



UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES

CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

“ESTUDIO DE LA CONCENTRACIÓN DE METALES PESADOS EN LOS PRINCIPALES RUBROS AGRÍCOLAS DE LA ASOCIACIÓN LLACTA PURA DE LA PROVINCIA DE IMBABURA”

Tesis previa a la obtención del título de Ingeniero Agroindustrial

Autor: Bryan Andrés Guzmán García

Director(a): Ing. Rosario del Carmen Espín Valladares, MSc.

Ibarra – Ecuador

2019



UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y
AMBIENTALES

CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

**“ESTUDIO DE LA CONCENTRACIÓN DE METALES PESADOS EN
LOS PRINCIPALES RUBROS AGRÍCOLAS DE LA ASOCIACIÓN
LLACTA PURA DE LA PROVINCIA DE IMBABURA”**

Tesis revisada por miembros del tribunal, por lo cual se autoriza su presentación
como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGROINDUSTRIAL

APROBADA:

Ing. Rosario Espín, MSc.

DIRECTORA DE TESIS


.....
FIRMA

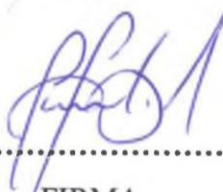
Ing. Marco Lara, MSc.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL


.....
FIRMA

Ing. Marcelo Albuja, MSc.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL


.....
FIRMA

Ing. Doris Chalampunte, MSc.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL


.....
FIRMA



UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

BIBLIOTECA UNIVERSITARIA

AUTORIZACIÓN DE USO Y PUBLICACIÓN A FAVOR DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

1. IDENTIFICACIÓN DE LA OBRA

La Universidad Técnica del Norte dentro del proyecto Repositorio Digital Institucional, determinó la necesidad de disponer de textos completos en formato digital con la finalidad de apoyar los procesos de investigación, docencia y extensión de la Universidad.

Por medio del presente documento dejo sentada mi voluntad de participar en este proyecto, para lo cual pongo a disposición la siguiente información:

DATOS DE CONTACTO	
CÉDULA DE IDENTIDAD:	040187085-2
APELLIDOS Y NOMBRES:	Guzmán García Bryan Andrés
DIRECCIÓN:	Av. 13 de abril 4-84 e Ibarra
EMAIL:	gbryan692@gmail.com
TELÉFONO MÓVIL:	0989169973
DATOS DE LA OBRA	
TÍTULO:	“ESTUDIO DE LA CONCENTRACIÓN DE METALES PESADOS EN LOS PRINCIPALES RUBROS AGRÍCOLAS DE LA ASOCIACIÓN LLACTA PURA DE LA PROVINCIA DE IMBABURA”
AUTOR:	Guzmán García Bryan Andrés
FECHA:	27-02-2019
PROGRAMA:	X PREGRADO POSGRADO
TÍTULO POR EL QUE OPTA:	Ingeniero Agroindustrial
DIRECTORA:	Ing. Rosario Espín, MSc.

2. AUTORIZACIÓN DE USO A FAVOR DE LA UNIVERSIDAD

Yo, Bryan Andrés Guzmán García, con cédula de identidad Nro. 040187085-2, en calidad de autor y titular de los derechos patrimoniales de la obra o trabajo de grado descrito anteriormente, hago entrega del ejemplar respectivo en formato digital y autorizo a la Universidad Técnica del Norte, la publicación de la obra en el Repositorio Digital Institucional y uso del archivo digital en la Biblioteca de la Universidad con fines académicos, para ampliar la disponibilidad del material y como apoyo a la educación, investigación y extensión; en concordancia con la Ley de Educación Superior Artículo 144.

3. CONSTANCIAS

El autor manifiesta que la obra objeto de la presente autorización es original y se la desarrolló, sin violar derechos de autor de terceros, por lo tanto, la obra es original y que es el titular de los derechos patrimoniales, por lo que asume la responsabilidad sobre el contenido de la misma y saldrá en defensa de la Universidad en caso de reclamación por parte de terceros.

Ibarra, a los 27 días del mes de febrero del 2019

Autor:



Bryan Andrés Guzmán García

C.C. 040187085-2

CERTIFICACIÓN

Certifico que el presente trabajo fue desarrollado por el Sr. Bryan Andrés Guzmán García, con cédula de ciudadanía Nro. 040187085-2 bajo mi supervisión.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Rosario Espín', is positioned above the printed name of the director.

Ing. Rosario Espín Valladares, MSc.

DIRECTOR(A) DE TESIS



CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR DEL TRABAJO DE GRADO A FAVOR DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

Yo, Bryan Andrés Guzmán García, con cédula de identidad Nro. 040187085-2, manifiesto mi voluntad de ceder a la Universidad Técnica del Norte los derechos patrimoniales consagrados en la Ley de Propiedad Intelectual del Ecuador, artículos 4, 5 y 6, en calidad de autor de la obra o trabajo de grado denominado: **“ESTUDIO DE LA CONCENTRACIÓN DE METALES PESADOS EN LOS PRINCIPALES RUBROS AGRÍCOLAS DE LA ASOCIACIÓN LLACTA PURA DE LA PROVINCIA DE IMBABURA”**, que ha sido desarrollado para optar por el título de: **Ingeniero Agroindustrial** en la Universidad Técnica del Norte, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente. En mi condición de autor me reservo los derechos morales de la obra antes citada. En concordancia suscribo este documento en el momento que hago entrega del trabajo final en formato impreso y digital a la Biblioteca de la Universidad Técnica del Norte.

Ibarra, a los 27 días del mes de febrero del 2019.

Autor:

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Bryan Guzmán", is written over a horizontal line.

Bryan Andrés Guzmán García

CC. 040187085-2

DECLARACIÓN

Manifiesto que la presente obra es original y se la desarrolló, sin violar derechos de autor de terceros, por lo tanto, es original y que soy el titular de los derechos patrimoniales; por lo que asumo la responsabilidad sobre el contenido de la misma y saldré en defensa de la Universidad Técnica del Norte en caso de reclamación por parte de terceros.

Ibarra, a los 27 días del mes de febrero del 2019

Autor:



Bryan Andrés Guzmán García

CC. 040187085-2

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, agradezco a Dios, por darme la oportunidad de vivir, la sabiduría y darme valor espiritual para seguir creciendo como ser humano.

A la Facultad de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias y Ambientales de la Universidad Técnica del Norte y a todos los profesores de la misma por guiarme y brindarme sus enseñanzas.

Así mismo, deseo expresar mi reconocimiento a la PREFECTURA DE IMBABURA por facilitarme las herramientas y el apoyo técnico brindado durante la fase de campo de la investigación. De igual manera agradezco enormemente a la Asociación Llacta Pura por el financiamiento de la investigación.

A mi madre, por apoyarme en todo lo necesario, por el esfuerzo y sacrificio e impulsarme para que pueda alcanzar un logro más en mi vida.

A mi familia, que gracias a sus consejos me persuadieron siempre por el camino correcto.

A mi hermana, amigos y familiares gracias infinitas por toda su ayuda y buena voluntad.

A mi novia, por estar presente, acompañándome y brindarme su apoyo, cariño y confianza durante todo este trayecto.

A mi directora de Tesis: Ing. Rosario Espín, por su ayuda invaluable, apoyo incondicional y desinteresado para la culminación de la presente investigación.

Mi sincero agradecimiento a mis asesores de Tesis: Ing. Marcelo Albuja, Ing. Doris Chalampunte e Ing. Marco Lara quienes dirigieron y asesoraron de manera desinteresada y oportuna.

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE FIGURAS.....	iv
ÍNDICE DE TABLAS	vi
ÍNDICE DE ANEXOS.....	vii
RESUMEN.....	viii
ABSTRACT.....	ix
CAPÍTULO I.....	1
INTRODUCCIÓN	1
1.1 PROBLEMA	3
1.2 JUSTIFICACIÓN.....	4
1.3 OBJETIVOS.....	6
1.3.1 Objetivo General	6
1.3.2 Objetivos Específicos.....	6
CAPÍTULO II	7
MARCO TEÓRICO.....	7
2.1 MARCO LEGAL	7
2.1.1 Constitución de la República del Ecuador	7
2.1.2 Plan Nacional de Desarrollo 2017 - 2021	8
2.1.3 Ley Orgánica de Economía Popular y Solidaria	8
2.1.4 Ley Orgánica del Régimen de Soberanía Alimentaria.....	9
2.2 ASOCIACIÓN LLACTA PURA	9
2.3 PRODUCCIÓN AGRÍCOLA	10
2.1.5 Retención de metales pesados en rubros agrícolas	12
2.3 METALES PESADOS	15
2.3.1 Origen de los metales pesados	15
2.4 METALES PESADOS EN LOS ALIMENTOS.....	16
2.4.1 Metales pesados en suelos.....	16
2.4.2 Metales pesados en agua	17
2.4.3 Metales pesados en agroquímicos.....	18
2.4.4 Bioacumulación de metales pesados.....	18
2.4.5 Plomo (Pb)	19

2.4.6	Cadmio (Cd).....	20
2.4.7	Cobre (Cu).....	20
2.4.8	Zinc (Zn)	21
2.4.9	Manganeso (Mn)	21
2.5	LÍMITES MÁXIMOS PERMISIBLES (LMP) DE METALES PESADOS EN ALIMENTOS.....	22
2.5.1	Codex Alimentarius	22
2.5.2	Unión Europea	23
2.6	PROCESO DE DIGESTIÓN ÁCIDA POR MICROONDAS	24
2.6.1	Factores que intervienen en el proceso de digestión	25
2.7	ESPECTROFOTÓMETRO DE ABSORCIÓN ATÓMICA	28
2.7.1	Componentes fundamentales	28
2.7.2	Técnicas analíticas de interés	29
2.7.3	Condiciones instrumentales	32
2.7.4	Parámetros de confiabilidad.....	34
2.7.5	Interferencias en el análisis FASS.....	36
CAPÍTULO III.....		38
METODOLOGÍA		38
3.1	Caracterización del área de estudio	38
3.1.1	Ubicación de la fase de campo.....	38
3.1.2	Ubicación de la fase experimental	39
3.2	Materiales	39
3.3	FASE 1: MUESTREO DE RUBROS AGRÍCOLAS	40
3.4	FASE 2: PRETRATAMIENTO Y TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS	44
3.4.1	Lavado.....	45
3.4.2	Cortado.....	45
3.4.3	Mezclado	45
3.4.4	Pesado	46
3.4.5	Secado de las muestras.....	46
3.4.6	Enfriado.....	47
3.4.7	Determinación de humedad.....	47
3.4.8	Triturado.....	48

3.4.9 Almacenado.....	48
3.4.10 Digestión de las muestras.....	48
3.5 DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE METALES PESADOS	51
3.5.1 Condiciones analíticas.....	52
3.5.2 Determinación mediante espectrofotometría de absorción atómica por llama (FASS)	53
3.6 COMPARACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES METÁLICAS CON LAS NORMATIVAS INTERNACIONALES.....	54
CAPÍTULO IV.....	55
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	55
4.1 IDENTIFICACIÓN DE LAS CONDICIONES DE DIGESTIÓN PARA EL ANÁLISIS ESPECTROFOTOMÉTRICO	55
4.1.1 Resultados obtenidos con la aplicación de las diferentes condiciones de digestión	55
4.2 DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE METALES PESADOS (Pb, Cd, Cu, Zn y Mn) MEDIANTE ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA EN PRODUCTOS AGRÍCOLAS DE LA ASOCIACIÓN LLACTA PURA.....	58
4.3 COMPARACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES METÁLICAS DE ACUERDO A LAS NORMATIVAS INTERNACIONALES DE LA OMS, EL REGLAMENTO DE LA UNIÓN EUROPEA Y EL CODEX ALIMENTARIUS.....	65
4.3.1 Comparación de la media de la concentración de plomo en rubros agrícolas	66
4.3.2 Comparación de la media de la concentración de cadmio en rubros agrícolas	68
4.3.3 Concentración de cobre en rubros agrícolas	71
4.3.4 Concentración de zinc en rubros agrícolas.....	73
4.3.5 Concentración de manganeso en rubros agrícolas	75
CAPÍTULO V	77
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	77
5.1 CONCLUSIONES.....	77
5.2 RECOMENDACIONES	78
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	80

ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1.</i> Componentes fundamentales de un equipo de absorción atómica.....	29
<i>Figura 2.</i> Espectrofotómetro de absorción atómica de llama (FAAS)	30
<i>Figura 3.</i> Flujo de gases aire – acetileno	31
<i>Figura 4.</i> Mapa de ubicación de los sectores de muestreo	38
<i>Figura 5.</i> Flujograma del procedimiento analítico	44
<i>Figura 6.</i> Lavado de las muestras	45
<i>Figura 7.</i> Mezclado de muestras.....	45
<i>Figura 8.</i> Pesaje de muestras	46
<i>Figura 9.</i> Estufa de secado Memmert.....	46
<i>Figura 10.</i> Enfriado de las muestras	47
<i>Figura 11.</i> Triturado de muestras.....	48
<i>Figura 12.</i> Almacenado de muestras	48
<i>Figura 13.</i> Digestor microondas Milestone Start – D.....	50
<i>Figura 14.</i> Espectrofotómetro de absorción atómica.....	51
<i>Figura 15.</i> Comparación de la media de la concentración de plomo (en base a la mayor lectura realizada en el FASS) de rubros agrícolas en peso fresco (mg/kg). La línea continua de color rojo representa el LMP para los rubros agrícolas.....	66
<i>Figura 16.</i> Comparación de la media de la concentración de cadmio (en base a la mayor lectura realizada en el FASS) de rubros agrícolas en peso fresco (mg/kg). La línea continua de color rojo representa el LMP para los rubros agrícolas.....	69
<i>Figura 17.</i> Media de la concentración de cobre (en base la mayor lectura realizada en el FASS) de rubros agrícolas en peso fresco (mg/kg) producidos por la Asociación Llacta Pura de la provincia de Imbabura.....	72
<i>Figura 18.</i> Media de la concentración de zinc (en base la mayor lectura realizada en el FASS) de rubros agrícolas en peso fresco (mg/kg) producidos por la Asociación Llacta Pura de la provincia de Imbabura.....	74
<i>Figura 19.</i> Media de la concentración de manganeso (en base a la mayor lectura realizada en el FASS) de rubros agrícolas en peso fresco (mg/kg). La línea continua de color rojo representa el LMP para los rubros agrícolas.....	75

Figura 20. (A) Toma de muestras de rubros agrícolas, (B) acondicionamiento de las frutas y hortalizas para el proceso de digestión, (C) muestras en el digestor microondas, (D) preparación de patrones, (E) elaboración de las curvas de calibración, (F) determinación de metales pesados en el espectrofotómetro de absorción atómica por llama 106

Figura 21. (A) Curvas de calibración para el plomo, (B) cadmio, (C) cobre, (D) zinc, (E) manganeso 108

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. <i>Formas de retención de metales pesados en suelos</i>	13
Tabla 2. <i>Origen de los metales pesados en los alimentos</i>	16
Tabla 3. <i>Límites máximos permisibles de metales pesados (mg/kg) en frutas y hortalizas según el Codex Alimentarius, FAO y OMS</i>	23
Tabla 4. <i>Materiales de campo, experimental, de laboratorio, equipos y reactivos</i>	39
Tabla 5. <i>Muestras de rubros agrícolas</i>	42
Tabla 6. <i>Condiciones de digestión utilizadas en el equipo Milestone Start - D</i> ...	50
Tabla 7. <i>Condiciones analíticas para la determinación de metales pesados</i>	52
Tabla 8. <i>Preparación de las curvas de calibración para metales pesados</i>	53
Tabla 9. <i>Aplicación de las diferentes condiciones de digestión</i>	56
Tabla 10. <i>Medias de la concentración de metales pesados (en base a las lecturas realizadas en el FASS) de rubros agrícolas en peso fresco (mg/kg) producidos por la Asociación Llacta Pura de la provincia de Imbabura</i>	60
Tabla 11. <i>Cumplimiento de las normas internacionales OMS, FAO, Codex Alimentarius y la Unión Europea sobre metales pesados en frutas y hortalizas</i> .	65

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1. Normas internacionales de la OMS, FAO y Codex Alimentarius	94
ANEXO 2. Norma internacional de la Unión Europea.....	103
ANEXO 3. Toma de muestras de rubros agrícolas para la determinación de la concentración de metales pesados.....	106
ANEXO 4. Curvas de calibración de metales pesados	107

RESUMEN

Las prácticas de cultivo tradicionales utilizan comúnmente agroquímicos y plaguicidas que generalmente ocasiona la presencia de metales pesados en los rubros agrícolas. El objetivo de la presente investigación se centró en estudiar la concentración de metales pesados (plomo, cadmio, cobre, zinc y manganeso) en los principales rubros agrícolas producidos por la Asociación Llacta Pura en cuatro cantones: Ibarra, Antonio Ante, Otavalo y Pimampiro de la provincia de Imbabura. En campo se recolectaron las muestras de frutas y hortalizas de tomate de árbol (*Solanum betaceum*), papa (*Solanum tuberosum*), tomate riñón (*Solanum lycopersicum*), brócoli (*Brassica oleraceae*), zanahoria amarilla (*Daucus carota*), acelga (*Beta vulgaris*) y pimiento (*Capsicum annum*) aplicando la norma INEN 1750 y estándares de Agrocalidad, mientras que en el laboratorio se realizó la determinación de la concentración de metales mediante la técnica de espectrofotometría de absorción atómica por llama, de acuerdo al método oficial 999.10 de la AOAC por vía húmeda asistida por digestor microondas. Las muestras analizadas dieron como resultado valores elevados de concentración de Pb (2.64 mg/kg) y Cd (11.10 mg/kg) en la papa de los cantones de Ibarra y Pimampiro, superando los límites máximos permisibles de estos contaminantes en los alimentos establecidos por las normas internacionales de la OMS, la Unión Europea y el Codex Alimentarius. Los altos niveles de metales radican principalmente, que pueden ser acumulados en los cultivos por medio del agua y suelo. En referencia a los elementos (cobre, zinc y manganeso) se concluyó que las concentraciones detectadas más altas de cobre se encuentran en la papa (20.39 mg/kg) del cantón Antonio Ante, el zinc (155.75 mg/kg) y manganeso (165.52 mg/kg) en la acelga de Ibarra y Pimampiro. Estos datos indican la necesidad de tener una estricta vigilancia en el ámbito productivo y alimenticio.

Palabras clave: prácticas agrícolas, concentración, espectrofotometría, límites máximos permisibles.

ABSTRACT

Traditional farming practices commonly use agrochemicals and pesticides, which generally causes the presence of heavy metals in agricultural products. The objective of this investigation was to study the concentration of heavy metals (lead, cadmium, copper, zinc and manganese) in the main agricultural products produced by the Llacta Pura Association in four cantons: Ibarra, Antonio Ante, Otavalo and Pimampiro from the province of Imbabura. In the field Fruits and vegetables samples were collected of tree tomato (*Solanum betaceum*), potato (*Solanum tuberosum*), broccoli (*Brassica oleraceae*), tomato (*Solanum lycopersicum*), yellow carrot (*Daucus carota*), chard (*Beta vulgaris*) and pepper (*Capsicum annum*) applying of the INEN 1750 norm and Agro-quality standars, while at the laboratory the determination of the metals concentration was carried out by the flame atomic absorption spectrophotometry technique, according to the official method 999.10 of the AOAC by wet way assisted by microwave digester. Results showed high concentrations levels of Pb (2.64 mg/kg) and Cd (11.10 mg/kg) in the potato from the Ibarra and Pimampiro cantons, exceeding the maximum permissible limits of these contaminants in food established by international regulations of the WHO, Codex Alimentarius and the European Union. The high levels of metals were mainly explained due to the capacity of been by the water and soil factors. In reference to the elements (copper, zinc and manganese) it was concluded that the highest detected concentrations of copper are found in potato (20.39 mg/kg) from Antonio Ante; zinc (155.75 mg/kg) and manganese (165.52 mg/kg) in the chard of Ibarra and Pimampiro. This data indicates the need to have a strict surveillance in the productive and food sector.

Keywords: agricultural practices, concentration, spectrophotometry, maximum permissible limits.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

La producción agrícola mundial, así como la de Ecuador, se encuentran expuestas a la contaminación por metales, mismos que están distribuidos en el medio ambiente de forma natural, formando parte de la corteza terrestre y de los ciclos naturales tanto de naturaleza geológica como biológica (Rueda, Rodríguez y Madriñán, 2011; Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente, 2013). Las prácticas agrícolas en la actualidad involucran un amplio uso de agroquímicos y, en algunos casos, descontrolada dosificación (Moreno, García y Chaparro, 2016). Las aplicaciones sucesivas de agroquímicos que contienen impurezas de metales pesados, como plomo, cadmio, zinc y manganeso, conllevan a la formación de depósitos y de residuos en los alimentos cosechados en las zonas expuestas a los desequilibrios ambientales, involucrados en estas acciones (Huang, Pan, Wu, Han y Chen, 2014).

Los metales pesados han sido encontrados en los alimentos y provienen de diversas fuentes como: suelo contaminado, lodos residuales, fertilizantes químicos y plaguicidas. La presencia de metales pesados en alimentos, resultan de vital importancia debido a que la contaminación afecta a la cadena alimenticia involucrada y ocasiona daños en la salud de organismos y del ser humano (Ayala y Romero, 2013; Jaimes, Marrugo y Severiche, 2014).

Diversos estudios a nivel mundial han demostrado que el consumo de frutas y vegetales es la principal forma de exposición de los humanos a los metales pesados (Moreno, García y Chaparro, 2016). Otros estudios reportan la presencia de metales pesados y metaloides tales como mercurio, arsénico, plomo, cadmio, zinc, níquel y cromo en hortalizas como la lechuga, repollo, calabaza, brócoli y papa (Singh, 2010; Chen, 2013). Estos metales provienen, entre otras causas del uso de agua para riego que se encuentra contaminada, específicamente ocasionada por vía antrópica (minería, industria, transporte, petróleo, etc.) y natural (volcanes, fenómenos geológicos, etc.) que afecta drásticamente a la seguridad alimentaria y salud pública (Reyes, Vergara, Torres y González, 2016).

Los efectos negativos sobre el hombre, que se han reportado abarcan desde daños a nivel del sistema nervioso, en la función hepática y renal, en el sistema músculo-esquelético, alteraciones mutagénicas, efectos carcinogénicos e inmunológicos, específicamente en la población infantil que es más sensible a dichos efectos (González, 2009). Asimismo, algunos estudios que evalúan la contaminación de metales pesados en alimentos coinciden que el cadmio, el mercurio, el plomo y el arsénico, son cuatro de los elementos que por su impacto en la salud y concentración deben ser cuidadosamente evaluados y monitoreados (Reyes et al., 2016).

El Ecuador a medida que se va industrializando, también se ha ido contaminando a tal punto de llegar a sobrepasar los límites permisibles, haciendo que contaminantes como los metales se bioacumulen en los cultivos a lo largo de las cadenas alimentarias (De Armas y Castro, 2007; Ballesteros, 2011). Investigaciones realizadas en las provincias de El Oro, Guayas, Zamora, Los Ríos, Francisco de Orellana, Esmeraldas y parte tropical de Pichincha han detectado la presencia de concentraciones de metales pesados como el cadmio en cantidades superiores a 1 mg/kg en almendras de cacao, así mismo se ha observado en suelos del litoral ecuatoriano cantidades de cadmio en forma total y biodisponible, que superan a las permitidas por el Codex Alimentarius (Mite, Cargua, Albán, Carillo y Durango, 2015). De igual manera se ha detectado la presencia de concentraciones de plomo en diferentes cultivos especialmente de café (*Coffea*

arábiga) (Coyago y Bonilla, 2016). Mientras que otros estudios realizados en las provincias de Esmeraldas, Manabí y Sucumbios, muestran concentraciones inferiores de plomo, cadmio y zinc en cultivos de banano, cacao, café y palma africana (Félix, Mite, Carillo y Pino, 2012).

Específicamente en la provincia de Imbabura que forma parte de la Zona de Planificación 1, es considerada agrícola, siendo su producción la fuente de abastecimiento de productos alimenticios para el consumo local (95%) y externo (5%) (Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca, 2015). Entre los cultivos más representativos se encuentran: papa (*Solanum tuberosum*) con 1.380 ha, tomate de árbol (*Solanum betaceum*) con 979 ha sembradas, tomate riñón (*Solanum lycopersicum*) con 265 ha, brócoli (*Brassica oleracea*) con 111 ha entre otros (Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua, 2017).

1.1 PROBLEMA

Las prácticas de cultivo utilizan comúnmente agroquímicos y plaguicidas en gran cantidad y el entorno en el cual se desarrollan los cultivos se encuentra mayormente contaminado por la presencia de los metales pesados, provocados principalmente por sobredosificación y su frecuencia de aplicación que incrementa la probabilidad de presencia de metales pesados en suelos, agua y alimentos (Reyes et al., 2016). La falta de información sistemática y ordenada sobre las prácticas de cultivo ha acelerado la incorporación de diferentes sustancias que contienen metales pesados, los cuales pueden llegar a concentrarse en el suelo y ser absorbidos por las plantas (Rueda, Rodríguez y Madriñán, 2011; Ayala y Romero, 2013).

En Ecuador, la normativa referente a fertilizantes se establece de forma general en la norma NTE INEN 211 reportándolos como elementos nitrogenados, fosforados, potásicos y en diferentes productos como adjuntos (INEN, 1998). Mientras que lo que marca la normativa NTE INEN 221, actualmente no se está dando cumplimiento en lo concerniente a etiquetado de los diferentes fertilizantes, enmiendas de suelo y productos afines de uso agrícola (INEN, 1997; Servicio Agrícola y Ganadero, 2011). La normativa NTE INEN 221 determina la

declaratoria del contenido de metales pesados para el registro y control de estos productos que se comercializan en el país (Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca; Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de la Calidad del Agro, 2017), pero por aspectos de desconocimiento los agricultores emplean indiscriminadamente los productos en cuestión, esperando obtener mejores resultados tanto en rendimiento como en control de plagas y enfermedades.

Los Límites Máximos Permisibles (LMP) para ciertos metales pesados como el cadmio, plomo, arsénico, mercurio y estaño se encuentran establecidos de forma general en la NTE INEN-CODEX 193, exclusivamente para alimentos (INEN, 2013). Sin embargo, los LMP de metales pesados como plomo y cadmio existen solamente para algunas frutas y hortalizas mientras que para las demás aún no se han definido, por lo que se crea un vacío de tipo legal que no permite emitir juicios adecuados a niveles de contaminación por estos elementos en dichos rubros agrícolas (Mafla, 2015). Sin embargo, en la actualidad existe escasa o nula información en relación al contenido de metales pesados en frutas y hortalizas que se cultivan y expenden en las distintas ciudades del Ecuador destinadas para consumo humano (Ayala y Romero, 2013; Fiallos, 2017).

1.2 JUSTIFICACIÓN

El estudio de la concentración de los metales pesados es una herramienta útil para la comparación y diferenciación de materias primas en una determinada zona, de tal forma que se puede garantizar la soberanía, seguridad e inocuidad alimentaria de los productos que se consumen. Además permite a la Asociación Llacta Pura certificar su producción en lo concerniente a la presencia de metales y formar parte de diferentes programas de provisión alimenticia dentro de uno de los ejes del Programa Mundial de Alimentos (PMA) y cumplir con el capítulo segundo de la Constitución del Ecuador y los derechos del Buen Vivir en su artículo 13 donde dice: “Las personas y colectividades tienen derecho al acceso seguro y permanente a alimentos sanos, suficientes y nutritivos; preferentemente producidos a nivel local y en correspondencia con sus diversas identidades y tradiciones culturales” (Constitución de la República del Ecuador, 2008).

