



UNIVERSIDAD ESTATAL DE MILAGRO

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:

MAGISTER EN QUÍMICA APLICADA

TÍTULO DEL PROYECTO:

**DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DEL ACIDO 2,4
DICLOROFENOXIACETICO EN CACAO EN GRANO (*Theobroma
cacao*) PARA EXPORTACIÓN**

TUTOR

ING. MANUEL FIALLOS. MSC.

AUTOR

Q.F. VERÓNICA ANCAYAY LEAL

Milagro, Junio 2022

ACEPTACIÓN DEL TUTOR

En calidad de Tutor de Proyecto de Investigación, nombrado por el Comité Académico del Programa de Maestría en Química Aplicada de la Universidad Estatal de Milagro.

CERTIFICO

Que he analizado el Proyecto de Investigación con el tema **DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DEL ACIDO 2,4 DICLOROFENOXIACETICO EN CACAO EN GRANO (Theobroma cacao) PARA EXPORTACIÓN**, elaborado por la **Q.F. VERÓNICA ANCAYAY LEAL**, el mismo que reúne las condiciones y requisitos previos para ser defendido ante el tribunal examinador, para optar por el título de **MAGISTER EN QUIMICA APLICADA**.

Milagro, a los 07 días del mes de febrero del 2022



Firmado electrónicamente por:
**MANUEL ALEJANDRO
FIALLOS CARDENAS**

Ing. Manuel Fiallos. Msc.

C.I. 0919525337

DECLARACIÓN DE AUTORÍA DE LA INVESTIGACIÓN

El autor de esta investigación declara ante el Comité Académico del Programa de Maestría en Química Aplicada de la Universidad Estatal de Milagro, que el trabajo presentado de mi propia autoría, no contiene material escrito por otra persona, salvo el que está referenciado debidamente en el texto; parte del presente documento o en su totalidad no ha sido aceptado para el otorgamiento de cualquier otro Título de una institución nacional o extranjera.

Milagro, a los 23 días del mes de junio del 2022

Verónica Paola Ancayay Leal

CI: 0924186372

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO CERTIFICACIÓN DE LA DEFENSA

El TRIBUNAL CALIFICADOR previo a la obtención del título de **MAGÍSTER EN QUÍMICA APLICADA**, otorga al presente proyecto de investigación en las siguientes calificaciones:

TRABAJO DE TITULACION	58.00
DEFENSA ORAL	39.33
PROMEDIO	97.33
EQUIVALENTE	Excelente



Firmado electrónicamente por:
**MONICA DEL
ROCIO VILLAMAR
AVEIGA**

Msc VILLAMAR AVEIGA MONICA DEL ROCIO
PRESIDENTE/A DEL TRIBUNAL



Firmado electrónicamente por:
**MANUEL ALEJANDRO
FIALLOS CARDENAS**

Mgtr. FIALLOS CARDENAS MANUEL ALEJANDRO
DIRECTOR/A DE TFM



Firmado electrónicamente por:
**JUAN DIEGO
VALENZUELA
COBOS**

Phd. VALENZUELA COBOS JUAN DIEGO
SECRETARIO/A DEL TRIBUNAL

DEDICATORIA

Este trabajo va dedicado a mis hijos Maximiliano y Fausto Reinoso Ancayay quienes son mi motor y me impulsan a ser mejor persona, por quienes me esfuerzo siendo una mejor profesional de quienes se sientan orgullosos.

A mis padres Norberto Ancayay y Nancy Leal han sido quienes me dieron su amor, apoyo moral y económico y me permitieron tener un título académico y quienes me dieron la educación necesaria, han sido mi contención y me han ayudado en momentos claves cuando los he necesitado.

Verónica Paola Ancayay Leal

AGRADECIMIENTO

A Dios que por su gracia y misericordia me ha otorgado salud y me ha dado la fuerza necesaria para luchar por mis objetivos, por su infinito amor y bondad y no permitirme desmayar, por iluminar mi camino ser mi protección.

A mi familia Norberto Ancayay, Nancy Leal y hermanas por ser mi apoyo. Gracias siempre.

A mis hijos que han tenido la paciencia para esperar mi ausencia, les agradezco por ser mi motivación. Los amo.

A mis amigos que con sus consejos me ayudaron y compartieron sus experiencias y supieron darme una mano cuando más los necesitaba.

A mi esposo que me ayudó en momentos complicados cuando debía continuar en este proceso.

A quienes aportaron en mi desarrollo profesional, por sus conocimientos y enseñanzas. Gracias porque han aportado con sus lecciones para enfrentar la vida profesional.

Verónica Paola Ancayay Leal

CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR

Sr. Dr.

Jorge Fabricio Guevara Viejó.

Rector de la Universidad Estatal de Milagro

Presente.

Mediante el presente documento, libre y voluntariamente procedo a hacer entrega de la Cesión de Derecho del Autor del Trabajo realizado como requisito previo para la obtención de mi Título de Cuarto Nivel, en la Maestría de Química Aplicada cuyo tema fue **Determinación de la presencia del ácido 2,4 Diclorofenoxiacético en cacao en grano (*Theobroma cacao*) para exportación**, y que corresponde a la Dirección de Investigación y Posgrado.

Milagro, 23 de junio del 2022.

-

Verónica Paola Ancayay Leal

CI: 0924186372

INDICE

INTRODUCCIÓN.....	1
CAPITULO I. EL PROBLEMA.....	3
1.1 Planteamiento del problema.....	3
1.1.1 Problematización.....	3
1.1.2 Formulación del problema.....	5
1.1.3 Hipótesis.....	5
1.2 Objetivos.....	5
1.2.1 Objetivo general.....	5
1.2.2 Objetivos específicos.....	5
1.3 Justificación.....	6
CAPITULO II. MARCO TEÓRICO.....	8
2.1 Plaguicidas.....	8
2.1.1 Producción y uso.....	9
2.1.2 Clasificación de los plaguicidas.....	11
2.1.3 Herbicida 2,4 D.....	15
2.1.4 Uso de herbicidas en cultivos.....	17
2.2 Contaminación de suelos y aguas por herbicidas.....	18
2.3 Movilidad de herbicidas en el suelo.....	20
2.4 Degradación de herbicidas en el suelo.....	21
2.5 El Cacao (<i>Theobroma cacao</i>).....	23
2.5.1 Composición del cacao.....	24
2.5.2 Variedades de cacao en Ecuador.....	25
2.6 Normativa para el control de residuos químicos en cacao en grano.....	27
CAPITULO III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	29
3.1 METODOLOGÍA.....	29
3.2 MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS.....	29

3.2.1	Materiales	29
3.2.2	Reactivos	30
3.2.3	Equipos	30
3.3	PROCEDIMIENTO.....	31
3.3.1	Muestreo de cacao en grano.....	31
3.3.2	Extracción de la muestra	31
3.3.3	Purificación	32
3.3.4	Análisis Instrumental	35
3.4	Cálculos	35
CAPITULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN		37
4.1	Cuantificación del herbicida 2,4-D en muestras de cacao en grano	37
4.2	Evaluación de la concentración residual del herbicida 2,4 D en cacao en grano 39	
4.3	DISCUSIÓN	40
CAPITULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....		42
5.1	CONCLUSIONES	42
5.2	RECOMENDACIONES.....	42
Referencias bibliográficas.....		43
ANEXOS.....		47

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Clasificación de los Plaguicidas.....	11
Figura 2. Pesticidas Organoclorados.....	12
Figura 3. Compuesto Organofosforado: Paratión.....	13
Figura 4. Estructura química de un compuesto carbamato.....	13
Figura 5. Estructura química de las piretrinas. *piretrina I: R = CH ₃ , *piretrina II: R = CO ₂ CH ₃	14
Figura 6. Estructura química del 2,4-D	15
Figura 7. Mecanismo de acción del herbicida 2,4-D sobre las malas hierbas objetivo. 16	
Figura 8. Destino del 2,4-D después de su aplicación agrícola y doméstica.....	17
Figura 9. Probables vías de exposición en un entorno doméstico, debido a la contaminación del suelo.....	18
Figura 10. Introducción de los plaguicidas a la cadena alimentaria y posible transformación en el ambiente.....	19
Figura 11. Factores que afectan el comportamiento de herbicidas en el suelo.	21
Figura 12. Árbol del cacao.	23
Figura 13. Composición de la mazorca del cacao.....	24
Figura 14. Variedades del cacao.	25
Figura 15. Cacao criollo	25
Figura 16. Cacao forastero.....	26
Figura 17. Plantula de cacao CCN-51.	27
Figura 18. Cacao en grano seco.....	31
Figura 19. Extracciones utilizando el equipo Bio-homogeneizador.	32
Figura 20. Extracto de la muestra con disolvente acetona.	32
Figura 21. Balón de 50 ml que contiene el extracto concentrado a 3 ml.....	33
Figura 22. Muestra cuyo extracto purificado en cartucho es sometida a evaporación en un equipo rotavapor.....	33
Figura 23. Recolección de extracto metanólico en cartuchos C18.....	34
Figura 24. Curva de calibración del 2,4 D.....	37
Figura 25. Cromatograma de un estándar de 10 ug/L. Se observan las dos transiciones del analito 2,4-D	38

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. LMR Herbicidas. CODEX ALIMENTARIUS.....	28
Tabla 2. Concentraciones obtenidas de la curva de calibración del analito 2,4-D	38
Tabla 3. Concentraciones residuales en mg/kg de 2,4 D de cada productor evaluado.	39

RESUMEN

El cacao en grano en Ecuador constituye uno de los productos de exportación más importantes, y es sometido a ensayos que aseguren su calidad e inocuidad alimentaria. En este sentido, las instituciones gubernamentales realizan el muestreo y certificación del cacao en grano que se exporta. Uno de los compuestos agrotóxicos que es monitoreado es el ácido 2,4 diclorofenoxiacético (2,4-D), un herbicida que presenta una elevada persistencia en el medio ambiente ya sea como consecuencia de su uso en cultivos o porque ha sido encontrado en sitios diferentes de su aplicación, además de tener un alta recalcitrancia en los suelos. Los residuos del 2,4-D han sido encontrados en productos como el cacao en grano, que en el año 2018 tuvo entre sus destinos principales países de exportación como Indonesia, Estados Unidos y Japón, este último ha establecido límites máximos de residuos (LMR) de plaguicidas específicos que pueden hallarse en el producto. El objetivo del presente estudio es, demostrar la presencia del herbicida 2,4-D en el cacao en grano para exportación. Por consiguiente, se seleccionaron 3 haciendas productoras de cacao ubicadas en la provincia del Guayas y se evaluó la concentración residual del herbicida en muestras que se tomaron del producto final, el análisis se realizó mediante un equipo cromatógrafo líquido (UPLC) con un detector de masas. La concentración residual obtenida de 0.03 mg/kg, en el productor del cantón El Empalme permitió evidenciar que el producto empacado es susceptible de absorber indirectamente el herbicida, debido a que los sacos fueron transportados en camiones que no se encontraban sanitizados de forma adecuada para evitar contaminaciones cruzadas. Por tal motivo, se elaboró una guía que contiene información que, les permita adoptar medidas que minimicen el impacto de contaminaciones que afecten el cacao en grano como producto final.

Palabras claves: ácido 2,4 diclorofenoxiacético, cacao, compuestos agrotóxicos, cromatografía líquida, herbicidas.

ABSTRACT

Cocoa beans in Ecuador constitute one of the most important export products, and are subjected to tests that ensure their quality and food safety. In this sense, government institutions carry out sampling and certification of cocoa beans that are exported. One of the agrototoxic compounds that is monitored is 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D), a herbicide that has a high persistence in the environment either as a consequence of its use in crops or because it has been found in sites different from its application, in addition to having a high recalcitrance in soils. 2,4-D residues have been found in products such as cocoa beans, which in 2018 had among its main destinations export countries such as Indonesia, the United States and Japan, the latter having established maximum residue limits (MRL) of specific pesticides that may be found in the product. The objective of this study is to demonstrate the presence of the herbicide 2,4-D in cocoa beans for export. Therefore, 3 cocoa-producing farms located in the province of Guayas were selected and the residual concentration of the herbicide was evaluated in samples taken from the final product, the analysis was carried out using a liquid chromatograph (UPLC) with a mass detector. The residual concentration obtained of 0.03 mg/kg, in the producer of the El Empalme canton made it possible to show that the packaged product is capable of indirectly absorbing the herbicide, due to the fact that the bags were transported in trucks that were not adequately sanitized to avoid cross contaminations. For this reason, a guide was prepared that contains information that allows them to adopt measures that minimize the impact of contamination that affects cocoa beans as a final product.

Keywords: 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, cocoa, agrototoxic compounds, liquid chromatography, herbicides.

