigeria. Aditivos y contaminantes en alimentos [Internet] 2011[Fecha de acceso: 18 de setiembre de 2015]4(1).Disponible en:
<http://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/19393210.2011.551943>
4. Sánchez JA. Determinación del contenido de metales pesados tóxicos (Cadmio y Plomo) en granos de cacao. Programa de cacao y Agroforestería: Informe técnico 2011. Fundación Hondureña de investigación agrícola. 1^{ra} ed.[Internet]. Marzo 2012. [Fecha de acceso: 18 de setiembre de 2015]Disponible en:
http://www.fhia.org.hn/downloads/informes_tecnicos/Inf_Tec_Cacao2011.pdf
5. Huamaní YH, Huauya RM, Mansilla ML, Florida RN, Neira TG. Presencia de metales pesados en cultivo de Cacao (*Theobroma cacao L.*) orgánico. Acta Agronómica. Universidad Nacional Colombia. [Internet]. 2012 [Fecha de acceso: 18 de setiembre de 2015] 61(4)Disponible en:
http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt&pid=S0120-28122012000400006
6. Arias M, Hardenack C, Tiramonti F. La Gaceta Alimentaria: Seminario de cacao y chocolate. Cátedra de Bromatología. Universidad de Buenos Aires. [Internet] Abril 2009[Fecha de acceso: 21 de setiembre de 2015], Disponible en:
<http://www.businessnewsletters.com.ar/G11-Seminario.htm>

7. Montes AL. Bromatología: El cacao y sus derivados. Botánica, tecnología, composición y propiedades. 2^{da}. ed. Buenos Aires: Eudeba. 1991.
8. Aguirre M. Clasificación Botánica del Cacao. Centro de Comercio Internacional UNCTAD/GATT. 1991.
9. Plantas medicinales de la Amazonía Peruana. Instituto de medicina tradicional. Iquitos-Perú. 1995 pág. 64-65.
10. Bravo DL, Marhuendo RE. Farmacognosia: Cacao. España: Elsevier. 2003. p 67-8.
11. Astuhuaman BL. Estudios farmacognósticos de especies vegetales de la Selva. Universidad Norbert Wiener. Lima .2007.
12. Augstburger F, Berger J, Censkowsky U, Heid P, Milz J, Streit C. Producción Orgánica de Cacao. Agricultura Orgánica en el Trópico y Subtrópico. Asociación Naturland. [Internet] 2000. [Consultado el 25 de agosto de 2015.] URL Disponible en:
<http://www.naturland.de/fileadmin/MDB/documents/Publication/Espanol/cacao.pdf>
13. Quintero RM, Díaz MK. El mercado mundial del cacao. Agroalimentaria. Universidad de los Andes. Facultad de Ciencias Económicas y Sociales. Venezuela [Internet] 2004. [Fecha de acceso: 28 de agosto de 2015.]9(18) Disponible en:
http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S131603542004000100004&script=sci_ar ttext
14. Delgado SP, García MK. Determinación y comparación de las concentraciones de plomo en papa (*Solanum tuberosum*) cosechada en las zonas aledañas de la mina Pierina del distrito de Jangas, provincia de Huaraz. Universidad Norbert Wiener. Lima. 2013.
15. Evans WC. Farmacognosia: Alcaloides. 13^{ava} ed. México: Mc Graw Hill. 1991.
16. Augstburger F, Berger J, Censkowsky U. Agricultura Orgánica en el Trópico y Subtrópico: Producción Orgánica de Cacao; 2000.

17. Bruneton J. Farmacognosia. Fitoquímica: Plantas Medicinales. 2^{da} ed. España: Acribia.
18. Díaz H. El cacao. Beneficios del chocolate. Chile [Internet] febrero 2012.[Fecha de acceso: 30 de agosto de 2015.]URL Disponible en:
<http://www.biobiochile.cl/2012/02/19/6-beneficios-del-chocolate-que-pueden-cambiar-tu-vida.shtml>
19. Allen RR, Carson LA, Kwik UC, Evans EM, Erdman JW. Daily Consumption of a Dark Chocolate Containing Flavanols and Added Sterol Esters Affects Cardiovascular Risk Factors in a Normotensive Population with Elevated Cholesterol. American Society for Nutrition. The journal of nutrition [Internet] April 2008. [Fecha de acceso: 30 de agosto de 2015.]v. 138 n. 4 Pág. 725-731URL Disponible en:
<http://jn.nutrition.org/content/138/4/725.long>
20. Scholey A, Owen L. Effects of chocolate on cognitive function and mood: a systematic review. International Life Sciences Institute. Wiley Online Library. [Internet] October 2013 [Fecha de acceso: 9 de setiembre de 2015.]v. 71 n. 10, Pág 665–681URL Disponible en:
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/nure.12065/abstract;jsessionid=05A1B71D6E57C8183721D230D50448E7.f01t02>
21. Potter NN, Hotchkiss JH. Ciencia de los alimentos: Productos de confitería y chocolates. España: Acribia. 1995.
22. Chocolates. Requisitos. 1^{era} ed. Norma técnica Ecuatoriana NTE INEN 621:2010 Tercera revisión. Instituto Ecuatoriano de Normalización.
23. Productos de Cacao. Determinación de plomo, cadmio, cobre, hierro y zinc. Norma Técnica Peruana (NTP 208.030: 2012). 2^{da} ed.
24. Perfil de Mercado y competitividad exportadora del Cacao. Mincetur.gob.pe