El propósito de la presente investigación es aportar con información enfocada a la seguridad e inocuidad alimentaria que permita implementar nuevas estrategias de producción, debido a que las frutas y hortalizas constituyen la materia prima para su industrialización y a la vez son destinadas para el consumo humano como productos frescos. De esta manera es indispensable realizar el análisis de la concentración de metales pesados en los rubros agrícolas de la Asociación Llacta Pura que cultivan en la provincia de Imbabura y principalmente que comercializan en la Feria Solidaria de mayor aceptación, concentraciones metálicas que deben estar dentro de los LMP establecidas en las normativas internacionales como la Organización Mundial de la Salud (OMS), el Reglamento de la Unión Europea y el Codex Alimentarius.

Conocer las concentraciones de metales pesados que contienen los diferentes rubros agrícolas y a las cuales se expone el consumidor, sería de vital importancia en la gestión de estos alimentos. Si se considera el riesgo latente por la presencia de metales pesados para la salud humana y dada la poca información en el medio, motiva la necesidad de realizar la presente investigación, que no solo será útil para las autoridades sino también para los consumidores y los productores con el fin de concientizar en la importancia y responsabilidad de ofrecer productos agrícolas de calidad.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 Objetivo General

Estudiar la concentración de metales pesados en los principales rubros agrícolas de la Asociación Llacta Pura de la provincia de Imbabura.

1.3.2 Objetivos Específicos

- Identificar las condiciones de digestión para el análisis espectrofotométrico.
- Determinar la concentración de metales pesados (Pb, Cd, Cu, Zn y Mn) mediante espectrofotometría de absorción atómica en productos agrícolas de la Asociación Llacta Pura de la provincia de Imbabura.
- Comparar si las concentraciones metálicas están dentro de los niveles permisibles de acuerdo a las normativas internacionales de la Organización Mundial de la Salud, el Reglamento de la Unión Europea, Farmacopea Europea y el Codex Alimentarius.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

En este capítulo se presenta una revisión de investigaciones afines extraídas de libros, revistas científicas y documentos especializados que vinculan y fundamentan esta investigación y también proporcionan las bases para apoyar los objetivos planteados.

2.1 MARCO LEGAL

La presente investigación se enmarca en los artículos de la Constitución de la República del Ecuador 2008 y en los objetivos del Plan Nacional de Desarrollo 2017 - 2021, los cuales dan la base legal para investigaciones referentes a soberanía, seguridad e inocuidad alimentaria sustentable dentro del Ecuador.

2.1.1 Constitución de la República del Ecuador

ARTÍCULO 281, NUMERAL 13 - 14

La soberanía alimentaria constituye un objetivo estratégico y una obligación del Estado para garantizar que las personas, comunidades, pueblos y nacionalidades alcancen la autosuficiencia de alimentos sanos y culturalmente apropiado de forma permanente, para ello es responsabilidad del Estado de prevenir y proteger a la población del consumo de alimentos contaminados que pongan en riesgo su salud o que la ciencia tenga incertidumbre sobre sus efectos; así como también adquirir alimentos y materias primas para programas sociales y alimenticios, prioritariamente a redes asociativas de pequeños productores y productoras (Constitución de la República del Ecuador, 2008).

2.1.2 Plan Nacional de Desarrollo 2017 - 2021 (SENPLADES, 2017)

EJE 2: Economía al servicio de la sociedad

OBJETIVO 6

Desarrollar las capacidades productivas y del entorno para lograr la soberanía alimentaria y el Buen Vivir Rural.

POLÍTICAS

6.3 Impulsar la producción de alimentos suficientes y saludables, así como la existencia y acceso a mercados y sistemas productivos alternativos, que permitan satisfacer la demanda nacional con respecto a las formas de producción local y con pertinencia cultural.

6.4 Fortalecer la organización, asociatividad y participación de las agriculturas familiares y campesinas en los mercados de provisión de alimentos.

2.1.3 Ley Orgánica de Economía Popular y Solidaria (Superintendencia de Economía Popular y Solidaria, 2016)

ARTÍCULO 18

Sector Asociativo: Es el conjunto de asociaciones constituidas por personas naturales con actividades económicas productivas similares o complementarias, con el objeto de producir, comercializar y consumir bienes y servicios lícitos y socialmente necesarios, auto abastecerse de materia prima, insumos, herramientas, tecnología, equipos y otros bienes, o comercializar su producción en forma solidaria y auto gestionada bajo los principios de la presente Ley.

RESUELVE, en resolución No. MCDS-EPS-014-2015 de 21 de diciembre de 2015, publicada en el Registro Oficial No. 671 de 18 de enero de 2016.

ARTÍCULO 3

La Asociación tendrá como objeto social principal la producción y comercialización de productos agrícolas, agropecuarios y artesanales. Para su cumplimiento podrá efectuar especialmente las siguientes actividades:

ACTIVIDAD 5

Suscribir convenios de cooperación técnica y capacitación con organismos gubernamentales y no gubernamentales, nacionales y/o extranjeros, para el fortalecimiento de las capacidades de sus asociados.

2.1.4 Ley Orgánica del Régimen de Soberanía Alimentaria (LORSA, 2010)

ARTÍCULO 1

Finalidad: Esta Ley tiene por objeto establecer los mecanismos mediante los cuales el Estado cumpla con su obligación y objetivo estratégico de garantizar a las personas, comunidades y pueblos la autosuficiencia de alimentos sanos, nutritivos y culturalmente apropiados de forma permanente.

CAPÍTULO III, ARTÍCULO 9

Investigación y extensión para la soberanía alimentaria: El Estado asegurará y desarrollará la investigación científica y tecnológica en materia agroalimentaria, que tendrá por objeto mejorar la calidad nutricional de los alimentos, la productividad, la sanidad alimentaria, así como proteger y enriquecer la agrobiodiversidad.

CAPÍTULO IV, ARTÍCULO 24

Finalidad de la sanidad. La sanidad e inocuidad alimentarias tienen por objeto promover una adecuada nutrición y protección de la salud de las personas; y prevenir, eliminar o reducir la incidencia de enfermedades que se puedan causar o agravar por el consumo de alimentos contaminados.

2.2 ASOCIACIÓN LLACTA PURA

Entre las organizaciones más representativas de productores agropecuarios de Imbabura, se encuentra la Asociación de Desarrollo Social e Integral Llacta Pura legalmente constituida y conformada por 355 socios quienes dentro de su estructura presentan siete comités sectoriales que acogen a productores ubicados en todo el territorio imbabureño. Esta organización se encuentra en la actualidad ofertando sus productos entre los que sobresalen hortalizas, frutas, granos,

harinas, entre otros, como actores de los espacios de comercialización asociativa de manera directa del productor al consumidor en las instalaciones del Terminal Terrestre de la ciudad de Ibarra por medio de las denominadas Ferias Solidarias. Dicha asociación se encuentra en proceso de participación en diferentes programas de provisión alimenticia dentro de uno de los ejes del PMA (Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial de la Provincia de Imbabura, 2015; Guevara, Arciniegas y Guerrero, 2017).

2.3 PRODUCCIÓN AGRÍCOLA

Los pequeños productores campesinos del Ecuador representan la gran mayoría de la población agrícola y son los primeros y principales proveedores de alimentos estratégicos para la población nacional. En el año 2017, la productividad agrícola del Ecuador presentó un importante incremento respecto al año 2016. Este comportamiento es justificado por el aumento en el rendimiento de productos extensivos como: cacao, palma africana, plátano, banano y papa; cultivos que abarcan el 65% de la superficie sembrada en el país (MAG, 2017).

La horticultura y fruticultura ecuatoriana está concentrada básicamente en la sierra, tanto por sus condiciones edáficas, climáticas y sociales, como por las técnicas y sistemas de producción aplicadas. En general la agricultura para los pequeños productores tiene una tipología de carácter “doméstico”, por ser cultivos que se producen en la huerta, por la utilización de mano de obra familiar, son en parte para autoconsumo y sus producciones remanentes permiten acceder a los mercados locales. Para el caso de medianos y grandes horticultores, sus producciones son de carácter empresarial y están orientados hacia la agroindustria y a los mercados internos y externos del país. Los rubros agrícolas, dada su alta demanda por parte de la población ecuatoriana, tienen un amplio mercado. Sin embargo, es importante que el productor tenga presente, que los consumidores vienen exigiendo cada vez más calidad en los productos procedentes del campo; entendiéndose a esta como la integridad de nutrientes, no contaminación por agroquímicos, buena presentación y buen sabor (Zambrano, 2016).

La Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua, realizada por el INEC, indica que en la Zona de Planificación 1 conformada por las provincias de Esmeraldas, Carchi, Imbabura y Sucumbíos fueron dedicadas 379.431 hectáreas a la producción agrícola, mismas que han sido distribuidas en 38 productos, de los cuales destacan: palma africana, cacao, plátano, café, papa, banano, caña de azúcar. De ellos, la palma africana y cacao son los cultivos que han incrementado su superficie en 220% y 105%, respectivamente, en el periodo comprendido entre 2002-2017; mientras que banano y caña de azúcar han reducido su extensión en 88% y 55%, respectivamente (ESPAC, 2017).

En la provincia de Imbabura existen entre el 26 - 28% de personas que se dedican a la producción agrícola (EKOS, 2015). El Gobierno Provincial de Imbabura (GPI) y el Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG), apoyan y participan en las Ferias Solidarias, que constituyen espacios de negociación de pequeños productores, quienes ofertan, de manera directa, sus productos agrícolas sanos y libres de químicos, además promueven la diversificación e incremento de la producción e ingresos agropecuarios (MAGAP, 2012; Tafur y Flores, 2013).

En la provincia de Imbabura, el cantón que cuenta con un mayor uso de suelo de cultivos permanentes es Cotacachi con 2.037 unidades productivas agropecuarias, mientras que Otavalo cuenta con 12.427 unidades de cultivos transitorios. Dentro de los principales cultivos se encuentra: café (*Coffea arabica*), caña de azúcar (*Saccharum officinarum*), papa (*Solanum tuberosum*), tomate riñón (*Solanum lycopersicum*), cereales como el trigo (*Triticum*), cebada (*Hordeum vulgare*), maíz (*Zea mays*) y quinua (*Chenopodium quinoa*), frutales como el tomate de árbol (*Solanum betaceum*), frutilla (*Fragaria*), mora (*Rubus ulmifolius*), granadilla (*Passiflora ligularis*) y leguminosas como el fréjol (*Phaseolus vulgaris*) entre otros. El producto de monocultivo principal en la provincia es el tomate de árbol (Mera, 2013; MAGAP, 2015).

Imbabura es una provincia con una diversidad significativa en las actividades productivas. Esto se evidencia en las Ferias Solidarias que desde hace ocho años abrió sus puertas en diversos sitios de la provincia donde pequeños productores ofertan decenas de rubros agrícolas como hortalizas, frutas, granos, entre otros. Dentro de esta iniciativa, el comercio asociativo permite que más de 300 familias de la Asociación de Productores y Comercialización de Desarrollo Social e Integral Llacta Pura se beneficien directamente de su actividad llevando a cabo sus actividades en el Terminal Terrestre de la ciudad de Ibarra (EKOS, 2015).

2.1.5 Retención de metales pesados en rubros agrícolas

Las plantas han desarrollado mecanismos altamente específicos para absorber, translocar y acumular sustancias. Sin embargo, algunos metales y metaloides no esenciales para los vegetales son absorbidos, translocados y acumulados en la planta debido a que presentan un comportamiento electroquímico similar a los elementos nutritivos requeridos (Miranda, et al., 2008).

Los mecanismos que poseen las diferentes especies vegetales para tolerar mayores contenidos de metales son diversos. Así, algunas especies son capaces de ligar los metales a las paredes celulares o introducirlos en las vacuolas o sufren adaptaciones enzimáticas que les permiten realizar sus funciones en presencia de cantidades elevadas de metales pesados. Las plantas se han clasificado en tres tipos, excluyentes, indicadoras y acumuladoras, en función de su comportamiento ante la presencia de metales en el ambiente. Así, las excluyentes restringen la entrada o la translocación de metales tóxicos. Esto les permite vivir en ambientes con elevadas concentraciones de metales. Las indicadoras reflejan el incremento de metal producido en el entorno. Por último, las acumuladoras incrementan activamente metales en sus tejidos (Peris, 2006).

Los metales pesados son retenidos en los suelos de distintas formas como se indica en la Tabla 1. A su vez, dichas formas de retención representan diferentes grados de disponibilidad relativa para las plantas (Mudarra, 2013).

Tabla 1.

Formas de retención de metales pesados en suelos

Formas de retención en el suelo	Disponibilidad relativa
Ion en la disolución del suelo	Fácilmente disponible
Ion en complejo de intercambio orgánico o inorgánico	Disponible
Metales complejados o quelatados por compuestos orgánicos	Menos disponible
Metal precipitado o coprecipitado	Disponible si ocurre una alteración química
Incorporado en la matriz biológica	Disponible después de la descomposición

Fuente: (Mudarra, 2013)

En raíces, todos los aniones del arsénico en particular el arsenito y arseniato son fuertemente adsorbidos a la superficie de la membrana, posteriormente sigue una conducción metabólica, una transferencia selectiva al simplasto y por último son transportados a la parte superior de la planta. En particular la adsorción del arsenito y del arseniato en la superficie radicular externa es bastante rápida e intensa, obteniéndose de esta forma concentraciones muy altas de arsénico en las raíces de plantas que se desarrollan en cultivo hidropónico (Polo, 2009).

2.1.5.1 Plantas excluyentes

Las plantas basan su resistencia a los metales con la estrategia de una eficiente exclusión del metal, restringiendo su transporte a la parte aérea y acumulación en las raíces. La exclusión es más característica de especies sensibles y tolerantes a los metales (Llugany, Tolrá, Poschrieder y Barceló, 2007). En las plantas especialmente en la familia de las Solanáceas especies alimenticias tan importantes como el tomate de árbol (*Solanum betaceum*), papa o patata (*Solanum tuberosum*), tomate riñón (*Solanum lycopersicum*) y pimiento (*Capsicum annuum*), el cadmio tiende a acumularse principalmente en la raíz cuando se presenta en altos contenidos (Rodríguez, Martínez de la Casa, Romero, Del Río y Sandalio, 2008). Mientras que en las plantas de zanahoria (*Daucus carota*) metales como el cadmio y zinc reportan en igual grado acortamiento en la raíz y acumulación en las mimas de estos metales (Intawongse, 2007).

2.1.5.2 Plantas indicadoras

Se caracterizan por acumular metales en sus tejidos aéreos y generalmente reflejan el nivel del metal en el suelo (Mendieta y Taisigüe, 2014). La diferencia en absorción de plomo en las especies vegetativas radica en la cantidad de biomasa generada durante la germinación, la cual hace que la planta mantenga el vigor durante el proceso de absorción y retención de plomo en la estructura vegetativa, por tanto, a mayor cantidad foliar mayor cantidad de plomo absorbido (Mahdieh, Yazdani y Mahdieh, 2013). Aunque el plomo en las plantas de tomate riñón (*Solanum lycopersicum*) no se difunde por el sistema vascular y contamina en menor cantidad las partes aéreas consumibles (Corujo, González, Jiménez y Regand, 1993). Alimentos agrícolas, como el tomate, la papa, la espinaca y la lechuga son reconocidos bioindicadores ambientales, debido a su capacidad de retención e incorporación de compuestos como los metales pesados durante su crecimiento, reflejando la presencia de los mismos, por alteraciones fenotípicas (Kabata-Pendias, 2001).

2.1.5.3 Plantas acumuladoras

Se encargan de distribuir, traslocar o enviar los metales a los diferentes órganos vegetativos o sus partes aéreas, en niveles que exceden varias veces el nivel presente en el suelo (Mendieta y Taisigüe, 2014). En el cultivo de papa (*Solanum tuberosum*) la concentración de cadmio no es la misma en las diferentes partes de la planta, observando la siguiente secuencia: raíces > tallos subterráneos > hojas > frutos > semillas y los factores que pueden influir en la cantidad absorbida se encuentran: la especie, la edad y el desarrollo radicular (Herrera, 2000). Mientras que las plantas de tomate riñón (*Solanum lycopersicum*) almacenan metales pesados y acumulan arsénico principalmente en las raíces (85% del total), el resto es acumulado en brotes (14%) y frutos (1%) debido a los suelos contaminados (Burló, Guijarro, Carbonell, Valero y Martínez, 1999; Olivares, et al., 2013). En cambio, las hojas o los frutos pueden verse más expuestos al plomo por la cercanía a las industrias o autopistas (Corujo, González, Jiménez y Regand, 1993).

Autores como Michalak y Wierzbicka (1998) y Miranda, et al., (2008) aseguran que las hojas de las hortalizas entre ellas la acelga (*Beta vulgaris*) asimilan plomo en diferentes cantidades y que depende en gran medida de la edad de las mismas, donde el máximo contenido de plomo es encontrado en hojas senescentes y el mínimo en hojas jóvenes. La hoja de las plantas es el órgano donde se acumula el plomo en valores de 130 y 8200 mg Pb/kg por peso seco de material vegetal.

2.3 METALES PESADOS

El término “metal pesado” se refiere a elementos químicos con alta densidad (mayor a 4 g/cm³), masa y peso atómico por encima de 20, y son tóxicos en concentraciones bajas. Algunos de estos elementos son: aluminio (Al), bario (Ba), berilio (Be), cobalto (Co), cobre (Cu), estaño (Sn), hierro (Fe), manganeso (Mn), cadmio (Cd), mercurio (Hg), plomo (Pb), arsénico (As), cromo (Cr), molibdeno (Mo), níquel (Ni), plata (Ag), selenio (Se), talio (Tl), vanadio (Va), oro (Au) y zinc (Zn) (Londoño-Franco, Londoño-Muñoz y Muñoz-García, 2016).

Los metales pesados se encuentran generalmente como componentes naturales de la corteza terrestre, en forma de minerales, sales u otros compuestos. No pueden ser degradados o destruidos fácilmente de forma natural o biológica ya que no tienen funciones metabólicas específicas para los seres vivos (Prieto Méndez, González, Román y Prieto García, 2009).

2.3.1 Origen de los metales pesados

En general, las dos fuentes principales de contaminación son por medios naturales y por actividades antropogénicas. Naturalmente los metales pesados provienen de la actividad volcánica y el desgaste de minerales. Las actividades geológicas naturales, como desgastes de cerros y volcanes, constituyen una fuente de aportaciones importante de metales pesados al suelo (Prieto Méndez, et al., 2009). Al igual que pueden proceder de la propia roca madre en la que se formó el suelo o del lixiviado de mineralizaciones (Galán y Romero, 2008; Coyago y Bonilla, 2016).

Mientras que las principales fuentes de contaminación humana son la producción, utilización y la eliminación de desechos que contienen metales pesados y que se dispersan en el medio ambiente debido a usos industriales o de otro tipo como en el fundido de minerales, la incineración de carbón, fábricas de baterías y pinturas y por un uso específico de conservadores de madera, fertilizantes fosfatados plaguicidas y medicamentos veterinarios. Todo esto constituye un peligro para el ser humano, así como un factor de deterioro ambiental (Codex Alimentarius, FAO y OMS, 1995; Galán y Romero, 2008; Martí, et al., 2009; Herrera Núñez, et al. 2012; Londoño-Franco, Londoño-Muñoz y Muñoz-García, 2016). En la Tabla 2, se registran los principales orígenes de los metales pesados.

Tabla 2.

Origen de los metales pesados en los alimentos

Origen contaminación	Metal pesado involucrado
Natural, proveniente del suelo	Cadmio, bromo, flúor, cobre
Uso de insecticidas, desinfectantes y medicamentos	Arsénico, cobre, plomo, mercurio

Fuente: (Londoño-Franco, Londoño-Muñoz y Muñoz-García, 2016)

2.4 METALES PESADOS EN LOS ALIMENTOS

Frecuentemente, los metales pesados están presentes en los alimentos como trazas o ultra-trazas (Jiménez y Zambrano, 2011). La contaminación de los alimentos por metales pesados ha sido y continúa siendo probablemente uno de los aspectos más serios y preocupantes. Las cosechas incorporan cantidades variables de contaminantes de acuerdo con la naturaleza del suelo, el agua de riego, los fertilizantes, tratamiento con insecticidas y proximidad a zonas industriales (Caméan, Repetto y Asuero, 2006).

2.4.1 Metales pesados en suelos

Los metales pesados, están presentes en el suelo, como componentes naturales debido a desgastes de cerros y volcanes, o como consecuencia de las actividades antropogénicas, entre ellas la industria minera. Ambas constituyen una fuente de aportaciones importante de metales pesados al suelo. Estos contaminantes se

diluyen más o menos rápido en los ríos o en el aire, sin embargo, en los suelos tienden a acumularse. Por esta razón, el suelo actúa como un sumidero de la mayor parte de los contaminantes, incluidos los metales pesados (Prieto Méndez, et al., 2009).

La incorporación de los metales pesados en las plantas se produce fundamentalmente desde el suelo, a través de las raíces, y está influenciada por varios factores entre los que destacan el tipo de suelo, la temperatura, pH, aireación, condiciones redox, fertilización, la especie vegetal, el momento del desarrollo y el sistema radicular, entre otros. Aparte de la absorción que tiene lugar por medio de las raíces, las plantas también pueden incorporar cantidades significativas de algunos elementos a través de la absorción foliar. Una vez que los iones metálicos han sido absorbidos, pueden moverse por toda la planta. Este movimiento depende del tipo de metal, del órgano de la planta y de su edad. En general, la proporción en que los elementos son movilizados en el interior de las plantas disminuye conforme al siguiente orden: $Cd > B > Zn > Cu > Pb$ (Shugulí, 2018).

Los suelos arcillosos presentan una mayor capacidad de retención de agua y contaminantes, también una mayor microporosidad y, por lo tanto, una reducción del drenaje interno del suelo. Por el contrario, en los suelos arenosos, con menor capacidad de fijación y una macro porosidad dominante, los metales pesados se infiltran a mayor velocidad al subsuelo y pueden contaminar el acuífero subterráneo (Luna y Rodríguez, 2016).

2.4.2 Metales pesados en agua

El principal problema de los metales pesados presentes en el agua utilizada para riego es que provienen de las aguas residuales pudiendo acumularse en los suelos agrícolas, los mismos que resultan peligrosos por su carácter no biodegradable, la toxicidad que ejercen sobre los diferentes cultivos y su biodisponibilidad. En lugares donde se ha utilizado agua residual para el riego agrícola se reporta una tendencia creciente en las concentraciones de metales pesados, y existe una

amplia investigación sobre el riesgo de los metales pesados en la salud y el ambiente (Mancilla, et al., 2012).

2.4.3 Metales pesados en agroquímicos

Algunos fertilizantes como los nitrogenados que incluyen los nitratos de amonio (NH_4NO_3) y de sodio (NaNO_3), la urea ($(\text{NH}_2)_2\text{CO}$), el fosfato de amonio ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$), los polifosfatos amónicos, entre otros. Aportan al suelo los nutrientes básicos para el desarrollo de las plantas, permitiendo que aumenten la disponibilidad de los mismos, ya que son productos todos solubles en agua. Estos tienen algunos inconvenientes para los suelos, entre ellos, que pueden contener residuos de metales pesados como impurezas y que pueden quedar igualmente disponibles para las plantas y provocar daños en las mismas (Prieto Méndez, et al., 2009).

2.4.4 Bioacumulación de metales pesados

Los metales pesados son peligrosos porque tienden a bioacumularse en diferentes cultivos. La bioacumulación significa un aumento en la concentración de un producto químico en un organismo vivo en un cierto plazo de tiempo, comparada a la concentración de dicho producto químico en el ambiente (Angelova, Ivanova, Delibaltova y Ivanov, 2004). En plantas, el concepto de bioacumulación se refiere a la agregación de contaminantes, algunos de ellos son más susceptibles a ser fitodisponibles que otros. La absorción de metales pesados por las plantas es generalmente el primer paso para la entrada de éstos en la cadena alimentaria. La absorción y posterior acumulación dependen en primera instancia del movimiento (movilidad de las especies) de los metales desde la solución en el suelo a la raíz de la planta (Prieto Méndez, et al., 2009).

Algunos estudios realizados en diferentes partes del mundo muestran ejemplos de presencia, bioacumulación o contaminación por metales pesados en cultivos como tomate riñón, rábano, acelga, brócoli, papa, entre otros (Martí, et al., 2009; Prieto Méndez, et al., 2009; Bermudez, Jasan, Plá y Pignata, 2011; Reyes, et al., 2016).

2.4.5 Plomo (Pb)

El plomo es el metal pesado más abundante en la naturaleza, con número atómico 82 y peso atómico 207, forma muchas sales, óxidos y compuestos organometálicos (Londoño-Franco, Londoño-Muñoz y Muñoz-García, 2016). Físicamente es de color azulado, flexible, inelástico, se funde con facilidad y tiene la capacidad de bioacumularse por lo que su concentración en plantas se magnifica a lo largo de la cadena alimentaria. El plomo y sus derivados se encuentran en todas partes del medio ambiente, como, por ejemplo, en el aire, en las plantas y animales de uso alimentario, en el polvo, en el suelo, en el agua de la bebida, en los ríos, océanos y lagos (Rubio, et al., 2004).

Los contenidos de plomo de los productos alimenticios se han reducido sensiblemente gracias a los esfuerzos realizados para reducir la emisión de plomo en su origen y por los progresos en la garantía de calidad de los análisis químicos (Rubio, et al., 2004). En algunas plantas el plomo es capaz de acumularse principalmente en las raíces siendo mínima su presencia en otras partes u órganos de los cultivos (Prieto Méndez, et al., 2009). Una de las vías de contaminación de las hojas y frutos con plomo es la deposición de este metal procedente del polvo atmosférico y de los suelos contaminados. El plomo es absorbido por las células de las hojas y aunque parte de este puede eliminarse por el lavado, una fracción importante pasa al tejido de la planta (Olivares, et al., 2013).

El plomo es caracterizado por ocasionar efectos tóxicos en el ser humano que originan daños sobre el tracto gastrointestinal (“Cólico Saturnino”), nefropatías y daños sobre el sistema nervioso central (SNC) y periférico. Otros efectos tóxicos son hipertensión y enfermedades cardiovasculares en adultos. Cualquier vía de ingestión de plomo tiene su punto final en el hígado, el cual metaboliza los compuestos que a él llegan, eliminando una parte por la bilis (Rubio, et al., 2004).

2.4.6 Cadmio (Cd)

El cadmio es un elemento relativamente raro que algunas actividades humanas liberan en la atmósfera, la tierra y el agua (Codex Alimentarius, FAO y OMS, 1995). Naturalmente no se encuentra en estado libre, es de color blanco ligeramente azulado, peso atómico 112 y densidad relativa 8. Para la mayoría de los seres vivos la principal fuente de exposición al cadmio son los suelos contaminados y alimentos (Londoño-Franco, Londoño-Muñoz y Muñoz-García, 2016). Puede llegar a los vegetales por medio del uso de plaguicidas y a las aguas de riego contaminadas (Falco, Nadal, Llobet y Domingo, 2006).

El aumento del contenido de cadmio en los suelos incrementa la absorción de cadmio en las plantas; de esta manera, la exposición humana a través de cultivos agrícolas es susceptible al incremento del cadmio presente en el suelo (Codex Alimentarius, FAO & OMS, 1995). El cadmio produce efectos tóxicos en los organismos vivos, aún en concentraciones muy pequeñas (Rodríguez, Martínez de la Casa, Romero, Del Río y Sandalio, 2008). Ingerir alimentos con niveles de cadmio muy altos produce irritación grave del estómago, lo que produce vómitos y diarrea y en ciertas ocasiones la muerte, si se alcanzan niveles suficientemente altos en los riñones, podría ocasionar daños severos (Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades, 2016).

