



UNIVERSIDAD DE GRANADA

PROGRAMA DE DOCTORADO EN
NUTRICIÓN Y CIENCIA DE LOS ALIMENTOS

Características funcionales y de calidad en granos de cacao (*Theobroma cacao* L.) producido en el Norte de Santander, Colombia

Lida Yaneth Maldonado Mateus

Septiembre 2022

Editor: Universidad de Granada. Tesis Doctorales
Autor: Lida Yaneth Maldonado Mateus
ISBN: 978-84-1117-657-6
URI: <https://hdl.handle.net/10481/79646>

AGRADECIMIENTOS

Gracias a Dios por permitirme cumplir mis sueños y anhelos, por no desfallecer a pesar de las diferentes circunstancias y hechos de la vida.

Gracias a mi director de tesis, José Ángel, quien me tuvo paciencia, me brindó su conocimiento y amistad, así como todos los medios necesarios para alcanzar mis logros y sobre todo por ser un profesor e investigador sencillo, empático y asequible, siempre dispuesto a encontrar la mejor manera de hacer las cosas y hacer posible lo imposible.

Gracias a Gabriel, mi amigo y profesor, cuantas enseñanzas profesionales y personales recibí, siempre estarás en mi corazón y en mis oraciones, nunca he conocido una persona tan abierta a compartir su conocimiento y experiencia, sin tu ayuda no hubiera logrado estar aquí.

Gracias al departamento de Edafología y Química Agrícola porque me abrieron sus puertas, su sabiduría y su corazón. De cada uno de sus integrantes obtuve una enseñanza personal y profesional.

Gracias al departamento de Nutrición y Bromatología, cada uno de mis profesores y coordinadores del Doctorado, por hacer fácil el camino. Gracias especialmente a Silvia Pastoriza por su amabilidad y sencillez y sus aportes al trabajo desarrollado. A mis compañeros y amigos del CIB, Sergio, Danny, Bea, quienes compartieron sus conocimientos, habilidades y experiencias del trabajo experimental y realizaron aportes valiosos para la publicación del artículo.

Gracias a mis compañeros de trabajo Ana, Alberto, Leslie, Sonia y Pilar. Ana por compartir su tiempo, conocimiento y calidez, además de su paciencia para cumplir mis

objetivos. Alberto por estar siempre dispuesto a colaborar y hacer ameno el estudio. A Pilar por su amistad, su experiencia en el manejo del laboratorio y su disposición para escuchar y ayudar. A Leslie por su cariño y por estar siempre dispuesta a escuchar y compartir su tiempo, compañera de estudios, viajes y sueños. A Sonia por compartir el inicio y desarrollo de un sueño, por estar siempre pendiente de mi evolución profesional y personal.

Quiero agradecer al laboratorio de Absorción Atómica y Liofilización (AASLIO) donde se realizó la cuantificación Cd por espectrofotometría de absorción atómica y al laboratorio de Espectroscopia de Emisión por Plasma de Acoplamiento Inductivo (ICPOES) en el Centro de Instrumentación Científica de la Universidad de Granada. (Agradecimiento a Rocío Márquez Crespo y Bendición Funes Martín.).

Agradezco inmensamente a los cacaocultores de las zonas en estudio que nos facilitaron sus fincas y productos para el muestreo realizado (Somos Cacao en el Zulia y de la Asociación Comité Municipal Multisectorial de Cacaocultores de Tibú (Asocommulcat), espero que este trabajo contribuya a mejorar la calidad de este cultivo para que los esfuerzos que ellos realizan se vean recompensados.

Gracias a Yady y Aníbal, mis paisanos y compañeros incondicionales de estancia en Granada, les deseo muchas bendiciones y cumplimiento de sueños.

Gracias a mi familia, mis padres, hermanos e hijos por apoyarme y darme alientos para alcanzar este logro profesional. En cada momento me sentí acompañada y eso me lleno de fortaleza.

ÍNDICE

Índice de Tablas	1
Índice de Figuras	3
Abreviaturas	8
RESUMEN	11
ABSTRACT	13
1. INTRODUCCIÓN	15
1.1 Cacao: características botánicas e importancia económica	16
1.1.1 <i>Theobroma cacao</i> L.	16
1.1.2 Producción y economía del cacao	20
1.1.3 El cacao en Colombia	21
1.1.4 Procesado del cacao	23
1.1.5 Subproductos del beneficio del cacao	30
1.2 Valor nutricional y bioactividad del cacao	32
1.2.1 Compuestos bioactivos del cacao e influencia en la salud	33
1.3 Producción agronómica del cacao	35
1.3.1 Importancia del suelo en la producción del cacao	35
1.3.2 Degradación de suelos productores de cacao	39
1.3.3 Contaminación de los suelos y efectos sobre el cacao y el producto final.....	40
1.3.4 Uso del carbono bioactivos en la mejora de los suelos	44
1.3.5 Remediación de suelos contaminados con cadmio	45

2. OBJETIVOS	47
2.1 General	48
2.2 Específicos	48
3. MATERIALES Y METODOS	49
3.1 Materiales	50
3.1.1 Muestras	50
3.1.2 Reactivos	55
3.2 Métodos	56
3.2.1 Métodos relacionados con el valor nutricional y bioactividad del cacao	56
3.2.2 Métodos relacionados con la producción del cacao	66
3.2.3 Análisis estadístico	75
4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	78
4.1 Métodos relacionados con el valor nutricional y bioactividad del cacao	79
4.1.1. Propiedades químicas y físicas del cacao	79
4.1.2. Análisis bromatológico de los granos de cacao	81
4.1.3 Análisis sensorial del cacao	89
4.2 Efecto del procesado térmico sobre la bioactividad del cacao	96
4.2.1 Capacidad antioxidante del cacao crudo y tostado	96
4.2.2 HMF y furfural como marcadores de daño térmico del cacao tostado	98
4.2.3 Estructura y funcionalidad de la comunidad de microbiota instestinal	100

4.2.4 Marcadores de capacidad antioxidante y daño térmico de chocolates comerciales.....	107
4.3 Caracterización de los suelos de los cultivos de cacao estudiados	111
4.3.1 Descripción morfológica	112
4.3.2 Propiedades físicas	112
4.3.3 Propiedades químicas	120
4.3.4 Ensayo de remediación del cadmio	129
4.3.5 Análisis estadístico de los resultados mediante Anova	142
5. CONCLUSIONES	151
6. BIBLIOGRAFIA	155
ANEXOS	198

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Muestra de materiales de plantas de cacao híbrido cultivado en Colombia (Aránzazu, 2009)	22
Tabla 2. Tipos de suelos y texturas según la clasificación americana (Soil Survey Staff, 2014).	37
Tabla 3. Identificación de las fincas de origen de los granos de cacao estudiados	60
Tabla 4. Contenido de proteína en granos de cacao fermentado y seco	81
Tabla 5. Comparación de diferentes porcentajes de grasa	82
Tabla 6. Macroelementos en los granos de cacao estudiados	83
Tabla 7. Microelementos en los granos de cacao estudiados	84
Tabla 8. Calificación obtenida durante la evaluación sensorial del % de fermentación y la calificación global	96
Tabla 9. Capacidad antioxidante de los chocolates comerciales	109
Tabla 10. Contenido de HMF y furfural en chocolates comerciales	110
Tabla 11. Granulometría de los suelos estudiados	113
Tabla 12. Análisis mineralógico semicuantitativo de la fracción grava fina (2<mm) de las muestras de suelo estudiadas	115
Tabla 13. Análisis mineralógico semicuantitativo de la fracción tierra fina (<2 mm) de las muestras de suelo estudiadas	116

Tabla 14. Análisis mineralógico semicuantitativo de los filosilicatos de la fracción arcilla (<2 μm) de las muestras de suelo estudiadas	118
Tabla 15. Contenido de humedad retenida a 33 KPa y 1500 KPa expresado como % de agua retenida	120
Tabla 16. Determinación de pH en los suelos de Tibú y El Zulia	122
Tabla 17. Determinación del rango de fertilidad relativa de los suelos estudiados	122
Tabla 18. Bases de Cambio y CIC	124
Tabla 19. Extracción de minerales con DTPA en suelos de Zulia y Tibú	127
Tabla 20. Elementos minerales en hojas de árboles productores de cacao.....	129
Tabla 21. Variación del pH con la adición de biochars	132
Tabla 22. Variación de la CE ($\mu\text{S cm}^{-1}$) con la adición de biochars	134
Tabla 23. Variación del % CO con la adición de biochar	136
Tabla 24. Variación de la concentración del cadmio con la adición de biochars	138
Tabla 25. Evolución del pH según tipo de enmienda a los 90 días de incubación	143
Tabla 26. Evolución de la CE según tipo de enmienda a los 90 días de incubación ...	145
Tabla 27. Evolución del CO (%) según tipo de enmienda a los 90 días de incubación	146
Tabla 28. Evolución del Cd según tipo de enmienda a los 90 días de incubación.....	147

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Árbol de cacao, plantaciones en Tibú y El Zulia, Norte de Santander, Colombia	17
Figura 2. Mazorca de cacao recién cosechada producida en Norte de Santander, Colombia	18
Figura 3. Granos secos de cacao, producido en Norte de Santander, Colombia	19
Figura 4. Origen del cacao comercializado en Europa (2020-2021), (ICCO, 2021)	20
Figura 5. Municipios productores de cacao en Colombia (Abott et al., 2018).....	23
Figura 6. Fermentación de granos de cacao en cajón de madera y cubierto con hoja de plátano.....	25
Figura 7. Secado del cacao colocado estructura de madera mediante radiación solar y usando techo con lamina de plástico en Tibú, Norte de Santander, Colombia	26
Figura 8. Fruto o mazorca del cacao	31
Figura 9. Muestra de cacao procedente de la Finca Porvenir (Somos Cacao), ubicada en El Zulia, Norte de Santander, Colombia	51
Figura 10. A) Fincas El Porvenir, Rosa Blanca, Los Mangos, Palmira, Esperanza, localizada en la vereda de Pan de Azúcar y Brisas de Río Nuevo, Municipio de El Zulia	

(Latitud N: 8°1'34.83038'' y Longitud O: 72°42'9.11078'). B) Finca La Esperanza, localizada en la vereda de Campo Tres, Municipio de Tibú (Latitud N: 8°29'55'' y Longitud O: 72°42'11''); (Google Maps)	52
Figura 11. Acondicionamiento de los suelos	53
Figura 12. Procedimiento para la obtención de CacaO _{char}	54
Figura 13. Esquema metodológico de análisis de los granos de cacao producidos en Zulia y Tibú	56
Figura 14. Esquema metodológico de análisis de los suelos	72
Figura 15. Diseño experimental para la remediación del cadmio en cámara climática, simulando condiciones de la zona de producción (día/noche)	73
Figura 16. Adición de agua destilada para mantener la humedad de los suelos	74
Figura 17. Determinación de ceniza en granos de cacao por el método AOAC 972.15	80
Figura 18. Análisis de Componentes principales representado por un biplot de las variables % de proteína en cacao tostado a 120°C, % Proteína cacao seco, % grasa, % ceniza en 5 muestras de la región de Zulia y Tibú	86
Figura 19. Análisis de Componentes principales representado por un biplot de las concentraciones de macroelementos Mg, P, K, Na, Ca en 6 muestras de la región de Zulia y Tibú	87

Figura 20. Análisis de Componentes principales representado por un biplot de las concentraciones de microelementos Ni, Cr, Cu, Zn, Fe, Al, Cd, Mn en 6 muestras de la región de Zulia y Tibú	88
Figura 21. Resultado del análisis de perfil sensorial	89
Figura 22. Perfil sensorial del cacao producido en El Zulia y Tibú (Colombia)	90
Figura 23. Variables sensoriales de los sabores básicos, específicos y adquiridos en las muestras de granos de cacao provenientes de Zulia y Tibú	92
Figura 24. PCA de las variables sensoriales de los sabores básicos	93
Figura 25. PCA de las variables sensoriales de los sabores específicos	94
Figura 26. PCA de las variables sensoriales de los sabores adquiridos	95
Figura 27. Capacidad antioxidante del cacao en polvo crudo (sin tostar) y tostado a diferentes temperaturas. Los tres paneles superiores muestran la capacidad antioxidante obtenida del sobrenadante de la digestión <i>in vitro</i> . Los tres paneles inferiores muestran la capacidad antioxidante obtenida del sobrenadante de fermentación bacteriana <i>in vitro</i> . ns: no significativo; *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$	98
Figura 28. Concentraciones de HMF y furfural en polvo de cacao crudo y tostado. ns: no significativo; *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$	99
Figura 29. A) Análisis de coordenadas principales (PCoA) con disimilitud de Bray-Curtis. B) Análisis de correspondencia canónica (CCA) utilizando como variables explicativas crudo/tostado, ubicación del cultivo, HMF y concentraciones de furfural. C) Análisis de coinerencia entre PCA basado en AGCC y PCoA basado en abundancia de género	100

Figura 30. Concentración de ácidos grasos de cadena corta tras la fermentación <i>in vitro</i> . ns: no significativo; *: p < 0,05; **: p < 0,01	102
Figura 31. A) Valores medios de precisión de disminución para cada género incluido en el análisis de random forest. B) Valores medios de disminución de Gini para cada género incluido en el análisis de random forest. C) Plot violín de todos los géneros diferencialmente abundantes entre cacao tostado y sin tostar (crudo). ns: no significativo; *: p < 0,05; **: p < 0,01; ***: p < 0,001	105
Figura 32. A) Abundancia relativa para cada temperatura de tostado de los 7 géneros discriminantes principales según random forest. B) Abundancia relativa para cada temperatura de tostado de los géneros que se correlacionaron significativamente con la concentración de HMF o furfural. ns: no significativo; *: p < 0,05. C) Producción de SCFA para cada temperatura de tostado	106
Figura 33. Diagrama triangular de las clases texturales del suelo en Zulia (azul) y Tibú (morado) según USDA (1993)	114
Figura 34. Fotografía arena fina (50-200 µm) suelo de Zulia	119
Figura 35. Fotografía arena fina (50-200 µm) suelo de Tibú	119
Figura 36. Suelos provenientes de El Zulia y Tibú con la dosis de residuo según diseño experimental antes de ser envasados para su incubación	130
Figura 37. Extracto del suelo para medir conductividad y pH de los suelos de Zulia y Tibú.....	133
Figura 38. Concentracion de cadmio en la cascarilla del grano de cacao	141
Figura 39. Concentracion de cadmio en el tejido foliar (hojas) del árbol de cacao	142

Figura 40. Captación de cadmio por los diferentes tipos de biochar a los 90 días de incubación de los suelos148

ABREVIATURAS

AGCC: ácidos grasos de cadena corta

Al: aluminio

ANOVA: análisis de la varianza

AU: agua utilizable por las plantas

Br: boro

Ca: calcio

CaCO₃ eq.: carbonato cálcico equivalente

CCA: análisis de la correlación canónica

Cd: cadmio

CE25: conductividad eléctrica medida a 25°C

CIC: capacidad de intercambio catiónico

CICE: capacidad de intercambio catiónico efectiva

CO: carbono orgánico

Cr: cromo

Cu: cobre

DRX: difracción de rayos X

DTPA: ácido dietileno-triamino- pentaacético

Fe: hierro

Fedecacao: Federación Nacional de Cacaoteros de Colombia

FFC: cacao criollo, fino y de aroma

g: gramo

HMF: hidroximetilfurfural

ICCO: Organización Internacional del Cacao

IMC: índice de masa corporal

K: potasio

kg: kilogramo

kPa: kilo pascal

Mg: magnesio

Mn: manganeso

Mo: molibdeno

Ni: níquel

Na: sodio

P: fósforo

Pb: plomo

PCA (principal component análisis): análisis de componentes principales

ppm: partes por millón

RV: razón de verosimilitud

S: azufre

SCG (spent coffee grounds): posos de café

SOM (soil organic matter): materia orgánica del suelo

USD: dólar estadounidense

W1500: capacidad de retención de agua a -1500 kPa

W33: capacidad de retención de agua a -33 kPa

Zn: zinc

RESUMEN

El cacao es un alimento muy consumido con efectos beneficiosos para la salud humana y en Colombia, como estrategia para la sustitución de cultivos ilegales (cultivo de coca), tanto el Ministerio de Agricultura como el gremio cacaotero promueven la siembra de cacao, y lo consideran un producto que genera una alternativa ambiental, económica y social en zonas del posconflicto como el Catatumbo (Norte de Santander). La fermentación, el secado y el tostado del cacao, como operaciones del proceso de elaboración del chocolate, tienen una influencia importante en sus características sensoriales y nutricionales; por lo tanto, también podrían influir en la bioactividad del cacao (Hurst et al., 2011; Tonfack-Djikeng et al., 2018). De acuerdo a lo anterior, un objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de estas etapas y en especial las condiciones de tostado del cacao sobre su capacidad antioxidante y las modificaciones de la microbiota intestinal después de la digestión-fermentación *in vitro*. Se analizaron HMF y furfural, marcadores químicos de pardeamiento no enzimático, en cacao en polvo sin tostar y tostado a diferentes temperaturas. La capacidad antioxidante disminuyó con el tostado, probablemente debido a la pérdida de compuestos fenólicos durante el calentamiento. Por otro lado, el HMF y el furfural aumentaron durante el tostado debido al aumento de las temperaturas. Además, el cacao en polvo tostado y sin tostar tuvo diferentes efectos en las comunidades microbianas intestinales. El cacao tostado favoreció la producción de butirato mientras que el cacao sin tostar favoreció la producción de acetato y propionato de manera significativa. Además, el cacao tostado y sin tostar produjo comunidades microbianas intestinales significativamente diferentes en términos de composición. Aunque muchas bacterias se vieron afectadas *Veillonella* y *Faecalibacterium* fueron algunas de las más discriminantes; mientras que el primero es

un productor de propionato, el segundo es un productor de butirato que también se ha relacionado con efectos positivos sobre la salud inflamatoria del intestino y el sistema inmunológico. Por lo tanto, el cacao tostado y sin tostar (independientemente de la temperatura de tostado) estimula el crecimiento de bacterias benéficas con efecto prebiótico y una producción de diferentes AGCC.

Para la incursión exitosa del cacao en el mercado europeo es requisito la calidad del producto y la adaptación a regulaciones tales como el Reglamento UE N.º 488 de 2014, en cuanto a los niveles máximos de cadmio para productos específicos de cacao y chocolate. De acuerdo a esto, se determinó el tipo de suelos y el contenido de metales pesados tanto en suelos como en hojas y granos de cacao en dos zonas productoras de los municipios del Zulia y Tibú mediante absorción atómica. En los suelos muestreados se realizaron también análisis físicos (textura) y químicos (pH, materia orgánica, CIC, elementos minerales). Los resultados mostraron que los suelos poseen condiciones ácidas para el cultivo de cacao. En promedio, en las dos cosechas anuales, el 46% de las muestras de granos, 100% de las hojas y 50% de la cascarilla analizadas superaron el valor máximo de cadmio establecido en la resolución europea. Valores altos de Al, Ca, K, Mn y Zn en las hojas, fueron semejantes tanto en la zona del Zulia, como de Tibú. El pH, % de arcilla, Al, Mg, Mn y Zn fueron las variables que tuvieron mayor correlación con la concentración de metales pesados. Se planteó una alternativa con el uso de carbones bioactivos a partir de los subproductos del cacao para la remediación de los suelos contaminados y se encontró que el bio carbón ($\text{Cacao}_{\text{char}}$) obtenido a partir de un residuo orgánico de la producción de cacao (cáscara de la mazorca del cacao) presentó buena capacidad de remediación de cadmio. El uso de los SCG_{char} , bioactivo rico en C, mostró un aumento importante en la concentración de CO en los suelos.

ABSTRACT

Cocoa is a widely consumed food with beneficial effects for human health and in Colombia, as a strategy for the substitution of illegal crops (coca cultivation), both the Ministry of Agriculture and the cocoa union promote the planting of cocoa, and consider it a product that generates an environmental, economic and social alternative in post-conflict areas such as Catatumbo (Norte de Santander). The fermentation, drying and roasting of cocoa, as operations in the chocolate making process, have an important influence on its sensory and nutritional characteristics; therefore, they could also influence cocoa bioactivity (Hurst et al., 2011; Tonfack-Djikeng et al., 2018). According to the above, an objective of this work was to determine the effect of these stages and especially the cocoa roasting conditions on its antioxidant capacity and the changes in the intestinal microbiota after digestion-fermentation in vitro. HMF and furfural, chemical markers of non-enzymatic browning, were analyzed in unroasted and roasted cocoa powder at different temperatures. The antioxidant capacity decreased with roasting, probably due to the loss of phenolic compounds during heating. On the other hand, HMF and furfural increased during roasting due to increased temperatures. Additionally, roasted and unroasted cocoa powder had different effects on gut microbial communities. Roasted cocoa favored butyrate production while unroasted cocoa significantly favored acetate and propionate production. Furthermore, roasted and unroasted cocoa produced significantly different gut microbial communities in terms of composition. Although many bacteria were affected, *Veillonella* and *Faecalibacterium* were some of the most discriminating; while the former is a propionate producer, the latter is a butyrate producer which has also been linked to positive effects on inflammatory gut health and the immune system. Therefore, roasted and unroasted cocoa (regardless of the roasting temperature)

stimulates the growth of beneficial bacteria with a prebiotic effect and the production of different SCFAs.

For the successful incursion of cocoa in the European market, the quality of the product and the adaptation to regulations such as the EU Regulation No 488 of 2014, regarding the maximum levels of cadmium for specific cocoa and chocolate products, are required. According to this, the type of soils and the content of heavy metals were determined both in soils and in cocoa leaves and beans in two producing areas of the municipalities of Zulia and Tibú by atomic absorption. Physical (texture) and chemical (pH, organic matter, CEC, mineral elements) analyzes were also performed on the sampled soils. The results showed that the soils have acidic conditions for cocoa cultivation. On average, in the two annual harvests, 46% of the grain samples, 100% of the leaves and 50% of the husks analyzed exceeded the maximum value of cadmium established in the European resolution. High values of Al, Ca, K, Mn and Zn in the leaves were similar both in the Zulia and Tibú areas. The pH, % of clay, Al, Mg, Mn and Zn were the variables that had the highest correlation with the concentration of heavy metals. An alternative was proposed with the use of bioactive carbon from cocoa by-products for the remediation of contaminated soils and it was found that the biochar ($\text{Caco}_{\text{char}}$) obtained from an organic residue of cocoa production (cocoa pod husk) presented good cadmium remediation capacity. The use of SCG_{char} , bioactive rich in C, showed a significant increase in the concentration of CO in soils.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 CACAO: CARACTERÍSTICAS BOTÁNICAS E IMPORTANCIA ECONÓMICA

1.1.1 *Theobroma cacao* L.

El cacao (*Theobroma cacao* L.) es una planta tropical originaria de México, cuyo fruto es una baya elíptica de color amarillo, rojo, morado o pardo oscuro, en cuyo interior se encuentran semillas a las cuales se les denomina cacao en grano una vez fermentadas, limpias y secas (Figueira et al., 1994; Powis et al., 2011). El árbol de cacao (*Theobroma cacao* L.) pertenece al Orden Malvales, a la familia esterculiácea, al género *Theobroma* y la especie *cacao*.

El árbol del cacao se cultiva en las regiones tropicales, para su producción los elementos constituyentes del clima que tienen un mayor peso son la precipitación, temperatura, altitud y humedad. El cacao no soporta temperaturas bajas, lo que influye en la formación de flores y madurez del fruto. El rango de temperatura promedio anual va de 23°C a 30°C, siendo el óptimo de 25°C. Se cultiva casi desde el nivel del mar hasta los 1200 metros sobre el nivel del mar (msnm), siendo el óptimo de 500 a 800 msnm.

La planta es sensible a la falta de agua pues los estomas de las hojas se cierran aun con pequeños cambios en el contenido de agua en ellos, en casos extremos los tejidos mueren y las hojas se caen (Enríquez, 1985). Requiere de una humedad relativa anual promedio de entre el 70% y 80% (Enríquez, 1985; Gómez-Aliaga et al., 2014). La plantación de cacao requiere de una buena sombra (50%), generalmente esta se hace usando productos maderables o plantas como el plátano, que a la vez cumplen la misión de contribuir a mejorar la economía del productor (Enríquez, 1985; Batista, 2009).

Generalmente hay dos etapas de fructificación y recolección, la cosecha mayor y cosecha menor, la primera se da en el primer semestre del año y la segunda durante los meses de octubre hasta enero, aunque el árbol puede florecer todo el año, siempre que no haya períodos de sequía o variaciones de temperatura muy severas (Batista, 2009). Al principio de la época de lluvia aparecen las flores y son polinizadas por insectos. Las mazorcas, que brotan del tronco principal y de las ramas de la copa, se desarrollan en 5 o 6 meses, el estado óptimo de madurez se puede observar por cambios en el color de la superficie de la mazorca (**Figura 1**).



Figura 1. Árbol de cacao, plantaciones en Tibú y El Zulia, Norte de Santander, Colombia

La caracterización morfológica de frutos y de semillas se realiza con base en descriptores, dentro de los más utilizados están los de Engels et al. (1980), un descriptor comúnmente utilizado es la forma de la mazorca del cacao, la cual es variable, puede ser ovalada, elíptica, oblongo, orbicular o amelonado, entre otras, tiene aproximadamente entre 15 a 25 cm de largo, 8 a 10 cm de diámetro de ancho, posee una cáscara carnosa de 20 mm de grosor y pesa entre 300 a 400 g.

El color de la mazorca presenta varias tonalidades, pero en realidad existen dos colores básicos, el verde y el color rojo, el verde es específico del cacao Forastero, en tanto que en el cacao Criollo y Trinitario están presentes los colores rojo y verde. Las superficies de las mazorcas pueden ser lisas o fuertemente rugosas, con surcos superficiales o profundos y lomos individuales o pareados (Batista, 2009). La cáscara o perocarpio está formado por tres partes: el exocarpo o sección exterior (tejido epidérmico de espesor variado). La segunda capa o mesocarpo (células semi-leñosas bastante duras) y la capa interior o endocarpo (carnosa y suave). Infiuye en el tiempo de maduración del fruto el genotipo y el medio ambiente (Enríquez, 1985). Una mazorca contiene entre 25 y 50 semillas cubiertas de una pulpa gelatinosa y agrídulce, denominada mucilago, que contiene un alto grado de azúcar (**Figura 2**).



Figura 2. Mazorca de cacao recién cosechada producida en Norte de Santander, Colombia

De los tres tipos de cacao (criollos, forasteros e híbridos) desde el punto de vista de la calidad, los criollos, son los más finos, caracterizados por su agradable sabor y exquisito aroma (Hardy, 1961; Vera, 1993; Figueira et al., 1994; Motamayor et al., 2008; Aránzazu et al., 2009; Batista, 2009; Bhattacharjee, 2018).

La semilla del cacao es más bien un óvulo del interior del ovario de la flor, fecundado y desarrollado, que luego de su desarrollo y maduración constituye la mazorca (Batista, 2009). Las semillas, después de la fermentación y el secado (**Figura 3**), se denominan granos o almendras de cacao (Fedecacao, 2004).



Figura 3. Granos secos de cacao, producido en Norte de Santander, Colombia

Según la Organización Internacional del Cacao (ICCO) el cacao criollo, fino y de aroma (FFC, por su sigla en inglés) se diferencia del cacao a granel por sus sabores finos que incluyen frutas (frescas y doradas, frutas maduras), notas florales, a base de hierbas y madera, nueces y notas caramelizadas, así como bases de chocolate ricas y equilibradas (ICCO, 2017).

Los FFC poseen además factores diferenciadores como el origen, contenido de compuestos bioactivos, certificaciones de producto, trazabilidad, entre otros; por todo ello los mercados específicos pagan buenos precios por este producto (Elwers et al., 2009; Ríos et al., 2017). Una considerable parte del cacao colombiano se cataloga en esta categoría (ICCO, 2016).

En Sudamérica para evitar el ataque del hongo *Moniliophthora perniciosa* (Escoba de Bruja) especialmente en los cacaos criollos, se hicieron cruzamientos dirigidos entre materiales Amazónicos y Trinitarios, dando origen a los cacaos trinitarios, los cuales conservan las características de cacao fino y de aroma como herencia Trinitaria (Aránzazu et al., 2009). Los cacaos híbridos (clones) resultan del entrecruzamiento sexual de dos árboles tras un proceso de selección, tratando de generar determinadas características deseables como calidad, productividad, precocidad productiva, respuesta a plagas y enfermedades, entre otros. Los clones conservan las características morfológicas y fisiológicas de la planta madre.

1.1.2 Producción y economía del cacao

Aproximadamente el 75% de la producción de cacao proviene de África, liderado por Costa de Marfil, Ghana y Nigeria (**Figura 4**) con algunas cantidades importantes provenientes de la República Dominicana, Ecuador, Indonesia y Perú (Lernoud et al., 2018).

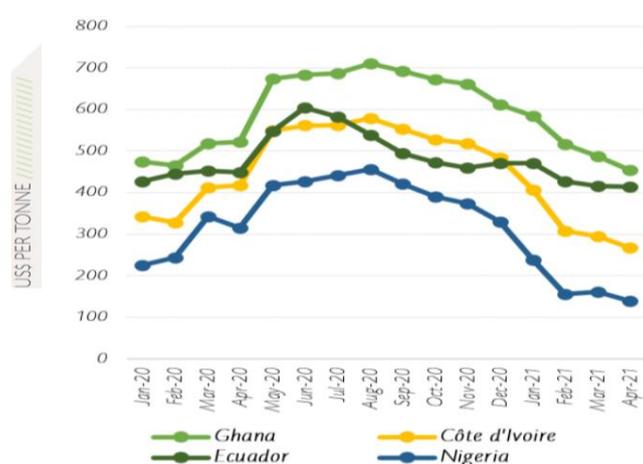


Figura 4. Origen del cacao comercializado en Europa (2020-2021), (ICCO, 2021)

El 70% del cacao es producido por pequeños agricultores cuyos ingresos dependen entre un 60 a 90 por ciento de este producto y generalmente es transformado de manera artesanal (Voora et al., 2019).

El cacao y sus productos relacionados se consumen en gran cantidad en todo el mundo, principalmente debido a su agradable sabor. De hecho, el cacao en grano exportado en 2017 alcanzó un valor de mercado de USD 8,6 mil millones y se espera que esta cifra siga creciendo, alcanzando un valor de USD 16,3 mil millones en 2025 (Voora et al., 2019). Según un reporte de ICCO los precios del cacao en polvo en Europa aumentaron (44%) en abril de 2021 en comparación con sus valores registrados un año antes (ICCO, 2021).

Por otro lado, la industria del chocolate tuvo un valor de mercado de USD 106,19 mil millones en 2017 y se pronostica que crezca a USD 189,9 mil millones para 2026 (Voora et al., 2019). Estas cifras solo dan una idea de la importancia de la industria del cacao y el chocolate en todo el mundo.

1.1.3 El cacao en Colombia

En un estudio sobre el contexto de la producción, comercialización y un diagnóstico de la problemática del cacao en Colombia, Cely (2017) y León et al. (2019), concluyeron que en dicho país, como política del posconflicto y la erradicación de los cultivos ilícitos, el cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.) se ha convertido en una alternativa de sustitución, unida a ventajas comparativas como la ubicación geográfica, la multifuncionalidad y la innovación del producto y las grandes posibilidades de su inserción en los mercados internacionales y por ende la mejora en la estabilidad económica

de la región del Catatumbo en Norte de Santander, Colombia, zona que durante años fue azotada por la violencia.

En Colombia, a partir de 1997, la Federación Nacional de Cacaoteros (Fedecacao) promovió el cultivo de diferentes clones (**Tabla 1**).

Tabla 1. Muestra de clones de cacao híbrido cultivado en Colombia (Aránzazu, 2009)

ITEM	CLON	NOMBRE	ORIGEN/CARACTERÍSTICAS
1	CCN 51	Colección Naranjal	Castro Ecuador, obtenido de cepas de cacao de Iquitos y Criollo; de forma amelonada, resistente a plagas y de alta productividad.
2	ICS 95	Imperial Selection	College Trinidad, mazorca de color rojo, forma amelonada, tolerante a enfermedades.
3	ICS 60	Imperial Selection	College Colombia, buena productividad, baja precocidad
4	ICS 39	Imperial Selection	College Cacao fino, buen rendimiento industrial
5	SCC 61	Selección Corpoica	Colombia Colombia, material de alto rendimiento
6	FSA 13	Fedecacao Saravena	Colombia, híbrido trinitario

Un informe de la Fedecacao señala que en Colombia se registra un nuevo récord en producción de cacao pasando de 63.416 toneladas en 2020 a 69.040 en el 2021, dejando ver un crecimiento del 8.9% (Fedecacao, 2022). Durante el año cacaotero 2019-2020 según ICCO, Colombia ocupa el décimo puesto como productor de cacao en el mundo y el quinto lugar en Latinoamérica (Fedecacao, 2021).

Según un estudio realizado por Abott et al. (2018) la región de mayor producción de cacao es Santander, departamento que representa el 31,2 % del total del área sembrada y el 40,9 % de la producción total del país, le siguen en orden de producción Antioquia 9%, Arauca 8%, Tolima y Huila 7% (**Figura 5**).

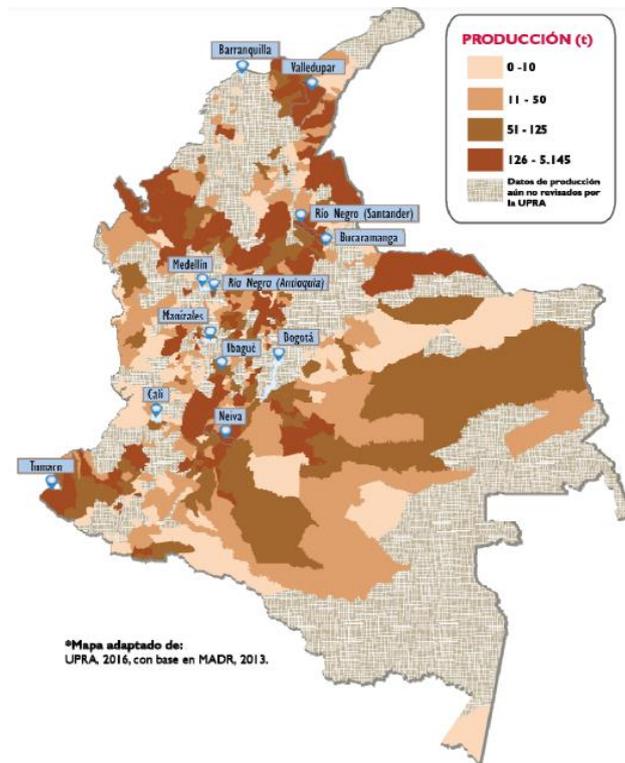


Figura 5. Municipios productores de cacao en Colombia (Abott et al., 2018)

Colombia exportó 60 toneladas de cacao durante el periodo 2018-2019 y es uno de los países productores mundiales de cacao fino y de aroma, materia prima usada para la fabricación de chocolates y repostería de alta calidad principalmente en el mercado europeo (Fedecacao, 2020; ICCO, 2016).

1.1.4 Procesado del cacao

Para el desarrollo de su cultivo se consideran como factores críticos el tipo de suelo, las características fitogenéticas de la planta (Perea et al., 2011; Fedecacao, 2012) y factores climáticos como temperatura, radiación solar, lluvia y en algunos casos el viento (Enríquez, 1985; Batista, 2009).

Perea et al. (2011) deducen que las características fitogenéticas, físicas, químicas y organolépticas varían según el lugar de producción y estos factores a su vez influyen de manera significativa en la calidad del grano de cacao para su comercialización y procesamiento como chocolate (Hii et al., 2009). Igualmente, Contreras (2017) expone que el “desarrollo de las características de sabor y aroma y la ausencia de sabores secundarios, especialmente humo, moho y excesiva acidez, son fundamentales para la catalogación de los cacaos finos y de aroma, y están relacionadas con el lugar de origen del grano, el genotipo utilizado, la fermentación, el secado y tostado”.

El proceso poscosecha o beneficio del cacao incluye los procesos de fermentación, secado, tostado y almacenamiento (Fedecacao, 2012; Quintana y García, 2021). Inicia con la adecuación de las mazorcas de cacao (corte de la mazorca y desgranado), y continua con la fermentación de los granos de cacao (**Figura 6**) el cual generalmente se realiza en cajones de madera y se cubre con hojas de la planta de plátano (*Musa Paradisiaca*).

La fermentación contribuye a generar cambios de carácter bioquímico y físico en todas las estructuras del grano, se originan los compuestos precursores del aroma y el sabor del mismo, así como la oxidación de los polifenoles y cambios notables del pH (Wollgast y Anklam, 2000; Camu et al., 2008; Hii et al., 2009; Fedecacao, 2012; Rodríguez-Campos et al., 2012; Calvo et al., 2021; Quevedo-Guerrero et al., 2022). Una investigación realizada en zona cacaotera de México, se encontró que el proceso de fermentación tuvo un efecto mayor en el perfil de compuestos volátiles que el secado (Rodríguez-Campos et al., 2012).

Para almacenar los granos fermentados, desarrollar el sabor, y evitar la contaminación con mohos se realiza el secado. Este proceso, que disminuye el contenido de agua, acidez y astringencia de la almendra, se realiza para reducir la humedad hasta

alcanzar valores del 7 a 8 % (Jinap y Thien, 1994). Humedades superiores favorecen la formación de ácidos grasos libres e incluso alta concentración de acidez en los cotiledones, mientras que valores menores hacen el producto más susceptible a fracturas y pérdida de aroma y sabores (Amores et al., 2010; Fedecacao, 2012).



Figura 6. Fermentación de los granos de cacao en cajón de madera y cubierto con hoja de plátano

El método más utilizado por los productores es el secado solar al aire libre, aunque algunos estudios (Di Mattia et al., 2013; Barrientos et al., 2019) han propuesto el uso de techos utilizando lonas, materiales de plástico y aire forzado (**Figura 7**). En esta etapa se debe remover la masa de cacao frecuentemente para conseguir una distribución uniforme del calor y lograr el secado uniforme, en un tiempo de 5 a 7 días, con temperaturas promedio de 30°C y 70% de humedad relativa.



Figura 7. Secado del cacao colocado estructura de madera mediante radiación solar y usando techo con lamina de plástico en Tibú, Norte de Santander, Colombia

Durante el secado del grano continúan algunos procesos de transformación física y química que no se completaron mientras el grano se fermentaba. Finaliza la oxidación y transformación de los polifenoles, desaparece por completo el color violeta de las almendras, con lo cual el grano se torna totalmente marrón, generando características organolépticas deseables (Fedecacao, 2012; Nigam and Singh, 2014; Schwan, 2015; Pineda et al., 2017).

Los granos de cacao contienen una cantidad significativa de polifenoles, alrededor del 10% del peso seco del grano según Hardy (1961), del 12 al 18 del peso según Bravo, (1998), y del 6 al 8% según una revisión de varios autores realizada por Żyżelewicz et al. (2016). Los polifenoles se modifican o degradan hasta cierto punto durante la fermentación, secado y tostado afectando la actividad antioxidante (Kongor et al., 2013; Afoakwa et al., 2015). En un estudio realizado en Ecuador por Quevedo-Guerrero et al. (2022) se concluye que los granos de cacao con alto porcentaje de grasa presentan baja actividad antioxidante y viceversa.

La concentración de polifenoles en las semillas de cacao secas y libres de grasa oscila entre el 15-20% (p/p) y están constituidos por un 37% de catequinas, un 4% de antocianinas y un 58% de proantocianidinas (Wollgast y Anklam, 2000; Perea et al., 2009).

Estas variaciones en las características fitogenéticas, físicas, químicas y organolépticas dependen del lugar de producción, variedad genética, tipo de suelos, procesos pre y poscosecha, entre otros y estos factores a su vez influyen de manera significativa en la calidad del grano de cacao para su comercialización (Wollgast y Anklam, 2000; Hii et al., 2009; Perea et al., 2009; Kongor et al., 2013).

El tostado es una operación importante del procesado del cacao, que determina en gran medida la aceptación sensorial de los consumidores, se genera el color, aroma y sabor de sus derivados. El cacao sufre un pardeamiento adicional al observado durante las etapas previas de fermentación y secado. En este pardeamiento participan múltiples reacciones, como oxidaciones y polimerizaciones de polifenoles, degradación de proteínas, caramelización y la reacción de Maillard (Ortiz et al., 2019; Oracz y Zyzelewicz., 2019).

Según Misnawi et al. (2005) durante el tostado del cacao se disminuye la capacidad de interacción de los polifenoles con las proteínas y esto, a su vez, provoca que se disminuya la astringencia durante la elaboración del chocolate.

Los granos de cacao tostado, se dejan enfriar a temperatura ambiente y posteriormente se realiza el descascarillado mediante un proceso físico. Generalmente los granos son introducidos en la maquina descascarilladora donde pasan a través de rodillos de goma o de acero que los rompen, liberando fragmentos de cascarilla con partículas de cotiledón del cacao que se denominan nibs de cacao. Luego una segunda griva vibratoria separa completamente estos dos tipos de partículas (cascarilla y nibs). La cascarilla debe

ser removida para evitar que el licor de cacao presente estas impurezas (las cuales pueden estar contaminadas con trazas de metales tóxicos) y adicionalmente se afecte la textura final de los productos a elaborar (Quintana y García, 2021).

Para la molienda y refinado se parte de los nibs de cacao, los cuales por acción mecánica de un sistema de rodillos de granito denominado “melangeur”, o mediante molino de bolas de acero, generan una fase líquida del cacao hasta obtener un tamaño de partícula de 17 μm (micrómetro o micrón en plural y micra en singular) y así se obtiene mediante procesos industriales, el licor de cacao, producto pastoso que es la base para los diferentes preparados de chocolate (Quintana y García, 2021).

El contenido de polifenoles y la actividad antioxidante del chocolate, según Fernández et al. (2014), es mayor a medida que se incrementa el contenido de sólidos de cacao, sin embargo su concentración es influenciada por la temperatura y tiempo del tostado, conchado y alcalinización, además de los factores ya descritos en las etapas anteriores del proceso de beneficio (Tomas-Barberan et al., 2007; Di Mattia, 2013; Iannonne et al., 2014; Albertini et al., 2015; Zyzelewicz et al., 2016; Oracz y Zyzelewicz., 2019).

El tiempo y la temperatura de tostado producen diferentes reacciones químicas, como la reacción de vitaminas, reacción del grupo carbonilo de un azúcar reductor que pueden llevar a la formación de componentes indeseables como acrilamida, furfural y 5-hidroxi metilfurfural (5-HMF) (Rannou et al., 2016). Sin embargo, Sacchetti, et al. (2015) encontraron que los procesos de tostado a alta temperatura y corto tiempo (HTST) minimizan el grado de reacción de pardeamiento, y aunque el hidroximetilfurfural (HMF) aumenta exponencialmente con el tiempo de tostado, su contenido final disminuye.

Una temperatura de procesamiento alta puede promover la oxidación de lípidos y el pardeamiento no enzimático, que tienen la propiedad de disminuir el valor nutricional

de los alimentos al provocar una pérdida de ácidos grasos esenciales, aminoácidos esenciales y carbohidratos digeribles (0,1 a 0,8 g/kg) (Djikeng et al., 2018).

Otros autores han encontrado en cacao y otros alimentos que durante la reacción de Maillard se generan compuestos con actividad antioxidante o prebiótica, lo cual redundaría en beneficios para la salud (Tsao, 2010; Tzounis et al., 2011; Hooper et al., 2012; Pastoriza y Rufián-Henares, 2014; Sarriá et al., 2020).

Evaluación sensorial

La evaluación sensorial es un sistema especializado de control de calidad, fundamentado en la catación o degustación de alimentos mediante el uso de los órganos de los sentidos de consumidores o catadores entrenados, cuyos resultados se analizan estadísticamente (Anzaldúa, 1994; Bourne, 2002; Stone y Sidel, 2004).

Existen diferentes pruebas y métodos de evaluación sensorial según la finalidad para la que se efectúe. De forma general se aplican cuando un juez expresa su reacción subjetiva ante el producto, indicando el grado de preferencia, de gusto o disgusto y de satisfacción que pueda presentar un panelista por un producto determinado (prueba afectiva); cuando se desea averiguar si existen o no diferencia entre dos o más muestras o productos (pruebas discriminativas) y al tratar de describir y medir las diferencias que se puedan presentar (pruebas descriptivas) (Anzaldúa, 1994; Meilgaard et al., 2006; Lawless, y Haymann, 2010).

El cacao, por su gran demanda a nivel mundial, requiere evaluar su calidad sensorial de sabor y aroma para lograr la aceptación en los mercados internacionales y para ello se han establecido pruebas sensoriales específicas donde es importante seleccionar y

describir los atributos a evaluar (Faria y Yotsuyanagi, 2002; Fadel et al., 2006; Sánchez, 2007; Ramos et al., 2013; Moreno et al., 2019; Calvo et al., 2021).

En Colombia, la Federación Nacional de Cacaoteros (Fedecacao) como apoyo a productores y transformadores de cacao, conformó un panel entrenado de catadores que ofrece los servicios de asesoramiento y realización de pruebas de evaluación sensorial de cacao con el fin de determinar si un licor presenta deficiencias o un adecuado manejo del proceso pos cosecha de las almendras.

