



**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
SEDE GUAYAQUIL**

CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

**CUANTIFICACIÓN DEL CONTENIDO DE CADMIO Y PLOMO EN
GRANOS DE CAFÉ DE CINCO ZONAS DEL ECUADOR, Y EL DESARROLLO
DE UNA ESTRATEGIA DE MITIGACIÓN BIOTECNOLÓGICA**

*Trabajo de titulación previo a la
obtención del título de Ingeniera en Biotecnología*

AUTORES:

NAYELLY ANABEL QUIMIS GONZALEZ
DOMENICA CAROLINA MALDONADO SALAS

TUTOR:

MSc. JAIRO JOEL JAIME CARVAJAL

GUAYAQUIL - ECUADOR

2024

**CERTIFICADO DE RESPONSABILIDAD Y AUTORÍA DEL TRABAJO DE
TITULACIÓN**

Nosotras, **Nayelly Anabel Quimis Gonzalez** con documento de identificación N° 0957205685 y **Domenica Carolina Maldonado Salas** con documento de identificación N° 1723072037; manifestamos que:

Somos los autores y responsables del presente trabajo; y, autorizamos a que sin fines de lucro la Universidad Politécnica Salesiana pueda usar, difundir, reproducir o publicar de manera total o parcial el presente trabajo de titulación.

Guayaquil, 29 de agosto del año 2024

Atentamente,

Nayelly Quimis G.

Nayelly Anabel Quimis Gonzalez

CI: 0957205685



Domenica Carolina Maldonado Salas

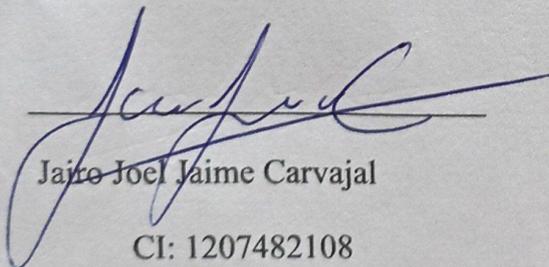
CI: 1723072037

CERTIFICADO DE DIRECCIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, **Jairo Joel Jaime Carvajal** con documento de identificación N° 1207482108, docente de la Universidad Politécnica Salesiana, declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: **CUANTIFICACIÓN DEL CONTENIDO DE CADMIO Y PLOMO EN GRANOS DE CAFÉ DE CINCO ZONAS DEL ECUADOR, Y EL DESARROLLO DE UNA ESTRATEGIA DE MITIGACIÓN BIOTECNOLÓGICA**, realizado por **Nayelly Anabel Quimis Gonzalez** con documento de identificación N° 0957205685 y **Domenica Carolina Maldonado Salas** con documento de identificación N° 1723072037, obteniendo como resultado final el trabajo de titulación bajo la opción Trabajo Experimental que cumple con todos los requisitos determinados por la Universidad Politécnica Salesiana.

Guayaquil, 29 de agosto del año 2024

Atentamente,



Jairo Joel Jaime Carvajal
CI: 1207482108

Yo, **Jairo Joel Jaime Carvajal** con documento de identificación N° 1207482108, docente de la Universidad Politécnica Salesiana, declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: **CUANTIFICACIÓN DEL CONTENIDO DE CADMIO Y PLOMO EN GRANOS DE CAFÉ DE CINCO ZONAS DEL ECUADOR, Y EL DESARROLLO DE UNA ESTRATEGIA DE MITIGACIÓN BIOTECNOLÓGICA**, realizado por **Nayelly Anabel Quimis Gonzalez** con documento de identificación N° 0957205685 y **Domenica Carolina Maldonado Salas** con documento de identificación N° 1723072037, obteniendo como resultado final el trabajo de titulación bajo la opción Trabajo Experimental que cumple con todos los requisitos determinados por la Universidad Politécnica Salesiana.

Guayaquil, 29 de agosto del año 2024

Atentamente,

Jairo Joel Jaime Carvajal

CI: 1207482108

Dedicatoria

Dedico este trabajo a todos aquellos que creyeron en “Mí”, principalmente a mis padres quienes han sido mi pilar fundamental desde el momento uno en el que decidí aventurarme en esta trayectoria de mi formación profesional, estando allí siempre conmigo dándome su apoyo incondicional, motivándome a cada día ser mejor, alentándome en mis momentos más difíciles cuando creía que todo estaba perdido y que decía que ya no podía más, gracias, padres por nunca dejarme sola.

A mi mamá por escucharme siempre que lo necesite, por todas esas veces en la que se levantaba súper temprano para hacerme el almuerzo cuando sabía que no llegaría a casa hasta tarde en la noche. A mi gordo bello mi padre por sacarse el aire todos los días trabajando, luchando día a día para que yo pudiera tener una buena educación y ser una profesional.

A mis hermanos que a pesar de todo siempre están conmigo y siendo mi motor por seguir para no rendirme, dándoles una muestra a perseguir sus sueños, y se den cuenta que en la vida todo se puede y así como yo llegue hasta este logro ellos también lo harán.

A mis amigos Sergio, Nicole, Sebasthiane, Fiorella, Anthony, Tatiana y Zully, quienes con sus alegrías y compañía hicieron de cada día una aventura memorable incluso en esos momentos difíciles, gracias por haberse subido a este viaje académico conmigo.

A la mami “Paola” por la acogida cálida en su hogar y hacerme sentir en casa, en esos días en los que nos quedábamos con Carito hasta tarde en la Universidad terminando nuestra tesis.

Y, por último, pero no menos importante a “Domenica” que muy aparte de ser mi compañera de tesis con el pasar del tiempo y compartir momentos juntas se hizo mi amiga de chismes científicos, amiga de risas y lloradas, y decirme “Vamos mis amores” cuando ya no podíamos más y el cansancio nos mataba, gracias por la paciencia que me tuviste y por haber compartido esta aventura conmigo hasta el final.

Nayelly Anabel Quimis Gonzalez

Dedico este trabajo a mi mamá mi mayor apoyo y mi más fiel compañera, tu apoyo, consejos y paciencias, sobre todo cuando te hacía esperarme largas horas afuera de la Universidad, por ayudarme a estudiar en cada examen escuchándome, aunque no entendieras nada y aun así me hacías preguntas para que yo pudiera practicar, por levantarte todos los días temprano a prepararme el desayuno para que pudiera ir con energía, por darme el valor y los ánimos cada vez que me sentía ansiosa o con miedo a un examen, por mandarme a tus angelitos para que me cuiden y siempre me vaya bien. ¡¡Te amo mamá este logro es nuestro!!