2.4.7 Cobre (Cu)

Es un metal no ferroso, con número atómico 29. Su utilidad se debe a la combinación de sus propiedades químicas, eléctricas, físicas y mecánicas, además de su abundancia (Londoño-Franco, Londoño-Muñoz y Muñoz-García, 2016). El cobre tiene una movilidad relativamente baja con respecto a otros elementos en las plantas, permaneciendo en los tejidos de las raíces u hojas. Se ha observado una probable absorción pasiva de cobre (Loayza, 2008). El cobre puede generar diversas alteraciones como: anemia hipocrómica, disminuye la tasa de crecimiento, diarreas, cambios de coloración del pelo o de lana, ataxia neonatal, alteración del crecimiento, infertilidad temporal e insuficiencia cardíaca (Londoño-Franco, Londoño-Muñoz y Muñoz-García, 2016).

2.4.8 Zinc (Zn)

El zinc se caracteriza por ser un elemento ampliamente distribuido en la naturaleza, pero no es abundante, ya que representa el 0,012 % de la corteza terrestre (Rubio, et al., 2007). El zinc, se puede absorber en mayor grado en plantas como rábanos y zanahorias, en las hojas de los rábanos se llegan a acumular mayores contenidos del metal, provocando un marchitamiento y disminución en la longitud de sus raíces y de la biomasa, para zanahorias se reporta en igual grado acortamiento en raíces y acumulación mayor en las mismas del metal (Prieto, et al., 2009).

La aplicación constante de grandes cantidades de zinc en el suelo o directamente en las plantas conlleva el riesgo de generar acumulaciones de dicho elemento que pueden llegar a ser tóxicas. Por lo que cultivos de vegetales como la espinaca son más sensibles a la toxicidad por este elemento (Amezcuza y Lara, 2017). A pesar de que el zinc es el menos tóxico y aunque su margen de seguridad es muy amplio, es necesario evaluar su toxicidad, ya que, en forma de cloruro de zinc, puede causar neumonitis y un síndrome respiratorio en el adulto (Rubio, et al., 2007).

2.4.9 Manganeseo (Mn)

El manganeso es un elemento natural, no tiene olor ni sabor especial. Algunos compuestos de manganeso se usan como ingredientes en ciertos plaguicidas y abonos. Este metal llega al ser humano a través de la dieta que a su vez está relacionada con la absorción por las plantas, éstas toman el manganeso de los sedimentos de suelos, sin embargo, es una sustancia propia de legumbres de hojas de color verde oscuro. La presencia de este metal se debe a la calidad de agua de regadío, a características propias del suelo y a efluentes industriales (Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades, 2016).

En estudios realizados en plantas de rábano y espinacas, se observó la tendencia del manganeso a acumularse en las hojas de rábano y un alto contenido en las hojas de espinacas y menos concentraciones en raíces de ambas plantas. A pesar de que puede ser un metal en menor grado absorbido por los suelos, es fácilmente

absorbido por las plantas y tiene mayor movilidad para llegar a las diferentes partes u órganos de la planta causando daños en las mismas (Prieto, et al., 2009). En concentraciones elevadas es tóxico y los efectos que produce afectan principalmente a las vías respiratorias y al cerebro (Gómez-Miguel y Sotés, 2014).

2.5 LÍMITES MÁXIMOS PERMISIBLES (LMP) DE METALES PESADOS EN ALIMENTOS

Existen normas internacionales vigentes para frutas y hortalizas frescas de consumo humano, su vigencia rige también para los países donde no se tienen vigentes en la actualidad, debido a la falta de una Normativa Ecuatoriana no se tiene regulaciones propias al respecto, por tal motivo para la concentración máxima permitida de metales pesados en frutas y hortalizas de consumo directo, la investigación se basa en organizaciones internacionales como la OMS, Codex Alimentarius (1995) y la Unión Europea (2006) para los contaminantes presentes en los alimentos.

2.5.1 Codex Alimentarius

El Codex Alimentarius es un programa mixto de la Organización para la Agricultura y la Alimentación (FAO) de la Organización de las Naciones Unidas (ONU) y la OMS, que fija las normas de seguridad alimentaria de referencia para el comercio internacional de productos alimenticios. Específicamente para metales, la norma del Codex Alimentarius hace hincapié en los LMP para plomo, cadmio, arsénico, mercurio y estaño (Codex Alimentarius, FAO y OMS, 1995). De igual manera, en la OMS, los LMP de metales para alimentos son los mismos reportados por el Codex Alimentarius (1995).

Según el Codex Alimentarius, FAO y OMS (Codex Alimentarius, FAO y OMS, 1995), los LMP de metales pesados en frutas y hortalizas son los que se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3.

Límites máximos permisibles de metales pesados (mg/kg) en frutas y hortalizas según el Codex Alimentarius, FAO y OMS

Frutas y hortalizas	Concentración de metales pesados (mg/kg peso fresco)				
	Pb	Cd	Cu	Zn	Mn
Tomate de árbol (<i>Solanum betaceum</i>)	0.1	0.05	-	-	-
Papa (<i>Solanum tuberosum</i>)	0.1	0.1	-	-	-
Tomate riñón (<i>Solanum lycopersicum</i>)	0.1	0.05	-	-	-
Brócoli (<i>Brassica oleracea</i>)	0.1	0.05	-	-	-
Zanahoria amarilla (<i>Daucus carota</i>)	0.1	0.1	-	-	-
Acelga (<i>Beta vulgaris</i>)	0.3	0.2	-	-	-
Pimiento (<i>Capsicum annum</i>)	0.1	0.05	-	-	-

Fuente: (Codex Alimentarius, FAO y OMS, 1995)

2.5.2 Unión Europea

Actualmente la Unión Europea es la responsable de fijar las concentraciones máximas de metales en los alimentos para los países que desean exportar sus productos hacia Europa. De igual manera la Normativa en la que se rigen los países de la Unión Europea, cuentan con LMP de metales pesados en frutas y hortalizas. El Reglamento en el que se basa los LMP la Unión Europea (CE) es el 1831/2003 que fue aprobado en Comisión el 19 de diciembre de 2003, por lo que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en productos alimenticios (Unión Europea, 2006).

Los límites máximos de contenido de cobre, zinc y manganeso en productos alimenticios no están regulados en la Unión Europea. No obstante, en el marco de algunos estados como Australia, Nueva Zelanda, Brasil, Canadá, Finlandia, Japón, Rusia, Sudáfrica, Suiza y USA regulan el contenido máximo de estos metales, para determinados alimentos (Elika, 2013; Díaz, 2014).

2.6 PROCESO DE DIGESTIÓN ÁCIDA POR MICROONDAS

La digestión es la etapa previa al análisis, por ello para la aplicación de la espectrofotometría de absorción atómica de llama, se requiere que el analito esté en solución, generalmente se lleva a cabo con el empleo de ácidos minerales concentrados en la denominada digestión ácida que actúa en diferentes matrices como suelo, agua, alimentos, petróleo, polímeros, etc. La digestión ácida puede a su vez actuar en función de los ácidos utilizados o las etapas de calentamiento y presión en la digestión en la que se emplea la energía microondas para calentar la mezcla de muestra – solvente en un recipiente cerrado y bajo ciertas condiciones controladas, como son la temperatura y el tiempo, cuyo objetivo principal es la descomposición total de la muestra para obtener una solución que contenga todos los elementos de interés para posteriormente realizar el análisis requerido (García, et al. 2006; Terán, 2016).

El sistema de digestión por microondas ofrece ventajas como la disolución de muestras sólidas en un tiempo muy corto, esto es posible gracias al calentamiento directo de las soluciones por las microondas, al enfriamiento rápido después de la digestión, y a que los ácidos alcanzan temperaturas muy por encima de su punto de ebullición normal (García, et al., 2006), incluyendo la reducción significativa de los riesgos de contaminación y pérdida de analitos volátiles (Mendoza, Marcó, Almaro y Rodríguez, 2014).

Cuando se lleva a cabo la determinación de analitos inorgánicos en muestras reales, se requiere destruir la materia orgánica como paso previo a la determinación. La elección del método de pretratamiento de la muestra depende fundamentalmente de la naturaleza de la materia orgánica y de los demás constituyentes inorgánicos que compongan la matriz, de los analitos a determinar y de la técnica analítica que se usará para su determinación (Cámara, Fernández, Martín, Pérez y Vidal, 2002).

2.6.1 Factores que intervienen en el proceso de digestión

La preparación de la muestra mediante digestión por vía húmeda en microondas para la obtención de resultados fiables hay que controlar muy bien todas las variables de la disolución: peso y tipo de la muestra, elección del ácido o mezcla de ácidos, volumen de ácido, presión del microondas, distribución homogénea de la muestra, etc. apropiadas para la muestra objeto de estudio, para el elemento a determinar y para la técnica analítica que será aplicada (Smith y Arsenault, 1996; Cámara, Fernández, Martín, Pérez y Vidal, 2002).

2.6.1.1 *Tamaño de la muestra*

El tamaño de las muestras debe ser el adecuado para que, en la dilución posterior al volumen necesario para la determinación cuantitativa, el contenido en metales se encuentre dentro del intervalo de calibración (Torralba, 1996).

2.6.1.2 *Elección del disolvente o disgregante*

La elección del disolvente más adecuado es esencial para obtener un apropiado proceso de digestión, entre las propiedades físicas del disolvente tenemos que considerar principalmente: su capacidad de absorción de microondas, su interacción con la matriz de la muestra y la solubilidad del analito en él. Interesa que el disolvente posea una gran selectividad y de esta forma extraer la mayor cantidad posible de analito y la menor cantidad de matriz de la muestra (Esteve, 2006; Fernández, 2007).

Los reactivos más utilizados para la mineralización de las muestras en el digestor de microondas son ácido nítrico (HNO_3), ácido clorhídrico (HCl) y agua oxigenada (H_2O_2). Su elección depende del origen de la muestra. El tipo de ácido usado en el procedimiento puede tener importantes consecuencias en la etapa de medida. En todas las técnicas de espectrometría atómica, el HNO_3 es el reactivo más adecuado, no se ha observado problemas analíticos para concentraciones de hasta 10 – 25% siempre y cuando su concentración sea similar a la de las soluciones de calibración y muestra. El H_2O_2 es también muy raro que dé problemas analíticos, aunque debe contener la mínima concentración posible de impurezas (Hansen, et al., 2009). Sin embargo, el uso de HCl puede ser

problemático para algunas técnicas ya que puede limitar el uso de métodos instrumentales analíticos específicos entre ellos la espectrofotometría de absorción atómica por llama y horno de grafito (Cahuasqui, 2011; Instituto Mexicano de Normalización y Certificación, 2006).

2.6.1.3 Volumen del disolvente y de la muestra

La cantidad de disolvente empleado para la digestión de una muestra está comprendida entre 10 y 30 ml. Este volumen debe ser suficiente para cubrir en su totalidad a la muestra. Lógicamente el volumen de disolvente a emplear vendrá relacionado con la cantidad y volumen de muestra a extraer. Los volúmenes apropiados de las mezclas de ácidos son función del tamaño y naturaleza de la muestra. Aunque algunos autores postulan que no es necesaria la mineralización completa de la muestra para la determinación de elementos traza, en el caso del elemento arsénico, y para su determinación por hidruros. A medida que la mineralización se hace más exhaustiva, la pendiente de calibrado aumenta y por tanto su sensibilidad (Torralba, 1996).

La mayor limitación es el volumen de muestra utilizado, pues un incremento en el volumen produciría un incremento en la presión y una reacción más exotérmica (Agazzi y Pirola, 2000). Usando una mezcla de HNO_3 y H_2O_2 , mayor cantidad de muestra biológica puede ser completamente digerida en vasos cerrados excepto si esta tiene un alto contenido de silicatos (Mendoza, Marcó, Almao y Rodríguez, 2014).

2.6.1.4 Temperatura y tiempo de digestión

La temperatura ha resultado ser un parámetro crítico para los métodos de mineralización por vía húmeda en microondas, cuando la extracción es llevada a cabo en recipientes cerrados, la temperatura puede alcanzar valores superiores a los puntos de ebullición de los disolventes. Para la mayoría de los disolventes la temperatura dentro del recipiente es dos o tres veces el punto de ebullición de los mismos. Estas elevadas temperaturas conducen a un incremento en la eficacia de extracción ya que la desorción de los analitos de los sitios activos de la matriz se ve mejorada. Esto es debido a que al aumentar la temperatura el disolvente tiene

mayor capacidad para disolver el analito, además disminuye su tensión superficial y su viscosidad, lo que permite una mayor capacidad de extenderse y dejar una traza sobre el sólido de la muestra (Sparr y Bjorklund, 2000; Fernández, 2007).

La mineralización debe realizarse de forma gradual, manteniendo la temperatura por debajo de 150°C hasta que gran parte de la materia orgánica haya sido destruida. Sólo después, puede elevarse hasta los 200 – 250°C para finalizarla. En el caso de un calentamiento rápido, se produce una volatilización de los ácidos más volátiles de la mezcla (Torralba, 1996). Aunque las temperaturas de trabajo suelen ser de 100 a 150°C, obteniéndose recuperaciones elevadas en tiempos muy cortos, pero para ello hay que asegurarse de que el analito a determinar sea estable en estas condiciones de temperatura y presión (Esteve, 2006).

La temperatura máxima de trabajo normalmente está entre 180-220°C, dependiendo del tipo de muestra, siendo la principal ventaja por tanto la alta eficacia en alcanzar esa temperatura. A esta temperatura se produce la degradación parcial o completa de la muestra, además de producirse un aumento de la presión debido a la evaporación de los ácidos en la digestión durante la descomposición de la matriz de la muestra (Lafuente, 2016).

Los tiempos empleados en la digestión por microondas son significativamente más cortos que empleando técnicas convencionales. En general se consiguen recuperaciones cuantitativas en tiempos cercanos a los 10 minutos (Esteve, 2006). El empleo de tiempos de digestión superiores no mejora la extracción de los analitos, ya que un aspecto importante es la estabilidad de los compuestos inorgánicos, que pueden ser susceptibles a degradaciones si se exponen a tiempos prolongados a alta temperatura (Pylypiw, Arsenault, Thetford y Incorvia, 1997; Fernández, 2007).

2.6.1.5 Presión

La digestión se puede realizar a presión elevada o a presión atmosférica, dependiendo si el vial está cerrado o abierto. Si se realiza en viales cerrados, se puede hacer digestiones a temperaturas superiores a la de ebullición del disolvente empleado, cuando la presión interna de este aumenta que aceleran el proceso,

mejoran la eficiencia e incrementan la velocidad de digestión de la matriz (Mendoza, Marcó, Almao y Rodríguez, 2014).

2.6.1.6 Otros factores

La influencia de otros factores en el proceso de digestión, aunque en menor medida que los anteriores, se puede mencionar que la extracción del analito puede verse modificada por la humedad que posea la muestra ya que el agua absorbe fuertemente la energía de microondas y puede producir un sobrecalentamiento durante la digestión. Mientras que la potencia del magnetrón según el disolvente que se emplee y sobre todo del número de viales que se extraiga simultáneamente, se necesitará aplicar una potencia determinada. Si es insuficiente no se alcanzará la temperatura de digestión y si es muy superior, se produce un calentamiento brusco y no homogéneo en el tiempo (Esteve, 2006).

2.7 ESPECTROFOTÓMETRO DE ABSORCIÓN ATÓMICA

El espectrofotómetro de absorción atómica es un instrumento que se utiliza para determinar a qué longitud de onda la muestra absorbe la luz y la intensidad de la absorción. Es necesario para la medida que el elemento se encuentre en su forma atómica (Arenas y López, 2004).

2.7.1 Componentes fundamentales

Como se muestra en la Figura 1, los equipos de absorción atómica suelen estar constituidos por cinco componentes fundamentales. Estos componentes son (i) fuente de radiación: la lámpara de cátodo hueco diseñada con ánodo de tungsteno y un cátodo cilíndrico construido de metal, en la que el elemento es activado mediante una descarga eléctrica. (ii) Un soporte de muestra: el atomizador que contienen la muestra gaseosa atomizada. (iii) Un selector de longitud de onda: filtro o monocromador. (iv) Un detector: generalmente fotomultiplicadores y (v) un procesador de señal y lectura (Rodríguez Absi, 2015).

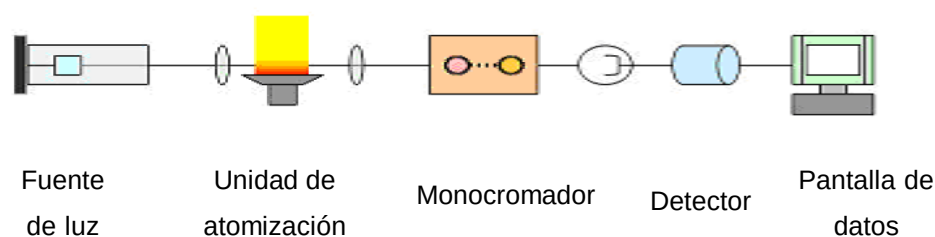


Figura 1. Componentes fundamentales de un equipo de absorción atómica

Fuente: Carrión (2009)

2.7.2 Técnicas analíticas de interés

Hay técnicas analíticas con suficiente sensibilidad para la determinación exacta de estos elementos químicos en muestras de alimentos. Las técnicas empleadas con mayor frecuencia son la espectrofotometría de absorción atómica por llama, por horno de grafito o por vapor frío, y la espectrofotometría de emisión por plasma inductivo o por plasma inductivo acoplado a masas. La selección de la técnica de detección de metales depende de varios factores, como la rapidez deseada, la exactitud y sensibilidad del análisis, la facilidad de uso y el costo (Jiménez y Zambrano, 2011).

2.7.2.1 Espectrofotometría de absorción atómica (AAS)

La espectrofotometría es una rama de la espectroscopia relacionada con la medición de espectros (INEN, 2013). Se basa en el principio de absorción de luz, la cantidad absorbida se relaciona con la presencia y concentración de un elemento en particular o un ion en solución (Rodríguez Absi, 2015). Los principios teóricos de la espectrofotometría de absorción atómica (AAS) fueron formulados por Kirchhoff citado en (Koirtyohann, 1991) en su ley general que dice: “Cualquier materia que pueda emitir luz a una cierta longitud de onda también absorberá luz a esa longitud de onda”. La espectrofotometría de absorción atómica es una 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 (INEN, 2013; Skoog, West, Holler y Crouch, 2015).

- **Espectrofotometría de absorción atómica de llama (FAAS)**

Método por el cual el elemento se determina mediante un espectrofotómetro de absorción atómica, usado en conjunto con un sistema de nebulización y una fuente de atomización (INEN, 2013). El proceso de determinación de metales pesados se realiza a través de los siguientes pasos: nebulización, desorbatación, licoefacción, vaporización, atomización, ionización y cuantificación del metal presente en la muestra. Todos estos pasos están implicados o intervienen en conjunto con los gases que acompañan al proceso de espectrofotometría, estos gases pueden ser acetileno y aire y en algunos casos el óxido nitroso debido a la alta temperatura que se alcanza en la llama del espectrofotómetro que es de aproximadamente 1400°C como se indica en la Figura 2.



Figura 2. Espectrofotómetro de absorción atómica de llama (FAAS)

El catión metal presente en la muestra sufre un proceso de activación seguido de un proceso de ionización lo que le permite ganar una energía, de tal manera que sus electrones periféricos, adquieran energía y suben a un nivel más elevado de energía; como estos electrones no pueden mantenerse permanentemente en estos niveles superiores de energía regresan a su estado básico o basal, emitiendo la energía ganada en forma de luz a una longitud de onda determinada y este incremento de luz es detectado por el espectrofotómetro y traducido a una concentración en mg/L, mg/dl (Amuy y Rosero, 2016). El límite de detección depende de la preparación de la muestra y del método utilizado (Organización Mundial de la Salud, 2013; Vega y Salamanca, 2016).

El proceso de atomización de las muestras para obtener los átomos en estado fundamental se realiza mediante un atomizador de llama. La solución de la muestra se aspira vía un nebulizador dentro de la llama de aire/acetileno como se indica en la Figura 3, donde se evapora el solvente y los sólidos remanentes se separan en átomos. De esta manera se pueden cuantificar los metales que se desean determinar (OMS, 2013; Vega y Salamanca, 2016; Amuy y Rosero, 2016).

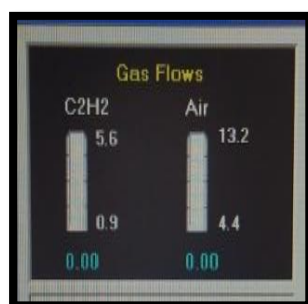


Figura 3. Flujo de gases aire – acetileno

Este método resulta accesible para la detección de uno o dos elementos químicos cuando se cuenta con amplia disponibilidad de las muestras. Es decir, utiliza mayores cantidades de muestra para detectar metales con sensibilidad de partes por millón (ppm), el metal de la muestra para ser analizado debe estar en solución (Jiménez y Zambrano, 2011). Los elementos como el zinc, cobre y hierro pueden, en la mayoría de los alimentos, ser determinados por espectrofotometría de absorción atómica de llama (Métodos Oficiales de Análisis de Productos Químicos Internacionales, 2002).

Cuando se encuentren altas concentraciones de los analitos de interés, se diluye una alícuota de la disolución de muestra con la misma disolución final de la preparación de la muestra, con objeto de que la concentración resultante esté dentro del intervalo de calibración. Se deben hacer todas las diluciones necesarias y anotar los factores de dilución (Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo, 2016).

2.7.3 Condiciones instrumentales

2.7.3.1 Calibración del espectrofotómetro

La calibración de un espectrofotómetro es importante ya que es un instrumento muy utilizado y útil, por estas razones se debe calibrar al terminar cada valoración de muestras, antes de introducir la muestra se introduce una muestra en blanco, la cual no es otra cosa que agua destilada o aire, para así calibrar los valores del espectrofotómetro y llevarlos a un valor de cero, para que las lecturas de las muestras introducidas sean lo más claras y exactas posibles (Morales y Díaz de León, 2015).

2.7.3.2 Blanco de calibración

Se llaman disoluciones blanco o simplemente blancos a las disoluciones que contienen todos los reactivos y disolventes usados en el análisis, pero sin el analito (Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales, 2006). Los blancos miden la respuesta del procedimiento analítico a las impurezas o especies interferentes que existan en los reactivos o, simplemente, a las especiales características del instrumento de medida (Dosal y Villanueva, 2008).

2.7.3.3 Soluciones estándar

Un estándar es una preparación que contiene una concentración conocida de un elemento específico o sustancia. Se usa para compensar de forma parcial o total las interferencias químicas o espectrales introducidas por la matriz de la muestra. Son útiles para el análisis de muestras complejas en las que la posibilidad que se presenten efectos de matriz es de importancia. En este método se añade uno o más incrementos de una solución patrón a alícuotas de las muestras en volúmenes idénticos, luego cada disolución se diluye a un volumen fijo antes de tomar la medida (Mafla, 2015).

2.7.3.4 Soluciones patrón

Se prepara soluciones patrón de concentración conocida del metal en agua con una matriz similar a la de la muestra, los mismos que deben estar dentro del intervalo de trabajo del método. Estas soluciones se pueden preparar utilizando materiales de referencia, y a partir de ella se deben preparar patrones muy diluidos a partir de las soluciones de referencia con concentraciones superiores a 500 mg/L. Cuando la concentración de la muestra es variable y elevada, se debe preparar en forma similar el patrón diluido, si la matriz de la muestra es compleja y los patrones no pueden adaptarse con precisión a sus componentes, se debe utilizar el método de adición de patrón, para corregir los efectos de la matriz, si se utiliza digestión, los patrones deben someterse al mismo proceso de digestión de las muestras (Mafla, 2015).

2.7.3.5 Curvas de calibración

Una curva de calibración es una representación gráfica de absorbancia en función de la concentración de un analito, donde se grafican esos puntos y se emplea dicho gráfico para calcular la muestra problema, además de ser necesario en los trabajos cuantitativos en los que hay que determinar la concentración de una muestra incógnita (Dosal y Villanueva, 2008).

La absorción atómica teóricamente debe cumplir la ley de Beer porque la absorbancia es directamente proporcional a la concentración, pero frecuentemente se producen desviaciones de la linealidad y los análisis no se pueden realizar sin comprobar experimentalmente que exista esta relación lineal, por lo que se debe preparar periódicamente una curva de calibración que cubra el intervalo de concentraciones correspondientes a la muestra. Durante el proceso de atomización y lectura de la absorbancia existe un gran número de variables no controlables que justifica la medida de una disolución patrón cada vez que se realiza un análisis, para poder corregir un resultado analítico si la lectura del patrón sale de los rangos de la curva de calibración (Mafla, 2015).

2.7.4 Parámetros de confiabilidad

2.7.4.1 Linealidad

La linealidad de la curva de calibración es un requerimiento fundamental en la práctica del análisis químico cuando se realizan curvas de calibración y hace referencia a la proporcionalidad que existe entre la concentración del analito, la señal y el factor de respuesta del instrumento como una función de la concentración respectivamente. En general la linealidad no se cuantifica, pero se observa por simple inspección o mediante pruebas significativas de no linealidad. La no linealidad se elimina mediante la selección de un intervalo de operación más restringido. Cabe mencionar que el intervalo lineal puede ser distinto para matrices diferentes de acuerdo al efecto de las interferencias procedentes de la matriz. Como criterio de aceptación de la linealidad a partir de la curva de calibración se considera el valor del coeficiente de correlación mayor a 0,98 (Dosal y Villanueva, 2008).

2.7.4.2 Sensibilidad

La sensibilidad del método mide su capacidad para discriminar entre pequeñas diferencias en la concentración del analito que cuando se atomiza en el instrumento da lugar a una absorbancia de 0,0044, es decir, una absorción del 1%. Para un analito en particular este valor depende de la línea de resonancia utilizada, paso óptico y eficiencia del atomizador. La concentración característica es una unidad útil, ya que permite el cálculo de las concentraciones de las soluciones patrón (Armijos, 2011).

Dos factores limitan la sensibilidad uno es la pendiente de la curva de calibración y el otro es la precisión del sistema de medida. Para dos métodos que tengan igual precisión, el que tenga la mayor pendiente será el más sensible; es importante señalar que para determinar la pendiente de la curva se considera únicamente el intervalo lineal de la misma puesto que cuando la curva pierde su linealidad la pendiente también es diferente. Por otra parte, es importante mencionar que, al igual que la linealidad, también la pendiente de la curva puede ser distinta para matrices diferentes; esto significa que la pendiente de la curva depende de todas

las condiciones de medida y que éstas deben ser iguales o al menos similares para los estándares y la muestra problema (Dosal y Villanueva, 2008).

2.7.4.3 Exactitud y Precisión

La exactitud indica la cercanía de la medida entre el valor aceptado y el verdadero, se expresa mediante el error. Mientras que la precisión se utiliza para describir que tan reproducibles son las mediciones; es decir, qué tan semejantes son los resultados que se han obtenido exactamente de la misma manera. Para describir la precisión de un conjunto de datos repetidos se utilizan dos términos muy conocidos como son la desviación estándar y el coeficiente de variación (Vinagre, 1997). Es pertinente mencionar la diferencia fundamental entre exactitud y precisión. La exactitud mide la concordancia entre un resultado y su valor verdadero; la precisión mide la concordancia entre varios resultados, con frecuencia es más fácil conocer la precisión que la exactitud porque no siempre se conoce el valor verdadero (Dosal y Villanueva, 2008).