En la mayoría de alimentos las propiedades sensoriales requieren ser descritas como una combinación o agrupación de varias características que conforman el atributo y para ello se hace uso de los perfiles sensoriales. En Colombia, la norma NTC 4934 de 2001 (Guía general para establecer un perfil sensorial) establece los criterios para la realización de este análisis, el cual, según Anzaldúa et al. (1994), consiste en una “descripción minuciosa de atributos sensoriales identificables (descriptores), que conforman el sabor o textura, seguida de una medición de cada uno de ellos, cuyos resultados se representan en forma de grafica”. En el caso del cacao se han establecido descriptores característicos de este grano.

El perfil de sabor es usado para detectar pequeños cambios en el sabor de un producto que está siendo evaluado. Este tipo de perfil es empleado en la industria de alimentos para desarrollar y mejorar sabores, así como para detectar olores desagradables (Anzaldúa et al., 1994; NTC 3929 del 2009). En el presente proyecto los descriptores tenidos en cuenta se analizaron en tres grandes grupos: sabores básicos, sabores específicos y sabores adquiridos, adicionalmente se realizó prueba de corte y cuantificación de defectos en 100 granos.

1.1.5 Subproductos del proceso poscosecha del cacao

El fruto de la planta de cacao, denominado mazorca o nuez de cacao, posee una longitud aproximada entre 15 y 25 centímetros de largo por 10 de ancho, donde cada árbol produce entre 10 a 20 frutos, de diferentes colores en su parte exterior, según la variedad y la madurez del fruto. Los árboles de cacao producen frutos durante todo el año, aunque hay dos grandes cosechas, por tanto, la recolección es constante. Los frutos sanos y maduros se separan de las plantas y se procede a abrir la mazorca con un machete corto, haciendo un corte longitudinal, teniendo precaución de no cortar los granos o almendras que alberga en su interior, los cuales son extraídos manualmente (desgranado) y almacenados para seguir el proceso poscosecha del cacao (**Figura 8**). Las políticas en términos de incremento de la producción de cacao, hace que este desecho aumente y por cada tonelada de cacao en grano seco se generan diez toneladas de cáscara húmeda (Campos-Vega et al., 2018, Yaya et al., 2020), subproducto que se convierte en un problema para el agricultor al atraer insectos y bacterias por los restos de mucílago (pulpa mucilaginoso azucarada) y placenta que contienen. El grano o semilla de cacao está rodeado por la testa o cascarilla, la cual encierra el cotiledón y sobre la superficie exterior se adhiere al mucilago. La cascarilla se retira del grano durante el proceso térmico de tostado o torrefacción, y constituye de un 12% a un 14% del peso total del grano. Al finalizar el proceso de elaboración del chocolate se obtienen como subproductos la cáscara de la mazorca, el mucilago, la placenta y la cascarilla (Enríquez, 1985; Quintana y García, 2021). Según Lozano (2020), en Colombia durante el año 2018 se produjeron 37.711 Toneladas/año de cáscara de mazorca de cacao, dato que da idea de la magnitud de este subproducto.



Figura 8. Fruto o mazorca del cacao

Diferentes investigadores han realizado propuestas para la utilización de este desecho (cáscara) como bioaceite, complemento para alimentación animal, antimicrobiano, extracción de pectina, obtención de almidón, bioplásticos y carbón adsorbente entre otros (Vriesmann de Mello y De Oliveira, 2011; Cuellar y Guerrero, 2012; Pua et al., 2013; Lema et al., 2016; Adjin-Tetteh, et al., 2018; Sotelo y Alivis, 2018; Herrera et al., 2020; Lozano-Moreno, 2020).

1.2 VALOR NUTRICIONAL Y BIOACTIVIDAD DEL CACAO

Por el contenido de polifenoles, el cacao posee propiedades antioxidantes y efectos beneficiosos frente a varias patologías tales como enfermedades cardiovasculares, riesgo cardiometabólico y antropométrico, equilibrio microbiano intestinal, procesos inflamatorios y cáncer (Wollgast y Anklam, 2000; Kurosawa et al., 2005; Tomaru et al.,

2007; Andújar et al., 2012; Dueñas et al., 2015; Munguía et al., 2015; Cao et al., 2019; Sarriá et al., 2020).

El contenido de polifenoles en los chocolates es mucho mayor que en los granos de cacao de los que se obtuvieron y la capacidad para extinguir los radicales libres DPPH se da en un nivel alto tanto en los granos como en chocolates (Abbe Maleyki y Ismail, 2010; Urbańska y Kowalska, 2019).

1.2.1 Compuestos bioactivos del cacao e influencia en la salud

Teniendo en cuenta el crecimiento del consumo del cacao y el chocolate, esto no ha pasado desapercibido por la comunidad científica y se han realizado numerosos estudios para investigar posibles beneficios sobre la salud humana. Como tal, el cacao ha demostrado actividad antiinflamatoria, propiedades antidiabéticas (Cao et al., 2019), efectos positivos sobre el sistema inmunológico o sobre el tratamiento del cáncer (Andújar, 2012; Álvarez-Cilleros et al., 2019). Muchos de estos beneficios se han relacionado con el contenido polifenólico del cacao, que ha sido ampliamente estudiado y se caracteriza por altas concentraciones de flavan-3-oles (catequina y epicatequina) y procianidinas B1 y B2, y otros compuestos en cantidades menores (Sorrenti et al., 2020). Además, no solo los compuestos fenólicos presentes de forma natural han demostrado ser beneficiosos, sino también sus metabolitos microbianos intestinales, especialmente diferentes isómeros de dihidroxifenil-gamma-valerolactona han demostrado actividades biológicas (Angelino et al., 2009; Hollands et al., 2020), así como metilxantinas (Febrianto y Zhu, 2020) y fibra. Sin embargo, la composición del cacao se ve afectada por los diferentes pasos de procesamiento que ocurren entre la cosecha y el cacao en polvo final, incluida la fermentación, el secado, la alcalinización y el tostado, todo lo cual tiene

un impacto significativo en la composición final del cacao en polvo (Delgado-Ospina et al., 2020).

Mientras que la fermentación y el tostado son esenciales para el desarrollo del sabor y el color final, (Rufián-Henares et al., 2006; Beg et al., 2017) ambos procesos provocarán una pérdida de polifenoles (catequinas, epicatequinas y procianidinas) debido a la oxidación, polimerización y degradación (Hurts et al., 2011; Ioannone et al., 2015; Febrianto y Zhu, 2020). Sin embargo, algunos de ellos permanecerán intactos mientras que otros se unirán a las proteínas para formar taninos, responsables de la astringencia del cacao. Estos polímeros también pueden ser sustratos para los microbios intestinales (Molino et al., 2020; Jenner et al., 2005).

Además, durante el tostado, el pardeamiento no enzimático da lugar a diferentes reacciones químicas (Rufián-Henares et al., 2002; Rufián-Henares et al., 2004) y a la generación de compuestos de alto peso molecular llamados melanoidinas, que ejercen una potente actividad antioxidante (Martín et al., 2009) llegan al colon, donde pueden ser degradados por bacterias beneficiosas que promueven su crecimiento y metabolismo (Borelli y Fogliano, 2005; Pérez-Burillo et al., 2020).

En consecuencia, el cacao es una fuente de diferentes compuestos que pueden ser utilizados por los microbios intestinales y, por lo tanto, modulan potencialmente su crecimiento y actividad metabólica. Como tal, el metabolismo fenólico por bacterias intestinales se ha estudiado extensamente tanto *in vitro* como *in vivo* (Fogliano et al., 2011; Hollands et al., 2020; Sorrenti et al., 2020). Si bien la mayoría de las investigaciones que involucran el cacao y la microbiota intestinal se enfocan en un compuesto bioactivo particular o en una fórmula de cacao enriquecida con algún fitoquímico, el efecto que el cacao en polvo en sí mismo podría tener sobre el microbiota intestinal apenas se ha estudiado. Massot-Cladera et al. (2012) estudiaron el efecto de una

dieta rica en cacao en ratas, pero la microbiota intestinal se examinó mediante FISH y, por lo tanto, solo se contabilizaron las bacterias diana. Por otro lado, Álvarez-Cilleros et al. (2020) investigaron cómo una dieta rica en cacao afectaba el microbiota intestinal de ratas diabéticas. Gasaly et al., (2020) realizó una interesante revisión sobre la acción de bacterias de la microbiota intestinal en la transformación de polifenoles en equol, enterolactona/enterodiol y urolitinas, compuestos que exhiben actividades biológicas.

Por lo tanto, dado que el tostado del cacao da como resultado una pérdida de compuestos bioactivos, el objetivo de esta investigación es averiguar si el cacao en polvo sin tostar tiene una bioactividad diferente (es decir, capacidad antioxidante y efecto sobre las comunidades microbianas intestinales) que el cacao en polvo tostado. La temperatura de tueste también se estudió para establecer, en su caso, la mejor temperatura para generar una capacidad antioxidante más fuerte y un perfil de microbiota intestinal más saludable.

Todos estos ensayos se realizaron después de la digestión *in vitro* y la fermentación microbiana intestinal para igualar las modificaciones que ocurren a lo largo del tracto gastrointestinal humano.

1.3 PRODUCCIÓN AGRONÓMICA DEL CACAO

1.3.1 Importancia del suelo en la producción del cacao

Los suelos deben considerarse como formaciones geológicas naturales desarrolladas bajo condiciones muy diversas de clima y materiales de origen, lo cual justifica su continua evolución y, en consecuencia, su gran variedad, son los que soportan una vegetación, y en él se deben dar las condiciones necesarias para el desarrollo de las plantas (Navarro-García y Navarro-Blaya, 2003). A nivel agrícola es importante

identificar la condición física de un suelo, ya que ella determina, la rigidez, fuerza de sostenimiento, facilidad para la penetración de las raíces, aireación, capacidad de drenaje y de almacenamiento de agua, y la retención de nutrientes, aspectos fundamentales para entender cómo influyen en el crecimiento y productividad de las plantas y a la vez que el productor comprenda como su actividad puede llegar a modificar sus atributos y realice las labores necesaria para mantenerlos.

Todos los suelos están compuestos por fracciones y partículas minerales de diferentes tamaños. Las más gruesas se denominan arenas, las medianas son los limos y las más pequeñas son las arcillas (USDA, 2014).

La presencia de cada uno de los tamaños de las partículas define el tipo de textura y por ende la capacidad de almacenamiento de agua y la capacidad de retención del contenido de materia orgánica. Existen dos escalas de clasificación de texturas: la internacional y la americana, de las cuales esta última es la más utilizada y se le conoce como triángulo de texturas.

En la **Tabla 2** se observa la clasificación americana, y se especifica el porcentaje medio de los contenidos de las fracciones arena, limo y arcilla.

Las clases arcillosas y franco limosas son consideradas como óptimas para el cultivo de cacao (Smyth, 1967; Hardy, 1969; Wood y Lass, 1985) y según el Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA, 2016) las mejores condiciones para el cultivo del cacao en Colombia, las presentan los terrenos franco-arcilloso-arenosos, de textura: mediana (franco, franco-arcilloso, franco-arenoso): 30 a 40% de arcilla, 50% de arena y 10 a 20% de limo. No son recomendables suelos finos o muy gruesos, requiere suelos bien estructurados con porosidad de 10 a 66%, con buena retención de humedad, (Gómez-Aliaga et al., 2014; Arvelo et al., 2017).

El cultivo posee poca tolerancia a suelos arcillosos pesados debido a una baja aireación y filtración del agua. La fracción arcillosa de la mayoría de los suelos en los trópicos húmedos se compone de arcillas caoliníticas, de óxidos de hierro y de aluminio, las cuales proporcionan un medio físico ideal para el desarrollo de las raíces del cacao (Smyth, 1967).

Tabla 2. Tipos de suelos y texturas según la clasificación americana (USDA, 2014)

Tipo de suelo	Textura	Relación Arena-limo-arcilla (%)	Símbolo
Livianos	Arenoso	90-5-5	A
	Arenoso franco	80-15-5	aF
Medios	Franco arenoso	65-25-10	Fa
	Franco	40-40-20	F
	Franco limoso	20-65-15	FL
	Franco arcilloso arenosos	35-35-30	FAa
Pesados	Franco arcilloso	35-30-35	FA
	Franco arcillo limoso	10-35-55	FAL
	Limoso	10-85-5	L
	Arcillo arenoso	55-5-40	Aa
	Arcillo limoso	5-50-45	AL
	Arcilloso	10-20-60	A

Una característica importante en los suelos es el contenido total de materia orgánica, normalmente en un suelo típico se encuentra una fracción pequeña, solo alrededor del 3-5% en peso en su capa superficial. Su importancia radica en la función que desempeña en la mejora de las propiedades físicas y químicas del suelo y en el desarrollo de los cultivos. Ya que la materia orgánica influye en la retención de agua, así como en la estructuración y aireación del suelo y con ella se pueden interpretar aspectos

relacionados con la nutrición de las plantas y la actividad de los microorganismos del suelo.

Otros aspectos importantes relacionados con la calidad de los cultivos son el mecanismo de absorción por la planta, la liberación de micronutrientes, los antagonismos que puedan presentarse con otros nutrientes y la toxicidad para la planta y los frutos (Navarro y Navarro, 2003).

Para la cuantificación de la materia orgánica se analiza la oxidación del carbono orgánico contenido en el suelo, cuyo método de análisis se puede hacer por vía seca o por vía húmeda. De acuerdo a la disponibilidad del laboratorio de Edafología de la Universidad de Granada se utilizará el de vía húmeda según el método de Tyurin, modificación de Anné y éste del de Walkley-Black, que consiste en un método volumétrico de óxido-reducción por retroceso, en el que se oxida la materia orgánica del suelo con un oxidante en exceso ($\text{Cr}_2\text{O}_7\text{K}_2$, dicromato potásico) y posteriormente se valora la cantidad de dicromato reducido mediante sal de Mohr ($\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), (Marañes et al., 1998).

Adicionalmente, según Arvelo et al. (2017), en el cultivo de cacao tienen importancia propiedades químicas como:

- Acidez: Los suelos deben tener un pH de 6 a 7 y un contenido de materia orgánica mayor a 3%, con una relación carbono/nitrógeno (C/N) de 9 como mínimo.
- Capacidad de intercambio catiónico: Debe ser superior a 12 meq por 100 g de suelo en la superficie y más de 5 meq en el subsuelo.
- Fertilidad: Requiere suelos con una fertilidad media a alta, con un contenido de boro y calcio que supere a las 0.2 ppm, magnesio y potasio mayor a 2 y 0.24 meq por 100 g de suelo, respectivamente. La saturación de bases debe ser mayor a 35%.

1.3.2 Degradación de suelos productores de cacao

La calidad del suelo es difícil de definir conceptualmente ya que hay múltiples factores que intervienen para que un suelo tenga las características adecuadas según el tipo de cultivo y la productividad esperada, lo que para algunos cultivos es adecuado puede que genere reacciones adversas en las características físicas, químicas y biológicas de otros cultivos. Cuando por condiciones naturales o antrópicas se generan cambios en indicadores como la disponibilidad de nutrientes, carbono orgánico total, carbono orgánico lábil, pH, conductividad eléctrica, capacidad de adsorción de fosfatos, capacidad de intercambio de cationes, cambios en la materia orgánica, nitrógeno total y nitrógeno mineralizable esto afecta la relación suelo – planta (Bautista et al., 2004).

El cambio climático se considera como uno de los factores que afecta la productividad del suelo y contribuye a su degradación, otro factor son las acciones antrópicas, como el uso de prácticas agrícolas no sustentables que provocan erosión, sedimentación de ríos, pérdida de fuentes de agua y de cobertura vegetal y pérdida de biodiversidad (IICA, 2016). Estas problemáticas no solo afectan los suelos sino también la calidad de los frutos tanto por la deficiencia de nutrientes como por la contaminación con residuos de fungicidas y trazas de metales pesados.

La planta de cacao es un ser vivo que debe ser alimentado con macro y micro nutrientes para que se cumplan las funciones físico-químicas y biológicas de la planta. La deficiencia de algunos de los macro y micronutrientes influye directamente en el crecimiento vegetativo, floración, fructificación, vida útil de la planta y, principalmente, susceptibilidad frente al ataque de plagas y enfermedades, (Enríquez, 1985; Gómez-Aliaga et al., 2014).

La creciente demanda de cacao se ha visto afectada por el cambio climático y la edad de las plantaciones requiriéndose que los entes gubernamentales emitan políticas adecuadas de renovación de cultivos, apoyo tecnológico e incentivos a los productores de cacao (Vera et al., 2000; Voora et al., 2019).

1.3.3 Contaminación de los suelos y efectos sobre el cacao y el producto final

La demanda del cacao de parte de los países importadores y la legislación sanitaria, especialmente de Europa, han promovido que en América Latina los productores y entidades encargadas del fomento del cultivo del cacao enfoquen parte de sus recursos en mejorar la calidad e inocuidad de los granos, sobre todo en el contenido de metales pesados, cuyas trazas prevalecen en los productos derivados del cacao. Los metales pesados son elementos que tienen su origen en causas naturales o por actividades antropogénicas, derivadas estas últimas de los desechos industriales, emisión de gases de los automotores y las prácticas agronómicas (Aikpokpodion, 2012).

Barrientos et al. (2018), proponen realizar estudios que definan las características de algunos granos de cacao colombiano para clasificarlos como aromas especiales y sabores de cacao, mediante la evaluación de parámetros físicos, químicos y sensoriales, que servirían como base para certificaciones (designación de origen) y para estimular la comercialización en mercados especiales. Dentro de dichos estudios es necesario incluir en los suelos el contenido de metales pesados, entre los cuales la legislación europea hace énfasis en el contenido de cadmio (Cd) y plomo (Pb).

El Cd es un metal pesado que no posee funciones nutricionales ni fisiológicas en animales o humanos, en las especies vegetales su capacidad de acumulación de cantidades traza es muy diversa, encontrándose plantas llamadas fitoacumuladoras que toleran

grandes concentraciones de metales (Helvetas, 2018). Se encuentra en el medioambiente de forma natural raramente en estado puro, ya que suele presentarse asociado a minerales como cinc, cobre o plomo, por lo que es un subproducto inevitable en las actividades mineras relacionadas con estos metales (AESAN, 2018). Este metal pesado de origen natural, se acumula en el cuerpo y afecta principalmente a los riñones (Meter et al., 2019). La absorción del Cadmio en humanos es relativamente baja (3-5 %), pero es retenido en el riñón y el hígado; para el riñón, la toxicidad radica en la acumulación, especialmente, en las células tubulares proximales con posibles consecuencias de disfunción renal, y posterior desmineralización ósea. Los datos sobre la exposición humana al cadmio en la población general han sido estadísticamente asociados con un mayor riesgo de cáncer en el pulmón, endometrio, vejiga y mama (EFSA, 2011).

De acuerdo con Stasinou y Zabetakis (2013) los metales pesados tienen la capacidad de migrar del suelo contaminado a los tejidos vegetales, por lo cual este mineral no solo es biodisponible para las plantas del suelo y otros medios, sino que es tóxico para ellas mismas en concentraciones mucho más bajas que otros metales, como Zn, Pb, Cu, etc. Se ha observado que la fitotoxicidad depende de las especies de plantas, así como de la concentración de Cd en el medio (Adriano, 2001).

Según Argüello et al. (2019) las concentraciones de Cd en granos de cacao producidos en Ecuador aumentaron al aumentar el Cd total del suelo y al disminuir el pH del suelo. En Colombia los departamentos de Santander y Boyacá mostraron los valores más altos de Cd, Antioquia, Caquetá, Guaviare, Huila, Meta, Risaralda y Tolima presentaron concentraciones de $Cd \leq 2$ mg/kg. De forma general a nivel nacional se observó que el contenido de Cd en el suelo es muy variable, la concentración de este metal en las muestras de suelo osciló entre 0,01 mg/kg y 27 mg/kg (Bravo et al., 2021).

En un estudio realizado por Gil et al. (2022) determinaron como variables predictoras de la concentración de cadmio en granos de cacao la altitud de las fincas y la acidez intercambiable del suelo.

El grado de adsorción de cadmio en suelos venezolanos se relaciona con las diferencias texturales entre los mismos, la Capacidad de Intercambio Catiónico Efectiva (CICE), contenido de calcio, MO y pH ácido (Suarez et al., 2011).

En suelos cacaoteros de Norte de Santander, Arguello-Navarro et al. (2016) encontraron un porcentaje de materia orgánica que osciló entre 0.81 y 2.59 %, valor que según Rojo y Urbano (1992) es deficiente para este tipo de cultivo y lo mismo determinó para elementos como potasio, fósforo y magnesio en las muestras evaluadas.

Los cacaotales de las fincas estudio, se encuentran en terrenos topográficamente diferentes, las fincas productoras del Zulia en montaña y las de Tibú en terreno plano, entre los 200 y 1000 msnm, temperatura media anual de 26°C y una precipitación anual de 2000 mm, datos que corresponden a bosque húmedo tropical. Según Rojas y Sacristán (2009) el cultivo del cacao en Colombia se desarrolla mejor sobre los 400 a 800 msnm y una temperatura promedio entre 24 y 28°C, y una precipitación promedio anual entre los 1800 a 2600 mm, datos que también sugiere Zuidema et al. (2005).

Gardini et al. (2016) encuentran que el pH, % de arcilla y el Mg fueron las variables que tuvieron mayor correlación con la concentración de metales pesados en suelos productores de cacao. Alloway (2013) define como atributos de movilidad y disponibilidad de metales pesados en el suelo el pH, la materia orgánica, los óxidos de Fe y Mn y el contenido de arcilla. Otros factores a tener en cuenta son las interacciones en los diferentes elementos del suelo, entre ellos P y As, donde el As disminuye con un mayor valor de P (Violante y Pigna, 2002).

En un trabajo realizado por Bravo et al. (2021) en suelos colombianos productores de cacao, encontraron que las asociaciones más grandes (medidas por los coeficientes de correlación parciales) fueron entre Cd y Zn y en segundo lugar la correlación entre Cd y Ca.

Diversos estudios muestran que los suelos, hojas y granos del cultivo de cacao podrían presentar niveles altos de metales pesados (Crozier et al., 2012; Huamaní et al., 2012; Gardini et al., 2016; Lanza et al., 2016; Lewis et al., 2018; Intriago et al., 2019) impidiendo la exportación de este producto a la Unión Europea. Los metales pesados del suelo una vez disponibles, pueden ser absorbidos por la planta de cacao; sin embargo, su distribución en la planta y su acumulación es variable.

El cadmio, puede concentrarse en raíces, brotes, hojas o partes comestibles debido a la constitución grasosa de los granos (Augstburger et al., 2000; Rascio y Navari-Izzo, 2011) y por ende encontrarse en los productos elaborados como chocolates y demás productos derivados del cacao.

El reglamento de la UE (2014) establece diferentes niveles máximos permitidos de metales pesados, en productos específicos de cacao y chocolate los niveles de cadmio oscilan de 0,1 a 0,8 mg/kg de chocolate.

Los compradores utilizan límites en los granos de cacao para garantizar que los productos finales estén por debajo de los niveles máximos permitidos establecidos, 0.5 a 1.1 ppm, (Meter et al., 2019).

En Perú según datos nacionales que estimaron la exposición de cadmio a través del chocolate mostraron valores entre 0.005 a 0.39 $\mu\text{g}/\text{kg}$ por cada mes, valores que son inferiores a ingesta mensual tolerable provisional (IMTP) de 25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ lo que equivale del 0.02% al 1.6% de la IMTP (Helvetas, 2018).

1.3.4 Uso de carbones bioactivos en la mejora de los suelos

Para la recuperación de suelos de producción agrícola se han planteado diversas soluciones tecnológicas las cuales dependen en gran medida de la concientización y capacitación de los agricultores. Uno de los métodos son los abonos o enmiendas orgánicas obtenidos del proceso de descomposición y mineralización de residuos vegetales, animales e industriales, los cuales siguiendo protocolos adecuados ayudan a mejorar las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo, aumentando la producción de las plantas y a la vez controlando el pH, lo cual limita la absorción de metales pesados (Cervera-Mata et al., 2018; Arguello et al., 2019; Ramtahal et al., 2019; Islam et al., 2020).

Para la obtención de carbón activado se puede utilizar cualquier material orgánico (residuos agrícolas lignocelulósicos) que posea las siguientes características: alto contenido de carbono, fácil adquisición, ser económico, bajo contenido de cenizas y elevada capacidad de adsorción del producto final (Tsai et al., 1997).

También se han usado residuos industriales, como los resultantes de la elaboración de café a partir del grano molido y denominados spent coffee grounds (SCG), que tienen diferentes efectos sobre el sistema suelo-planta relacionados con la productividad de las plantas y con el contenido nutricional de los frutos.

Según la forma (compostaje o fresco) y la dosis que se suministre pueden mejorar o limitar los nutrientes de las plantas (Cruz et al., 2014; Cervera-Mata et al., 2017). Sin embargo, su uso está limitado por su naturaleza fitotóxica (Cervera-Mata et al., 2021).

Experimentalmente, los residuos de cáscara de coco y huesos de aceituna también han dado buenos resultados para la obtención de biocarbón (Ioannidou y Zabaniotou, 2007).

1.3.5 Remediación de suelos contaminados con cadmio

Para Al-Wabel et al. (2015) el uso de biocarbón de la madera del árbol *Concarpus* como enmienda del suelo para reducir la accesibilidad y absorción de metales pesados tuvo impactos sobre la inmovilización y disponibilidad de Fe, Mn, Zn, Cd, Cu y Pb en plantas de maíz, adicionalmente disminuyó significativamente la densidad aparente y aumentó el contenido de humedad del suelo. Su aplicación redujo significativamente las concentraciones de metales pesados extraíbles con NH_4OAc ó AB-DTPA en los suelos, lo que indica la inmovilización del metal.

Caso contrario sucedió en un ensayo realizado por Brunetti et al. (2019) en un cultivo de tomate donde encontró que el Cd disponible aumentó significativamente con respecto al suelo control con la aplicación de la dosis más alta de dos composts obtenidos mezclando lodos de depuradora o la fracción orgánica de residuos sólidos municipales y residuos de poda de orujo de uva y aceitunas.

Ramtahal et al. (2019) realizaron enmiendas usando biochar y cal en suelos productores de cacao, encontrando que estos dos productos son complementarios en su acción y pueden usarse para reducir la bioacumulación de Cd. Sin embargo, los autores sugieren más estudios para mejorar su eficacia en condiciones de campo.

Durante la producción cacaotera solo se aprovecha industrialmente la semilla, la cual representa aproximadamente un 10% del peso del fruto fresco, el restante corresponde a la cáscara, generándose un alto porcentaje de desechos, que por su composición se consideran un foco para la propagación de enfermedades por hongos con la consecuente pérdida económica para el agricultor (López et al., 1984; Castillo et al., 2018). En este estudio, para darle un uso diferente a este subproducto, se optó por usar la corteza de la mazorca de cacao para elaborar biocarbón y utilizarlo como enmienda para determinar su capacidad para reducir la contaminación de los suelos con cadmio.

En un estudio sobre el contexto de la producción, comercialización y un diagnóstico de la problemática del cacao en Colombia, Cely (2017) concluyó que el cultivo de cacao se ha convertido en una alternativa de sustitución y política del postconflicto para la erradicación de los cultivos ilícitos.

Lo anterior unido a ventajas comparativas como la ubicación geográfica, la multifuncionalidad, la innovación del producto y las grandes posibilidades de su inserción en los mercados internacionales permite la mejora en la estabilidad económica de la región del Catatumbo en Norte de Santander, Colombia, zona que durante años ha sido azotada por la violencia y el narcotráfico.

2. OBJETIVOS

2.1 GENERAL

El objetivo general de esta tesis doctoral consistió en la evaluación de la calidad funcional, bromatológica y sensorial de los granos de cacao (*Theobroma cacao* L.) producido en dos regiones de Norte de Santander (N de S), Colombia, tras los procesos de fermentación, secado y tostado. Así como determinar las características del suelo y el cumplimiento de los niveles de metales tóxicos como cadmio, de tal forma que productores, procesadores y entes gubernamentales puedan realizar acciones de mejora en las operaciones del proceso y en las políticas de asistencia técnica.

2.2 ESPECIFICOS

Los objetivos específicos de esta tesis doctoral son los siguientes:

1. Determinar las características bromatológicas de los granos de cacao cultivados en las regiones de El Zulia y Tibú.
2. Identificar las características funcionales de los granos de cacao seco estudiados.
3. Determinar la calidad sensorial de los licores de cacao obtenidos de los granos de cacao tostados seleccionados.
4. Evaluar las características de los suelos de las regiones donde se produce el cacao objeto de estudio en N de S.
5. Evaluar el cumplimiento de los niveles máximos de cadmio en los suelos de las dos regiones de N de S y en los granos de cacao de los clones analizados.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. MATERIALES

3.1.1 Muestras

Para alcanzar los objetivos planteados en esta Tesis Doctoral se tomaron como muestras de los granos de cacao fermentados y secos y el chocolate ya elaborado y los suelos donde se cultiva el cacao. Adicionalmente se evaluó el contenido de cadmio en las hojas de los árboles productores y en la cascarilla de los granos de cacao.

Cacao y chocolate

Las muestras de cacao fermentado y seco utilizadas se recolectaron de las dos cosechas del año 2019 de dos zonas rurales, una ubicada en el municipio de El Zulia (**Figura 9**) y la otra en el municipio de Tibú (Colombia). Las muestras de las dos cosechas se unieron para que fueran más representativas y porque es lo usual que hace el productor de cacao para su comercialización. Las barras de chocolate fueron elaboradas por la empresa Somos Cacao SAS ubicada en el municipio de Cúcuta (Colombia).

Las muestras de los granos de cacao, las hojas de los árboles y el chocolate en barra fueron transportados desde Colombia hacia los laboratorios del Centro de Investigación Biomédica (CIBM) y el departamento de Edafología y Química Agrícola de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Granada (España).

Las muestras de granos de cacao pertenecían a la variedad “forastero” (*Theobroma cacao* spp. *Spherocarpum*). Para cada muestra se tomó al azar, en cada zona, 1 kg de cacao fermentado y secado al sol. Posteriormente, los granos de cacao se clasificaron para eliminar los granos dañados o con fallos o defectos.



Figura 9. Muestra de cacao procedente de la Finca Porvenir (Somos Cacao), ubicada en El Zulia, Norte de Santander, Colombia

Para la evaluación sensorial en el laboratorio de Fedecacao en Colombia, se tomaron 8 muestras de granos de cacao, dos de Tibú y 6 de Zulia, cada una de 1 kg.

Para los demás ensayos se procesaron los granos de cacao para obtener cacao en polvo, que luego se congeló para su procesamiento en los laboratorios del Centro de Investigación Biomédica (CIBM) de la Universidad de Granada (España). La adecuación del cacao en grano incluyó una etapa de tostado, que se llevó a cabo a diferentes temperaturas durante 30 minutos: 50, 70, 90 y 120°C. En consecuencia, las muestras de cacao incluyeron 4 muestras de cacao crudo o sin tostar (2 para cada ubicación) y 4 muestras tostadas para cada temperatura de tostado (todas las muestras se analizaron por duplicado).

Las nueve muestras de chocolates diferentes (8 negros y 1 mezclado con leche) fueron fabricadas por la empresa Somos Cacao SAS con un contenido de sólidos de cacao o contenido de cacao, según la etiqueta, estaban en el rango de 40 a 80%.

Suelos

Las muestras de suelo agrícola usadas para este estudio fueron recolectadas a profundidad de 10-20 cm (capa arable), en las dos cosechas del año 2019. La toma de estas muestras se realizó al azar en forma de zigzag dentro de cada plantación y cada muestra estuvo constituida por un kg de mezcla de suelos en la mencionada profundidad.



Figura 10. A) Fincas El Porvenir, Rosa Blanca, Los Mangos, Palmira, Esperanza, localizada en la vereda de Pan de Azúcar y Brisas de Río Nuevo, Municipio de El Zulia (Latitud N: $8^{\circ}1'34.83038''$ y Longitud O: $72^{\circ}42'9.11078''$). B) Finca La Esperanza, localizada en la vereda de Campo Tres, Municipio de Tibú (Latitud N: $8^{\circ}29'55''$ y Longitud O: $72^{\circ}42'11''$); (Google Maps)

El suelo agrícola de Tibú es un suelo llano, a la orilla del río Tibú y los suelos del El Zulia son de fincas ubicadas en la ladera de montaña (**Figura 10**).

Las muestras de suelos fueron llevadas al laboratorio, allí fueron extendidas y secadas al aire (**Figura 11**). Transcurridas dos semanas, los suelos fueron disgregados con un rodillo de madera y pasados por tamiz de 2 mm para seleccionar la fracción “tierra fina”.



Figura 11. Acondicionamiento de los suelos

El análisis de las propiedades físicas y químicas del suelo fue realizado en el laboratorio de Edafología y Química Agrícola de la facultad de Farmacia de la Universidad de Granada, España, siguiendo los métodos de análisis de suelos de la Sociedad Americana de Agronomía y la Sociedad de Ciencias del Suelo de América (Soil Survey Staff, 2014).

Biochar

En la presente tesis doctoral, para el ensayo de remediación de los suelos y observar la influencia de los SCG (posos de café) sobre las propiedades del suelo y la remediación del cadmio, se utilizaron dos tipologías distintas de residuo, SCG recogidos de la cafetería de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Granada, los cuales posteriormente se

extendieron y se secaron al aire. Un segundo tipo de residuo, Biochar de SCG (SCGchar), fue obtenido por pirólisis en un horno pirolítico (Navertherm GmbH, Alemania) a 400°C durante 30 min (Kim et al., 2014). Los SCG y SCGchar se obtuvieron de la investigación realizada por Cervera Mata et al. (2017). El tercer residuo (Cacaochar) fue obtenido a partir de la corteza de la mazorca de cacao, la cual se cortó en trozos de 4x4 cm, se secó a 50°C durante 24 horas y se transportó al laboratorio de Edafología y Química Agrícola de la facultad de Farmacia de la Universidad de Granada, España, donde se sometió a pirólisis en un horno pirolítico (Navertherm GmbH, Alemania) a 400°C durante 30 min (Kim et al., 2014). En la **Figura 12** se muestra de forma esquemática la elaboración del bio carbón a partir de la corteza de la mazorca del cacao (Cacao_{char}).



Figura 12. Procedimiento para la obtención de Cacao_{char}

Las muestras de granos de cacao pertenecían a la variedad “forastero” (*Theobroma cacao* spp. *Spherocarpum*), para cada muestra, se tomó al azar, en cada zona, 1 kg de cacao fermentado y secado al sol. Posteriormente, los granos de cacao se clasificaron para eliminar los granos defectuosos, mohosos, pizarrosos, germinados o dañados por insectos

(NTC 1252, 2021). A los granos secos se les quito la cascarilla y posteriormente se molieron. La cascarilla obtenida fue molida y se guardo para posteriores análisis.

Para realizar el análisis foliar se seleccionaron 4 plantas productoras de cacao, en tres sitios estratégicos de cada zona de estudio (Zulia y Tibú), de esas plantas se tomaron al azar dos hojas, para un total de 24 hojas por zona. Las hojas seleccionadas fueron colocadas en bolsas, rotuladas y trasladadas desde Colombia hasta el laboratorio de Edafología en la Universidad de Granada (España). En el laboratorio las hojas se secaron y molieron.

3.1.2. Reactivos

Reactivos relacionados con el análisis del cacao

Los reactivos trolox (ácido ((±)-6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico), 2,4,6-Tri (2-piridil)-s-triazina (TPTZ), ácido gálico, acético ácido, ácido propiónico, ácido butírico, reactivo de Folin-Ciocalteu, hidróxido de sodio, ácido clorhídrico, cloruro férrico hexahidrato, ferrocianuro de potasio, acetato de zinc, acetato de sodio, cloruro de potasio, dihidrógeno fosfato de potasio, monohidrógeno carbonato de sodio, cloruro de sodio, cloruro de magnesio hexahidratado, carbonato de amonio, cloruro de calcio dihidrato, dihidrógeno fosfato de sodio, triptona, cisteína, sulfuro de sodio, resazurina, α -amilasa salival, pepsina porcina, ácidos biliares (extracto de bilis porcina), pancreatina, ácido fórmico, ácido acético, ácido propiónico, ácido butírico y etanol se obtubieron de Sigma-Aldrich (Darmstadt, Alemania).

Reactivos relacionados con el análisis de los suelos productores de cacao

Éter de Petróleo, agua desionizada, hexano, agua MilliQ, ácido acético, ácido sulfúrico al 96%, solución catalizadora (H_2SO_4-Se), K_2SO_4 , selenio en polvo, solución de hidróxido de sodio, Solución de H_2SO_4 0,005N, ácido clorhídrico, DTPA, ácido nítrico, ácido perclórico al 65%, ácido sulfúrico y agua oxigenada se obtubieron de Sigma-Aldrich (Darmstadt, Alemania).

3.2 MÉTODOS

3.2.1 Métodos relacionados con el valor nutricional y bioactividad del cacao

En la **Figura 13** se hace un resumen de los métodos relacionados con el valor nutricional y con la bioactividad del cacao, posteriormente se describe cada uno de ellos.



Figura 13. Esquema metodológico de análisis de los granos de cacao producidos en Zulia y Tibú

Propiedades físicas y químicas del cacao

El análisis de las propiedades físicas y químicas de los granos de cacao se llevó a cabo usando métodos internacionales oficiales y consistió en la determinación de humedad A.O.A.C 970.15 (2007), cenizas (AOAC 972.15, 2002), y contenido de grasa (manteca de cacao) (AOAC 963.15, 2002).

En el caso de la evaluación sensorial se aplicó la norma técnica colombiana NTC 3929 de 2009.

- ***Humedad***

El contenido de humedad se cuantificó utilizando el método A.O.A.C 970.15 (2007) con algunas modificaciones adaptadas a condiciones del laboratorio.

- ***pH***

El pH se determinó a partir del extracto obtenido de los granos molidos utilizando el método propuesto por Espin y Samaniego, 2016.

- ***Conductividad***

La conductividad eléctrica fue medida a 25°C en un extracto soluble en agua 1:5 (p/v), mediante un conductímetro marca Crison.

- ***Ceniza***

El contenido de ceniza se cuantificó utilizando el método AOAC 972.15 (2002) con algunas modificaciones adaptadas a condiciones del laboratorio.

El porcentaje de cenizas (%p/P) se calculó mediante la ecuación 1:

$$\% \text{ cenizas} = \frac{C_2 - C_0}{C_1} \times 100$$

C₀: Peso del crisol previamente tarado y marcado

C₁: Peso del crisol previamente tarado y marcado con la muestra

C₂: Peso del crisol con la muestra calcinada

- ***Grasa***

La materia grasa (manteca) del polvo de cacao fue extraída con Éter de Petróleo mediante extracción continua con Soxhlet utilizando el método A.O.A.C. 920.157 adaptado por Spin y Samaniego, (2016).

- ***Proteína***

El contenido de proteína se realizó utilizando el método A.O.A.C 970.22 (2012) con algunas modificaciones adaptadas a condiciones del laboratorio.

El nitrógeno se determinó por el método de Kjeldahl y el porcentaje de nitrógeno se convirtió en proteína cruda multiplicándolo por el factor de 6,25.

- ***Elementos minerales***

Se mineralizó 1,0 g de polvo fino de cacao mediante ataque con 15 ml de una mezcla de HNO₃, HClO₄ y H₂SO₄ en proporción de 5:1:1, dejando macerar toda una noche. Al día siguiente se calienta la mezcla a 80°C durante 3 horas, adicionando posteriormente 20 ml de agua oxigenada y calentando a 80°C durante otras 3 horas. Al finalizar, la solución obtenida era transparente.

Tras enfriar la muestra se filtró en embudos con fibra de vidrio o papel filtro de fibra de vidrio y se diluyó hasta 50 ml con agua destilada en tubos falcón. Este tratamiento se realizó tanto para los granos de cacao como para las hojas de las plantas productoras de cacao y la cascarilla del grano.

La determinación de las concentraciones totales de elementos esenciales (Ca, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na, P, S y Zn) y tóxicos (Al, As, Ni y Pb) se realizaron con un instrumento espectrómetro de masas ICP-MS (Agilent 7500, Agilent Technologies, Tokio, Japón) equipado con un nebulizador tipo Meinhard (Glass Expansion, Romainmotier, Suiza) y equipado con una celda de colisión de He. El Cd en el cacao en polvo, hojas y cascarilla se determinó en los filtrados obtenidos, mediante espectrofotometría de absorción atómica (Varian SpectraA, 140, Mulgrave, Victoria, Australia).

- ***Evaluación sensorial***

El análisis sensorial del cacao se realizó utilizando un panel de catadores seleccionados y entrenados para dicha evaluación en el laboratorio de San Vicente de Chucurí de Fedecacao (Colombia).

A los granos se les aplicó prueba de corte y defectos en 100 granos, según la NTC 1252 (Icontec, 2012).

Posteriormente se preparó el licor de cacao, para lo cual los granos se tostaron a 120°C durante 20 minutos, se descascarillaron y molieron hasta obtener el licor.

La evaluación se realizó aplicando la metodología perfil del sabor según la NTC 3929 de 2009 (Icontec, 2009), donde se calificaron los sabores básicos (cacao, acidez, astringencia y amargor), los sabores específicos (fruta fresca, fruta seca, floral, nuez y dulce) y los sabores adquiridos (verde, humedad y otros) para obtener una calificación global. En la **Tabla 3** se estableció la codificación para la identificación de las muestras que fueron utilizadas para la realización del análisis sensorial.

Tabla 3. Identificación de las fincas de origen de los granos de cacao estudiados

Código	Finca de obtención de la muestra de cacao	Municipio
882	La Esperanza	Tibú
662	La Esperanza	Tibú
911	La Esperanza	Zulia
752	Los Mangos	Zulia
231	Porvenir, Palmira, La Esperanza, Rosa Blanca- Municipio del Zulia (mezcla de granos)	Zulia
754	Palmira	Zulia
737	Porvenir	Zulia
122	Rosa Blanca	Zulia

Bioactividad del cacao

- ***Digestión gastrointestinal in vitro***

La digestión gastrointestinal *in vitro* se realizó según el protocolo descrito por Brodkorb et al. (2019). Se mezclaron cinco gramos de cacao en polvo (1:1 p/v) con 5 mL de solución salival simulada que contenía 150 U/mL de α -amilasa y se mantuvo a 37°C en oscilación durante 2 minutos.

Luego, se agregaron 10 mL de solución gástrica simulada con 4000 U/mL y se ajustó el pH a 3. La mezcla se mantuvo a 37°C en oscilación durante 2 horas. Finalmente, se agregaron 20 mL de solución intestinal simulada con 200 U/mL de pancreatina y una concentración de sales biliares de 20 mM y se ajustó el pH a 7. La mezcla se mantuvo a 37°C en oscilación durante 2 horas. La digestión se detuvo sumergiendo los tubos en hielo durante 15 minutos.

Posteriormente se centrifugaron los tubos a 3500 g durante 10 minutos y se tomaron alícuotas del sobrenadante y se almacenaron a -80°C hasta su posterior análisis.

El residuo sólido, que representa la fracción que llega al intestino grueso, se utilizó para la fermentación microbiana intestinal *in vitro*.

- ***Fermentación microbiana intestinal in vitro.***

La fermentación microbiana intestinal *in vitro* se realizó de acuerdo con el protocolo descrito por Pérez-Burillo et al. (2018). Brevemente, las heces se recolectaron la mañana del experimento de 4 voluntarios sanos, los cuales tenían un IMC promedio de 22,6, sin antecedentes de enfermedad intestinal, no habían tomado antibióticos durante al menos los 6 meses anteriores y no tomaban probióticos ni prebióticos.

Las heces de los 4 voluntarios se combinaron para minimizar la variabilidad interindividual.

El inóculo fecal se obtuvo agregando tampón fosfato 0.1 M a pH 7 a la materia fecal para obtener un inóculo al 32% (p/v). El medio de fermentación estaba compuesto por peptona (14 g/L) a pH 7, 0.312 g de cisteína y 0.312 de sulfuro de hidrógeno.

Se pesaron 0.5 g de residuo no digerido en tubos y se agregaron 7.5 mL de medio de fermentación. Finalmente, se agregaron 2 mL de inóculo fecal a cada tubo.

Todo el proceso se llevó a cabo dentro de una cámara anaeróbica manteniendo la concentración de gas en 80% N₂, 16% CO₂ y 4% H₂. Los tubos se incubaron a 37°C durante 20 horas en oscilación. La fermentación se detuvo por inmersión en hielo, se tomaron alícuotas y se almacenaron a -80°C hasta su posterior análisis.

Ensayos de capacidad antioxidante

- ***Ensayo FRAP***

La capacidad reductora de las muestras digeridas y fermentadas se midió según el procedimiento descrito por Benzie & Strain (1996) y se adaptó a un lector de microplacas (FLUOStar Omega, BMG Labtech, Alemania). En resumen, cada pocillo de una placa de plástico de 96 pocillos contenía 280 µL de reactivo FRAP y 20 µL de muestra. El reactivo FRAP estaba compuesto por 25 mL de tampón de acetato de sodio 0.3 mM pH 3.6, 2.5 mL de una solución 10 mM de 2,4,6-tri (2-piridil)-s-triazina (TPTZ) disuelta en HCl 40 mM y 2.5 mL de solución de cloruro férrico 20 mM. Se tomaron lecturas de absorbancia cada 60 segundos durante 30 minutos a 595 nm. Se preparó una curva de calibración con Trolox en el rango de 0.01-0.4 mg/mL. Los resultados se expresaron como equivalentes en mmol de Trolox/kg de muestra.