INTRODUCCIÓN

El Cacao es uno de los productos más relevantes en nuestro país, esto ha dado lugar a un favorable y destacado reconocimiento. Si no que, también más del 70% del Cacao fino y de aroma es producido en Ecuador, convirtiéndonos así en el mayor productor de cacao de aroma a nivel mundial.

La importancia radica en el origen genético del grano, lográndose a través de un correcto tratamiento postcosecha. En este sentido, se considera todos los compuestos agrotóxicos y otros elementos que se utilizan para obtener cultivos que permitan obtener productos con características individuales distintivas.

Considerando que las malezas conforman uno de los factores bióticos desfavorables más importantes, pues compiten en los cultivos por nutrientes, luz y agua, son huéspedes de patógenos perjudiciales al ocasionar pérdidas monetarias por disminución de su rendimiento y calidad del grano.

Por ello, la cuantificación de plaguicidas en nuestro país es fundamental para el desarrollo del sector agrícola, ya que los mismos se utilizan a nivel nacional en gran medida como un soporte para las actividades, que promueven un adecuado crecimiento en el manejo de cultivos.

Entre los plaguicidas que tienen mayor importancia, se encuentran los herbicidas que por su acción pueden afectar cultivos fuera del objetivo. Por tal motivo, hace aproximadamente 5 años atrás se utilizaba una mezcla de 2,4 D y glifosato para la prevención y control de malezas en plantaciones de cacao. En la actualidad, sólo se utiliza glifosato en bajas dosis. Pero debido a la alta persistencia del 2,4-D en el ambiente o porque debido a su aplicación en cultivos de maíz que se encuentren en fincas de pequeños productores en donde además se produce cacao, por los procesos de dispersión y deriva puede ocurrir contaminación difusa.

El fin previsto para el cual será utilizado el cacao en grano, influirá en su procesamiento, ya que podrá ser exportado o ser utilizado localmente para el procesamiento de subproductos como manteca, polvo y pasta.

La exportación del cacao en grano continúa en aumento, por ello durante los meses de agosto y septiembre del año 2020 se alcanzó uno de los valores más altos de exportaciones, llegando a exportar 75 mil toneladas del producto. Los mayores compradores fueron los países de Indonesia, Malasia y Estados Unidos.

Ecuador, es el productor de cacao más eficiente del mundo en la actualidad, alcanzando una productividad de 600-800 kilos/Ha./año, debido a que utiliza clones de variedades híbridas, y al empleo de técnicas agrícolas de punta, que han sido desarrolladas por técnicos ecuatorianos reconocidos a nivel internacional.

CAPITULO I. EL PROBLEMA

1.1 Planteamiento del problema

1.1.1 Problematización

En la agricultura moderna una de las preocupaciones existentes es el uso de plaguicidas, por tal motivo el Servicio Ecuatoriano de Sanidad Agropecuaria en el año de 1991 inició un proyecto para prohibir el uso de productos químicos, en ese entonces algunos insecticidas como el carbofurán debían mantener un uso limitado, sin embargo en la actualidad existen otros agrotóxicos empleados en otros tipos de cultivos y que cuyo monitoreo en productos destinados al consumo humano son de importancia (Yanggen et al., 2002).

Para los productores agropecuarios, el control de malezas es una de las razones por las que ha buscado herbicidas dentro de una variedad de diferentes tipos de plaguicidas y que tengan distintos modos de acción. Por recomendaciones han tenido que usar herbicidas pre-emergentes o residuales que tengan diferentes modos de acción y rotación en el tiempo. Así los herbicidas, han sido usados para el control de malezas en cultivos o barbechos y de preferencia que su acción se desarrolle dentro de los períodos adecuados y que no persistan en el suelo con la finalidad de que no afecten el crecimiento de cultivos subsecuentes (Ozuna, 2020).

Otros factores que causan interés en la aplicación de los plaguicidas es el problema ocasionado por la deriva que un herbicida presenta en el momento de su aplicación, pues de ello dependerá el movimiento del herbicida desde el área objetivo a las áreas donde la aplicación de herbicida no fue intencionada, es así como la deriva del rociado durante su aplicación causaría residuos no deseados en cultivos cosechados. Todos los herbicidas pueden flotar como gotas de aspersión, pero algunos herbicidas son lo suficientemente volátiles como para causar daño a la planta debido a la deriva de vapor (emanaciones). Por ejemplo, Los ésteres 2,4-D o MCPA pueden producir vapores dañinos, mientras que las aminas 2,4-D o MCPA son esencialmente no volátil y puede flotar solo como gotitas o partículas secas (Dexter, 1995).

América Latina, se ha dado a conocer como la cuna del cacao, no sólo porque México y Centroamérica han sido zonas de dominio de este producto, sino también porque varias investigaciones señalan que una variedad de cacao fino de aroma fue originada en la Amazonía del Ecuador (Abad et al., 2020).

Ecuador es uno de los países más reconocidos, por tener al cacao en grano como un símbolo de exportación de mayor importancia para el país, de acuerdo con el Instituto Ecuatoriano de Estadísticas y Censos (INEC), el sector productor de cacao es reconocido como una de las poblaciones económicamente activa a nivel nacional, como sustento de la economía familiar de la región costa del país. De acuerdo con el ICCO (Comité Internacional del Cacao), se reconoce a Ecuador como uno de los mayores productores de cacao en grano, ocupando el tercer lugar a nivel mundial. En el año 2018, el cacao en grano fue exportado a principales destinos como Indonesia, E.E.U.U. y Japón con valores del producto entre 59.678 y 8.265 TM (Anecacao, 2019).

Basados en el acuerdo del Comité de Medidas Sanitarias y Fitosanitarias (MSF), Japón notificó al gobierno ecuatoriano, que el límite permitido para los residuos de contaminantes en cacao es de 0.01 mg/kg, el mismo aplicado por la Unión Europea ("Organización Mundial Del Comercio," 2012). Sin embargo, se continúa encontrando residuos de 2,4-D en el cacao en grano, este herbicida se adiciona generalmente a cultivos de caña, maíz, soya entre otros y no es adicionado a los cultivos de cacao como tal (Harikrishan & Usha, 2007).

En otros países de Latinoamérica como Colombia, el 2,4-D es uno de los agrotóxicos más empleados, ya que una parte importante de los herbicidas se usan como agentes defoliantes; siendo uno de los herbicidas de mayor uso, por tal motivo tiene importancia la cuantificación del uso de herbicidas selectivos en dicho país, debido a que los mismos se utilizan en más del 80% del territorio nacional. Al ser aplicados mediante fumigación aérea (2,4-D, glifosato, entre otros) tienen un gran impacto debido a que afectan áreas más sociales y de biodiversidad del país, comprometiendo de manera negativa a parques rurales, reservas indígenas, regiones amazónicas, afectando la salud de las poblaciones que allí se establecen, mediante la destrucción de cultivos, contaminando las fuentes de suelo y agua, daños a los ecosistemas y la biodiversidad (Melgarejo et al., 2020).

1.1.2 Formulación del problema

¿La aplicación inadecuada del herbicida ácido 2,4 Diclorofenoxiacético a ciertos cultivos, llega a ser una fuente de contaminación por deriva para el cacao en grano?

1.1.3 Hipótesis

El herbicida 2,4-D al ser aplicado a cultivos subsecuentes al cacao, podría encontrarse en las superficies que se encuentran en contacto donde se recolecta la cosecha del cacao por desvío de las gotas del rociado del área objetivo, siendo la causa de que se continúe detectando concentraciones residuales del compuesto en el cacao en grano que se prepara para exportación.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo general

Demostrar la presencia del herbicida ácido 2,4 Diclorofenoxiacético en el cacao (*Theobroma cacao*) en grano para su exportación.

1.2.2 Objetivos específicos

- Evaluar la concentración residual del herbicida 2,4-D en granos de cacao, mediante cromatografía líquida de alta resolución acoplada a detector de masas.
- Identificar el productor de cacao cuyo grano presenta residuos del herbicida 2,4-D.
- Elaborar una guía para los productores de cacao que les ayude a adoptar medidas preventivas y minimicen contaminaciones cruzadas.

1.3 Justificación

El cacao representa uno de los ejercicios económicos y culturales más importantes, que se basa en la agricultura familiar y que depende de las condiciones agroecológicas de las zonas productoras (Arvelo et al., 2017).

Desde el año 1952, el científico ecuatoriano Castro-Zurita a través de investigaciones logró obtener un cacao híbrido, que mejoraba notablemente su tolerancia a enfermedades y obtenía una mejor calidad y alta productividad. El mismo recibió el nombre de clon CCN-51 que tiene como significado Colección Castro Naranjal # 51 (Andrade-Almeida et al., 2019).

Ecuador ocupa el tercer lugar como productor de cacao fino de aroma a nivel mundial, según datos de la Organización Internacional del Cacao con 300000 toneladas al año, satisface el 60% de la demanda internacional de este producto (Abad et al., 2020).

Sin embargo, el uso de agrotóxicos en Ecuador presenta fluctuaciones. Así se observa en la región costera, los daños asociados con los monocultivos de plátano, palma, caña de azúcar y maíz, que ya se están expandiendo. La importancia de evaluar el contenido residual de pesticidas radica en que el uso de agroquímicos y maquinaria y la demanda de tierra y agua, pueden causar cambios dramáticos bajo las perspectivas económicas, social, cultural y ecológica (Melgarejo et al., 2020).

De forma general, la población está expuesta a compuestos agrotóxicos, entre ellos el 2,4-D a través de la ingesta de alimentos y agua que contienen residuos del herbicida, así como a través de exposiciones residenciales, de manera particular en áreas donde el 2,4-D ha sido usado para controlar las malas hierbas en el césped y los espacios urbanos (Freisthler et al., 2022).

A inicios de la Segunda Guerra Mundial científicos de los Estados Unidos se encontraron con el desafío de disminuir costos y mejorar la eficiencia de un agrotóxico que los militares usarían en las costas del Pacífico próximo a Japón, de tal forma fue como crearon el 2,4 Diclorofenoxiacético (2,4-D), sustituyendo el radical metil de la molécula MCPA (Metil-cloro-phenoxi-acético) por dos moléculas de Cloro, esto produjo aumento en un 20% más de la eficiencia que la molécula predecesora. Luego, empresas como Dow Chemical, introdujeron a

la industria de los plaguicidas el herbicida 2,4-D, que podría usarse en cultivos de cereales entre ellos trigo, cebada, maíz, centeno y el sorgo (Pinheiro, 2004).

Con el objetivo de proteger la salud humana y animal, en la comunidad de la Unión Europea, todos los alimentos de consumo de origen animal o vegetal están sujetos en su composición a un Límite máximo residual (LMR) de plaguicidas, de tal forma se controla la inocuidad alimentaria y existen límites aplicables a los diferentes productos de alimentación (Navas & García-Fernández, 2020).

CAPITULO II. MARCO TEÓRICO

2.1 Plaguicidas

Se define a los plaguicidas a las sustancias o una combinación de ellas, que tienen como objetivo la prevención, destrucción o el control de plagas, abarcando a organismos portadores de enfermedades de origen humano o animal, variedades de plantas no deseadas o animales que ocasionan perjuicios o se interponen en la todo el proceso productivo de los alimentos, productos provenientes de consumo, madera, pasto destinado a los animales o los productos que pueden ser administrados para controlar insectos, arácnidos u otras plantas corporales. Es decir que, estos compuestos podrían destruir ciertos organismos vivos, lo que los establece como un grupo particular de biocidas que alcanzan una capacidad letal amplia (Ramírez & Lacasaña, 2001).

Un plaguicida debe agrupar algunas características para que cumpla con un amplio uso agrícola tales como efectividad, selectividad sin ocasionar daños a la flora o fauna, económico, seguro y estable, además que al ser incluido en una formulación debe tener una alta compatibilidad con los vehículos para obtener formulados estables y efectivos. Debido a que algunos plaguicidas ya presentan una elevada estabilidad han sido causantes de contaminaciones ambientales, pues sus residuos han permanecido cerca de su lugar de uso como cosechas, suelo, agua y aire (Sánchez Martín & Sánchez Camanazo, 1984).

Para que un plaguicida sea producido y comercializado se requiere de un estudio que se encuentra regulado por la Unión Europea (UE), el mismo que debe incluir pruebas en laboratorio y en campo. Cuando el plaguicida ha alcanzado la diana en donde ejerce su acción, puede estar sometido a diferentes procesos que conllevan a que la sustancia sea efectiva y se minimice o potencie su acción (Hermosín Gaviño, 2010).

Los programas de monitoreo de plaguicidas son de mucha importancia, sobre todo porque es probable que se encuentren residuos de estos compuestos en todo el ecosistema, así de debe realizar seguimiento a suelos, aguas superficiales y subterráneas, agua potable, y sobre todo con mayor importancia el seguimiento a productos alimenticios (Rodríguez Eugenio et al., 2019).