2.7.4.4 Límite de detección y cuantificación

El límite de detección es la mínima concentración del analito detectable por el método, donde se considera la amplitud de la señal y el ruido de la línea de fondo dentro de un límite declarado de aceptación, este último se establece de modo que las probabilidades de que se presenten errores de tipo I (falso positivo) y II (falso negativo) sean razonablemente pequeñas, además la concentración más baja que se puede distinguir claramente a partir del cero (Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales, 2006; Dosal y Villanueva, 2008). Su determinación es importante pero los problemas asociados con ella son diversos; estos problemas han sido estadísticamente estudiados y varios criterios de decisión han sido propuestos. Aunque ninguno es universal uno de los más aceptables es el de la concentración que correspondería a la medida del “promedio del blanco + 3s”. El valor de 3s se refiere a tres veces la desviación estándar al realizar la medición de estos blancos; cabe mencionar que la elección de estos blancos no siempre es fácil (Dosal y Villanueva, 2008).

En cuanto al límite de cuantificación denominado también límite de determinación, se define como la más pequeña concentración del analito que puede ser determinada con un nivel de exactitud y precisión aceptables. Dependiendo del convenio utilizado se considera como la concentración de analito que corresponde al valor del promedio del blanco más cinco, seis o diez veces la desviación estándar del mismo (Armijos, 2011).

Por un aparte los límites de detección y cuantificación están relacionados respectivamente con la cantidad o concentración mínima de sustancia que puede ser detectada por el método, y con la concentración más baja que se puede determinar de forma reproducible, con criterios de exactitud y precisión establecidos. El límite de cuantificación se realiza mediante la preparación de un número estipulado de blancos a los cuales se realiza la cuantificación del analito de interés (Martínez J. , 2005).

2.7.4.5 Intervalo analítico

Está definido como el intervalo de concentración en que el analito puede ser determinado mediante la utilización de la curva de calibración; se considera que es el comprendido entre el límite de cuantificación hasta la concentración en la cual se pierde la linealidad de la curva (Dosal y Villanueva, 2008).

2.7.5 Interferencias en el análisis FASS

2.7.5.1 Interferencias por ionización

Aparece cuando el elemento a determinar absorbe una energía más alta de la necesaria para la atomización, pasando así a un estado de excitación superior incluso ionizado. Como consecuencia ya no es posible absorber más luz (especialmente elementos alcalinos y alcalinotérreos a temperaturas de llamas elevadas) (Matissek, Schnepel y Steiner, 1998). El grado de ionización depende de la concentración y de la presencia en la muestra de otros átomos fácilmente ionizables que ejerzan un efecto de tampón sobre el medio (Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo, 2016).

2.7.5.2 Interferencias espectrales

Aparecen cuando un átomo distinto de aquel que se va a medir absorbe parte de la radiación incidente sobre la muestra. Pueden presentarse al utilizar una lámpara multielemento que posee dos líneas de emisión muy próximas que correspondan a dos elementos diferentes. La interferencia puede ser eliminada utilizando una lámpara de un único elemento. Alternativamente podría utilizarse otra longitud de onda para efectuar la medida (Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo, 2016).

2.7.5.3 Interferencias de absorción inespecífica o absorción de fondo

Ocurren cuando ciertas partículas formadas en la llama desvían la trayectoria de la radiación incidente produciendo una señal aparente de absorción. Se producen también como resultado de la formación de algunas especies moleculares que puedan absorber radiación. Esta interferencia puede presentarse de forma notable cuando se mide a longitudes de onda inferiores a 250 nm. El efecto de la absorción de fondo puede ser eliminado utilizando algún dispositivo corrector de dicha absorción (Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo, 2016).

2.7.5.4 Interferencias físicas

Aparecen cuando existen diferencias en las propiedades físicas: viscosidad, densidad o tensión superficial de las disoluciones de muestras y patrones de calibración que influyen en la velocidad de aspiración del vaporizador (aparecen menos átomos en la llama por unidad de tiempo) y en el tamaño de las gotas del aerosol (Matissek, Schnepel y Steiner, 1998; Métodos Oficiales de Análisis de Productos Químicos Internacionales, 2005).

2.7.5.5 Interferencias químicas

Ocurren cuando el elemento a medir se combina con otras especies presentes en la llama, disminuyendo el número de átomos en estado elemental. Este tipo de interferencias puede ser controlado utilizando una llama que produzca una mayor temperatura o bien añadiendo a muestras y patrones algún otro compuesto que inhiba la reacción entre el metal y sus interferentes (Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo, 2016).

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

El presente estudio se realizó en dos lugares y fases específicas. En primera medida en campo y en segunda instancia el análisis en el laboratorio.

3.1 Caracterización del área de estudio

3.1.1 Ubicación de la fase de campo

La fase de campo de la investigación incluyó los cantones: Ibarra, Antonio Ante, Otavalo y Pimampiro donde los productores de la Asociación Llacta Pura cultivan los diferentes rubros agrícolas en la provincia de Imbabura como se indica en la Figura 4. Esta etapa se desarrolló en 57 parcelas de producción de los cultivos de dicha asociación.



Figura 4. Mapa de ubicación de los sectores de muestreo

3.1.2 Ubicación de la fase experimental

La fase de laboratorio de los pretratamientos, tratamientos y de los análisis de las muestras de la investigación se llevó a cabo en el laboratorio de Análisis Físico, Químico y Microbiológico de la Universidad Técnica del Norte. Donde se realizó el secado, contenido de humedad, proceso de digestión y la determinación de la concentración de metales pesados: plomo (Pb), cadmio (Cd), cobre (Cu), zinc (Zn) y manganeso (Mn) en las muestras de rubros agrícolas: papa (*Solanum tuberosum*), tomate de árbol (*Solanum betaceum*), tomate riñón (*Solanum lycopersicum*), brócoli (*Brassica oleraceae*), zanahoria amarilla (*Daucus carota*), acelga (*Beta vulgaris*) y pimiento (*Capsicum annum*).

3.2 Materiales

Los materiales que se utilizaron fueron clasificados en materiales de campo, experimental, de laboratorio, equipos y reactivos, se indican en la Tabla 4.

Tabla 4.

Materiales de campo, experimental, de laboratorio, equipos y reactivos

Material de campo	Material experimental	Material de laboratorio
• Tabla de registro para recolección de datos y muestras • Bolsas plásticas de polietileno con cierre ziploc • Contenedores	• Papa (<i>Solanum tuberosum</i>) • Tomate de árbol (<i>Solanum betaceum</i>) • Tomate riñón (<i>Solanum lycopersicum</i>) • Brócoli (<i>Brassica oleracea</i>) • Zanahoria amarilla (<i>Daucus carota</i>) • Acelga (<i>Beta vulgaris</i>) • Pimiento (<i>Capsicum annum</i>)	• Pipetas volumétricas 5ml, 10 ml • Cápsulas de porcelana • Balones volumétricos 50 ml, 100 ml, 250 ml, 2000 ml • Embudos de vidrio • Recipientes plásticos 100 ml, 250 ml • Viales de digestión 100 ml • Frascos de vidrio ámbar 250 ml
Equipos		Reactivos
• Triturador • Balanza analítica (MRC, Modelo ASB-310-C2-V2) • Estufa de secado (Memmert) • Digestor microondas (Milestone. Modelo Start D) • Campana extractora de gases • Espectrofotómetro de absorción atómica (Perkín Elmer. Modelo AAnalyst 400)		• Agua destilada • Agua tipo I (ultrapura) • Ácido nítrico libre de metales (HNO₃) • Soluciones estándar certificadas de metales: plomo (Fisher Chemical), cadmio (Accu-Standard), cobre (Accu-Standard), zinc (Lobal Chemie) y manganeso (Lobal Chemie) • Gas Acetileno – Aire

3.3 FASE 1: MUESTREO DE RUBROS AGRÍCOLAS

Se realizó el muestreo de los principales rubros agrícolas: frutas y hortalizas producidos por la Asociación Llacta Pura de la provincia de Imbabura entre enero a marzo del 2018, etapa en la que se encontraron en cosecha. Para ello se siguieron las recomendaciones de la norma NTE INEN 1750 y Agrocalidad sobre muestreo de hortalizas y frutas frescas, en donde se tomó una muestra representativa de 1kg para hortalizas pequeñas (pimiento), de 2kg para frutas y hortalizas medianas (tomate de árbol, papa, tomate riñón, zanahoria amarilla, acelga) y de 10 unidades para hortalizas varias (brócoli) (INEN, 1994; AGROCALIDAD, 2016).

Se ha considerado pertinente el análisis de los productos antes mencionados puesto que según estudios previos son mayormente comercializados en la Feria Solidaria que se desarrolla en el Terminal Terrestre de la ciudad de Ibarra y de los que requiere el PMA para el abastecimiento de las canastas, en tal sentido es importante el estudio de dichos rubros agrícolas.

Las muestras utilizadas en este estudio fueron tomadas en cuatro cantones donde se ubican los productores de dicha asociación en Imbabura. En cada parcela se colectó la cantidad recomendada por la NTE INEN 1750 aplicando el muestreo aleatorio estratificado simple, que teniendo en cuenta el tamaño de la muestra, estas son tomadas sin considerar criterios temporales, de localización o espaciales, con la finalidad de que tengan un mayor grado de homogeneidad y la misma probabilidad de ser incluidas en la muestra (INEN, 1994; AGROCALIDAD, 2016), donde se obtuvo un total de 39 muestras (Tabla 5).

Luego se procedió a limpiar la tierra de su superficie y se guardó en bolsas de polietileno con cierre ziploc, previamente etiquetada de forma que ni el aire, precipitación o humedad modifiquen las condiciones normales de su ambiente natural en las que deben llegar al laboratorio. Para su conservación se guardaron en contenedores buscando reducir al máximo la posible biodegradación (MAGAP; AGROCALIDAD, 2017). Se llevaron al laboratorio de Análisis Físico, Químico y Microbiológico de la Universidad Técnica del Norte para su pretratamiento.

En algunos casos las frutas y hortalizas no se encontraban listas para cosechar y existían diferencias en cuanto a la variabilidad de especies sembradas en cada uno de los sectores. Por lo tanto, no se colectaron el mismo número de rubros agrícolas.

Tabla 5.

Muestras de rubros agrícolas

Cantón	Parroquia		Sector	Cultivo
	Urbana	Rural		
Ibarra	Caranqui La Dolorosa del Priorato	San Antonio La Esperanza	San Cristóbal	Brócoli (<i>Brassica oleraceae</i>)
			Cachipamba	Papa (<i>Solanum tuberosum</i>)
			Pogllocunga	Acelga (<i>Beta vulgaris</i>)
			San Antonio	Tomate riñón (<i>Solanum lycopersicum</i>)
			Chirihuasi	Tomate de árbol (<i>Solanum betaceum</i>)
			Rumipamba	Papa (<i>Solanum tuberosum</i>)
		El Sagrario	San José de Cacho	Papa (<i>Solanum tuberosum</i>)
				Acelga (<i>Beta vulgaris</i>)
			Naranjito	Acelga (<i>Beta vulgaris</i>)
			Manzano Guarangui	Tomate de árbol (<i>Solanum betaceum</i>)
	Andrade Marín	San Roque	Cerotal	Papa (<i>Solanum tuberosum</i>)
				Brócoli (<i>Brassica oleraceae</i>)
				Acelga (<i>Beta vulgaris</i>)
				Pimiento (<i>Capsicum annuum</i>)
Antonio Ante		San Francisco de Natabuela San José de Chaltura	El Coco	Tomate de árbol (<i>Solanum betaceum</i>)
				Papa (<i>Solanum tuberosum</i>)
				Tomate de árbol (<i>Solanum betaceum</i>)
				Tomate de árbol (<i>Solanum betaceum</i>)

Otavalo	Jordán	Guanansi	Brócoli (<i>Brassica oleraceae</i>)
	San Luis	Imbabuela alto	Acelga (<i>Beta vulgaris</i>)
	San Juan de Ilumán	Ilumán bajo	Zanahoria amarilla (<i>Daucus carota</i>)
			Tomate de árbol (<i>Solanum betaceum</i>)
Pimampiro	Miguel Egas Cabezas	Pinsaqui	Papa (<i>Solanum tuberosum</i>)
		Quinchuqui	Acelga (<i>Beta vulgaris</i>)
	Pimampiro		
		El Inca	Tomate de árbol (<i>Solanum betaceum</i>)
			Papa (<i>Solanum tuberosum</i>)
			Acelga (<i>Beta vulgaris</i>)
		Buenos Aires	Brócoli (<i>Brassica oleraceae</i>)
			Tomate riñón (<i>Solanum lycopersicum</i>)
Pimampiro			Zanahoria amarilla (<i>Daucus carota</i>)
	Chugá		Pimiento (<i>Capsicum annuum</i>)
		El Sitio	Tomate de árbol (<i>Solanum betaceum</i>)
			Tomate riñón (<i>Solanum lycopersicum</i>)
			Zanahoria amarilla (<i>Daucus carota</i>)
			Pimiento (<i>Capsicum annuum</i>)

Fuente: (Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial del Cantón Otavalo, 2011; Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial del Cantón Antonio Ante, 2012; Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial del Cantón Pimampiro, 2014; Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial del Cantón Ibarra, 2015; Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial de la Provincia de Imbabura, 2015)

3.4 FASE 2: PRETRATAMIENTO Y TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Todas las muestras tomadas de los rubros agrícolas para sus pretratamientos y tratamientos se realizaron en el laboratorio de Análisis Físico, Químico y Microbiológico de la Universidad Técnica del Norte. En la Figura 5 se observa un flujograma del procedimiento analítico.

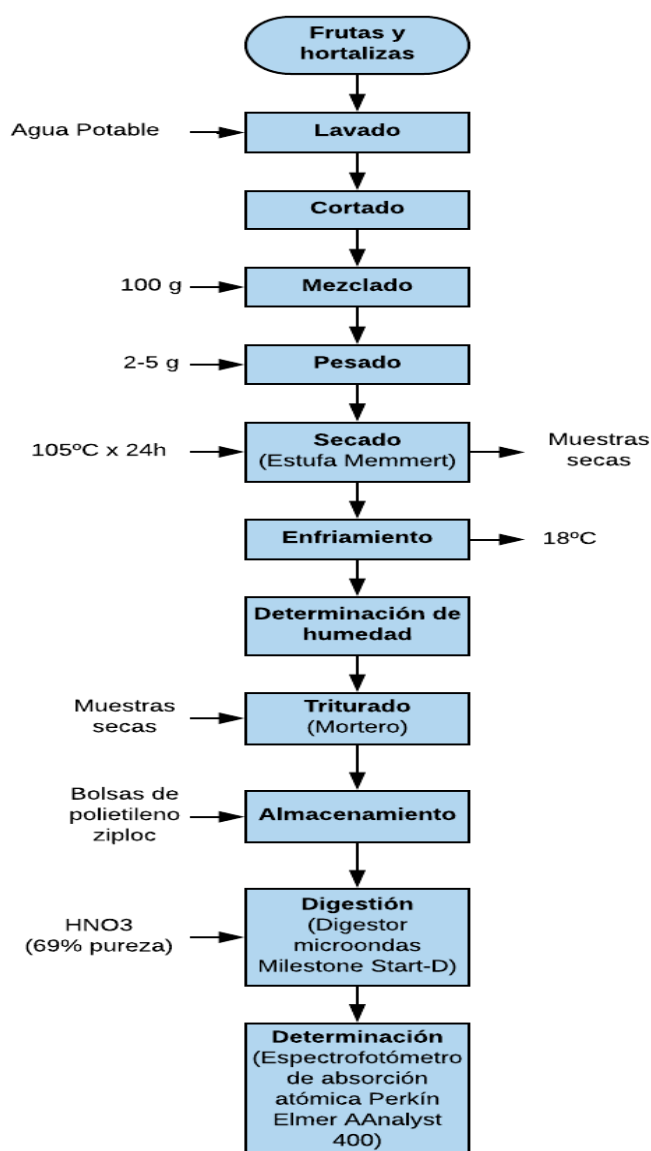


Figura 5. Flujograma del procedimiento analítico

3.4.1 Lavado

Las partes comestibles de las frutas y hortalizas se lavaron cuidadosamente con agua potable, siguiendo el mismo procedimiento que se utiliza para su consumo con el objetivo de retirar la mayor parte de la tierra como se observa en la Figura 6 y se enjuagaron con agua destilada.



Figura 6. Lavado de las muestras

3.4.2 Cortado

Las frutas al igual que las hortalizas se cortaron en pedazos pequeños de aproximadamente (5cm x 3cm) para reducir su tamaño y facilitar su mezclado.

3.4.3 Mezclado

Aproximadamente 100g de muestra fresca se mezclaron en un triturador provisto por cuchillas de acero inoxidable como se observa en la Figura 7.



Figura 7. Mezclado de muestras

3.4.4 Pesado

Se pesaron (2 – 5 g) de las muestras en una balanza analítica, la muestra estuvo contenida en la cápsula de porcelana (Figura 8) con el objeto de determinar el contenido de humedad donde se detalla en las siguientes fases.



Figura 8. Pesaje de muestras

3.4.5 Secado de las muestras

Todas las muestras tomadas de los rubros agrícolas fueron secadas en el laboratorio, siguiendo las recomendaciones del método oficial 999.10 de la AOAC (Métodos Oficiales de Análisis de Productos Químicos Internacionales, 2005) y la FAO (Masson, 1997), a una temperatura de 105°C durante 24 horas en una estufa marca Memmert (Figura 9).



Figura 9. Estufa de secado Memmert

3.4.6 Enfriado

Al final del secado las cápsulas se dejaron enfriar en un desecador a temperatura ambiente (18°C) como se observa en la Figura 10, se tomó su peso y se procedió a determinar el contenido de humedad.



Figura 10. Enfriado de las muestras

3.4.7 Determinación de humedad

El contenido en humedad (w), expresado como porcentaje en masa de las muestras, se determinó mediante la ecuación propuesta por la NTE INEN 1996 (INEN, 2012) y siguiendo las recomendaciones del método oficial 925.10 de la AOAC (Métodos Oficiales de Análisis de Químicos Internacionales, 1990).

$$w = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \times 100\%$$

Donde:

w = Contenido de humedad, en porcentaje;

m_0 = Masa del recipiente, en gramos (cápsulas de porcelana);

m_1 = Masa del recipiente y la muestra para el análisis antes de ser desecada, en gramos;

m_2 = Masa del recipiente y la muestra para el análisis después de ser desecada, en gramos.

3.4.8 Triturado

Las muestras una vez secas se trituraron en un mortero con la ayuda de un pistilo para reducir las a un menor tamaño considerando este procedimiento como acondicionamiento previo a la digestión de las muestras (Figura 11).



Figura 11. Triturado de muestras

3.4.9 Almacenado

Las muestras secas ya trituradas se colocaron en pequeñas bolsas de polietileno con cierre ziploc como se observa en la Figura 12, donde se almacenaron para su posterior proceso de digestión.



Figura 12. Almacenado de muestras

3.4.10 Digestión de las muestras

Para analizar cada uno de los metales pesados (plomo, cadmio, cobre, zinc y manganeso) en los diferentes productos agrícolas como procedimiento previo se requiere en primera instancia el acondicionamiento de la muestra de acuerdo al método oficial de la AOAC 999.10 (Métodos Oficiales de Análisis de Productos

Químicos Internacionales, 2005) y la FAO (Masson, 1997). Posterior a esto se requiere un proceso de digestión que tiene como objeto principal la descomposición total de la materia orgánica de la muestra para obtener una solución que contenga todos los elementos inorgánicos objeto de estudio (García, et al. 2006; Terán, 2016).

La digestión se lo realizó en un digestor microondas marca Milestone Start – D, utilizando HNO_3 libre de metales de pureza al 69% que cumple con la función de mineralizar la muestra para facilitar la posterior determinación de los elementos en el espectrofotómetro. Según el estudio realizado por Terán (2016) el HNO_3 como disgregante permite que la muestra se digiera completamente, mientras que con el ácido clorhídrico no se considera exitoso, debido a que la muestra no logra ser digerida completamente, quedando cerca de la mitad del sólido remanente en el vial de digestión. La Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (US-EPA) (1996) manifiesta que la adición de otros reactivos con los ácidos nítrico (HNO_3) y fluorhídrico (HF) antes de la digestión puede permitir una mejor oxidación de los componentes de la muestra orgánica, lo que favorecerá resultados más precisos, por estos motivos la digestión se realizó con HNO_3 libre de metales de pureza al 69%.

Para la utilización del digestor de microondas, se establecieron varias condiciones en relación a: tiempo, potencia, temperatura interna del vial de digestión y temperatura externa del sistema del digestor, así como presión. Esto con el objeto de analizar con cuál de ellas se obtiene mejores resultados del proceso de digestión mismo que favorece la posterior determinación de los metales en estudio; dichas condiciones se detallan en la Tabla 6. Según Silva (2012) al realizar el proceso de digestión de muestras en un digestor microondas la manipulación de la muestra es mínima, evitándose la pérdida de analitos por volatilización, la contaminación de la muestra, la exposición por parte del analista a los vapores generados durante la digestión ácida y la disminución sustancial del tiempo invertido en la mineralización de la materia orgánica.

Tabla 6.

Condiciones de digestión utilizadas en el equipo Milestone Start - D

Ensayo	Tiempo (min)	Temperatura interna (°C)	Temperatura externa (°C)
1	15	200	110
2	7,5	200	110
3	7,5	180	120
4	7,5	220	100

Se tomó como datos constantes la potencia (1000 W) y presión (45 bar)

Posteriormente se pesó 0.5 ± 0.05 g de muestra seca en los viales de digestión en los que se agregó 10 ml de ácido nítrico libre de metales (HNO_3), se cerró los viales y se los colocó en el soporte para llevarlos al digestor microondas, equipado con diez viales de 100 ml de capacidad, de TMF (Teflón Flúor Modified) como se indica en la Figura 13, dejando un blanco en cada preparación con la finalidad de evitar la contaminación de las muestras.



Figura 13. Digestor microondas Milestone Start – D

Enseguida se dio inicio al proceso de digestión, donde el carrusel del digestor utilizado permitía la digestión simultánea de diez muestras. El seguimiento del proceso de digestión se llevó a cabo a través de una pantalla táctil donde se controlaron las condiciones en estudio. Una vez finalizado el proceso se retiró el soporte con los viales del digestor microondas y se dejó enfriar completamente antes de abrirlos. Posteriormente, se abrió los viales con la ayuda de una llave dinamométrica bajo una campana extractora de gases cumpliendo con los requerimientos de bioseguridad del laboratorio mediante el uso de mascarilla, guantes, gafas, etc., debido a que se dispersan gases tóxicos, enseguida se enjuago

la tapa y las paredes dentro del vial con agua tipo I (ultrapura) para trasvasar el digerido a un balón volumétrico de 100 ml y se procedió a aforar con el mismo tipo de agua. El contenido se almacenó en frascos plásticos de 250 ml para su posterior determinación de metales pesados mediante espectrofotometría.

El material empleado para la digestión (viales, tapas, balones volumétricos, embudos, etc.) de las muestras estaba previamente lavado con agua ultrapura. De igual manera se realizó el mismo procedimiento de lavado con los frascos plásticos.

3.5 DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE METALES PESADOS

Tras el proceso de digestión por microondas, utilizando las condiciones más adecuadas, se prepararon soluciones estándares y patrones para construir la curva de calibración. La determinación de la concentración de metales pesados se realizó mediante la técnica de espectrofotometría de absorción atómica (equipo Perkín Elmer, Modelo AAnalyst 400) como se observa en la Figura 14. Se siguió el método oficial 999.10 de la AOAC para plomo, cadmio, cobre, zinc y manganeso en alimentos por vía húmeda asistida por digestor microondas (Métodos Oficiales de Análisis de Productos Químicos Internacionales, 2005).



Figura 14. Espectrofotómetro de absorción atómica

3.5.1 Condiciones analíticas

Las condiciones analíticas recomendadas para la determinación de cada metal por espectrofotometría de absorción atómica por llama (FASS) con aspiración directa de las soluciones se encuentran detalladas a continuación:

Tabla 7.

Condiciones analíticas para la determinación de metales pesados

Metal	Longitud de onda (nm)	Hendidura (min)	Ruido relativo	Carácter concentrado	Control de sensibilidad (mg/L)	Límite lineal (mg/L)
Pb	283.31	2.7/1.35	0.43	0.18	8	10
Cd	228.80	2.7/1.35	1	0.01	0.5	1
Cu	324.75	2.7/0.8	1	0.0025	1.3	1.6
Zn	213.86	2.7/1.8	1	0.006	0.3	0.75
Mn	279.48	1.8/0.6	1	0.016	1	0.6

Fuente: (Equipo Perkin Elmer, 2018)

El método FASS consistió en determinar concentraciones conocidas del metal de una absorbancia determinada, misma que fue directamente proporcional a las concentraciones del metal a partir de la concentración de 1000 mg/L de estándares certificados de cada uno de los metales: plomo (Fisher), cobre (Accu Standard), cadmio, zinc y manganeso (Lobal Chemie) que se prepararon a las soluciones de 100 ml de concentración conocida de acuerdo a las recomendaciones del equipo. Para cada elemento analizado se prepararon cinco patrones con un blanco de calibración, en un rango de concentración para plomo de (1 - 10 mg/L), zinc de (0.1 – 0.7 mg/L), manganeso de (0.1 – 0.6 mg/L), cadmio y cobre de (0.1 – 1 mg/L) en agua tipo I con una matriz similar a la de la muestra.

A continuación se elaboró una curva de calibración de cada metal graficando absorbancia en función de la concentración, donde se utilizó el límite lineal para: plomo (Pb=10 mg/L), cadmio (Cd=1 mg/L), cobre (Cu=1.6 mg/L), zinc (Zn= 0.75 mg/L) y manganeso (Mn=0.6 mg/L). Las curvas de calibración se pueden apreciar en el anexo 4 del documento. Según menciona Dosal y Villanueva (2008), como criterio de aceptación de la linealidad a partir de la curva de calibración se considera el valor de coeficiente de correlación mayor a 0.98; donde los valores

de los coeficientes de correlación calculados para cada uno de los metales justifican el uso de las mismas por la linealidad exhibida como indica la norma AOAC 999.11 y otros autores (Vásquez, Ocando, Torres, Rodríguez y Granadillo, 2000) y se detalla en la Tabla 8.

Tabla 8.

Preparación de las curvas de calibración para metales pesados

Metales	Curva de calibración	Coefficiente de correlación lineal (R^2)	Límite de detección (mg/L)
Plomo	$y = 0.0180 x + 0.0024$	0.998380	0.0012
Cadmio	$y = 0.0263 x + 0.0011$	0.986898	0.0024
Cobre	$y = 0.0104 x + 0.0010$	0.981010	0.0012
Zinc	$y = 0.0301 x + 0.0006$	0.995088	0.0015
Manganeso	$y = 0.0256 x + 0.0011$	0.993108	0.0015

X y Y representan la concentración del analito (mg/L) y la absorbancia, respectivamente.

LD = Límite de detección, definido como tres veces la desviación estándar del blanco.

3.5.2 Determinación mediante espectrofotometría de absorción atómica por llama (FASS)

Para la determinación de las concentraciones de metales pesados se usó el software instalado (Win Lab 32 AA) y el equipo con la corriente adecuada para la lámpara de cátodo hueco y se dejó calentar hasta que el instrumento se estabilice por un tiempo aproximado de 15 minutos donde se estableció la longitud de onda para cada elemento. Se reajustó la corriente y la longitud de onda hasta un nivel adecuado de energía. Se alineó la lámpara, se conectaron y ajustaron los flujos de aire y acetileno para alcanzar la máxima sensibilidad con relación al metal a determinar y se encendió la llama, esperando unos minutos hasta que se estabilice. Se ajustó el instrumento a cero con el blanco de calibración (solución de agua tipo I) y soluciones estándar preparadas a cinco niveles de concentración dentro del intervalo dinámico de menor a mayor concentración del analito y se registró al menos tres réplicas de la absorbancia de cada uno de acuerdo con las indicaciones del manual del equipo.