- ***Ensayo DPPH***

La actividad antirradicalaria de las muestras digeridas y fermentadas se midió de acuerdo con el procedimiento descrito en Navajas-Porras et al. (2020). Brevemente, se

mezclaron 280 μL de solución de DPPH (7,4 mg/100 mL de metanol) con 20 μL de muestra en un Placa de plástico de 96 pocillos. Se tomaron lecturas de absorbancia cada 60 segundos durante 60 minutos a 515 nm. Se utilizó un lector de microplacas FLUOStar Omega (BMG Labtech, Alemania). Se preparó una curva de calibración con Trolox en el rango de 0.01-0.4 mg/mL. Los resultados se expresaron como equivalentes en mmol de Trolox/kg de muestra.

- ***Ensayo de Folin-Ciocalteu***

El ensayo de Folin-Ciocalteu se llevó a cabo como se describe en Singleton & Rossi (1965) adaptado a un lector de microplacas (FLUOStar Omega, BMG Labtech, Alemania). En resumen, en una placa de plástico de 96 pocillos, se mezclaron 15 μL de reactivo de Folin-Ciocalteu con 60 μL de carbonato de sodio (10%), 195 μL de agua milli-Q y 30 μL de muestra. Se tomaron lecturas de absorbancia cada 60 segundos durante 60 minutos a 765 nm. Se preparó una curva de calibración con ácido gálico en el rango de 10-100 mg/L. Los resultados se expresaron en mg equivalentes de ácido gálico/kg de muestra.

Análisis de 5-hidroximetilfurfural (HMF) y furfural

El análisis de HMF se realizó como en Rufián-Henares et al. (2017). Se suspendieron muestras de cacao en polvo y chocolate en agua milli-Q y se clarificaron con Carrez I (ferrocianuro de potasio, 15% p/v) y Carrez II (acetato de zinc 30% p/v) soluciones.

El sobrenadante resultante se filtró a través de un filtro de nailon de 0,22 μm . El filtrado se inyectó en el sistema de HPLC (Accela 600, Thermo Scientific, USA).

El sistema de HPLC estaba compuesto por un detector PDA, un multisampler y una bomba cuaternaria. Se utilizó una columna RP C18.

Como fase móvil se utilizó acetonitrilo al 5% en agua. El caudal fue de 1 mL/min y la longitud de onda fue de 284 nm. Los resultados se expresaron como mg/kg de muestra.

Análisis de ácidos grasos de cadena corta

Los ácidos grasos de cadena corta se analizaron como en Pérez-Burillo et al. (2020). El sobrenadante de la fermentación *in vitro* se filtró a través de un filtro de nailon de 0,22 μm y se inyectó en el sistema HPLC (Accela 600, Thermo Scientific, USA).

El sistema de HPLC estaba compuesto por un detector PDA, un multisampler y una bomba cuaternaria. El detector se fijó a 210 nm; la fase móvil utilizada fue agua mili-Q con 1% de ácido fórmico acetonitrilo con 1% de ácido fórmico a una velocidad de 99: 1 v/v administrada a una velocidad de flujo de 1,25 mL/min.

La columna utilizada fue una fase reversa Aquasil C₁₈ (Thermo Scientific, USA) (150 x 4,6 mm, 5 μm), con un tiempo de ejecución total de 30 min.

Se realizaron curvas de calibración con acetato, propionato y butirato estándar en un intervalo de concentración de 10-0,01 mM. Los resultados se expresaron en mM.

Secuenciación de amplicones de ARNr 16S y análisis bioinformático

La extracción de ADN de los residuos sólidos derivados del proceso de fermentación se realizó mediante una plataforma MagNA Pure LC JE379 (Roche) y el DNA Isolation Kit III, con una lisis inicial con lisozima a 0,1 mg/mL. Se utilizaron 12 ng de ADN genómico microbiano como molde para la amplificación de la región hipervariable V3-V4 del gen de ARNr 16S, siguiendo el protocolo de Illumina para la preparación de la biblioteca de secuenciación metagenómica 16S (Cod. 15044223 Rev. A). Los cebadores de PCR fueron los descritos por Klindworth et al. (2013) con el cebador directo (5'-TCGT CGGC AGCG TCAG ATGT GTAT AAGA GACA GCCT ACGG GNGG CWGCA-G3') y el cebador inverso (5'-GTCT CGTG GGCT CGGA GATG TGTA TAAG AGAC AGGA CTAC HVGG GTAT CTAA TCC3').

Los cebadores contenían secuencias de adaptadores para hacerlos compatibles con el kit Illumina Nextera XT Index. Las bibliotecas de amplicones se agruparon y secuenciaron en un secuenciador Illumina MiSeq en una serie de 2 × 300 ciclos de pares de extremos (kit de reactivos MiSeq v3).

Se empleó el paquete DADA2 (v1.8.0) 30 de R (v3.6.0) para el procesamiento de secuencias y la unión de lectura, así como para la generación y anotación de variantes de secuencia de amplicones (ASV). Los parámetros de filtrado y recorte fueron los siguientes: maxN = 0, maxEE = c (2,5), truncQ = 0, trimLeft = c (17,21), truncLen = c (270,220) y rm.phix = TRUE. Se requirió un solapamiento mínimo de 15 nucleótidos y un desajuste máximo de 1 para la fusión de las lecturas de secuenciación directa e inversa. Se empleó Bowtie (Langmead y Salzberg, 2012) para alinear las lecturas con el genoma humano (GRCh38.p11) y se descartaron las coincidencias. Las secuencias con un 100% de similitud se agruparon en ASV que se anotaron taxonómicamente mediante la comparación con la base de datos de referencia SILVA (Quast et al., 2013) (v1.12).

3.2.2 Métodos relacionados con la producción del cacao

Las muestras de suelo eran de la capa cultivable (0-20 cm) de un suelo agrícola de El Zulia y Tibú (Norte de Santander, Colombia), típico de clima cálido húmedo y super húmedo (IGAC, 2017). Los métodos de análisis de suelos fueron extraídos de los métodos de análisis de suelos de la Sociedad Estadounidense de Agronomía y Ciencia del Suelo (Soil Survey Staff, 2014) y de los métodos oficiales de análisis del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (Spanish MAPA, 1994).

Análisis físicos

Las muestras de suelo llevadas al laboratorio fueron y extendidas para su secado al aire. Transcurridas dos semanas, los suelos fueron disgregados con un rodillo de madera y tamizados a 2 mm para seleccionar la fracción “tierra fina”.

Esta fracción tierra fina (<2 mm), se emplea para la elaboración de los microcosmos edáficos. Esto se realiza para hacer comparativos los análisis obtenidos con los de la bibliografía sobre suelos.

La fracción de grava real se calculó limpiando la fracción del rechazo del tamiz de 2 mm bajo un chorro de agua, eliminado de esa manera los agregados de suelo muy compactos.

Para el análisis de la materia orgánica y la mineralogía con difracción de rayos X, una fracción de las muestras de suelo fue molida con mortero de ágata.

- *Granulometría*

Tras la preparación de las muestras se procedió a calcular la composición elemental de las muestras de suelos de las parcelas de producción ubicadas en El Zulia y en Tibú.

Para ello se realizó la determinación de la textura y granulometría del suelo con el densímetro de Bouyoucos (determinación de la densidad de la solución tras distintos tiempos de sedimentación), usando polifosfato sódico como agente dispersante.

La separación de fracciones se llevó a cabo por Método de la pipeta de Robinson (Loveland and Whalley, 1991), posteriormente, mediante el método del triángulo textural según el tamaño de las partículas, se determinó la clase textural específica de cada muestra (USDA, 1971).

- ***Clasificación de agregados por tamaño***

La clasificación de los agregados por tamaño se realizó con tamices de 250 y 1000 μm , diferenciando entre macroagregados ($> 1000 \mu\text{m}$), mesoagregados (1000-250 μm) y microagregados ($<250 \mu\text{m}$).

- ***Retención de agua***

La retención de agua a -33 kPa (capacidad de campo) y -1500 kPa (punto de marchitamiento permanente) se calcularon mediante el método de la membrana de Richards.

Análisis químicos y fisicoquímicos de los suelos

- ***Determinación de Carbono orgánico (Método de Tyurin)***

Se determinó mediante el método de Tyurin (oxidación caliente en presencia de $K_2Cr_2O_7$ por vía húmeda) y mediante combustión con un analizador Truspec CN (LECO Corporation, Saint Joseph, MI, USA).

- ***Nitrógeno total***

El nitrógeno total se determinó por el método de Kjeldahl, realizado en dos partes. Una primera parte que consistió en el ataque o la destrucción de la materia orgánica y la segunda fase en la valoración del NH_3 con ácido sulfúrico diluido, en presencia de fenolftaleína como indicador (método volumétrico de neutralización ácido-base).

- ***Fósforo asimilable***

Fue determinado mediante el método de OlsenWatanable: extracción del P con bicarbonato sódico y determinación mediante colorimetría mediante desarrollo de color azul (complejo fosfomolibdico).

El color se midió a una longitud de onda de 825 nm con un espectrofotómetro Helios Alpha (Thermo Fisher Scientific, USA). Método extractado de Porta et al. (1986), con ligeras modificaciones.

- ***Potasio asimilable***

El potasio disponible se extrajo con acetato de amonio 1 N (pH = 7) (Sadzawka, 1990) y se determinó con un fotómetro de llama PFP7 (Jenway, Staffordshire, Reino Unido).

- ***Elementos minerales***

Se analizaron los contenidos de microelementos en el suelo, extraíbles con DTPA, se determinaron mediante el método de Lindsay y Norvell (1978) con un espectroscopio de emisión por plasma de acoplamiento inductivo (ICP-OES) Perkin-Elmer Optima 8300.

- ***Determinación del pH***

Se realizó en un pH-metro marca Crison, con electrodo de vidrio. El pH del suelo se midió en 1:2.5 (p/p) de suspensión suelo-agua, previa calibración del aparato con patrones de pH conocido.

- ***Conductividad eléctrica***

Se midió a 25°C en el extracto 1:5 (p/p) de la suspensión en agua (Porta et al., 1986). La conductividad eléctrica se determinó con un conductímetro marca Crison.

Bases de cambio

Capacidad de intercambio catiónico (CIC)

En torres de percolación, se obtuvo mediante el método del acetato de amonio (pH 7) y el método del cloruro de sodio, y luego las concentraciones se determinaron utilizando un fotómetro de llama PFP7 (Jenway, Staffordshire, Reino Unido).

Las CIC se determinaron sobre la misma muestra y de forma sucesiva, según la metodología recomendada por el Servicio de Conservación de Suelos del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (SCS-USDA, 1972).

Análisis mineralógico

- ***Difracción de rayos X (DRX)***

El análisis mineralógico de la tierra fina (<2 mm) y de la fracción arcilla (< 2 μm), se realizó por difracción de rayos X (DRX), empleando el método de polvo cristalino. En el caso de la tierra fina se emplearon portamuestras de carga frontal, pero empleando una técnica de carga lateral para asegurar la desorientación de las partículas de polvo cristalino. La determinación de la arcilla se realizó en muestras de agregado orientado. Para diferenciar la caolinita y las fases de arcillas expandibles, las muestras se calentaron a 500°C en estufa y se solvataron con etilenglicol a 50°C. El porcentaje de los contenidos minerales fue estimado empleando los factores reflectantes recogidos por Delgado et al. (1982).

Las muestras pulverizadas se montaron en un portamuestra de aluminio mediante la técnica de llenado frontal. La toma de datos se realizó en un difractor compacto de Rayos X (Rigaku Miniflex), obteniéndose los diagramas de difracción de rayos X de

tres muestras de cada suelo estudiado y en las fracciones de grava fina, tierra fina y arcilla orientada.

Posteriormente se utilizó un método mineralógico semicuantitativo para la caracterización de las muestras, por medio de la comparación de los patrones de difracción obtenidos con las fichas ASTM, las cuales son una colección de diagramas de rayos X de muestras monofásicas en forma de tablas que contienen información del compuesto (Vindel., 2021). Para lo anterior se realizó una comparación de la posición de los picos con la de la ficha ASTM para la identificación de los minerales que componen cada fracción de suelo. A cada mineral se le asignó una o varias cruces según sus contenidos en la muestra.

Elementos minerales

Los iones minerales fueron determinados por espectroscopía de emisión por plasma de acoplamiento inductivo (ICP-OES) en un equipo Perkin-Elmer Optima 8300 en el Centro de Instrumentación Científica de la Universidad de Granada.

- ***Cadmio***

La cuantificación de Cd se realizó por espectroscopía y se realizó en el laboratorio de Absorción Atómica y Liofilización (AASLIO) de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Granada (España). La **Figura 14** muestra el esquema gráfico de los diferentes análisis realizados a los suelos de las regiones cacaoteras estudiadas.

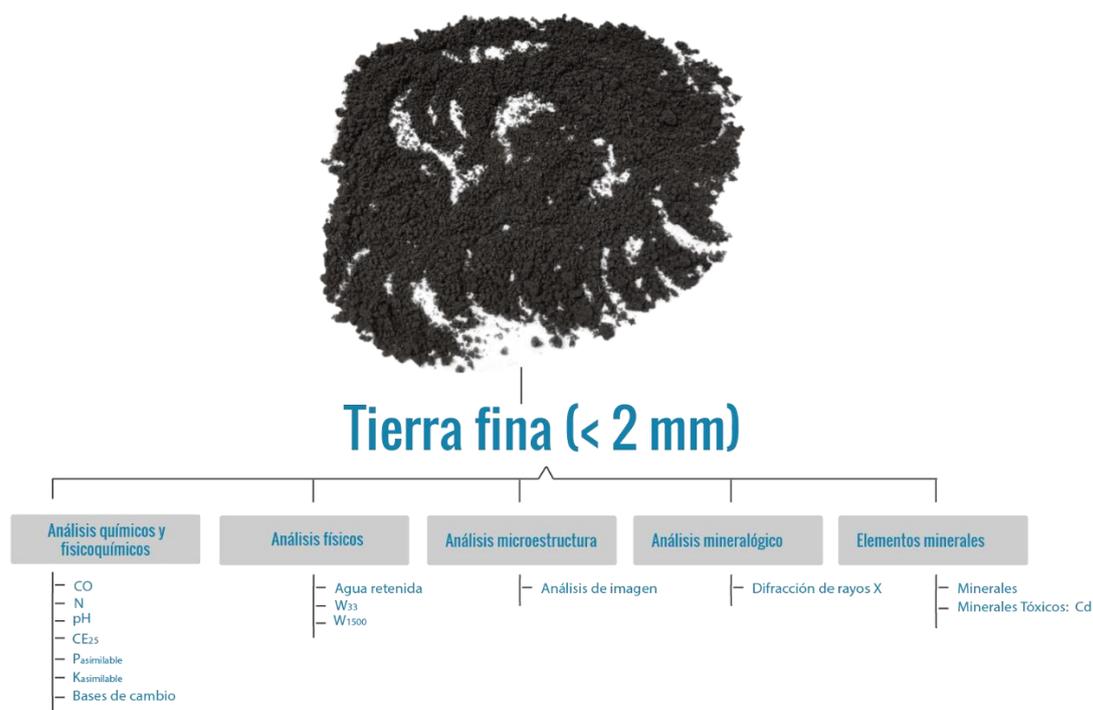


Figura 14. Esquema metodológico de análisis de los suelos

Ensayo de remediación del cadmio de los suelos estudiados

Se realizó el diseño experimental donde se especifica el número de repeticiones, los suelos empleados, las dosis, los tiempos de muestreo, etc., (**Anexo 1**). Se partió de la cantidad de suelo productor de cacao seco y tamizado (Zulia y Tibú) que se tenía en el laboratorio y según los biocarbones (SCG, SCG_{char} y Cacao_{char}) con los cuales se iba a realizar el proceso de remediación.

Se calcularon las dosis de bio carbón a añadir a cada bote plástico (capacidad de 200 g), para obtener muestras de cada suelo con el residuo en concentraciones de 0,5 (0,2 g compuesto/40 g de suelo), 10 (0,4 g compuesto/40 g de suelo) y 15 (0,6 g compuesto/40 g de suelo) %, con 5 repeticiones, tres tiempos de análisis de muestras 0, 45 y 90 días y muestras control (0 días y 0% residuo). Los análisis realizados sobre las muestras finales

del ensayo se recogen en la **Figura 15**, correspondiente al esquema metodológico. Se analizaron propiedades químicas y fisicoquímicas del suelo, así como determinación de cadmio por extracción con DTPA.



Figura 15. Diseño experimental para la remediación del cadmio en cámara climática, simulando condiciones de la zona de producción (día/noche)

Para cada concentración se preparó primero toda la mezcla (suelo+residuo), se mezclaron completamente con el suelo y luego se repartieron en submuestras en cada bote plástico con tapa horadada para la inyección de agua y fueron numerados. Posteriormente las muestras se incubaron en una cámara con condiciones controladas, simulando las condiciones tropicales originarias de los suelos, con una humedad relativa de 80%, temperatura de 28/22°C (día / noche) durante 90 días.

La humedad de los suelos se mantuvo regando cada bote con agua destilada, para ello se pesaron al azar varias muestras y se determinó su necesidad de riego (Figura 16).

El ensayo se realizó a dos tiempos de incubación (45 y 90 días) y se obtuvieron un total de 228 muestras. Se usaron muestras control para cada periodo de tiempo de incubación.

Para los análisis de pH, conductividad, y cadmio se tomaron 5 réplicas de cada grupo (suelo sin o con residuo) y para el análisis de carbono orgánico 3.



Figura 16. Adición de agua destilada para mantener la humedad de los suelos

A cada tipo de suelo sin y con residuo según las dosis ya mencionadas se les realizaron los siguientes análisis fisicoquímico pH, CE, %CO y por absorción atómica se determinó la concentración de cadmio a los 0, 45 y 90 días.

- ***Determinación de Cd por absorción atómica***

Se utilizó un material de referencia de cadmio puro (Merck, Solución estándar rastreable SRM de NIST Cd (NO₃)₂ en HNO₃ 0.5 mol/L; 1000 mg Cd/kg, referencia 1.19777.0500) para establecer las rectas de calibración estándar. Se prepararon rectas de calibración de rango bajo, medio y alto, con 10 puntos cada una, donde el límite de detección de cuantificación fue 0,040 mg/kg de Cd²⁺. El Cd recuperado en muestras de suelo fue 99,3%. La cuantificación se realizó mediante un equipo de espectrometría de absorción atómica Agilent 280FS (Santa Clara, CA, EE. UU.).

3.2.3 Análisis estadístico

En el caso de los ensayos realizados a las muestras de cacao y chocolates se realizó un Análisis de Coordenadas Principales (PCoA) con el índice de disimilitud de Bray-Curtis para el análisis exploratorio de los datos de secuenciación del ARNr 16S.

Se aplicaron como métodos interpretativos el Análisis de Correspondencia Canónica (CCA) y el Análisis de Coinercia. Ambas metodologías intentan encontrar asociaciones entre dos conjuntos de variables; en el caso de CCA, intenta explicar la variabilidad encontrada en la comunidad microbiana a través de varias variables explicativas ambientales.

En el caso del análisis de coinercia, se intenta encontrar asociaciones entre la comunidad microbiana y los ácidos grasos de cadena corta (AGCC), en este caso, encontrando la correlación entre los metabolitos PCA y el PCoA microbiano. La fuerza de la asociación encontrada con el análisis de coinercia se mide mediante el coeficiente RV. Es un número entre 0 y 1, y cuanto mayor es la asociación más fuerte (Paliy y Shankar, 2016).

Se utilizó el random forest como análisis discriminante. La importancia que el algoritmo de random forest le da a cada característica (es decir, a cada género) para clasificar las muestras, en este caso, como tostadas o sin tostar, viene dada por dos parámetros: precisión de disminución media y disminución media de Gini. La precisión de la disminución media proporciona una estimación aproximada de la pérdida en el rendimiento de la predicción cuando esa variable en particular se omite del conjunto de entrenamiento. La disminución media de Gini es una medida de la impureza del nodo; un nodo con la mayor pureza es el que solo tiene características de la misma clase (tostado o sin tostar). Al calcular la disminución de Gini cuando se omite una característica, aprendemos la importancia de dicha característica para la clasificación de los datos como tostados o sin tostar (Liaw y Wiener, 2002). La significancia estadística se estableció en $p < 0.05$. La significancia entre pares de categorías en capacidad antioxidante, metabolitos y abundancia de género se evaluó mediante la prueba de Wilcoxon. Todos los análisis se llevaron a cabo en R versión 3.6.3.

Para el análisis de los suelos y hojas se realizaron análisis de correlación de Pearson entre el contenido de cadmio disponibles en el suelo y variables foliares (P, K, Mg, Ca, Zn, Cd, Pb), teniendo en cuenta lo realizado por Huamani (2012) y Arévalo-Gardini (2016). Se realizó un análisis de componentes principales (PCA) para reducir y explicar la variabilidad del sistema.

El análisis de los suelos comprende diferentes técnicas estadísticas utilizadas: análisis de la varianza, análisis de correlaciones y análisis de componentes principales. La homogeneidad de las varianzas se evaluó mediante la prueba de Levene y la distribución normal de las muestras con la prueba de Shapiro-Wilk. En el caso de variables paramétricas (que cumplen criterios de normalidad) se utilizó el análisis de la varianza (ANOVA) combinado la prueba de Tukey.

Para la comparación de las medias en variables paramétricas, se utilizó la prueba t de Student. Para analizar datos no paramétricos se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis combinada con la prueba U de Mann-Whitney. Las correlaciones lineales entre las distintas variables analizadas en la tesis doctoral se evaluaron calculando el coeficiente de correlación de Pearson (para datos distribuidos normalmente) o la correlación lineal de Spearman (para datos no distribuidos normalmente). El nivel de significancia se estableció en 5% ($p < 0.05$) en todas las pruebas anteriormente descritas. En los análisis de varianza y comparación de medias de los perfiles obtenidos en este trabajo, se utilizó el modelo lineal generalizado (GLM). Estos análisis estadísticos se realizaron con dos programas: SPSS 22.0 para Windows (IBM SPSS, Inc., Nueva York, EEUU) y Statgraphics Centurion XVI (Stat Poin Technologies, Inc. Rockville, MD, EEUU).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 RESULTADOS RELACIONADOS CON EL VALOR NUTRICIONAL Y BIOACTIVIDAD DEL CACAO

4.1.1. Propiedades químicas y físicas del cacao

Humedad

El contenido de humedad promedio obtenido en los granos procedentes del Zulia fue de $7,84 \pm 0,13$ % y el de los granos de Tibú $7,60 \pm 0,42$ %, valor que está dentro de los límites considerados como adecuados. Valores mayores pueden facilitar el desarrollo de bacterias y hongos, acidez y deficiencia en sabor y aroma en los granos; valores inferiores provocan fracturación del grano durante el almacenamiento, transporte y comercialización influyendo en la calidad del chocolate como producto final (Nogales et al., 2006; Cubillos et al., 2008; Amores et al., 2010; Tinoco y Ospina, 2010; CAOBISCO/ECA/FCC, 2015., 2015; Arvelo et al., 2017).

pH

Los valores promedio encontrados de 5,20 y 5,27 para granos de cacao de Zulia y Tibú, respectivamente, están de acuerdo con lo reportado por Jinap y Dimick. (1990) de 4,70 a 5,74; Hii et al. (2006) de 4,91 a 5,39 y Quevedo-Guerrero et al. (2022) de aproximadamente 5,40. Estos autores además consideran este parámetro como determinante de la calidad sensorial del chocolate, como producto final del procesado de los granos.

Cenizas

Los valores de las cenizas, (Figura 17), presentan variabilidad según el tipo de cacao (criollo o híbrido), región de origen del cacao, calidad del cacao, nivel de adulteración y minerales presentes.

En este estudio se obtuvieron valores de $2,68 \pm 0,014\%$ para granos procedentes de Zulía y $2,42 \pm 0,038\%$ para Tibú, encontrándose coincidencia con los resultados obtenidos de 2,63 % por Braudeau (1970) y con Perea et al. (2011) quien obtuvo 2,8 y 2,7 % de cenizas en los clones de cacao FSV41 y CCN51 respectivamente.

Nuestros resultados también son similares a los obtenidos por Thi et al. (2016) en Vietnam y Calvo et al. (2021) en Colombia. Los resultados obtenidos difieren de otros clones estudiados por Perea et al. (2011), así como de los resultados de Guerrón (2009), que encontró promedios de cenizas de 3,62%, Chire et al. (2019) con valores de 3,02 a 3.27 % y Chang et al. (2014) promedio de 3,49% y $2.23 \pm 0.4\%$ según Tinajero-Carrizales et al. (2021). Resalta un estudio realizado por Bedoya (2016) en Antioquia (Colombia) donde reporta contenidos altos de ceniza en los clones Maceo 14 (7%) y clon San Vicente 155 (3 a 4%).



Figura 17. Determinación de ceniza en granos de cacao por el método AOAC 972.15

Este parámetro que forma parte del análisis proximal del cacao y aunque se utiliza para hacer referencia al contenido de materia inorgánica (minerales), también puede indicar la calidad en las buenas prácticas durante el cultivo (fertilización, agroquímicos y trazas de contaminantes).

4.1.2. Análisis bromatológico de los granos de cacao

Proteína

No se encontró diferencia entre el contenido de proteína en los granos de las dos zonas estudiadas, $12,67 \pm 1,32\%$ para granos de Zulia y $12,29 \pm 1,18\%$ para Tibú, valores similares a los registrados por Perea et al. (2011) en el clon Maceo (producido en Antioquia, Colombia) y lo reportado por Calvo et al. (2021) en tres regiones de Colombia ($12,5 \pm 0,3\%$). Los datos anteriores son inferiores al promedio global de $21,08\%$ reportado por Vera et al. (2021) en cacaos producidos en Ecuador.

El nivel de proteína en el grano de cacao fermentado y seco fue similar a los resultados obtenidos por otros autores (**Tabla 4**) y a lo especificado en la norma NTC 793 (Icontec, 2008).

Tabla 4. Contenido de proteína en granos de cacao fermentado y seco

Muestra	Proteína cacao seco (%)
Cacao Zulia	$12,67 \pm 1,32$
Cacao Tibú	$12,29 \pm 1,18$
Fedecacao, 2004 (Clones ICS95, ICS60 y CCN51)	12,74
Fedecacao (2005) promedio en Santander	13,87
Perea et al. (2011)	12,30

Según De Witt (1957) el contenido de proteína en el grano de cacao tiene una relación inversa con el perfil sensorial debido a que, a mayor cantidad de proteínas en el grano, mayor intensidad en la sensación astringente y menor será la formación de aroma en el cacao. De acuerdo a los datos obtenidos, al realizar el análisis comparativo en cacao tostado a 120°C y cacao seco se encontró un $p > 0,05$, lo que indica que no existen diferencias estadísticamente significativas entre el contenido de proteína del cacao tostado y sin tostar.

Grasa (Manteca de cacao)

La grasa o manteca de cacao se considera como la parte más valiosa del grano, y es fundamental para el precio del grano y para la elaboración de chocolates.

Calvo et al. (2021) encontraron valores de 53% de grasa para granos cultivados en Santander y Antioquia, y de 49% para granos procedentes del Huila en Colombia. De acuerdo a la clasificación que hace Fedecacao de los granos según el porcentaje de grasa los resultados obtenidos en este estudio (granos de Zulia y Tibú), destacan por presentar altos contenidos de grasa, en la **Tabla 5** se presenta una comparación de estos resultados con los de otros autores.

Tabla 5. Comparación de diferentes porcentajes de grasa

Muestra	Grasa (manteca) (%)
Cacao de El Zulia	56,48±0,43
Cacao de Tibú	50,84±3,08
Fedecacao (2004)	>55 alto
Riaño (2016) (Colombia)	55,92±1,56
Perea et al. (2011) (Colombia)	51,4 a 57,7
Vera et al. (2021) (Ecuador)	43,60 (promedio)
Quevedo-Guerrero et al. (2022)	30,19 a 60,71

En el mercado del cacao e industria del chocolate el contenido de grasa en el grano es un factor de calidad y aceptación.

Elementos minerales

Afoakwa et al. (2013), en un estudio realizado en granos de cacao procedentes de Ghana, reportaron concentraciones más altas de Ca, Mg, Na, K y P en comparación con nuestro estudio. Respecto al K, los datos encontrados coinciden con lo informado por Perea et al. (2011) en granos cultivados en regiones productoras de cacao colombiano.

Tabla 6. Macroelementos en los granos de cacao estudiados

MACROELEMENTOS					
Muestra	Ca	Mg	Na	K	P
	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg
Cacao Zulia	44,00±13,04	278,95±51,03	14,56±14,28	734,35±207,6	367,78±101,86
Cacao Tibú	54,72±24,09	264,50±67,10	12,99±8,67	604,99±305,15	296,04±144,39
Araujo et al. (2014)	2650	200	No reporta	1890	260
límites óptimos					

Comparando los resultados obtenidos con lo propuesto por Araujo et al. (2015) como límites críticos de las variables que definen la calidad del cacao, encontramos que los valores de Ca están muy por debajo del límite óptimo, los demás datos están dentro del rango propuesto (**Tabla 6**).

Del análisis de microelementos (**Tabla 7**) en los granos de cacao se encontró que las concentraciones promedio de Cd oscilaron entre $0,52 \pm 0,82$ mg/kg en granos provenientes de Zulia a $2,42 \pm 1,89$ mg/kg en granos de Tibú.

Estos resultados son similares a lo reportado por Arévalo-Gardini et al. (2017) en algunas regiones de Perú y por Lee y Low (1985) y mayor a lo encontrado por Gramlich et al. (2017) en Bolivia. Las muestras de granos obtenidas en suelos de Tibú excedieron el límite crítico de 0,8 a 1,0 ppm recomendado por la UE (Unión Europea, 2014) para productos elaborados a partir de cacao, lo que indica la necesidad de establecer medidas gubernamentales para prevenir la contaminación por Cd durante la producción de cacao.

Tabla 7. Microelementos en los granos de cacao estudiados

MICROELEMENTOS								
Muestra	Cd	Al	Cr	Cu	Fe	Mn	Ni	Zn
	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg
Cacao Zulia	0,37±0,02	0,40±0,07	0,06±0,01	11,59±3,02	1,75±0,47	0,30±0,04	0,10±0,03	7,28±4,29
Cacao Tibú	1,97±0,07	0,46±0,08	0,06±0,01	9,66±2,71	2,42±0,08	0,42±0,09	0,06±0,02	7,06±5,39
Araujo et al. (2014)	<0,20	No reporta	No reporta	<0,68	2,80	2,04	No reporta	2,94

En la **Tabla 7** observamos que las concentraciones halladas de Cd, Cu y Zn superan los límites propuestos por Araujo et al. (2014). El Cu, que generalmente se asocia a la adición de fertilizantes, se encontró en concentraciones más bajas a lo descrito por Arvelo-Gardini et al. (2017), Aikpokpodion (2010) y Lee y Low (1985). Las concentraciones de Mn, Ni, Cr, Na y K en comparación con lo hallado por Arévalo-Gardini et al. (2017) y Aikpokpodion (2010) fueron más bajas. Las concentraciones de Fe y de Zn fueron semejantes a lo encontrado por Perea et al (2011) en Colombia, pero

más bajas respecto a lo observado por Arévalo-Gardini et al. (2017), Gramlich et al. (2017), Afoakwa et al. (2013) y Aikpokpodion (2010).

En Perú, según datos nacionales que estimaron la exposición de cadmio a través del chocolate, muestran valores entre 0,005 a 0,3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ por cada mes, valores que son inferiores a ingesta mensual tolerable provisional de 25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (Helvetas Swiss Intercooperation, 2018).

Tomando como referencia este dato (dado que en Colombia no hay un dato oficial) y según la cantidad de Cd determinado en este estudio (0,37 ppm en cacao procedente del Zulia) tendríamos que si se consume 20 g de cacao en polvo se tendría una ingesta de 0,074 $\mu\text{g}/\text{kg}$ por ración, valor que debe ser sumado al Cd proveniente de los demás alimentos que se consumen y así poder determinar el nivel de riesgo de contaminación con este metal pesado. Según la Agencia Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA), el cacao en polvo vendido como producto final al consumidor no debe sobrepasar los niveles máximos de 0,6 mg/kg (Unión Europea, 2014). En el **Anexo 2** se pueden observar los datos generados durante el análisis de elementos minerales tanto en los granos como en los suelos.

De acuerdo al PCA, obtenido del análisis químico, y bromatológico; se observa, por un lado, una variabilidad total del 83.61%, en ambos componentes para las variables: %de proteína en cacao tostado a 120°C, % Proteína cacao seco, % grasa, % ceniza. Se evidenció que no hubo un comportamiento ligado a la procedencia de la muestra, sino más bien más dependiente a las variables tratadas.

En la **Figura 18**, se observa que, en el cuadrante I, las variables % proteína cacao seco, % grasa y % ceniza son importantes en las muestras 6 y 7 de Tibú y 1 de Zulia, por

otro lado, el % de proteína en cacao tostado a 120°C tuvo un peso en la muestra 10 de Zulia y 4 de Tibú.

Las muestras 1 de Zulia y 6 y 7 de Tibú respecto a su composición energética son muy similares, así como la 10 de Tibú y la 4 de Zulia (Cuadrante II).

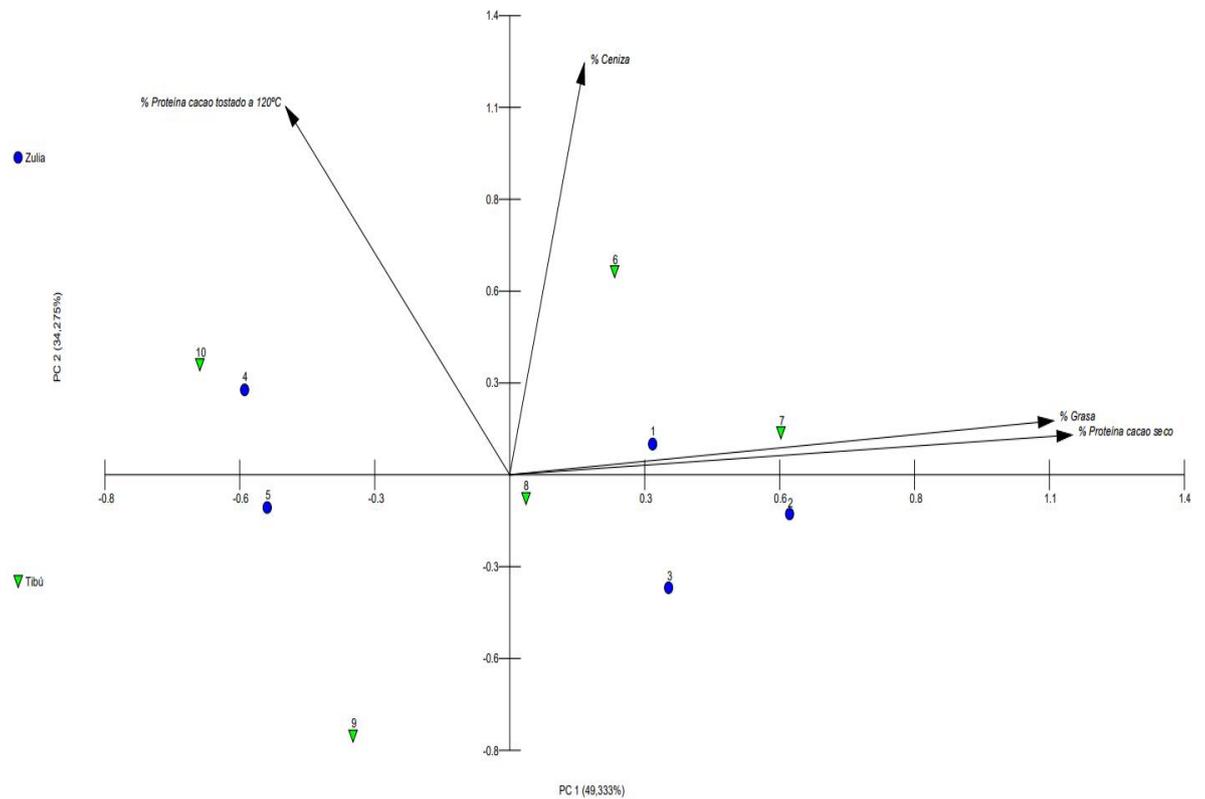


Figura 18. Análisis de Componentes principales representado por un biplot de las variables % de proteína en cacao tostado a 120°C, % Proteína cacao seco, % grasa, % ceniza en 5 muestras de la región de Zulia y Tibú.

El comportamiento anterior puede deberse a que el productor no tiene clasificados los árboles de cacao por tipo o variedad y además mezcla los granos de días diferentes de cosecha, dando como resultado granos con diferentes índices de fermentación que alteran la calidad y las propiedades organolépticas deseadas y eso posibilita las diferencias entre granos de cacao de una misma finca (Quintana y García, 2021).

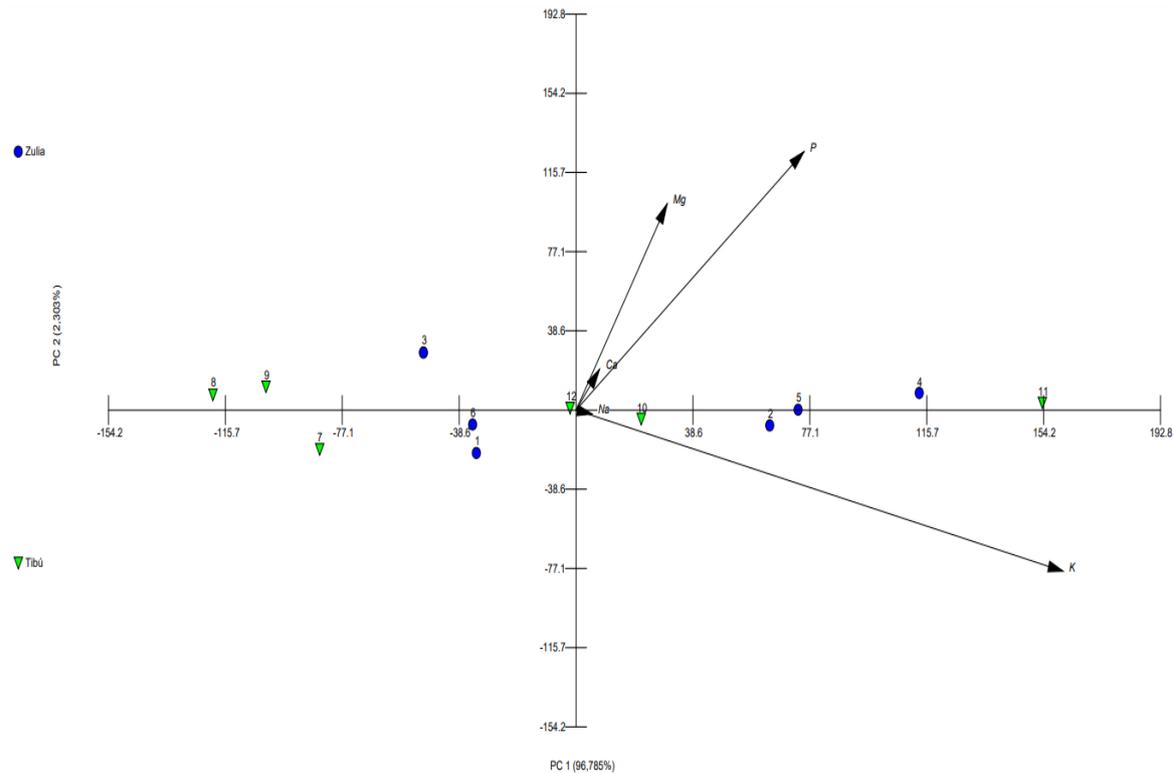


Figura 19. Análisis de Componentes principales representado por un biplot de las concentraciones de macroelementos Mg, P, K, Na, Ca en 6 muestras de la región de Zulia y Tibú

El PCA realizado sobre las concentraciones de macroelementos Mg, P, K, Na, Ca en 6 muestras de la región de Zulia y Tibú, evidenció que el 96.76% de la variación entre las diferentes muestras es debida a la concentración de los macroelementos P, Mg y K; los elementos Ca y Na tuvieron poca contribución a la separación de las muestras (**Figura 19**). La muestra 11 de Tibú se agrupó distante a las otras muestras de la misma región dada la concentración de estos macroelementos. En la intersección del cuadrante II y III vemos dos clusters, uno asociado a las muestras 7, 8 y 9 de Tibú y el otro aglomerado asociado a 1, 3 y 6 de Zulia.

Respecto a la concentración de microelementos se evidenciaron clusters formados dependiendo no sólo de la concentración de los mismos, sino de la procedencia de las muestras (**Figura 20**).

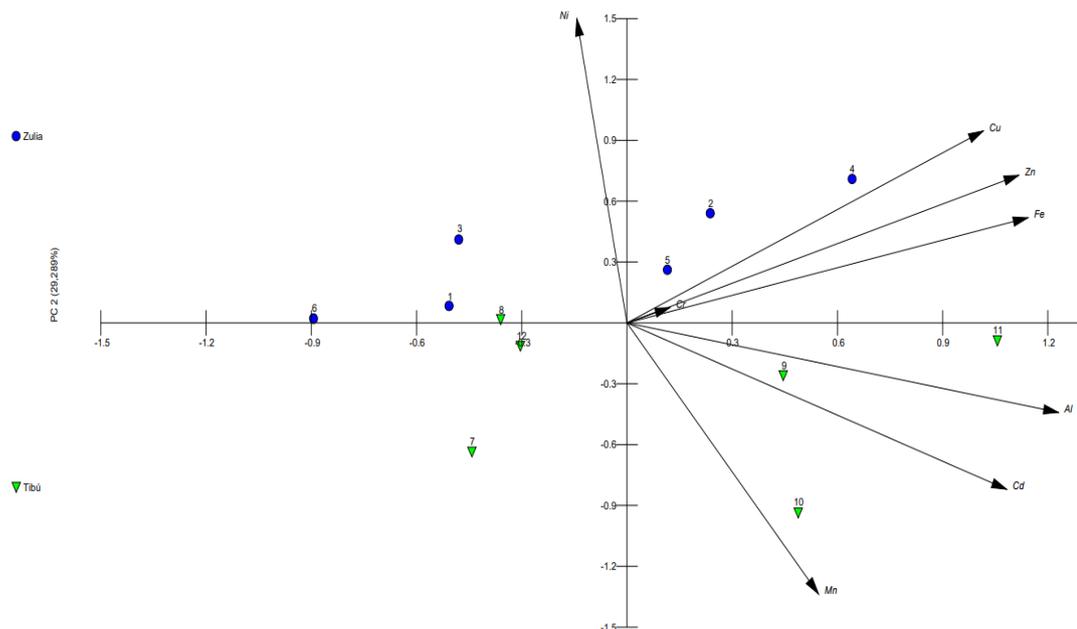


Figura 20. Análisis de Componentes principales representado por un biplot de las concentraciones de microelementos Ni, Cr, Cu, Zn, Fe, Al, Cd, Mn en 6 muestras de la región de Zulia y Tibú

En el cuadrante I observamos el primer clúster representado por los microelementos Cu, Zn, Fe que tuvieron un peso al separar las muestras 2, 4 y 5 de Zulia del cuadrante IV y II. En el cuadrante II y III, evidenciamos otro clúster explicado por el microelemento Ni que separa las muestras de Zulia (1, 3 y 6) de las otras de la misma localidad, agrupándolas con la 8 y 12 de Tibú.

La muestra 7 de Tibú en el cuadrante III se encuentra alejada de las otras. Por último, en el cuadrante IV, tenemos otro clúster (9 y 10 de Tibú) explicado por la concentración de Mn, Cd y Al que explica la variabilidad de las muestras en un 45.41%.

4.1.3. Análisis sensorial del cacao

De la evaluación sensorial con el panel entrenado por Fedecacao se determinaron los atributos y defectos del cacao a través de sus licores, cuyos resultados fueron consignados en las fichas (**Figura 21**) ya establecidas por los expertos de esta entidad. Los datos obtenidos fueron la base para estudiar las variables sensoriales respecto a los sabores básicos, específicos, adquiridos y defectos.

FEDERACIÓN NACIONAL DE CACAOTEROS - FONDO NACIONAL DEL CACAO		FEDERACIÓN NACIONAL DE CACAOTEROS - FONDO NACIONAL DEL CACAO	
FONDO NACIONAL DEL CACAO		FONDO NACIONAL DEL CACAO	
HOJA DE RESULTADOS			
LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO Y SENSORIAL DE CACAO			
Información general			
FECHA	20 de noviembre de 2019	ORGANIZACIÓN /PROPIETARIO	CONV UNIPAMPLONA - FEDECACAO 4
CODIGO	754	IDENTIFICACION	TRINITARIO
FINCA	PALMIRA	VEREDA	PAN DE AZUCAR
MUNICIPIO	ZULIA	DEPARTAMENTO	NORTE DE SANTANDER
Análisis físico			
Humedad %	5,9		
Índice de grano (peso en gramos de 100 granos)	1,2		
PRUEBA DE CORTE (100 granos)			
Bien fermentados	Medianamente fermentados	Violetas	Pizarrosos
16	35	49	0
DEFECTOS (100 granos)			
Dañados por insectos		Germinados	Mohosos
0		0	0
Análisis sensorial			
MUESTRA			
	CACAO	6,0	
SABORES BÁSICOS	ACIDEZ	2,4	
	ASTRINGENCIA	1,8	
	AMARGOR	2,9	
SABORES ESPECÍFICOS	FRUTA FRESCA	3,8	
	FRUTA SECA	2,8	
	FLORAL	0,0	
	NUEZ	3,6	
SABORES ADQUIRIDOS	DULCE	3,3	
	VERDE	0,8	
	HUMEDAD	0,3	
	OTRO	0,5	
	CALIFICACIÓN GLOBAL	6,9	
Perfil muestra			
Otro / Cual:	café		
COMENTARIOS:			
<p>ANÁLISIS FÍSICO: Teniendo en cuenta la NTC 1252, se encuentra lo siguiente: Índice de grano de 1,2 clasificado como cacao premio; porcentaje de humedad en 5,9% por debajo de los límites, este porcentaje puede permitir que la almendra se quiebre resultando frágil al transporte para comercialización; fermentación de 51%, inferior al parámetro óptimo, sin embargo un porcentaje inferior o superior no determina la calidad del licor de cacao. EVALUACIÓN SENSORIAL: La muestra presenta aroma cacao, dulce, frutal. En boca al inicio resalta notas a cacao alto, sabores acidez, amargor y sensación astringencia en equilibrio, en cuanto a sabores específicos sobresale fruta fresca, nuez y dulce.</p>			
EDITH MORENO MARTINEZ Profesional de investigación Líder del panel de evaluación sensorial			

Figura 21. Resultado del análisis de perfil sensorial

En el **Anexo 3** se pueden observar los resultados de cada muestra evaluada por los catadores. De los resultados obtenidos se extrae que ninguna muestra presentó granos dañados por insectos, germinados o mohosos. Para contrastar los datos obtenidos en la evaluación sensorial de todas las muestras de cacao y determinar el comportamiento de las variables se realizaron varias correlaciones de los datos obtenidos durante el panel sensorial.