2.1.1 Producción y uso

En el siglo XIX lograron sintetizar numerosas sustancias que presentaban algunas propiedades tóxicas e insecticidas. Así, además el descubrimiento de compuestos que contenían arsénico fue el origen para utilizar arsenito de cobre para combatir un insecto y cuyo empleo dio lugar a la primera legislación conocida sobre pesticidas alrededor de los años 1900 (Ferrer, 2003).

La producción de alimentos ha incrementado en los últimos años, gracias al uso de compuestos químicos, pues al emplearlos ayudan a incrementar los rendimientos de los cultivos, satisfaciendo la demanda de alimentos para la población mundial. Sin embargo, debido a sus características químicas los plaguicidas son contaminantes persistentes que según su estructura pueden resistir la degradación fotoquímica, química y bioquímica, llegando a tener una vida media elevada en el ambiente (Ortiz Hernández et al., 2014).

Los plaguicidas están formulados conteniendo la materia o el compuesto activo, que está diluido en un medio sólido (vehículo) o en un disolvente líquido y además de sustancias excipientes que tienen la capacidad de modificar las propiedades físicas, químicas y biológicas de la formulación aumentando la eficacia del producto. Entre las sustancias que mencionamos se encuentran: emulgentes, adherentes, fluidificantes y estabilizantes (Sánchez Martín & Sánchez Camanazo, 1984).

En la mezcla se incorporan vehículos o diluyentes denominados ingredientes inertes, siendo en gran medida la mayor proporción del producto y sus efectos nocivos superarían los del propio ingrediente activo, tales como el tetracloruro de carbono y el cloroformo, considerados compuestos hepatotóxicos y neurotóxicos potentes (Ramírez & Lacasaña, 2001).

Algunas de las características del compuesto químico influyen mucho en la toxicidad, como su composición o grado de pureza, pues podrían tener presentes impurezas o contaminantes considerablemente más tóxicos que el propio agente. Es decir que, la identidad y la pureza de sus componentes son importantes en las pruebas de toxicidad. Teniendo en consideración sus propiedades físicas y químicas como la

solubilidad, la presión de vapor y el pH que afectan la biodisponibilidad, la persistencia, transformación y la disposición final del agente químico en el medio ambiente también son otro de los factores de consideración en las pruebas (Marques da Silva & Rodrigues dos Santos, 2007).

Cuando el plaguicida es aplicado al cultivo, una porción del producto se puede depositar en el follaje y los residuos caen al suelo a través de este. O a su vez una parte del plaguicida colocado en el follaje o suelo llega a volatilizarse después de su aplicación y transportado por acción del viento y de manera simultánea mientras suceden los diferentes procesos de transporte del plaguicida, podría degradarse a otros productos secundarios. Por lo que en ocasiones los productos que se forman de su transformación química no son metabolitos inocuos, llegando a ser productos de las reacciones de degradación más tóxicos y persistentes que el producto original (Stoorvogel et al., 2003).

De las varias clasificaciones existentes de los plaguicidas, la de mayor interés sanitario es la que está dada por su estructura química, pues de tal forma se establece su incidencia en el organismo humano (Doménech, 2019).

2.1.2 Clasificación de los plaguicidas

Los plaguicidas han sido clasificados considerando varios aspectos, lo cual se resume en el esquema de la figura 1, además existe una clasificación toxicológica establecida por la OMS, en los que si la formulación del plaguicida contiene más de una sustancia activa es decir como solventes, humectantes u otros componentes cuyas propiedades ocasionen un aumento significativo de la toxicidad del formulado, entonces se clasificaran de acuerdo a la toxicidad de la mezcla de dichos ingredientes (Navas & García-Fernández, 2020).

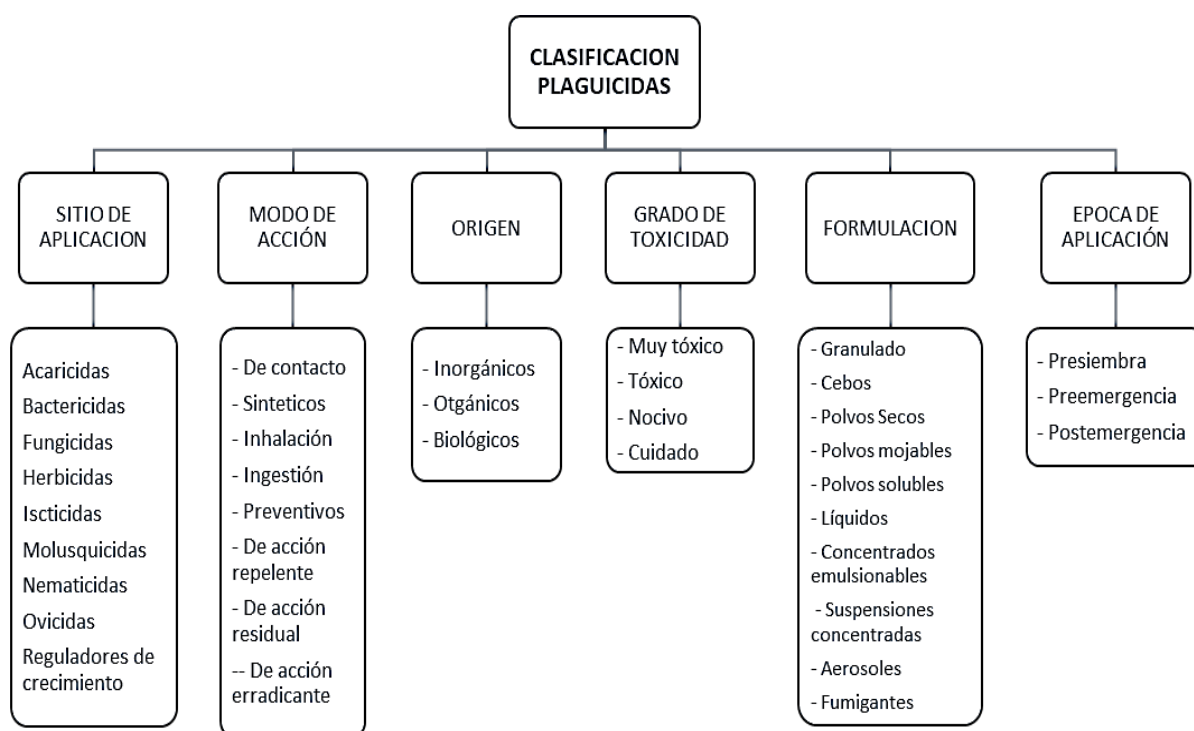


Figura 1. Clasificación de los Plaguicidas.

Fuente: Autora, 2022.

De acuerdo a la acción específica de los plaguicidas, y según su composición química se puede considerar la siguiente clasificación: Pesticidas Organoclorados, Organofosforados, Carbamatos, Piretrinas, y otros compuestos como: herbicidas y fungicidas (Doménech, 2019).

2.1.2.1 Pesticidas Organoclorados

Son compuestos aryl, carbocíclicos o heterocíclicos de peso molecular medio, actuando como insecticidas de ingestión o de contacto. Tal como se muestra en la Fig. 2, se clasifican en grupos de acuerdo a la estructura química de la cual se derivan. Así están los en orden como se encuentran enumerados, derivados del clorobenceno, derivados del ciclohexano, ciclodienos o derivados del indano, y canfenos clorados (Ferrer, 2003).

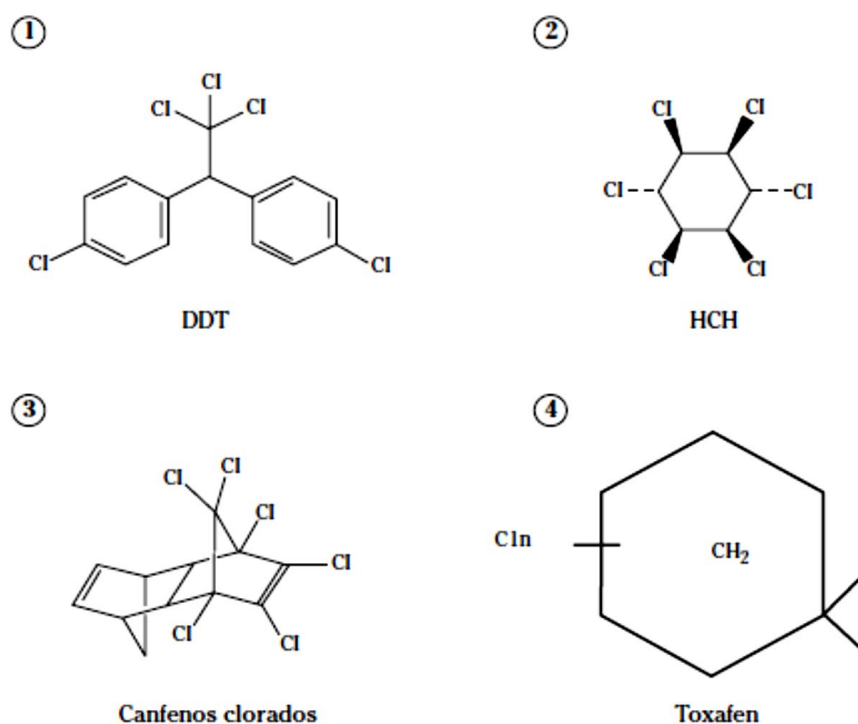


Figura 2. Pesticidas Organoclorados.

Fuente: Ferrer (2003).

2.1.2.2 Pesticidas Organofosforados

Son insecticidas cuya estructura química se deriva del ácido fosfórico, compuestos liposolubles muy tóxicos, usados además como acaricidas, nematocidas y fungicidas. De acuerdo con cálculos estimados alrededor de un 40% de las cosechas son tratadas con este tipo de compuestos. Entre los compuestos más conocidos de este tipo se encuentran: Paratión, malatión, diazinón (Doménech, 2019).

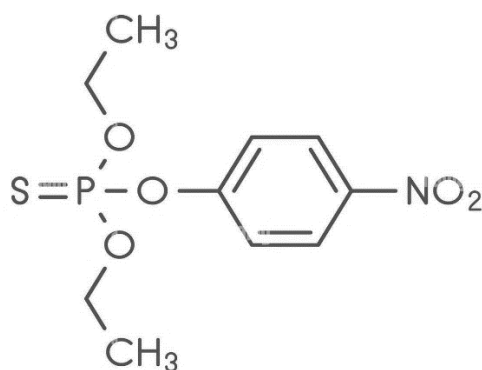


Figura 3. Compuesto Organofosforado: Paratión.

Fuente: Autora, 2022.

2.1.2.3 Carbamatos

Son compuestos cuya estructura química deriva del ácido carbámico, algunos de estos son usados como herbicidas o fungicidas, y los carbamatos más simples en cuya estructura llevan H o radical metil en R1 y R2 (Fig. 4), son utilizados como insecticidas. Los carbamatos que han sido empleados como herbicidas presentan una toxicidad muy baja ocasionando apenas dermatitis (Ferrer, 2003).

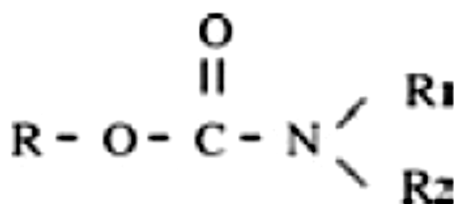


Figura 4. Estructura química de un compuesto carbamato.

Fuente: Ferrer (2003).

2.1.2.4 Piretroides

Las piretrinas son compuestos que originalmente se extraían del crisantemo, uno de sus compuestos el pelitre es uno de los primeros insecticidas de la historia. Son insecticidas usados a nivel doméstico. Han sido clasificadas en dos grupos: las de tipo 1 como las permetrinas que no tienen grupo ciano, y las de tipo 2 que si tienen grupo ciano

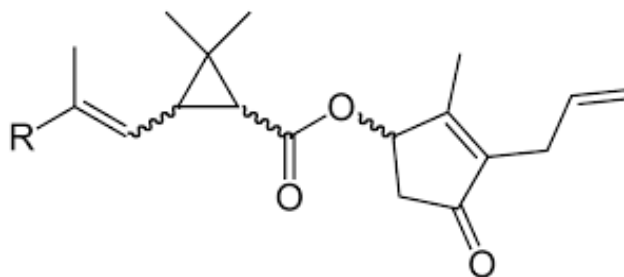


Figura 5. Estructura química de las piretrinas. *piretrina I: R = CH₃, *piretrina II: R = CO₂CH₃.

Fuente: Autora, 2022

2.1.2.5 Herbicidas

Son compuestos que destruyen malas hierbas de manera general o selectiva, incluyéndose en este grupo los defoliantes y arboricidas (Ortiz Hernandez et al., 2014). Estos compuestos son utilizados en la etapa de postemergencia (hojas) o preemergencia de los cultivos (suelo) (citado en Wágner y Nádasy 2006) (Magnoli et al., 2020).