De la misma manera se ajustó la velocidad de aspiración del nebulizador con una solución patrón para obtener la máxima sensibilidad. Nuevamente se aspiró el blanco y se encendió el instrumento y se procedió a la lectura de las muestras. El mismo procedimiento se efectuó para la determinación de los diferentes valores de concentración de cada muestra de análisis sometidos a los pretratamientos seleccionados para su evaluación experimental, empleando la técnica analítica de espectrofotometría de absorción atómica utilizando la atomización con llama aire-acetileno. Las determinaciones se realizaron por triplicado y el tratamiento de los datos se realizó en base a los parámetros de interés establecidos por el laboratorio. La cantidad de muestra utilizada para la lectura fue de aproximadamente 100 ml. Terminado el análisis se apagó la llama y desconectó primero el acetileno y luego el aire.

3.6 COMPARACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES METÁLICAS CON LAS NORMATIVAS INTERNACIONALES

Debido a la naturaleza de la investigación, para la comparación de los resultados se utilizó una estadística descriptiva en la cual se determinó el grado de concentración de metales pesados presentes en los rubros agrícolas. La media de los datos obtenidos de las concentraciones de los metales se presenta en gráficos de barras realizados mediante el programa de Microsoft Office Excel, los mismos que permiten comparar las concentraciones de estos metales de acuerdo con los LMP establecidos por las normativas internacionales de la OMS, Unión Europea y Codex Alimentarius en cuanto a los metales en estudio (Anexo 1, 2).

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos se redactaron de acuerdo con los objetivos propuestos en la investigación, analizando en base a la literatura citada y discutiendo con otras investigaciones y resultados.

4.1 IDENTIFICACIÓN DE LAS CONDICIONES DE DIGESTIÓN PARA EL ANÁLISIS ESPECTROFOTOMÉTRICO

Tras la recopilación de información en cuanto a las condiciones de digestión, tipos de disolventes o disgregantes y otros factores se identificó las mejores condiciones en esta fase previa a la determinación de las concentraciones de metales pesados mediante espectrofotometría de absorción atómica.

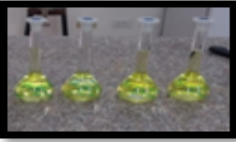
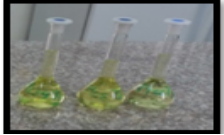
4.1.1 Resultados obtenidos con la aplicación de las diferentes condiciones de digestión

El proceso de digestión con la aplicación de los diferentes ensayos tuvo lugar en dos fases, mismas que son continuas y se realizan en los tiempos como se indica en la Tabla 9, controlándolas a través de una pantalla táctil cuyo gráfico se muestra relacionando condiciones de temperatura sobre tiempo y presión sobre tiempo. El proceso de digestión inicia cuando el sensor detecta las temperaturas ya establecidas por el equipo, siendo la temperatura interna de 20°C para el vial de digestión y de 74°C para el sistema del digestor, alcanzando temperaturas internas de 180°C - 220°C y externas de 100°C - 120°C respectivamente, a una presión de

45 bar. Las mismas que se mantuvieron hasta finalizar el proceso completando un tiempo total de digestión de 30 y 15 minutos para cada ensayo. Según manifiesta Adarsh y Devaraju (2016), la radiación microondas mediante calor, se genera en el seno del medio donde se calienta y el gradiente de temperatura es inverso, es decir, que el calor se transmite desde el interior al exterior de la muestra.

Tabla 9.

Aplicación de las diferentes condiciones de digestión.

Ensayo	Tiempo (min)	Temperatura interna (°C)	Temperatura externa (°C)	Aspecto del digerido			
				CT	AV	LV	MV
1	15	200°C	110°C	CT			
							
2	7.5	200°C	110°C	AV			
							
3	7.5	180°C	120°C	LV			
							
4	7.5	220°C	100°C	MV			
							

Se tomó como datos constantes la potencia (1000W) y presión (45bar). La escala representa el aspecto del digerido: claro y transparente (CT), altamente amarillo verdoso (AV), ligeramente verde (LV), medianamente verde (MV).

Tras los procedimientos realizados con la aplicación de las diferentes condiciones establecidas para cada ensayo en consideración al tiempo, a la temperatura interna del vial de digestión y a la temperatura externa del sistema del digestor, así como aspectos de coloración obtenidos, las condiciones realizadas en el ensayo 1 resultaron ser adecuadas en la digestión de muestras de rubros agrícolas para el análisis espectrofotométrico. Se obtuvo un digestado de aspecto claro y transparente (CT) en la mayoría de las muestras, como se indica en la Tabla 9, lo que permite evidenciar que gran parte de la materia orgánica fue destruida durante ese tiempo. Condiciones que resultan ser favorables para la determinación de los metales pesados, sin problemas de contaminación de la muestra y pérdidas del analito (Fuentes, 2017).

Del estudio realizado por Brito, De la Cruz y López (2016) en la localidad de Tabasco-México, utilizando el método de espectrofotometría de absorción atómica por llama (FASS), en el proceso de digestión de muestras mediante microondas, concuerda con la presente investigación en el aspecto de obtener una solución de color claro, que según las condiciones del ensayo 1 bajo este parámetro resultan ser las adecuadas.

Por otra parte, según lo propuesto por Jones y Case (1990) la temperatura adecuada para realizar el proceso de digestión suele ser de 200°C donde se consigue un color claro. Sin embargo, en la investigación realizada por Fernández (2007) menciona que en el proceso de digestión por microondas existe mayor presencia de oxígeno, por tanto, se puede pensar que son reacciones de oxidación las responsables de la degradación de los compuestos de las muestras vegetales en estudio. Además, otros estudios donde se emplearon tiempos de digestión superiores a los de esta investigación observaron que la extracción de los analitos no presenta una mejora, ya que un aspecto importante es la estabilidad de los compuestos inorgánicos, que pueden ser susceptibles a degradaciones si se exponen a tiempos prolongados a alta temperatura (Pylypiw, Arsenault, Thetford y Incorvia, 1997; Fernández, 2007).

4.2 DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE METALES PESADOS (Pb, Cd, Cu, Zn y Mn) MEDIANTE ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA EN PRODUCTOS AGRÍCOLAS DE LA ASOCIACIÓN LLACTA PURA

Los resultados obtenidos en los análisis de: plomo, cadmio, cobre, zinc y manganeso por espectrofotometría de absorción atómica por llama (FASS) se encuentran en la Tabla 10 y como se puede observar son diferentes para todas las determinaciones en todos los sitios de muestreo.

Los valores de concentración encontrados en zinc y manganeso fueron altos por lo que se empleó diluciones con relación 1:5 para cada metal siguiendo las recomendaciones del laboratorio y el Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (2016) con objeto de que la concentración resultante esté dentro del intervalo de calibración.

Los datos obtenidos en peso seco (mg/L) resultado de la conversión de peso fresco (mg/kg), se procedió a corregir el peso obtenido mediante las siguientes ecuaciones según el método oficial de la AOAC 999.10 (AOAC, 2005), para poder comparar las concentraciones de metales pesados en los rubros agrícolas con las normativas internacionales de la OMS, FAO, Codex Alimentarius y Unión Europea.

Ecuación 1: Conversión de peso seco (mg/L) en peso fresco (mg/kg).

$$C = \frac{(a - b) \text{ df} \times V}{m}$$

Donde:

C = Concentración de la muestra (mg/kg);

a = Concentración de la solución (mg/L);

b = Media de la concentración en las soluciones en blanco (mg/L). El valor de b siempre es cero porque el equipo utilizado no detectaba más allá de dos cifras significativas decimales;

df = Factor de dilución;

V = Volumen de aforo (100ml);

m = Peso de la muestra (g).

Ecuación 2: Se realizó una corrección del peso obtenido (mg/kg).

$$C_{FW} = C \times \frac{100 - H_2O \%}{100}$$

Donde:

C_{FW} = Concentración de la muestra corregida en peso fresco (mg/kg)

C = Concentración de la muestra (mg/kg)

$H_2O \%$ = Contenido de agua de la muestra (%)

Tabla 10.

Medias de la concentración de metales pesados (en base a las lecturas realizadas en el FASS) de rubros agrícolas en peso fresco (mg/kg) producidos por la Asociación Llacta Pura de la provincia de Imbabura.

Cantón	Sector	Muestra	Pb (mg/kg)	Cd (mg/kg)	Cu (mg/kg)	Zn (mg/kg)	Mn (mg/kg)
Ibarra	Caranqui	Brócoli	-	3.43	7.45	63.09	34.65
	Cachipamba	Papa	1.67	-	9.17	67.37	102.26
	Pogllocunga	Acelga	0.80	3.68	7.00	23.20	99.54
	San Antonio	Tomate riñón	-	-	4.29	22.16	24.77
	Chirihuasi	Tomate de árbol	0.72	-	13.87	26.76	80.58
	Rumipamba	Papa	2.64	-	16.03	46.58	94.80
	San José de Cacho	Papa	2.18	-	11.67	43.80	89.15
		Acelga	1.19	-	12.65	58.99	81.43
	Naranjito	Acelga	1.16	-	17.41	155.75	156.53
	Manzano Guarangui	Tomate de árbol	-	6.89	12.30	37.33	60.86
		Papa	0.34	10.37	8.04	57.32	83.07
		Zanahoria amarilla	0.21	4.69	7.40	45.69	44.94
		Acelga	0.11	4.58	13.96	74.96	113.83
		Pimiento	-	3.21	8.00	25.31	43.32
Antonio Ante	Andrade Marín	Papa	-	7.23	14.25	53.42	58.03
		Brócoli	-	5.70	8.36	86.81	55.14
		Acelga	-	3.46	11.48	47.04	56.70
		Pimiento	-	2.77	7.60	28.61	28.21
	San Roque	Tomate de árbol	-	3.89	18.91	45.58	47.86
		Papa	-	5.89	20.39	56.16	57.70
	San Francisco de Natabuela	Tomate de árbol	-	7.95	16.30	58.01	59.21
	San José de Chaltura	Tomate de árbol	0.78	7.27	13.12	44.99	72.68

Otavalo	Jordán	Brócoli	-	4.45	6.92	58.23	35.79
		Acelga	-	2.85	14.61	45.81	44.09
	San Luis	Zanahoria amarilla	0.17	7.88	8.26	56.07	81.88
	San Juan de Ilumán	Tomate de árbol	0.34	5.70	14.86	38.31	59.99
		Papa	0.09	4.38	4.87	25.58	32.35
	Miguel Egas Cabezas	Acelga	-	4.12	11.97	57.33	80.61
Pimampiro	El Inca	Tomate de árbol	0.27	3.85	15.71	34.96	73.56
		Papa	-	11.10	15.18	55.03	117.93
		Acelga	1.04	4.64	15.24	47.03	165.52
	Buenos Aires	Brócoli	1.55	-	6.92	68.19	65.08
		Tomate riñón	0.75	3.11	4.12	15.02	34.04
		Zanahoria amarilla	0.32	4.30	4.94	19.38	40.29
		Pimiento	0.93	3.81	10.06	22.32	40.41
	El Sitio	Tomate de árbol	1.36	7.53	15.49	32.62	73.53
		Tomate riñón	0.56	2.96	5.00	21.92	32.81
		Zanahoria amarilla	1.30	5.55	4.87	22.47	70.50
		Pimiento	0.34	2.87	6.33	18.30	30.20

-. datos obtenidos por debajo del límite de detección. Límite de detección para plomo (< 0.03 mg/kg) y cadmio (< 0.08 mg/kg).

Partiendo de los resultados obtenidos en la Tabla 10, la media de las concentraciones de plomo tomadas en los cuatro cantones donde cultiva la Asociación Llacta Pura se encontró por debajo del límite de detección $< 0,03$ mg/kg los siguientes rubros: brócoli, tomate riñón, tomate de árbol, papa, pimienta y acelga. En el caso del cadmio los rubros que se encontraron por debajo del límite de detección $< 0,08$ mg/kg fueron: papa, tomate riñón, tomate de árbol, acelga y brócoli, con valores que no fueron detectados por el equipo de FASS.

Según los métodos generales para ensayos y análisis de productos alimenticios realizados por Merck (2016) la limitación en la detección se debe a la longitud de onda. En general, menciona que se puede trabajar a una longitud de onda por encima de 200 nm, pero el hidrógeno y algunos otros elementos tienen su línea de resonancia por debajo de los 200 nm, de la misma manera coincide con lo que manifiesta el INSHT (2016), cuando ciertas partículas formadas en la llama desvían la trayectoria de la radiación incidente produciendo una señal aparente de absorción. Se producen también como resultado de la formación de algunas especies moleculares que puedan absorber radiación. Esta interferencia puede presentarse de forma notable cuando se mide a longitudes de onda inferiores a 250 nm.

Adarsh y Devaraju (2016), manifiestan que esta limitación puede ser ocasionada cuando el elemento a determinar absorbe una energía más alta de la necesaria para la atomización, pasando así a un estado de excitación superior incluso ionizado, lo que se denomina interferencia por ionización. De la misma manera mencionan que se debe a un criterio de calidad del monocromador de espectrofotometría de absorción atómica donde la fracción de luz emitida por la lámpara de cátodo hueco pasa por el monocromador y alcanza el detector, por lo que las pérdidas de luz sólo se compensan con una amplificación posterior de la electrónica, esto conduce a un mayor ruido de la señal y por tanto a una menor precisión y menor límite de detección, lo que indica que el equipo de absorción atómica por llama no permite detectar concentraciones muy bajas de estos elementos. Por lo que, para muestras con muy bajos contenidos de estos metales, según el estudio de Rodríguez Alfaro (2012) debe emplearse un equipo de mayor sensibilidad como el

espectrofotómetro de absorción atómica por horno de grafito (GFASS) o el de absorción atómica con plasma acoplado.

La confiabilidad de los resultados obtenidos se fundamenta en la aplicación analítica por espectrofotometría de absorción atómica para identificar la concentración de los metales pesados en los rubros vegetativos de la Asociación Llacta Pura y la seguridad del análisis instrumental cuantitativo de las muestras desarrolladas en el laboratorio, determinado por el nivel aceptable de calidad, bajo los principios de la ISO 3534-2:1995 sobre control estadístico de calidad en referencia a los términos relativos a la especificidad del proceso investigativo, los resultados de las observaciones, propiedades que permitieron identificar la cuantificación de los metales con características cuantitativas.

Al comparar los resultados obtenidos con el estudio realizado por Vega y Salamanca (2016) en la agricultura urbana de la ciudad de Bogotá, los contenidos de trazas de plomo en muestras de acelga (*Beta vulgaris*) de igual manera obtuvieron como resultado ausencia del metal. Estos resultados permiten afirmar que la producción agroecológica o verde tienen el propósito de aplicar técnicas culturales menos nocivas al ambiente, de manera sustentable, sistemática y minimizar las interacciones de presencia de metales pesados obteniendo productos saludables de calidad, específicamente disminuyendo los riesgos epidemiológicos y toxicológicos de los metales pesados en los alimentos. La agroecología es una alternativa que fomenta la seguridad alimentaria, no solo desde los aspectos de ingesta de macro y micronutrientes, sino también desde el punto de vista de calidad e inocuidad de los alimentos. Sin embargo, se debe tener presente el tema de la acumulación de los metales en el organismo, que generan problemas en los riñones y el hígado, lo que conlleva a una afectación de los sistemas fisiológicos en los seres humanos, clasificándolos como metales altamente tóxicos incluso a bajas concentraciones.

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la FAO (2013), los límites máximos permisibles de metales pesados en hortalizas y vegetales en general no deben ser excedidos para que no representen riesgos en la salud humana. Los alimentos aptos para el consumo deben seguir controles de calidad periódicos para identificar contaminantes como metales pesados y microorganismos que representan riesgo tóxico para la salud humana, generando información importante para los controles de las autoridades y los consumidores y estableciendo parámetros beneficiosos para la salud con relación al valor nutricional que son fuente de proteínas y otros nutrientes. El Código Sanitario con Registro Oficial No. 18: Ley de Control Sanitario de Alimentos, Cosméticos y Medicamentos, establece las directrices y normas sanitarias que deben cumplirse en la producción y elaboración de alimentos, cosméticos y medicamentos. El Decreto Ejecutivo 1039 Reglamento de Seguridad Alimentaria, determina los parámetros relacionados con la producción y acceso de alimentos con un mayor nivel nutricional y sanitario, en concordancia con la norma NTE INEN 1745:90 Hortalizas Frescas.

Los resultados obtenidos por Luna y Rodríguez (2016) en la ciudad de Cajamarca-Perú, son similares a los que se presentan en esta investigación donde las concentraciones de plomo en muestras de papa (*Solanum tuberosum*) no pudieron ser detectadas debido a la sensibilidad del equipo ya que se trata de concentraciones muy bajas de este metal (ppb). Mientras que otros estudios como los de Mafla (2015) en hortalizas cultivadas en Latacunga también encontraron concentraciones por debajo del límite de detección y los de Vásquez, Ocando, Torres, Rodríguez y Granadillo (2000) en muestras de pimiento donde tampoco encontraron concentración alguna de manganeso.

4.3 COMPARACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES METÁLICAS DE ACUERDO A LAS NORMATIVAS INTERNACIONALES DE LA OMS, EL REGLAMENTO DE LA UNIÓN EUROPEA Y EL CODEX ALIMENTARIUS

Las frutas y hortalizas se las consumen en fresco y es de esta forma como específica la OMS, FAO, Codex Alimentarius y Unión Europea el contenido de metales pesados que deben encontrarse dentro de los límites máximos permisibles (LMP). Por lo que los resultados de las concentraciones de metales pesados de esta investigación en plomo y cadmio se compararon con los LPM establecidos por dichas normativas.

La OMS, FAO, el Codex Alimentarius y la Unión Europea no establecen límites máximos permisibles que regulen el contenido máximo en frutas y hortalizas de cobre, zinc y manganeso, ya que no se encuentran contemplados (Codex Alimentarius, FAO y OMS, 1995; Unión Europea, 2006).

Tabla 11.

Cumplimiento de las normas internacionales OMS, FAO, Codex Alimentarius y la Unión Europea sobre metales pesados en frutas y hortalizas

	Concentración (mg/kg) en peso fresco (n=39)	
	Pb	Cd
Concentraciones encontradas en las frutas y hortalizas	(<0.03 – 2.64)	(<0,08 – 11.10)
Número de muestras que excedieron los valores límite	22 (56,41%)	31 (79,49%)

En la Tabla 11, se muestran los rangos en los que variaron las medias de las concentraciones de los metales pesados (plomo y cadmio) en todas las frutas y hortalizas analizadas en peso fresco y se comparan con los LMP establecidos por las normas internacionales. Para plomo, las 39 muestras recolectadas de rubros agrícolas de los diferentes sectores (100%), se encontró que 22 (56,41%) superan

los rangos en que este metal se encuentra en los alimentos. De igual manera sucede con el cadmio, donde 31 muestras (79,49%) sobrepasaron los LMP de este contaminante establecido en las normas internacionales para alimentos destinados al consumo humano. Los resultados indican la necesidad de tener una estricta vigilancia de los cultivos hortícolas producidos por la Asociación Llacta Pura de la provincia de Imbabura.

4.3.1 Comparación de la media de la concentración de plomo en rubros agrícolas

Los resultados obtenidos en los análisis de plomo en muestras de rubros agrícolas por espectrofotometría de absorción atómica tomados de la asociación ubicada en los diferentes cantones de la provincia de Imbabura se encuentran en la Figura 15, los mismos que se compararon con los LMP establecidos por las normativas internacionales de la OMS, FAO y Codex Alimentarius cuyo valor para plomo en tomate de árbol, papa, tomate riñón, brócoli, zanahoria amarilla y pimiento es de 0.10 mg/kg, en tanto que para acelga es de 0.30 mg/kg.

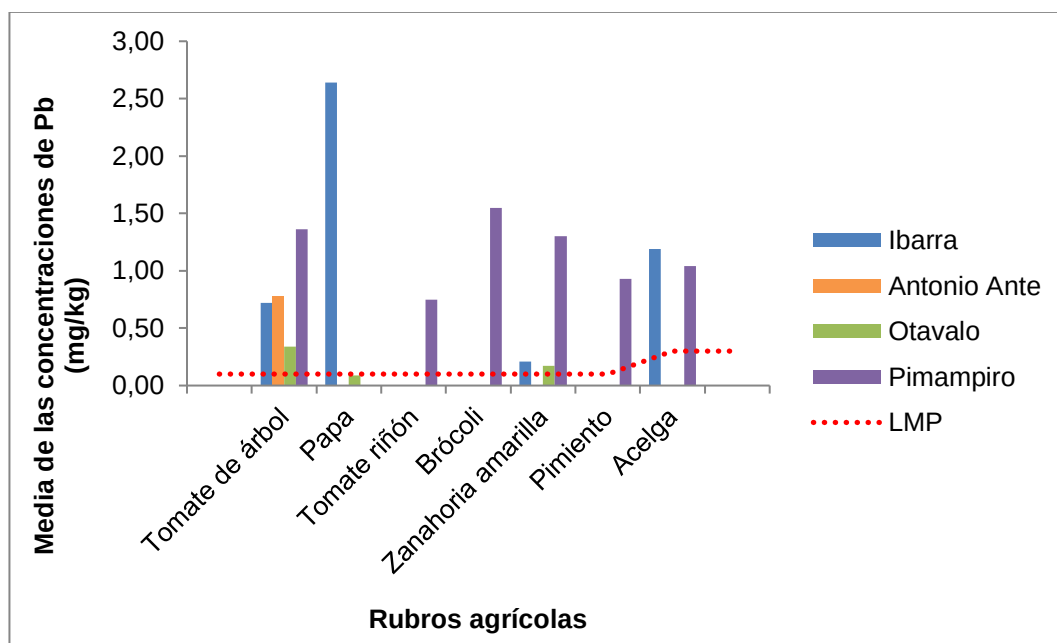


Figura 15. Comparación de la media de la concentración de plomo (en base a la mayor lectura realizada en el FASS) de rubros agrícolas en peso fresco (mg/kg). La línea continua de color rojo representa el LMP para los rubros agrícolas.

Del análisis de los resultados de los rubros agrícolas de la Asociación Llacta Pura respecto a la media de la concentración de plomo se determina que la mayor parte de las muestras sobrepasan los LMP, excepto una muestra de papa (*Solanum tuberosum*) procedente del sector de Otavalo. En el sector de Ibarra se encontró la mayor concentración del metal (2.64 mg/kg) en la papa, posiblemente dado el lugar donde se cultiva este rubro se encuentra cercano al volcán Imbabura. La media de la concentración en muestras de tomate de árbol (*Solanum betaceum*) en Pimampiro fue de 1.36 mg/kg, en Antonio Ante de 0.78 mg/kg, en Ibarra de 0.72 mg/kg y para Otavalo 0.34 mg/kg.

Al comparar los resultados de concentración de plomo en la papa con el estudio realizado por Moreno, García y Chaparro la localidad de Boyacá-Colombia (2016) se determina que la concentración tiene un promedio de 0.085 a 0.150 mg/kg, en cultivos de papa; con un coeficiente de variación de las muestras de 3.5%. Una de las fuentes de contaminación por plomo en el aire son los residuos de la combustión de los derivados del petróleo, en cultivos que están expuestos a contaminación atmosférica. Cuando los cultivos se localizan cercanos a fuentes de contaminación de tipo industrial y autopistas, existe alto riesgo de que el plomo se difunda por el sistema vascular de la planta, generando una baja bioacumulación en los frutos, mientras que en las hojas generalmente se presenta una acumulación mayor de este metal.

Los datos obtenidos de la presencia de plomo en la zanahoria amarilla en el sector de Pimampiro se establecen que es de 1.30 mg/kg, valor que supera el límite máximo permisible de 0.10 mg/kg. Del estudio realizado por Olivares (2013) se determina que la concentración de plomo encontrado en muestras de zanahoria en cultivos de tipo convencional fue de 0.12 mg/kg y en cultivo de tipo orgánico de 0.19 mg/kg, mientras que el valor establecido por el Codex es del 0.10 mg/kg, y señaló que existe una probabilidad del 0.1% de que el promedio de concentración de plomo establecido en las muestras de zanahoria de cultivo convencional supere este nivel de concentración máximo (0.10 mg/kg), mientras que en el cultivo de tipo orgánico existió una probabilidad del 2.18%.

En el estudio realizado por Escobar (2016) las concentraciones obtenidas de plomo demuestran una baja bioacumulación en frutos a diferencia de sus hojas donde presenta mayor acumulación del metal. Sin embargo, manifiesta que, en los alimentos de origen vegetal, se ha determinado que el plomo no es un tóxico sistémico, es decir que no se difunde por el sistema vascular de la planta y contamina en menor proporción las partes aéreas consumibles. Esta característica, añadida a su efímera persistencia en las aguas, contribuye a explicar su bajo poder de biomagnificación en los frutos. Según estudios realizados por Michalak & Wierzbicka (1998) y Miranda et al. (2008), aseguran que las hojas de las hortalizas asimilan plomo en diferentes cantidades y que depende en gran medida de la edad de las mismas, en donde el máximo contenido de plomo es encontrado en hojas senescentes y el mínimo en hojas jóvenes.

En el tomate riñón los valores de concentración más altos son de 0.75 mg/kg en Pimampiro, superando el límite máximo permisible de 0.10 mg/kg. En el brócoli se encontró valores de plomo de 1.55 mg/kg en Pimampiro que sobrepasa el límite máximo permisible (0.10 mg/kg) en la Norma Internacional Codex Alimentarius. En la acelga la concentración de plomo más alta se encontró en Ibarra con 1.19 mg/kg, que supera la Norma Internacional de presencia de plomo.

4.3.2 Comparación de la media de la concentración de cadmio en rubros agrícolas

Los resultados obtenidos en los análisis de cadmio (Figura 16) se compararon con el límite máximo permisible (LMP) establecido por las normativas internacionales de la OMS, FAO y Codex Alimentarius cuyo valor para cadmio en tomate de árbol, brócoli, tomate riñón y pimiento es de 0.05 mg/kg, mientras que en papa y zanahoria amarilla es de 0.10 mg/kg, en tanto que para acelga es de 0.20 mg/kg.