Como se puede observar en la **Figura 22**, los atributos predominantes en la mayoría de las muestras fueron acidez, astringencia y amargor, excepto en las muestras 754 y 737, donde estos atributos fueron muy bajos en relación a las otras muestras. En estas mismas muestras resalta el sabor a cacao, sin embargo, también sobresale el sabor a verde, propio de cacaos no fermentados adecuadamente o sometidos a secado rápido (Ramos et al., 2013; Guzmán y Gómez, 2014; Machado et al., 2018).

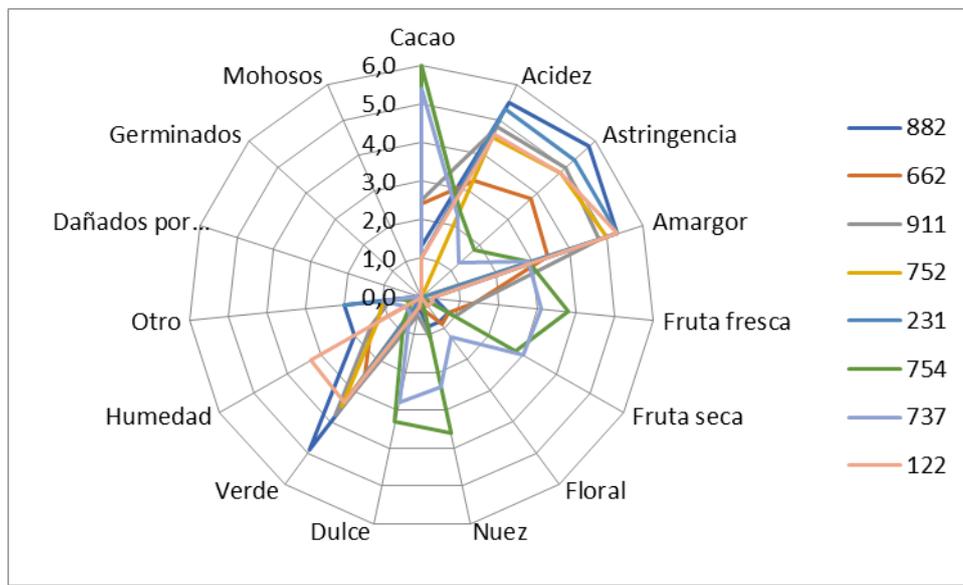


Figura 22. Perfil sensorial del cacao producido en El Zulia y Tibú (Colombia)

Adicionalmente, se aplicó un PCA en forma gráfica de dispersión (biplot), a las variables cuantitativas agrupadas de acuerdo a sus descriptores sensoriales (acidez, astringencia, amargor, etc). También se les aplico un modelo lineal general para contrastar las diferentes variables estudiadas, obteniéndose los siguientes resultados.

Análisis de Componentes Principales para todas las variables conjuntas

Tal y como se puede observar en la **Figura 23**, la variable floral, característica de los cacaos forasteros (Ramos et al., 2013), tuvo poco impacto en la diferenciación de las muestras respecto a sus demás variables sensoriales; esto puede deberse a deficiencia en los procesos de fermentación y secado, así como en una posible mezcla de granos obtenidos de diferentes cosecha y clones (Quintana y Gómez, 2011; Guzmán y Gómez, 2014; Machado et al., 2018). Por otro lado, en los cuadrantes II y III se evidenció que la variable humedad ayudó a diferenciar la muestra 662 pero no a agruparla. Ahora bien, las variables astringencia, acidez, amargor perteneciente a los sabores básicos crearon un clúster diferenciado (Cuadrante III: Muestras 911, 882, 231, 752 y 122).

La muestra 882, mostró un porcentaje de fermentación de 90, y una alta acidez, astringencia y amargor, lo cual puede deberse a la sobrefermentación e inadecuado proceso de secado que logre disminuir los sabores amargos y ácidos (Guzmán y Gómez, 2014; Amores, 2009; Zambrano et al., 2010). En el caso de la muestra de cacao 752, con un 60% de fermentación, ocurre lo contrario, no hay sabor a cacao por falta de completar adecuadamente este proceso (Portillo et al., 2011). De forma general los resultados pueden deberse a deficiencias en el manejo cosecha y poscosecha de los granos. Autores como De Witt (1957), atribuyen la intensidad en la sensación astringente y menor

formación de aroma a la cantidad de proteínas en el grano de cacao, en esta investigación el contenido de proteína esta dentro de los parámetros normales.

Las variables sensoriales de sabores específicos a fruta fresca, fruta seca, dulce, nuez y sabores básicos (**Figura 23**) tuvieron un rol importante en la separación de las muestras 737 y 754 del municipio de Zulia. Estas variables son de gran importancia porque son referentes de un chocolate de calidad (Ramos et al., 2013; Quevedo., 2018). Por todo lo anterior, estas dos muestras fueron las que obtuvieron el más alto porcentaje global de parte de los panelistas.

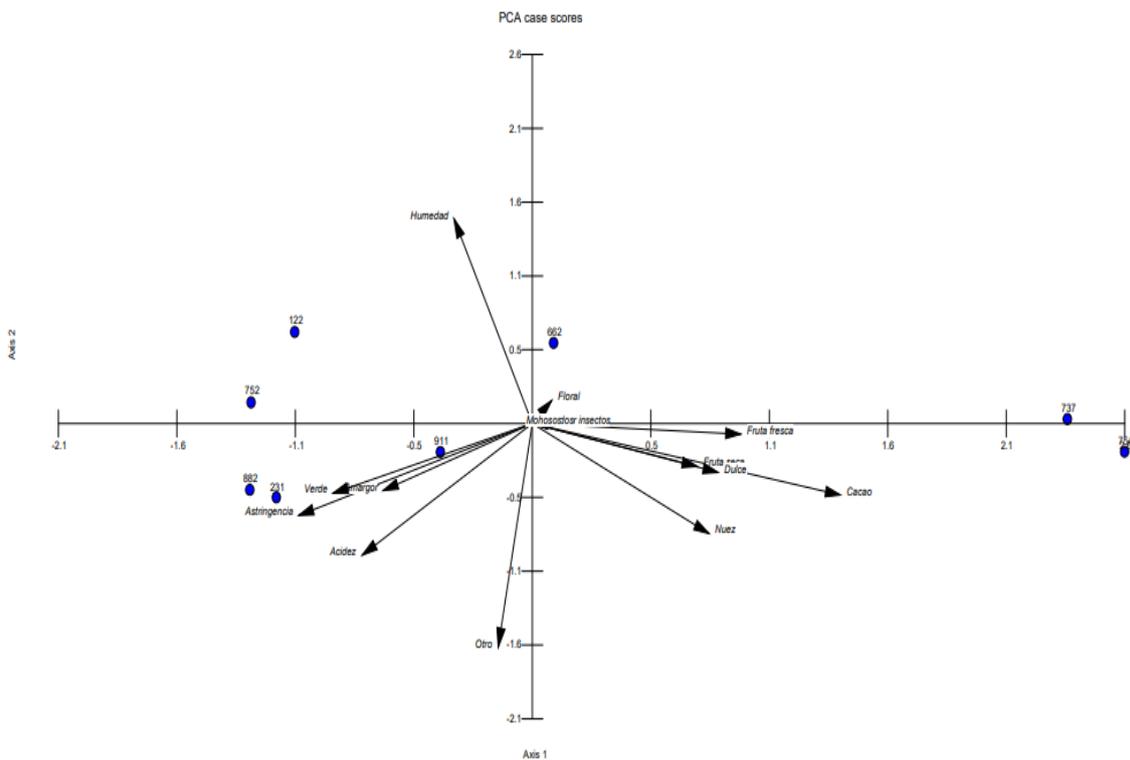


Figura 23. Variables sensoriales de los sabores básicos, específicos y adquiridos en las muestras de granos de cacao provenientes de Zulia y Tibú

Análisis de Componentes Principales para los sabores básicos

Como se observó en el PCA conjunto para los sabores básicos (**Figura 24**) la variable cacao, fundamental en la calidad del cacao, tuvo un peso importante en las muestras 754, 737 y 662 (menor peso de las tres).

Las variables sensoriales acidez, astringencia y amargor agruparon las muestras 752, 122, 231, 882 y 911 dentro de un mismo clúster (Cuadrantes II y III). Estas variables de astringente y amargo fueron inversamente correlacionadas con el aroma a nuez y fueron las muestras que obtuvieron menor calificación global.

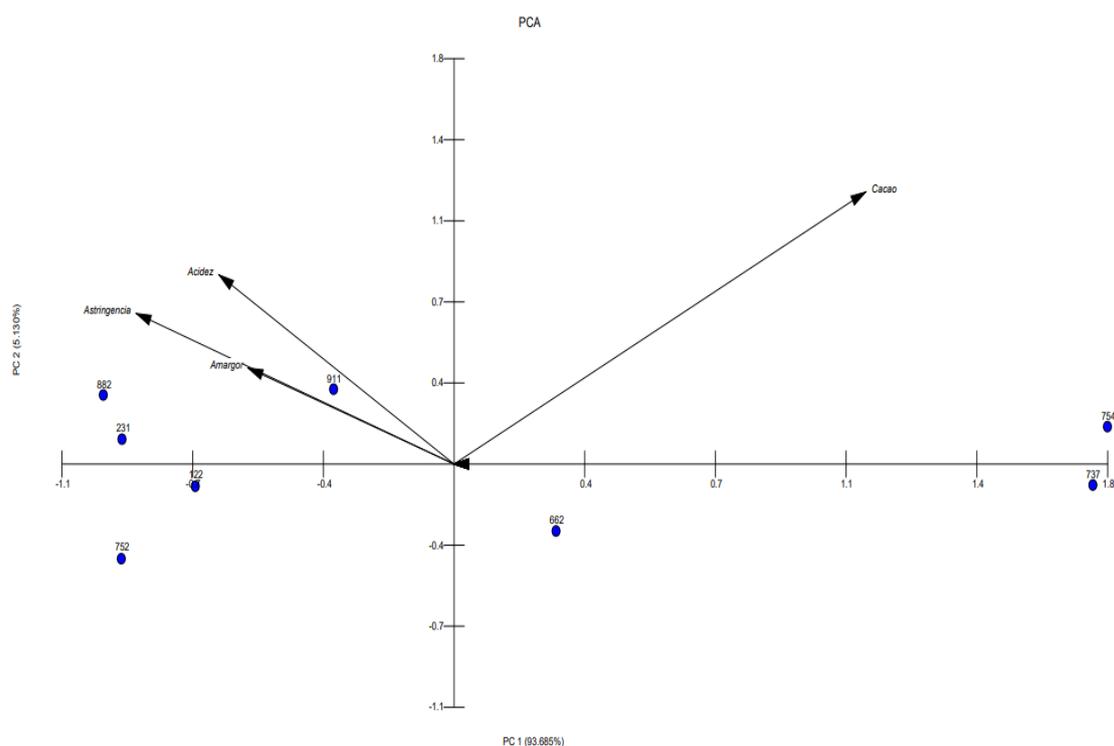


Figura 24. PCA de las variables sensoriales de los sabores básicos

Guzmán y Gómez (2014) proponen que la excesiva presencia de acidez afecta el desarrollo completo de aroma de chocolates, lo cual puede dar respuesta a los resultados emitidos por los panelistas.

Análisis de Componentes Principales para los sabores específicos

Para los sabores específicos (**Figura 25**) nuevamente las muestras 737 y 754 se agrupan en un clúster diferenciado de las demás muestras. En este caso los sabores fruta seca, dulce, nuez y fruta fresca son los que más aportan a la diferenciación de las muestras y son los atributos más agradables a los consumidores.

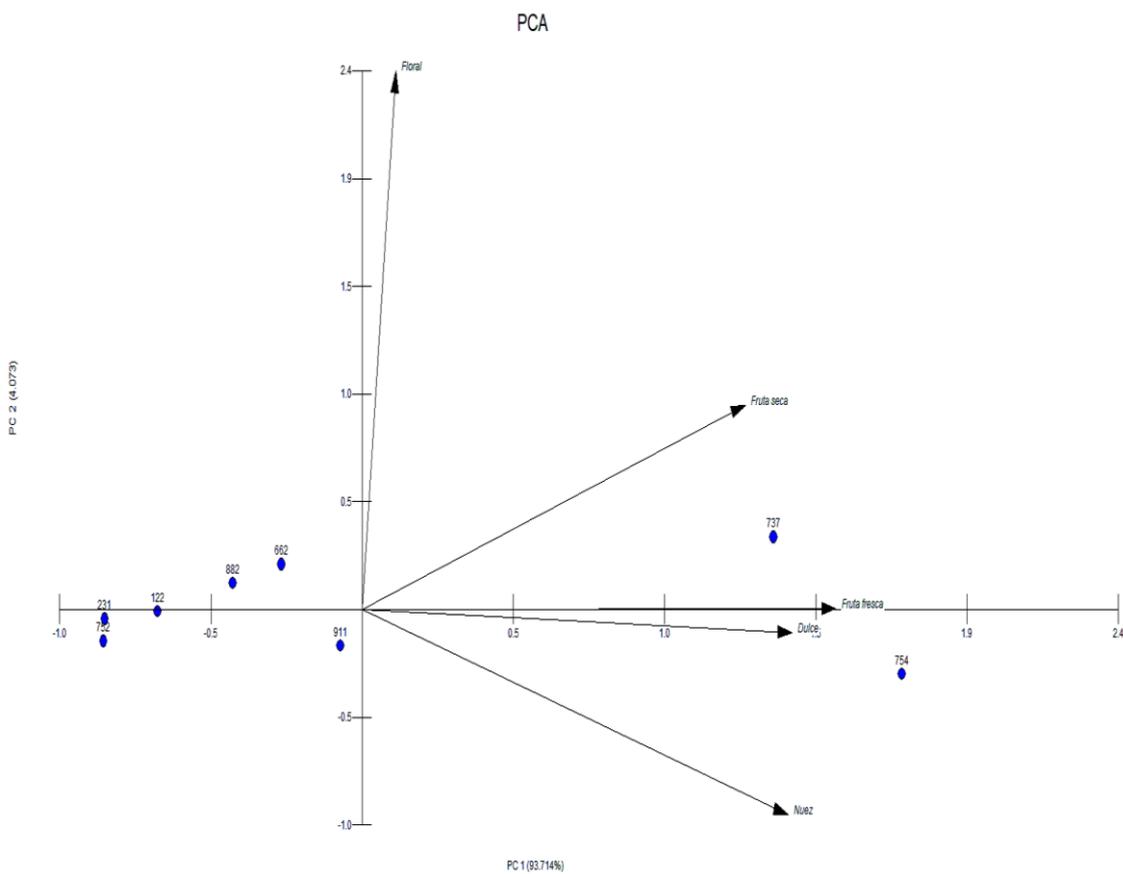


Figura 25. PCA de las variables sensoriales de los sabores específicos

Análisis de Componentes Principales para los sabores adquiridos

Las variables humedad, verde y otro (**Figura 26**) permitieron la distinción de las muestras en dos grupos en el cuadrante I y IV (122, 911, 752 y 882). De nuevo las muestras 737 y 754 se separan del resto de las muestras y en este caso no tiene relación con las variables de sabores adquiridos.

Los anteriores análisis permiten determinar que la muestra de grano que posee mayor aceptación entre los panelistas entrenados de Fedecacao es la muestra 754 seguida de la 737, lo cual fue un parámetro utilizado para escoger los granos producidos en la finca el Porvenir de la región del Zulia, para continuar con los estudios de compuestos bioactivos. Los granos provenientes de Tibú obtuvieron la misma calificación global y por ello se realizaron los ensayos de bioactividad con una mezcla de los granos.

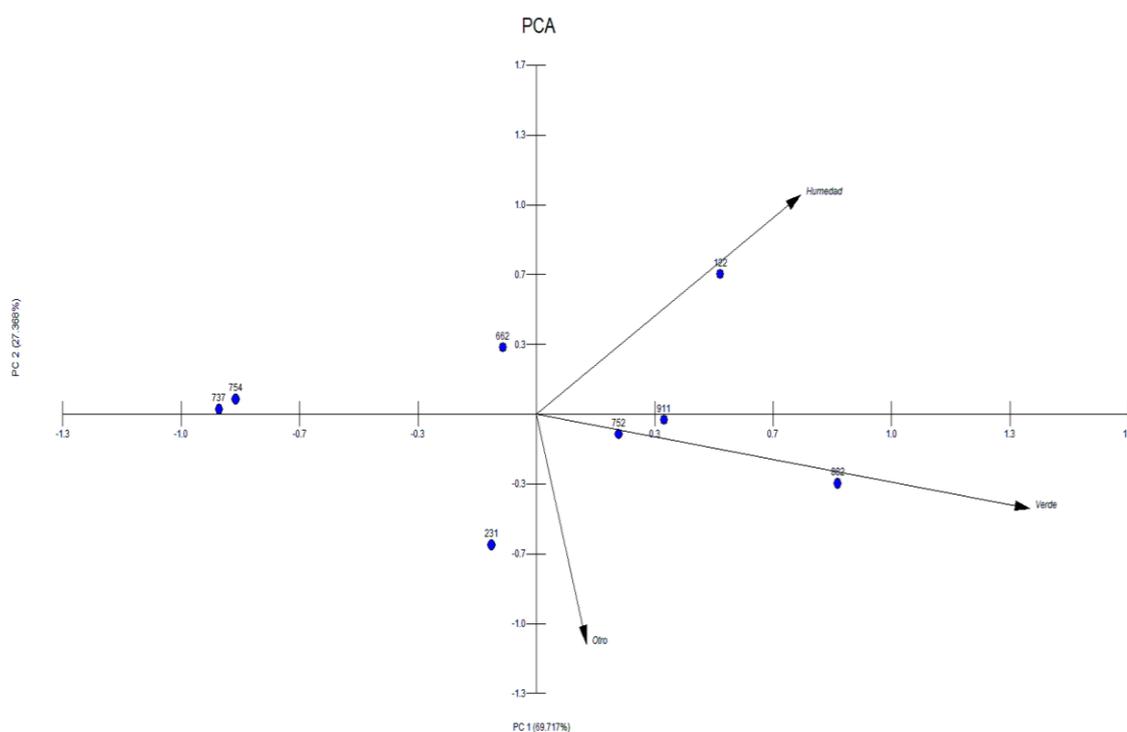


Figura 26. PCA de las variables sensoriales de los sabores adquiridos

Del análisis sensorial también se pudo deducir que hay deficiencias en los criterios de selección del grano (grano violeta), y durante el proceso de cosecha y poscosecha.

Tal y como se puede observar en la **Tabla 8**, no siempre el tener un 100% de fermentación del cacao es criterio para que sensorialmente sea aceptado por el consumidor.

Tabla 8. Calificación obtenida durante la evaluación sensorial del % de fermentación y la calificación global.

Código	Muestra de cacao	% fermentación	Calificación global
882	Tibú	90	3,6
662	Tibú	100	3,6
911	Zulia	48	4,3
752	Zulia	60	1,5
231	Zulia	52	2,3
754	Zulia	51	6,9
737	Zulia	44	6,5
122	Zulia	80	3,6

En la mayoría de las muestras la fermentación no se desarrolló adecuadamente, lo que explicaría la astringencia observada por los panelistas en las muestras (Amores, 2009; Ramos et al., 2013).

4.2. EFECTO DEL PROCESADO TÉRMICO SOBRE LA BIOACTIVIDAD DEL CACAO

4.2.1. Capacidad antioxidante del cacao crudo y tostado

Las muestras de cacao de dos zonas geográficas diferentes, tanto crudas como tostadas a diferentes temperaturas, se sometieron a una digestión gastrointestinal *in vitro* seguida de una fermentación *in vitro* para simular los procesos que ocurren durante la digestión humana, ya que pueden modificar los compuestos bioactivos que dan lugar a la

capacidad antioxidante del cacao y modificar dicha actividad. Obtuvimos dos sobrenadantes: uno líquido correspondiente a la fracción potencialmente absorbible en el intestino delgado y otro correspondiente a la fracción que puede absorberse en el intestino grueso. La capacidad antioxidante se evaluó en ambas fracciones mediante los métodos DPPH, FRAP y Folin-Ciocalteu.

La capacidad antioxidante liberada tras la fermentación microbiana intestinal *in vitro* (**Figura 27**) fue siempre mayor que la liberada tras la digestión, aunque la diferencia fue significativa ($p < 0,05$) solo en el caso de los métodos FRAP y Folin-Ciocalteu. Esto se ha descrito anteriormente, especialmente en el caso de los alimentos derivados de plantas, donde los componentes bioactivos son menos accesibles para las enzimas digestivas humanas (Navajas-Porras et al., 2020, Pérez-Burillo et al., 2019). Además, el cacao tiene una gran concentración de compuestos fenólicos, principalmente flavan-3-oles y procianidinas, que llegan al colon y son ampliamente metabolizados por la microbiota intestinal en moléculas más pequeñas (Rowland et al., 2018). Por lo tanto, podrían aumentar la capacidad antioxidante de esta fracción.

La capacidad antioxidante, por otro lado, no fue diferente según la ubicación del cultivo de cacao (datos no mostrados). Sin embargo, el tostado tuvo una gran influencia en la capacidad antioxidante, independientemente del ensayo. Las muestras de cacao crudo fueron significativamente más antioxidantes que las muestras de cacao tostado. De hecho, como se muestra en la **Figura 27**, la capacidad antioxidante disminuyó a medida que aumentaba la temperatura de tostado. Esto se ha descrito previamente en muestras de cacao sin digerir y sin fermentar (Urbanska y Kowalska, 2019, Fernández et al., 2020) y se ha relacionado con la pérdida de compuestos fenólicos que se produce durante el tostado (Febrianto y Zhu., 2020).

parámetros de calidad para controlar los procesos de tostado o calentamiento en los alimentos (Pérez-Burillo et al., 2018, Delgado et al., 2007) y también en el cacao (Oliviero et al., 2009; Sacchetti et al., 2016). Nuestros resultados mostraron que la ubicación del cultivo no influyó en la formación de HMF o furfural durante el tostado (datos no mostrados). Esto no es de extrañar ya que su formación dependerá de ingredientes comunes (azúcares reductores, aminoácidos o vitaminas) cuyas concentraciones apenas deberían verse afectadas por la ubicación del cultivo.

Por otro lado, las concentraciones de HMF y furfural aumentaron durante el tostado (**Figura 28**) lo que concuerda con otros estudios (Sacchetti et al., 2016). El HMF ha demostrado, en animales, ser hepato- y nefrotóxico a través de la formación previa de 5-sulfoximetilfurfural (SMF) (Pastoriza et al., 2017). Por lo tanto, estos compuestos químicos podrían ser útiles para controlar el proceso de tostado, no solo del cacao sino también de otros alimentos, con el objetivo de reducir el contenido de HMF y sus posibles efectos nocivos para la salud.

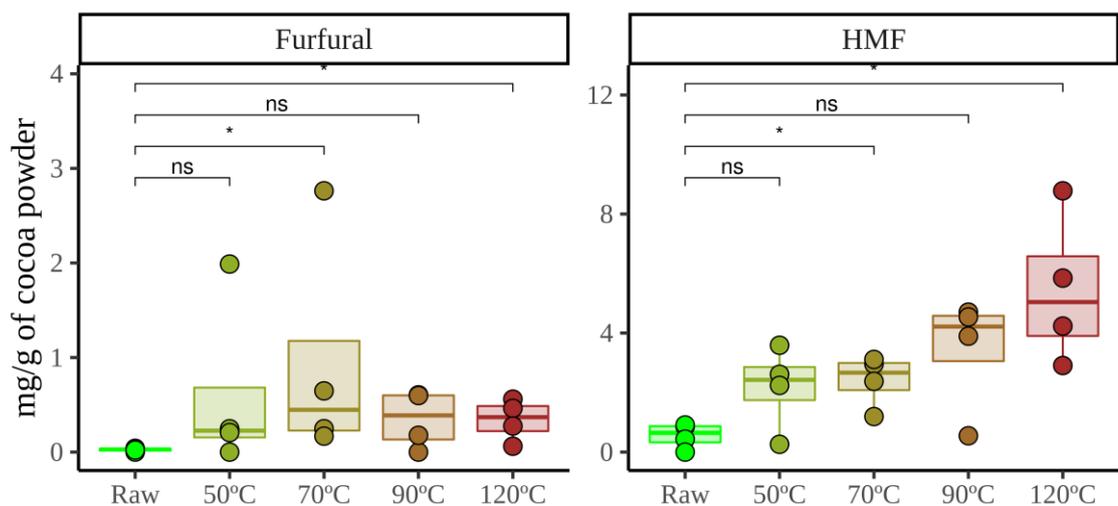


Figura 28. Concentraciones de HMF y furfural en polvo de cacao crudo y tostado. ns: no significativo; *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$

4.2.3 Estructura y funcionalidad de la comunidad de microbiota intestinal

También se estudiaron las comunidades bacterianas intestinales resultantes de la fermentación *in vitro* de cacao en polvo crudo y tostado. La estructura o composición de la comunidad de la microbiota intestinal (es decir, la abundancia de cada género bacteriano) se investigó mediante la secuenciación del gen del ARNr 16S, mientras que su funcionalidad se evaluó analizando la producción de ácidos grasos de cadena corta (AGCC), ya que son los principales metabolitos trasfermentación intestinal (Flint et al 2015). Como mostró el PCoA con disimilitud de Bray-Curtis (**Figura 29A**), las comunidades microbianas intestinales parecían verse especialmente afectadas por el tostado, con una gran diferencia entre las muestras de cacao crudo y tostado (independientemente de la temperatura). La ubicación del cultivo, sin embargo, no pareció jugar un papel diferencial en la estructura de la comunidad microbiana, aunque se puede observar alguna diferencia entre las ubicaciones (**Figura 29A**).

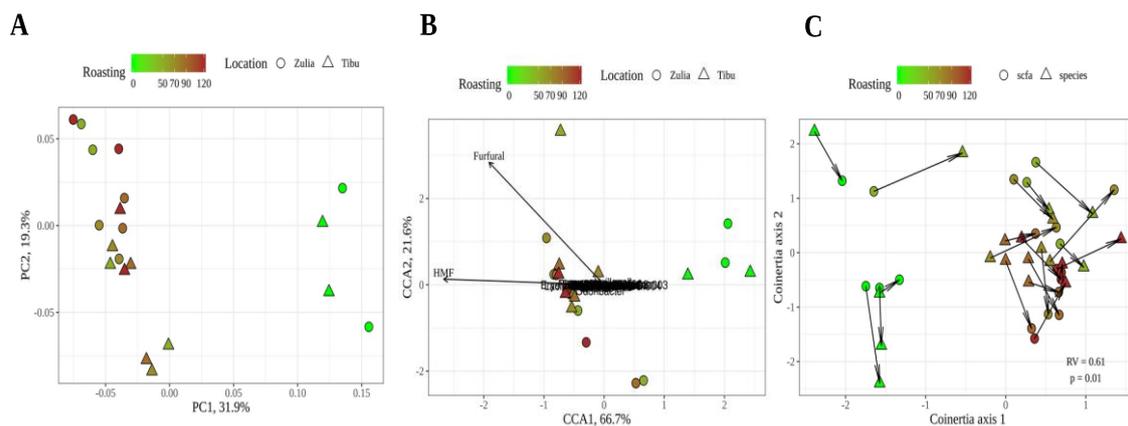


Figura 29. A) Análisis de coordenadas principales (PCoA) con disimilitud de Bray-Curtis. B) Análisis de correspondencia canónica (CCA) utilizando como variables explicativas crudo/tostado, ubicación del cultivo, HMF y concentraciones de furfural. C) Análisis de coinercia entre PCA basado en AGCC y PCoA basado en abundancia de género

Posteriormente se realizó un análisis de correspondencia canónica (CCA) utilizando como variables explicativas de la estructura de la comunidad microbiana intestinal: i. ubicación del cultivo; ii. si el cacao estaba tostado o crudo; iii. Concentraciones de HMF y furfural (**Figura 29B**). Este análisis interpretativo se suele aplicar para encontrar asociaciones entre las variables explicativas y las variables de respuesta (en este caso, la composición de la comunidad microbiana intestinal). Según el CCA, el hecho de que las muestras de cacao fueran tostadas o no influyó significativamente ($p = 0,001$) sobre la composición de la comunidad microbiana, mientras que la ubicación ($p = 0,330$) y las concentraciones de HMF ($p = 0,407$) y furfural ($p = 0,063$) no lo hicieron. Tiene sentido que el tostado pueda tener una influencia significativa en la configuración de las comunidades bacterianas intestinales. Durante este proceso, la composición química del cacao cambia drásticamente y también podrían cambiar los sustratos que llegan al colon. Por un lado, durante el tostado, el perfil fenólico cambia como se describió anteriormente (Febrianto y Zhu, 2020). Además, y probablemente más importante, durante el tostado habrá una formación de melanoidinas como productos finales del pardeamiento químico, que no están presentes en el cacao crudo. Estos polímeros han demostrado comportarse como fibra (incluidas las melanoidinas del cacao), llegando al colon donde pueden ser degradados por las bacterias intestinales (Borrelli et al., 2005, Pérez-Burillo et al., 2020). Además, se ha descrito cómo el proceso de tostado de los granos de café se traduce en una pérdida de poli y oligosacáridos (Gniechwitz et al., 2007). Los poli- y oligosacáridos de los granos de cacao probablemente podrían sufrir la misma suerte durante el tostado. Por lo tanto, dado que la fibra y otros polisacáridos son el principal sustrato bacteriano intestinal (Kolodziejczyk et al., 2019) no es sorprendente que se haya encontrado que el tostado impacta profundamente en la utilización del cacao en polvo por los microbios intestinales.

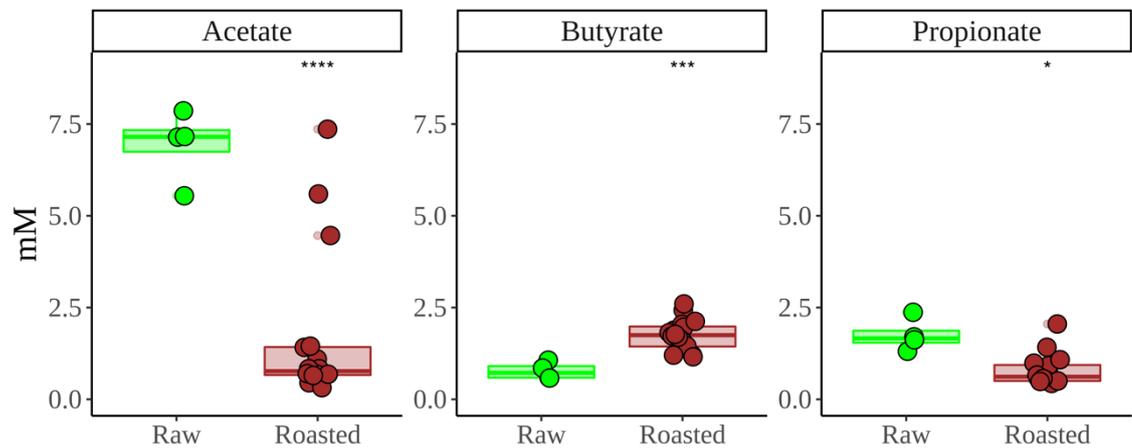


Figura 30. Concentración de ácidos grasos de cadena corta tras la fermentación *in vitro*. ns: no significativo; *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$

Por otro lado, cuando se estudió la producción de AGCC se observó una tendencia similar: mientras que la ubicación del cultivo no influyó, el proceso de tostado cambió el perfil de AGCC (**Figura 30**). El cacao crudo produjo concentraciones significativamente más altas de acetato y propionato, mientras que la fermentación del cacao tostado resultó en una producción significativamente mayor de butirato. Los tres AGCC son esenciales para la salud intestinal del huésped. Entre muchas otras propiedades investigadas, los tres AGCC desempeñan un papel principal en el mantenimiento de la barrera intestinal, mientras que el butirato es utilizado como sustrato por las células epiteliales y también se ha relacionado con la actividad antiinflamatoria, lo que tiene un gran impacto en mantener el intestino sano (Ríos-Covián et al., 2016). Como se indicó anteriormente, los cambios químicos originados durante el tostado podrían ser la razón detrás de estas diferencias en la producción de AGCC. Aunque la fibra es la principal fuente para la producción de AGCC, se ha demostrado que las melanoidinas son una fuente de AGCC cuando son fermentadas por microbios intestinales (Pérez-Burillo et al., 2020). La mayor producción de butirato en muestras tostadas sugiere que algunas especies bacterianas que pueden

producir butirato podrían estar creciendo mejor que en las muestras crudas, o al menos, que pueden usar compuestos de pardeamiento no enzimáticos (es decir, melanoidinas) para generar un mejor rendimiento de butirato. Para confirmar si la estructura de la comunidad microbiana y la producción de AGCC estaban correlacionados o asociados, realizamos un análisis de coinerencia.

Así mismo, como se puede ver en la **Figura 30C**, existe una fuerte correlación ($RV = 0,61$; $p = 0,01$) entre las relaciones PCA basadas en AGCC y PCoA basadas en género, ya que la distancia entre las mismas muestras (representadas con una flecha) suele ser menor que entre diferentes muestras. Esto indica que los análisis de composición bacteriana intestinal y AGCC se apoyaron mutuamente.

Según la información presentada hasta ahora, el tostado o no de los granos de cacao tiene un impacto profundo y significativo tanto en la composición de la microbiota intestinal como en su capacidad para producir AGCC. Por lo tanto, un próximo paso sería definir los géneros más discriminantes entre las comunidades microbianas resultantes de las fermentaciones de cacao crudo y tostado (es decir, los géneros que mejor describen o representan muestras crudas o tostadas). Se realizó un random forest como análisis discriminante, ya que es muy utilizado para encontrar características (en este caso géneros bacterianos) para distinguir entre diferentes comunidades microbianas (Zhou y Gallins, 2019).

Los géneros más importantes para clasificar las muestras, en este caso como crudas o tostadas, son dados por las variables Mean Decrease Accuracy and Mean Decrease Gini (ver sección Material y métodos) y cuanto más altas son, más influencia tienen en la clasificación. Como se muestra en la **Figura 31A-B**, entre las cinco primeras posiciones para ambas variables se encuentran *Veillonella*, *Faecalibacterium* y *Lachnospiraceae* UCG 004.

Mientras que *Veillonella* es un productor de propionato, *Faecalibacterium* es un productor de butirato y también juega un papel positivo en la regulación del sistema inmunológico (Flint et al., 2015), la *Veillonella* se encontró en una abundancia mucho mayor en las muestras crudas (**Figura 31C**), lo que podría explicar en parte las concentraciones más altas de propionato en esas muestras.

También es especialmente significativo haber encontrado a *Faecalibacterium* como una de las principales bacterias discriminantes, ya que es un conocido productor de butirato y, por lo tanto, podría explicar, al menos en parte, la mayor producción de butirato con muestras tostadas.

Además, esto podría significar que *Faecalibacterium* puede usar productos de pardeamiento no enzimáticos (como las melanoidinas) como sustratos de fermentación. Este resultado estaría en línea con investigaciones previas que muestran que *Faecalibacterium* se ve favorecida por la fermentación de melanoidina (Pérez-Burillo et al., 2020).

Por otro lado, *Roseburia* y *Butyricicoccus*, ambos productores de butirato, (Flint et al., 2015) también se encontraron en mayor abundancia en las muestras tostadas.

La **Figura 31C** muestra todos los géneros diferenciales ($p < 0,05$) abundantes entre las muestras crudas y tostadas, y se ha demostrado que algunos de ellos tienen efectos beneficiosos para la salud o producen AGCC (Flint et al., 2015, Kolodziejczyk et al., 2019).

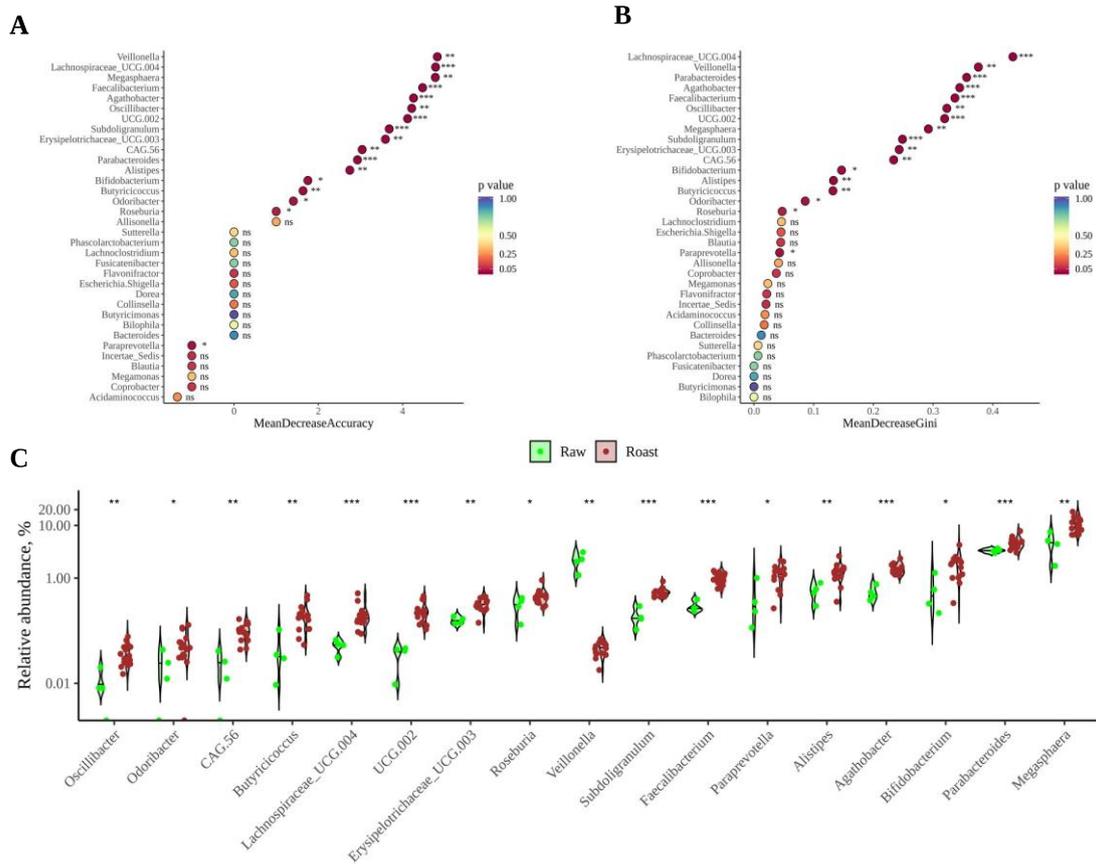


Figura 31. A) Valores medios de precisión de disminución para cada género incluido en el análisis de random forest. B) Valores medios de disminución de Gini para cada género incluido en el análisis de random forest. C) Plot violín de todos los géneros diferencialmente abundantes entre cacao tostado y sin tostar (crudo). ns: no significativo; *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$

Los resultados han demostrado claramente cómo la fermentación intestinal del cacao tostado y crudo dan como resultado comunidades bacterianas y producción de AGCC bastante diferentes. Sin embargo, también es importante saber si el grado de tostado genera diferencias significativas. Por ello, estudiamos el efecto del grado de tostado en los 7 géneros principales que se discriminan (es decir, aquellos géneros con una precisión de disminución media superior a 4 y una disminución de la media de Gini superior a 0,3). Como se muestra en la **Figura 32A**, el grado de tostado (temperatura aplicada) no tuvo influencia sobre estas bacterias. Sin embargo, como se ha descrito

anteriormente (Monlau et al., 2014), compuestos furánicos como el HMF y el furfural podrían inhibir el crecimiento de determinadas bacterias.

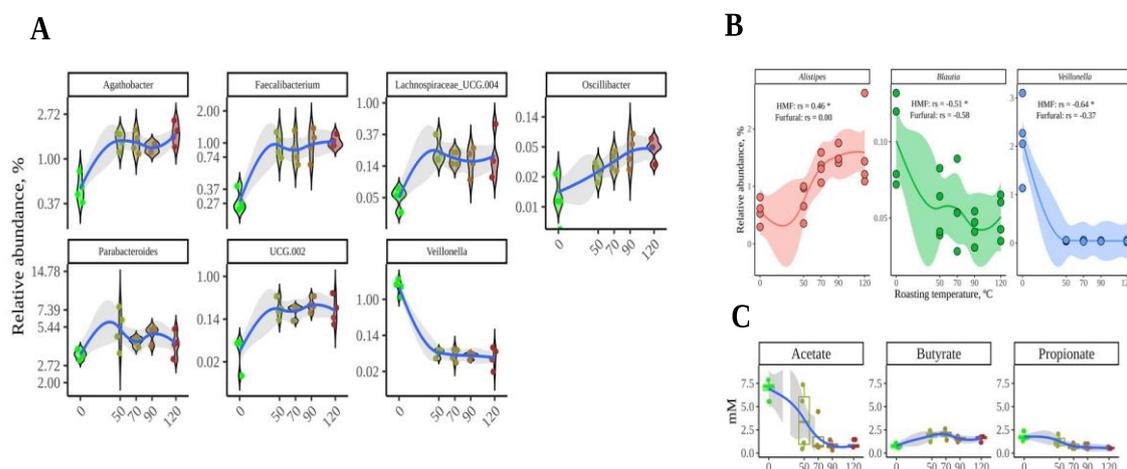


Figura 32. A) Abundancia relativa para cada temperatura de tostado de los 7 géneros discriminantes principales según random forest. B) Abundancia relativa para cada temperatura de tostado de los géneros que se correlacionaron significativamente con la concentración de HMF o furfural. ns: no significativo; *: $p < 0,05$. C) Producción de AGCC para cada temperatura de tostado

Por lo tanto, los posibles efectos inhibidores se comprobaron mediante la búsqueda de correlaciones de Spearman entre HMF y furfural y cualquiera de los géneros observados en nuestras comunidades bacterianas. Se encontraron correlaciones negativas entre esos compuestos y *Blautia* y *Veillonella* (Figura 32 B), aunque estas correlaciones fueron significativas solo en el caso de HMF. Aun así, como estas son solo correlaciones, podrían estar involucradas otras interacciones, como la inhibición por otros compuestos generados durante el tostado o la competencia por otras bacterias que son especialmente favorecidas por otros compuestos generados durante el tostado. Por el contrario, se encontró una correlación positiva significativa entre HMF y *Alistipes*. Del mismo modo, es probable que esta correlación se deba a otros compuestos que aparecen durante el tostado y que pueden ser utilizados por las bacterias (como las melanoidinas) o al hecho

de que el tostado provoca la pérdida de compuestos esenciales para otras bacterias (como los poli- u oligosacáridos), lo que le permite a *Alistipes* competir con ellos y crecer en su lugar. Finalmente, aunque la producción de acetato y propionato pareció disminuir con la temperatura, las diferencias entre las diferentes temperaturas de tostado no fueron significativas (**Figura 32 C**). La producción de butirato también se vio afectada de manera diferencial por la temperatura, alcanzando las concentraciones más altas a 50 y 70°C. Sin embargo, nuevamente, las diferencias solo fueron significativas entre el cacao crudo y tostado.

Los cambios en las comunidades microbianas intestinales podrían explicarse por los cambios químicos que sufre el cacao durante el tostado: pérdida de polifenoles, disminución de carbohidratos y pardeamiento químico. De hecho, se ha demostrado que las melanoidinas, los productos finales del pardeamiento no enzimático, tienen un papel prebiótico.

4.2.4. Marcadores de capacidad antioxidante y daño térmico de chocolates comerciales

También se analizaron la capacidad antioxidante y los marcadores de daño térmico en chocolates comerciales que contienen el cacao en polvo estudiado.

Como se muestra en la **Tabla 9**, la capacidad antioxidante de la fracción digerida fue 2-3 veces menor que la de la fracción fermentada, excepto en el caso del método Folin-Ciocalteu, donde se encontraron resultados similares. En este sentido, para el análisis de compuestos fenólicos totales, los resultados obtenidos en este estudio estuvieron en línea con los de otros productos vegetales (Navajas-Porras et al., 2020) y productos de chocolate hechos a medida (Urbanska y Kowalska, 2019) y 10-20 veces

superiores a los reportados por otros autores para productos comerciales de chocolate (Dumbrava et al., 2020).