También dedico este trabajo y este logro a mi papá negro, que, aunque no sea tu hija de sangre me has dado todo tu amor, paciencia y apoyo madrugando para llevarme todos los días a la Universidad desde que empecé, y de igual forma yéndome a buscar a cualquier hora que te lo pedía, por más que ya estabas dormido me iba a ver, por dándome consejos cuando te contaba que me sentía mal o que tenía algún problema en la Universidad, por creer en mí y presumirme con cualquier persona que conversabas y decir que tienes una hija Ingeniera o una hija científica, pues ahora ya la tienes.

Te dedico este trabajo papá, porque sin ti no hubiera podido seguir esta carrera, gracias por apoyarme, por estar siempre preocupado por mí y porque tenga buenas notas, por llevarme todos los días a mis pasantías y cocinarme el desayuno, gracias por sacarte el aire trabajando para que yo pueda estudiar y tener un título, créeme ningún día de trabajo fue en vano. ¡¡Lo logramos papá!!

A mis grandes amores de cuatro patas Andy y Lía, por alegrarme cada día con su compañía, por acompañarme a estudiar a altas horas de la noche, su amor ha sido la mejor terapia durante estos años de estudio.

Y por último y no menos importante a mi amiga y compañera de tesis Nayelly “Vamo' mis amores”, gracias por compartir esta aventura conmigo, no hubiera querido otra compañera de tesis, tu amistad, las risas, los bailecitos científicos, las llamadas en la madrugada para acabar nuestra tesis, ha sido la mejor aventura, solo me queda decirte gracias por creer en nosotras y llegar conmigo hasta el final.

Domenica Carolina Maldonado Salas

Agradecimientos

Primeramente, le damos las gracias a Dios por su bendición, por darnos la vida y guiar nuestros mis pasos día a día.

A nuestros padres, hermanos, amigos por su apoyo incondicional y estar presentes en los buenos y malos momentos de nuestras vidas.

A nuestros profesores Msc. Jairo Joel Jaime Carvajal por su asesoría en todo este proceso de desarrollo y culminación de nuestra tesis; Msc. Kevin Cedeño por ser nuestro tutor guía en el laboratorio mientras realizamos nuestro trabajo experimental e impartirnos nuevos conocimientos científicos.

A los ayudantes de laboratorio por apoyarnos con los materiales e insumos para la elaboración de nuestra tesis de grado.

Y a la Universidad Politécnica Salesiana – Sede Guayaquil por prestarnos sus servicios como el uso de los laboratorios, equipos e instrumentos para poner en práctica nuestro proyecto de grado. De igual forma por la educación impartida para nuestra formación profesional.

Resumen

Ecuador es un país con rica tradición cafetera, siendo uno de los pocos en el mundo que produce dos variedades de café, el Arábico como Robusta. Para los ecuatorianos, el cultivo de café tiene una destacada importancia económica, social, ambiental y en la salud humana. Por ello, la investigación se centró en determinar la concentración de metales pesados (Cd y Pb) en los granos, cáscara y borra de café Arábica producidos en las provincias de Manabí, Los Ríos, El Oro, Loja y Pichincha. Se realizó un muestreo aleatorio simple, obteniendo cinco muestras de 1 kg provenientes de la cosecha de cada provincia. El análisis de la concentración de metales pesados se realizó mediante Espectroscopía de Emisión Atómica con Plasma de Acoplamiento Inductivo (ICP-OES) asistida por microondas.

Para la identificación de las diferencias significativas de las concentraciones de los metales se realizó un análisis estadístico ANOVA multifactorial. Así mismo, se ejecutó un fichaje crítico para dar paso a una propuesta de estrategia de biorremediación de Cd y Pb, seleccionaron los puntos más relevantes para su implementación en la investigación.

Los resultados del estudio pudieron revelar diferencias significativas en las concentraciones de metales entre provincias de plomo, destacando la cáscara de café proveniente de la región de El Oro presentando una concentración de 2.788mg/kg, seguidas por las cáscaras de Los Ríos y Pichincha las cuales cuentan con una concentración de 1.11mg/kg. Estas concentraciones se compararon con las Normas INEN 1122 ya establecidas, constatando que las muestras provenientes de El Oro, Los Ríos y Pichincha no cumplen con los límites máximo permisibles.

Con respecto al Cadmio, no se detectó su presencia en ninguna de las 15 muestras, indicando que estas muestras cuentan con los límites máximos permisibles ya establecidos por la norma. La revisión bibliográfica dentro del fichaje crítico identifica algunas cepas de *Fussriun* (*F. oxysporum* CTLM02, *F. oxysporum* CTLM03 y *F. oxysporum* CTLM18), siendo estas las más adecuadas para el proceso de biorremediación de suelos contaminados con cadmio y plomo, logrando eliminarlos hasta un 44% de estos metales en el suelo.

Palabras claves: cadmio, plomo, café, ingesta de alimentos, contaminación alimentaria, metales pesados, adsorción y evaluación de riesgos.

Abstract

Ecuador is a country with a rich coffee tradition and is one of the few in the world that produces both Arabica and Robusta varieties. For Ecuadorians, coffee cultivation has significant economic, social, environmental, and human health importance. Therefore, this research focused on determining the concentration of heavy metals (Cd and Pb) in the beans, husk, and coffee grounds of Arabica coffee produced in the provinces of Manabí, Los Ríos, El Oro, Loja, and Pichincha. A simple random sampling was conducted, obtaining five 1 kg samples from the harvest of each province. The analysis of heavy metal concentration was performed using Microwave-Assisted Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy (ICP-OES).

To identify significant differences in metal concentrations, a multifactorial ANOVA statistical analysis was performed. Additionally, a critical review was conducted to propose a strategy for the bioremediation of Cd and Pb, highlighting the most relevant points for its implementation in the research.

The results of the study revealed significant differences in lead concentrations among provinces, with the coffee husk from the El Oro region showing a concentration of 2.788 mg/L, followed by the husks from Los Ríos and Pichincha, with concentrations of 1.11 mg/L. These concentrations were compared with the established INEN 1122 Standards, confirming that the samples from El Oro, Los Ríos, and Pichincha do not comply with the permissible limits already established.

Regarding Cadmium, it was not detected in any of the 15 samples, indicating that these samples comply with the maximum permissible limits established by the standard. The literature review within the critical review identified some strains of *Fusarium* (*F. oxysporum* CTLM02, *F. oxysporum* CTLM03, and *F. oxysporum* CTLM18) as the most suitable for the bioremediation of soils contaminated with cadmium and lead, capable of removing up to 44% of these metals from the soil.

Keywords: cadmium, lead, coffee, food intake, food contamination, heavy metals, adsorption, and risk assessment.