Los herbicidas son aplicados sobre el 85-100% de todos los cultivos en países industrializados, de esta forma pueden aplicarse de dos formas al follaje o al suelo y es así como son clasificados por su modo de acción o sus propiedades químicas. Se conocen como herbicidas de contacto cuando han sido aplicados al follaje y afectan solo la parte tratada, y cuando los herbicidas se trasladan del follaje tratado hacia un punto de acción en otro sitio de la planta son conocidos como herbicidas sistémicos (Caseley, 1987).

Debido a su composición química, los herbicidas son capaces de alterar la fisiología de la planta ocasionando su desarrollo anormal o su muerte, pueden generar un efecto letal al actuar sobre un sitio primario de acción y generan efectos secundarios indeseados. Los efectos fisiológicos que pueden arraigar entre ellos se encuentran la regulación del crecimiento, inhibición de la partición celular, inhibición de la respiración y/o fotosíntesis o interrumpir procesos metabólicos complejos (Diez de Ulzurrun, 2013).

2.1.3 Herbicida 2,4 D

Uno de los herbicidas más utilizados a nivel mundial es el ácido 2,4-Diclorofenoxiacético (2,4-D), es empleado para el control de malezas en países de Latinoamérica así como en Estados Unidos (Freisthler et al., 2022). Este herbicida es un imitador de la hormona auxina, utilizado para el control de hoja ancha en el cultivo de cereales y caña de azúcar, además de pastos (Brucha et al., 2021).

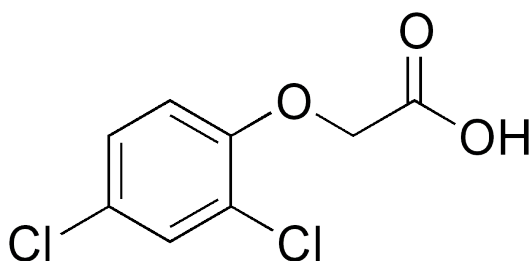


Figura 6. Estructura química del 2,4-D

Fuente: Autora, 2022.

Así también ha sido considerado como un posible carcinógeno para los humanos (clasificado dentro del grupo 2B), pero no hay estudios suficientes en animales que lo sustenten. Además, existen estudios que brindan información sobre otros posibles efectos producidos por el herbicida 2,4-D, así es como induce a estrés oxidativo un mecanismo que se da en seres humanos (Osejos Merino et al., 2020).

El 2,4-D ha sido descrito desde el año 1942 como un auxin sintético, las moléculas de este compuesto que se encuentran en formas de sales se absorben a través de las raíces de las plantas, mientras que las formas ésteres se absorben por las hojas. Este compuesto fue producido partiendo desde otra sustancia precursora como el 2,4-diclorofenol el mismo que forma parte de las impurezas en los productos 2,4-D, siendo un producto de degradación importante. Además de que forma parte de las sustancias clorofenoxi tales como: 2,4,5-T, MCPA, MCPP, y 2,4-DB (Neumeister, 2014).

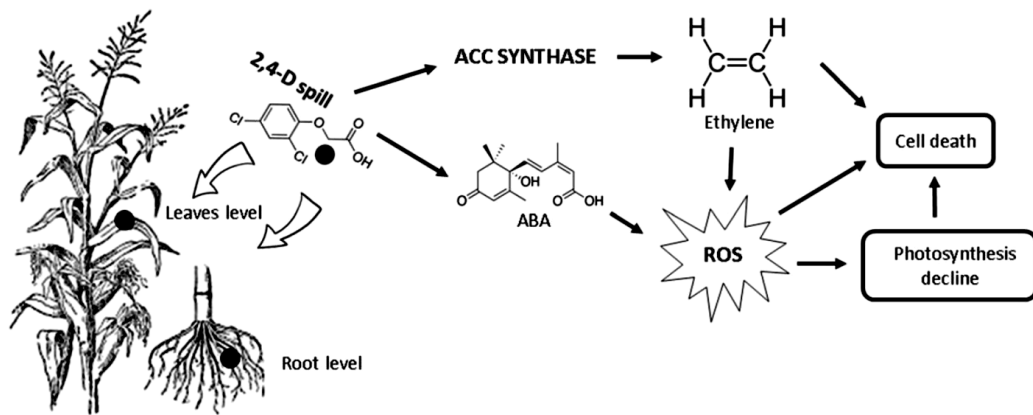


Figura 7. Mecanismo de acción del herbicida 2,4-D sobre las malas hierbas objetivo.

Fuente: (Magnoli et al., 2020)

El 2,4-D está considerado dentro de un conjunto de sustancias químicas que se conocen como fenoxi compuestos y que han sido determinados como potencialmente tóxicos para los seres humanos, es un producto vulnerable a procesos de lixiviación en el suelo, es así como la molécula puede estar disipada alrededor de 20 días dependiendo el tipo de suelo en donde haya sido aplicado. Por ello, algunos estudios demuestran que la absorción de la molécula va a depender del pH del suelo (Boivin et al., 2005).

En el mercado mundial, además de la forma ácida existen tres formulaciones de este herbicida, la inorgánica, la amina y las sales ésteres. Algunos herbicidas a base de 2,4-D pueden sufrir procesos de degradación biológica o química y convertirse en otros productos o metabolitos con diferentes propiedades químicas y físicas. El uso continuo y extenso de 2,4-D en la agricultura es discutible debido a su alta recalcitrancia en los suelos y porque pueden encontrarse metabolitos tóxicos en el medio ambiente (Magnoli et al., 2020).

Todos los herbicidas pueden flotar como gotas de aspersion, pero algunos son lo suficientemente volátiles como para causar daño a la planta debido a la deriva de vapor (emanaciones). En este caso podríamos mencionar a los ésteres 2,4-D o MCPA que son capaces de producir vapores dañinos, mientras que las aminas de 2,4-D o MCPA son esencialmente no volátiles y pueden flotar solo como gotitas o partículas secas (Dexter, 1995).

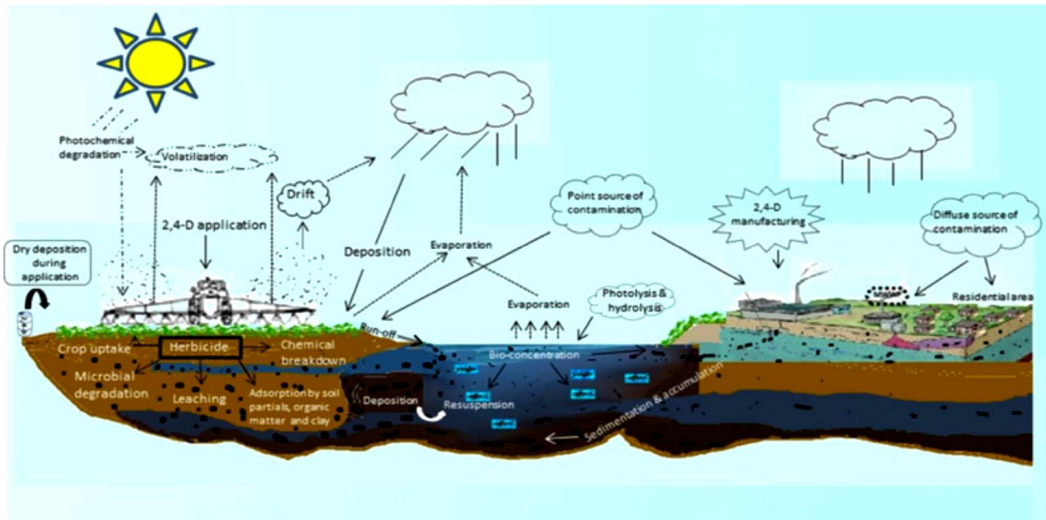


Figura 8. Destino del 2,4-D después de su aplicación agrícola y doméstica.

Fuente: (Islam et al., 2018).

2.1.4 Uso de herbicidas en cultivos

La agricultura es uno de las principales actividades que emplea éste tipo de compuestos, consume el 85% de la producción mundial cuyo objetivo es mermar la cantidad y calidad de las cosechas de alimentos y otros vegetales (Ramírez & Lacasaña, 2001).

El aumento de la producción de alimentos en los últimos años, no solo se debe al empleo de plaguicidas, sino también de otros conocimientos como la mejora vegetal, desarrollo de maquinaria, entre otros., los cuales han contribuido al avance en el aumento y tecnificación de las cosechas. Por lo que actualmente no se podría prescindir del empleo de plaguicidas en la agricultura y esto se enfoca en el sentido de demostrar que existen conocimientos para el empleo seguro de los mismos (Hermosín Gaviño, 2010).

Gran parte de los herbicidas han sido elaborados para aplicarse mediante aspersión usando agua como vehículo, por tal motivo en menor cantidad algunos ingredientes activos son aplicados a través de formulaciones secas (granulados), estas se caracterizan por tener un tamaño de partícula de 10 μm^3 y cuyas concentraciones del ingrediente activo se encuentran entre un 2 y 20%. Además, algunos herbicidas volátiles que son aplicados con agua como vehículo deben ser agregados al suelo para que alcancen una actividad considerable (Caseley, 1987).

2.2 Contaminación de suelos y aguas por herbicidas.

La producción mundial de alimentos ha mejorado, pero en la agricultura moderna se involucra el uso excesivo de herbicidas, debido a su elevada persistencia en el medio ambiente y por su toxicidad para los organismos que no son el objetivo. Por ello, se estima que alrededor del 0.1% de los plaguicidas añadidos a las plantaciones en todo el mundo, tocan a sus plantas objetivo pero van dejando grandes cantidades de residuos tóxicos libres y por lo tanto, la contaminación química por agrotóxicos en los alimentos, el agua y el aire es una de las mayores preocupaciones para población y la de los ecosistemas (Islam et al., 2018).

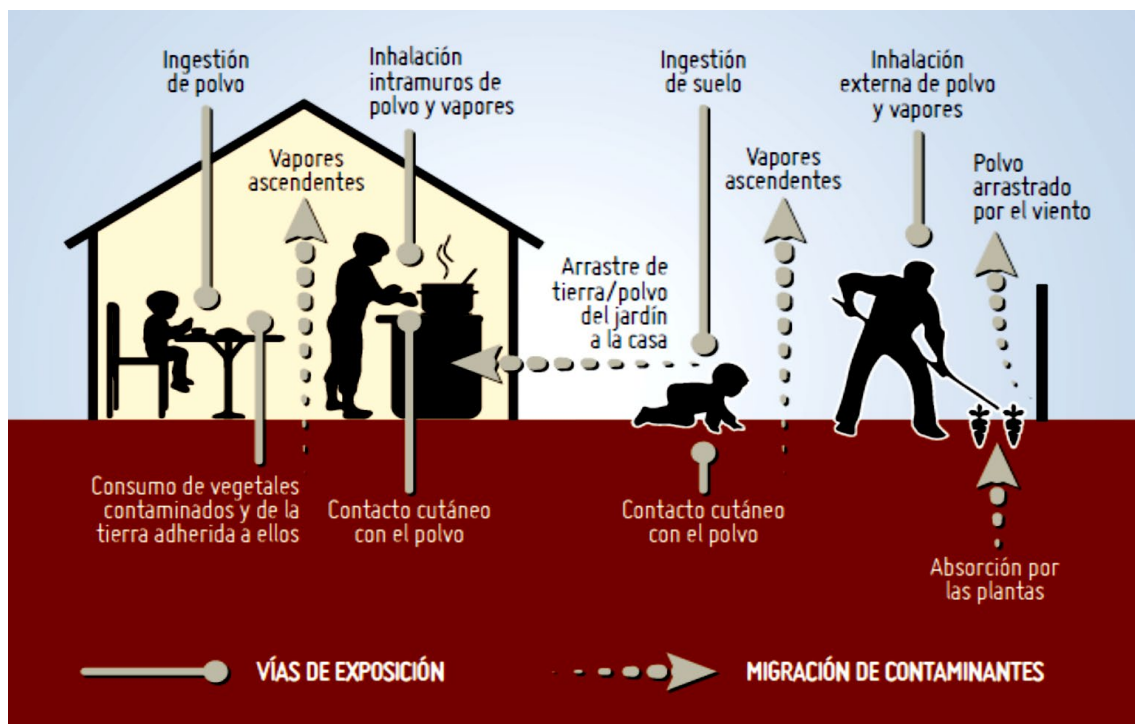


Figura 9. Probables vías de exposición en un entorno doméstico, debido a la contaminación del suelo.

Fuente: (Rodríguez Eugenio et al., 2019).

El uso de herbicidas en áreas no agrícolas ha sido la causa de contaminación ambiental; en muchas áreas como caminos asfaltados y aceras,

superficies rígidas, no absorben nada siendo vulnerables al transporte hacia cursos de agua y áreas no objetivo, de forma en particular después de la precipitación. Es decir, que los herbicidas que se encuentran en el agua suelen ser consecuencia de un uso no agrícola, además que, sin considerar el área de aplicación, alta dosis de productos pueden aumentar la concentración en el medio ambiente (Ferreira Mendes et al., 2012).