Esto podría estar relacionado con la ausencia de la digestión-fermentación *in vitro*, que se sabe que libera más compuestos antioxidantes que los que se obtienen mediante extracción con solventes (Pérez-Burillo et al., 2018; Pérez-Burillo et al., 2021).

La capacidad antioxidante siguió la misma tendencia observada para el cacao en polvo: disminuye a medida que aumenta la temperatura aplicada. La caída de la capacidad antioxidante se hace mayor a 115 y 125°C, especialmente en la fracción digerida.

Por otro lado, en la fracción de fermentación, aunque la capacidad antioxidante sigue disminuyendo, las diferencias son más débiles. Una posible explicación podría estar relacionada con los diferentes compuestos producidos durante el metabolismo microbiano que pueden compensar, hasta cierto punto, la pérdida de antioxidantes naturales presentes en el cacao.

Estos podrían ser algunos compuestos recientemente generados, como metabolitos fenólicos o compuestos producidos a partir del metabolismo de las melanoidinas, pero también otros compuestos que podrían unirse a los polímeros que llegan al colon y se liberan una vez que esos polímeros se degradan.

En cualquier caso, durante la fermentación microbiana es probable que aparezcan compuestos neoformados, lo que no solo hace que la capacidad antioxidante de esta fracción sea superior a la de la fracción de digestión (**Tabla 9**), sino que también suaviza la pérdida de capacidad antioxidante por tostado. Además, como era de esperar, la capacidad antioxidante fue mayor en aquellos chocolates con mayor porcentaje de cacao.

Al realizar el análisis de cada polifenol individual, se encontró que el fenol y la epicatequina, en chocolate en barra y en el líquido resultante del proceso de fermentación, arroja un $p < 0,05$, lo que indica que existen diferencias estadísticamente significativas en el estudio respecto a estos dos compuestos, siendo los granos provenientes de Tibú donde se observó mayor contenido de fenol y de vainillina.

Tabla 9. Capacidad antioxidante de los chocolates comerciales

Muestra	Proceso biológico	Temperatura de tostado °C	DPPH mmol Trolox/kg	FRAP mmol Trolox/kg	Folin-Ciocalteu mg ácido gálico/kg
80% cacao	Digestión	50	98,9 ^a ± 5,35	52,5 ^a ± 2,13	915 ^a ± 28,0
80% cacao	Digestión	70	98,3 ^a ± 6,46	62,2 ^b ± 4,52	921 ^a ± 5,42
80% cacao	Digestión	110	92,7 ^a ± 0,53	54,2 ^a ± 1,56	675 ^b ± 16,3
80% cacao	Digestión	115	93,1 ^a ± 5,34	33,7 ^c ± 1,05	572 ^c ± 23,2
80% cacao	Digestión	125	89,0 ^b ± 1,28	30,8 ^c ± 0,34	574 ^c ± 5,32
73% cacao	Digestión	110	88,2 ^b ± 1,54	57,0 ^a ± 0,68	615 ^b ± 27,1
70% cacao	Digestión	110	90,8 ^b ± 0,73	46,1 ^d ± 0,38	624 ^b ± 31,3
50% cacao	Digestión	110	80,8 ^b ± 2,14	50,3 ^a ± 1,95	567 ^c ± 19,3
40% cacao con leche	Digestión	110	82,7 ^b ± 3,01	46,9 ^d ± 2,70	579 ^c ± 32,0
80% cacao	Fermentación	50	238 ^a ± 6,36	126 ^a ± 2,66	1013 ^a ± 47,0
80% cacao	Fermentación	70	246 ^a ± 3,54	139 ^b ± 6,00	950 ^a ± 33,0
80% cacao	Fermentación	110	242 ^a ± 13,9	131 ^a ± 7,43	902 ^b ± 27,0
80% cacao	Fermentación	115	225 ^a ± 1,29	118 ^a ± 2,92	894 ^b ± 6,90
80% cacao	Fermentación	125	222 ^b ± 15,0	110 ^c ± 6,26	830 ^b ± 39,7
73% cacao	Fermentación	110	218 ^b ± 0,66	120 ^a ± 1,02	648 ^c ± 20,5
70% cacao	Fermentación	110	226 ^a ± 3,95	111 ^c ± 1,55	678 ^c ± 36,0
50% cacao	Fermentación	110	213 ^b ± 3,51	112 ^c ± 0,52	544 ^d ± 32,9
40% cacao con leche	Fermentación	110	225 ^a ± 6,91	109 ^c ± 3,52	552 ^d ± 14,8

Diferentes letras indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los grupos digeridos o fermentados.

Finalmente, al igual que con el cacao en polvo, el HMF y el furfural aumentaron durante el tostado (**Tabla 10**) y una temperatura más alta resultó en concentraciones más altas de estos compuestos. El mayor aumento se presentó de 70 a 110°C. Independientemente del tratamiento térmico, los niveles de HMF de los chocolates incluidos en nuestro estudio fueron 10-30 veces inferiores a los reportados por Teixidó et al. (2011) desde 42,1 a 74,4 mg/kg para chocolate negro y chocolate con leche, respectivamente.

Las diferencias en los niveles de HMF podrían estar relacionadas con los diferentes tratamientos térmicos y el porcentaje de cacao, ya que en ese estudio no se reportó información sobre estos parámetros.

Tabla 10. Contenido de HMF y furfural en chocolates comerciales.

Muestra	Temperatura de tostado °C	HMF mg/kg	Furfural mg/kg
80% cacao	50	0,437 ^a ± 0,464	0,120 ^a ± 0,035
80% cacao	70	1,144 ^a ± 0,171	0,217 ^b ± 0,025
80% cacao	110	3,258 ^a ± 0,286	0,828 ^a ± 0,085
80% cacao	125	3,125 ^a ± 0,183	0,956 ^a ± 0,141
40% cacao con leche	110	3,707 ^b ± 0,116	1,101 ^c ± 0,162

El control adecuado del proceso de producción y beneficio del cacao tiene influencia sobre la calidad del grano de cacao y por ende en los elementos químicos y en los compuestos bioactivos y estos a su vez influyen sobre las propiedades sensoriales (Frauendorfer y Schieberle, 2006, Efraim et al., 2010, Perea et al., 2013, Amores et al., 2010, Stanley et al., 2018).

4.3 CARACTERIZACIÓN DE LOS SUELOS DE LOS CULTIVOS DE CACAO ESTUDIADOS

Los resultados de los atributos de los suelos evaluados de las plantaciones de cacao en cada región fueron estudiadas a una profundidad de 0 a 20 cm. Estos suelos, según las coordenadas de las fincas estudiadas, encajan dentro de las unidades cartográficas del IGAC UCS_152 para el Zulia y UCS_988 para Tibú, las cuales describen los suelos de la siguiente manera.

Suelos del Zulia (Latitud N: 8°29'55'' y Longitud O: 72°42'11''): son suelos profundos, bien drenados, textura franco arcillosa y franco arenoso, fertilidad natural baja a alta, de clima medio y húmedo, componente definido como Complejo: *Typic Dystropepts*; roca gneiss y esquistos; paisaje de montaña; tipo de relieve definido como filas y vigas (IGAC, 2011). Verificando con una clasificación actualizada este suelo se denomina *Typic Dystrudepts (NS 161)*, (IUSS Working Group WRB, 2015).

Suelos de Tibú (Latitud N: 8°1'34.83038'' y Longitud O: 72°42'9.11078''): suelos profundos a superficiales, drenaje bueno a pobre, textura franco arcillosa a arenosa franca y franco limosa, fertilidad media, de clima cálido y húmedo, componente definido como Complejo: *Typic Tropofluvents*; depósitos superficiales clásticos, hidrogénicos y aluviones mixtos; paisaje de montaña; tipo de relieve plano de inundación activo del río meándrico (IGAC, 2011).

Según clasificación actualizada este suelo se denomina *Typic Udifluventh* (IUSS Working Group WRB, 2015).

4.3.1 Descripción Morfológica

La morfología de los suelos en estudio se realizó de manera sistemática determinando características tales como color, consistencia y estructura. Se encontró que el suelo ubicado en el Zulia presenta colores, según la carta Munsell, definidos como 10 YR 5/4 y 10 YR 5/5, pardo amarillento, de estructura fuerte con agregados duraderos. En consistencia húmeda es un suelo adherente y plástico (Ver **Anexo 4** Descripción de suelos).

El suelo de la zona de Tibú se define como 10 YR 7/4 y 10 YR 6/4, color pardo muy pálido y pardo amarillento claro, de estructura débil típico de suelo arenoso, suelo no adherente y no plástico (USDA, 1993). En el **Anexo 4** se puede observar la descripción completa de los suelos.

Hay que tener en cuenta que los colores de los suelos varían según el tipo de materia orgánica, humedad y minerales presentes (USDA, 2017).

4.3.2 Propiedades físicas

Granulometría

Este atributo indica el contenido de partículas de diferente tamaño, como la arena, el limo y la arcilla en el suelo y cómo de fácil se puede trabajar.

Según su composición se puede predecir la cantidad de agua y aire que retiene y la velocidad con que el agua lo penetra y atraviesa (Garrido, 1994).

Tabla 11. Granulometría de los suelos estudiados

Fracción	Suelo del Zulia % total	Suelo de Tibú % total
Arena	32,26	54,41
Limo	39,68	24,47
Arcilla	29,73	21,12

La **Tabla 11** presenta la granulometría de los suelos productores de los granos de cacao estudiados. Se observa que las fracciones del suelo del Zulia están dentro de los parámetros establecidos por Arvelo et al. (2017) de un suelo de textura mediana, 50% de arena, 10-20% de limo, 30-40% de arcilla; el suelo de Tibú presenta algunas variaciones en cuanto al porcentaje de arcilla que es menor y es un poco más arenoso, lo que le confiere una textura moderadamente gruesa.

Con los anteriores resultados se determinó la clase textural de cada muestra de suelo empleando el diagrama triangular (sistema que aplica el USDA según el tamaño de las partículas) y se obtuvo la **Figura 33**, donde se observa que los suelos del Zulia se clasifican como franco arcilloso y los suelos de Tibú como franco arcilloso arenoso.

Las características texturales de los suelos objeto de estudio están de acuerdo con lo planteado por Smyth (1967), Hardy (1969) Wood y Lass (1985) quienes consideran como óptimas las clases arcillosas y franco limosas para el cultivo de cacao.

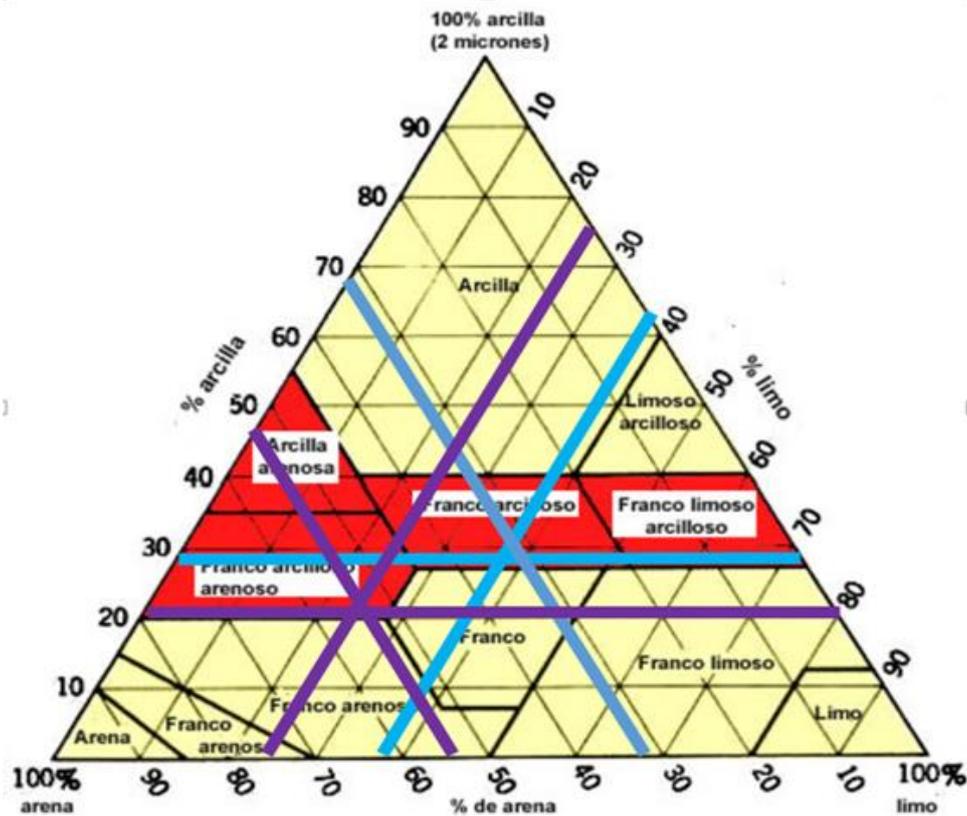


Figura 33. Diagrama triangular de las clases texturales del suelo en Zulia (azul) y Tibú (morado) según USDA (1993)

Las clases texturales tanto de Zulia como Tibú, también coinciden con lo establecido por Arvelo et al. (2017) y Gliessman (2002) quienes proponen como suelos aptos para el cultivo de cacao los suelos de textura mediana (Franco, franco-arcilloso, franco-arenoso), características que le proporcionan al suelo buena aireación, capacidad de drenaje y fertilidad.

DRX

En las **Tablas 12, 13 y 14** se observan los resultados del análisis mineralógico de los dos suelos estudiados, donde se puede observar el tipo de mineral predominante encontrado y su semicuantificación según la escala propuesta.

Tabla 12. Análisis mineralógico semicuantitativo de la fracción grava fina (2<mm) de las muestras de suelo estudiadas

Tipo de Suelo Grava Fina	Región					
	Zulia			Tibú		
	1	2	3	1	2	3
Clorita	x	x	x	x	x	x
Illita (K-mica)	x	x	x	xx	x	xx
Tremolita	xxx	xxx	xxx	x	x	x
Cuarzo	xxx	xxx	xxx	xxxx	xxxx	xxxx
Caolinita				x	x	x
Feldespato de K	x	x	x	xx	xx	xx
Plagioclasa	xxx	xxx	xxx	xx	xx	x
Óxido de hierro					x	x
Minerales		x	x		x	x
Interestratificados						

Clave de contenidos: x, <5%; xx, 5 – 15%; xxx, 15 – 30%; xxxx, 30 – 50%; xxxxx, >50%

Clorita (Mg,Fe)₃(Si,Al)₄O₁₀ (OH)₂·(Mg,Fe)₃(OH)₆; Illita (K-mica) (K,H₃O)(Al, Mg, Fe)₂(Si, Al)₄O₁₀[(OH)₂·(H₂O)]; Tremolita (Ca₂Mg₅Si₈O₂₂(OH)₂); Cuarzo SiO₂; Caolinita (Al₄Si₄O₁₀(OH)₈); Feldespato de K (KAlSi₃O₈); Plagioclasa (Na,Ca)(Si,Al)₃O₈; Óxido de hierro Fe₂O₃.

Los filosilicatos (clorita y micas) constituyen el 90 % de la corteza terrestre y sus principales minerales forman la mayor parte de la fracción sólida inorgánica de los suelos (Pereyra y Torres, 2016).

En las muestras estudiadas las cantidades de estos filosilicatos en la fracción de **grava fina** son moderadas, sin embargo, estos minerales aportan a la fertilidad del suelo, pues al encontrarse cargados negativamente en su superficie facilitan la retención de iones positivos (Mg²⁺, K⁺, Ca²⁺), los cuales son fundamentales para la fertilidad del suelo.

El cuarzo (tectosilicato), es también un mineral muy común en la corteza terrestre, es eléctricamente neutro y no contiene ninguna otra unidad estructural, es un mineral estable (Klein y Hurlbut, 2001).

Un hallazgo que llama la atención es la tremolita (anfíbol), la cual posee un hábito prismático con secciones basales bien desarrolladas. A veces presenta cristales fibrosos y su concentración aumenta cuando hay contenido de hierro en los suelos (USDA, 2017).

Otro mineral encontrado en la fracción **tierra fina** y en mayor concentración en la fracción **arcilla** de los suelos (**Tabla 13**), es la caolinita, la cual influye en el intercambio de cationes en el suelo facilitando la absorción de nutrientes de parte de las plantas (Nigam et al. 2014; Rakhsh et al. 2017).

Los minerales del grupo de la caolinita pueden formarse por meteorización y/o pedogénesis en suelos como también por otros procesos geológicos como el hidrotermalismo (Imbelloni et al., 2016).

Tabla 13. Análisis mineralógico semicuantitativo de la fracción tierra fina (<2 mm) de las muestras de suelo estudiadas

Tipo de Suelo Tierra Fina	Región					
	Zulia			Tibú		
	1	2	3	1	2	3
Clorita	xx	x	xx	xx	xx	xx
Illita (K-mica)	x	x	x	x	x	x
Tremolita	xx	x	x	x	x	x
Cuarzo	xxx	xxxx	xx	xxxx	xxxx	xxxx
Caolinita	x	x	x	x	x	x
Feldespato de K	x	x	x	xx	xx	xx
Plagioclasa	xxx	x	xxx	xx	xx	x
Óxido de hierro	x	x	x	x	x	x
Minerales	x	x	x	x	x	x
Interestratificados						
Esmectita		xx				
Talco		x				

Clave de contenidos: x, <5%; xx, 5 – 15%; xxx, 15 – 30%; xxxx, 30 – 50%; xxxxx, >50%

Clorita $(Mg,Fe)_3(Si,Al)_4O_{10}(OH)_2 \cdot (Mg,Fe)_3(OH)_6$; Illita (K-mica) $(K,H_3O)(Al, Mg, Fe)_2(Si, Al)_4O_{10}[(OH)_2,(H_2O)]$; Tremolita $(Ca_2Mg_5Si_8O_{22}(OH)_2)$; Cuarzo SiO_2 ; Caolinita $(Al_4Si_4O_{10}(OH)_8)$; Feldespato de K $(KAlSi_3O_8)$; Plagioclasa $(Na,Ca)(Si,Al)_3O_8$; Óxido de hierro Fe_2O_3 ; Esmectita $Mg_3Si_4O_{10}(OH)_2$.

Mediante la caracterización por DRX fue posible identificar y cuantificar los minerales presentes en las muestras y de esta forma, comprender mejor su función en el suelo y las implicaciones que puede tener o no en el cultivo de cacao.

En el **Anexo 5** se presenta un ejemplo de los difractogramas obtenidos de las seis muestras, para los cuales se realizó la identificación mediante rayos X.

A partir de los difractogramas, entre los minerales hallados, se encontró tremolita en mayor concentración en el suelo (tierra fina) del Zulia. La tremolita pertenece a la clase mineral de los silicatos y dentro de esta a la familia de los inosilicatos, que tienen tendencia a generar partículas de hábito acicular, friable, fibroso y alargado, se puede liberar fácilmente en el medio ambiente como resultado de procesos naturales y actividades antropogénicas (Dichicco et al., 2008).

Las partículas asbestiforme cuando tienen un tamaño superior a las 5 micras son potencialmente carcinogénicas y en concreto producen cáncer de pulmón por inhalación (Abrahams, 2002; McDonald et al., 2004; Thompson et al., 2011).

Es por ello que conlleva riesgo para la salud la cercanía a minas de estos minerales asbestiforme o materiales sedimentarios o suelos que los contengan en cantidades importantes.

Los suelos ricos en materiales asbestiforme presentan riesgo para los agricultores cuando realizan labores en ellos, ya que durante la etapa de sequedad generan polvo que puede ser inhalado con el consiguiente riesgo para la salud (Ross, 1992; Senyigit et al., 2004; Hendrickx, 2008; Pozo y Carretero, 2008).

Tabla 14. Análisis mineralógico semicuantitativo de los filosilicatos de la fracción arcilla (<2 µm) de las muestras de suelo estudiadas

Tipo de Suelo Arcilla Agregado orientado	Región					
	Zulia			Tibú		
	1	2	3	1	2	3
Clorita	x	xx	x	xx	xx	xx
Illita (K-mica)	xxxx	x	xxxx	xx	xx	xx
Caolinita	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx
Minerales Interestratificados	xx	xxx	xx	xx	xx	xx
Esmectita	x	x	xx	x		

Clave de contenidos: x, <5%; xx, 5 – 15%; xxx, 15 – 30%; xxxx, 30 – 50%; xxxxx, >50%

Clorita $(\text{Mg,Fe})_3(\text{Si,Al})_4\text{O}_{10}(\text{OH})_2 \cdot (\text{Mg,Fe})_3(\text{OH})_6$; Illita (K-mica) $(\text{K,H}_3\text{O})(\text{Al, Mg, Fe})_2(\text{Si, Al})_4\text{O}_{10}[(\text{OH})_2,(\text{H}_2\text{O})]$; Caolinita $(\text{Al}_4\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_8$; Esmectita $\text{Mg}_3\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_2$.

Para comprobar que las partículas de tremolita presente en los suelos estudiados no constituyen un riesgo para la salud desde el punto de vista de la carcinogénesis, se observaron muestras de arena fina en el estereomicroscopio (Olympus KL 1500 LCD), para determinar la forma de los anfíboles encontrados (tremolita).

En las **Figuras 34 y 35** se observa que tanto en las arenas de los suelos de Zulia como Tibú la forma de los anfíboles no es fibrosa (relación ancho-largo >10) (Derbyshire, 2007), por lo tanto, se descarta la posibilidad de que la tremolita detectada pueda causar algún problema de intoxicación (asbestosis) por inhalación de estas partículas minerales.

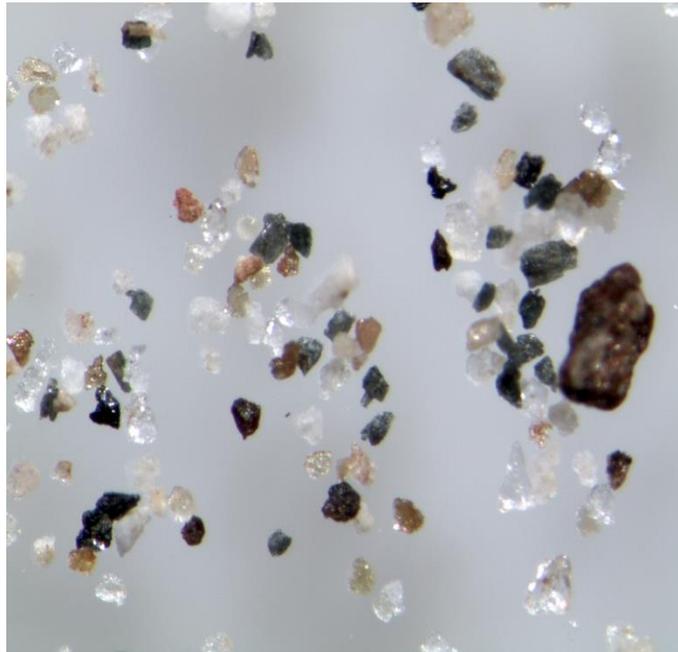


Figura 34. Fotografía arena fina (50-200 μm) suelo de Zulia

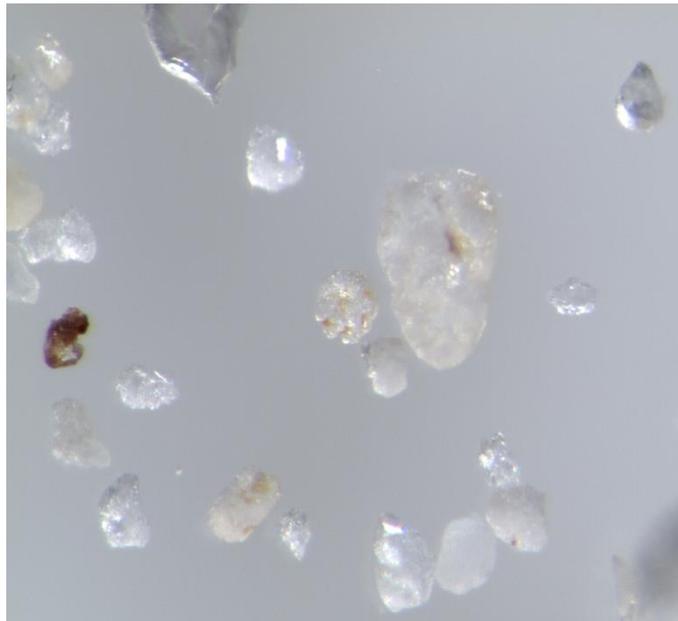


Figura 35. Fotografía arena fina (50-200 μm) suelo de Tibú

Retención de agua

Es importante tener en cuenta la capacidad de retención de agua de los suelos estudiados, ya que la planta de cacao es sensible a la falta de agua, pues afecta el poder fotosintético de las hojas y por ende el poder de producción de la planta (Enríquez, 1985).

La **Tabla 15** muestra que los suelos de Tibú, según la disponibilidad de agua para las plantas, son los más susceptibles a secarse y provocar deficiencias de humedad en las plantas de cacao.

Si no existe un adecuado suministro de agua y una buena distribución de las lluvias, las plantas de cacao en la zona de Tibú tendrán mayores deficiencias del agua disponible; sin embargo, en esta zona hay un adecuado nivel de pluviosidad (volúmenes de lluvias cercanos a los 5000 mm al año) (Ideam, 2021).

Tabla 15. Contenido de humedad retenida a 33 KPa y 1500 KPa expresado como % de agua retenida

Suelo	Agua retenida a -33 KPa (%)	Agua retenida a -1500 KPa (%)	Agua Util (mm/cm)
Zulia	29,90	15,72	1.84
Tibú	15,11	6,64	1.2

4.3.3 Propiedades químicas

Los suelos estudiados presentan características diferentes, aunque de forma general ambos suelos presentaron pH ácido y bajo contenido de materia orgánica y capacidad de intercambio catiónico.

Todas las características de ambos suelos se encuentran descritas a continuación.

pH

Respecto al análisis de pH (en H₂O y KCl) se encontraron los resultados que se presentan en la **Tabla 16**. La diferencia en los valores de pH en agua y KCl indican una alta acidez potencial asociada a la presencia de aluminio cambiante, catión que puede limitar el desarrollo exitoso del cultivo por sus efectos sobre la nutrición mineral y crecimiento radical.

El pH de los suelos fluctuó entre muy fuertemente ácidos (pH promedio = 4,92) existiendo una posible toxicidad por efecto del aluminio y manganeso, a ligeramente ácidos (pH promedio=5,83), (AEFA, 2020; USDA, 2017). En general, los suelos estudiados presentan valores de pH inferiores a los reportados como adecuados por Wood y Lass (1985), Wessel (1971) y Enríquez (1985), para suelos cacaoteros (6,0 a 7,5 en la capa superficial).

Por otro lado, los pH más altos (pH>5,5) fueron encontrados en las plantaciones de cacao de El Zulia (media 5,8) y los valores menores (pH<5) en Tibú, estos valores menores posiblemente se deban a la mayor concentración de calcio en estos suelos (13% por encima en plantaciones del Zulia). La Unión Europea propuso las directivas de Kelley donde el pH típico en suelos ácidos no contaminados con metales pesados fluctúa entre 6 y 7, ligera contaminación se da entre pH de 5-6 y a medida que el pH disminuye la contaminación se incrementa, (Acevedo et al., 2005).

El pH se considera un indicador de la disponibilidad de nutrientes para las plantas, debido a su influencia en la solubilidad, movilidad, disponibilidad tanto de nutrientes como de contaminantes inorgánicos presentes en el suelo, así como de la actividad de los organismos del suelo, según la FAO (2020), para los cultivos agrícolas, el valor ideal del pH se encuentra en 6,5.

Tabla 16. Determinación de pH en los suelos de Tibú y El Zulia

Muestra de suelo	pH H ₂ O promedio	pH KCl promedio
Tibú 1	5,06	3,96
Tibú 2	4,83	3,87
Tibú 3	4,86	3,89
Media	4,9167 ± 0,072	3,91±0.027
Zulia 1	5,87	5,1
Zulia 2	5,78	4,33
Zulia 3	5,83	5,97
Media	5,8 ± 0,026	5,1 ± 0,42

Nitrógeno y relación C/N

Se encontró un valor de nitrógeno total de 0,15 % para Zulia y 0,23 % para Tibú. Enríquez (1985) presenta una alternativa para la clasificación de los suelos según el rango de fertilidad a partir de algunas de sus características físicas y químicas. Teniendo en cuenta la tabla de dicho autor y los datos obtenidos, se determina el rango de fertilidad de los suelos del Zulia (11.13%) y Tibú (4.08%), lo cual permite deducir que, en los suelos de Tibú, con fertilidad baja, es necesario realizar una enmienda para mejorar la relación carbono-nitrógeno (**Tabla 17**), el suelo de El Zulia muestra mayor disponibilidad de este nutriente.

Tabla 17. Determinación del rango de fertilidad relativa de los suelos estudiados

Muestra	Parámetro	Rango de fertilidad relativa	
		Obtenido	Enríquez (1985)
Zulia	Nitrógeno total % (Kjendahl)	0,15	Medio
	Relación C/N	11,13	Medio
Tibú	Nitrógeno total % (Kjendahl)	0,23	Medio
	Relación C/N	4,08	Bajo

K asimilable

En los suelos de Zulia se encontraron valores de 0,3 cmol⁺/kg y en Tibú de 1.3 cmol/kg. Según Aikpokpodion (2010) estos niveles de K asimilable son mayores al nivel crítico de potasio intercambiable (0,03 cmol⁺/kg) para plantaciones de cacao. El potasio es el macronutriente más requerido por la planta de cacao, ya que es un ion bastante móvil, que se pierde fácilmente a través de la escorrentía y la lixiviación de los suelos (Giron et al., 2001; Aikpokdion, 2010). Los suelos estudiados contienen, tanto en tierra fina como en la fracción arcilla, cantidades importantes de Illita, que es la mica potásica. El potasio de la Illita se encuentra en la interlámina y es relativamente disponible para las plantas. Se trata para algunos autores de un potasio de *reserva inmediata*, que fácilmente puede ser verdaderamente disponible en la solución del suelo (Navarro, 2013).

P asimilable

En las plantaciones de Tibú y el Zulia los valores medios de P disponible de los suelos evaluados fueron 27,44 µg/g para el Zulia y de 18,99 µg/g para Tibú, presentando una disponibilidad >10 µg/g; este valor es considerado como nivel crítico propuesto por Aikpokpodion (2010), ubicándose en el rango de alto (> 16 µg/g) según Enríquez (1985) para suelos de cacao. Valores de P disponible más bajos (<10 µg/g) según Ogunlade y Aikpokpodion (2006) están asociados a suelos que necesitan ser fertilizados para suplir estas deficiencias, debido a que los granos de cacao retiran del 6 a 8% del fosforo disponible en el suelo.

En un estudio realizado por León-Moreno et al. (2019) se encontraron valores de P asimilable de 11,3 µg/g, para Norte de Santander.

Bases y capacidad de cambio (CIC)

El proceso de cambio catiónico es el que permite poner a disposición de la planta los elementos nutrientes mediante su paso a la disolución del suelo (Navarro y Navarro, 2013). Por tanto, la determinación de la CIC es indicador de la capacidad de retención de los elementos necesarios para nutrir a las plantas.

En nuestro estudio los valores fluctuaron entre 27,3 y 8,9 mEq/g para los suelos de Zulia y Tibú, respectivamente. Cuanto mayor sea la capacidad de intercambio, mayor será la fertilidad natural del suelo. Según Amores et al. (2010) y Pico et al. (2012) en suelos de producción de cacao en Ecuador, el valor óptimo de CIC está en el rango de 19,35 a 30 cmol⁺/kg. En otro estudio realizado por Ololade et al. (2010) en cultivos de cacao en Nigeria se concluyó que los mayores valores de CIC están relacionados posiblemente al mayor contenido de arcilla y materia orgánica en estos suelos. Los anteriores resultados son similares a lo observado en nuestro estudio, donde consideramos que el contenido de arcilla de los suelos (29,73% para Zulia y 21,12% para Tibú) influyó en los valores de CIC alcanzados, encontrando que los minerales predominantes (illita, caolinita y clorita) suponen un aporte valioso al proceso de cambio catiónico, además de lo aportado por la materia orgánica.

Tabla 18. Bases de Cambio y CIC

Bases de cambio (mEq 100g⁻¹)	Suelo	
	Zulia	Tibú
Ca	18,31	6,04
Mg	4,70	2,70
Na	0,45	0,09
K	0,30	0,07
CIC	27,30	8,90

El suelo de Tibú, por tener mayor contenido de arena, menor MO y pH presentó un bajo CIC, lo que indica baja habilidad de retener cationes (Ca, Mg, Na, K, NH₄ etc.), disponibilidad y cantidad de nutrientes a la planta (**Tabla 18**). Los valores encontrados de CIC del Zulia se diferencian de lo encontrado por Valenzuela y Visconti (2018) y León-Moreno et al. (2019) en suelos en esta misma región, atribuimos la diferencia a los minerales constitutivos del suelo, pues en el mencionado estudio estos no se especifican. Los datos encontrados en Tibú concuerdan con lo reportado por los mencionados autores.

Materia orgánica

En Zulia se encontraron valores promedio de materia orgánica (MO) de 2,79%, mientras que en Tibú la concentración fue menor (1,53%). En suelos de Ecuador se encontró una variación de % de MO de 0,19 a 13,1 con una media de 2,59 (Arguello et al., 2019). Estos valores son bajos, ya que según Enríquez (1985) la materia orgánica debería de ser > 6, considerándose baja valores < 3. El valor de materia orgánica propuesto de MO para el cultivo del cacao varía según los autores consultados: según Wessel (1971) es de 3,02; Paramanathan (2000) 2,57; García-Lozano et al. (2004) > 3,0; Snoeck et al. (2016) 2,93 y Arvelo (2017) >3%.

La materia orgánica, de forma general, influye en las propiedades del suelo que contribuyen a la calidad de los suelos como la densidad aparente, estructura, acidez, disponibilidad de nutrientes y disminución de la disponibilidad de metales pesados (Bot y Benítez 2005; Alloway, 2013). En un estudio realizado por León-Moreno (2019) encontró para Norte de Santander valores promedio de 2,2, datos cercanos a los encontrados en este estudio. Arguello-Navarro et al. (2016), encontraron en suelos

cacaoteros de Norte de Santander, un porcentaje de materia orgánica que osciló entre 0,81 y 2,59 %, valor que según Rojo y Urbano (1992) es deficiente para este tipo de cultivo.

Una posible explicación de estos niveles bajos de MO, pueden atribuirse a que la materia orgánica se afecta por la temperatura del ambiente, cuando esta es superior a 25°C, se descompone rápidamente, llegándose al caso de que la descomposición es más rápida que la incorporación (Enríquez, 1985), la temperatura promedio en las zonas estudiadas es de 28°C.

Extracción de minerales con DTPA

Para complementar la información sobre los suelos y entender su comportamiento en relación con las variables estudiadas y con la posible contaminación con metales pesados, se realizó un análisis de elementos extraíbles con DTP por ICP-OES, cuyos resultados se observan en la **Tabla 19**.

El contenido de aluminio (Al) en los suelos del Zulia fue < 12 mg/kg, mientras que los valores para los suelos de Tibú fueron > 50 mg/kg, estos valores altos de Al coinciden con los valores más bajos de pH.

En cuanto a los valores de calcio, fluctuaron entre 645,2 mg/kg y 0,0 mg/kg en Zulia y Tibú, respectivamente. Se observa una relación directa entre valores altos de calcio con valores altos de pH, como es el caso de los suelos del Zulia.

Tabla 19. Extracción de minerales con DTPA en suelos de Zulia y Tibú

Región	Muestra	Al	Ca	Cr	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Mo	Na	Ni	P	Pb	S	Zn
mg/kg																
Zulia	DTPA Z1	4,47	594,6	0,05	2,30	101,9	24,65	298,5	46,75	0,00	154,2	0,99	13,96	0,00	0,00	15,31
	DTPA Z2	11,54	510,1	0,00	0,20	78,32	5,59	529,5	8,78	0,12	230,3	0,29	13,42	0,00	83,3	1,11
	DTPA Z3	0,11	831,0	0,00	2,30	88,46	90,82	418,8	35,11	0,00	202,8	0,86	8,48	0,33	49,7	7,50
	Prom	5,37	645,2	0,02	1,60	89,55	40,35	415,6	30,22	0,04	195,8	0,71	11,95	0,11	44,3	7,97
	Desv stan	5,77	166,4	0,03	1,21	0,93	44,73	115,6	19,45	0,07	38,56	0,37	3,02	0,19	41,9	7,11
Tibú	DTPA T1	56,25	0,00	0,00	0,93	11,82	1,41	17,34	6,32	0,13	168,3	0,08	5,88	0,91	40,8	0,02
	DTPA T2	46,83	0,00	0,00	0,53	90,46	3,32	15,42	4,98	0,00	57,77	0,06	6,06	0,61	21,5	0,00
	DTPA T3	54,27	0,00	0,00	0,60	104,8	0,00	5,06	3,83	0,06	2,04	0,09	3,28	0,70	18,3	0,00
	Prom	52,45	0,00	0,00	0,69	85,69	1,58	12,61	5,04	0,06	76,03	0,08	5,07	0,74	26,9	0,01
	Desv stan	4,97	0,00	0,00	0,21	21,91	1,66	6,60	1,25	0,07	84,61	0,01	1,56	0,16	12,2	0,01

El contenido de magnesio extraíble en los suelos estudiados varió entre $8,09 \pm 2,64$ y $0,21 \pm 0,12$ cmol^+/kg . Los suelos de Tibú mostraron valores de magnesio extraíble por debajo de los niveles críticos para suelos productores de cacao propuestos por diversos autores: $0,8$ cmol^+/kg según Aikpokpodion (2010) y Enríquez (1985), de $1,0$ según García-Lozano et al. (2004) en suelos colombianos y de $0,9$ según Barrezuela-Unda (2019) en suelos de Ecuador. El contenido de Mg del suelo de Zulia excede los límites óptimos planteados por los mencionados autores.

Se pudieron apreciar diferencias estadísticamente significativas $p < 0,05$ entre las zonas de Zulia y Tibú en cuanto al Ca, K, Mg, Mn, Na, P, S y Zn, en los demás parámetros químicos (Al, Cr, Cu, Fe, Ni) no hubo diferencias estadísticamente significativas $p > 0,05$.

Es necesario aclarar que los valores extraídos con DTPA son diferentes a lo encontrado por los autores citados, ya que no se trata de las formas disponibles reales del suelo (por la diferencia en los métodos de extracción); sin embargo, son indicativas de una tendencia.

En los suelos estudiados, con valores de pH inferiores a $5,5$ (Tibú), se puede restringir el desarrollo normal del árbol de cacao, principalmente debido a la presencia de aluminio (Al), hierro (Fe) y manganeso (Mn). Esto puede ocasionar toxicidad en el cultivo e impedir la absorción del fósforo (P) del suelo y a la vez restringir la disponibilidad de calcio (Ca), magnesio (Mg) y molibdeno (Mo) limitando la producción (Kochian et al., 2004).

Se analizaron los resultados hallados de los elementos minerales en las hojas de los arboles cultivados en los dos suelos (**Tabla 20**) y no se evidenció diferencia estadísticamente significativa ($p\text{-valor} > 0,5$), entre la variable suelo.

Tabla 20. Elementos minerales en hojas de árboles productores de cacao

Elementos minerales (mg/kg)													
Muestra	Al	Ca	Cr	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Mo	Na	Ni	P	Zn
Hojas Zulia	0,80	151,5	0,06	0,04	1,01	253,7	151,4	5,75	0,03	6,51	0,04	60,44	1,02
Hojas Zulia	0,70	231,7	0,07	0,03	0,81	261,5	151,4	5,63	0,00	6,47	0,05	80,19	1,01
Prom	0,75	191,6	0,07	0,03	0,91	257,6	151,4	5,69	0,01	6,49	0,04	70,31	1,01
Desv stan	0,07	56,7	0,00	0,00	0,14	5,52	0,05	0,08	0,02	0,03	0,01	13,97	0,01
Hojas Tibú	0,61	126,5	0,05	0,02	0,60	207,2	108,2	2,78	0,09	10,87	0,17	82,98	2,00
Hojas Tibú	0,68	112,3	0,06	0,05	0,68	208,1	109,6	2,85	0,00	10,01	0,16	69,38	2,08
Prom	0,65	119,4	0,06	0,03	0,64	207,6	108,9	2,81	0,05	10,44	0,17	76,18	2,04
Desv stan	0,05	9,99	0,01	0,02	0,05	0,64	0,98	0,05	0,07	0,61	0,01	9,62	0,06

Las diferentes variables estudiadas son útiles para monitorizar cambios por manejo, degradación o contaminación del suelo y son útiles para que tanto agricultores, como entidades públicas y privadas encargadas del acompañamiento, vigilancia y control puedan realizar acciones que permitan la realización de una producción sostenible con el medio ambiente, rentable y que resguarde la salud tanto de productores como de consumidores.

4.3.4 Ensayo de remediación del cadmio

Como se indicó en los objetivos y se desarrolló en la metodología, se ha realizado un ensayo de remediación de cadmio en los suelos estudiados, empleando para ello la adición como enmienda orgánica de 2 tipos de biochar (procedentes de SCG y de la cáscara de mazorca de cacao) y de los SCG frescos a los suelos ensayados (Zulia y Tibú) como se observa en la **Figura 36**.

Se ensayaron también los efectos de distintas dosis (0, 5, 10 y 15%) y del tiempo de incubación (0, 45 y 90 días).



Figura 36. Suelos provenientes de El Zulia y Tibú con la dosis de residuo según diseño experimental antes de ser envasados para su incubación

Además del estudio de la remediación de cadmio también se analizaron, tras la incubación, los parámetros de pH, CE y carbono orgánico. A continuación, exponemos y comentamos las propiedades de los suelos citadas tras el ensayo.

pH

Para el residuo de posos de café (SCG) agregado al suelo de Zulia, en la **Tabla 20** se observa que al tiempo 0 y a medida que se agregan las dosis de biochar hay una tendencia en la disminución del pH; a partir de la evolución del ensayo (45 y 90 días) respecto al tiempo 0 y dosis 0 (control) se observa disminución del pH. Al agregar el 5 % de SCG (y demás dosis) el pH aumenta progresivamente durante 45 y 90 días respecto al valor inicial y respecto al control (cuándo no se ha agregado ninguna dosis). En el caso

del suelo de Tibú, también en el tiempo 0 y dosis 0 se observa una disminución del pH, y a diferencia del suelo del Zulia, a los 45 días hay incremento de pH desde la dosis 0 a tiempo 0. Con la adición del 5 % de SCG, el pH se mantiene constante, disminuye al 10% pero aumenta con un 15% de dosis. A los 90 días la muestra con 0 dosis presentó una notable disminución del pH. Sin embargo, cuando se agregan diferentes dosis de SCG, los pH son mayores.

En estudios realizados por Cervera-Mata et al. (2019) se encuentra que cuando se añaden posos de café a suelos agrícolas mediterráneos hay correlación entre la absorción de elementos y la enmienda de SCG (con la disminución del pH del suelo) debido a la mayor acidez del SCG. Con el paso del tiempo, el pH aumenta hasta valores cercanos a la inicial y argumentan que dicho aumento es debido a la capacidad amortiguadora de los suelos estudiados que son ricos en carbonatos.

El mismo comportamiento encontrado en nuestro caso, disminución inicial y aumento final, puede deberse a una primera fase de absorción de elementos minerales sobre las partículas de enmienda, lo que contribuye a una acidificación del suelo. Posteriormente, cuando estas partículas se van transformando en el suelo por mineralización, estos elementos minerales retornarían a la solución del suelo y el pH volvería a elevarse.

Para el suelo de Zulia, el SCG_{char} a los 45 días, presentó un comportamiento similar de aumento del pH a medida que pasa el tiempo y con el aumento de las dosis al 5 y 15%. A los 90 días el aumento se da con la adición de todas las dosis (**Tabla 21**).

Para el suelo de Tibú a los 45 días, el aumento del pH se observa más homogéneo a lo largo del incremento de las dosis. Sin embargo, a los 90 días en la dosis 0, el pH

disminuye y aunque aumenta a través del incremento de las dosis, no alcanza los mismos valores del control ni de la dosis de 15% a los 45 días.

Tabla 21. Variación del pH con la adición de biochars

Residuo	Suelo	Tiempo (días)	Dosis			
			0	5	10	15
SCG	Zulia	0	6,26±0,02	6,02±0,06	5,96±0,02	6,15±0,03
		45	6,22±0,13	6,35±0,09	6,38±0,02	6,68±0,19
		90	6,12±0,07	6,23±0,02	6,33±0,04	6,45±0,06
	Tibú	0	5,04±0,03	4,74±0,06	4,77±0,11	4,97±0,02
		45	5,33±0,01	5,33±0,01	5,28±0,03	5,37±0,03
		90	3,67±0,01	4,85±0,36	5,01±0,06	4,99±0,03
SCG _{char}	Zulia	0	6,26±0,02	6,3 ±0,07	6,40±0,09	6,76±0,03
		45	6,22±0,13	6,40±0,12	6,11±0,34	6,69±0,16
		90	6,12±0,07	6,23±0,03	6,27±0,36	6,54±0,03
	Tibú	0	5,04±0,03	5,31±0,02	5,41±0,01	5,50±0,02
		45	5,33±0,04	5,51±0,02	5,64±0,14	5,88±0,04
		90	3,67±0,01	4,50±0,04	4,59±0,02	4,69±0,02
Cacao _{char}	Zulia	0	6,26±0,02	6,02±0,06	5,96±0,02	6,15±0,03
		45	6,22±0,13	6,55±0,12	6,80±0,18	7,15±0,14
		90	6,12±0,07	6,23±0,03	6,27±0,36	6,54±0,03
	Tibú	0	5,04±0,03	5,72±0,01	6,16±0,06	6,54±0,05
		45	5,33±0,04	5,87±0,05	6,23±0,01	6,71±0,01
		90	3,67±0,01	4,90±0,04	5,50±0,03	6,14±0,03

SCG: posos de café; SCG_{char}: biochar de posos de café a 400°C; Cacao_{char}: biochar de cascara de mazorca de cacao a 400°C

Cuando se adiciona Cacao_{char} al suelo de Zulia, se observa que para el tiempo 0, a medida que se incrementa la dosis el pH disminuye. A partir de la evolución del ensayo (45 y 90 días) aunque en el control se observa una disminución del pH, al agregar las respectivas dosis de Cacao_{char}, este biochar hace que aumente progresivamente el pH respecto al valor inicial y respecto al control (no se ha agregado ninguna dosis) mostrando un máximo de pH al 15% de dosis a los 45 días. En cuanto al pH de las muestras del suelo de Tibú, se observa desde el tiempo 0 y 45 día (con la adición del porcentaje más bajo de Cacao_{char}) un aumento del pH; sin embargo, se presentó una notable disminución del pH

a los 90 días en la dosis 0 y al igual que en los casos anteriores, con la adición de los diferentes porcentajes de residuo el pH aumentó. Así, al igual que en el caso del suelo de Zulia, el mayor aumento de pH se presentó con el 15 % de biochar a los 45 días.