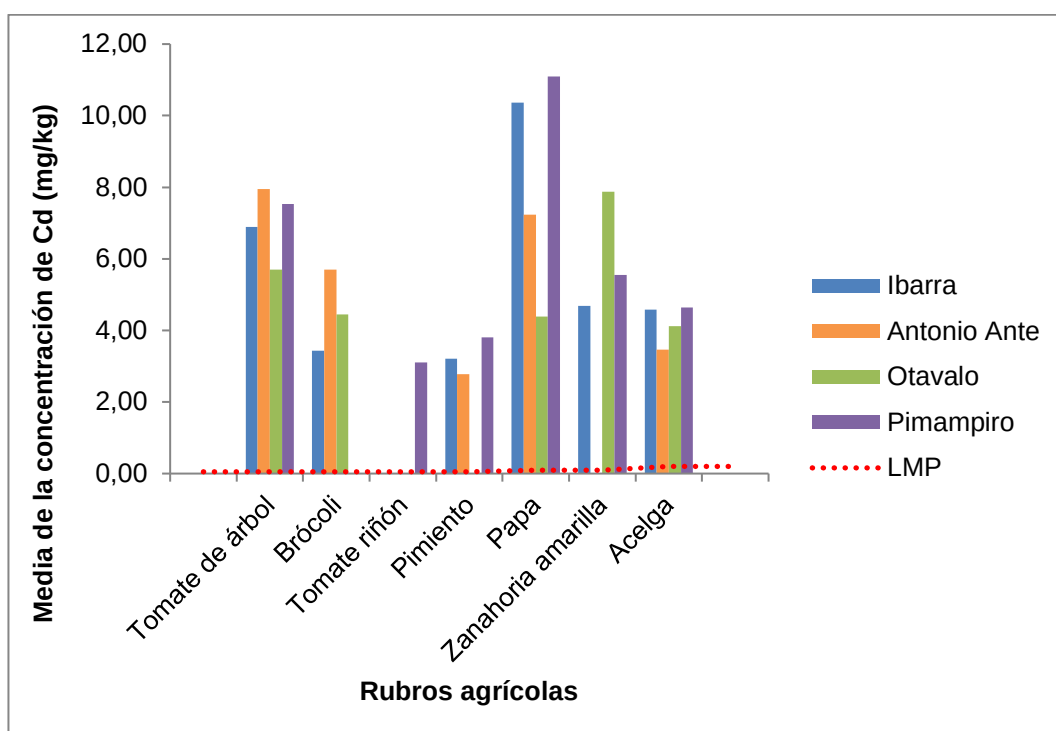


Figura 16. Comparación de la media de la concentración de cadmio (en base a la mayor lectura realizada en el FASS) de rubros agrícolas en peso fresco (mg/kg). La línea continua de color rojo representa el LMP para los rubros agrícolas.

En la Figura 16, se observa la concentración de cadmio en la papa (11.10 mg/kg) procedente del sector de Pimampiro, de igual manera en tomate de árbol (7.95 mg/kg) de Antonio Ante y zanahoria amarilla (7.88 mg/kg) de Otavalo. Las concentraciones para cadmio en estos rubros agrícolas superan el LMP, lo que los hace no aptos para su consumo. Los altos niveles de metales pesados como el cadmio, plomo y otros, están presentes en suelos y aguas residuales o aguas negras que pueden contener gran cantidad de estos metales y que son usados para los cultivos agrícolas, y por su carácter no biodegradable pueden resultar peligrosos.

Según un estudio realizado por Pineda, Teos y Sosa (2016) en la localidad de Guatemala, determinaron que las muestras de papa poseen concentraciones de cadmio de 0.045 µg, 0.25 µg, 1.875 µg y 0.616 µg sobre 100 gramos de alimento, que son menores que las que se encontraron en este estudio aunque no representan un nivel de toxicidad alarmante. También en el estudio realizado por Bosque,

Schuhmacher, Domingo y Llobet (1990) en hojas y tallos de acelga, espinaca y lechuga se encontró que los niveles de cadmio difieren con los resultados obtenidos en las concentraciones de acelga de este estudio. Según lo reportado por el Codex Alimentarius el aumento del contenido de cadmio en los suelos incrementa la absorción del mismo en las plantas; de esta manera, la exposición humana a través de cultivos agrícolas es susceptible al incremento del cadmio presente en el suelo. Los valores más altos encontrados de presencia de cadmio son en la papa con 11.10 (Pimampiro) y 10.37 mg/kg (Ibarra), en la zanahoria amarilla es de 7.88 mg/kg y en el tomate de árbol de 7.95 mg/kg. En el brócoli es de 5.70 mg/kg, en el tomate riñón es de 3.11 mg/kg, en la acelga de 4.64 y en el pimiento de 3.81 mg/kg.

En el estudio realizado por Luna y Rodríguez (2016), se determinó que la concentración de cadmio en muestras de papa coincidían con otras fuentes literarias como Kabata Pendias (2001) donde se menciona que los alimentos agrícolas, como la papa, la espinaca y la lechuga son reconocidos bioindicadores ambientales, debido a su capacidad de retención e incorporación de compuestos como el cadmio durante su crecimiento, reflejando la presencia de los mismos, por alteraciones fenotípicas. Químicamente el cadmio se puede encontrar disuelto en el agua contenida en el suelo absorbido en superficies orgánicas e inorgánicas, formando parte de minerales precipitados con otros compuestos de suelo o incorporado a estructuras biológicas. La capacidad de acumulación del cadmio en las plantas depende de numerosos factores: físicos, químicos y biológicos que modifican su solubilidad y el estado del metal en el suelo, uno de los principales factores es el pH, la temperatura, el contenido en arcillas, materia orgánica y la humedad.

Los resultados de la Figura 16, determinan que en el brócoli la media de concentración más alta de cadmio es de 5.70 mg/kg y corresponde a las muestras obtenidas del sector de Antonio Ante, en este mismo rubro se obtiene una concentración de 4.45 mg/kg de las muestras de Otavalo, y en las muestras de Ibarra de 3.43 mg/kg. La mayor concentración de la presencia de cadmio en la acelga es de 4.58 y 4.64 mg/kg en Ibarra y Pimampiro, mientras que en Otavalo la

concentración de cadmio en las muestras es de 4.12 mg/kg y en Antonio Ante 3.46 mg/kg.

Al comparar estos resultados con el estudio realizado por Rodríguez Serrano et al. (2008), especialmente en plantas como el tomate de árbol y papa, el cadmio tiende a acumularse principalmente en la raíz cuando se presenta en altos contenidos. Otros estudios realizados por Prieto Méndez et al. (2009) mencionan que el cadmio posee una bioacumulación intensa en la planta especialmente en sus hojas y frutos.

Según un estudio realizado por Falco, Nadal, Llobet y Domingo (2006) mencionan que el cadmio puede llegar a los vegetales por medio del uso de plaguicidas y por las aguas de riego contaminadas. La Asociación Llacta Pura utiliza la rotación de cultivos especialmente de tomate de árbol, papa, zanahoria amarilla, pimiento y otros, buscando optimizar el uso del suelo y los nutrientes, el uso de agua y la resistencia a enfermedades, generando un mejor equilibrio de sus cultivos y mantener la fertilidad del suelo. Los agricultores de esta asociación utilizan fertilizantes convencionales, así como agroquímicos para el control de la maleza, plagas y enfermedades que se presentan durante el ciclo de los cultivos en los sistemas de producción, aplicando tratamiento de labranza convencional.

4.3.3 Concentración de cobre en rubros agrícolas

Los resultados obtenidos en los análisis de cobre en muestras de rubros agrícolas por espectrofotometría de absorción atómica tomados de los diferentes cantones de la provincia de Imbabura se encuentran en la Figura 17.

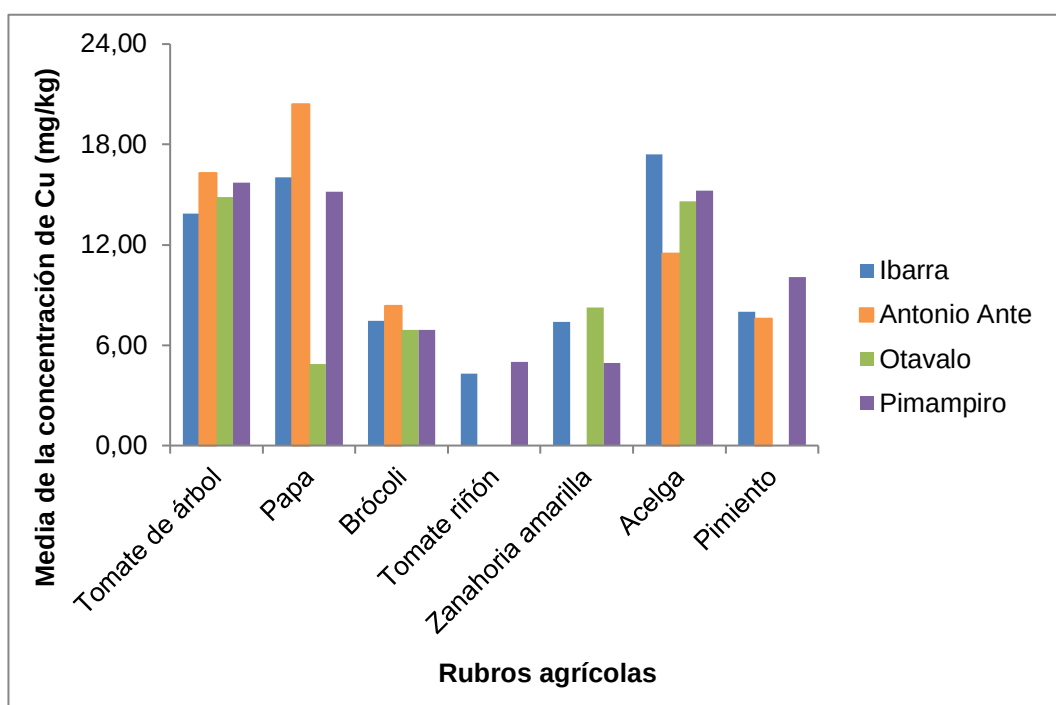


Figura 17. Media de la concentración de cobre (en base la mayor lectura realizada en el FASS) de rubros agrícolas en peso fresco (mg/kg) producidos por la Asociación Llacta Pura de la provincia de Imbabura.

En la Figura 17, se observa los resultados de la media de la concentración en la determinación de cobre en muestras de rubros agrícolas en peso fresco tomadas en la provincia de Imbabura, donde las mayores concentraciones del metal se reportan en la papa (20.39 mg/kg) procedente del sector de Antonio Ante, de igual manera en la acelga (17.41 mg/kg) procedente de Ibarra y tomate de árbol (16.30 mg/kg) de Antonio Ante. La diferencia de las concentraciones de cobre en las muestras de los cantones se puede sustentar en el tipo de suelo, en la ubicación de las parcelas de cultivo, si están cercanas a zonas urbanas o carreteras y en la presencia de agua contaminada cercana. Para disponer de una evaluación de calidad analítica de los resultados se puede utilizar el análisis de suelos que fundamenten parámetros que tienen relación con la presencia del cobre en estos cultivos.

Los resultados de la concentración de cobre en la Figura 17 determinan que en el pimiento es de 10.06 mg/kg en las muestras del cantón Pimampiro, de 8.00 mg/kg en Ibarra y de 7.60 mg/kg en Antonio Ante. La concentración de cobre en la zanahoria amarilla es 8.26 mg/kg en las muestras del cantón Otavalo, 7.40 mg/kg en Ibarra y en Pimampiro la concentración en las muestras es de 4.94 mg/kg. La concentración en el brócoli en Antonio Ante es de 8.36 mg/kg, en Ibarra 7.45 mg/kg, en Otavalo y Pimampiro de 6.92 mg/kg. En el estudio realizado por Kabata-Pendias (2001) menciona que el contenido de cobre en las plantas depende en gran medida de la concentración del medio en donde ésta se esté desarrollando, variando además según la especie vegetal y el tipo de órgano (raíz, tallo y hojas) que se esté analizando.

Según un estudio realizado por Turkdogan, Kilicel, Kara, Tuncer y Uygan (2002), con el método de espectrofotometría de absorción atómica por llama (FAAS), se encontró que las muestras de frutas y vegetales contenían cantidades elevadas de metales pesados específicamente de cobre y manganeso, similares a las de este estudio.

4.3.4 Concentración de zinc en rubros agrícolas

Los resultados obtenidos en los análisis de zinc en muestras de rubros agrícolas por espectrofotometría de absorción atómica tomados de los diferentes cantones de la provincia de Imbabura se encuentran en la Figura 18.

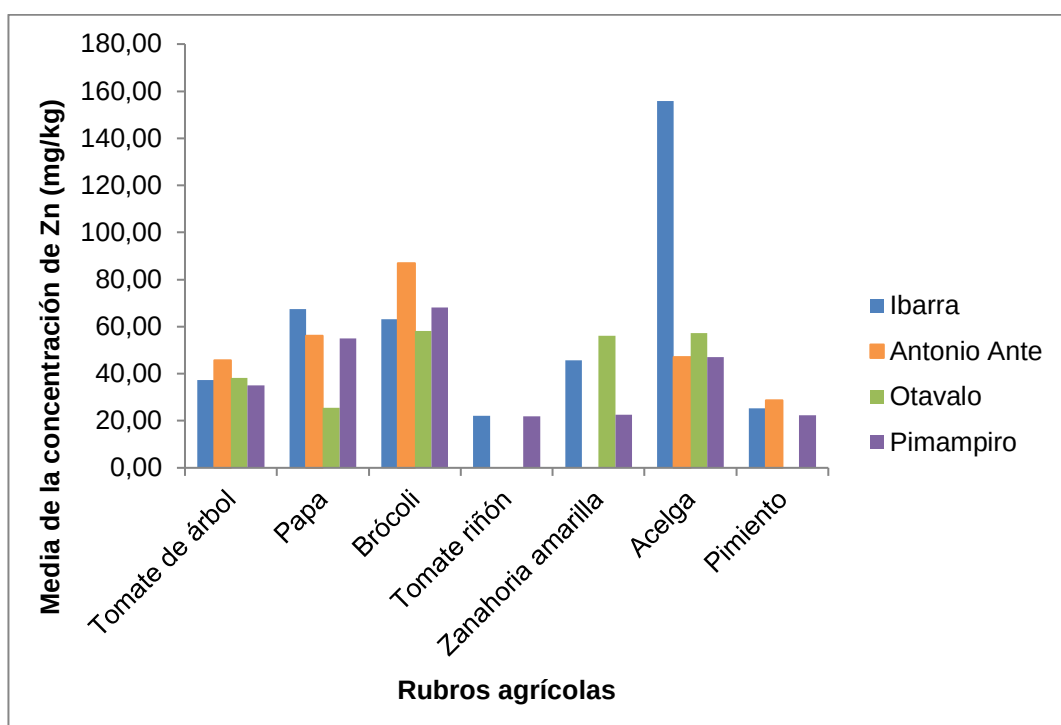


Figura 18. Media de la concentración de zinc (en base la mayor lectura realizada en el FASS) de rubros agrícolas en peso fresco (mg/kg) producidos por la Asociación Llacta Pura de la provincia de Imbabura.

En la Figura 18, se observa los resultados de la media de la concentración en la determinación de zinc en muestras de rubros agrícolas en peso fresco tomadas en la provincia de Imbabura, donde las mayores concentraciones del metal se reportan en acelga (155.75 mg/kg) procedente del cantón Ibarra, de igual manera en brócoli (86.81 mg/kg) de Antonio Ante.

Al comparar las concentraciones de zinc obtenidas en esta investigación se encuentran similares resultados a los del estudio realizado por Kumar Sharma, Agrawal y Marshall (2008), donde observaron que la concentración media de zinc fue más alta en todos los vegetales especialmente en brócoli, debido a la deposición atmosférica que ha contribuido al aumento de los niveles de metales pesados en vegetales. Según el estudio realizado por Amezcua y Lara (2017) las elevadas concentraciones de zinc se deben a las prácticas agrícolas de fertilización exhaustiva con sales del mismo metal en los cultivos. Sin embargo, la aplicación constante de grandes cantidades de zinc en el suelo o directamente en las plantas

conlleva el riesgo de generar acumulaciones de dicho elemento que pueden llegar a ser tóxicas. Por lo que cultivos de vegetales como la espinaca son más sensibles a la toxicidad por este elemento. Según otro estudio realizado por Casierra y Poveda (2005) coincide que las altas concentraciones en zinc y manganeso se debe a algunos fungicidas que pueden incrementar el contenido de estos metales en plantas cultivadas. Aunque otros estudios como el de Turkdogan et al. (2002), ponen de manifiesto que las muestras de frutas y vegetales carecen de zinc.

4.3.5 Concentración de manganeso en rubros agrícolas

Los resultados obtenidos en los análisis de manganeso en muestras de rubros agrícolas por espectrofotometría de absorción atómica tomados de los diferentes cantones de la provincia de Imbabura se encuentran en la Figura 19.

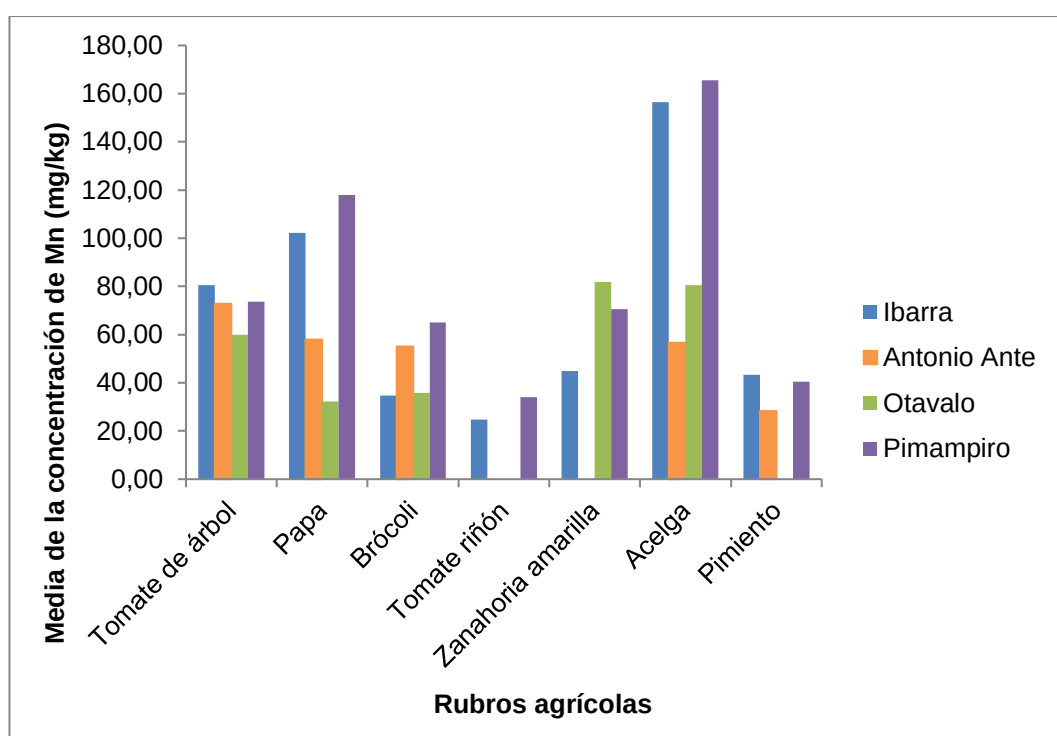


Figura 19. Media de la concentración de manganeso (en base a la mayor lectura realizada en el FASS) de rubros agrícolas en peso fresco (mg/kg) producidos por la Asociación Llacta Pura de la provincia de Imbabura.

En la Figura 19, se observa los resultados de la media de la concentración en la determinación de manganeso en muestras de rubros agrícolas en peso fresco tomadas en la provincia de Imbabura, donde las mayores concentraciones del

metal se reportan en acelga (165.52 mg/kg) y papa (117.93 mg/kg) procedentes del cantón Pimampiro y en menor medida en zanahoria amarilla (81.88 mg/kg) de Otavalo.

Según un estudio realizado por Fiallos (2017) sobre el contenido de manganeso en muestras de acelga presentaron los valores más altos de concentración de este metal similares a los obtenidos en esta investigación. De igual manera coincide con el estudio realizado por Intawongse (2007) en espinacas donde señala que este metal tiende a acumularse en las hojas. Según el reporte de la ATSDR (2016) menciona que la presencia de manganeso se debe a la calidad de agua de regadío, a características propias del suelo y a efluentes industriales. Acevedo et al. (2005) indican que las altas concentraciones se puede relacionar con varios factores; sumado a esto, la cercanía de los lotes de muestreo a las fábricas que se ubican alrededor del sitio experimental, que favorecen la contaminación aérea y puede influir en la concentración en la planta y posiblemente, la dificultad para retirar la capa contaminante adherida a las hojas muestreadas. Además, en el estudio realizado por Peris (2006) menciona que esto es debido a la capacidad de absorción del metal por las plantas, al igual que ocurre con otros elementos, varía entre especies.

Al comparar la concentración de manganeso que se obtuvo en acelga con lo mencionado en la investigación realizada por De Armas y Castro (2007) resulta que son diferentes a las de esta investigación ya que presentaron menores concentraciones de metales pesados siendo uno de ellos el manganeso. Por otra parte, en cultivos de espinaca se presentaron las mayores concentraciones del metal, siendo las más bioacumulables comparadas con acelga y lechuga. Sin embargo, según Prieto Méndez et al. (2009) el manganeso tiende acumularse en las hojas de espinacas por lo que fácilmente es absorbido por las plantas y tiene mayor movilidad para llegar a las diferentes partes u órganos de la planta causando daños en las mismas.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

- Las diferentes condiciones de digestión húmeda asistida por microondas en muestras de frutas y hortalizas en consideración al tiempo y temperatura afectan al proceso, por lo que en el presente estudio los resultados obtenidos en el ensayo 1 con un tiempo de 15 minutos, una temperatura interna de 200°C y una externa de 110°C, resultaron ser adecuados debido a que las muestras fueron digeridas completamente.
- Del 100% de muestras analizadas en la asociación Llacta de la provincia de Imbabura el 56,41% relacionado al plomo y el 79,49% referente a la determinación de cadmio en los cantones de Ibarra, Antonio Ante, Otavalo y Pimampiro sobrepasan los límites máximos permisibles (LMP) de 0.10 y 0.05 mg/kg según normativas vigentes para alimentos destinados al consumo humano.
- Se obtuvieron valores elevados de concentraciones de plomo (2.64 mg/kg) y cadmio (11.10 mg/kg) en la papa, procedentes de los cantones de Ibarra y Pimampiro superando los LMP respectivamente, los altos niveles de metales pesados radican principalmente, que pueden ser acumulados en los cultivos por medio de agua y suelo, así como el manejo de insumos y fertilizantes, manejo de labores culturales y otros factores que inciden en la presencia de estos elementos en los cultivos agrícolas.

- En referencia a los elementos (cobre, zinc y manganeso) se concluyó que las concentraciones detectadas más altas de cobre se encuentran en la papa (20.39 mg/kg) procedente del cantón Antonio Ante, el zinc (155.75 mg/kg) y manganeso (165.52 mg/kg) en la acelga de Ibarra y Pimampiro, datos que indican la necesidad de tener una estricta vigilancia en el ámbito productivo.

5.2 RECOMENDACIONES

- Considerar las condiciones del digestor de microondas en el proceso de digestión con relación al tiempo, temperaturas, presión, potencia, tipo de disgregante y concentración con la finalidad de comparar datos, disminuir costos y posiblemente obtener mejores resultados en la determinación de metales mediante espectrofotometría.
- Para la determinación de la concentración de metales pesados especialmente plomo y cadmio debe emplearse un instrumento de mayor sensibilidad como el espectrofotómetro de absorción atómica por horno de grafito (GFASS) o el de emisión atómica con plasma acoplado que permiten detectar concentraciones inferiores de estos elementos en el orden de las partes por billón (ppb).
- Considerando los valores de límites máximos de metales pesados para plomo y cadmio permitidos en alimentos, se hace necesario continuar investigando sobre esta temática, de manera que permita describir las fuentes y los mecanismos de contaminación de las frutas y vegetales, con la finalidad de generar estrategias para el desarrollo y crecimiento de una agricultura sostenible que permitan mitigar la acumulación de trazas de estos compuestos en los productos de origen agrícola.
- Realizar investigaciones en determinación de metales en aguas de riego y suelo, con el objeto de tener elementos de juicio para que las autoridades locales y organismos que tengan la competencia en el ámbito agrícola actúen en esta temática y puedan promover labores agrícolas que minimicen estas concentraciones y se fortalezca la protección de salud pública.

- En Ecuador no hay una norma que regule la concentración de elementos tóxicos en los alimentos, por lo que, sería necesario una intervención por parte de los organismos nacionales para un mayor control e implementación de las medidas necesarias y asegurar que los productos alimenticios que se consumen no representen riesgo en cuanto al nivel de metales pesados u otras sustancias que contengan.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acevedo, E., Carrasco, A., León, O., Martínez, E., Silva, P., Castillo, G., . . . González, S. (2005). *Criterios de calidad de suelo agrícola*. Santiago - Chile: Gobierno de Chile. Ministerio de Agricultura (SAG).
- Adarsh, K., y Devaraju, R. (2016). Microwave energy and its application in food industry: A reveiw. *Asian Journal of Diary and Food Research*, 37 - 44. doi: 10.18805/ajdfr.v0iOF.7303.
- Agazzi, A., y Pirola, C. (2000). Fundamentals, methods and future trends of environmental microwave sample preparation. *Elsevier. Microchemical Journal*, 337 - 341. doi:10.1016/S0026-265X(00)00085-0.
- Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos. (1996). *Microwave assisted acid digestion of siliceous and organically based matrices*. Estados Unidos: US-EPA.
- Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades. (2016). *Resumen de Salud Pública Manganeso*. USA: ATSDR.
- Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades. (2016). *Resúmenes de Salud Pública - Cadmio (Cadmium)*. Atlanta, GA 30341 USA: ATSDR.
- AGROCALIDAD. (2016). *Instructivo de muestreo de productos agrícolas para análisis de residuos plaguicidas Rev. 2*. Ecuador: Laboratorio de contaminantes de productos agrícolas.
- Amezcu, J. C., y Lara, M. (2017). El zinc en las plantas. *Ciencia*, 28 - 35.
- Amuy, P. E., y Rosero, N. L. (2016). *Asociación de la concentración de metales esenciales (Cobre-Cu, Calcio-Ca, Zinc-Zn, Magnesio-Mg) con el estado nutricional en el personal administrativo de la Universidad Técnica del Norte período 2014-2015. Tesis de pregrado*. Ibarra - Ecuador: Universidad Técnica del Norte.
- Angelova, V., Ivanova, R., Delibaltova, V., y Ivanov, K. (2004). Bio-acumulation and distribution of heavy metals in fibre crops (flax, cotton and hemp). *Industrial crops and products an International Journal*, 197-205. doi:10.1016/j.indcrop.2003.10.001.

- Arenas, I., y López, J. L. (2004). *Espectrofotometría de absorción. Tesis de postgrado*. Cuernavaca - México: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Armijos, R. A. (2011). *Determinación de manganeso por espectrofotometría de absorción atómica en alimentos balanceados para aves. Tesis de pregrado*. Quito - Ecuador: Pontificia Universidad Católica del Ecuador.
- Ayala, J., y Romero, H. (2013). Presencia de metales pesados (arsénico y mercurio) en leche de vaca al sur de Ecuador. *La Granja, Revista de Ciencias de la Vida*, 36-43.
- Ballesteros, J. L. (2011). *Determinación de la eficacia de Azolla caroliniana como matriz de hiperacumulación de metales pesados cuantificados*. Quito - Ecuador: Universidad Politécnica Salesiana de Quito.
- Bermudez, G. M., Jasan, R., Plá, R., y Pignata, M. L. (2011). Heavy metal and trace element concentrations in wheat grains: Assessment of potential non-carcinogenic health hazard through their consumption. *ELSEVIER*, 265-271. doi: 10.1016/j.jhazmat.2011.07.058.
- Bosque, M., Schuhmacher, M., Domingo, J., y Llobet, J. (1990). Concentrations of lead and cadmium in edible vegetables from Tarragona province, Spain. *The Science of the Total Environment*, 61 - 67. doi: 10.1016 / 0048-9697 (90) 90053-W.
- Brito, N., De la Cruz, E., y López, U. (2016). Determinación de metales pesados (Pb, Cr, Zn y Cu) en el ostión *Crassostrea virginica* en tres bancos ostrícolas de la laguna Mecoacán en Tabasco, México. Tesis de pregrado. *La Perspectiva Científica desde la UJAT. Tomo 4*, 18 - 23.
- Burló, F., Guijarro, I., Carbonell, A., Valero, D., y Martínez, F. (1999). Arsenic species: Effects on and accumulation by tomato plants. *J. Agric. Food Chem*, 1247 - 1253. doi: 10.1021/jf9806560.
- Cahuasqui, S. G. (2011). *Determinación de metales pesados (plomo, cadmio y níquel) en el cilantro (Coriandrum sativum L) en Aloag, cantón Mejía, provincia de Pichincha por espectrofotometría de absorción atómica de llama. Tesis de pregrado*. Quito - Ecuador: Pontificia Universidad Católica del Ecuador.