Muchos factores provocan una distribución inadecuada de los herbicidas en la naturaleza, que implica la utilización directa en los cultivos agrícolas, limpieza ineficiente de tanques contenedores, filtraciones en los depósitos de almacenamiento, residuos liberados y distribuidos en el suelo. Siendo los residuos de estos plaguicidas que se dispersan en el ambiente y se transforman en contaminantes para los sistemas bióticos (animales y plantas) y abióticos (agua, aire, suelo). Pues al ingresar a las cadenas alimentarias son distribuidos a través de ellas, concentrándose y acumulándose y de manera indirecta pueden lograr una dosis letal para cualquier espécimen que forma parte de la cadena alimentaria, o hasta llegar a niveles superiores de la red trófica (del Puerto Rodríguez et al., 2014).

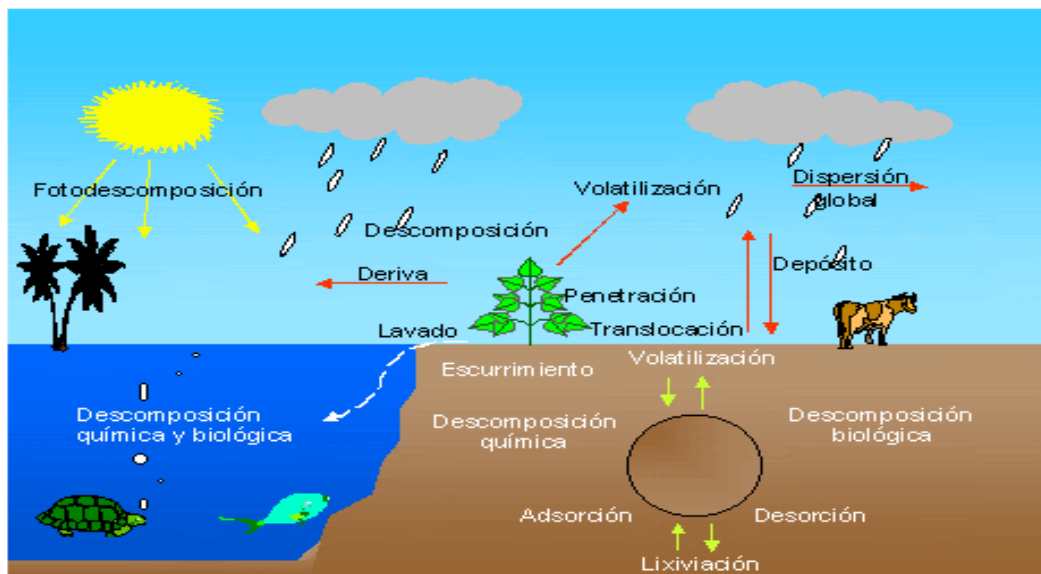


Figura 10. Introducción de los plaguicidas a la cadena alimentaria y posible transformación en el ambiente.

Fuente: Agrospray.

La contaminación del suelo puede darse por el resultado de actividades planificadas e involuntarias, que incluyen la incorporación de los contaminantes en el suelo, procesos ambientales profundos que conllevan a una contaminación indirecta del suelo a través del agua o de la deposición atmosférica. Por tal motivo, se producen dos tipos de contaminación: de origen puntual y difusa. La contaminación puntual es causada por actividades antropogénicas, entre las que se mencionan los emplazamientos de fábricas, eliminación ineficiente de desperdicios y aguas residuales. Al contrario de la contaminación difusa, que se acumula en el suelo y se observa donde la dispersión, transformación y dilución de contaminantes en otros medios ha ocurrido previo a su propagación en el suelo (Rodríguez Eugenio et al., 2019).

2.3 Movilidad de herbicidas en el suelo

Las propiedades fisicoquímicas de los herbicidas son la causa de su comportamiento en el suelo, además de los riesgos de contaminación, uno de los factores puede ser la solubilidad en agua que determina la posible lixiviación del herbicida con el flujo de agua en el suelo, así como la disponibilidad de la molécula en otros procesos de disipación. Es decir que cuanto más se absorba el herbicida en el suelo, será mayor la persistencia de la molécula en el medio ambiente (Ferreira Mendes et al., 2012).

Un factor importante es la interacción que se da entre el herbicida y el suelo, esto ocurre debido a que el suelo es un sistema dinámico en el que los herbicidas pueden degradarse o pasar de su lugar inicial de aplicación hacia demás compartimentos, o persistir en el mismo sitio conservando su estructura original o degradarse por un período variable de tiempo. Es decir que, cada plaguicida tiene su potencial de contaminación y será variable su período de residencia en el suelo. Tal es el caso para el herbicida 2,4-D, que tiene una elevada persistencia a largo plazo en un entorno natural, pero esto se debe a que los microorganismos que se localizan en el suelo, tienen una capacidad limitada para metabolizar el herbicida en presencia de otras fuentes de carbono (Islam et al., 2018).

2.4 Degradación de herbicidas en el suelo

La mayoría de los plaguicidas están sujetos a una extensa degradación en las plantas y el medioambiente. Parte de la degradación se produce debido a transformaciones químicas y físicas, como fotólisis, autólisis, oxidación, reducción, reordenamientos e inactivación debido a procesos de unión (es decir, a suelos y macromoléculas). Sin embargo, la transformación enzimática es la ruta principal de desintoxicación. Por tal motivo existen muchos aspectos a considerar del metabolismo de los pesticidas en plantas y microorganismos, para ello la importancia de estas vías bioquímicas para el desarrollo de pesticidas y la gestión ambiental (Hoagland et al., 2003).

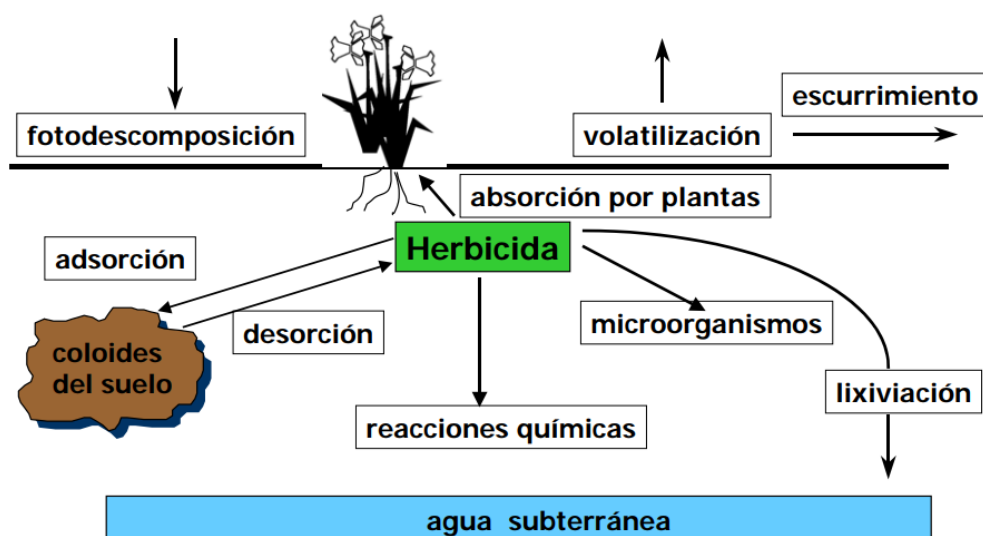


Figura 11. Factores que afectan el comportamiento de herbicidas en el suelo.

Fuente: Comfort et al. (1994)

Desde el punto de vista científico y menos empleado, el suelo puede definirse como el producto de erosión de las rocas, que se evidencia en las partes superficiales de la corteza terrestre y en ocasiones contienen restos de materia orgánica descompuesta o en estado de descomposición. Aunque independiente de su origen, el suelo debe soportar vegetación y tener condiciones necesarias para el desarrollo de las plantas, es así como con este enfoque el suelo es una mezcla de partículas pulverulentas, de agua y aire y que posee nutrientes necesarios para las plantas. Por ello, en él ocurren algunas

reacciones que participan en los procesos que se efectúan cuando se adicionan otros componentes químicos (Navarra Blaya & Navarro García, 2003).

La composición del suelo está determinada por la composición de arcilla, limo y arena que en conjunto forman la textura del suelo, además del contenido de materia orgánica, por ello cuando se aplican compuestos químicos como los herbicidas estos son afectados por la composición del suelo que incide sobre su persistencia y actividad a través de procesos de adsorción, lixiviación y volatilización. Así de forma general los suelos que contengan mayor contenido de arcilla y/o materia orgánica son los que retienen con mayor facilidad a los herbicidas, además otros factores afectarían la residualidad del herbicida en el suelo como su composición física, composición química y su flora microbiana (Ozuna, 2020).

Existen repercusiones en la salud humana debido a la ingestión de contaminantes persistentes acumulados en el suelo (Rodríguez Eugenio et al., 2019).

La residualidad o persistencia que pueda tener un herbicida en el suelo es un factor importante a considerar ya que determinará el período de tiempo en el que el compuesto posea efectos fitotóxicos, así también esto influye en el movimiento del herbicida hacia aguas subterráneas y su contaminación (Ozuna, 2020).

2.5 El Cacao (*Theobroma cacao*).

El cacao es un árbol característico de las regiones tropicales húmedas, que tuvo su origen en América central. Sus frutos florecen en el tronco y las ramas. Los frutos se originan de la polinización de las flores, nacen agrupados en cojines florales. El fruto es una baya que se la conoce como mazorca, que tiene una corteza rugosa de alrededor 4 cm de espesor, cuya composición se presenta rellena de una pulpa rosada y comestible que contiene de 30 a 50 granos largos (blancos y carnosos) (Carrasco Angel, 2015).



Figura 12. Árbol del cacao.

Fuente: Autora, 2022

Los granos de cacao son las semillas del árbol, por lo tanto, cada semilla está conformada por dos cotiledones y una planta embrional, que a su vez se encuentran contenidos dentro de una piel conocida como cáscara. En los cotiledones se encuentra el sostén para la planta en desarrollo y se convierten en las dos primeras hojas cuando la semilla germina, y así el contenido del grano está compuesto por materia grasa al cual se conoce como la manteca de cacao, por lo que equivale a la mitad del peso de la semilla seca (Medina & Vargas, 2009).



Figura 13. Composición de la mazorca del cacao.

Fuente: AgroKrebs

2.5.1 Composición del cacao

Tal como se había mencionado, las flores permiten el desarrollo de los frutos (mazorcas) y esto se da particularmente mediante la acción de algunos insectos. Las semillas se encuentran dentro de las mazorcas y son de forma plana o redondeada, de color blanco, café o morado (Navarro & Mendoza, 2006).

Como producto de las mazorcas de cacao se obtiene el cacao en grano, además de otros subproductos tales como: manteca, licor, torta y polvo de cacao, así además del chocolate como producto final. Para su procesamiento el cacao en grano es secado, fermentado y se somete a un proceso de tostado, obteniendo de este proceso la cascarilla. Debido a su alto porcentaje de grasa (alrededor de 52%), el grano de cacao puede absorber fácilmente olores y aromas que se encuentren a su alrededor, de modo que el sabor, aroma que predominen en el cacao, dependerá de la influencia de la zona donde se cultiva (Carrasco Angel, 2015).

Los granos de cacao son secados en acción directa del sol por un tiempo aproximado de una semana, lo que permite eliminar la humedad y mejorar su conservación. En tal sentido, se pueden dar dos alternativas en el proceso productivo: la primera es el tostado tradicional de las habas enteras empleando temperaturas de 100 a 140 °C por un tiempo definido, o la segunda es someter las habas a un tratamiento térmico previo, cuyo producto final a obtener es el cacao en grano seco (González, 2018).

2.5.2 Variedades de cacao en Ecuador

Alrededor del mundo se logran producir 3 especies de cacao y sólo en Ecuador se produce una cuarta variedad de especie originaria con particular característica, estas a su vez se clasifican por su variedad genética. Así tenemos el cacao criollo, forastero, trinitario y el cacao Nacional siendo esta una variedad producida de manera exclusiva en el país. También conocida como cacao “arriba” y es reconocida a nivel mundial por su aroma floral y por ser un cacao fino y de aroma (Anecacao, 2013).



Figura 14. Variedades del cacao.

Fuente: Autora, 2022

2.5.2.1 Cacao Criollo

También conocido como cacao dulce, su origen se produjo en Centro América, además se produce en Venezuela y Colombia, es distintivo por tener frutos de cáscara suave y sus semillas son dulces y de color blanco o violeta (Navarro & Mendoza, 2006).



Figura 15. Cacao criollo

Fuente: Ecomuseo del cacao, 2022

2.5.2.2 Cacao Forastero

El origen de esta variedad proviene de América del sur y es cultivado también en países como África y Brasil, es destinado a la producción de polvo de cacao, manteca de cacao, preparación de varios alimentos y bebidas instantáneas (Ministerio De Agricultura y Riego, 2020).