Índice

Antecedentes.....	1
1.1. Introducción.....	1
1.2. Planteamiento del problema.....	4
1.3. Justificación.....	4
1.4. Objetivos.....	5
1.4.1. Objetivo General.....	5
1.4.2. Objetivos Específicos.....	5
Marco Teórico.....	6
2.1. El café.....	6
2.1.1. Origen y distribución.....	6
2.1.2. Historia del café en el Ecuador.....	6
2.2. Taxonomía de café (Coffea spp).....	6
2.3. Variedades de café cultivadas en el Ecuador.....	7
2.3.1. Coffea arábica.....	7
2.3.2. Coffea canephona.....	8
2.3.3. Producción de café en Ecuador.....	9
2.4. Características principales de ambas variedades.....	9
2.5 Metales Pesados.....	10
2.5.1. Cadmio.....	11
2.5.2. Plomo.....	11
2.6. Fuentes de metales pesados.....	12
2.6. Espectroscopía de Emisión Atómica con Plasma de Acoplamiento Inductivo (ICP-OES).....	13
2.7. Normas INEN.....	14
2.7.1 Norma NTE INEN 285:2006 (Café verde en grano. Clasificación y requisitos).....	14

2.7.2 Norma NTE INEN 1123 (Café tostado en grano o molido).....	15
2.7.3. Norma NTE INEN 1122: 2023 (Café Soluble).....17
2.8. Biorremediación.....	18
2.8.1 Definición de Biorremediación.....	18
2.8.2 Tipos de Biorremediación.....	18
2.8.3 Técnicas de Biorremediación.....	19
2.8.4. Microorganismos con capacidad biorremediadora de metales pesados cadmio y plomo.....	19
Materiales y Métodos.....	21
3.1. Diseño de la investigación.....	21
3.2. Población, muestra y muestreo.....	21
3.2.1. Población.....	21
3.2.2. Muestra.....	21
3.3. Materiales.....	24
3.3.1. Equipos.....	24
3.3.2. Reactivos.....	24
3.4. Procedimiento y técnica de recolección de datos.....	24
3.4.1. Procedimiento.....	24
3.4.1.1. Secado, molienda y tamizaje de los granos y cáscara del café.....	24
3.4.1.2. Obtención de la borra.....	25
3.4.1.3. Control de calidad de las muestras.....	26
3.4.1.4. Preparación de soluciones estándares.....	26
3.5. Técnicas.....	27
3.5.1. Digestión de las muestras de café (grano, cascara y borra).....	27
3.5.2. Cuantificación de cadmio y plomo mediante ICP-OES.....	27
3.6. Análisis de datos.....	28

3.7. Desarrollo de fichaje crítico.....	29
Resultados y Discusiones.....	30
4.1 Determinar la concentración de Cd y Pb en granos de café de cinco zonas del Ecuador mediante utilización de ICP-OES.....	30
4.1.1 Concentración de Plomo.....	30
4.1.2. Concentración de Cadmio.....	32
4.2. Emplear técnicas bioestadísticas para identificar diferencias significativas en el contenido de metales pesados en granos de café provenientes de cinco zonas del Ecuador.3	3
4.2.1. Estadísticos descriptivos para cuantificación de plomo.....	34
4.2.1.1. Descripción de la gráfica.....	35
4.2.2. Análisis de varianza (ANOVA) para cuantificación de plomo en muestras de grano, cascara y borra de café.....	36
4.2.3 Control de Calidad de Muestras Fortificadas.....	37
4.3. Desarrollo de una estrategia de mitigación para la reducción de la acumulación de cadmio y plomo en los granos de café mediante un fichaje crítico.....	37
4.3.1. Análisis de los principales microorganismos con capacidad biorremediadora de metales pesados.....	39
Conclusiones y Recomendaciones.....	41
5.1. Conclusiones.....	41
5.2. Recomendaciones.....	42
Referencias Bibliográficas.....	43
Anexos.....	50

Abreviaturas

COFENAC	Consejo Cafetero Nacional
NECAFE	Asociación Nacional de Exportadores de Café
ICP-OES	Espectroscopia de Emisión Atómica con Plasma de Acoplamiento Inductivo
SIPA	Sistema de Información Pública Agropecuaria del Ecuador
INEN	Servicio Ecuatoriano de Normalización
CCD	Dispositivo de Carga Acoplada
UNESCO	Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura.
ANOVA	Análisis de la Varianza

Simbología

mm	Milímetros
ppb	Partes Por billón
m	Metro
nm	Nanómetros
g	Gramos
µm	Micrómetros
C	Carbono
N	Nitrógeno
O	Oxígeno
H	Hidrogeno
mg	Miligramos
Ha	Hectáreas
ml	Militros
W	Vatios
Kg	Kilogramos

Índice de Figuras

<i>Figura 1. Mapa de las principales provincias productoras de café arábico y robusta en Ecuador.....</i>	<i>9</i>
<i>Figura 2. Principales fuentes de contaminación de metales pesados.....</i>	<i>12</i>
<i>Figura 3. Descripción de los requisitos para Coffea arábica según la norma NTE INEN 285:2006.....</i>	<i>14</i>
<i>Figura 4. Descripción de los requisitos para Coffea canephora según la norma NTE INEN 285:2006.....</i>	<i>15</i>
<i>Figura 5. Descripción de parámetros fisicoquímicos dentro del café molido.....</i>	<i>16</i>
<i>Figura 6. Descripción de requisitos microbiológicos en café tostado grano o molido.....</i>	<i>16</i>
<i>Figura 7. Descripción de requisitos físicos químicos que debe tener un café soluble.....</i>	<i>17</i>
<i>Figura 8. Descripción de los límites permitidos de metal pesado en café soluble.....</i>	<i>17</i>
<i>Figura 9. Resultados de evaluación de hongos con capacidades biorremediadoras para metales pesados.....</i>	<i>20</i>
<i>Figura 10. Resultados de evaluación de bacterias con capacidades biorremediadoras para metales pesados.....</i>	<i>20</i>
<i>Figura 11. Mapa del Ecuador con las coordenadas de las provincias muestreadas.....</i>	<i>22</i>
<i>Figura 12. Protocolo para la obtención de las muestras de café arábico.....</i>	<i>23</i>
<i>Figura 13. Proceso de secado, molienda, tostado y tamizaje de granos y cáscara de café .</i>	<i>26</i>
<i>Figura 14. Fórmulas de cálculo utilizadas para el Diseño Completamente al Azar.....</i>	<i>28</i>
<i>Figura 15. Concentración de muestra de café mg/Kg.....</i>	<i>31</i>
<i>Figura 16. Diagrama estadístico descriptivo de las concentraciones de una variable dependiente por provincias y tipo de muestra.....</i>	<i>35</i>
<i>Figura 17. Análisis bibliométrico por autores o coautoría.....</i>	<i>37</i>
<i>Figura 18 . Análisis bibliométrico por palabras clave.....</i>	<i>38</i>
<i>Figura 19 . Análisis bibliométrico por países con mayor número de publicaciones.....</i>	<i>38</i>