25. Sotomayor CM. Estudio del Mercado Interno para determinación y caracterización del Consumo actual y potencial de Derivados Industriales del Cacao. Informe Final de Consultoría. Ministerio de Agricultura. [Internet] Setiembre 2009[Fecha de acceso: 9 de setiembre de 2015] Disponible en:

http://agroaldia.minag.gob.pe/biblioteca/download/pdf/manuales-boletines/cacao/mercado_cacao.pdf

26. Bejarano IE, Bravo AM, Huamán DM, Huapaya HC, Roca NA, Rojas CE. Centro Nacional de Alimentación y Nutrición. Lima: Ministerio de Salud; 2002.

27. Bataller SR. Toxicología clínica: Intoxicaciones por metales pesados. Universidad de Valencia: Romeu; 2004. p. 171-90.

28. Sección de Toxicología Ambiental. México DF: Centro de Investigación y Estudio México DF, 2009.

29. Protocolos para el manejo del paciente intoxicado. Ministerio de salud: Red de información toxicológica y alerta. Santiago de Chile; 2001

30. Rubio AC. Ingesta dietética de contaminantes metálicos (Hg, Pb, Cd, Fe, Cu, Zn y Mn) en la Comunidad Autónoma Canaria. Evaluación toxicológica. Universidad de la laguna. Departamento de Pediatría, Obstetricia, Ginecología y Medicina Preventiva [Internet] [Fecha de acceso: 16 de setiembre de 2015.] Disponible en: <ftp://tesis.bbt.ull.es/ccppytec/cp185.pdf>

31. Ramírez A. Toxicología del cadmio. Conceptos actuales para evaluar exposición ambiental u ocupacional con indicadores biológicos. Anales de la Facultad de Medicina. Universidad Nacional Mayor de San Marcos [Internet] 2002 [Fecha de acceso: 16 de setiembre de 2015.] 63(1):51-64. Disponible en:

<http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/anales/article/download/1477/1260>

32. Ubillus LJ. Estudio sobre la presencia del plomo en el medio ambiente de Talara en el año 2003. Tesis Digitales UNMSM. Lima-Perú. [Internet] [Fecha de acceso: 12 de setiembre de 2015.] Disponible en: http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtualdata/tesis/ingenie/ubillus_lj/cap2.pdf
33. Poma P. Intoxicación por plomo en humanos. Anales de la Facultad de Medicina.[Internet] 2008.[Fecha de acceso: 14 de setiembre de 2015.]v. 69 n.2Pág.120-126. Disponible en:
<http://www.scielo.org.pe/pdf/afm/v69n2/a11v69n2.pdf>
34. Cortez TM, Quintana MD. Determinación de plomo en tintes de cabello comercializados en cercado de Lima. Universidad Norbert Wiener.2013.
35. Hernández HA. Determinación de metales pesados en suelos de Natividad, Ixtlán de Juárez Oaxaca. Universidad de la Sierra Juárez. [Internet] Junio 2011[Fecha de acceso: 16 de setiembre de 2015.] Disponible en:
<http://www.unsij.edu.mx/tesis/digitales/4.%20ADELA%20HERNANDEZ%20HERNANDEZ.pdf>
36. Félix BI, Mite F, Carrillo M, Pino M. Avances de investigación del proyecto determinación de metales contaminantes en cultivos de exportación y su repercusión sobre la calidad de los mismos. VIII Congreso Ecuatoriano de la Ciencia del Suelo.[Internet] [Fecha de acceso: 16 de setiembre de 2015.] Disponible en:
[http://www.secsuelo.org/VIIICongreso/Plenaria/Manejo%20de%20Suelos/5-%20Determinacion%20de%20metales%20contaminantes%20\(Felix%20I\).pdf](http://www.secsuelo.org/VIIICongreso/Plenaria/Manejo%20de%20Suelos/5-%20Determinacion%20de%20metales%20contaminantes%20(Felix%20I).pdf)
37. Valdivia IM. Intoxicación por plomo. Revista social peruana de medicina interna. 2005;18(1):26
38. Ramírez AV. El cuadro clínico de la intoxicación ocupacional por plomo. Anales de la Facultad de medicina.2005;66(1)