Figura 16. Cacao forastero

Fuente: Autora, 2022

2.5.2.3 Cacao Trinitario

Es una variedad híbrida que tuvo su origen a partir de cruces entre las variedades criollas y forasteras, se produce en países de Centro América y Sudamérica (Ricaño-Rodríguez et al., 2018). Sus mazorcas tienen diferentes formas y colores, las semillas son más grandes que las semillas de las otras variedades (Navarro & Mendoza, 2006).

2.5.2.4 Cacao Nacional CCN-51 (Colección Castro Naranjal 51).

También llamado como cacao ramilla, es una variedad de cacao trinitario que tiene algunas características particulares y su productividad es mayor a la de las otras variedades producidas, siendo la variedad más popular y de calidad que se produce en Ecuador (Abad et al., 2020).

Su fruto tiene algunas características morfológicas, inicialmente es de color verde y cuando está maduro es de color amarillo intenso, de cáscara rugosa, sus almendras de forma elíptica terminadas en punta. Una de las características de la planta es porque es de cultivar precoz ya que su producción inicia a los 24 meses, además tiene un excelente índice de mazorca produciéndose alrededor de 7 marzocas/libra de cacao seco (Bustamante Adum & Ramírez Triviño, 2010).



Figura 17. Plantula de cacao CCN-51.

Fuente: Eco-Yuma, 2022

2.6 Normativa para el control de residuos químicos en cacao en grano

Existen iniciativas de control a nivel mundial, cuyo objetivo es proteger la salud y el ambiente, mediante una gestión adecuada de plaguicidas. Se ha establecido un marco para el desarrollo de leyes y normas de cada país cuyos lineamientos han sido definidos en los convenios de Bassilea, Estocolmo y Rotterdam y Ecuador como firmante de los tres convenios estableció un Código Orgánico de Ambiente en el año 2017, además de las resoluciones definidas por la Agencia de Regulación y Control Fito y Zoosanitario (Agrocalidad) que tiene como objetivo regular el control y uso de sustancias químicas como los plaguicidas (Guía Para La Gestión Adecuada de Plaguicidas, 2017).

Entonces la regulación del uso de agrotóxicos y su mercado en Ecuador, está vinculado a Agrocalidad, el Instituto Nacional de Investigación Agrícola (INIAP), Ministerio de Agricultura y Ganadería y el Ministerio del Medio Ambiente. Siendo Agrocalidad, el ente regulador que realiza el control del cacao en grano

para exportación, mediante el apoyo de laboratorios acreditados que realicen la evaluación de residuos del herbicida 2,4-D (Melgarejo et al., 2020).

Además, en otras normativas también se ha establecido un LMR de residuos, tal es el caso de la Norma Internacional de Alimentos del Codex Alimentarius, en cuyo documento ha clasificado el tipo de herbicida y detalla una lista de alimentos para los cuales se ha definido un Límite máximo residual. Para el herbicida 2,4-D y como tal se considera al fruto del cacao una baya y como se muestra en la tabla 3, el LMR establecido es de 0.1 mg/kg (CODEX ALIMENTARIUS: CX/MRL-2, 2018).

Commodity	MRL	Year of Adoption	Symbol	Note
Arroz descascarado	0,1 mg/kg	2001		
Bayas y otras frutas pequeñas	0,1 mg/kg	2003		
Carne (de mamíferos distintos de los mamíferos marinos)	0,2 mg/kg	2003		
Carnes de aves	0,05 mg/kg	2003	(*)	
Caña de azúcar	0,05 mg/kg	2001		
Centeno	2 mg/kg	2001		
Citrus fruits	1 mg/kg	2004	Po	
Despojos comestibles (mamíferos)	5 mg/kg	2003		
Despojos comestibles de aves de corral	0,05 mg/kg	2003	(*)	
Forraje de soja	0,01 mg/kg	2003	(*)	
Forraje seco de maíz	40 mg/kg	2001		
Heno o forraje seco de gramíneas	400 mg/kg	2003		
Huevos	0,01 mg/kg	2001	(*)	
Leches	0,01 mg/kg	2003		
Maíz	0,05 mg/kg	2001		
Maíz dulce (maíz en la mazorca)	0,05 mg/kg	2001	(*)	
Paja y forraje seco de arroz	10 mg/kg	2001		
Paja y forraje seco de trigo	100 mg/kg	2001		
Patatas (papas)	0,2 mg/kg			
Pome fruits	0,01 mg/kg	2003	(*)	
Soja (seca)	0,01 mg/kg	2003	(*)	
Sorgo	0,01 mg/kg	2003	(*)	
Stone fruits	0,05 mg/kg	2001	(*)	
Tree nuts	0,2 mg/kg	2001		
Trigo	2 mg/kg	2001		

Tabla 1. LMR Herbicidas. CODEX ALIMENTARIUS

Como todos los alimentos de consumo humano, el cacao se considera dentro del grupo alimenticio cuya composición tiene establecido un límite máximo de residuos (LMR) en la Unión Europea. El reglamento CE 396/2005 establece los LMR de algunos productos fitosanitarios. Cuando no se ha establecido un LMR para un plaguicida, se considera el umbral de 0.01 mg/kg (Reglamento (CE) 396/2005 Del Parlamento Europeo y Del Consejo Relativo a Los LMR de Plaguicidas, 2005).

CAPITULO III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 METODOLOGÍA

Este trabajo de investigación presenta una metodología de tipo experimental debido a que está enfocado a identificar el productor de cacao en grano que ha presentado problemas de residuos de herbicida 2,4-D en el cacao en grano. Debido a esto mediante investigaciones previas de muestras tomadas por el organismo gubernamental (Agrocalidad) que certifica el cacao en grano que es exportado, se ha determinado que si se han presentado residuos de 2,4-D, además también esta información se la pudo obtener de uno de los principales compradores de cacao ecuatoriano en Japón.

Por lo tanto, se ha desarrollado dos fases, la primera la fase de toma de muestra en la cual se ha considerado la investigación de 3 haciendas de productores de cacao en grano de la provincia del Guayas, de los que se tiene referencia que para el control de malezas usaban una mezcla de herbicidas. La segunda fase está dada por la parte experimental en donde se utilizó un método aplicado para la determinación de 2,4-D en cacao en grano.

3.2 MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS

3.2.1 Materiales

- Tamiz # 12
- Frascos plásticos de 200 ml (boca ancha)
- Matraz volumétrico 200 ml
- Matraz volumétrico 10 ml
- Balón en forma de pera de 50 ml
- Embudos de vidrio 70 mm
- Papel filtro cualitativo NM200
- Pipeta volumétrica 10 ml
- Balón fondo plano 250 ml
- Tubos de evaporación 50 ml
- Tirillas de pH (Merck)

- Cartuchos ChemElut 5 ml
- Cartuchos C18 6 cc 1g
- Cartuchos HLB 3 cc
- Puntas plásticas para pipetas automáticas
- Membranas de PDVF de 0.22 μm
- Jeringas descartables 3 cc
- Viales de vidrio 2 ml
- Columna C18 1,7 μm (2.1x50 mm)

3.2.2 Reactivos

- Acetona grado reactivo
- Acetato de etilo grado reactivo
- N-Hexano
- Metanol grado cromatografía
- Acetonitrilo grado cromatografía
- Ácido clorhídrico
- Hidróxido de sodio
- Agua ultrapura tipo I
- Ácido fórmico

3.2.3 Equipos

- Rota-evaporador BUCHI
- Calentador térmico BUCHI
- Homogeneizador dispersor Ultra Turrax
- Colector de vacío para cartuchos SPE
- Bomba de vacío
- Cromatógrafo líquido de alta resolución con detector XEVO TQ MS
- Baño isotérmico
- Pipeta volumen variable 10 ml
- Micropipeta 1000 μl
- Molino de cuchillas
- Dispensador automático 10 ml
- Agitador Vortex

3.3 PROCEDIMIENTO

3.3.1 Muestreo de cacao en grano

Se tomaron muestras de cacao en grano seco de 3 haciendas productoras en la provincia del Guayas. Las fincas emplean algún tipo de herbicida para controlar las malas hierbas de hojas anchas. Las muestras de cacao en grano se obtuvieron de 2 tendales de 3 Ha donde secan el grano de cacao hasta por 3 días dependiendo la temperatura alcanzada.

Las muestras fueron tomadas con un calador, donde se encontraban los sacos dispuestos en pallets de 20 unidades.

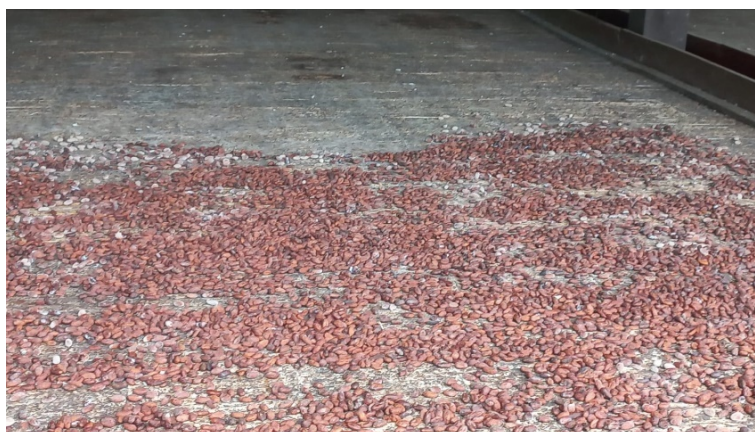


Figura 18. Cacao en grano seco.

Fuente: Autora, 2022.

3.3.2 Extracción de la muestra

Las muestras de cacao en grano fueron homogeneizadas, molidas y tamizadas teniendo un tamaño de partícula de 1.7 mm. Se pesaron 10 g de la muestra de cacao, a los cuales se les adicionó 20 ml de agua ultrapura para que la muestra se humedeciera y pueda acidificarse con 5 ml de una solución de ácido clorhídrico 4M, se dejaron reposar durante 30 min y luego de ese tiempo se procedió a la extracción empleando un dispersor bio-homogeneizador durante 3 min, realizándose dos extracciones agregando acetona como disolvente y posterior centrifugación por 10 min a 3500 RPM para separar los sólidos.



Figura 19. Extracciones utilizando el equipo Bio-homogeneizador.

Fuente: Autora, 2022.

El extracto resultando que se centrifugó, fue trasvasado hacia el matraz de 200 ml a través de papel filtro cualitativo. Al terminar las extracciones se llevó a volumen con acetona obteniéndose el extracto final que se usó para su purificación en procesos de extracción en fase sólida (SPE).



Figura 20. Extracto de la muestra con disolvente acetona.

Fuente: Autora, 2022

3.3.3 Purificación

Se tomó una alícuota de 10 ml del extracto empleando una pipeta volumétrica y se colocó en un balón de 50 ml, se procedió a su evaporación para

obtener un concentrado del extracto a un volumen de 3 ml con el uso de un equipo rotavapor, usando baño de agua a 60 °C.

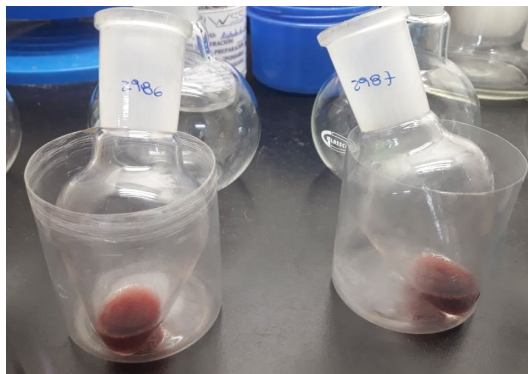


Figura 21. Balón de 50 ml que contiene el extracto concentrado a 3 ml.

Fuente: Autora, 2022

El concentrado resultante es colocado en cartuchos de fase inerte para eliminar el agua que haya quedado del proceso de extracción dejando reposar la muestra por 5 min. Para luego ser eluido con 60 ml de una solución (1:1) de acetato de etilo-hexano, la recolección se realizó en un balón de fondo plano de 250 ml y la mezcla recolectada fue evaporada a sequedad en un baño térmico a 60 °C, se reconstituyó con 10 ml de metanol grado cromatografía.



Figura 22. Muestra cuyo extracto purificado en cartucho es sometida a evaporación en un equipo rotavapor.

Fuente: Autora, 2022.

El extracto metanólico se vertió en los cartuchos C18, que luego se recolectaron en tubos de vidrio y se llevaron a un proceso de hidrólisis con 5 ml de NaOH 1.5 M durante 30 min a una temperatura determinada, transcurrido el tiempo se retiraron los tubos del baño isotérmico y se dejaron enfriar para adicionarles 3 ml de una solución de ácido clorhídrico y así realizar el ajuste de pH a la solución, comprobando con las tirillas medidoras que la solución se tamponó a un pH ≤ 1 .