Índice de Tablas

<i>Tabla 1. Clasificación taxonómica de Coffea spp.....</i>	<i>7</i>
<i>Tabla 2. Principales características de la especie C.arábica.....</i>	<i>8</i>
<i>Tabla 3. Principales características de la especie C.arábica y C.canephora.....</i>	<i>10</i>
<i>Tabla 4. Clasificación del café tostado o molido dispuesto por la norma NTE INEN 1123.</i>	<i>15</i>
<i>Tabla 5. Descripción de los tipos de biorremediación.....</i>	<i>18</i>
<i>Tabla 6. Descripción de las técnicas más utilizadas dentro de la biorremediación.....</i>	<i>19</i>
<i>Tabla 7. Producción de café arábico en el Ecuador año 2023.....</i>	<i>21</i>
<i>Tabla 8. Coordenadas de muestreo de los granos de café.....</i>	<i>23</i>
<i>Tabla 9. Descripción del proceso de secado, molienda y tamizaje de granos y cáscara de café.....</i>	<i>25</i>
<i>Tabla 10. Programa de calentamiento.....</i>	<i>27</i>
<i>Tabla 9. Descripción del diseño experimental.....</i>	<i>29</i>
<i>Tabla 10. Concentración real con factor de dilución para cada muestra de café.....</i>	<i>30</i>
<i>Tabla 11. Concentración de plomo en granos de café, cascara de café y borra del café.....</i>	<i>33</i>
<i>Tabla 12. Estadísticas descriptivas de las concentraciones de una variable dependiente por provincias y tipo de muestra.....</i>	<i>34</i>
<i>Tabla 13. Resultados del Análisis de Varianza ANOVA.....</i>	<i>36</i>
<i>Tabla 14. Algunos microorganismos implicados en la biorremediación de metales pesados...</i>	<i>40</i>

Índice de Anexos

<i>Anexo 1. Muestreo de café.....</i>	<i>2</i>
<i>Anexo 2. Pesaje de cerezos de café.....</i>	<i>2</i>
<i>Anexo 3. Despulpado de los cerezos.....</i>	<i>2</i>
<i>Anexo 4. Preparación y secado de granos y cáscaras de las muestras.....</i>	<i>1</i>
<i>Anexo 5. Proceso de tostado de los granos y cáscara de café.....</i>	<i>1</i>
<i>Anexo 6. Proceso de molienda y tamizado de los granos y cáscara de café.....</i>	<i>1</i>
<i>Anexo 7. Pesaje de muestras molidas y tamizadas para la digestión.....</i>	<i>2</i>
<i>Anexo 8. Preparación de muestras de café para digestión asistida por microondas.....</i>	<i>2</i>
<i>Anexo 9. Muestras digestadas.....</i>	<i>2</i>
<i>Anexo 11. Lectura de muestras en ICP-OES.....</i>	<i>1</i>
<i>Anexo 12. Grafica de calibración de ICP-OES.....</i>	<i>1</i>
<i>Anexo 12. Selección de información para el desarrollo del fichaje critico.....</i>	<i>2</i>

Antecedentes

1.1. Introducción

El café es un pilar fundamental de la economía ecuatoriana. Su consumo global es tan extendido que lo posiciona como el quinto producto de exportación no petrolero más importante del país, superado únicamente por el camarón, banano, cacao y atún

. De acuerdo con datos de COFENAC, el cultivo de café se desarrolla en 20 de las 24 provincias ecuatorianas. Los Ríos, Manabí, Loja y El Oro sobresalen como las principales regiones productoras, concentrando un porcentaje significativo de la producción nacional

Según la Asociación Nacional de Exportadores de Café, ANECAFE, estima que la producción cafetera nacional se distribuye en 112,000 hectáreas en la costa, 62,000 en la sierra, 55,000 en la Amazonía y 1,000 en las Galápagos. Esta diversidad geográfica permite cultivar tanto café arábico (*Coffea arábica*) como robusta (*Coffea canephora*), posicionando al país en el puesto 14 a nivel mundial en producción mixta de café.

describe que el café es presentado al mercado internacional de distintas presentaciones que van desde el café en grano hasta soluble, cabe mencionar que la presentación de café soluble es el segundo con más demandada debido a su agradable aroma y delicado sabor abarcando más del 50% del mercado.

argumenta que el café tiene relevante importancia no solo en el orden económico sino también social, ambiental y en la salud humana. En lo social, la caficultura involucra a casi todas las etnias como kichwas, Shuaras y Tsáchilas, que se ven arraigadas en un amplio tejido social. Tal como en lo ambiental, menciona que el café se cultiva básicamente en sistemas agroforestales que contribuyen a la conservación de los recursos naturales. De igual forma en cuanto a lo relacionado a la salud el consumo de café puede tener efectos positivos y riesgos para la salud de las personas que lo ingieren, según la evidencia encontrada en estudios epidemiológicos y experimentales más recientes que demuestran la relación de un efecto positivo del café en la memoria, las funciones intelectuales, las enfermedades neurodegenerativas, diabetes tipo 2, enfermedad hepática, y la función ergogénica

Los metales pesados están presentes de forma natural en el material parental del suelo y son clasificados como contaminantes ambientales debido a sus efectos tóxicos en la flora y fauna. La contaminación ambiental por metales pesados ha aumentado a nivel global por el uso excesivo de estos metales en la fabricación de diversos productos y en la extracción del suelo, provocando alteraciones geoquímicas y bioquímicas .

La actividad humana es la principal responsable de la liberación de metales pesados como el plomo, cadmio, cromo, zinc y mercurio en los ecosistemas acuáticos y terrestres. Debido a su persistencia en el medio ambiente, capacidad de bioacumulación, naturaleza no biodegradable y toxicidad incluso en concentraciones bajas, estos metales suponen un serio peligro para las plantas, animales e incluso seres humanos

descubrieron que la principal razón de que estos metales estén presentes en los alimentos (arsénico, plomo y mercurio) es causado por el uso de insecticidas y desinfectantes al cultivar. Por otro lado, (argumentan que en Ecuador el cadmio está presente en el agua usada para irrigar cultivos, y demuestran que los metales pesados aumentan usando lodos de depuradora como fertilizantes.