Se observa un cambio notable del pH entre agregar y no agregar enmienda al suelo, resaltando en nuestro estudio que con la adición de dosis de 15% de CacaO_{char}, el pH aumenta, lo cual es importante para este tipo de suelos que, por sus características morfológicas y de alta pluviosidad, tienen tendencia a la disminución del pH, la **Figura 37** da evidencia de la preparación de las muestras para realizar las pruebas de conductividad y pH.

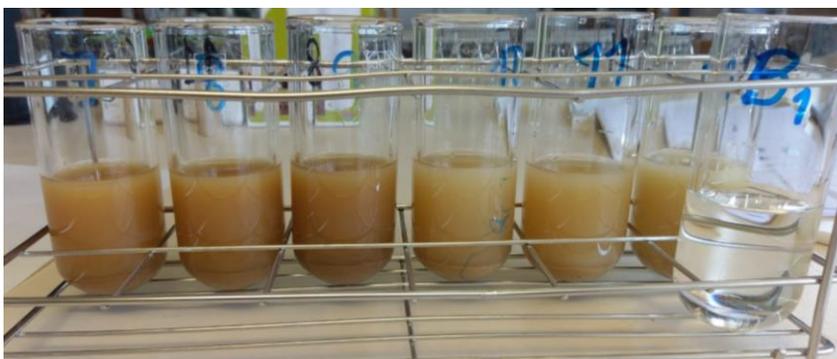


Figura 37. Extracto del suelo para medir conductividad y pH de los suelos de Zulia y Tibú

Conductividad eléctrica (CE)

La medida de la salinidad en los suelos mediante la CE se vio afectada de diferente manera según el residuo añadido y el tiempo de incubación. El comportamiento de la adición de SCG en el suelo de Zulia y Tibú, sobre la CE, se presenta en la **Tabla 22**. Se puede observar en el tiempo 0 que a medida que se agregan las dosis del biochar hay un incremento en esta variable; a los 45 y 90 día, al contrario que la tendencia anterior, se observa una disminución de la CE. Los resultados sobre la modificación del pH y la CE

por la adición de SCG corroboran lo encontrado por Kasongo et al. (2011) en un ensayo similar en suelos (arenosoles) bajo condiciones tropicales húmedas y con los resultados de Cervera et al. (2018) en suelos mediterráneos, atribuyendo estos resultados a la actividad de absorción de parte de las plantas o a la disminución de la salinidad por la transformación de los residuos orgánicos que produjeron retención de iones (mayor capacidad de intercambio catiónico).

Tabla 22. Variación de la CE ($\mu\text{S}/\text{cm}$) con la adición de biochars

Residuo	Suelo	Tiempo(días)	Dosis				
			0	5	10	15	
SCG	Zulia	0	110,8 \pm 2,4	158,5 \pm 4,9	183,4 \pm 8,7	242,7 \pm 80,0	
		45	261,8 \pm 7,7	176,0 \pm 6,5	91,2 \pm 2,8	89,1 \pm 1,8	
		90	322,2 \pm 17,0	276,0 \pm 6,0	204,3 \pm 20,1	149,4 \pm 22,1	
	Tibú	0	70,7 \pm 6,6	103,8 \pm 7,0	127,4 \pm 6,5	156,3 \pm 11,9	
		45	97,2 \pm 5,4	72,5 \pm 7,5	79,3 \pm 4,7	73,4 \pm 2,5	
		90	158,4 \pm 8,0	75,8 \pm 6,9	67,4 \pm 3,6	68,1 \pm 4,8	
	SCG _{Char}	Zulia	0	110,8 \pm 2,4	141,4 \pm 10,0	153,9 \pm 9,7	135,7 \pm 6,0
			45	261,8 \pm 7,7	236,0 \pm 7,1	235,6 \pm 7,6	233,6 \pm 14,7
			90	322,2 \pm 17,0	300,8 \pm 9,7	281,8 \pm 9,2	149,4 \pm 22,1
Tibú		0	70,7 \pm 6,6	79,1 \pm 3,4	97,5 \pm 3,5	86,6 \pm 2,0	
		45	97,2 \pm 5,4	99,3 \pm 9,3	110,8 \pm 14,4	98,3 \pm 2,9	
		90	158,4 \pm 7,9	146,7 \pm 0,1	147,7 \pm 4,7	145,3 \pm 4,7	
CacaO _{Char}		Zulia	0	110,8 \pm 2,4	219,6 \pm 9,2	312,8 \pm 19,2	404,4 \pm 19,3
			45	261,8 \pm 7,7	265,0 \pm 9,0	278,8 \pm 5,5	314,0 \pm 9,6
			90	322,2 \pm 17,0	303,0 \pm 13,3	331,8 \pm 18,7	355,0 \pm 14,5
	Tibú	0	70,7 \pm 6,6	151,7 \pm 1,6	263,0 \pm 2,8	406,2 \pm 10,5	
		45	97,2 \pm 5,4	181,9 \pm 42,2	246 \pm 7,2	279,0 \pm 3,8	
		90	158,4 \pm 7,9	204,2 \pm 6,3	244,8 \pm 9,4	299,8 \pm 9,7	

El SCG_{char} en el tiempo 0, tanto para el suelo de Zulia como Tibú, la CE aumentó muy levemente con las dosis, pero sí aumenta en mayor proporción con los días. En todos los casos, el suelo de Tibú presentó menor CE con los días, encontrando un aumento con la adición de las dosis de 5 y 10%, y disminución con la dosis de 15% respecto a la

anterior dosis, (10%), pero mayor a la CE del tiempo 0 (70,32%). A los 45 días se encontró una disminución progresiva de la conductividad con las dosis para el suelo de Zulia, mientras que para Tibú el aumento continuó, especialmente con las dosis 5 y 10%. A los 90 días el comportamiento de la CE fue similar en ambos suelos, disminuyendo a medida que se incrementan las dosis.

Con el ensayo con Cacao_{char}, tanto para el suelo Zulia como Tibú, se observó un aumento de la CE tanto a los 45 como a los 90 días, y es con este residuo donde se presentan los valores más altos de esta variable, en especial a la concentración de 15% en el tiempo 0 y a los 90 días. Estos resultados son de esperar porque este residuo tiene más contenido de elementos y por esto aporta más salinidad al suelo, manteniéndose la misma con el tiempo.

El residuo con mejor comportamiento es el SCG, porque es el que menos incrementa la CE. Estos resultados son similares a los de Cervera Mata et al. (2018) quien atribuye el comportamiento descrito a la absorción por la actividad de las plantas y disminución de la salinidad por transformación de los residuos orgánicos.

Los aumentos mostrados con la adición de Cacao_{char}, no son significativos desde el punto de vista de la calidad del suelo.

Esta variable (CE) es importante en los suelos puesto que la salinidad reduce el potencial osmótico de la solución del suelo, reduciendo al mismo tiempo la disponibilidad de agua para las plantas. En un estudio realizado por Cortes et al. (2013) se demostró que existe correlación entre la conductividad eléctrica y el contenido Na, aun cuando se usen enmiendas en el suelo. Corwin et al. (1999) propone que la CE se ve influenciada por el contenido de agua, el de arcilla y la presencia de iones intercambiables en el suelo.

Carbono orgánico

El carbono orgánico es una variable importante para la fertilidad del suelo y que presenta relación directa con las variables antes estudiadas. En el caso de la aplicación de SCG en el suelo Zulia y Tibú se puede observar (**Tabla 23**) de forma general un aumento del contenido de carbono orgánico a medida que se incrementan las dosis, lográndose en ambos suelos el mayor incremento en el día 45 a la concentración de 15%. La adición de SCG_{char} mostró aumentos importantes en la concentración de CO para los dos suelos, siendo con este residuo donde se alcanzan los valores más altos (2,35% para Zulia y 2,74% para Tibú a los 45 días).

Tabla 23. Variación del % CO con la adición de biochar

Residuo	Suelo	Tiempo (días)	Dosis (%)				
			0	5	10	15	
SCG	Zulia	0	1,60±0,07	1,84±0,07	2,08±0,07	2,32±0,07	
		45	1,37±0,05	1,47±0,06	1,55±0,01	1,74±0,03	
		90	1,29±0,09	1,33±0,065	1,51±0,08	1,37±0,09	
	Tibú	0	0,55±0,04	0,79±0,038	1,03±0,04	1,27±0,04	
		45	0,69±0,19	0,85±0,14	0,61±0,52	1,03±0,06	
		90	0,52±0,03	0,73±0,017	0,74±0,11	0,71±0,02	
	SCG _{Char}	Zulia	0	1,60±0,07	1,80±0,07	2,02±0,07	2,23±0,07
			45	1,37±0,05	1,71±0,12	1,89±0,04	2,35±0,05
			90	0,85±0,74	1,54±0,37	1,87±0,35	2,06±0,21
Tibú		0	0,55±0,04	0,76±0,04	0,96±0,04	1,17±0,04	
		45	0,69±0,19	0,84±0,07	1,30±0,10	2,74±0,01	
		90	0,52±0,03	0,72±0,11	1,14±0,13	1,31±0,13	
Cacao _{Char}		Zulia	0	1,60±0,07	1,73±0,07	1,87±0,07	2,00±0,07
			45	1,37±0,05	1,63±0,06	1,71±0,13	1,99±0,01
			90	0,85±0,74	1,47±0,11	1,61±0,15	1,87±0,01
	Tibú	0	0,55±0,04	0,68±0,04	0,81±0,04	0,94±0,04	
		45	0,69±0,19	0,92±0,16	0,93±0,01	1,07±0,01	
		90	0,52±0,03	0,75±0,09	0,99±0,02	1,04±0,08	

El Cacao_{char} genera un efecto similar de aumento del % de CO a medida que se agrega, haciéndose más evidente con las dosis de 10 y 15 % en los 3 tiempos de medición del ensayo. SCG_{char} y Cacao_{char} son los residuos que tienen mayor resistencia, o sea, que menos se degradan en el suelo con el paso del tiempo, siendo el Cacao_{char} el más resistente. Esta propiedad es importante en los suelos porque se mejoran las propiedades físicas.

En los ensayos realizados los efectos de la aplicación de los diferentes residuos sobre el sistema suelo planta permitieron observar que las diferentes variables estudiadas evolucionan de manera diferente a lo largo del tiempo y según el tipo de suelo.

Cadmio

Los biocarbones han sido estudiados por su uso potencial para reducir la biodisponibilidad y la lixiviación de los metales pesados, por ser materiales típicamente alcalinos que pueden aumentar el pH del suelo y por mejorar algunas propiedades físicas y nutricionales del suelo (Zhang et al., 2013; Kim et al., 2014; Cruz et al., 2014, 2015; Cervera-Mata et al., 2017; otros).

En el ensayo de remediación con SCG para Zulia en el tiempo cero y con la adición de diferentes dosis se observó una disminución del contenido en cadmio (**Tabla 24**). Sin embargo, a los 45 días no hubo cambios en la concentración del metal, aunque sí es evidente su disminución a los 90 días con las diferentes dosis.

Para el caso del suelo de Tibú hubo disminución respecto al control, presentando un comportamiento errático durante los 45 días e incremento la concentración de cadmio a 90 días con la agregación de distintas dosis.

Estos resultados estarían relacionados con la disminución del pH, que favorece la movilización de algunos elementos, entre ellos los metales pesados (Pauget et al., 2015; Gil et al., 2022). Es con este residuo y suelo donde se presenta la mayor detección de cadmio ($0,23\pm 0,017$ ppm).

Tabla 24. Variación de la concentración del cadmio con la adición de biochars

Residuo	Suelo	Tiempo(días)	Dosis (ppm)				
			0	5	10	15	
SCG	Zulia	0	$0,06\pm 0,006$	$0,05\pm 0,003$	$0,05\pm 0,005$	$0,04\pm 0,008$	
		45	$0,06\pm 0,004$	$0,06\pm 0,004$	$0,06\pm 0,006$	$0,06\pm 0,004$	
		90	$0,09\pm 0,002$	$0,08\pm 0,002$	$0,07\pm 0,005$	$0,15\pm 0,003$	
	Tibú	0	$0,12\pm 0,012$	$0,11\pm 0,009$	$0,09\pm 0,012$	$0,11\pm 0,011$	
		45	$0,11\pm 0,011$	$0,12\pm 0,019$	$0,11\pm 0,005$	$0,12\pm 0,041$	
		90	$0,17\pm 0,013$	$0,16\pm 0,015$	$0,23\pm 0,015$	$0,23\pm 0,017$	
	SCG _{Char}	Zulia	0	$0,06\pm 0,006$	$0,04\pm 0,007$	$0,08\pm 0,028$	$0,06\pm 0,004$
			45	$0,06\pm 0,004$	$0,06\pm 0,001$	$0,05\pm 0,004$	$0,06\pm 0,003$
			90	$0,09\pm 0,002$	$0,013\pm 0,003$	$0,05\pm 0,003$	$0,04\pm 0,002$
Tibú		0	$0,12\pm 0,012$	$0,10\pm 0,007$	$0,14\pm 0,007$	$0,13\pm 0,009$	
		45	$0,11\pm 0,011$	$0,11\pm 0,013$	$0,11\pm 0,015$	$0,11\pm 0,010$	
		90	$0,17\pm 0,013$	$0,18\pm 0,035$	$0,13\pm 0,007$	$0,11\pm 0,021$	
CacaO _{Char}		Zulia	0	$0,06\pm 0,006$	$0,07\pm 0,003$	$0,06\pm 0,004$	$0,08\pm 0,005$
			45	$0,06\pm 0,004$	$0,06\pm 0,005$	$0,05\pm 0,005$	$0,06\pm 0,004$
			90	$0,09\pm 0,002$	$0,04\pm 0,002$	$0,03\pm 0,005$	$0,02\pm 0,002$
	Tibú	0	$0,12\pm 0,012$	$0,10\pm 0,005$	$0,10\pm 0,042$	$0,14\pm 0,024$	
		45	$0,11\pm 0,011$	$0,08\pm 0,011$	$0,11\pm 0,014$	$0,06\pm 0,004$	
		90	$0,17\pm 0,013$	$0,10\pm 0,01$	$0,07\pm 0,011$	$0,10\pm 0,029$	

Con SCG_{char} en el suelo Zulía a tiempo cero se logró una disminución del cadmio al 5% de adición. A los 45 días la concentración de cadmio no varió mientras que a los 90 días se aumentó la concentración de cadmio, especialmente con la adición de un 15% ($0,15\pm 0,003$ ppm). En Tibú, en el tiempo 0, a medida que se agregaron distintas dosis se logró disminuir el contenido en cadmio. A los 45 días el comportamiento se incrementó la concentración de este metal pesado con la adición de un 5%, mientras que a los 90 días su disminución es notable con 10 y 15% de dosis de SCG_{char}. En el caso del suelo de Tibú, en el tiempo 0 se nota un incremento de cadmio con las dosis 10 y 15%.

A los 45 días no se produjo ningún proceso de remediación, pero si se observó una disminución de la concentración de cadmio a los 90 días al agregar las dosis 10 y 15%.

Durante la adición del residuo Cacao_{char} en el tiempo 0, para el suelo de Zulia se observó aumento de la concentración de cadmio. A los 45 días no hubo cambios, pero a los 90 días se dio una reducción drástica de la concentración de cadmio inicial, encontrando el menor valor (0.02 ± 0.002 ppm). Resultados similares se encontraron en el suelo de Tibú, donde a altas dosis y periodos más largos de tiempo se logró el mejor resultado de bloqueo del Cd, a la vez que se estimuló la actividad biológica por los compuestos nutritivos que puede aportar este residuo del fruto del cacao.

En resumen, se observa en el **Anexo 6**, que el SCG_{char} y Cacao_{char} tienen una mejor tendencia a la disminución del cadmio en los suelos estudiados a medida que pasa el tiempo (45 y 90 días). La concentración de cadmio en los suelos estudiados es, en promedio, menor respecto a lo reportado por Huauya y Huamaní en una investigación realizada en 2014 en la zona cacaotera de Norte de Santander, donde se encontraron valores de pH ácido en los suelos del Zulia y un contenido promedio de cadmio y plomo disponible de 0,53 y 3,02 ppm, respectivamente. En el caso de los suelos estudiados en la presente Tesis Doctoral el contenido de cadmio promedio no fue superior a $0,15 \pm 0,003$ para Zulia y de $0,23 \pm 0,017$ para Tibú, no detectando la presencia de plomo. Estos valores corresponden al límite más bajo de lo reportado por Bravo et al. (2021) en suelos cacaoteros colombianos, de 0,01 mg/kg y 27 mg/kg. En cada caso es importante tener en cuenta la toxicidad del suelo debida a los metales pesados y elementos asociados, como consecuencia directa de sus concentraciones en las fases bioasimilables (solución del suelo y las formas adsorbidas).

El Reglamento de la Comisión (CE) (2014) no establece niveles máximos de cadmio en suelos productores de cacao sino en los productos elaborados a base de cacao. Por ello se tomó como referencia el valor límite de concentración de cadmio en los suelos en España, que establece para suelos con pH menor a 7 un valor límite de 1 mg/kg y de 3.0 mg/kg para pH mayor a 7 (Real Decreto 1319, 1990). Teniendo en cuenta estos valores, las cantidades de cadmio en los suelos estudiados es menor a los niveles de referencia, y ahí es donde radica la importancia de este estudio, ya que permite que un subproducto obtenido durante el beneficio del cacao (como es la cáscara de la mazorca de cacao) en lugar de ser un contaminante, sea un residuo que transformado en biochar puede ser utilizado para prevenir el incremento de los niveles de este metal pesado en los suelos agrícolas productores de cacao. Esto sería una solución práctica y a bajo costo para los agricultores, quienes en muchos casos no pueden acceder a otro tipo de productos de remediación por requerirse la colaboración de expertos o de incurrir en gastos adicionales.

Determinación de cadmio en la cascarilla del grano y las hojas de la planta de cacao

Para complementar el presente trabajo se determinó el contenido de cadmio en la cascarilla del grano de cacao y en las hojas de las plantas productoras de cacao de las dos regiones estudiadas, El Zulia y Tibú. Se obtuvieron los siguientes resultados.

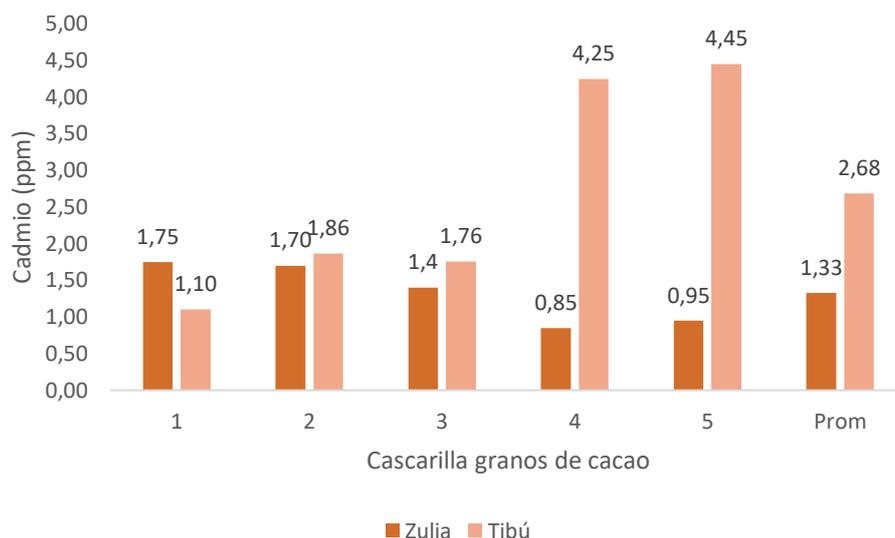


Figura 38. Concentracion de cadmio en la cascarilla del grano de cacao

Se observó que la cascarilla sirve como barrera para la concentracion de cadmio en el grano, puesto que fue mucho mayor la cantidad de este metal pesado en este subproducto del proceso de elaboración de chocolate. En la Figura 35 se puede ver que la casacrilla proveniente de los granos cultivados en Tibú tienden a concentrar mayor cantidad de Cd y que hay muestras que acumulan más este metal que otras.

En el tejido foliar (hojas) se hallaron valores promedio de cadmio de 1,17 ppm y 1,19 ppm para plantas cultivadas en suelos de Zulia y Tibú respectivamente (**Figura 39**). Las concentraciones de metales pesados presentan alta variabilidad según las regiones donde se hayan realizado los estudios. Los valores obtenidos en esta investigación sobrepasan lo propuesto por Kabata-Pendias (2000) de concentración máxima tolerable de cadmio de 0,5 ppm en hojas maduras, así como el valor promedio de cadmio disponible encontrado por Huamaní Yupanqui et al. (2012) de 0,21 ppm en hojas de arboles de cacao plantados en Perú. Meter et al. (2019) concluye que cuando hay contaminación de los granos con Cd, este se presenta en mayor concentración en las hojas que en los granos.

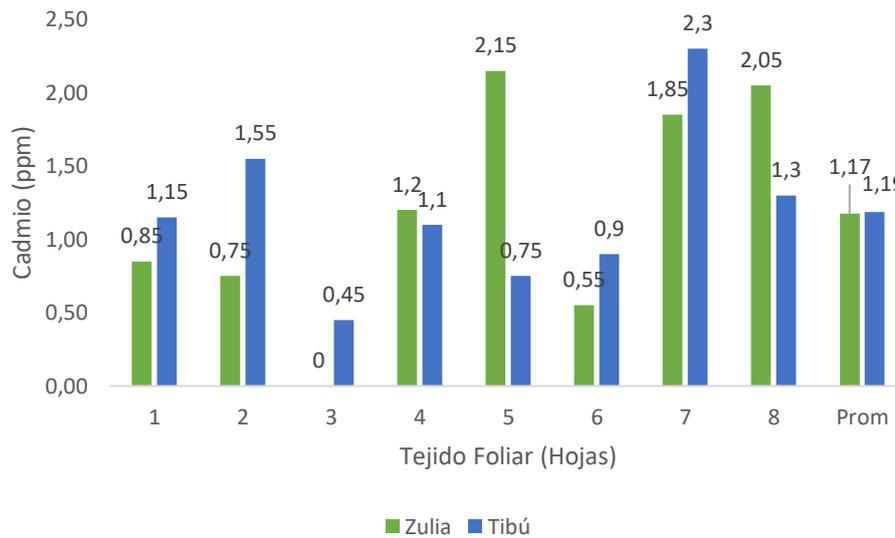


Figura 39. Concentracion de cadmio en el tejido foliar (hojas) del árbol de cacao

Un estudio en Colombia realizado por Rodríguez-Albarracín et al. (2019) observó que la hojarasca de cacao (hojas secas que caen al suelo) tiene un mayor contenido de cadmio que los granos y las hojas de cacao, con un promedio de 85,5 ppm, las hojas secas al biodegradarse y por lixiviación depositan estos iones metálicos en el suelo, los cuales son posteriormente asimilados por la planta.

4.3.5 Análisis estadístico de los resultados mediante Anova

Se realizo un análisis estadístico para evaluar la correlación entre las variables estudiadas.

Influencia del tipo de residuo

Los análisis se realizaron considerando un tipo de suelo constante, un 15% de dosis y 90 días de incubación. Se encontró que hay diferencias significativas ($p < 0.05$) entre la adición de los distintos tipos de residuos (SCG, SCG_{char} y Cacao_{char}) para las variables pH, CE, Cd y CO para el suelo de Tibú. En todos los casos la dosis de 15% de residuo, es la que incrementó significativamente ($p < 0.05$) la medida de pH (**Tabla 25**), respecto al control (sin enmienda).

Para el suelo proveniente del Zulia, con la adición de SCG se aumentó el pH según la cantidad suministrada, pero en el caso de Tibú, aunque se incrementó el pH, los cambios no fueron estadísticamente significativos para la dosis adicionada. El SCG_{char} en las dosis 5 y 10% no fue significativamente diferente al control, solo con la dosis al 15% para el suelo del Zulia.

Sin embargo, sí hubo diferencias significativas de pH según aumenta la concentración del residuo en el suelo de Tibú.

Tabla 25. Evolución del pH según el tipo de enmienda a los 90 días de incubación

Suelo	Dosis		Residuo		
	%	SCG	SCGchar	Cacaochar	
Zulia	0	6.124 ^a	6.124 ^a	6.124 ^a	
	5	6.226 ^b	6.234 ^a	6.634 ^b	
	10	6.326 ^c	6.268 ^a	6.852 ^c	
	15	6.454 ^d	6.540 ^b	7.008 ^d	
Tibú	0	3.674 ^a	3.674 ^a	3.674 ^a	
	5	4.848 ^b	4.498 ^b	4.900 ^b	
	10	4.990 ^b	4.594 ^c	5.502 ^c	
	15	5.008 ^b	4.692 ^d	6.136 ^d	

Nivel de significancia de 95%, Posthoc Tukey (0.05)

El Cacao_{char} es el residuo que incrementó significativamente ($p < 0.05$) la medida de pH respecto al control, mientras que el biochar afectó el pH de todos los suelos según la cantidad añadida. Para Zulia, esta enmienda mostró diferencias significativas con los demás tratamientos, lo que sostiene que en la enmienda con Cacao_{char} el pH aumenta significativamente.

Realizando múltiples comparaciones entre los suelos y el pH dependiendo de la enmienda empleada, para Tibú se encontró que hubo diferencias significativas entre la enmienda SCG y Cacao_{char}, mostrando que el pH aumenta con la adición de estos biochar. El predictor más significativo para la adsorción de Cd es la acidez.

Al pasar los días, según el tratamiento y por enmienda, se observó que el pH aumentó, tanto en Zulia como en Tibú, oscilando en valores de $6,02 \pm 0,02$ a $7,15 \pm 0,14$ y de $4,74 \pm 0,06$ a $6,71 \pm 0,01$, respectivamente.

Para ambas localidades se evaluó la dependencia de las variables pH y conductividad, cuyo valor no fue significativo, por lo que la conductividad y el pH no presentaron correlación alguna en este estudio.

La conductividad eléctrica indica la salinidad del suelo, atributo que, en el caso de estos suelos con tendencia a la acidez, no es favorable su incremento. Según la **Tabla 25**, la adición de SCG al suelo, ayuda a reducir la CE en mayor valor que los demás biochar.

Con el Cacao_{char} el mayor aumento, tanto en Zulia como en Tibú, se obtuvo especialmente al adicionar 15 % de biochar. De forma general se puede decir que el SCG y SCG_{char} disminuyeron la CE respecto al control.

Controlar la conductividad eléctrica es fundamental, puesto que un aumento en la salinidad puede incrementar la movilización de metales pesados y su retención por los cationes asociados con las sales (Na, K).

Tabla 26. Evolución de la CE según el tipo de enmienda a los 90 días de incubación

Suelo	Dosis	Residuo		
	%	SCG mg/kg	SCGchar	Cacaochar
Zulia	0	322.2 ^d	322.2 ^c	322.2 ^a
	5	276.0 ^c	300.8 ^{bc}	303.0 ^a
	10	204.3 ^b	281.8 ^{ab}	331.8 ^{ab}
	15	149.4 ^a	272.6 ^a	355.0 ^b
Tibú	0	158.4 ^b	158.4 ^b	158.4 ^a
	5	75.82 ^a	146.8 ^a	204.2 ^b
	10	67.38 ^a	147.7 ^{ab}	244.8 ^c
	15	68.10 ^a	145.3 ^a	299.8 ^d

Nivel de significancia de 95%, Posthoc Tukey (0.05)

Estos cationes pueden reemplazar a los metales pesados en lugares de intercambio catiónico o por los aniones cloruro que pueden formar complejos solubles estables con metales pesados tales como Cd, Zn y Hg (Adriano, 2001).

El carbono orgánico presentó incrementos significativos con la adición de SCG_{char} y Cacao_{char} en los dos tipos de suelos a concentraciones de 10 y 15% (**Tabla 27**).

Este aumento de CO puede deberse a que tanto el SCG como los Biochar contenían originalmente mayor CO en comparación con los suelos analizados, resultado que es similar a lo observado por otros autores (Kasongo et al., 2011 y 2013; Yamane et al., 2014; Cervera-Mata et al., 2018).

Tabla 27. Evolución del CO (%) según el tipo de enmienda a los 90 días de incubación

Suelo	Dosis		Residuo	
	%	SCG	SCGchar	Cacaochar
Zulia	0	1,2897 ^a	1,2897 ^a	1,2897 ^a
	5	1,3254 ^{ab}	1,5425 ^{ab}	1,4685 ^{ab}
	10	1,5079 ^b	1,8706 ^{ab}	1,6057 ^{bc}
	15	1,3713 ^{ab}	2,0607 ^b	1,8650 ^c
Tibú	0	0,5212 ^a	0,5212 ^a	0,5212 ^a
	5	0,7126 ^a	0,7198 ^a	0,7514 ^b
	10	0,7285 ^a	1,1388 ^b	1,6057 ^{bc}
	15	0,7370 ^a	1,3101 ^b	1,8650 ^c

Nivel de significancia de 95%, Posthoc Tukey (0.05)

En cuanto al cadmio, se encontró que con la adición de SCG_{char} en concentraciones del 10 y 15% se producía una disminución de su concentración en los suelos, pero es con el Cacao_{char} donde se observaron disminuciones significativas (**Tabla 28**).

Del análisis estadístico hay que destacar que es en suelo de Zulía donde mejores resultados de remediación del cadmio ocurren, tanto por la disminución del cadmio como por el aumento en el % de CO y de pH.

En condiciones de campo las características de la materia orgánica pueden ser complejas y dependerá de sus características fisicoquímicas el que haya o no solubilidad y bioasimilación de metales pesados.

Pauget et al. (2012) encontraron un pH del suelo que aumentó de 5 a 7, lo que provocó una disminución en la concentración de metales de 76% a 93% para Cd.

Así mismo, estos autores observaron que un aumento en el contenido de MO conduce a una disminución en las concentraciones estimadas de Cd total disuelto y que un aumento en el contenido de arcilla no afecta las concentraciones de Cd disuelto.

Los resultados de las variables (pH, CE y CO) son coherentes con lo reportado por Alloway (2013), Bot y Benítez (2005) y Suarez et al. (2011) quienes exponen que la materia orgánica influye en las propiedades del suelo, contribuyendo a su calidad respecto a la densidad aparente, estructura, acidez, disponibilidad de nutrientes y disminución de la disponibilidad de metales pesados.

Tabla 28. Evolución del Cadmio según el tipo de enmienda a los 90 días de incubación

	Dosis		Residuo	
	%	SCG	SCGchar	Cacaochar
Zulia	0	0,0872 ^c	0,0872 ^c	0,0872 ^c
	5	0,0816 ^b	0,1324 ^d	0,0372 ^b
	10	0,0732 ^a	0,054 ^b	0,0268 ^a
	15	0,1504 ^d	0,0408 ^a	0,0232 ^a
Tibú	0	0,1684 ^a	0,1684 ^{bc}	0,1684 ^c
	5	0,1644 ^a	0,1848 ^c	0,1032 ^b
	10	0,2340 ^b	0,1336 ^{ab}	0,0704 ^a
	15	0,2328 ^b	0,1120 ^a	0,1044 ^b

Nivel de significancia de 95%, Posthoc Tukey (0.05)

Con el aumento del pH a partir de la adición del biochar (**Tabla 25**), en esta tesis doctoral se corrobora lo expuesto por diversos autores (Hooda y Alloway, 1998); Pauget et al., 2011; Boshoff et al., 2015; Xu et al., 2016; Arguello et al., 2016) al afirmar que el incremento de pH logra una disminución de la concentración de cadmio. En algunos casos, donde los suelos de Zulia y Tibú disminuyeron su pH, se observó un aumento de la concentración de Cd, lo que se debe a la modificación de la movilidad del metal en el suelo causada por la acidez (Sterckeman et al. 2004; Van Gestel y Koolhaas 2004; Rieuwerts et al., 2006; Ok et al., 2011; Al-Wabel et al., 2015; Xu et al., 2016). En un estudio en suelos productores de cacao en Ecuador, Chávez et al. (2016) demostraron que

la disponibilidad de Cd para las plantas de cacao se vio afectada por el pH del suelo y la materia orgánica.

En la **Tabla 28** se observa que el uso de SCG_{char} y Cacao_{char} como residuos para remediación permite disminuir la concentración de cadmio en los suelos, resultados similares a los reportado por Al-Wabel et al. (2015), quienes con la aplicación de biochar de madera redujeron significativamente las concentraciones de metales pesados extraíbles con NH₄OAc- o AB-DTPA en los suelos, lo que indica la inmovilización del metal por su capacidad para disminuir la biodisponibilidad de metales pesados en suelos contaminados.

En la **Figura 40** se observa el efecto de la biorremediación a los 90 días, donde es claro la influencia de las características del suelo, la concentración y tipo de biocarbón (biochar) en la captación del cadmio.

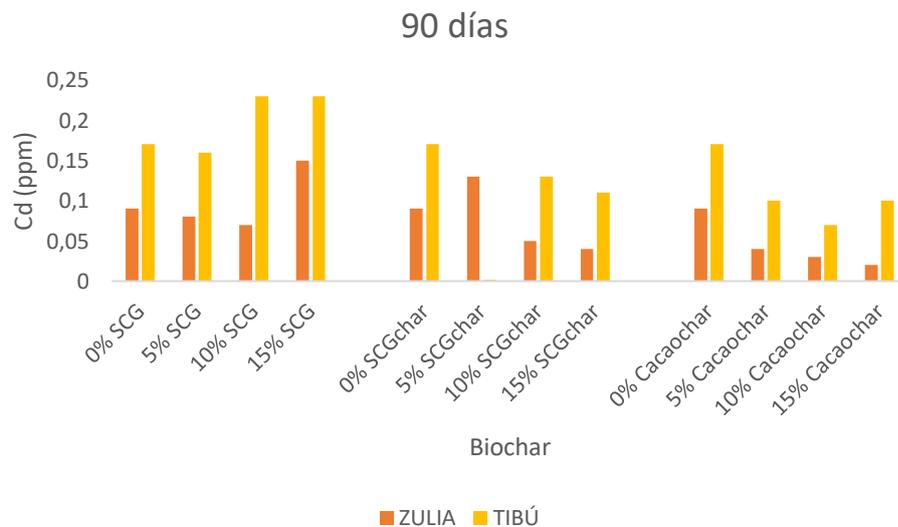


Figura 40. Captación de cadmio por los diferentes tipos de biochar a los 90 días de incubación de los suelos

También permite deducir la efectividad del Cacaochar para la asimilación de cadmio, lo que posibilita darle un uso adecuado a este subproducto del proceso poscosecha del cacao (cáscara de la mazorca).

Otro factor a tener en cuenta en las diferencias en los resultados obtenidos de inmovilización del cadmio entre los dos suelos analizados puede deberse a las diferencias texturales de los mismos. Así, cuando la textura predominante es franco arenosa con bajo contenido de arcillas y alto en arena, que favorece la infiltración de metales pesados (Suárez et al., 201; Bravo et al., 2014). Este sería el caso del suelo de Tibú, que posee mayor tendencia a tener un pH ácido y textura franco arenosa, presentando mayor resistencia a la disminución de la biodisponibilidad de cadmio, mientras que el suelo de Zulia (de textura franco arcillosa) se lava menos y presentó las menores concentraciones de cadmio con la acción del biochar.

Los suelos de Zulia y Tibú poseen fases mineralógicas diferentes con determinados valores de superficie específica y descompensación eléctrica, que pueden influir en la afinidad con los metales pesados. Adicionalmente, en la acidez de los suelos objeto de estudio influye la zona de ubicación de las fincas, ya que las mayores lluvias del Departamento de Norte de Santander se registran en la región del Catatumbo (donde pertenecen Zulia y Tibú), con volúmenes cercanos a los 5000 mm al año en áreas del municipio de Tibú (IDEAM, 2021).

El residuo de remediación es una variable determinante para la efectividad del ensayo. Así, Xu et al. (2016) utilizó biochar derivado de diversos materiales para evaluar su capacidad para disminuir la biodisponibilidad de metales pesados en suelos contaminados.

Estos autores encontraron que hay materiales que poseen mayor disponibilidad para un metal específico, y que cada material realiza cambios de pH y aportes de MO de manera particular.

Lo anterior es similar a lo reportado por Sánchez-Silva et al. (2020) en una revisión sobre utilización de subproductos agroindustriales para la bioadsorción de metales pesados. En dicho trabajo se plantea la importancia de seguir investigando y obtener parámetros de operación de la bioadsorción empleando bioadsorbentes específicos, y destaca la influencia que tienen las características del bioadsorbente y del efluente, pH, concentración del metal pesado en el efluente, cantidad de bioadsorbente utilizado, temperatura y presencia de otros metales.

5. CONCLUSIONES

Del estudio de los granos/semillas de cacao (sin tratar y tratados) y del chocolate derivado de las mismas, procedente de dos fincas de una zona cacaotera de la región del Catatumbo en Colombia, así como del análisis de los suelos de ambas fincas y su relación con la composición mineral de dichos productos, se pueden extraer las siguientes conclusiones en la presente tesis doctoral:

1. Los resultados obtenidos muestran que, bromatológicamente, los granos de cacao cultivados en las dos fincas piloto son aptos para el consumo humano.
2. La bioactividad de cacao (capacidad antioxidante y actividad prebiótica) se modificó en función del nivel de procesamiento térmico sufrido durante el tostado. Esta conclusión general deriva de las siguientes conclusiones parciales:

- a. Mientras que los niveles de HMF y el furfural se incrementaron a medida que aumentaba la temperatura de tostado, la capacidad antioxidante y la concentración de compuestos fenólicos disminuyeron.

- b. La comunidad microbiana intestinal se ve significativamente afectada dependiendo de si el cacao se tuesta o no, independientemente de la temperatura de tueste, el factor lugar de procedencia de las muestras de cacao no mostró una influencia en la microbiota intestinal. Dos de los géneros más afectados fueron *Veillonella spp.* y *Faecalibacterium spp.*, siendo el primero un productor de propionato con una abundancia significativamente mayor en muestras de cacao crudo, mientras que el segundo es un productor de butirato significativamente más abundante en muestras tostadas.

- c. El proceso de tostado cambió el perfil de ácidos grasos de cadena corta, ya que mientras el cacao crudo produjo concentraciones significativamente más altas de acetato y propionato, la fermentación intestinal del cacao tostado dio lugar a una producción significativamente mayor de butirato.

3. De la evaluación sensorial del licor de cacao se pudo deducir que no todos los granos lograron una adecuada calificación global. Los licores de cacao con mejor relación sensorial entre sabores básicos (cacao, acidez, astringencia y amargo) y sabores específicos (fruta seca, dulce, nuez y fruta fresca) se encontraron en granos de cacao procedente de las fincas 754 y 737 ubicadas en El Zulia, en terreno pendiente de montaña. Las variables de astringente y amargo fueron inversamente correlacionadas con el aroma a nuez y fueron las muestras que obtuvieron menor calificación global de parte del panel evaluador.

4. Respecto a la influencia de los suelos en la calidad del cacao y a la estrategia para la remediación de su contenido en minerales potencialmente tóxicos, se puede afirmar lo siguiente:

a. En las hojas de la planta de cacao los valores de Al, Ca, K, Mn y Zn fueron semejantes tanto en la zona del Zulia como de Tibú. Igual situación se presentó con la concentración de cadmio.

b. Los suelos de las fincas productoras de cacao ubicadas en la región del Zulia y de Tibú, según sus características texturales, son aptos para el cultivo del cacao. Sin embargo, de manera general presentan pHs ácidos que favorecen la asimilabilidad de metales pesados, especialmente cadmio, cuyos valores encontrados en los suelos muestreados estuvieron por encima de los niveles considerados como fitotóxicos. No se detectaron niveles de plomo por encima de los valores permitidos por el Reglamento (UE) N.º 488/2014.

c. El pH, % de arcilla, % de materia orgánica, concentraciones de Al, Mg, Mn, Zn y la capacidad de intercambio catiónico, fueron las variables del suelo que tuvieron mayor correlación con la concentración de Cd. En los suelos estudiados, la cantidad y calidad de

la materia orgánica y la acidez del suelo se ven influenciados por el clima, ya que la zona de producción de cacao estudiada presenta temperaturas y precipitaciones suficientes para que predominen los sistemas lavados o sustractivos.

d. Los resultados del análisis del cadmio en grano, cascarilla y suelos, muestran que la mayor concentración de este metal pesado corresponde a la cascarilla.

e. Respecto a la estrategia de remediación del suelo con posos de café y biocarbones (biochar) derivados de las propias mazorcas del fruto del cacao y de los posos de café, adicionados en distintas concentraciones, se encontró que con el aumento del pH generado por la adición del biochar (SCG_{char} y $Cacao_{char}$) se logra una disminución de la concentración de cadmio, mostrando el $Cacao_{char}$, (biochar elaborado a partir de la cáscara de la mazorca del cacao) una buena capacidad para disminuir la biodisponibilidad de Cd en suelos contaminados. El efecto de los SCG, SCG_{char} y $Cacao_{char}$ sobre las características fisicoquímicas y nutricionales en los dos tipos de suelos ensayados (Zulia y Tibú) es muy diferente. El suelo de Zulia fue el que obtuvo mejores resultados en cuanto a las propiedades físicas, químicas y de retención de cadmio. El porcentaje de carbono orgánico fue influenciado significativamente por la cantidad adicionada de los distintos bioproductos y por la mineralogía de la fracción arcilla.

BIBLIOGRAFÍA

Abbe-Maleyki, J., Ismail, A., 2010. Antioxidant properties of cocoa powder. *Journal of Food Biochemistry* 34, 111-128.

Abbott, P., Benjamin, T., Burniske, G., Croft, M., Fenton, M., Kelly, C., Lundy, L., Rodríguez, L. y Wilcox, M., 2018. An analysis of the supply chain of cacao in Colombia. Purdue University and the International Center for Tropical Agriculture (CIAT). Disponible en https://pdf.usaid.gov/pdf_docs/PA00W6GT.pdf. Consultado el 10 de diciembre, 2021.

Abrahams P.W., 2002. Soils: their implications to human health. *Science of The Total Environment* 291, 1-32.

Acevedo, E., Carrasco, M.A., León, O., Martínez, E., Silva, P., Castillo, G., Ahumada, I., Borie, G., González, S. 2005. Metales pesados en el suelo. En: *Criterios de Calidad de Suelos y Aguas de Riego*. Chile, Servicio Agrícola y Ganadero. Directrices Kelley UE 2002. 66-98.

AESAN, 2021. Cadmio. Disponible en http://www.aecosan.msssi.gob.es/AECOSAN/web/seguridad_alimentaria/ampliacion/cadmio.htm). Consultado el 11 de Septiembre, 2021.

Afoakwa, E.O., Ofosu-Ansah, E., Budu, A., Mensah-Brown, H., Takrama, J.F. 2015. Roasting effects on phenolic content and free-radical scavenging activities of pulp preconditioned and fermented cocoa (*Theobroma cacao*) beans. *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development* 15, 9635-9650.

- Afoakwa EO, Quao J, Takrama J, Budu AS, Saalia FK., 2013. Chemical composition and physical quality characteristics of Ghanaian cocoa beans as affected by pulp pre-conditioning and fermentation. *Journal of Food Science and Technology* 50, 1097-1105.
- Aikpokpodion, P., 2010. Nutrients Dynamics in Cocoa Soils, leaf and beans in Ondo State, Nigeria. *Journal Agricultural Science* 1, 1-9.
- Aikpokpodion, P., 2012. Assessment of Heavy Metals Movility in Selected Contaminated Cocoa Soils in Ondo State, Nigeria. *Global Journal of Environmental Research* 6, 30-35.
- Albertini, B., Schoubben, A., Guarnaccia, D., Pinelli, F., Della Vecchia, M., Ricci, M., Blasi, P., 2015. Effect of fermentation and drying on cocoa polyphenols. *Journal Agricultural and Food Chemistry* 63, 9948-9953.
- Alloway, B.J., 2013. Heavy metals in Soils: Trace Metals and Metallloids in Soils and their Bioavailability. *Environmental Pollution* 22, Springer Third edition, 632 p.
- Álvarez-Cilleros, D., López-Oliva, E., Goya, L., Martín, Marí.Á., Ramos, S., 2019. Cocoa intake attenuates renal injury in Zucker Diabetic fatty rats by improving glucose homeostasis, *Food and Chemical Toxicology* 127, 101-109.