- Cámara, C., Fernández, P., Martín, A., Pérez, C., y Vidal, M. (2002). *Toma y tratamiento de muestras*. Madrid - España: Editorial Síntesis S.A.
- Caméan, A. M., Repetto, M., y Asuero, A. (2006). Importancia de la especiación de elementos en toxicología alimentaria. En A. M. Caméan, y M. Repetto, *Toxicología Alimentaria* (págs. 327-348). Madrid - Buenos Aires: Diaz de Santos, S.A.
- Carrión, X. (2009). *Análisis de la concentración de arsénico en tres alimentos (papas, maíz y leche) producida en las zonas afectadas por el Volcán Tungurahua (Guano - Penipe)*. Tesis de pregrado. Riobamba-Ecuador: Escala Superior Politécnica de Chimborazo.
- Casierra, F., y Poveda, J. (2005). La toxicidad por exceso de Mn y Zn disminuye la producción de materia seca, los pigmentos foliares y la calidad del fruto en fresa (*Fragaria* sp. cv. Camarosa). *Agronomía Colombiana*, 283 - 289.
- Chen, Y. (2013). Accumulation and health risk of heavy metals in vegetables from harmless and organic vegetable production systems of China. *Ecotoxicology and Environmental Safety*.
- Codex Alimentarius, FAO y OMS. (1995). *Norma general para los contaminantes y las toxinas presentes en los alimentos y piensos*. Normas Internacionales de los Alimentos. CODEX STAN 193-195.
- Constitución de la República del Ecuador. (2008). *Constitución de la República del Ecuador 2008*. Quito: Registro Oficial 449.
- Corujo, J. I., González, A. C., Jiménez, D., y Regand, A. (1993). Determinación de la adsorción de plomo en vegetales frescos. *Revista del Centro de Investigación de la Universidad La Salle*.
- Coyago, E., y Bonilla, S. (2016). Absorción de plomo de suelos altamente contaminados en especies vegetales usadas para consumo animal y humano. *LA GRANJA: Revista de ciencias de la vida*, 35-46. DOI:10.17163/lgr.n23.2016.04.
- De Armas, T., y Castro, D. (2007). Impacto de la contaminación ambiental sobre los cultivos: metales pesados. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 75 - 80.

- Díaz, A. A. (2014). *Unión Europea. Contenidos máximos en metales pesados en productos alimenticios*. Valencia-España: Secretaría de Estado de Comercio.
- Dosal, M. A., y Villanueva, M. (2008). *Introducción a la metrología química. Curvas de calibración en los métodos analíticos*.
- EKOS. (2015). Imbabura y sus ferias solidarias. *Revista EKOS*.
- EL AGRO. (2016). Tomate y pimiento los más demandados en la dieta. *Revista El agro sirviendo al desarrollo agroindustrial*, 1-50.
- Elika. (2013). *Ficha Arsénico*. Fundación Vasca para la Seguridad Alimentaria.
- Escobar, S. S. (2016). *Determinación de la presencia de plomo y cadmio en frutilla (Fragaria ananassa) y tomate (Solanum lycopersicum) en el Quinche. Tesis de pregrado*. Quito - Ecuador: Universidad Central del Ecuador.
- ESPAC. (2017). *Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua*. Ecuador: INEC.
- Esteve, F. A. (2006). *Preparación de muestras para el análisis de palguicidas mediante microondas y fluidos presurizados. Tesis Doctoral*. España: Universitat de Valencia. Servei de Publicacions.
- Falco, G., Nadal, M., Llobet, J. M., y Domingo, J. L. (2006). Riesgo tóxico por metales presentes en alimentos. En A. M. Camean Fernández, & R. Jiménez, *Toxicología Alimentaria* (págs. 309-326). Madrid - Buenos Aires: Diaz de Santos, S.A.
- Félix, I., Mite, F., Carillo, M., y Pino, M. (2012). *Avances de investigación del proyecto determinación de metales contaminantes en cultivos de exportación y su repercusión sobre la calidad de los mismos*. Ecuador: VIII Congreso Ecuatoriano de la Ciencia del Suelo.
- Fernández, G. (2007). *Extracción, análisis, estabilidad, y síntesis de capsaicinoides. Tesis doctoral*. Cádiz - España: Universidad de Cádiz.
- Fiallos Morales, M. C. (2017). *Cuantificación de metales pesados y calidad microbiológica de frutas y vegetales que se expenden en el mercado mayorista de la ciudad de Ambato. Tesis de pregrado*. Ambato - Ecuador: Universidad Técnica de Ambato.

- Fiallos, M. C. (2017). *Cuantificación de metales pesados y calidad microbiológica de frutas y vegetales que se expenden en el mercado mayorista de la ciudad de Ambato. Tesis de pregrado*. Ambato - Ecuador: Universidad Técnica de Ambato.
- Fuentes, P. (2017). *Determinación de fósforo en nueces y establecimiento de la fracción asimilable. Tesis de pregrado*. España: Universidad de Cádiz.
- Galán, E., y Romero, A. (2008). Contaminación de suelos por metales pesados. *Revista de la sociedad española de mineralogía*, 48-60.
- García, H., El Zauahre, M., Morán, H., Acosta, Y., Senior, A., & Fernández, N. (2006). Análisis comparativo de dos técnicas de digestión para la determinación de metales pesados en lodos residuales. *Multiciencias*, 234-243.
- Gómez-Miguel, V., y Sotés, V. (2014). *El manganeso y la viticultura: una revisión*. Madrid - España: Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente.
- González, J. R. (2009). Metales pesados en carne y leche y certificación para la Unión Europea (UE). *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 305-310.
- Guevara, S. M., Arciniegas, M. G., y Guerrero, W. M. (2017). Alternativas de desarrollo comunitario y ferias solidarias en Imbabura. *Revista Publicando*, 545 - 569.
- Hansen, T., Laursen, K., Persson, D., Pedas, P., Husted, S., & Schjoerring, J. (2009). Plant Methods. Micro-scaled high-throughput digestion of plant tissue samples for multi-elemental analysis. *BioMed Central*, 1 - 11. doi: 10.1186/1746-4811-5-12.
- Herrera Núñez, J., Rodríguez, J., Coto, J. M., Salgado, V., & Borbón, H. (2012). Evaluación de metales pesados en los sedimentos superficiales del río Pirro. *Tecnología en Marcha*, 27-36.
- Herrera, T. (2000). La contaminación con cadmio en suelos agrícolas. *Venesuelos*, 42-46.
- Huang, Z., Pan, X.-D., Wu, P.-G., Han, J.-L., y Chen, Q. (2014). Heavy metals in vegetables and the health risk to population in Zhejiang, China. *Food*

- Control*. Elsevier, 248-252. doi:
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.08.036>.
- INEN. (1994). 1750. *Hortalizas y frutas frescas. Muestreo*. Quito - Ecuador: Registro Oficial 529.
- INEN. (1997). 221. *Fertilizantes o abonos. Etiquetado. Requisitos*. Quito - Ecuador: Registro Oficial 117.
- INEN. (1998). 211. *Fertilizantes o abonos. Tolerancias*. Quito - Ecuador: Registro Oficial 351.
- INEN. (2012). 1996. *Hortalizas frescas. Pimiento o pimentón. Requisitos*. Quito - Ecuador: Registro Oficial.
- INEN. (2013). 193. *Norma general para los contaminantes y toxinas presentes en los alimentos y piensos*. Quito - Ecuador: Registro Oficial 861.
- INEN. (2013). 2682. *Carne y productos carnicos. Método para determinación de zinc, cobre, plomo, estaño y arsénico por espectrometría de absorción atómica*. Quito - Ecuador: Registro Oficial (S) 84.
- Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales. (2006). *Estandarización de métodos analíticos*. Colombia: Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial.
- Instituto Mexicano de Normalización y Certificación. (2006). *Método general por microondas de digestión ácida en matrices ambientales*. México: ISOMECA 17025.
- Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. (2016). *Métodos de toma de muestras y análisis. Determinación de metales y sus compuestos iónicos en aire. Método de captación en filtro / espectrofotometría de absorción atómica con llama*. Madrid - España: Gobierno de España. Ministerio de Empleo y Seguridad Social .
- Intawongse, M. (2007). *Uptake of heavy metals by vegetable plants grown on contaminated soils, their bioavailability and speciation. Doctoral thesis*. Northumbria University Newcastle.
- Jaimes, J., Marrugo, Y., y Severiche, C. (2014). Tóxicos en el ambiente y la seguridad alimentaria. *Ciencia, Tecnología y Cultura*, 16-23.

- Jiménez, M. E., y Zambrano, M. L. (2011). Cuantificación de cobre en polifenoloxidasas de frutas tropicales por espectrofotometría de absorción atómica. *Scielo*, 15-22. doi:10.4067/S0718-07642011000200003.
- Jones, J. B., y Case, V. (1990). Sampling, handling, and analyzing plant tissue samples. En R. Westerman, *Soil testing and plant analysis* (págs. 404 - 409). Madison, Wisconsin, USA: Third Edition.
- Kabata-Pendias, A. (2001). *Trace elements in soils and plants*. Boca Raton, London, Nueva York, Washington D.C: Third Edition.
- Koirtyohann, S. R. (1991). A history of atomic absorption spectrometry. *Analytical Chemistry*, 1024. doi: 10.1021/ac00021a716.
- Kumar Sharma, R., Agrawal, M., y Marshall, F. M. (2008). Heavy metal (Cu, Zn, Cd and Pb) contamination of vegetables in urban India: A case study in Varanasi. *Environmental Pollution*, 254 - 263. doi: 10.1016/j.envpol.2007.10.010.
- Lafuente, L. (2016). *Optimización de un procedimiento de digestión en muestras ambientales con horno microondas y su aplicación a la separación radioquímica del PO-210. Tesis de pregrado*. España: Universitat Politècnica de Valencia.
- Llugany, M., Tolrá, R., Poschneider, C., y Barceló, J. (2007). Hiperacumulación de metales: ¿una ventaja para la planta y para el hombre? *Revista Científica y Técnica de Ecología y Medio Ambiente. Ecosistemas*, 4-9.
- Loayza, J. (2008). *Boletín electrónico informativo sobre productos y residuos químicos*. Lima - Perú: FQUIQ. UNMSM.
- Londoño-Franco, L. F., Londoño-Muñoz, P. T., y Muñoz-García, F. G. (2016). Los riesgos de los metales pesados en la salud humana y animal. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 145-153. doi:10.18684/BSAA(14).
- LORSA. (2010). *Ley Orgánica del Régimen de Soberanía Alimentaria*. Quito: Registro Oficial 583.
- Luna, R. N., y Rodríguez, V. A. (2016). *Determinación de las concentraciones de cadmio y plomo en papa (Solanum tuberosum) cosechada en las ceuncas*

- de los ríos Mashcón y Chonta - Cajamarca. Tesis de pregrado.* Lima - Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Mafla, E. (2015). *Determinación de cromo, plomo y arsénico en aguas del canal de riego Latacunga - Salcedo - Ambato y evaluación de la transferencia de dichos metales a hortalizas cultivadas en la zona; mediante espectrofotometría de absorción atómica (Tesis de postgrado).* Quito, Ecuador: Universidad Central del Ecuador.
- MAG. (2017). *Productividad Agrícola del Ecuador.* Quito - Ecuador: El Gobierno de Todos.
- MAGAP. (2012). *Circuitos alternativos de comercialización. Estrategias de la agricultura familiar y campesina.* Quito-Ecuador: AVSF.
- MAGAP. (2015). *La Política Agropecuaria Ecuatoriana. Hacia el desarrollo territorial sostenible 2015-2025. II Parte.* Quito, Ecuador: Ecuador ama la vida .
- MAGAP; AGROCALIDAD. (2017). *Plan nacional de vigilancia y control de contaminantes en la producción primaria.* Ecuador: Dirección de Inocuidad. Laboratorio Nacional de Referencia.
- Mahdieh, M., Yazdani, M., y Mahdieh, S. (2013). The high potential of *Pelargonium roseum* plant for phytoremediation of heavy metals. *Environ Monit Assess*, 7877-7881. doi: 10.1007/s10661-013-3141-3.
- Mancilla, Ó. R., Ortega, H. M., Ramírez, C., Uscanga, E., Ramos, R., y Reyes, A. L. (2012). Metales pesados totales y arsénico en el agua para riego de Puebla y Veracruz, México. *Revista Int. Contam. Ambie.*, 39-48.
- Martí, L., Filippini, M. F., Bermejillo, A., Troilo, S., Salcedo, C., y Valdés, A. (2009). Monitoreo de cadmio y plomo en los principales fungicidas cúpricos comercializados en Mendoza, Argentina. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias*, 109-116.
- Martínez, J. (2005). *Estandarización y validación de algunos parámetros físico-químicos en suelos para uso agrícola (Tesis de pregrado).* Bucaramanga: Universidad Insutrial de Santander.
- Masson, L. (1997). Métodos analíticos para la determinación de humedad, alcohol, energía, materia grasa y colesterol en alimentos. En O. d.

- Alimentación, *Producción y manejo de datos de composición química de alimentos en nutrición* (págs. 147 - 149). Chile: FAO.
- Matissek, R., Schneped, F., y Steiner, G. (1998). Apéndice: Información básica acerca de las técnicas de análisis instrumental. En R. Matissek, F. Schneped, & G. Steiner, *Análisis de los alimentos. Fundamentos - Métodos - Aplicaciones* (págs. 335 - 371). Zaragoza - España: Acribia S.A.
- Mendieta, C., y Taisigüe, K. (2014). *Acumulación y traslocación de metales, metaloides y no metales en plantas nativas de la zona minera de Chontales: Implicaciones para el potencial de fito-remediación*. Managua: UNAN - Appear.
- Mendoza, B., Marcó, L. M., Almao, L., y Rodríguez, V. (2014). Evaluación de dos métodos de digestión ácida en el análisis de tejido foliar de caña (*Saccharum officinarum* L.). *Ciencia y Tecnología*, 9-20.
- Mera, G. E. (2013). *Análisis del desarrollo socioeconómico de los productores agrícolas en las Ferias Solidarias de la provincia de Imbabura, durante el periodo 2010 al 2012. Tesis de pregrado*. Ibarra - Ecuador: Universidad Técnica del Norte.
- Merck. (2016). *Métodos generales para ensayos y análisis de los productos alimenticios*. Alemania: Darmstadt.
- Métodos Oficiales de Análisis de Productos Químicos Internacionales. (2002). *Determination of lead, cadmium, copper, iron and zinc in foods. Atomic Absorption Spectrophotometry after Dry Ashing*. USA: NMLK - AOAC Official Method 999.11 .
- Métodos Oficiales de Análisis de Productos Químicos Internacionales. (2005). *Determination of lead, cadmium, zinc, copper and iron in foods. Atomic Absorption Spectrophotometry after Microwave Digestion*. USA: NMLK - AOAC Official Method 999.10.
- Métodos Oficiales de Análisis de Químicos Internacionales. (1990). *Determinación de humedad*. USA: NMLK - AOAC Official Method 925.10.

- Michalak, E., y Wierbicka, M. (1998). Differences in lead tolerance between *Allium cepa* plants developing from seeds and bulbs. *Plants and Soil*, 251-260.
- Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca; Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de la Calidad del Agro. (2017). *Manual técnico para el registro y control de fertilizantes, enmiendas de suelo y productos afines de uso agrícola*. Quito - Ecuador: Constitución de la República del Ecuador.
- Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca. (2015). *La Política Agropecuaria Ecuatoriana. Hacia el desarrollo territorial sostenible 2015-2025. II Parte*. Quito, Ecuador: Ecuador ama la vida.
- Miranda, D., Carranza, C., Rojas, C. A., Jerez, C. M., Fischer, G., y Zurita, J. (2008). Acumulación de metales pesados en suelo y plantas de cuatro cultivos hortícolas, regados con agua del río Bogotá. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 180-191.
- Mite, F., Cargua, J., Albán, L., Carillo, M., y Durango, W. (2015). Análisis de la problemática de cadmio en el cultivo de cacao del Ecuador. *Memorias de los eventos científicos organizados por el INIAP en el año 2015*, 47-48.
- Morales, I., y Díaz de León, J. (2015). *Calibración de espectrofotómetro*. Cd. Valles: Laboratorio de Ciencias Básicas de la U.A.M.Z.H.-U.A.S.L.P.
- Moreno, Y. L., García, J. M., y Chaparro, S. P. (2016). Cuantificación voltamétrica de plomo y cadmio en papa fresca. *U.D.C.A. Actualidad & Divulgación Científica*, 97 - 104.
- Mudarra, V. (2013). *Efecto de enmiendas orgánicas a base de lodos de depuradora, sobre la lixiviación y biodisponibilidad de elementos traza, procedente de suelos contaminados en cultivo en bandejas de lechuga. Tesis de pregrado*. Almería - España: Universidad de Almería.
- Olivares, S., García, D., Lima, L., Saborit, I., Llizo, A., & Pérez, P. (2013). Niveles de cadmio, plomo, cobre y zinc en hortalizas cultivadas en una zona altamente urbanizada de la ciudad de la Habana, Cuba. *Revista Int. Contam. Ambie.*, 285 - 294.

- Organización Mundial de la Salud. (2013). *Guía breve de métodos analíticos para determinar las concentraciones de plomo en la sangre*. OMS.
- Peris, M. (2006). *Estudio de metales pesados en suelos bajo cultivos hortícolas de la provincia de Castellón. Tesis Doctoral*. Valencia - España: Universidad de Valencia. Servei de Publicacions.
- Pineda, M., Teos, L., y Sosa, J. (2016). *Cuantificación de cadmio en papa y zanahoria por medio de espectrofotometría de absorción atómica con horno de grafito. Tesis de pregrado*. Guatemala: Universidad Mariano Gálvez de Guatemala.
- Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial de la Provincia de Imbabura. (2015). *Actualización del Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial de la Provincia de Imbabura 2015 - 2035*. Imbabura: Prefectura de Imbabura. El pueblo nos inspira.
- Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial del Cantón Antonio Ante. (2012). *Actualización Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial del Cantón Antonio Ante. "Avanzamos" 2012 - 2030*. Antonio Ante: Gobierno Autónomo Descentralizado de Antonio Ante.
- Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial del Cantón Ibarra. (2015). *Actualización del Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial del Cantón Ibarra 2015 - 2023*. Ibarra: Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal de San Miguel de Ibarra.
- Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial del Cantón Otavalo. (2011). *Actualización del Plan de Vida y Formulación del Plan de Ordenamiento Territorial del Cantón Otavalo*. Otavalo: Gobierno Autónomo Descentralizado de Otavalo.
- Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial del Cantón Pimampiro. (2014). *Actualización del Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial de Pimampiro 2014 - 2019*. Pimampiro: Gobierno Autónomo Descentralizado de San Pedro de Pimampiro. CIPRADEC.
- Polo, M. P. (2009). *Análisis de la concentración de arsénico en tres alimentos: papas (Solanum tuberosum), zanahoria (Daucus carota) y leche cruda producidos en las zonas afectadas por el volcán Tungurahua (Mocha -*

- Quero). *Tesis de pregrado*. Riobamba - Ecuador: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- Prieto Méndez, J., González, C. A., Román, A. D., y Prieto García, F. (2009). Contaminación y fitotoxicidad en plantas por metales pesados provenientes de suelos y agua. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 29-44.
- Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente. (2013).
- Pylypiw, H., Arsenault, T., Thetford, C., y Incorvia, M. (1997). Suitability of microwave-assisted extraction for multiresidue pesticide analysis of produce. *J. Agric. Food Chem*, 3522 - 3528. doi: 10.1021/jf970227m.
- Reyes, Y., Vergara, I., Torres, O., Díaz, M., y González, E. (2016). Contaminación por metales pesados: Implicaciones en salud, ambiente y seguridad alimentaria. *Revista Ingeniería, Investigación y Desarrollo*, 66-77 doi: 10.19053/1900771X.v16.n2.2016.5447.
- Rodríguez Absi, J. (2015). Métodos de análisis químico y principio de análisis instrumental. En J. Rodríguez Absi, *Métodos de análisis de suelos y plantas* (págs. 21-29). México: TRILLAS.
- Rodríguez Alfaro, M., Muñiz Ugarte, O., Calero Martín, B., Martínez Rodríguez, F., Montero Álvarez, A., Limeres Jiménez, T., . . . De Aguilar Accioly, A. (2012). Contenido de metales pesados en abonos orgánicos, sustratos y plantas cultivadas en organopónicos. *Cultivos tropicales*, 5 - 12.
- Rodríguez, M., Martínez de la Casa, N., Romero, M., Del Río, L., y Sandalio, L. (2008). Toxicidad del cadmio en plantas. *Revista Científica de Ecología y Medio Ambiente. Ecosistemas*, 139-146.
- Rubio, C., Gutiérrez, A., Martín-Izquierdo, R., Revert, C., Lozano, G., y Hardisson, A. (2004). El plomo como contaminante alimentario. *Revista de Toxicología*, 72-80.
- Rueda, G., Rodríguez, J. A., y Madriñán, R. (2011). Metodologías para establecer valores de referencia de metales pesados en suelos agrícolas: Perspectivas para Colombia. *Acta Agronómica*, 203-217.
- SENPLADES. (2017). *Plan Nacional de Desarrollo 2017 - 2021*. Quito - Ecuador: Toda una Vida.

- Servicio Agrícola y Ganadero. (2011). *Declaración de contenido de elementos acompañantes en fertilizantes*. Chile: Subdepartamento de Plaguicidas y Fertilizantes.
- Shugulí, O. M. (2018). *Determinación de metales pesados y pérdidas poscosecha en dos hortalizas de consumo directo brócoli (*Brassica oleracea Italica*) y cebolla blanca (*Allium fistulosum*)*. Tesis de pregrado. Quito - Ecuador: Universidad Central del Ecuador.
- Silva, P. (2012). Digestión en horno de microondas para determinación de contenido de hierro y zinc totales en alimentos. *Tecnología en Marcha*, 96 - 100.
- Singh, A. (2010). Risk assessment of heavy metal toxicity through contaminated vegetables from waste water irrigated area of Varanasi, India. . *Tropical Ecology*, 375-387.
- Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J., y Crouch, S. R. (2015). Introducción a los métodos espectroquímicos. En D. A. Skoog, D. M. West, F. J. Holler, & S. R. Crouch, *Fundamentos de química analítica* (págs. 658-665). Australia, Brasil, Corea, España, Estados Unidos, Japón, México, Reino Unido, Singapur: CENGAGE Learning.
- Smith, F., y Arsenault, E. (1996). Microwave-assisted sample preparation in analytical chemistry. *Elsevier. Talanta*, 1207 - 1268. doi:10.1016/0039-9140(96)01882-6.
- Sparr, C., y Bjorklund, E. (2000). Analytical-scale microwave-assisted extraction. *Elsevier. Journal of Chromatography A.*, 227 - 250. doi: 10.1016/S0021-9673(00)00921-3.
- Superintendencia de Economía Popular y Solidaria. (2016). *Ley Orgánica de Economía Popular y Solidaria*. Quito: Registro Oficial 671.
- Tafur, A., y Flores, J. J. (2013). Comercialización campesina, instituciones y soberanía alimentaria en el Ecuador: El caso de la provincia de Imbabura. In V. Proaño, & P. Lacroix, *Dinámicas de comercialización para la agricultura familiar campesina: desafíos y alternativas en el escenario ecuatoriano* (pp. 139-157). Quito-Ecuador: SIPAE-AVSF.

- Terán, C. F. (2016). *Comparación de los métodos de digestión seca y digestión ácida por microondas para el análisis de fósforo en brócoli y acelga por Espectrofotometría Ultravioleta - Visible. Tesis de pregrado*. Quito - Ecuador: Pontificia Universidad Católica del Ecuador.
- Torralba, M. d. (1996). *Mejoras al sistema de generación de hidruros - absorción atómica para la determinación de arsénico total en materiales biológicos. Determinación simultánea de sus especies tóxicas mediante procedimientos de calibración multivariante. Tesis Doctoral*. España: Universidad de Complutense de Madrid.
- Turkdogan, K., Kilicel, F., Kara, K., Tuncer, I., y Uygan, I. (2002). Heavy metals in soil, vegetables and fruits in the endemic upper gastrointestinal cancer region of Turkey. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 175 - 179. doi: 10.1016/S1382-6689(02)00156-4.
- Unión Europea. (2006). *Contenido máximo de detereminados contaminantes en los productos alimenticios*. Diario Oficial de la Unión Europea. Reglamento (CE) N° 1881/2006 de la Comisión de 19 de diciembre de 2006.
- Vásquez, A., Ocando, A., Torres, J., Rodríguez, M., y Granadillo, V. (2000). Determinación espectrométrica de las concentraciones totales de cobre, hierro, manganeso, potasio y sodio en pimentones (*Capsicum annuum* l) cultivados en la Región Zuliana, Venezuela. *Revistas Científicas y Humanísticas*, 85 - 92.
- Vega, D. A., y Salamanca, Á. P. (2016). Contenidos de plomo en acelga común *Beta vulgaris* L., producida en el contexto de la agricultura urbana (Bogotá, Colombia). *Luna Azul*, 44-53. doi: 10.17151/luaz.2016.42.5.
- Vinagre, J. (1997). Calidad de métodos analíticos. En FAO, *Producción y manejo de datos de composición química de alimentos en nutrición* (págs. 137 - 146). Chile: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación.
- Zambrano, A. (2016). Tomate y pimiento los más demandados en la dieta. *Revista El agro sirviendo al desarrollo agroindustrial*, 21.

ANEXOS:

ANEXO 1. Normas internacionales de la OMS, FAO y Codex Alimentarius

CODEX ALIMENTARIUS

NORMAS INTERNACIONALES DE LOS ALIMENTOS



Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura



Organización
Mundial de la Salud

E-mail: codex@fao.org - www.codexalimentarius.org

NORMA GENERAL PARA LOS CONTAMINANTES Y LAS TOXINAS PRESENTES EN LOS ALIMENTOS Y PIENSOS

CODEX STAN 193-1995

Adoptada en 1995

Revisión: 1997, 2006, 2008, 2009

Enmienda: 2010, 2012, 2013, 2014, 2015

CADMIO

Referencia al JECFA:

16 (1972), 33 (1988), 41 (1993), 55 (2000), 61 (2003), 64 (2005), 73 (2010)

Orientación toxicológica:

Dada la larga hemivida del cadmio, la ingesta diaria en los alimentos tiene un pequeño efecto o casi insignificante en la exposición general. Para estimar los riesgos a corto o largo plazo para la salud debido a la exposición al cadmio, la ingesta diaria debe evaluarse durante meses y la ingesta tolerable se debe calcular durante un período mínimo de 1 mes. A fin de corroborar este punto de vista, en su 73.^a reunión (2010), el JECFA decidió expresar la ingesta tolerable como un valor mensual en forma de una ingesta mensual tolerable provisional (IMTP) y estableció una IMTP de 25 µg/kg pc.