Según Silva, Vitti, y Trevizam (2007, citado en , los metales pesados son los elementos más evaluados en los alimentos o cualquier otro producto debido a su capacidad de acumularse en la cadena alimentaria. Por lo tanto, los niveles máximos permisibles se convierten en el estándar de calidad más evaluado en todo el mundo

. Los metales pesados son elementos estables que permanecen en el medio ambiente y se acumulan en el suelo por procesos como: la meteorización (formación de rocas y suelos), las condiciones ambientales, las prácticas técnicas y el uso de productos químicos.

Dado a estos procesos las plantas absorben los metales pesados presentes en los suelos mediante sus raíces, tallos y hojas, que luego pueden moverse por el sistema de transporte de agua terminando de contaminar al fruto. Todas las plantas absorben metales del suelo donde se encuentran, pero en distinto grado dependiendo de la especie vegetal, de sus características y cantidad de metales que estén presentes en el suelo

Respecto al ingreso de metales pesados a la cadena alimentaria

afirma que las plantas se comportan como un mecanismo de transferencia de contaminantes del suelo a niveles superiores de la cadena trófica, además de ser barreras importantes para esta transferencia. Según los métodos tradicionales de remediación para suelos contaminados tienen un alto costo y podrían generar efectos irreversibles tanto en el suelo como en los organismos presentes.

Existen un conjunto de soluciones de mitigación para reducir la contaminación por metales pesados; se han desarrollado diversas estrategias biotecnológicas. Un ejemplo de ello es la combinación de plantas fitorremediadoras y microorganismos promotores del crecimiento, que se ha propuesto como una técnica innovadora en la remediación del suelo para recuperar elementos contaminantes como los metales pesados

El presente trabajo de investigación se enfoca establecer el contenido de metales pesados en granos de café provenientes en cinco zonas del Ecuador, regiones con alta producción de café y un potencial riesgo de contaminación por metales pesados debido a factores antropogénicos y naturales. Por lo cual se pretende proponer estrategias que garanticen la calidad del café ecuatoriano, así como proteger la salud pública mediante un análisis exhaustivo de los niveles de cadmio y plomo presentes en los granos, cascara y borra, junto con el diseño e implementación de una estrategia sostenible y rentable para mitigar estos contaminantes.

1.2. Planteamiento del problema

La producción de café es una actividad económica importante en Ecuador, debido a que generan ingresos significativos y sustenta a muchas familias en áreas rurales. No obstante, la presencia de metales pesados como el cadmio y el plomo en los granos de café puede afectar negativamente su calidad y seguridad, debido a que son sustancias tóxicas peligrosas para la salud humana. Estos metales pueden contaminar el medio ambiente debido a diversas actividades, como la contaminación del suelo, el uso de pesticidas y la polución atmosférica. El plomo (Pb) y el cadmio (Cd) se acumulan en el café y pueden ser transferidos a través de la cadena alimentaria, lo cual representa un importante desafío ambiental. De igual forma el (Pb) y el (Cd) representan un riesgo para la salud humana, estando presente en productos agrícolas, agua, alimentos y varias sustancias ambientales.

La contaminación por cadmio y plomo en los granos de café ecuatoriano es un problema que requiere mayor investigación. Debido a la falta de estudios detallados, se desconoce el alcance de esta problemática en las diferentes regiones del país. La biotecnología puede contribuir a solucionar este desafío al ofrecer métodos de biorremediación capaces de disminuir la concentración de estos metales pesados en el café.

1.3. Justificación

El café es un cultivo de gran importancia económica y social en Ecuador, reconocido a nivel internacional por su alta calidad. Sin embargo, la contaminación del suelo por metales pesados como el cadmio y el plomo representa un riesgo para la salud humana, al igual que la calidad del grano. Por ello, es necesario investigar el alcance de esta contaminación y desarrollar estrategias para reducirla. La biotecnología nos ofrece herramientas prometedoras para mitigar la bioacumulación de metales pesados en el café. Los resultados de esta investigación serán de gran utilidad para la creación de políticas públicas y estrategias de gestión enfocadas en preservar la salud pública, el medio ambiente y garantizar la calidad del café ecuatoriano. Este estudio ayudará al crecimiento sostenible del sector cafetalero del país al ofrecer una base científica sólida acerca de la magnitud de la contaminación y las posibles soluciones biotecnológicas. Asimismo, al elevar la calidad y asegurar la inocuidad del café, se consolidará la competitividad del producto ecuatoriano en el mercado global, generando beneficios tanto para los cultivadores locales como para la economía nacional en su conjunto.

1.4. Objetivos

1.4.1. *Objetivo General*

Cuantificar el contenido de cadmio y plomo en granos de café en cinco zonas del Ecuador, y desarrollar una estrategia de mitigación biotecnológica.

1.4.2. *Objetivos Específicos*

- Determinar la concentración de Cd y Pb en granos de café de cinco zonas del Ecuador mediante utilización de ICP-OES.
- Emplear técnicas bioestadísticas para identificar diferencias significativas en el contenido de metales pesados en granos de café provenientes de cinco zonas del Ecuador.
- Desarrollar una estrategia de mitigación para la reducción de la acumulación de cadmio y plomo en los granos de café mediante un fichaje crítico.

1.5. Hipótesis

H0: Todas las muestras de café a analizar cumplen con el nivel permitido de metales pesados, Cadmio y Plomo.

H1: Al menos una de las muestras de café a analizar cumple con el nivel permitido de metales pesados, Cadmio y Plomo.

Marco Teórico

2.1. El café

2.1.1. Origen y distribución

El café pertenece a la gran familia de las Rubiaceas, pertenecientes al género *Coffea* compuesta por 500 géneros y más de 6.000 especies, se originó en África la mayoría de origen tropical y con amplia distribución geográfica. De acuerdo con la región y clima de origen se desarrollaron diferentes tipos de cafetos, con características genéticas diversas: Algunas de las características a considerar incluyen la forma y tamaño de la planta, el color y tamaño del fruto, su resistencia a enfermedades, tolerancia a plagas, sabor de bebida resultante, adaptabilidad al entorno y productividad .

2.1.2. Historia del café en el Ecuador

De acuerdo con , no se puede saber con exactitud como los granos de café llegaron al Ecuador, sin embargo, algunos historiadores afirman que la llegada del café en el Ecuador data de 1800, donde se dice que los primeros cultivos fueron en la provincia de Manabí ya que en esta región del Ecuador las tierras son versátiles y ricas.

Cabe recalcar que gracias a la posición geográfica en la que se encuentra Ecuador lo hace perfecto para la producción en masa del café, por eso forma parte del ranking mundial de productores con mayor crecimiento en cafés especiales.