- Álvarez-Cilleros, D., Ramos, S., López-Oliva, M.E., Escrivá, F., Álvarez, C., Fernández-Millán E., Martín, M. A., 2020. Cocoa diet modulates gut microbiota composition and improves intestinal health in Zucker diabetic rats. *Food Research International* 132, 1-14.
- Al-Wabel, M., Usman, A., El-Naggar, A., Aly, A., Ibrahim, H., Elmaghraby, S., Alomran, A., 2014. Conocarpus biochar as a soil amendment for reducing heavy metal availability and uptake by maize plants. *Saudi Journal of Biological Sciences* 22, 503-511.
- Amores, F., Suárez Capello, C., y Garzón, I., 2010. Producción intensiva de cacao nacional con sabor "arriba" tecnología, presupuesto y rentabilidad. Quevedo, Ecuador: INIAP, Estación Experimental Tropical Pichilingue, Programa Nacional de Cacao y Café. (Manual Técnico No. 82).
- Amores F., Palacios A., Jiménez J., Zhang D., 2009. Entorno ambiental, genética, atributos de la calidad y singularización del cacao en el nor oriente de la provincia de Esmeraldas. INIAP. Boletín técnico 135. Quevedo – Ecuador. p. 85- 86.
- Andújar, I., Recio, M.C., Giner, R.M.; Rios, J.L., 2012. Cocoa Polyphenols and Their Potential Benefits for Human Health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2012, 1-23.
- Angelino, D., Carregosa, D., Domenech-Coca, C., Savi, M., Figueira, I., Brindani, N., Jang, S., Lakshman, S., Molokin, A., Urban, J.F., Davis, C.D., Brito, M.A., Kim,

K.S., Brighenti, F., Curti, C., Bladé, C., Del Bas, J.M., Stilli, D., Solano-Aguilar G.I., Mena, P., 2019. 5-(Hydroxyphenyl)- γ -Valerolactone-Sulfate, a Key Microbial Metabolite of Flavan-3-ols, Is Able to Reach the Brain: Evidence from Different in Silico, In Vitro and In Vivo Experimental Models, *Nutrients* 11, 2678.

Anzaldúa-Morales, A., 1994. La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica. Editorial Acribia, S.A. España.

Aránzazu, F., Martínez, N., Palencia, G., Coronado, R., Rincón, D., 2009. Cacao: manejo del recurso genético para incrementar la producción y productividad del sistema de cacao en Colombia. Fedecacao, Bucaramanga, Colombia. 128 p.

Araujo, Q.R., Fernandes, C.A.F., Ribeiro, D.O., Efraim, P., Steinmacher, D., Lieberei, R., Bastide, P., Araujo, T.G., 2014. Cocoa Quality Index - A Proposal. *Food Control* 46, 49-54.

Arévalo-Gardini E, Arévalo-Hernández C.O., Baligar V.C., He Z.L., 2017. Heavy metal accumulation in leaves and beans of cacao (*Theobroma cacao* L.) in major cacao growing regions in Peru. *Science of the Total Environment* 605-606, 792-800.

Arguello-Navarro, A.Z., Madiedo-Soler, N., Moreno-Rozo, L. Y., 2016. Cuantificación de bacterias diazótroficas aisladas de suelos cacaoteros (*Theobroma cacao* L.), por la técnica de Número Más Probable (NMP). *Revista Colombiana de Biotecnología* 18, 40-47.

- Argüello, D., Chavez, E., Lauryssen, F., Vanderschueren, R., Smolders, E., Montalvo, D., 2019. Soil properties and agronomic factors affecting cadmium concentrations in cacao beans: A nationwide survey in Ecuador, *Science of the Total Environment* 649, 120-127.
- Arvelo, M. Á., González, D., Maroto, S., Delgado, T., Montoya, P., 2017. Manual técnico del cultivo de cacao: prácticas latinoamericanas / Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA). San José, Costa Rica.
- Augstburger, F., Berger, J., Censkowsky, U., Heid, P., Milz, J., Streit, C., 2000. *Agricultura Orgánica en el trópico y subtrópico*. In: Guía de 18 cultivos. Primera edición. Alemania.
- Barrientos, L., Torres J., Gil, M. & Martínez, O., 2019. Effect of the solar drying process on the sensory and chemical quality of cocoa (*Theobroma cacao* L.) cultivated in Antioquia, Colombia. *Food Research International* 115, 259-267.
- Batista, L., 2009. Guía Técnica para el cultivo de cacao en la República Dominicana. CEDAF. 250 p.
- Bautista, C. A., Etchevers, B.J., Del Castillo, R.F., Gutiérrez, C., 2004. La calidad del suelo y sus indicadores. *Ecosistemas* 13, 90-97.
- Barrezueta-Unda, S. Pro, 2019. Propiedades de algunos suelos cultivados con cacao en la provincia El Oro, Ecuador. *Ciencia UAT* 14, 155-166.

- Bedoya, C., 2016. Metodologías para el análisis bromatológico, físico y químico del cacao fermentado y seco, dentro del marco normativo internacional. (Tesis para optar el título de Ingeniero de Alimentos, Corporación Universitaria Lasallista). Repositorio Corporación Universitaria Lasallista <https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/56670/NubiaMart%C3%ADnez.2016.pdf?sequence=1>.
- Beg, M.S., Ahmad, S., Jan K., Bashir, K., 2017. Status, supply chain and processing of cocoa-A review. *Trends in Food Science and Technology* 66, 108-116.
- Benzie, I. F., Strain, J. J., 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry* 239, 70-76.
- Bhattacharjee, R., Akoroda, M., 2018. Taxonomy and classification of cacao. In P. Umaharan, *Achieving sustainable cultivation of cocoa*; Burleigh Dodds Science Publishing, Cambridge, UK, 3-16.
- Boshoff, M., Jordaens, K., Baguet, S., Bervoets, L., 2015. Trace metal transfer in a soil–plant–snail microcosm field experiment and biomarker responses in snails. *Ecological Indicators* 48, 636-648.
- Borrelli, R.C., Fogliano, V., 2005. Bread crust melanoidins as potential prebiotic ingredients, *Molecular Nutrition Food Research* 49, 673-678.

- Bot A. y Benites J., 2005. The Importance of Soil Organic Matter: Key to Drought-resistant Soil and sustained food production. Food and Agriculture Organization of the United Nations. 71-78.
- Bourne, M., 2002. Food Texture and Viscosity, Concept and Measurement. Segunda edición.
- Braudeau J., 1970. El cacao: técnicas agrícolas y producciones tropicales. Editorial Blume. Barcelona. 297 p.
- Bravo, D., Leon-Moreno, C., Martínez, C.A., Varón-Ramírez, V.M., Araujo-Carrillo, G.A., Vargas, R., Quiroga-Mateus, R., Zamora, A., Rodríguez, E.A.G., 2021. The First National Survey of Cadmium in Cacao Farm Soil in Colombia. *Agronomy* 11, 761.
- Bravo, L., 1998. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews* 56, 317-333.
- Brodkorb, A., Egger, L., Alming, M., Alvito, P., Assunção, R., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu-Lacanal, C., Boutrou, R., Carrière, F., Clemente, A., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Edwards C., Golding M., Karakaya S., Kirkhus B., Feunteun S.L., Recio, I., 2019. INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal food digestion. *Nature Protocols* 14, 991-1014.

- Brunetti, G., Traversa, A., De Mastro, F., Coccozza, C., 2019. Short term effects of synergistic inorganic and organic fertilization on soil properties and yield and quality of plum tomato, *Scientia Horticulturae* 252, 342-347.
- Calvo, A.M., Botina, B.L., García, M.C., 2021. Dynamics of cocoa fermentation and its effect on quality. *Scientific Reports* 11, 16746.
- Camu, N., De Winter, T., Addo, K.S., Takrama, J.S., Bernaert, H., De Vuyst, L., 2008. Fermentation of cocoa beans: influence of microbial activities and polyphenol concentrations on the flavour of chocolate. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 88, 2288-2297.
- Cao, H., Ou, J., Chen, L., Zhang, Y., Szkudelski, T., Delmas, D., Daglia, M., Xiao, J., 2019. Dietary polyphenols and type 2 diabetes: Human Study and Clinical Trial. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 59, 3371-3379.
- CAOBISCO/ECA/FCC, 2015. Cocoa Beans: Chocolate and Cocoa Industry Quality Requirements. (End, M.J. and Dand, R., Editors). Disponible en https://www.cocoaquality.eu/data/Cocoa%20Beans%20Industry%20Quality%20Requirements%20Apr%202016_En.pdf. Consultado el 19 de septiembre de 2020.
- Castillo, E., Alvarez, C., Contreras, Y., 2018. Caracterización fisicoquímica de la cáscara del fruto de un clon de cacao (*Theobroma cacao* L.) Cosechados en Caucagua estado Miranda.Venezuela. *Revista de Investigación* 42, 154-175.

- De Witt, K. W., 1957. Nitrogen metabolism in fermenting cacao. Report on Cacao Research 56, 54-57.
- Gliessman, S.R., 2002. Agroecología: Procesos Ecológicos en Agricultura Sostenible. Turrialba, CR, CATIE.
- Cely, L. A., 2017. Oferta productiva del cacao colombiano en el posconflicto. Estrategias para el aprovechamiento de oportunidades comerciales en el marco del acuerdo comercial Colombia-Unión Europea. Equidad & Desarrollo 28, 167-195.
- Cervera-Mata A., Pastoriza S., Rufián-Henares, J.A., Párraga, J., Martín-García, J.M., Delgado, G., 2017. Impact of spent coffee grounds as organic amendment on soil fertility and lettuce growth in two Mediterranean agricultural soils, Archives of Agronomy and Soil Science, 64, 790-804,
- Cervera-Mata, A., Martín-García, J. M., Delgado, R., Sánchez-Marañón, M., Delgado, G., 2019. Short-term effects of spent coffee grounds on the physical properties of two Mediterranean agricultural soils. International Agrophysics 33, 205-216.
- Chang, J., Vallejo, C., Párraga, D., Morales, W., Macías, J., Ramos, R., 2014. Atributos físicos-químicos y sensoriales de las almendras de quince clones de cacao nacional (*Theobroma cacao* L.) en el Ecuador. Ciencia y Tecnología 7, 21-34.
- Chire-Fajardo, G.C., Ureña-Peralta, M.O., García-Torres, S., Hartel, R.W., 2019. Optimización de la formulación de chocolate oscuro a partir de la mezcla de granos

de cacao y contenido de cacao aplicando método de superficie de respuesta. Enfoque UTE 10, 42-54.

Contreras, C., 2017. Análisis de la cadena de valor del cacao en Colombia: generación de estrategias tecnológicas en operaciones de cosecha y poscosecha, organizativas, de capacidad instalada y de mercado. (Tesis de maestría). Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.

Cruz, R., Morais, S., Mendes, E., Pereira, J.A., Baptista, P., Casal, S., 2014. Improvement of vegetables elemental quality by espresso coffee residues. Food Chemistry 148, 294-299.

Cubillos, G., Merizalde, G., Correa, E., 2008. Manual de Beneficio del Cacao 2008, para técnicos, profesionales del sector agropecuario y productores. Disponible en https://www.chocolates.com.co/wpcontent/uploads/2018/05/manual_beneficio_cacao.pdf. Consultado en Julio 6, 2020.

Delgado-Andrade, C., Rufián-Henares, J.A., Morales, F.J., 2007. Lysine availability is diminished in commercial fibre-enriched breakfast cereals, Food Chem., 2007, 100, 725-731.

Delgado-Ospina, J., Di Mattia, C.D., Paparella, A., Mastrocola, D., Martuscelli, M., Chaves-Lopez, C., 2020. Effect of Fermentation, Drying and Roasting on Biogenic Amines and Other Biocompounds in Colombian Criollo Cocoa Beans and Shells, Foods 9, 520.

Derbyshire E., 2007. Natural minerogenic dust and human health. *Ambio* 36, 73-77.

Di Mattia, C., Martuscelli, M., Sacchetti, G., Scheirlinck, I., Beheydt, B., Mastrocola, D., Pittia, P., 2013. Effect of fermentation and drying on procyanidins, antiradical activity and reducing properties of cocoa beans. *Food and Bioprocess Technology* 6, 3420-3432.

Dichicco, M.C., Salvatore, L., Rosa, S., Raimondo, B., Rizzo, G., 2018. Environmental and Health: The Importance of Tremolite Occurrence in the Pollino Geopark (Southern Italy). *Geosciences* 8, 98.

Djikeng, F.T., Teyomnou, W.T., Tenyang, N., Tiencheu, B., Morfor, A.T., Touko, B.A.H., Houketchang, S.N., Boungo, G.T., Karuna, M.S.L., Ngoufack, F.Z., Womeni, H.M., 2018. Effect of traditional and oven roasting on the physicochemical properties of fermented cocoa beans. *Heliyon* 4, e00533.

Dueñas, M., Muñoz-González, I., Cueva, C., Jiménez-Girón, A., Sánchez-Patán, F., Santos-Buelga, C., Moreno-Arribas, M.V., Bartolomé, B.A., 2015. Survey of modulation of gut microbiota by dietary polyphenols. *BioMed Research International* 7, 1-15.

Dumbrava, D., Popescu, L.A., Soica, C.M., Nicolin, A., Cocan, I., Negrea, M., Alexa, E., Obistioiu, D., Radulov, I., Popescu, S., Watz, C., Ghiulai, R., Mioc, A., Szuhaneck, C., Sinescu, C., Dehelan, C., 2020. Nutritional, Antioxidant, Antimicrobial, and

Toxicological Profile of Two Innovative Types of Vegan, Sugar-Free Chocolate, *Foods* 9, 1844.

Efrain, P., Pezoa-García, N., Jardim, D., Nishikawa, A., Haddad, R., Eberlin, M., 2010. Influência da fermentação e secagem de amêndoas de cacau no teor de compostos fenólicos e na aceitação sensorial. *Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos* 30, 142-150.

Elwers, S., Zambrano, A., Rohsius, C., Lieberei, R., 2009. Differences between the content of phenolic compounds in Criollo, Forastero and Trinitario cocoa seed (*Theobroma cacao* L.). *European Food Research and Technology* 229, 937-48.

Engels, J. M. M., Bartley, B. G. D., Enríquez, G. A., 1980. Cacao descriptors, their states and modus operandi. *Turrialba* 30, 209-218.

Enríquez, G. A., 1985. Curso sobre el cultivo del cacao. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). Turrialba, Costa Rica. Serie Materiales de Enseñanza N° 22.

FAO, 2020. Propiedades del suelo. Disponible en <http://www.fao.org/soils-portal/soil-survey/clasificacion-de-suelos/sistemas-numericos/propiedades-quimicas/es/>.

Consultado el 16 de Abril, 2020.

Asociación Española de Fabricantes de Agronutrientes (AEFA), 2020. Clasificación del pH. Disponible en <https://aefa-agronutrientes.org/glosario-de-terminos-utiles-en-agronutricion/clasificacion-del-ph>. Consultado el 5 de Marzo, 2020.

Faria, E. V., y Yotsuyanagi, K., 2002. Técnicas de análisis sensorial. ITAL, LAFISE, Campinas.

Febrianto, N. A. y Zhu, F., 2020. Changes in the Composition of Methylxanthines, Polyphenols, and Volatiles and Sensory Profiles of Cocoa Beans from the Sul 1 Genotype Affected by Fermentation, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 68, 8658-8675.

Federación Nacional de Cacaoteros (Fedecacao), 2021. En tiempos de pandemia, producción de cacao alcanzó cifra récord. Disponible en <https://www.fedecacao.com.co/portal/index.php/es/2015-04-23-20-00-33/1381-en-tiempos-de-pandemia-produccion-de-cacao-alcanzo-cifra-record>. Consultado el 2 de Mayo, 2021.

Federación Nacional de Cacaoteros (Fedecacao), 2022. La producción cacaotera nacional sigue creciendo: en 2021 logra un nuevo récord histórico. Disponible en <https://www.fedecacao.com.co/post/la-producci%C3%B3n-cacaotera-nacional-sigue-creciendo-en-2021-logra-un-nuevo-r%C3%A9cord-hist%C3%B3rico>. Consultado el 28 de Febrero, 2022.

- Federación Nacional de Cacaoteros (Fedecaco), 2020. Economía internacional. Estimaciones para el año cacaotero 2018-2019, Disponible en <https://www.fedecacao.com.co/portal/index.php/es/2015-02-12-17-20-59/internacionales>. Consultado el 6 de Octubre, 2020.
- Federación Nacional de Cacaoteros (Fedecacao), 2004. Guía técnica para el cultivo del cacao. Produmedios, Colombia.
- Federación Nacional de Cacaoteros (Fedecacao), 2012. El beneficio y Características Físico Químicas del cacao (*Theobroma cacao* L.). Quinta edición. Bogotá (Colombia). Ediciones LCB Ltda.
- Fernández, V., Yee, A., y Sulbarán, B., Peña, J., 2014. Antioxidant activity and polyphenol content in Venezuelan commercial chocolates. *Revista Facultad Agronomía (LUZ)*, 31, 129-144.
- Fernández-Romero, E., Chavez-Quintana, S.G., Siche, R., Castro-Alayo E.M., Cardenas-Toro, F.P., 2020. The Kinetics of Total Phenolic Content and Monomeric Flavan-3-ols during the Roasting Process of Criollo Cocoa, *Antioxidants* 9, 146.
- Figueira, A., 1994. Reexamining the classification of *Theobroma cacao* L. using molecular markers. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 119. 1073-1082.

- Flint, H. J., Duncan, S. H., Scott, K. P., Louis, P., 2015. Links between diet, gut microbiota composition and gut metabolism, *Proceedings of the Nutrition Society* 74, 13-22.
- Fogliano, V., Corollaro M. L., Vitaglione, P., Napolitano, A., Ferracane, R., Travaglia, F., Arlorio, M., Costabile, A., Klinder, A., Gibson, G., 2011. In vitro bioaccessibility and gut biotransformation of polyphenols present in the water-insoluble cocoa fraction, *Mol. Nutr. Food Res.*, 2011, 55, S44-S55.
- Frauentorfer F., Schieberle P., 2006. Identification of the key aroma compounds in cocoa powder based on molecular sensory correlations. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54, 5521-5529.
- García-Lozano, J., Romero-Carrascal M., Ortíz, L.A., 2004. Caracterización y zonificación de áreas potenciales para el cultivo del cacao en Colombia: dirección de cadenas productivas cadena de cacao-chocolate. CORPOICA, FEDECACAO, MADR, Bogotá.
- Garrido, M. S., 1994. Interpretación de análisis de suelos Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Madrid, España.
- Gasaly, N., Riveros, K., Gotteland, M., 2020. Fitoquímicos: una nueva clase de prebióticos. *Revista Chilena de Nutrición* 47, 317-327.

- Guerrón, V., 2009. Elaboración de pasta a partir de mezclas de cacao Nacional (*Theobroma cacao* L.) y CCN-51 producidos en Quevedo. Tesis Ingeniería Agroindustrial. Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Ecuador. p 38-40.
- Gil, J. P., López, S., Quiroga, R., Benavides-Erazo, J., Chaali, N., Bravo, D., 2022. Cadmium distribution in soils, soil litter and cacao beans: a case study from Colombia. *International Journal of Environmental Science and Technology* 19, 2455-2476.
- Gniechwitz, D., Reichardt, N., Blaut, M., Steinhart, H., Bunzel, M., 2007. Dietary Fiber from Coffee Beverage: Degradation by Human Fecal Microbiota. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55, 6989-6996.
- Gómez-Aliaga, R., García, B. R., Tong, F., González H. C., 2014. Paquete tecnológico del cultivo del cacao. Oficina de las Naciones Unidas contra la Droga y el Delito para el Perú y el Ecuador – UNODC. Disponible en http://vinculate.concytec.gob.pe/wp-content/files/Paquete_Tecnologico_Cultivo_Cacao.pdf. Consultado en 10 de febrero, 2019.
- Gramlich, A., Tandy, S., Andres, C., Chincheros, J., Armengot, L., Schneider, M., Schulin, R., 2017. Cadmium Uptake by Cocoa Trees in Agroforestry and Monoculture Systems under Conventional and Organic Management. *Science of the Total Environment* 580, 677-686.

- Guzmán Duque, J.A. y Gómez Prada, S.L., 2014. Evaluación sensorial de cacao (*Theobroma cacao* L.) cultivado en la región del sur del departamento de Bolívar (Colombia). *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*. 5, 221-236.
- Hardy, F., 1961. *Manual de Cacao*. Turrialba, Costa Rica. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas.
- Helvetas Swiss Intercooperation, 2018. Cadena de valor del cacao: evidencias científicas y desafíos normativos frente a la cuestión del cadmio. Disponible en https://cooperacionsuiza.pe/wp-content/uploads/2019/06/cadena_de_valor_cacao_2018-.pdf. Consultado el 20 Febrero, 2020.
- Hendrickx, M., 2008. Naturally occurring asbestos in eastern Australia: A review of geological occurrence, disturbance and mesothelioma risk. *Environmental Geology* 57, 909-926.
- Hii, C., Law, C., Cloke, M., Sharif, S., 2009. Thin layer drying kinetics of cocoa and product quality. *Biosystems Engineering* 102, 153-161.
- Hii, C.L., Rahman, A.R., Jinap, S., Che Man, Y.B., 2006. Quality of cocoa beans dried using a direct solar dryer at different loadings *Journal of the Science of Food and Agriculture* 86, 1237-1243.

- Hii, C.L., Law, C.L., Suzannah, S., Misnawi, Cloke, M., 2009. Polyphenols in cocoa (*Theobroma cacao* L.). *Asian Journal of Food and Agro-Industry* 2, 702-722.
- Hollands, W.J., Philo, M., Pérez-Moral, N., Needs, P.W., Savva, G.W., Kroon, P.A., 2020. Monomeric Flavanols Are More Efficient Substrates for Gut Microbiota Conversion to Hydroxyphenyl- γ -Valerolactone Metabolites Than Oligomeric Procyanidins: A Randomized, Placebo-Controlled Human Intervention Trial, *Mol. Nutr. Food Res.*, 2000, 64, 1901135.
- Hooda, P.S. y Alloway, B.J., 1998. Cadmium and lead sorption behaviour of selected English and Indian soils. *Geoderma* 84, 121-134.
- Hooper, L., Kay, C., Abdelhamid, A., Kroon, P.A., Cohn, J.S, Rimm, E.B., Cassidy, A., 2012. Effects of chocolate, cocoa, and flavan-3-ols on cardiovascular health: a systematic review and meta-analysis of randomized trials. *The American Journal of Clinical Nutrition* 95, 740-751.
- Huauya, M., Huamaní, H., 2014. Macrofauna edáfica y metales pesados en el cultivo de cacao, *Theobroma cacao* L. (malvaceae). *The Biologist (Lima)* 12: 45-55.
- Huamaní-Yupanqui, H. A., Huauya-Rojas, M. Ángel, Mansilla-Minaya, L. G., Florida-Rofner, N., Neira-Trujillo, G. M., 2012. Presencia de metales pesados en cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.) orgánico. *Acta Agronómica* 61, 339-344.

- Hurst, W.J., Krake, S.H., Bergmeier, S.C., Payne, M.J., Mille, K.B., Stuart, D.A., 2011. Impact of fermentation, drying, roasting and Dutch processing on flavan-3-ol stereochemistry in cacao beans and cocoa ingredients, *Chemistry Central Journal* 5, 53.
- ICCO, 2016. Panel recognizes 23 countries as fine and flavour cocoa exporters. Disponible en <https://www.icco.org/about-cocoa/fine-or-flavour-cocoa.html>. Consultado el 8 de octubre, 2020.
- ICCO, 2017. What is Fine or Flavour Cocoa?. Disponible en <https://www.icco.org/fine-or-flavor-cocoa/>. Consultado el 8 de octubre, 2020.
- ICCO, 2021. Cocoa market report april 2021. Disponible en <https://www.icco.org/wp-content/uploads/ICCO-Monthly-Cocoa-Market-Report-April-2021.pdf>. Consultado el 28 de mayo, 2021.
- Imbelloni, P.A., Aguilera, E.Y., Beilison, E., 2016. Mineralogía de suelos. Suelos y geología Argentina: una visión integradora desde diferentes campos disciplinarios. Buenos Aires. 402 p.
- Instituto Colombiano de Normalización y Certificación (Icontec). NTC 793, 2008. Chocolate de mesa. Bogotá D.C., Colombia.

Instituto Colombiano de Normalización y Certificación (Icontec). NTC 3929, 2009. Análisis sensorial. Metodología. Métodos del perfil del sabor. Icontec. Bogotá D.C., Colombia.

Instituto Colombiano de Normalización y Certificación (Icontec), NTC 1252, 2012. Cacao en grano. Especificaciones y requisitos de calidad. Bogotá D.C., Colombia.

Instituto Geográfico Agustín Codazzi (IGAC), 2007. Estudio general de suelos y zonificación de tierras del departamento Norte de Santander. Bogotá, Imprenta Nacional de Colombia. 304 p.

Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales (IDEAM), 2021. Atlas climatológico de Colombia. Disponible en <http://atlas.ideam.gov.co/visorAtlasClimatologico.html>. Consultado el 23 de junio, 2021.

Ioannone, F., Di Mattia, C.D., De Gregorio, M., Sergi, M., Serafini, M., Sacchetti, G., 2015. Flavanols, proanthocyanidins and antioxidant activity changes during cocoa (*Theobroma cacao* L.) roasting as affected by temperature and time of processing. *Food Chemistry* 174, 256-262.

Islam, M.S., Khan, M.H., Hossain, M.S., 2020. Effects of different levels of soil moisture and indigenous organic amendments on the yield of boro rice grown under field condition. *Dhaka University Journal of Biological Sciences* 29, 87-96.

IUSS Working Group WRB, 2015. World Reference Base for Soil Resources 2014, update 2015. International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps. World Soil Resources Reports No. 106. FAO, Roma.

Jenner, A.M., Rafter, J., Halliwell, B. 2005. Human fecal water content of phenolics: the extent of colonic exposure to aromatic compounds. *Free Radical Biology and Medicine* 38, 763-72.

Jinap, S. y P. Dimick., 1990. Acidic characteristics of fermented and dried cocoa beans from different countries of origin. *Journal. Food Science* 55, 547-550.

Kabata-Pendias, A., 2000. Trace elements in soils and plants. 3th Edition. CRC Press, Boca Raton, EE.UU. 413 p.

Kasongo RK, Verdoodt A, Kanyankagote P, Baert G, Van Ranst E. 2011. Coffee waste as an alternative fertilizer with soil improving properties for sandy soils in humid tropical environments. *Soil Use and Management* 27, 94-102.

Klein, C., Hurlbut, C. 2001. Manual de mineralogía, Cuarta Edición, editorial Reverté S.A, Reimpresión, España.

Klindworth, A., Pruesse, E., Schweer, T., Peplies, J., Quast, C., Horn, M., Glöckner, F.O., 2013. Evaluation of General 16S Ribosomal RNA Gene PCR Primers for Classical and next-Generation Sequencing- Based Diversity Studies, *Nucleic Acids Research* 41, e1.

- Kochian L, Hoekenga O, Pineros M., 2004. How do plants tolerate acid soils? Mechanisms of aluminum tolerance and phosphorous efficiency. *Annual Review of Plant Biology* 55, 459-493.
- Kolodziejczyk, A.A., Zheng, D., Elinav, E., 2019. Diet–microbiota interactions and personalized nutrition, *Nature Reviews Microbiology* 17, 742-753.
- Kongor, J.E., Afoakwa, E.O., Takrama, J., Budu, A., Mensah-Brown, H., 2013. Effects of Fermentation and Drying on the Fermentation Index and Cut Test of Pulp Pre-conditioned Ghanaian Cocoa (*Theobroma cacao*) Beans. *Journal of Food Engineering* 3, 625-634.
- Kurosawa, T., Itoh, F., Nozaki, A., Nakano, Y., Katsuda, S.-I., Osakabe, N., Tubone, H., Kondo, K., Itakura, H., 2005. Suppressive effect of cocoa powder on atherosclerosis in Kurosawa and Kusanagi-hypercholesterolemic rabbits. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis* 12, 20-28.
- Langmead, B., Salzberg, S.L., 2012. Fast gapped-read alignment with Bowtie 2. *Nature Methods* 9, 357-359.
- Lawless, H. T., y Heymann, H., 2010. Sensory evaluation of food: principles and practices. Vol. 2. New York: Springer.

- Lee, C.K. y Low, K.S., 1985. Determination of Cadmium, Lead, Copper and Arsenic in Cocoa, Semi-Finished and Finished Chocolate Products. *Pertanika* 8, 243-248.
- León-Moreno, C. E., Rojas-Molina, J., Castilla-Campos, C. E., 2019. Physicochemical characteristics of cacao (*Theobroma cacao* L.) soils in Colombia: Are they adequate to improve productivity? *Agronomía Colombiana* 37, 28-38.
- Lernoud, J., Potts, J., Sampson, G., Schlatter, B., Huppe, G., Voora, V. 2018. The State of Sustainable Markets 2018 - Statistics and Emerging Trends. International Trade Centre. Disponible en <http://www.intracen.org/uploadedFiles/intracenorg/Content/Publications/Sustainability%202018%20layout-FIN-web2.pdf>. Consultado el 15 de octubre, 2020.
- Liaw, A. y Wiener, M., 2002. Classification and Regression by RandomForest. *Forest*. 23.
- Machado, L., Ordoñez, C., Ángel, Y., Guaca, L., Suarez, J., 2018. Organoleptic quality assessment of *Theobroma cacao* L. in cocoa farms in northern Huila, Colombia. *Acta Agronómica* 67, 46-52.
- Martín, M.A., Ramos, S., Mateos, R., Rufián-Henares, J.A., Morales, F.J., Bravo L., Goya, L., 2009. Biscuit Melanoidins of Different Molecular Masses Protect Human HepG2 Cells against Oxidative Stress. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57, 7250-7258.

Martínez, N.C., 2016. Evaluación de componentes físicos, químicos, organolépticos y del rendimiento de clones universales y regionales de cacao (*Theobroma cacao* L.) en las zonas productoras de Santander, Arauca y Huila. (Tesis para optar el título de Magister en Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Colombia). Repositorio Universidad Nacional de Colombia. Disponible en <https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/56670/NubiaMart%C3%ADnez.2016.pdf?sequence=1>. Consultado el 15 de octubre, 2021.

Massot-Cladera, M., Pérez-Berezo, T., Franch, A., Castel, M., Pérez-Cano, F.J., 2012. Cocoa modulatory effect on rat faecal microbiota and colonic crosstalk, *Archives of Biochemistry and Biophysics* 527, 105-112.

McDonald, J.C., Harris, J., Armstrong, B., 2004. Mortality in a cohort of vermiculite miners exposed to fibrous amphibole in Libby, Montana. *Occupational Environmental Medicine* 61, 363-366.

Meilgaard, M., Civille, G., Carr, B. 2006. *Sensory Evaluation Techniques*, 4^a ed., CRC Press, Inc.

Meter, A., Atkinson, R. J., Laliberte, B., 2019. Cadmio en el cacao de América Latina y el Caribe. Análisis de la investigación y soluciones potenciales para la mitigación. Caracas: CAF. Disponible en <http://scioteca.caf.com/handle/123456789/1505>. Consultado el 28 de Junio, 2020.

- Misnawi, J.S.; Jinap, S.; Jamilah, B.; Nazamid, S., 2005. Achanges in polyphenol ability to produce astringency during roasting of cocoa liquor. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 85, 917-924.
- Molino, S., Casanova, N.A., Rufián-Henares J.A., Fernández-Miyakawa, M.E., 2020. Natural Tannin Wood Extracts as a Potential Food Ingredient in the Food Industry, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 68, 2836-2848.
- Monlau, F., Sambusiti, C., Barakat, A., Quéméneur, M., Trably, E., Steyer J.P., Carrère, H. 2014. Do furanic and phenolic compounds of lignocellulosic and algae biomass hydrolyzate inhibit anaerobic mixed cultures? A comprehensive review. *Biotechnology Advances* 32, 934-951.
- Moreno-Martínez, E., Gavanzo-Cárdenas, O.M., Rangel-Silva, F. A., 2019. Evaluación de las características físicas y sensoriales de licor de cacao asociadas a modelos de siembra. *Ciencia y Agricultura* 16, 75-90.
- Motamayor, J.C., Lachenaud. P., Da Silva, E., Mota, J.W., Loor, R., Kuhn, D.N., Brown, J.S., Schnell, R.J. 2008. Geographic and genetic population differentiation of the Amazonian chocolate tree (*Theobroma cacao* L). *PLoS One* 3, e3311.
- Munguía, L., Gutiérrez-Salmeán, G., Hernández, M., Ortiz, A., Sánchez, M.E., Nájera, N., Meaney, E., Rubio-Gayosso, I., Ceballos, G., 2015. Beneficial effects of a flavanol-enriched cacao beverage on anthropometric and cardiometabolic risk profile in overweight subjects. *Revista Mexicana de Cardioogía* 26, 78-86.

- Navajas-Porras, B., Pérez-Burillo, S., Valverde-Moya, A.J., Hinojosa-Nogueira, D., Pastoriza S., Rufián-Henares, J.A., 2020. Effect of Cooking Methods on the Antioxidant Capacity of Plant Foods Submitted to In Vitro Digestion–Fermentation, *Antioxidants* 9, 1312.
- Navarro, G. y Navarro S. 2013. *Química agrícola: química del suelo y de los nutrientes esenciales para las plantas*. Tercera edición. Editorial Mundiprensa, Madrid.
- Nigam, P.S., Singh, A., 2014. Cocoa and Coffee Fermentations. *Encyclopedia of Food Microbiology* 1, 485-492.
- Nogales, J., Graziani de Fariñas, L., Ortiz de Bertorelli, L., 2006. Cambios físicos y químicos durante el secado al sol del grano de cacao fermentado en dos diseños de cajones de madera. *Agronomía Tropical* 56, 5-20.
- Official Methods of Analysis (AOAC), 2012. Chapter 31. Cacao beans and its products.
- Ogunlade M.O. y Aikpokpodion P.O., 2006. Available Phosphorus and some micro-nutrient contents of cocoa soils in three cocoa growing ecological zones of Nigeria. *Proceedings of 15th International Cocoa Research. Conference, Costa Rica*.
- Oliviero, T., Capuano, E., Caemmerer, B., Fogliano, V., 2009. Influence of roasting on the antioxidant activity and HMF formation of a cocoa bean model systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57, 147-152.

- Ok, Y.S., Usman, A.R.A., Lee, S.S., Abd El-Azeem, S.A.M., Choi, B.S., Hashimoto, Y., Yang, J.E., 2011. Effect of rapeseed residue on cadmium and lead availability and uptake by rice plants in heavy metal contaminated paddy soil. *Chemosphere* 85, 677-682
- Ololade, I.A., Ajayi, I.R., Gbadamosi, A.E., Mohammed, O.Z., Sunday, A.G., 2010. A Study on Effects of Soil Physico-Chemical Properties on Cocoa Production in Ondo State. *Modern Applied Science* 4, 35-43
- Oracz, J., Zyzelewicz, D., 2019. In Vitro Antioxidant Activity and FTIR Characterization of High-Molecular Weight Melanoidin Fractions from Different Types of Cocoa Beans. *Antioxidants*. 8, 560.
- Ortiz, S.J., Chungara, M., Ibieta, G., Alejo, I., Tejeda, L., Peralta, C., Aliaga-Rossel, E., Mollinedo, P., Peñarrieta, J. M., 2019. Determinación de teobromina, catequina, capacidad antioxidante total y contenido fenólico total en muestras representativas de cacao Amazónico Boliviano y su comparación antes y después del proceso de fermentación. *Revista Boliviana de Química* 36, 40-50.
- Paliy, O. y Shankar, V., 2016. Application of multivariate statistical techniques in microbial ecology, *Molecular Ecology* 25, 1032-1057.
- Paramanathan, S., 2000. *Soils of Malaysia: Their characteristics and identification*. Academy of Sciences Malaysi, 1, 666 p.

- Pastoriza, S., Álvarez, J., Végvári, A., Montilla-Gómez, J., Cruz-López, O., Delgado-Andrade C., Rufián-Henares, J.A., 2017. Relationship between HMF intake and SMF formation in vivo: An animal and human study. *Molecular Nutrition y Food Research.*, 61.
- Pastoriza, S., Rufián-Henares, J.A., 2014. Contribution of melanoidins to the antioxidant capacity of the Spanish diet. *Food Chemistry* 164, 438-445.
- Pauget, B., Gimbert, F., Scheifler, R., Coeurdassier, M., De Vaufleury, A., 2012. Soil parameters are key factors to predict metal bioavailability to snails based on chemical extractant data. *Science Total Environment* 431, 413-425.
- Perea, A., Cadena, T., Herrera, J., 2009. El cacao y sus productos como fuente de antioxidantes: Efecto del procesamiento. *Salud UIS* 41, 128-134.
- Perea, A., Martínez, N., Aránzazu, F., Cadena, T., 2013. Características de calidad del cacao de Colombia: Catalogo de 26 cultivares. Universidad Industrial de Santander – Fedecacao. Bucaramanga, Colombia.
- Perea, A., Ramírez, O., y Villamizar, A., 2011. Caracterización fisicoquímica de materiales regionales de cacao colombiano. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial* 9, 35-42.

Pereyra, F.X., Torres, M., 2016. Suelos y Geología Argentina. Primera Edición. Editorial Undav.

Pérez-Burillo, S., Molino, S., Navajas-Porras, B., Valverde-Moya, A.J., Hinojosa, D., López-Maldonado, A., Pastoriza S., Rufián-Henares, J.A., 2021. In vitro batch fermentation protocol to study the contribution of food on gut microbiota composition and functionality, *Nature Protocols* 16, 3186-3209.

Pérez-Burillo, S., Pastoriza, S., Jiménez-Hernández, N., D'Auria, G., Francino, M.P., Rufián-Henares, J.A., 2018. Effect of Food Thermal Processing on the Composition of the Gut Microbiota, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 66, 11500-11509.

Pérez-Burillo, S., Rajakaruna, S., Pastoriza, S., Paliy, O., Rufián-Henares, J. A., 2020. Bioactivity of food melanoidins is mediated by gut microbiota, *Food Chemistry* 316, 126309.

Pérez-Burillo, S., Rufián-Henares J.A., Pastoriza, S., 2019. Effect of home cooking on the antioxidant capacity of vegetables: Relationship with Maillard reaction indicators, *Food Research International* 121, 514-523.

Pérez-Burillo, S., Rufián-Henares, J., Pastoriza, S., 2018. Towards an improved global antioxidant response method (GAR+): physiological-resembling in vitro digestion-fermentation method. *Food Chemistry* 239, 1253-1262.

- Pico, J., Calderón, D., Fernández, F. y Díaz, A., 2012. Guía del manejo integrado de enfermedades del cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.) en la Amazonia. INIAP. Guayaquil, Ecuador.12-15.
- Pineda, R., Chica, M., Echeverri, L., Ortiz, A., Olarte, H., Riaño, N., 2017. Influencia de la fermentación y el secado al sol sobre las características del grano de cacao TSH 565 e ICS 60. *Vitae* 19, 88-290.
- Powis, T. G., Cyphers, A., Gaikwad, N. W., Grivetti, L., Cheong, K., 2011. Cacao use and the San Lorenzo Olmec. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 108, 8595-8600.
- Pozo, M., Carretero, M.I., 2008. Recursos minerales y salud. *Enseñanza de las Ciencias de la Tierra* 16, 262-75.
- Quast, C., Pruesse, E., Yilmaz, P., Gerken, J., Schweer, T., Yarza, P., 2013. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Research* 41, 590-596.
- Quevedo-Guerrero, J.N., Ramírez-Villalobos, M., Alfonso-Portillo, E., García-Batista, R. M., Tuz Guncay, I. G., 2022. Diversidad fisicoquímica y sensorial de 60 árboles elite de *Theobroma cacao* L., del sur del Ecuador. *Revista Universidad y Sociedad*, 14, 543-553.

- Quintana, L., y Gómez, S., 2011. Perfil del sabor del clon CCN51 del cacao (*Theobroma cacao* L.) producido en tres fincas del municipio de San Vicente de Chucurí. *Revista Especializada en Ingeniería de Procesos en Alimentos y Biomateriales* 15, 45-58.
- Quintana, L.F., y García, A., 2021. *Evaluación integral de la calidad sensorial del cacao* Primera Edición. Bogotá: Sello Editorial UNAD (Escuela de Ciencias Agrícolas, Pecuarias y de Medio Ambiente -ECAPMA).
- Rakhsh, F., Golchin, A., Beheshti Al Agha, A., Alamdari, P., 2017. Effects of exchangeable cations, mineralogy and clay content on the mineralization of plant residue carbon. *Geoderma* 307, 150-158.
- Ramos, G., González, N., Zambrano, A., Gómez, Á., 2013 Olores y sabores de cacaos (*Theobroma cacao* L.) venezolanos obtenidos usando un panel de catación entrenado. *Revista Científica UDO Agrícola* 13, 14-127.
- Rannou, C., Laroque, D., Renault, E., Prost, C., Sérot, T., 2016. Mitigation strategies of acrylamide, furans, heterocyclicamines and browning during the Maillard reaction in foods. *Food Research International* 90, 154-176.
- Rascio, N., Navari-Izzo, F., 2011. Heavy metal hyper accumulating plants: how and why do they do it? And what makes them so interesting? *Plant Science* 180, 169- 181.

- Rieuwerts, J., Ashnore, M., Farago, M., y Thornton, I., 2006. The influence of soil characteristics on the extractability of Cd, Pb and Zn in upland and moorland soils. *Science Total Environment* 366, 864-875.
- Ríos, F., Ruiz, A., Lecaro, J., Rehpani, C., 2017. Estrategias país para la oferta de cacao especiales -Políticas e iniciativas privadas exitosas en el Perú, Ecuador, Colombia y República Dominicana. Fundación Swisscontact Colombia. Bogotá D. C.
- Ríos-Covián, D., Ruas-Madiedo, P., Margolles, A., Gueimonde, M., De los Reyes-Gavilán C.G., Salazar, N., 2016. Intestinal Short Chain Fatty Acids and their Link with Diet and Human Health, *Frontiers in Microbiology* 7, 185.
- Riaño, H. N., Chica, M. M., Echeverri, G. L., Aguirre, M. J., Ortiz, A., Pineda, R. S. D. P., Olarte, N. H., 2016. Contenido de Grasa Total, Perfil de Ácidos Grasos y Triglicéridos Proveniente de Cacaos Finos de Aroma: Colombia, Ecuador, Perú, Venezuela. *Vitae* 23, S226-S230.
- Rodríguez-Albarracín, H. S., Darghan-Contreras, A. E., Henao, M. C., 2019. Spatial regression modeling of soils with high cadmium content in a cocoa producing area of Central Colombia. *Geoderma Regional* 16, e00214.
- Rodríguez-Campos, J., Escalona-Buendía, H., Contreras-Ramos, S., Orozco, I., Jaramillo-Flores, M., Lugo, E., 2012. Effect of fermentation time and drying temperature on volatile compounds in cocoa. *Food Chemistry* 132, 277-88.

- Rojas, F., Sacristán, E., 2013. Guía ambiental para el cultivo del cacao, Segunda Edición, Fedecacao. Disponible en https://www.fedecacao.com.co/portal/images/recourses/pub_doctecnicos/fedecacao-pub-doc_05B.pdf. Consultado el 6 de abril, 2020.
- Rojo, C., y Urbano, P., 1992. Condiciones del suelo y desarrollo de las plantas según Russel. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid- España, p. 471-495.
- Ross, M., 1982. A survey of asbestos-related disease in trades and mining occupations and in the factory and mining communities as a means of predicting health risk of non-occupational exposure to fibrous minerals. USGS Open File Report 82-745.
- Rowland, I., Gibson, G., Heinken, A., Scott, K., Swann, J., Thiele I., Tuohy, K., 2018. Gut microbiota functions: Metabolism of nutrients and other food components. *European Journal of Nutrition* 57, 1-24.
- Rufián-Henares, J. A., Guerra-Hernández, G., García-Villanova, B., 2006. Colour measurement as indicator for controlling the manufacture and storage of enteral formulas, *Food Control* 17, 489-493.
- Rufián-Henares, J.A., García-Villanova B., Guerra-Hernández, E., 2002. Determination of furfural compounds in enteral formula, *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies* 24, 3049-3061.

- Rufián-Henares, J.A., García-Villanova B., Guerra-Hernández, E.J., 2004. Generation of furosine and color in infant/enteral formula-resembling systems, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52, 5354-5358.
- Rufián-Henares, J.A., Guerra-Hernández, E.J., García-Villanova, B., 2002. Maillard reaction in enteral formula processing: furosine, loss of o-phthaldialdehyde reactivity, and fluorescence. *Food Research International* 35, 527-533.
- Sacchetti, G., Ioannone, F., De Gregorio, M., Di Mattia, C., Serafini, M., Mastrocola, D., 2016. Non enzymatic browning during cocoa roasting as affected by processing time and temperature. *Journal of Food Engineering* 169, 44-52.
- Sadzawka, A., 1990. Métodos de análisis de suelos. Instituto de Investigaciones Agropecuarias La Platina N°16, Estación Experimental La Platina, Chile. 130 p
- Sánchez, V., 2007. Caracterización organoléptica del cacao (*Theobroma cacao* L.), para la selección de árboles con perfiles de sabor de interés comercial. Tesis de grado previo a la obtención del título de Ingeniero Agrónomo. Quevedo, Las Ríos, Ecuador. Universidad Técnica Estatal De Quevedo.
- Sánchez Silva, J., González, R., Blancas-Benitez, F., Fonseca-Cantabrana, Á., 2020. Utilización de subproductos agroindustriales para la bioadsorción de metales pesados. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas* 23, 1-18.