Definición del contaminante:

Total de cadmio

Sinónimos:

Cd

Código de prácticas correspondiente:

Código de prácticas sobre medidas aplicables en el origen para reducir la contaminación de los alimentos con sustancias químicas (CAC/RCP 49-2001)

Nombre del producto básico/producto	Nivel máximo (NM) mg/kg	Parte del producto básico/producto a que se aplica el nivel máximo (NM)	Notas/observaciones
Hortalizas brasicáceas	0,05	Coles arrepolladas y colinabos: todo el producto que se comercializa, después de eliminar las hojas claramente descompuestas o marchitas. Coliflor y brécoles: repollos (inflorescencia inmadura solo). Coles de Bruselas: "capullos" sólo.	El NM no es aplicable a las hortalizas brasicáceas de hoja.
Hortalizas de bulbo	0,05	Cebollas bulbo/secas y ajo: todo el producto después de eliminar las raíces y el suelo adherente y toda la piel apergaminada que se suelte fácilmente.	
Hortalizas de frutos	0,05	Todo el producto después de eliminar los tallos Maíz dulce y maíz fresco: granos más mazorca sin la cáscara.	El NM no es aplicable a los tomates y hongos comestibles.

Nombre del producto básico/producto	Nivel máximo (NM) mg/kg	Parte del producto básico/producto a que se aplica el nivel máximo (NM)	Notas/observaciones
Hortalizas de hoja	0,2	Todo el producto que se comercializa normalmente, después de eliminar las hojas claramente descompuestas o marchitas.	El NM también es aplicable a las hortalizas de hoja brasicáceas.
Hortalizas leguminosas	0,1	Producto entero que se consume. Las formas frescas se pueden consumir como vainas enteras o como el producto sin vaina.	
Legumbres	0,1	Todo el producto.	El NM no es aplicable a la soja (seca).
Raíces y tubérculos	0,1	Todo el producto después de eliminar las puntas. Eliminar el suelo adherente (p.ej., enjuagándolo con agua corriente o cepillando suavemente el producto seco). Patatas (papas): patatas peladas.	El NM no es aplicable al apionabo.
Hortalizas de tallos y brotes	0,1	Todo el producto que se comercializa después de eliminar las partes claramente descompuestas o marchitas. Ruibarbo: brotes de hojas sólo. Alcachofa: la cabeza solamente. Apio y espárragos: eliminar el suelo adherente.	
Cereales en grano	0,1	Todo el producto	El NM no es aplicable al trigo sarraceno, cañihua, quinoa, trigo y arroz.
Arroz, pulido	0,4	Todo el producto	
Trigo	0,2	Todo el producto	El NM se aplica al trigo blando, trigo duro, espelta y escanda.

Nombre del producto básico/producto	Nivel máximo (NM) mg/kg	Parte del producto básico/producto a que se aplica el nivel máximo (NM)	Notas/observaciones
Moluscos marinos bivalvos	2	Todo el producto después de eliminar el caparazón.	El NM es aplicable a almejas, berberechos y mejillones, pero no a las ostras y vieiras.
Cefalópodos	2	Todo el producto después de eliminar el caparazón.	El NM es aplicable a sepia, pulpo y calamares sin vísceras
Aguas minerales naturales	0,003		La norma correspondiente del Codex para productos es CODEX STAN 108-1981. El NM se expresa en mg/l.
Sal, calidad alimentaria	0,5		La norma correspondiente del Codex para productos es CODEX STAN 150-1985.

PLOMO

Referencia al JECFA:	10 (1966), 16 (1972), 22 (1978), 30 (1986), 41 (1993), 53 (1999), 73 (2010)
Orientación toxicológica:	Sobre la base del análisis de la relación dosis-respuesta, en su 73.ª reunión (2010) el JECFA estimó que la ISTP anteriormente establecida de 25 µg/kg pc se asociaba con una disminución de al menos 3 puntos del cociente de inteligencia (IQ) en los niños y un aumento en la presión arterial sistólica de aproximadamente 3 mmHg (0,4 kPa) en los adultos. Si bien estos efectos pueden ser insignificantes en el plano individual, son importantes si se consideran cambios en la distribución del IQ o de la presión arterial en una población. El JECFA concluyó entonces que ya no se puede considerar que la ISTP proteja la salud y la retiró.
Sinónimos:	Pb
Códigos de prácticas correspondientes:	Código de prácticas para la prevención y reducción de la presencia de plomo en los alimentos (CAC/RCP 56-2004) Código de prácticas sobre medidas aplicables en el origen para reducir la contaminación de los alimentos con sustancias químicas (CAC/RCP 49-2001)

Nombre del producto básico/producto	Nivel máximo (NM) (mg/kg)	Porción del producto/producto al que se aplica el NM	Notas/observaciones
Bayas y otros frutos pequeños	0,1	Totalidad del producto después de la extracción de las tapas y los tallos.	El NM no se aplica a los zumos y néctares de arándanos, grosellas y bayas de saúco.
Arándanos rojos	0,2	Totalidad del producto después de la extracción de las tapas y los tallos.	
Grosellas	0,2	Fruta con tallo.	
Bayas de saúco	0,2	Totalidad del producto después de la extracción de las tapas y los tallos.	
Frutas con excepción de las bayas y otras frutas pequeñas	0,1	Todo el producto. Frutas de pepita: producto entero después de la extracción de los tallos. Frutas de hueso, dátiles y aceitunas: producto entero después de la extracción de los tallos y de los huesos, pero el nivel calculado y expresado en la totalidad del producto, sin tallo. Piña: todo el producto después de la extracción de la corona. Aguacate, mangos y fruta similar con semillas duras: el producto entero después de la extracción de la semilla pero calculado sobre la fruta completa.	Frutas con excepción de las bayas y otras frutas pequeñas

Nombre del producto básico/producto	Nivel máximo (NM) (mg/kg)	Porción del producto/producto al que se aplica el NM	Notas/observaciones
Brasicáceas	0,1	Repollitos y colinabos: el producto entero como se comercializa, después de la eliminación de las hojas evidentemente marchitas o descompuestas. Coliflor y brócoli: inflorescencias (sólo las inmaduras). Colecillas de Bruselas: sólo los botones.	El NM no se aplica a la col rizada ni a las brasicáceas de hoja.
Hortalizas de bulbo	0,1	Bulbos/cebollas secas y ajos: el producto entero después de eliminar las raíces y la tierra adherida y cualquier fracción de piel fácil de retirar.	
Hortalizas de fruto	0,05	Totalidad del producto después de la eliminación de los tallos. Maíz dulce y maíz fresco: los granos y la mazorca sin cáscara.	El NM no se aplica a los hongos y las setas.
Hortalizas de hoja	0,3	Todo el producto como se comercializa comúnmente, después de retirarse las hojas evidentemente descompuestas o marchitas.	El NM se aplica a las brasicáceas de hoja pero no se aplica a las espinacas.
Legumbres	0,1	La totalidad del producto tal como se consume. Las variedades suculentas se pueden consumir como vainas enteras o el producto desgranado.	
Legumbres	0,2	Todo el producto	
Raíces y tubérculos	0,1	Todo el producto después de eliminar la parte superior. Eliminar la tierra adherida (p.ej., enjuagando en agua corriente o por cepillado suave del producto seco). Patatas: patatas peladas.	
Fruta en conserva	0,1	El NM se aplica a los productos tal como se consumen.	El NM no se aplica a las bayas y otros frutos pequeños en conserva. Las normas del Codex para productos pertinentes son CODEX STAN 242-2003, CODEX STAN 254-2007, CODEX STAN 78-1981, CODEX STAN 159-1987, CODEX STAN 42-1981, CODEX STAN 99-1981.

Nombre del producto básico/producto	Nivel máximo (NM) (mg/kg)	Porción del producto/producto al que se aplica el NM	Notas/observaciones
Frambuesas en conserva	1		La norma correspondiente del Codex para productos es CODEX STAN 60-1981.
Fresas en conserva	1		La norma correspondiente del Codex para productos es CODEX STAN 62-1981.
Confituras (conservas de frutas) y jaleas	1		La norma correspondiente del Codex para productos es CODEX STAN 296-2009 (sólo para confituras y jaleas).
Chutney de mango	1		La norma correspondiente del Codex para productos es CODEX STAN 160-1987.
Hortalizas en conserva	0,1	El NM se aplica a los productos tal como se consumen.	El NM no se aplica a las brasicáceas en conserva, a las hortalizas de hoja en conserva ni a las legumbres en conserva. La norma del Codex correspondiente es CODEX STAN 297-2009 (excepto los anexos sobre las conservas de frijoles (judías) verdes, las de judías amarillas y las de guisantes (arvejas) verdes).
Tomates en conserva	1		La norma correspondiente del Codex para productos es CODEX STAN 13-1981. Con el fin de considerar la concentración del producto, la determinación de los niveles máximos de contaminantes tendrá en cuenta el total de sólidos naturales solubles, el valor de referencia fue de 4,5 para la fruta fresca.
Aceitunas de mesa	1		La norma correspondiente del Codex para productos es CODEX STAN 66-1981.
Judías verdes en conserva y frijolillos en conserva	1		La norma correspondiente del Codex para productos es CODEX STAN 297-2009.
Guisantes en conserva	1		La norma correspondiente del Codex para productos es CODEX STAN 297-2009.
Pepinos encurtidos (pepinillos encurtidos)	1		La norma correspondiente del Codex para productos es CODEX STAN 115-1981.

Nombre del producto básico/producto	Nivel máximo (NM) (mg/kg)	Porción del producto/producto al que se aplica el NM	Notas/observaciones
Concentrado de tomates elaborados	1,5		La norma correspondiente del Codex para productos es CODEX STAN 57-1981. Con el fin de considerar la concentración del producto, la determinación de los niveles máximos de contaminantes tendrá en cuenta el total de sólidos naturales solubles, el valor de referencia fue de 4,5 para la fruta fresca.
Castañas en conserva y puré de castañas en conserva	1		La norma correspondiente del Codex para productos es CODEX STAN 145-1985.
Zumos (jugos) de fruta	0,03	Producto entero (no concentrado) o productos reconstituídos a la concentración original del zumo (jugo), listo para el consumo. El NM se aplica también a los néctares, listos para el consumo.	El NM no se aplica a los zumos únicamente de bayas y otros frutos pequeños. El NM no se aplica a los zumos y néctares de fruta de la pasión. La norma del Codex correspondiente es CODEX STAN 247-2005.
Zumos de frutas exclusivamente de bayas y otros frutos pequeños	0,05	Producto entero (no concentrado) o productos reconstituídos a la concentración original del zumo (jugo), listo para el consumo. El NM se aplica también a los néctares, listos para el consumo.	La norma del Codex correspondiente es CODEX STAN 247-2005.
Cereales	0,2	Todo el producto	El NM no se aplica al trigo sarraceno, la cañihua ni la quinoa
Carne de bovinos, porcinos y ovinos	0,1	Todo el producto (sin huesos)	El NM se aplica también a la grasa de la carne.
Carne y grasa de aves de corral	0,1	Todo el producto (sin huesos)	
Bovinos, despojos comestibles de	0,5	Todo el producto	
Cerdo, despojos comestibles de	0,5	Todo el producto	
Aves de corral, despojos comestibles de	0,5	Todo el producto	

Nombre del producto básico/producto	Nivel máximo (NM) (mg/kg)	Porción del producto/producto al que se aplica el NM	Notas/observaciones
Grasas y aceites comestibles	0,1	Todo el producto como se prepara para la distribución al mayoreo o al menudeo.	Las normas correspondientes del Codex para productos son CODEX STAN 19-1981, CODEX STAN 33-1981, CODEX STAN 210-1999 y CODEX STAN 211-1999.
Grasas para untar y mezclas de grasas para untar	0,1		La norma correspondiente del Codex para productos es CODEX STAN 256-2007.
Leche	0,02	Todo el producto.	La leche es la secreción mamaria normal de animales mamíferos obtenida de una o más ordeñas sin adición ni extracción, destinada al consumo como leche líquida o para ulterior elaboración. Se aplica un factor de concentración a las leches parcial o totalmente deshidratadas.
Productos lácteos secundarios	0,02	Todo el producto.	El NM se aplica a los alimentos tal como se consumen.
Preparados para lactantes y preparados para usos medicinales especiales destinados a los lactantes	0,01	Todo el producto.	La norma correspondiente del Codex para productos es CODEX STAN 72-1981. El NM se aplica a los preparados para lactantes tal como se consumen.
Pescado	0,3	Todo el producto (en general después de la extracción del tracto digestivo).	
Aguas minerales naturales	0,01		La norma correspondiente del Codex para productos es CODEX STAN 108-1981. El NM se expresa en mg/l.
Sal, calidad alimentaria	2		La norma correspondiente del Codex para productos es CODEX STAN 150-1985.
Vino	0,2		

ANEXO 2. Norma internacional de la Unión Europea

METALES PESADOS

Revisión Marzo 2017

UNION EUROPEA. CONTENIDOS MAXIMOS EN METALES PESADOS EN PRODUCTOS ALIMENTICIOS

PLOMO (Pb)

PRODUCTO	Contenido máximo (mg / Kg peso fresco)
1.1 Leche cruda (2), leche tratada térmicamente y leche para la fabricación de productos lácteos	0,020
1.2 Preparados para lactantes y preparados de continuación	
Comercializados en polvo	0,050
Comercializados líquidos	0,010
1.3 Alimentos elaborados a base de cereales y alimentos infantiles para lactantes y niños de corta edad (4) distintos de los indicados en 1.5	0,050
1.4 Alimentos para usos médicos especiales destinados específicamente para lactantes y niños de corta edad (15)	
Comercializados en polvo	0,050
Comercializados líquidos	0,010
1.5 Bebidas para lactantes y niños de corta edad vendidas como tales distintas de las mencionadas en 1.2 y 1.4	
Comercializadas líquidas o para ser reconstituidas siguiendo las instrucciones del fabricante, incluidos los zumos de frutas	0,030
Para ser preparadas mediante infusión o decocción	1,50
1.6 Carne (excluidos los despojos) de bovinos, ovinos, cerdos y aves de corral (2)	0,10
1.7 Despojos de bovinos, ovinos, cerdos y aves de corral (2)	0,50
1.8 Carne de pescado (5) (6)	0,30
1.9 Cefalópodos (22)	0,30
1.10 Crustáceos (17)	0,50
1.11 Moluscos bivalvos	1,50
1.12 Cereales y legumbres secas	0,20
1.13 Hortalizas, excluidas las de hoja del género Brassica, salsifíes, hortalizas de hoja excluidas las hierbas frescas, setas y algas marinas y hortalizas de fruto (8) (23)	0,10
1.14 Hortalizas de hoja del género Brassica, hortalizas de hoja excluidas las hierbas frescas y las siguientes setas: Agaricus bisporus (champiñón), Pleurotus ostreatus (seta de ostra) y Lentinula edodes (seta shiitake) (8)	0,30
1.15 Hortalizas de fruto	
Maíz dulce (8)	0,10
Distintas del maíz dulce (8)	0,05
1.16 Frutas, excluidos los arándanos, las grosellas, las bayas de saúco y los madroños (8)	0,10
1.17 Arándanos, grosellas, bayas de saúco y madroños (8)	0,20

PRODUCTO	Contenido máximo (mg / Kg peso fresco)
1.18 Grasas y aceites, incluida la grasa láctea	0,10
1.19 Zumos de frutas, zumos de frutas concentrados reconstituidos y néctares de frutas (9)	
Exclusivamente de bayas y otras frutas pequeñas	0,05
De frutas distintas de las bayas y otras frutas pequeñas	0,03
1.20 Vinos (incluido el vino espumoso y excluido el vino de licor) sidra, perada y vinos de frutas (10)	
Producidos desde la cosecha de frutas de 2011 hasta la cosecha de 2015	0,20
Producidos desde la cosecha de frutas de 2016	0,15
1.21 Vino aromatizado, bebidas aromatizadas a base de vino y cócteles aromatizados de productos vitivinícolas (12)	
Producidos desde la cosecha de frutas de 2011 hasta la cosecha de 2015	0,20
Producidos desde la cosecha de frutas de 2016	0,15
1.22 Complementos alimenticios (16)	3,0
1.23 Miel	0,10

El método de toma de muestras y criterios de realización de los métodos de análisis se basan en la en el Reglamento 333/ 2007

CADMIO (Cd)

PRODUCTO (1)	Contenido máximo(mg / Kg peso fresco)
1. Hortalizas y frutas, excluidas las hortalizas de raíz y tubérculo, las hortalizas de hoja, las hierbas frescas, las hortalizas de hoja del género Brassica, los tallos jóvenes, las setas y las algas marinas (1)	0,050
2. Hortalizas de raíz y tubérculo (excluidos los apionabos, chirivías, salsifíes y rábanos rústicos), tallos jóvenes (excluido el apio). En el caso de las patatas, el contenido máximo se aplica a las patatas peladas (1)	0,10
3. Hortalizas de hoja, hierbas frescas, hortalizas de hoja del género Brassica, apio, apionabos, chirivías, salsifíes, rábanos rústicos y las siguientes setas: Agaricus bisporus (champiñón), Pleurotus ostreatus (seta de ostra) y Lentinula edodes (seta shiitake) (1)	0,20
4. Setas, excluidas las enumeradas en el apartado anterior (1)	1,0
5. Cereales, excluidos el trigo y el arroz	0,10
6. – Granos de trigo, granos de arroz	
- Salvado de trigo y germen de trigo para el consumo directo	0,20
- Habas de soja	
7. Productos específicos de cacao y chocolate enumerados a continuación: (19)	
- chocolate con leche con un contenido en materia seca total de cacao < 30%	0,10 a partir 01-01-2019

PRODUCTO (1)	Contenido máximo(mg / Kg peso fresco)
-chocolate con un contenido de materia seca total de cacao < 50%; chocolate con leche con un contenido en materia seca total de cacao ≥ 30%	0,30 a partir 01-01-2019
- chocolate con un contenido de materia seca total de cacao ≥ 50%	0,80 a partir 01-01-2019
- cacao en polvo vendido al consumidor final o como ingrediente en cacao en polvo edulcorado vendido al consumidor final (chocolate para beber)	0,60 a partir 01-01-2019
8. Carne (excluidos los despojos) de bovinos, ovinos, cerdos y aves de corral (2)	0,050
9. Carne de caballos, excluidos los despojos (2)	0,20
10. Hígado de bovinos, ovinos, cerdos, aves de corral y caballos (2)	0,50
11. Riñones de bovinos, ovinos, cerdos, aves de corral y caballos (2)	1,0
12. Carne de pescado (5) (6), excluidas las especies enumeradas en puntos 13, 14 y 15	0,050
13. Carne de los siguientes pescados (5) (6): Caballa (<i>Scomber species</i>), atún (<i>Thunnus species</i> , <i>Euthynnus species</i> , <i>Katsuwonus pelamis</i> y bichique (<i>Sicyopterus lagocephalus</i>)	0,10
14. Carne de los siguientes pescados (5) (6): Melva (<i>Auxis species</i>)	0,15
15. Carne de los siguientes pescados (5) (6): Anchoa (<i>Engraulis species</i>), pez espada (<i>Xiphus gladius</i>) y sardina (<i>Sardina pilchardus</i>)	0,25
16. Crustáceos (7); carne de los apéndices y del abdomen (17). En el caso de los cangrejos y crustáceos similares (<i>Brachyura</i> y <i>Anomura</i>) la carne de los apéndices	0,50
17. Moluscos bivalvos (7)	1,0
18. Cefalópodos (7) (sin vísceras)	1,0
19. Preparados para lactantes y preparados de continuación (3) (4):	
- Preparados en polvo para lactantes elaborados a partir de las proteínas obtenidas de la leche de vaca o de hidrolizados de proteínas	0,010 a partir 01-01-15
- Preparados líquidos para lactantes elaborados a partir de las proteínas obtenidas de la leche de vaca o de hidrolizados de proteínas	0,005 a partir 01-01-15
- Preparados en polvo para lactantes elaborados a partir de aislados de proteínas de soja solos o mezclados con las proteínas de la leche de vaca	0,020 a partir 01-01-15
- Preparados líquidos para lactantes elaborados a partir de aislados de proteínas de soja solos o mezclados con las proteínas de la leche de vaca	0,010 a partir 01-01-15
20. Alimentos elaborados a base de cereales y alimentos infantiles para lactantes y niños de corta edad (13) (14)	0,040 a partir 01-01-15
21. Complementos alimenticios (16) excluidos los complementos alimenticios enumerados en el punto 22	1,0
22. Complementos alimenticios compuestos (16) exclusiva o principalmente de algas marinas desecadas, de productos a base de algas marinas o de moluscos bivalvos desecados	3,0

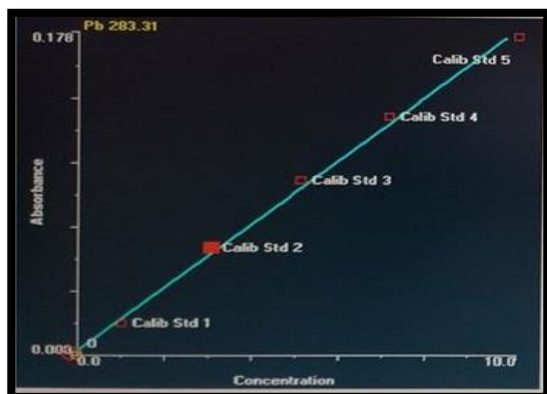
ANEXO 3. Toma de muestras de rubros agrícolas para la determinación de la concentración de metales pesados



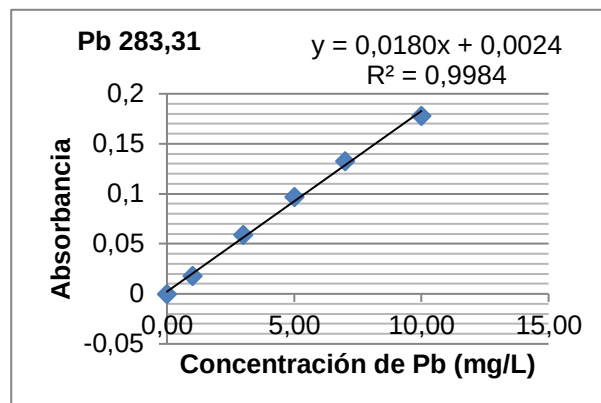
Figura 20. (A) Toma de muestras de rubros agrícolas, (B) acondicionamiento de las frutas y hortalizas para el proceso de digestión, (C) muestras en el digestor microondas, (D) preparación de patrones, (E) elaboración de las curvas de calibración, (F) determinación de metales pesados en el espectrofotómetro de absorción atómica por llama

ANEXO 4. Curvas de calibración de metales pesados

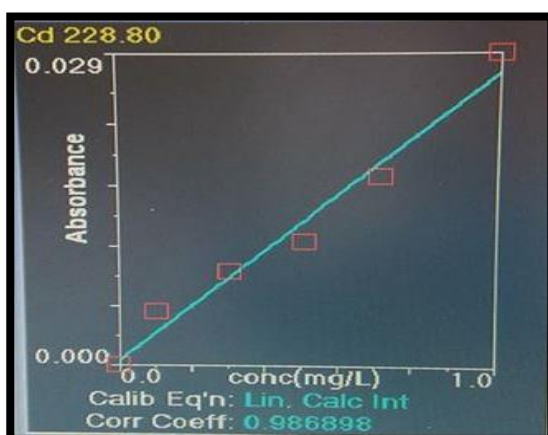
A



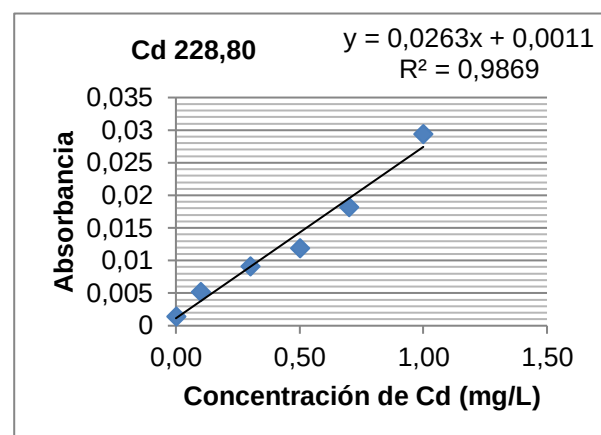
A



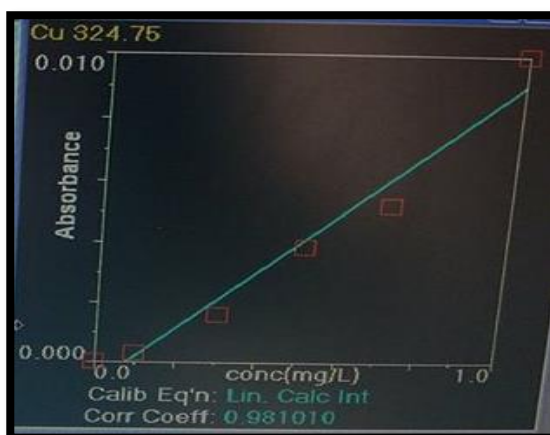
B



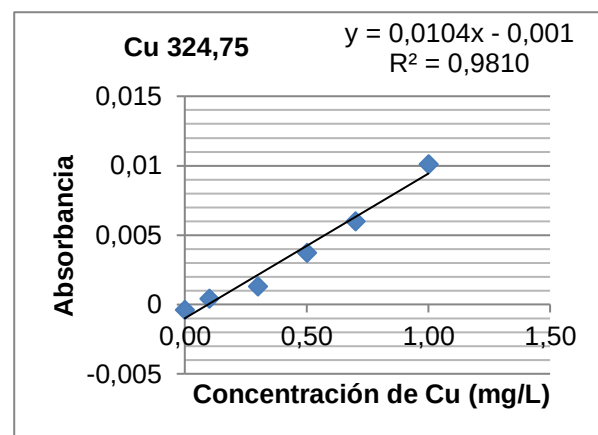
B



C



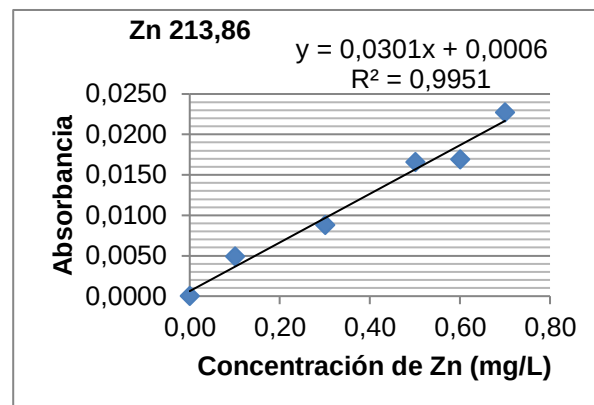
C



D



D



E



E

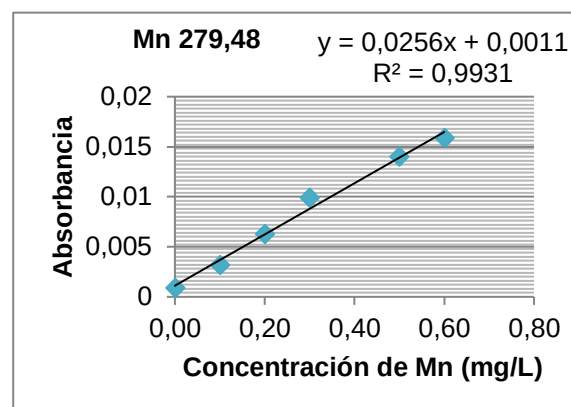


Figura 21. (A) Curvas de calibración para el plomo, (B) cadmio, (C) cobre, (D) zinc, (E) manganeso