2.2. Taxonomía de café (*Coffea spp*)

El término “cafeto” se utiliza para identificar a las especies vegetales que pertenecen al género *Coffea*. La mayoría de estas plantas se componen de árboles y arbustos que se desarrollan principalmente en zonas tropicales que forman parte de la familia de las rubiáceas. Las especies más importantes dentro de este género son *Coffea arábica* y *Coffea canephora*, las cuales juntas representan el 95% de la producción mundial. Estas características taxonómicas son descritas en la **Tabla 1**.

Tabla 1. Clasificación taxonómica de *Coffea spp*

Reino	Plantae
Filo	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Asteridae
Orden	Rubiales
Familia	Rubiaceae
Género	Coffea
Especies	arábica, canephora, liberica, etc.

Nota. Tomado de Kuauka (2023) adaptado en

indica que, en Latinoamérica, las diversidades habituales de arábica provienen de semillas de unas pocas plantas del centro de origen en Etiopía. Estas diversidades son Típica y Bourbon, quienes han iniciado otras por moderado de transformaciones naturales o por cruzamientos espontáneos e inducidos, como el Caturra, Mundo Novo, Catuai, Pache, Villa Sarchí, Pacas, Maragogipe, etc.

De este centenar de especies las más producidas de manera comercial en el Ecuador son principalmente *Coffea arábica* integrada por diferentes variedades de arábica y *Coffea canephora* formada por diferentes grupos de robusta. Siendo la especie más importante la *Coffea arábica*, que representa aproximadamente entre el 80 y 90 % de la producción nacional

2.3. Variedades de café cultivadas en el Ecuador.

2.3.1. *Coffea arábica*

Linneo describió por primera vez el *Coffea arábica L.* en 1753 después de este hallazgo se realizaron más investigaciones en donde se descubrieron algunas otras variedades famosas tales como "Typica" y "Borbón", las cuales han dado origen a numerosas cepas y cultivares distintos, incluyendo Caturra (Brasil, Colombia), Mundo Novo (Brasil), Tico (América Central), San Ramón enano y Jamaican Blue Mountain. El cafeto Arábica común se caracteriza por ser un arbusto de gran tamaño con hojas ovaladas y verdes. A nivel genético, se distingue de otras especies de café por poseer cuatro series de cromosomas en lugar de dos

2.3.1.1. Características generales

Los frutos de *C.arábica* tienen forma ovalada y su período de maduración oscila entre los 7 y los 9 meses. Por lo general, los granos suelen contener dos semillas aplanadas; no obstante, cuando solo se desarrolla una sola semilla se le denomina grano caracol. La Tabla 2 muestra algunas de las principales características fenotípicas y genotípicas de la especie *C.arábica* L. Debido a su susceptibilidad a plagas y enfermedades, el café Arábica debe ser resistentes para lograr los objetivos principales de los programas de mejora genética. El café Arábica se produce en toda América Latina, así como en África Central y Oriental, además de la India. También existe una producción más limitada en Indonesia

Tabla 2. Principales características de la especie *C.arábica*

CARACTERISTICAS	CRITERIOS
Tipo de planta	Arbusto
Copa	Piramidal
Hojas	Elípticas, oblongas y a veces lanceoladas
Inflorescencias	2 a 3 cimmas por axila
Frutos	Drupas elipsoidales
Granos	10 – 17 mm
Fecundación	Autógama
Compatibilidad	Auto compatible
Estructura genética	Tetraploide
Numero de cromosomas	2n = 44
Contenido de cafeína (% de materia seca)	0.60 – 1.80

Nota. Tomado de . Adaptada de

2.3.2. Coffea canephora

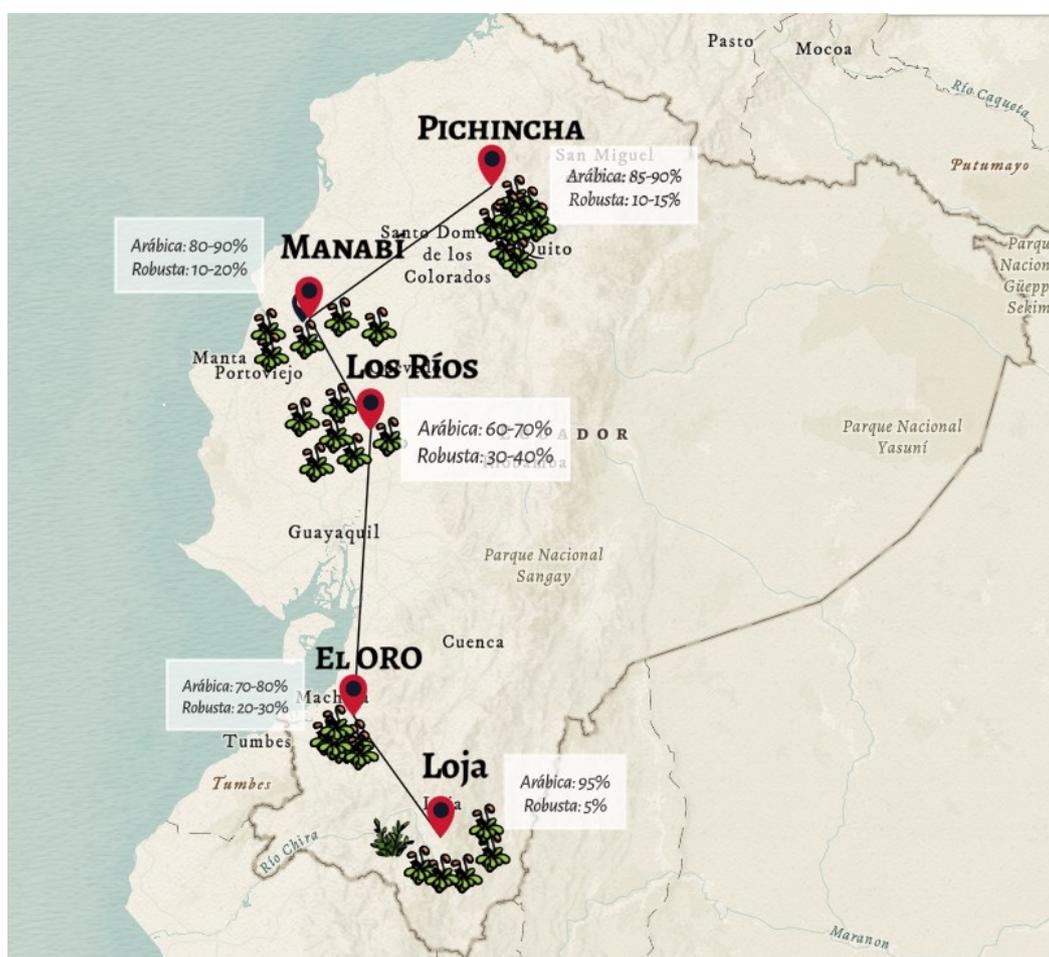
El término “Robusta” es en realidad el nombre de una variedad de esta especie ampliamente cultivada. Es un arbusto o pequeño árbol robusto que puede crecer hasta alcanzar 10 metros de altura y tiene una raíz poco profunda. El fruto es redondeado y tarda hasta 11 meses en madurar; la semilla es de forma alargada y más pequeña que la del *C.arábica*. El café Robusta se cultiva en África Central y Occidental, en todo el Sudeste de