Figura 23. Recolección de extracto metanólico en cartuchos C18.

Fuente: Autora, 2022.

El extracto hidrolizado es purificado a través de cartuchos HLB 3cc, que se acondicionan previamente, se hizo pasar todo el extracto para la retención del analito, al final los cartuchos fueron secados con la ayuda de vacío para eliminar toda la solución y el analito se dejó eluir con 5 ml de acetonitrilo, finalmente se evaporó a sequedad en baño maría 60 °C y se reconstituyó con 2 ml de una solución metanol-agua 1:1, para su posterior filtración a vial a través de una membrana en PDVF de 0.22 μm .

3.3.4 Análisis Instrumental

Las muestras para la detección de 2,4-D se analizaron en un sistema de cromatografía líquida de alta resolución (UPLC) Waters acoplado a un espectrómetro de masas Xevo TQ-MS, con fuente de ionización ESI. Se equipó con una columna Acquity BEH C18 de 1.7 μm , la temperatura de la columna se ajustó a 40 °C. Inyectándose así 5 μL de muestra a un flujo de 0.4 mL min^{-1} con una gradiente cuyas fases móviles fueron (A) compuesta por Acido fórmico al 0.2% en agua y la (fase móvil B) compuesta por Acido fórmico al 0.2% en Acetonitrilo, partiendo al minuto 0 en 80% A y 20% B, 7 min con 60% A y 40 % B, 8 min con 100% B, 12 min 80% A y 20 % B. Para el análisis de datos se utilizó el software MassLynx v4.1.

3.4 Cálculos

Para realizar el cálculo de las concentraciones del 2,4-D, se hace uso del software Masslynx usando el método del estándar externo e interpolación de áreas de acuerdo con la curva de calibración correspondiente al analito de interés.

$$Y = aX \pm b$$

$$X \left(2.4D \frac{\mu\text{g}}{\text{L}} \right) = \frac{y \pm b}{a} * FD$$

$$FD = \frac{L (\text{solución})}{g (\text{muestra})}$$

Donde:

X es la concentración del analito en el extracto de la muestra en $\mu\text{g/L}$.

FD: Es el factor de dilución aplicado a las muestras.

Para el cálculo de la concentración del analito en la muestra en ug/Kg, aplicamos la siguiente expresión matemática:

$$2,4D \left(\frac{ug}{Kg} \right) = X \frac{ug}{L} * \frac{0.2L}{10g} * \frac{1000g}{1 Kg} * \frac{2ml}{10ml}$$

Así nos queda:

$$2,4D \left(\frac{ug}{kg} \right) = X \frac{ug}{L} * 4$$

CAPITULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Cuantificación del herbicida 2,4-D en muestras de cacao en grano

La cuantificación del 2,4-D se realizó por medio de una curva de calibración en estándar puro, se pesaron 10 mg del estándar de marca Dr. Ehrenstorfer y se disolvió en metanol para obtener una concentración de solución stock de 1000 mg/L. Los puntos de la curva de calibración se prepararon en volumen de 10 ml usando como disolvente una solución de metanol-agua, con un rango de linealidad de concentraciones entre 1.25 a 40 ug/L. Cuyo rango final de concentración en muestra de 5 a 160 ug/kg.

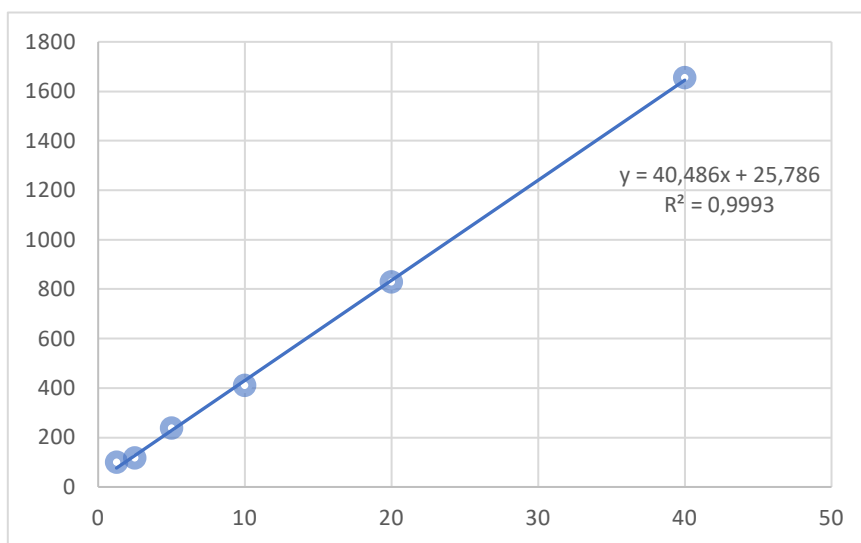


Figura 24. Curva de calibración del 2,4 D.

Fuente: Autora, 2022

Se utilizaron dos transiciones para la identificación del analito, siendo la transición de mayor abundancia utilizada para la cuantificación y la segunda transición utilizada para la confirmación. El límite de cuantificación se estableció de acuerdo con el LMR definido por Japón para el cacao en grano de 0.01 mg/kg.

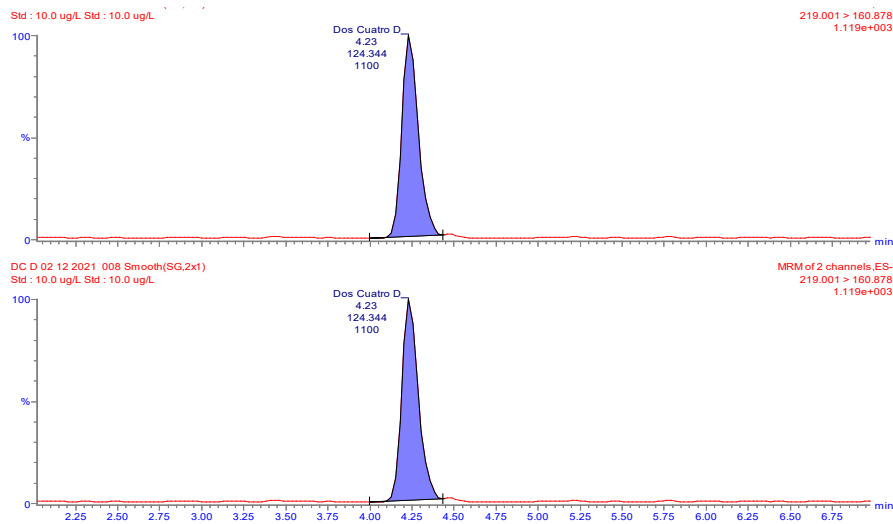


Figura 25. Cromatograma de un estándar de 10 ug/L. Se observan las dos transiciones del analito 2,4-D

Fuente: Autora, 2022

En la tabla 1, se puede observar el área obtenida de los cromatogramas de los estándares para la construcción de la curva de calibración.

Con. Final ug/L	área
1,25	98
2,5	117
5	237
10	410
20	828
40	1653

Tabla 2. Concentraciones obtenidas de la curva de calibración del analito 2,4-D

4.2 Evaluación de la concentración residual del herbicida 2,4 D en cacao en grano

Para determinar la concentración de 2,4-D en las muestras de cacao, se realizó el análisis de 6 muestras de cada productor, cuyos resultados se encuentran detallados en la tabla 1. Se puede observar que en sólo uno de ellos se hallaron concentraciones del herbicida mayores a 0.01 mg/kg.

Muestra	Productor El Empalme	Productor Pto. Inca	Productor Colimes
1	0.03	0.002	0.004
2	0.01	0.00	0.005
3	0.01	0.00	0.004
4	0.02	0.001	0.003
5	0.01	0.003	0.00
6	0.02	0.002	0.002

Tabla 3. Concentraciones residuales en mg/kg de 2,4 D de cada productor evaluado.

Origen: Datos de ensayos en laboratorio de análisis.

De acuerdo con los resultados obtenidos, se observa que en las muestras analizadas para el productor de la hacienda ubicada en el cantón El Empalme se hallaron concentraciones ≥ 0.01 mg/kg del herbicida 2,4-D, así se observan diferencias en los resultados obtenidos del análisis del productor de la hacienda San Eduardo del cantón Puerto Inca en donde se obtienen concentraciones menores a 0.004 mg/kg.

4.3 DISCUSIÓN

El estudio nos demuestra que no todos los productores de cacao en grano realizan prácticas adecuadas en sus procesos, que les permita vender un producto final que satisfaga o cumpla con los parámetros necesarios para su exportación.

Por otra parte, se evidencia que existe mucho hermetismo respecto a la información que proporcionan, ya que no todas las haciendas productoras nos dieron apertura para realizar toma de muestra, considerando que existe una elevada competencia por la venta de cacao en grano a empresas exportadoras lo que conlleva a pérdida de acuerdos para que su producto sea aceptado.

Estudios similares se han realizado en otros países, pero no destacan la importancia de evaluar 2,4-D en cacao en grano. Los enfoques están dados en otro tipo de cultivos y las consecuencias de una inadecuada aplicación del herbicida en los mismos.

Un experimento efectuado en Canadá demostró que entre 3-4 % tanto de la amina 2,4-D como del éster de alta volatilidad se desplazaron fuera del área objetivo en forma de gotas de rociado. Sin embargo, un 25 a 30 por ciento adicional del éster se desplazó como vapor en los primeros 30 minutos después de la pulverización, mientras que no se detectó ningún movimiento adicional de la amina (Dexter, 1995).

Stoorvogel, et all. (2003), mencionan en su estudio que la contaminación que puede ocasionar un plaguicida está dada por dos causas principales: una contaminación puntual que se da por derrames accidentales en el transporte de envases o recipientes de las mezclas de plaguicidas aplicados, y la segunda causa es la conocida como una contaminación no puntual como resultado de residuos de plaguicidas después de su aplicación en los cultivos.

Con respecto a otros estudios, existe evidencia que hay daños a otros cultivos por ingredientes activos de los herbicidas 2,4-D y Dicamba de acuerdo a lo reportado por la Asociación Oficial Estadounidense de control de Pesticidas (AAPCO), ya que varios cultivos de hoja ancha como la soya y el algodón son

sensibles a estos compuestos que ocasiona una pérdida potencial de su rendimiento incluso en dosis muy bajas, ya que sus formulaciones son moderadamente volátiles y los herbicidas pueden viajar en el viento como deriva de vapor en campos lejanos tratados con dichos compuestos (Egan et al., 2014).

CAPITULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

- Se obtuvieron concentraciones residuales del herbicida 2,4-D superiores al LMR en uno de los productores, con lo que se demuestra que depende del proceso de producción del cacao en grano seco que en el muestreo del producto final se encuentren residuos.
- Los resultados del productor Hacienda San Eduardo ubicado en el cantón Puerto Inca, permite evidenciar que es un cacao orgánico y utilizan otro tipo de herbicida diferente a 2,4-D por lo que todas las muestras presentan concentraciones inferiores a 0.005 mg/kg.
- La elaboración de la guía para los productores está enfocada en minimizar las contaminaciones cruzadas que pueden darse por un uso inadecuado o por desconocimiento durante el proceso de producción del cacao en grano seco para exportación.

5.2 RECOMENDACIONES

- Debido a la alta persistencia del herbicida 2,4-D y a la susceptibilidad del cacao en grano de absorber fácilmente cualquier tipo de sustancia con la que pueda contaminarse, se debe tener especial cuidado con las superficies en donde se coloca el producto tanto en el proceso de fermentación, o cuando se realiza el secado del producto, inclusive si los sacos son almacenados dentro de bodegas en donde se encuentren otros productos (herbicidas).
- Los productores de cacao en grano podrían realizar producciones de cacao orgánico, con la finalidad obtener una certificación que les permita vender un producto que tenga la seguridad de encontrarse libre de herbicidas.

Referencias bibliográficas.