39. Valls O, Del Castillo B. Técnicas Instrumentales en farmacia y ciencias de la salud: Espectroscopía de Absorción Atómica. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco. México: Comunicación gráfica. 2002.

40. Espectroscopia atómica: El Principio analítico. Merck Millipore. Alemania.[Internet] 2014 [Fecha de acceso: 16 de octubre de 2015] Disponible en:

http://www.merckmillipore.es/chemicals/the-analytical-principle/c_K2eb.s1OFCYAAAE dye1RbT2M?CountryName=Spain

41. USP/NF 2014 (USP37/NF32).Capitulos generales. Pruebas y Determinaciones Físicas.<852> Espectroscopia de Absorción Atómica. 2014

ANEXO 1:

HOJA DE DATOS PARA RECOLECCION DE MUESTRA.

| Nro | Datos para recolección de barras de Chocolate | | | | |
|-----|---|--------------|-------------|-------------------|--------------------|
| | Marca Comercial | Presentación | Procedencia | Fecha Vencimiento | Registro Sanitario |
| 1 | NOIR 70% CACAO | 100 GR | SUIZA | AGOSTO 2016 | G8000615E |
| 2 | PROBEDA 57% CACAO | 65 GR | RUSIA | JUNIO 2016 | G8900315E |
| 3 | LINDT | 100 GR | SUIZA | NOVIEMBRE 2016 | G8800613E |
| 4 | SCHOGETTEN | 100 GR | ALEMANIA | OCTUBRE 2016 | G8553515E |
| 5 | JUBILEN | 100 GR | PORTUGAL | AGOSTO 2016 | G8352314E |
| 6 | MONTBLANC 30% | 90 GR | COLOMBIA | NOVIEMBRE 2016 | G8900713E |
| 7 | COSTA 62% | 100 GR | CHILE | SETIEMBRE 2016 | G8201015E |
| 8 | SALUT 50% | 100 GR | CHILE | AGOSTO 2016 | G8900612E |
| 9 | MILK MILKA | 100 GR | SUIZA | JULIO 2016 | G8576113E |
| 10 | TORRAS | 75 GR | ESPAÑA | JULIO 2016 | G8710324E |
| 11 | | | | | |
| 12 | | | | | |
| 13 | | | | | |
| 14 | | | | | |
| 15 | | | | | |
| 16 | | | | | |
| 17 | | | | | |
| 18 | | | | | |
| 19 | | | | | |
| 20 | | | | | |

ANEXO 2

REACTIVOS, MATERIALES Y EQUIPOS

❖ Reactivos:

- ✓ Agua ultra pura Tipo I, usada para la preparación de reactivos y limpieza de los materiales de vidrio.
- ✓ Ácido nítrico ultra puro 65%.
- ✓ Ácido clorhídrico ultra puro 33%.
- ✓ Solución stock: 1 000mg/L de plomo como $\text{As}(\text{NO}_3)_3$
- ✓ Solución stock: 1 000mg/L de plomo como $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$
- ✓ Solución stock: 1 000mg/L de plomo como $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$

❖ Materiales:

- ✓ Fiolas de vidrio Clase A de 25mL.
- ✓ Fiolas de vidrio Clase A de 100 mL.
- ✓ Pipetas automáticas de 100uL – 1000 uL
- ✓ Pipetas automáticas de 500uL – 5000uL
- ✓ Tips de 100uL – 1000uL
- ✓ Tips de 500uL – 5000uL
- ✓ Tubos cónicos de propileno.
- ✓ Filtro 0,45 μm .
- ✓ Vaso de precipitado de 250mL clase A.

❖ Equipos:

- ✓ Campana extractora marca Labconco.
- ✓ Balanza electrónica (0,001mg) marca Sartorius.
- ✓ Espectrofotómetro de Absorción Atómica con Horno de grafito de marca Perkin Elmer.
- ✓ Digestor Asistido por Microondas marca Mars.