Asia y un poco en Brasil, donde se le llama Conillón

2.3.3. Producción de café en Ecuador

En los últimos años, la producción de café ha disminuido debido a la falta de renovación de los cafetales. En Ecuador, 23 de las 24 provincias cultivan café. En 2022, el SIPA llevó a cabo un censo que destacó las principales ciudades productoras de café en grano, como se muestra en la **Figura 1**.

Figura 1. Mapa de las principales provincias productoras de café arábica y robusta en Ecuador.



Nota: Ilustración creada con Arcgis.com por los autores (2024)

2.4. Características principales de ambas variedades

El café arábica y robusta son las dos variedades más cultivadas a nivel mundial. A pesar de compartir el mismo género, estas especies presentan características distintivas en cuanto a sabor, contenido de cafeína, requerimientos agronómicos y resistencia a plagas y enfermedades. En la **Tabla 3** se mencionan algunas de estas características.

Tabla 3. Principales características de la especie C.arábica y C.canephora

Características	Especie <i>C.arábica</i>	Especie <i>C.robusta</i>
Principales cultivares	Typica, Borbón, Caturra	Robusta
Contenido de cafeína %	1-1.3 (débil)	2-3 (fuerte)
Propiedades degustativas	Buenas	Medianas
pH del grano	Neutro	Alto
Altura del cultivo	7 metros	22 metros
Granos	8-12 mm	5-8 mm
Fecundación	Autógama	Alógama
Color endospermo	Verde oscuro	Amarillo
Hojas	Oblongas, verde oscuro	Elípticas, verde oscuro
Inflorescencias	4 a 12 flores por axila	12 a 24 flores por axila
Frutos	Rojizo vino (maduro)	Rojizo claro (maduro)

Nota. Tomado de Alvarado & Rojas (2007). Adaptada en

2.5. Metales Pesados

Desde el punto de vista de , la contaminación de metales pesados se presenta tanto en aire, agua y suelos, lo cual afecta directamente a flora y fauna y, con ello, muchos de los alimentos que consumen las personas pueden llegar a estar contaminados con metales pesados ocasionando repercusiones en la salud ya que interrumpen las funciones del sistema nervioso, hígado y riñón; por su parte, en los animales, los metales pesados pueden causar pérdida del apetito, anemia, trastornos reproductivos, cáncer, entre otros, lo cual impacta en su cría y con ello afecta la seguridad alimentaria porque se reducen las producciones o se ofrecen alimentos contaminados que luego producen intoxicación en las personas.

El término de metales pesados comúnmente es usado en un sentido negativo, como metales dañinos que contaminan y deterioran el ambiente; no obstante, varios de estos metales son esenciales para plantas y animales. En este grupo encontramos elementos como el arsénico (As), cadmio (Cd), cromo (Cr), cobalto (Co), cobre (Cu), mercurio (Hg), plomo (Pb), manganeso (Mn), níquel (Ni), selenio (Se), y zinc (Zn)

2.5.1. Cadmio

Es de color blanco azulado, peso atómico 112, densidad relativa 8 g cm^{-3} , tiene ocho isótopos estables y once radioisótopos inestables de tipo artificial, naturalmente se encuentra en la greenockita (sulfuro de cadmio) único mineral de cadmio

La exposición de la población humana al cadmio (Cd) se presenta ya sea en aire, alimentos y agua y sus efectos en el organismo incluye riñones, hígado, pulmones, sistema cardiovascular, inmunológico y reproductor. Este metal pesado ha recibido especial atención debido a su relación con diversos trastornos, incluido el cáncer

, se refiere específicamente al cadmio (Cd) como un metal presente en el suelo, producto de la meteorización de las rocas y erupciones volcánicas, fosfatos marinos y por aportes de actividades humanas (explotación minera, la fundición y refinación de metales no ferrosos, la quema de combustibles fósiles, la aplicación de fertilizantes fosfatados y la quema de residuos industriales y urbanos, considerándolo un tóxico y riesgos a la salud humana, especialmente a los niños; mientras , lo presenta como un problema ambiental, al ser un metal altamente tóxico, con un alto poder de persistir en el suelo por periodos largos a causa de la mínima pérdida microbiana y química.

2.5.2. Plomo

Elemento con número atómico 82, peso atómico 207, color azulado, forma muchas sales, óxidos y compuestos organometálicos . Es considerado un contaminante ambiental altamente tóxico, su presencia en el ambiente se debe principalmente a las actividades antropogénicas como la industria, la minería y la fundición