- Sarriá, B., Gomez-Juaristi, M., Martínez-Lopez, S., García-Cordero, J., Bravo, L., Mateos-Briz, M.R., 2020. Cocoa colonic phenolic metabolites are related to HDL-cholesterol raising effects and methylxanthine metabolites and insoluble dietary fibre to anti-inflammatory and hypoglycemic effects in humans. *PeerJ* 8, e9953.
- Senyigit, A., Dalgic, A., Kavak, O., Cetin- Tanrikulu, A., 2004. Determination of Environmental Exposure to Asbestos (Tremolite) and Mesothelioma Risks in the Southeastern Region of Turkey. *Archives of Environmental Health* 59, 658-662.
- Schwan, R.F., Fleet, G.H., Afoakwa, E.O., 2015. *Cocoa and coffee fermentations*. CRC Press, Boca Ratón, Florida.
- Singleton V.L., Rossi, J.A., 1965. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents, *American Journal of Enology and Viticulture* 16, 144-158.
- Sterckeman, T., Perriguet, J., Cael, M., Schwartz, C., Morel, J.L., 2004. Applying a mechanistic model to cadmium uptake by *Zea mays* and *Thlaspi caerulescens*: consequences for the assessment of the soil quantity and capacity factors. *Plant Soil* 262, 289-302.
- Snoeck D., Koko L., Joffre J., Bastide P., Jagoret P., 2016. Cacao Nutrition and Fertilization. In: Lichtfouse Eric. *Sustainable Agriculture Reviews*. Cham: Springer International Publishing. p. 155-202.

- Smyth, J. A., 1967. Selección de los suelos para el cultivo del cacao. FAO. Boletín sobre suelos N°5. Roma-Italia.
- Sorrenti, V., Ali, S., Mancin, L., Davinelli, S., Paoli, A., Scapagnini, G., 2020. Cocoa Polyphenols and Gut Microbiota Interplay: Bioavailability, Prebiotic Effect, and Impact on Human Health. *Nutrients* 12, 1908.
- Stanley TH, Van Buiten CB, Baker SA, Elias RJ, Anantheswaran RC, Lambert JD., 2018. Impact of roasting on the flavan-3-ol composition, sensory-related chemistry, and in vitro pancreatic lipase inhibitory activity of cocoa beans. *Food Chemistry*. 255, 414-420.
- Stasinos, S., y Zabetakis, I., 2013. The uptake of nickel and chromium from irrigation water by potatoes, carrots and onions. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 91, 122-128
- Stone, Herbert y Sidel, Joel., 2004. *Sensory evaluation practices*, 3a ed. Elsevier Academic Press.
- Suárez M., Buurman P., Camps M., Kaal J., Martínez A., Gartzia N., Macías F., 2011. Comparing NaOH-extractable organic matter of acid forest soils that differ in their pedogenic trends: a pyrolysis-GC/MS study. *European Journal of Soil Science* 62, 834-848.

- Teixidó, E., Núñez, O., Santos, F.J., Galcerán, M.T., 2011. 5-Hydroxymethylfurfural content in foodstuffs determined by mecellar electrokinetic chromatography. *Food Chemistry* 126, 1902-1908.
- Thi, Viet, Nusantoro, Bangun, Aidoo, Roger, Anh, Phan, Thanh Toan, Ha, Messens, Kathy, Dewettinck, Koen., 2016. Physico-chemical properties of fourteen popular cocoa bean varieties in Dongnai – highland Vietnam. *Can Tho University Journal of Science* 04, 81-86.
- Tinajero-Carrizales, C., González-Pérez, A.L., Rodríguez-Castillejos, G.C., Castañón-Nájera G., Ruíz-Salazar, R., 2021. Comparación proximal en Cacao (*Theobroma cacao*) y Pataxte (*T. Bicolor*) de Tabasco y Chiapas, México. *Polibotánica* 52, 135-149.
- Tinoco, H., Ospina, D., 2010. Análisis del proceso de deshidratación de cacao para la disminución de tiempo del secado. *Revista EIA* 13, 53-63.
- Thompson, B.D., Gunter, M.E., Wilson, M.A., 2011. Amphibole asbestos soil contamination in the U.S.A.: A matter of definition. *Journal American Mineralogist* 96, 690-693.
- Tomaru, M., Takano, H., Osakabe, N., Yasuda, A., Inouse, K.-I., Yangisawa, R., Ohwatari, T., Uematsu, H., 2007. Dietary supplementation with cacao liquor proanthocyanidins prevents elevation of blood glucose levels in diabetic obese mice. *Nutrition* 23, 351-355.

Tomas-Barberan, F.A., Cienfuegos-Jovellanos, E., Marín, A., Muguerza, B., Gil-Izquierdo, A., Cerda, B., Zafrilla, P., Morillas, J., Mulero, J., Ibarra, A., Pasamar, M.A., Ramón, D., Espín J.C., 2007. A new process to develop a cocoa powder with higher flavonoid monomer content and enhanced bioavailability in healthy humans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55, 3926-3935.

Tonfack-Djikeng, F. T., Teyomnou-Teyomnou, W., Tenyang, N., Tiencheu, B., Morfor, AT., Hako-Touko, BA., Ndomou-Houketchang, S., Teboukeu-Boungo, G., Lakshmi-Karuna, MS., Zambou-Ngoufack, F., Macaire-Womeni, H., 2018. “Effect of traditional and oven roasting on the physicochemical properties of fermented cocoa beans”. *Heliyon* 4, 1-17.

Tsai, W.T., Chang, C.Y., Lee, S.L., 1997. Preparation and characterization of activated carbons from corn cob. *Carbon* 35, 1198-2005.

Tsao, R., 2010. Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients* 2, 1231-1246.

Tzounis, X., Rodriguez-Mateos, A., Vulevic, J., Gibson, G.R., Kwik-Urbe, C., Spencer, J.P., 2011. Prebiotic evaluation of cocoa-derived flavanols in healthy humans by using a randomized, controlled, double-blind, crossover intervention study. *The American Journal of Clinical Nutrition* 93, 62-72.

USDA, 1993. Soil Survey Manual, Soil Science Division Staff. United States Department of Agriculture, Handbook No. 18.

USDA. Soil Science Division Staff, 2017. Soil survey manual. C. Ditzler, K. Scheffe, and H.C. Monger (eds.). USDA Handbook 18. Government Printing Office, Washington, D.C., USA.

Unión Europea-UE (2014). Regulation N.º 488/2014. They modify EC Regulation N.º 1881/2006 regarding the maximum content of cadmium in food products. Inf. téc. Official Journal of the European Union.

Urbańska, B., Kowalska, J., 2019. Comparison of the Total Polyphenol Content and Antioxidant Activity of Chocolate Obtained from Roasted and Unroasted Cocoa Beans from Different Regions of the World *Antioxidants* 8, 283.

Van-Gestel, C. y Koolhaas, J., 2004. Water-extractability, free ion activity, and pH explain Cadmium sorption and toxicity to *Folsomia Candida* (Collembola) in seven soil-pH combinations. *Environmental toxicology and chemistry* 23, 1822-1833.

Valenzuela-Balcazar, I. y Visconti, E., 2018. Influencia del clima, uso del suelo y profundidad sobre el contenido de carbono orgánico en dos pisos altitudinales andinos del departamento Norte de Santander, Colombia. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas* 12, 233-243.

- Vera, J., 1993. Origen del cacao, botánica y clasificación del cacao en manual del cultivo de cacao, 2nd ed., Manual número 25. Estación Experimental Tropical Pichilingue, INIAP, Quito- Ecuador, 8-16.
- Vera, M., Rosales, H., Ureña, N., 2000. Caracterización físico-química de algunos suelos cacaoteros de la zona sur del lago de Maracaibo, Venezuela. *Revista Geográfica Venezolana* 41, 257-270.
- Vera-Chang, J., Álvarez-Escaleras, M., Ibáñez-Astaburuaga, A., 2021. Sistema de producción de la almendra y del cacao: Una caracterización necesaria. *Revista de Ciencias Sociales* 27, 372-387.
- Violante, A., Pigna M., 2002. Competitive sorption of arsenate and phosphate on different clay minerals and soils. *Soil Science Society of American Journal* 66, 1788-1796.
- Voora, V., Bermúdez, S., Larrea, C., 2019. Global Market Report: Cocoa. Disponible en <https://www.iisd.org/system/files/publications/ssi-global-market-report-cocoa.pdf>. Consultado 7 de Agosto, 2020.
- Xu, P., Sun, C.X., Ye, X.Z., Xiao, W.D., Zhang, Q., Wang, Q., 2016. The effect of biochar and crop straws on heavy metal bioavailability and plant accumulation in a Cd and Pb polluted soil. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 132, 94-100.

- Walkley, A., y Black, I.A., 1934. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science* 37, 29-38.
- Wessel, M., 1971. Fertilizer requirements of cacao (*Theobroma Cacao* L.) in South-Western Nigeria. Koninklijk Instituut voor de Tropen, Amsterdam, The Netherlands.
- Wollgast, J., Anklam, E., 2000. Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: Changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International* 33, 423-447.
- Wood, G.A.R. y Lass, R. A., 1985. Cocoa. Tropical Agricultural. Series Logman Scientific and Technical. Fourth edition. London, England.
- Yamane, K., Kono, M., Fukunaga, T., Iwai, K., Sekine, R., 2014. Field Evaluation of Coffee Grounds Application for Crop Growth Enhancement, Weed Control, and Soil Improvement. *Plant Production Science* 17, 93-102.
- Zhou Y.H., Gallins, P., 2019. A Review and Tutorial of Machine Learning Methods for Microbiome Host Trait Prediction. *Frontiers in. Genetics* 10, 579.
- Zyzelewicz, D., Oracz. J., Sosnowska, D., Nebesny, E., 2016. The influence of the roasting process conditions on the polyphenol content in cocoa beans, nibs and chocolates. *Food Research International* 89, 918-929.

ANEXOS

ANEXO 1

DISEÑO DE EXPERIMENTOS PARA ENSAYO DE REMEDIACIÓN DE SUELOS PRODUCTORES DE CACAO

	No	Enmienda	Dosis (g/kg)	Tiempo (día)	Observación
Zulia	1,2,3	No	0	0	
	4,5,6	No	0	30	
	7,8,9	No	0	45	
	10,11,12	No	0	90	
Tibú	13,14,15	No	0	0	
	16,17,18	No	0	30	
	19,20,21	No	0	45	
	22,23,24	No	0	90	
Zulia	25,26,27	SGC	5	0	
	28,29,30	SGC	5	30	
	31,32,33	SGC	5	45	
	34,35,36	SGC	5	90	
Tibú	37,38,39,	SGC	5	0	
	40,41,42	SGC	5	30	
	43,44,45	SGC	5	45	
	46,47,48	SGC	5	90	
Zulia	49,50,51	SGC	10	0	
	52,53,54	SGC	10	30	
	55,56,57	SGC	10	45	
	58,59,60	SGC	10	90	
Tibú	61,62,63	SGC	10	0	
	64,65,66	SGC	10	30	
	67,68,69	SGC	10	45	
	70,71,72	SGC	10	90	
Zulia	73,74,75	SGC	15	0	
	76,77,78	SGC	15	30	
	79,80,81	SGC	15	45	
	82,83,84	SGC	15	90	
Tibú	85,86,87,	SGC	15	0	
	88,89,90	SGC	15	30	
	91,92,93	SGC	15	45	
	94,95,96	SGC	15	90	
Zulia	97,98,99	Biochar SGC	5	0	
	100,101,102	Biochar SGC	5	30	
	103,104,105	Biochar SGC	5	45	

	106,107,108	Biochar SGC	5	90	
Tibú	109,110,111	Biochar SGC	5	0	
	112,113,114	Biochar SGC	5	30	
	115,116,117	Biochar SGC	5	45	
	118,119,120	Biochar SGC	5	90	
	121,122,123	Biochar SGC	10	0	
Zulia	124,125,126	Biochar SGC	10	30	
	127,128,129,	Biochar SGC	10	45	
	130,131,132	Biochar SGC	10	90	
	133,134,135	Biochar SGC	10	0	
Tibú	136,137,138	Biochar SGC	10	30	
	139,140,141	Biochar SGC	10	45	
	142,143,144	Biochar SGC	10	90	
	145,146,147	Biochar SGC	15	0	
Zulia	148,149,150	Biochar SGC	15	30	
	151,152,153	Biochar SGC	15	45	
	154,155,156	Biochar SGC	15	90	
	157,158,159	Biochar SGC	15	0	
Tibú	160,161,162	Biochar SGC	15	30	
	163,164,165	Biochar SGC	15	45	
	166,167,168	Biochar SGC	15	90	
	169,170,171	Biochar cacao	5	0	
Zulia	172,173,174	Biochar cacao	5	30	
	175,176,177	Biochar cacao	5	45	
	178,179,180	Biochar cacao	5	90	
	181,182,183	Biochar cacao	5	0	
Tibú	184,185,186	Biochar cacao	5	30	

	187,188,189	Biochar cacao	5	45	
	190,191,192	Biochar cacao	5	90	
Zulia	193,194,195	Biochar cacao	10	0	
	196,197,198,199	Biochar cacao	10	30	
	199,200,201	Biochar cacao	10	45	
	202,203,204	Biochar cacao	10	90	
Tibú	205,206,207	Biochar cacao	10	0	
	208,209,210	Biochar cacao	10	30	
	211,212,213	Biochar cacao	10	45	
	214,215,216	Biochar cacao	10	90	
Zulia	217,218,219	Biochar cacao	15	0	
	220,221,222	Biochar cacao	15	30	
	223,224,225	Biochar cacao	15	45	
	226,227,228,	Biochar cacao	15	90	
Tibú	229,230,231,	Biochar cacao	15	0	
	232,233,234	Biochar cacao	15	30	
	235,236,237	Biochar cacao	15	45	
	238,239,240	Biochar cacao	15	90	

ANEXO 2

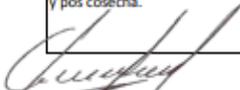
Resultados del ensayo de determinación de elementos minerales en granos y hojas de la planta de cacao y en los suelos donde se cultivan

RESULTADOS																
MUESTRAS	Al	As	Ca	Cr	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Mo	Na	Ni	P	Pb	S	Zn
Muestra	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L
Cacao Z1 (1)	0,359	<	12,98	0,060	0,166	0,407	121,61	46,45	0,280	<	5,219	0,069	96,02	<	iiii	0,123
Cacao Z2 (2)	0,460	<	15,11	0,053	0,251	0,496	175,05	63,65	0,269	<	10,440	0,118	128,15	<	iiii	0,233
Cacao Z3 (3)	0,354	0,212	14,84	0,049	0,221	0,379	96,39	57,46	0,345	0,017	3,623	0,142	117,66	0,034	iiii	0,108
Cacao T1 (4)	0,432	<	15,75	0,059	0,126	0,292	89,96	37,42	0,401	<	4,650	0,037	84,78	<	iiii	<
Cacao T2 (5)	0,369	<	12,79	0,073	0,155	0,351	62,21	49,01	0,294	<	2,964	0,069	83,87	<	iiii	0,111
Cacao T3 (6)	0,432	<	14,90	0,044	0,203	0,455	72,17	57,86	0,409	0,040	6,043	0,047	86,48	<	iiii	0,212
Hojas Z (7)	0,798	<	151,54	0,063	0,035	1,009	253,65	151,4	5,750	0,027	6,507	0,036	60,44	<	iiii	1,018
Hojas T (8)	0,682	<	112,34	0,063	0,047	0,676	208,05	109,62	2,846	0,000	10,010	0,162	69,38	<	iiii	2,076
Blanco 1 (11)	0,434	<	8,40	0,040	<	0,109	1,19	3,26	0,063	<	7,504	<	47,27	0,051	iiii	<
Blanco 2(12)	0,356	<	7,00	0,053	<	0,087	0,97	3,03	0,057	<	3,427	<	49,89	0,056	iiii	<
Cacao Z1 (1')	0,479	<	15,68	0,061	0,317	0,576	198,60	70,02	0,286	0,026	8,910	0,123	143,43	<	iiii	0,226
Cacao Z2 (2')	0,437	<	18,57	0,074	0,272	0,439	178,05	66,32	0,356	<	5,429	0,079	125,24	<	iiii	0,178
Cacao Z3 (3')	0,321	<	12,57	0,046	0,164	0,318	115,82	46,62	0,283	<	3,449	0,087	96,20	<	iiii	0,005
Cacao T1 (4')	0,538	<	23,63	0,060	0,205	0,413	148,58	57,46	0,571	<	6,188	0,030	108,90	0,142	iiii	0,09
Cacao T2 (5')	0,572	<	20,65	0,056	0,285	0,497	224,85	77,49	0,433	0,020	7,711	0,069	148,43	<	iiii	0,312
Cacao T3 (6')	0,415	0,082	14,89	0,051	0,185	0,365	132,53	53,94	0,428	0,025	7,160	0,086	108,15	<	iiii	0,122
Hojas Z (7')	0,697	<	231,68	0,070	0,034	0,805	261,45	151,36	5,630	<	6,470	0,052	80,19	<	iiii	1,007
Hojas T (8')	0,610	<	126,46	0,051	0,017	0,604	207,15	108,22	2,777	0,093	10,870	0,174	82,98	<	iiii	1,995
Blanco 1 (11')	0,240	<	3,81	0,034	<	0,070	0,44	1,58	0,059	0,026	2,523	<	36,51	0,018	iiii	<
Blanco 2(12')	0,307	0,139	6,82	0,042	<	0,075	0,49	2,89	0,056	<	3,686	0,003	43,23	<	iiii	<
DTPA Z1	2,407	<	1009,76	0,080	1,150	51,04	13,55	150,88	23,45	<	10,400	0,494	17,97	<	iiii	7,653
DTPA Z2	5,945	<	967,52	0,045	0,101	39,26	4,02	266,40	4,466	0,062	11,090	0,144	17,70	<	74,73	0,557
DTPA S3	0,230	<	1128,00	0,058	1,151	44,33	46,64	211,04	17,63	<	12,350	0,431	15,23	0,188	57,93	3,752
DTPA T1	28,30	0,073	463,52	0,058	0,464	45,33	1,93	10,31	3,233	0,067	6,027	0,042	13,93	0,477	53,48	0,009
DTPA T2	23,59	<	469,44	0,059	0,266	52,51	2,88	9,35	2,562	<	5,681	0,031	14,02	0,325	43,81	<
DTPA T3	27,31	<	489,92	0,033	0,302	30,99	1,06	4,17	1,987	0,030	5,939	0,044	12,63	0,369	42,2	<
DTPA B	0,174	<	712,48	0,056	<	0,099	1,22	1,64	0,074	<	4,921	<	10,99	0,021	33,07	<
Bases Z 1	**** *	**** *	226,88	*****	**** *	**** *	5,20	36,50	**** *	**** *	4,088	*****	*****	**** *	*****	**** *
Bases Z 2	**** *	**** *	243,20	*****	**** *	**** *	2,25	67,39	**** *	**** *	5,219	*****	*****	**** *	*****	**** *
Bases Z 3	**** *	**** *	248,64	*****	**** *	**** *	8,28	44,46	**** *	**** *	3,983	*****	*****	**** *	*****	**** *
Bases T 1	**** *	**** *	11,27	*****	**** *	**** *	1,87	2,14	**** *	**** *	3,138	*****	*****	**** *	*****	**** *
Bases T 2	**** *	**** *	6,34	*****	**** *	**** *	1,83	1,69	**** *	**** *	1,417	*****	*****	**** *	*****	**** *
Bases T 3	**** *	**** *	5,29	*****	**** *	**** *	1,38	0,78	**** *	**** *	1,565	*****	*****	**** *	*****	**** *
Blanco Bases	**** *	**** *	1,13	*****	**** *	**** *	0,46	0,26	**** *	**** *	0,964	*****	*****	**** *	*****	**** *

NOTA: Z: Zulia; T: Tibú; <por debajo del limite de detección; iii: no identificado

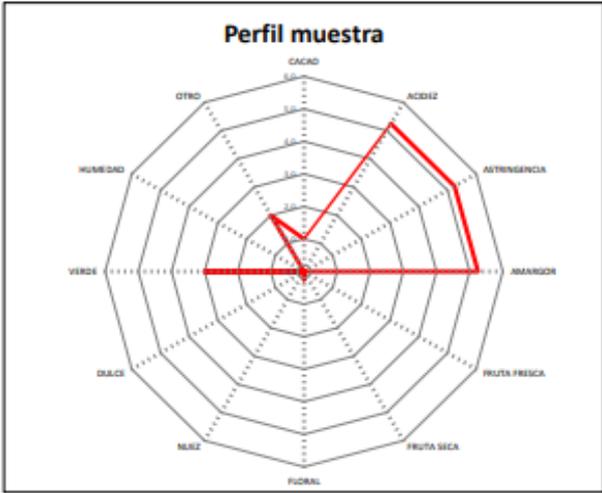
ANEXO 3

Ficha de Perfil sensorial muestra 122

	FEDERACIÓN NACIONAL DE CACAOTEROS - FONDO NACIONAL DEL CACAO HOJA DE RESULTADOS LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO Y SENSORIAL DE CACAO						
Información general							
FECHA	20 de noviembre de 2019	ORGANIZACIÓN / PROPIETARIO	CONV UNIPAMPLONA - FEDECACAO 6				
CODIGO	122	IDENTIFICACION	TRINITARIO				
FINCA	ROSA BLANCA	VEREDA	CAMPO ALICIA				
MUNICIPIO	ZULIA	DEPARTAMENTO	NORTE DE SANTANDER				
Análisis físico							
Humedad %	5,9						
Índice de grano (peso en gramos de 100 granos)	1,1						
PRUEBA DE CORTE (100 granos)							
Bien fermentados	Medianamente fermentados	Violetas	Pizarrosos	% de Fermentación	DEFECTOS (100 granos)		
24	56	20	0	80	Dañados por insectos	Germinados	Mohosos
					0	0	0
Análisis sensorial							
MUESTRA							
	CACAO	1,0					
SABORES BASICOS	ACIDEZ	4,6					
	ASTRINGENCIA	4,8					
	AMARGOR	5,3					
SABORES ESPECIFICOS	FRUTA FRESCA	0,3					
	FRUTA SECA	0,3					
	FLORAL	0,3					
	NUEZ	0,0					
SABORES ADQUIRIDOS	DULCE	0,3					
	VERDE	3,4					
	HUMEDAD	3,3					
	OTRO	0,0					
	CALIFICACIÓN GLOBAL	3,6					
Otro / Cual: sobrefementada							
COMENTARIOS:							
ANALISIS FÍSICO: Teniendo en cuenta la NTC 1252, se encuentra lo siguiente: Índice de grano de 1,1, clasificado como cacao corriente; porcentaje de humedad en 5,9% por debajo de los límites, este porcentaje puede permitir que la almendra se quebre resultando frágil al transporte para comercialización; fermentación de 80%, parámetro óptimo según la NTC, sin embargo un porcentaje inferior o superior no determina la calidad del licor de cacao. EVALUACIÓN SENSORIAL: La muestra presenta aroma humedad y sobrefementación. Sensorialmente, se percibe intensidad media y persistente de los defectos como acidez, astringencia, amargor, verde y sobrefementación; condiciones asociadas a un deficiente proceso de cosecha y pos cosecha.							
 EDITH MORENO MARTINEZ Profesional de Investigación Líder del panel de evaluación sensorial							

Ficha de Perfil sensorial muestra 231

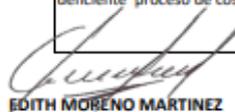
	FEDERACIÓN NACIONAL DE CACAOTEROS - FONDO NACIONAL DEL CACAO HOJA DE RESULTADOS LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO Y SENSORIAL DE CACAO						
Información general							
FECHA	20 de noviembre de 2019	ORGANIZACIÓN / PROPIETARIO	CONV UNIPAMPLONA - FEDECACAO 8				
CODIGO	231	IDENTIFICACION	TRINITARIO				
FINCA	PORVENIR - PALMIRA - ESPERANZA - ROSA BLANCA	VEREDA	PAN DE AZUCAR Y CAMPO ALICIA				
MUNICIPIO	ZULIA	DEPARTAMENTO	NORTE DE SANTANDER				
Análisis físico							
Humedad %			6,4				
Índice de grano (peso en gramos de 100 granos)			1,2				
PRUEBA DE CORTE (100 granos)							
Bien fermentados	Medianamente fermentados	Violetas	Pizarrosos	% de Fermentación	DEFECTOS (100 granos)		
16	36	48	0	52	Dañados por insectos	Germinados	Mohosos
					0	0	0
Análisis sensorial							
MUESTRA							
	CACAO	1,0					
SABORES BASICOS	ACIDEZ	5,3					
	ASTRINGENCIA	5,3					
	AMARGOR	5,3					
SABORES ESPECIFICOS	FRUTA FRESCA	0,0					
	FRUTA SECA	0,0					
	FLORAL	0,3					
	NUEZ	0,0					
	DULCE	0,0					
SABORES ADQUIRIDOS	VERDE	3,0					
	HUMEDAD	0,0					
	OTRO	2,0					
	CALIFICACIÓN GLOBAL	2,3					



Perfil muestra

Otro / Cual: metal - sobrefermentación - picante

COMENTARIOS: ANALISIS FÍSICO: Teniendo en cuenta la NTC 1252, se encuentra lo siguiente: Índice de grano de 1,2, clasificado como cacao premio; porcentaje de humedad en 6,4% por debajo de los límites, este porcentaje puede permitir que la almendra se quiebre resultando frágil al transporte para comercialización; fermentación de 52%, inferior al parámetro óptimo, sin embargo un porcentaje inferior o superior no determina la calidad del licor de cacao. EVALUACIÓN SENSORIAL: La muestra presenta aroma a grasa, acidez acética. Sensorialmente, se percibe intensidad media y persistente de los defectos como acidez, astringencia, amargor, verde, sobrefermentación, tierra, metal, picante, entre otras; condiciones asociadas a un deficiente proceso de cosecha y pos cosecha.



EDITH MORENO MARTINEZ
 Profesional de investigación
 Líder del panel de evaluación sensorial

Ficha de Perfil sensorial muestra 662

FEDERACION NACIONAL DE CACAOTEROS <small>FONDO NACIONAL DEL CACAO</small>		FEDERACIÓN NACIONAL DE CACAOTEROS - FONDO NACIONAL DEL CACAO HOJA DE RESULTADOS LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO Y SENSORIAL DE CACAO					
Información general							
FECHA	20 de noviembre de 2019	ORGANIZACIÓN /PROPIETARIO	CONV UNIPAMPLONA - FEDECACAO 2				
CODIGO	662	IDENTIFICACION	TCS06				
FINCA	LA ESPERANZA	VEREDA	BRISAS DE RIO NUEVO				
MUNICIPIO	TIBU	DEPARTAMENTO	NORTE DE SANTANDER				
Análisis físico							
Humedad %	6,5						
Índice de grano (peso en gramos de 100 granos)	1,3						
PRUEBA DE CORTE (100 granos)					DEFECTOS (100 granos)		
Bien fermentados	Medianamente fermentados	Violetas	Pizarrosos	% de Fermentación	Dañados por insectos	Germinados	Mohosos
70	30	0	0	100	0	0	0
Análisis sensorial							
MUESTRA							
SABORES BASICOS	CACAO	2,4					
	ACIDEZ	3,3					
	ASTRINGENCIA	3,8					
	AMARGOR	3,4					
SABORES ESPECIFICOS	FRUTA FRESCA	1,4					
	FRUTA SECA	0,8					
	FLORAL	0,9					
	NUEZ	0,4					
	DULCE	0,3					
SABORES ADQUIRIDOS	VERDE	2,5					
	HUMEDAD	1,5					
	OTRO	0,0					
	CALIFICACIÓN GLOBAL	3,6					

Otro / Cual:	moho - picante
---------------------	----------------

COMENTARIOS:

ANÁLISIS FÍSICO: Teniendo en cuenta la NTC 1252, se encuentra lo siguiente: Índice de grano de 1,3, clasificado como cacao premio; porcentaje de humedad en 6,5% por debajo de los límites, este porcentaje puede permitir que la almendra se quiebre resultando frágil al transporte para comercialización; fermentación de 100%, parámetro óptimo según la NTC, sin embargo el encontrarse en este porcentaje no significa que la calidad del licor de cacao sea mejor que porcentajes menores.

EVALUACIÓN SENSORIAL: La muestra presenta aroma acidez, verde. Sensorialmente, se percibe intensidad media de los defectos como acidez, astringencia, amargor, verde, picante y moho; condiciones asociadas a un deficiente proceso de cosecha y pos cosecha.

EDITH MORENO MARTINEZ
 Profesional de Investigación
 Líder del panel de evaluación sensorial

Ficha de Perfil sensorial muestra 737

FEDERACION NACIONAL DE CACAOTEROS <small>FONDO NACIONAL DEL CACAO</small>		FEDERACIÓN NACIONAL DE CACAOTEROS - FONDO NACIONAL DEL CACAO HOJA DE RESULTADOS LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO Y SENSORIAL DE CACAO					
Información general							
FECHA	20 de noviembre de 2019	ORGANIZACIÓN /PROPIETARIO	CONV UNIPAMPLONA - FEDECACAO 3				
CODIGO	737	IDENTIFICACION	TRINITARIO				
FINCA	PORVENIR	VEREDA	PAN DE AZUCAR				
MUNICIPIO	ZULIA	DEPARTAMENTO	NORTE DE SANTANDER				
Análisis físico							
Humedad %	6,4						
Índice de grano (peso en gramos de 100 granos)	1,2						
PRUEBA DE CORTE (100 granos)			DEFECTOS (100 granos)				
Bien fermentados	Medianamente fermentados	Violetas	Pizarrosos	% de Fermentación	Dañados por insectos	Germinados	Mohosos
10	34	56	0	44	0	0	0
Análisis sensorial							
MUESTRA							
SABORES BASICOS	CACAO	5,4					
	ACIDEZ	2,3					
	ASTRINGENCIA	1,3					
	AMARGOR	2,9					
SABORES ESPECIFICOS	FRUTA FRESCA	3,1					
	FRUTA SECA	3,0					
	FLORAL	1,3					
	NUEZ	2,4					
SABORES ADQUIRIDOS	DULCE	2,8					
	VERDE	0,5					
	HUMEDAD	0,5					
	OTRO	1,0					
	CALIFICACIÓN GLOBAL	6,5					

Otro / Cual: panela

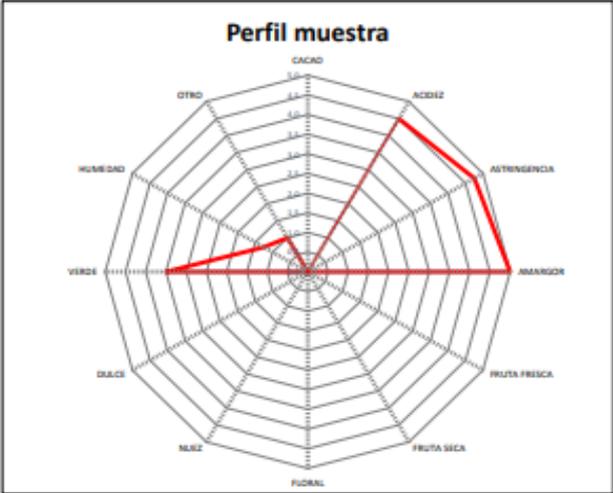
COMENTARIOS:

ANÁLISIS FÍSICO: Teniendo en cuenta la NTC 1252, se encuentra lo siguiente: Índice de grano de 1,2 clasificado como cacao premio; porcentaje de humedad en 6,4% por debajo de los límites, este porcentaje puede permitir que la almendra se quiebre resultando frágil al transporte para comercialización; fermentación de 44%, inferior al parámetro óptimo, sin embargo un porcentaje inferior o superior no determina la calidad del licor de cacao. EVALUACIÓN SENSORIAL: La muestra presenta aroma a grasa, rancio. En boca al inicio resalta notas a cacao medio, sabores acidez, amargor y sensación astringencia en equilibrio, en cuanto a sabores específicos sobresale fruta seca, floral, nuez y dulce.

EDITH MORENO MARTINEZ
 Profesional de investigación
 Líder del panel de evaluación sensorial

Ficha de Perfil sensorial muestra 752

 FEDERACION NACIONAL DE CACAOTEROS <small>FONDO NACIONAL DEL CACAO</small>		FEDERACIÓN NACIONAL DE CACAOTEROS - FONDO NACIONAL DEL CACAO HOJA DE RESULTADOS LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO Y SENSORIAL DE CACAO					
Información general							
FECHA	20 de noviembre de 2019	ORGANIZACIÓN / PROPIETARIO	CONV UNIPAMPLONA - FEDECACAO 7				
CODIGO	752	IDENTIFICACION	TRINITARIO				
FINCA	LOS MANGOS	VEREDA	CAMPO ALICIA				
MUNICIPIO	ZULIA	DEPARTAMENTO	NORTE DE SANTANDER				
Análisis físico							
Humedad %		6,0					
Índice de grano (peso en gramos de 100 granos)		1,4					
PRUEBA DE CORTE (100 granos)					DEFECTOS (100 granos)		
Blen fermentados	Medianamente fermentados	Violetas	Pizarrosos	% de Fermentación	Dañados por insectos	Germinados	Mohosos
28	32	40	0	60	0	0	0
Análisis sensorial							
MUESTRA							
	CACAO	0,0					
SABORES BASICOS	ACIDEZ	4,5					
	ASTRINGENCIA	4,8					
	AMARGOR	5,0					
SABORES ESPECIFICOS	FRUTA FRESCA	0,0					
	FRUTA SECA	0,0					
	FLORAL	0,0					
	NUEZ	0,0					
SABORES ADQUIRIDOS	DULCE	0,0					
	VERDE	3,5					
	HUMEDAD	1,3					
	OTRO	1,0					
	CALIFICACIÓN GLOBAL	1,5					



Otro / Cual:	picante - tierra - violetas
---------------------	-----------------------------

COMENTARIOS: ANALISIS FÍSICO: Teniendo en cuenta la NTC 1252, se encuentra lo siguiente: Índice de grano de 1,4, clasificado como cacao premio; porcentaje de humedad en 6,0% por debajo de los límites, este porcentaje puede permitir que la almendra se quiebre resultando frágil al transporte para comercialización; fermentación de 60%, inferior al parámetro óptimo, sin embargo un porcentaje inferior o superior no determina la calidad del licor de cacao. EVALUACIÓN SENSORIAL: La muestra presenta aroma a acidez acética. Sensorialmente, se percibe intensidad media persistente de los defectos como acidez, astringencia, amargor, verde, tierra, picante, entre otras; condiciones asociadas a un deficiente proceso de cosecha y pos cosecha.



EDITH MORENO MARTINEZ
 Profesional de Investigación
 Líder del panel de evaluación sensorial

Ficha de Perfil sensorial muestra 882

 FEDERACION NACIONAL DE CACAOTEROS <small>FONDO NACIONAL DEL CACAO</small>	FEDERACIÓN NACIONAL DE CACAOTEROS - FONDO NACIONAL DEL CACAO HOJA DE RESULTADOS LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO Y SENSORIAL DE CACAO						
Información general							
FECHA	20 de noviembre de 2019	ORGANIZACION /PROPIETARIO	CONV UNIPAMPLONA - FEDECACAO 1				
CODIGO	882	IDENTIFICACION	TCS01				
FINCA	LA ESPERANZA	VEREDA	BRISAS DE RIO NUEVO				
MUNICIPIO	TIBU	DEPARTAMENTO	NORTE DE SANTANDER				
Análisis físico							
Humedad %	6,8						
Índice de grano (peso en gramos de 100 granos)	1,8						
PRUEBA DE CORTE (100 granos)							
Bien fermentados	Medianamente fermentados	Violetas	Pizarrosos	% de Fermentación	DEFECTOS (100 granos)		
56	34	10	0	90	Dañados por insectos	Germinados	Mohosos
					0	0	0
Análisis sensorial							
MUESTRA							
SABORES BASICOS	CACAO	1,3					
	ACIDEZ	5,5					
	ASTRINGENCIA	5,8					
	AMARGOR	5,3					
SABORES ESPECIFICOS	FRUTA FRESCA	0,3					
	FRUTA SECA	0,8					
	FLORAL	0,8					
	NUEZ	0,8					
SABORES ADQUIRIDOS	DULCE	0,3					
	VERDE	4,9					
	HUMEDAD	2,0					
	OTRO	2,0					
	CALIFICACIÓN GLOBAL	3,6					



Otro / Cual: sobrefermentación - lacteo - picante

COMENTARIOS: ANALISIS FÍSICO: Teniendo en cuenta la NTC 1252, se encuentra lo siguiente: Índice de grano de 1,8, clasificado como cacao premio; porcentaje de humedad en 6,8% por debajo de los límites, este porcentaje puede permitir que la almendra se quiebre resultando frágil al transporte para comercialización; fermentación de 90%, parámetro óptimo según la NTC, sin embargo un porcentaje inferior o superior no determina la calidad del licor de cacao. EVALUACIÓN SENSORIAL: La muestra presenta aroma acidez acética, lácteo, sobrefermentación. Sensorialmente, se percibe intensidad media y persistente de los defectos como acidez, astringencia, amargor, verde, humedad y sobrefermentación; condiciones asociadas a un deficiente proceso de cosecha y pos cosecha.


EDITH MORENO MARTINEZ
 Profesional de Investigación
 Líder del panel de evaluación sensorial

Ficha de Perfil sensorial muestra 911

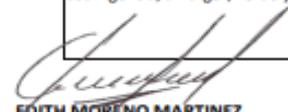
 FEDERACION NACIONAL DE CACAOTEROS <small>FONDO NACIONAL DEL CACAO</small>	FEDERACIÓN NACIONAL DE CACAOTEROS - FONDO NACIONAL DEL CACAO HOJA DE RESULTADOS LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO Y SENSORIAL DE CACAO						
Información general							
FECHA	20 de noviembre de 2019	ORGANIZACIÓN /PROPIETARIO	CONV UNIPAMPLONA - FEDECACAO 5				
CODIGO	911	IDENTIFICACION	TRINITARIO				
FINCA	LA ESPERANZA	VEREDA	PAN DE AZUCAR				
MUNICIPIO	ZULIA	DEPARTAMENTO	NORTE DE SANTANDER				
Análisis físico							
Humedad %	6,0						
Índice de grano (peso en gramos de 100 granos)	1,3						
PRUEBA DE CORTE (100 granos)							
Bien fermentados	Medianamente fermentados	Violetas	Pizarrosos	% de Fermentación	DEFECTOS (100 granos)		
12	36	52	0	48	Dañados por insectos	Germinados	Mohosos
					0	0	0
Análisis sensorial							
MUESTRA	CACAO	2,5					
SABORES BASICOS	ACIDEZ	4,8					
	ASTRINGENCIA	5,0					
	AMARGOR	4,8					
	FRUTA FRESCA	1,4					
SABORES ESPECIFICOS	FRUTA SECA	1,0					
	FLORAL	0,0					
	NUEZ	1,1					
	DULCE	0,5					
SABORES ADQUIRIDOS	VERDE	3,8					
	HUMEDAD	1,5					
	OTRO	0,8					
	CALIFICACIÓN GLOBAL	4,3					



Otro / Cual: acidez acética

COMENTARIOS:

ANÁLISIS FÍSICO: Teniendo en cuenta la NTC 1252, se encuentra lo siguiente: Índice de grano de 1,3, clasificado como cacao premio; porcentaje de humedad en 6,0% por debajo de los límites, este porcentaje puede permitir que la almendra se quiebre resultando frágil al transporte para comercialización; fermentación de 48%, parámetro inferior según la NTC, sin embargo un porcentaje inferior o superior no determina la calidad del licor de cacao. EVALUACIÓN SENSORIAL: La muestra presenta aroma leve cacao, acidez. Sensorialmente, se percibe intensidad media y persistente de los defectos como acidez, astringencia, amargor, verde y humedad; condiciones asociadas a un deficiente proceso de cosecha y pos cosecha.



EDITH MORENO MARTINEZ
 Profesional de Investigación
 Líder del panel de evaluación sensorial

ANEXO 4

DESCRIPCIÓN DE SUELOS DE CULTIVO DE CACAO

MUESTRA: SOMOS-ZULIA CACAO 1

FECHA DE ANÁLISIS: 20/01/2019

CARACTERÍSTICAS		EVALUACIÓN	OBSERVACIÓN
Horizonte		Ap	
		Capa arable 0-20 cm	
Color (Carta de color Munsell)	Seco	Matriz: 10 YR 5/4 (Pardo amarillento)	Se observan dos tonalidades. La tonalidad dominante es el marron claro
		Manchas marrón oscuro: 10 YR 5/3 Pardo	
	Húmedo	Matriz: 10 YR 4/3,5 Entre pardo amarillento oscuro y pardo	
		Manchas marrón oscuro: 10 YR 3/3 Pardo oscuro	
Estructura	Grado	Fuerte, con agregados duraderos.	
	Clase y tipo	Bloques subangulares medianos que rompen en bloques subangular muy finos.	
Consistencia	Seco	Agregados firmes y extremadamente duros	
	Húmedo	Suelo adherente y plástico	
Calcáreo		No calcáreo	
Raíces		Muy pocas raíces	

CARACTERÍSTICAS		EVALUACIÓN	OBSERVACIÓN
Horizonte		Ap	
		Capa arable 0-20 cm	
Color (Carta de color Munsell)	Seco:	10 YR 5/5 Pardo amarillento	
	Húmedo:	10 YR 3/4 Pardo amarillento oscuro	
Estructura	Grado	Moderado	Clase y tipo de estructura
	Clase	Subangulares poco gruesa, la mayoría son grumos medianos de 10-20 mm y finos son menos fuertes, más débil	
	Tipo	Firme	
	Consistencia	Húmedo: suelo adherente y plástico	
		Seco: entre duro y muy duro	
Calcáreo		No calcáreo	
Raíces		Muy pocas raíces	

CARACTERÍSTICAS		EVALUACIÓN	OBSERVACIÓN
Horizonte		Ap	
		Capacidad arable 0-20 cm	
Color (Carta de color Munsell)	Seco:	Manchas marron claro: 10 YR 5/4 Pardo amarillento	Se observa mezcla de dos colores.
		Manchas marrón oscuro: 7,5 YR 4/6 Pardo fuerte	
	Húmedo:	Manchas marron claro: 10 YR 3/3 Pardo oscuro	
		Manchas marrón oscuro: 7,5 YR 3/4 Pardo oscuro	
Estructura	Grado	Fuerte.	Hay que humedecerlo para poderlo romper. Poco fragmento rocoso Porosidad de agregados escasa
	Clase	Bloques subangulares con tendencia a ser angulares.	
	Tipo	Extremadamente firme y extremadamente duro	
	Consistencia	El suelo adherente y plástico	
Los agregados firmes y duros			
Calcáreo		No calcáreo	
Raíces		Muy pocas raíces	

MUESTRA: CAMPO DOS, TIBÚ 1

FECHA DE ANÁLISIS: 20/01/2019

CARACTERÍSTICAS		EVALUACIÓN	OBSERVACIÓN
Horizonte		Ap	Domina el material suelto
		Capacidad arable 0-20 cm	
Color (Carta de color Munsell)	Seco:	10 YR 7/4 Pardo muy pálido	Color homogéneo
	Húmedo:	10 YR 5/4 Pardo amarillento	
Estructura	Grado	Débil	Típico de suelo arenoso
	Clase	Agregados redondeados	
	Tipo	Subangular, medianos	
	Consistencia	Suelo no adherente y no plástico, muy friable (se une cuando se comprime).	
Calcáreo		No calcáreo	
Raíces		Muy finas y pocas	

MUESTRA: CAMPO DOS, TIBÚ 2

FECHA DE ANÁLISIS: 20/01/2019

CARACTERÍSTICAS		EVALUACIÓN	OBSERVACIÓN
Horizonte		Ap	Domina el material suelto
		Capacidad arable 0-20 cm	
Color (Carta de color Munsell)	Seco:	10 YR 6/4 Pardo amarillento claro	Color homogéneo
	Húmedo:	10 YR 4/4 Pardo amarillento oscuro	
Estructura	Grado	Débil	Típico de suelo arenoso
	Clase	Agregados redondeados	
	Tipo	Subangular, medianos	
	Consistencia	Suelo no adherente y no plástico, muy friable (se une cuando se comprime).	
Calcáreo		No calcáreo	
Raíces		Finas y medianamente gruesas en poca cantidad	

MUESTRA: CAMPO DOS, TIBÚ 3

FECHA DE ANÁLISIS: 20/01/2019

CARACTERÍSTICAS		EVALUACIÓN	OBSERVACIÓN
Horizonte		Ap	Domina el material suelto
		Capacidad arable 0-20 cm	
Color (Carta de color Munsell)	Seco:	10 YR 7/4 Pardo muy pálido	Abundantes manchas de color más claro
	Húmedo:	10 YR 5/4 Pardo amarillento	
Estructura	Grado	Débil	Típico de suelo arenoso
	Clase	Agregados redondeados	
	Tipo	Subangular, medianos	
	Consistencia	Suelo no adherente y no plástico, muy friable (se une cuando se comprime).	
Calcáreo		No calcáreo	
Raíces		Finas y medianamente gruesas en poca cantidad	

ANEXO 6

Bioremediación de cadmio usando biochar en suelos de Zulia y Tibú (45 días)