- Abad, A., Acuña, C., & Naranjo, E. (2020). El cacao en la Costa ecuatoriana: estudio de su dimensión cultural y económica. *Estudios de La Gestión. Revista Internacional de Administración*, 59–83. <https://doi.org/10.32719/25506641.2020.7.3>
- Andrade-Almeida, J., Rivera-García, J., Chire-Fajardo, G. C., & Ureña-Peralta, M. O. (2019). Propiedades físicas y químicas de cultivares de cacao (*Theobroma cacao* L.) de Ecuador y Perú. *Enfoque UTE*, 10(4), 1–12. <https://doi.org/10.29019/enfoque.v10n4.462>
- Anecacao. (2019). Sector Exportador De Cacao. *Anecacao*, 8. <http://www.anecacao.com/index.php/es/estadisticas/estadisticas-actuales.html>
- Arvelo, M. Á., Gonzáles, D., Delgado, T., Maroto, S., & Montoya, P. (2017). Estado actual sobre la producción, el comercio y cultivo del cacao en América. In *Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura*.
- Boivin, A., Amellal, S., Schiavon, M., & Van Genuchten, M. T. (2005). 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) sorption and degradation dynamics in three agricultural soils. *Environmental Pollution*, 138(1), 92–99. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2005.02.016>
- Brucha, G., Aldas-Vargas, A., Ross, Z., Peng, P., Atashgahi, S., Smidt, H., Langenhoff, A., & Sutton, N. B. (2021). 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid degradation in methanogenic mixed cultures obtained from Brazilian Amazonian soil samples. *Biodegradation*, 32(4), 419–433. <https://doi.org/10.1007/s10532-021-09940-3>
- Bustamante Adum, M. G., & Ramírez Triviño, A. (2010). *Efectos de varios métodos de prefermentación y fermentación del cacao CCN-51*.
- Carrasco Angel, O. (2015). *Obtención de harina baja en gluten a partir de la cascarilla de cacao de las variedades CCN-51 y Nacional*.
- Caseley, J. C. (1987). *Capítulo 10. Herbicidas*. 1–35.
- Reglamento (CE) 396/2005 del Parlamento Europeo y del Consejo relativo a los LMR de plaguicidas, L70 Diario Oficial de la Unión Europea 16 (2005).
- del Puerto Rodríguez, A. M., Suárez Tamayo, S., & Palacio Estrada, D. E. (2014). Efectos de los plaguicidas sobre el ambiente y la salud. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*, 52(3), 372–387.
- Dexter, A. G. (1995). Herbicide spray drift. *North Dakota State University Extension Service*, 657(August 1993), 1–11.
- Diez de Ulzurrun, P. (2013). Modos de acción herbicida. In *Aapresid* (Vol. 5342).
- Doménech, J. (2019). Plaguicidas. *Ámbito Farmacéutico*, 23(7), 108–114.
- Egan, J. F., Barlow, K. M., & Mortensen, D. A. (2014). A Meta-Analysis on the Effects of 2,4-D and Dicamba Drift on Soybean and Cotton. *Weed Science Society of America*, 62(1), 193–206. <https://doi.org/10.1614/ws-d-13->

- Ferreira Mendes, K., Justiniano Régo, A. P., Takeshita, V., & Luiz Tornisielo, V. (2012). Waters Resource Pollution by Herbicide Residues. In *Biochemical Toxicology-Heavy Metals and Nanomaterials* (p. 13).
<https://doi.org/http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.85159>
- Ferrer, A. (2003). Intoxicación por plaguicidas. *Anales Del Sistema Sanitario de Navarra*, 26(SUPPL. 1), 155–171. <https://doi.org/10.4321/s1137-66272003000200009>
- Freisthler, M., Robbins, R., Benbrook, C., Young, H., Haas, D., Winchester, P., & Perry, M. (2022). Association between increasing agricultural use of 2,4D and population biomarkers of exposure. *Environmental Health*, 21:23, 1–11.
- Hermosín Gaviño, C. (2010). Agricultura y plaguicidas. *Real Academia Sevillana de Ciencias*, 293.
- Hoagland, R. E., Zablutowicz, R. M., & Hall, J. C. (2003). Pesticide metabolism in plants and microorganisms: An Overview. *American Chemical Society*, 51(4), 472–495. [https://doi.org/10.1614/0043-1745\(2003\)051\[0472:pmipam\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1614/0043-1745(2003)051[0472:pmipam]2.0.co;2)
- Islam, F., Wang, J., Farooq, M. A., Khan, M. S. S., Xu, L., Zhu, J., Zhao, M., Muñoz, S., Li, Q. X., & Zhou, W. (2018). Potential impact of the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on human and ecosystems. *Environment International*, September, 332–351.
<https://doi.org/10.1016/j.envint.2017.10.020>
- Magnoli, K., Carranza, C. S., Aluffi, M. E., Magnoli, C. E., & Barberis, C. L. (2020). Herbicides based on 2,4-D: its behavior in agricultural environments and microbial biodegradation aspects. A review. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(31), 38501–38512.
<https://doi.org/10.1007/s11356-020-10370-6>
- Marques da Silva, J., & Rodrigues dos Santos, J. (2007). Toxicologia de agrotóxicos em ambientes aquáticos. *Oecologia Brasiliensis*, 11(04), 565–573. <https://doi.org/10.4257/oeco.2007.1104.08>
- Medina, J. D. L. C., & Vargas, O. (2009). CACAO: Operaciones Poscosecha. *Instituto Tecnológico de Veracruz*, 1–78. <http://www.fao.org/3/a-au995s.pdf>
- Melgarejo, L., Valeria Torres, A., Alegreti Pratis, L., & Cortez Rocha, N. (2020). *Agrotóxicos en America Latina*.
- Ministerio De Agricultura y Riego. (2020). *Análisis causa-raíz de los problemas que afectan a la cadena productiva de Cacao-Chocolate*. 1–62.
<http://gestionparticipativa.pe.iica.int/getattachment/e727a6a4-f9d1-4de0-99f2-d0d968cacc9d/Analisis-Causa-Raiz-de-la-Cadena-Productiva-de-Cac.aspx>
- Navarra Blaya, S., & Navarro García, G. (2003). *Química Agrícola*.
- Navarro, M., & Mendoza, I. (2006). Cultivo del Cacao en Sistemas Agroforestales. *Historia*, 67.
<http://orton.catie.ac.cr/repdoc/A5288e/A5288e.pdf>

- Navas, I., & García-Fernández, A. J. (2020). *PLAGUICIDAS Y BIOCIDAS: GENERALIDADES*.
https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44271/9789241547963_eng.pdf?sequence=1&isAllowed
- Neumeister, L. (2014). Riesgos del Herbicida. *La Tierra*, 31.
- CODEX ALIMENTARIUS: CX/MRL-2, 40 (2018). <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/standards/vetdrugs/es/>
- Organización Mundial del Comercio. (2012). In *Comité de Medidas Sanitarias y Fitosanitarias*.
- Ortiz Hernandez, M. L., Sánchez Salinas, E., Folch Mallol, J. L., Olvera Velona, A., & Dantán González, E. (2014). Los Plaguicidas en México: Aspectos generales, toxicológicos y ambientales. *Universidad Autónoma Del Estado de Morelos*, 285.
- Osejos Merino, M. A., Cano Andrade, R. J., & Cañarte Baque, S. J. (2020). Presencia de Agroquímicos en muestra de Café en la Zona Sur de Manabí. *Reciamuc*, 4(4), 64–73.
[https://doi.org/10.26820/reciamuc/4.\(4\).diciembre.2020.64-73](https://doi.org/10.26820/reciamuc/4.(4).diciembre.2020.64-73)
- Ozuna, D. (2020). Residualidad de un herbicida. *Rainbow Uruguay*, 1–7.
<https://www.rainbowagroconosur.com/uy/detalle-de-residualidad-de-un-herbicida-194>
- Ramírez, J. A., & Lacasaña, M. (2001). Plaguicidas: clasificación, uso, toxicología y medición de la exposición. *Arch Prev Riesgos Laborales*, 4(2), 67–75.
- Guía para la gestión adecuada de plaguicidas, 1 (2017).
- Ricaño-Rodríguez, J., Ramos-Prado, J., Cocoltzi-Vásquez, E., & Hipólito-Romero, E. (2018). El estudio genómico del cacao (*Theobroma cacao* L.) Breve reopilación de sus bases conceptuales. *Agroproductividad*, 11(9), 29–35.
- Rodríguez Eugenio, N., McLaughlin, M., & Pennock, D. (2019). La contaminación del suelo: una realidad oculta. In *Organizacion de las Naciones Unidas para la alimentacion y la agricultura FAO*.
<http://www.fao.org/3/I9183ES/i9183es.pdf>
- Sánchez Martín, M. J., & Sánchez Camanazo, M. (1984). Los plaguicidas. Adsorción y evolución en el suelo. *Temas de Divulgación*, 1, 15–33.
<https://digital.csic.es/bitstream/10261/12919/1/plaguicidas.pdf%3B>
- Stoorvogel, J., Jaramillo, R., Merino, R., & Kosten, S. (2003). Plaguicidas en el medio ambiente. *Los Plaguicidas: Impactos En Producción, Salud y Medio Ambiente En Carchi, Ecuador*, 49–69. <http://edepot.wur.nl/38625>
- Yanggen, D., Crissman, C., & Patricio, E. (2002). *Los plaguicidas: impactos en producción, salud y medio ambiente en Carchi, Ecuador*.
<http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IisScript=iah/iah.xis&src=google&base=REPI DISCA&lang=p&nextAction=Ink&exprSearch=109859&indexSearch=ID%5Cnhttp://cipotato.org/region-quito/informacion/inventario-de->

tecnologias/losplaguicidas_impact

- Laprade, S., Herrera, F., & Enriquez, G. (1989). Evaluación de herbicidas aplicados en -pre y posemergencia en viveros de cacao (Theobroma cacao). *Agronomía Costarricense*, 13(2), 135–142.
- Medina, J. D. L. C., & Vargas, O. (2009). CACAO: Operaciones Poscosecha. Instituto Tecnológico de Veracruz, 1–78. <http://www.fao.org/3/a-au995s.pdf>
- Peñafiel, W., & Kammerbauer, H. (2001). Evaluación del uso y manejo de pesticidas en una zona subtropical del Alto Beni de Bolivia. *Ecología En Bolivia*, 36, 55–63.
- Pinheiro, S. (2004). *El infierno del 2,4D- De la guerra de Vietnam a la agricultura de guerra*. Agrotóxicos. www6.rel-uita.org/agricultura/agrotoxicos/2-4d.htm

ANEXOS

GUIA DE MEDIDAS PREVENTIVAS PARA EL USO DE PLAGUICIDAS

Los plaguicidas que se usan para protección de cultivos si no se manejan de forma adecuada, son productos peligrosos.



Se debe considerar ciertas características que poseen estas sustancias para evitar efectos indeseados y contaminaciones cruzadas que pudieran afectar a los usuarios que manipulan los productos.

Características de plaguicidas



Permanecen mucho tiempo en el ambiente



Resisten degradación solar y química



Se transportan largas distancias por agua y aire



Sin importar el lugar donde fueron usados o producidos



Se almacena en el tejido graso vegetal o animal



Aumenta su concentración en la cadena alimenticia

ALMACENAMIENTO

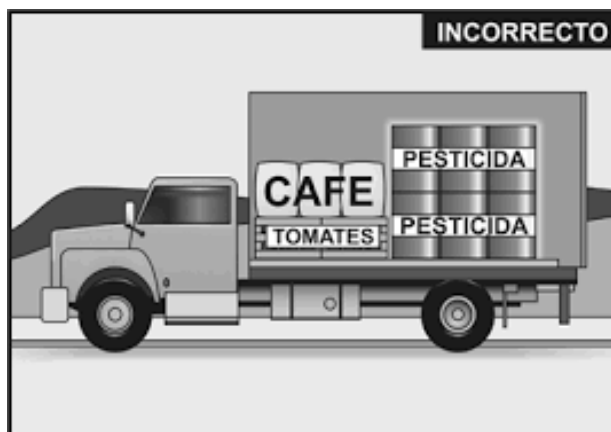
Otro de los aspectos a considerar es el lugar de almacenamiento de los plaguicidas, debido a su potencial peligro para las personas que puedan estar expuestas. Por lo que existen objetivos básicos de almacenamiento:

- Los plaguicidas deben adquirirse de acuerdo con sus necesidades de uso, así se reduce el tiempo de almacenamiento y excedentes.
- Se debe mantener en su envase original y libre humedad.
- Los plaguicidas deben almacenarse según su categoría y ser rotulados de acuerdo con las mismas.
- Asegurar su uso antes de la fecha de caducidad establecida.
- Se debe realizar una revisión periódica del producto almacenado para prevenir derrames indeseados.
- Las bodegas destinadas al almacenamiento deben ser de uso exclusivo para el fin previsto y encontrarse separadas de oficinas y fuentes de agua ya que podría causar contaminación difusa.
- La recomendación para las estanterías es que los líquidos deben colocarse en la parte inferior y tener una distancia adecuada entre un soporte y otro.



TRANSPORTE

El transporte de plaguicidas quizás es uno de los factores que no se considera de mayor importancia, pero la contaminación de este origen tiene consecuencias indeseadas para toda la cadena de producción de alimentos.



Los plaguicidas (insecticidas, herbicidas, rodenticidas, fungicidas) deben ser transportados SOLOS, sin cercanía de alimentos de consumo humano o animal.

Se evidencia que la utilización de vehículos donde se transportan los envases, puede contener ciertas estructuras salientes que pudieren causar perforaciones a los recipientes contenedores de las sustancias químicas y ocasionar derrame y por consiguiente contaminación indebida.