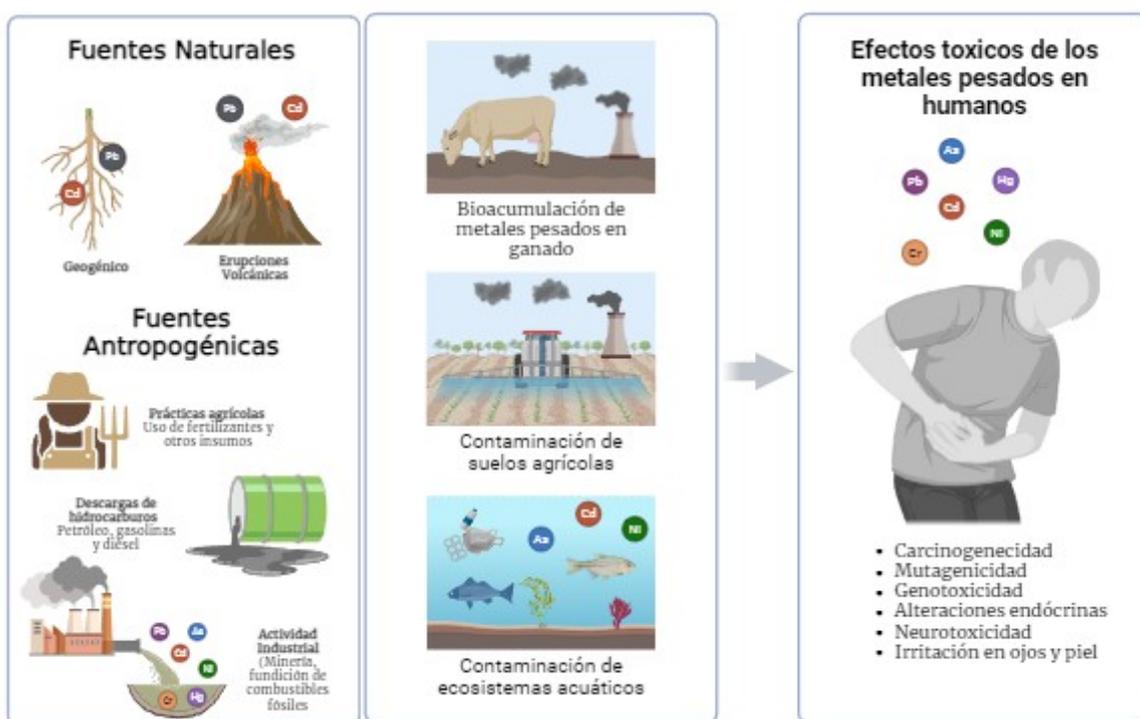
Según un estudio realizado por UNICEF, el plomo es uno de los metales pesados que más contribuye a la contaminación, ya que se acumula en la sangre humana. Este informe revela que, en 2018, al menos 800 millones de niños presentaban niveles elevados de plomo, lo que representa un alto grado de envenenamiento por la exposición a este metal, de igual forma tiende a afectar muchos sistemas de órganos en el cuerpo, especialmente el sistema nervioso y los riñones. El plomo se encuentra en grandes concentraciones en el agua, la pintura y hasta en la cerámica, lo cual es motivo de preocupación debido a que es una potente

neurotoxina que causa daños en el cerebro. Estudios indican que la exposición al plomo puede causar enfermedades respiratorias, neurológicas, digestivas, cardiovasculares y urinarias (

2.6. Fuentes de metales pesados

En Ecuador, a medida que se ha ido industrializando, también se ha ido contaminando tal punto de llegar a sobrepasar los límites permisibles, haciendo que contaminante como los metales pesados se bioacumulen y biomagnifiquen a lo largo de la cadena alimentaria

Figura 2. Principales fuentes de contaminación de metales pesados



N

ota: Ilustración creada con BioRender.com por los autores (2024)

Las fuentes de metales urbanas e industriales han sido identificadas como la causa principal de contaminación por metales tóxicos. Los orígenes de estos compuestos tóxicos son muy diversos. Las más obvias son las fuentes antropogénicas como las operaciones industriales que involucran fundiciones, fábricas, y de plantas mineras; por descarga de hidrocarburos e incluso por prácticas agrícolas. Otras en cambio son generadoras de fuentes naturales geogénicas y erupciones volcánicas, tal como se aprecia en la **Figura 2**

Los cafetos pueden absorber estos metales y almacenarlos en las raíces o transportarlos hacia los brotes y los granos . Los metales pesados varían en concentración en los diferentes tejidos vegetales, y normalmente los granos contienen menores concentraciones que las partes vegetativas de la planta Al llegar a ellos, estos metales forman vehículos de contaminación para los humanos, induciendo efectos adversos para la salud como funciones neurológicas y hepáticas severamente disminuidas, así como mutagénesis y carcinogénesis .

Por esta razón, es fundamental determinar la presencia de metales como cadmio (Cd) y plomo (Pb) en los granos de café. Para lograrlo, se utilizan técnicas avanzadas como la Espectroscopía de Emisión Atómica con Plasma de Acoplamiento Inductivo (ICP-OES), que permite el análisis de metales pesados en granos de café debido a su sensibilidad, precisión, capacidad multiplexada, especificidad, automatización y reconocimiento normativo en el campo de la seguridad alimentaria y la digestión por microondas, la cual asegura una preparación uniforme y eficiente de las muestras, descomponiendo la matriz del café y liberando los metales para su análisis .

2.6. Espectroscopía de Emisión Atómica con Plasma de Acoplamiento Inductivo (ICP-OES)

La Espectroscopía de Emisión Atómica con Plasma de Acoplamiento Inductivo (ICP-OES) es una técnica de análisis multielemental que puede identificar y cuantificar la mayoría de los elementos de la tabla periódica, excluyendo C, N, O, H, F, gases nobles, algunas tierras y otros elementos raros, en concentraciones que van desde porcentajes hasta partes por billón ($\mu\text{g/L}$). Las muestras, introducidas en forma líquida, se transforman en aerosol mediante un nebulizador y se excitan utilizando un plasma de argón. Las emisiones de los átomos excitados son captadas por un sistema óptico que utiliza un policromador combinado con detectores CCD, produciendo espectros de emisión para las líneas seleccionadas de cada elemento .

Por esta razón, es fundamental determinar la presencia de metales como cadmio (Cd) y plomo (Pb) en los granos de café. Para lograrlo, se utilizan técnicas avanzadas como La Espectroscopía de Emisión Atómica con Plasma de Acoplamiento Inductivo (ICP-OES) que permite el análisis de metales pesados en granos de café debido a su sensibilidad, precisión, capacidad multiplexada, especificidad, automatización y reconocimiento normativo en el campo de la seguridad alimentaria y la digestión por microondas asegura

una preparación uniforme y eficiente de las muestras, descomponiendo la matriz del café y liberando los metales para su análisis. Esta metodología es crucial para evaluar la seguridad y calidad del café, así como para garantizar que los niveles de metales tóxicos se mantengan dentro de los límites establecidos por las normativas internacionales y nacionales.

2.7. Normas INEN

2.7.1 Norma NTE INEN 285:2006 (Café verde en grano. Clasificación y requisitos)

De acuerdo con las normas INEN aplicadas al grano de café verde en grano su clasificación va de acuerdo con su especie, la cual se divide en *Coffea arábica* y *Coffea canephora*. Dentro de la norma también se puede detallar ciertos requisitos para estas dos especies de café. A continuación, se detallan estos requisitos (**Figura 3 y Figura 4**).

Figura 3. Descripción de los requisitos para *Coffea arábica* según la norma NTE INEN 285:2006

REQUISITO	GRADO 1	GRADO 2	GRADO 3	GRADO 4	MÉTODO DE ENSAYO
Altitud	De estricta altura: Arriba de 1 200 msnm. De altura: Entre 800 y 1 200 msnm.	De zona baja o alta	De zona baja o alta	De zona baja o alta	-----
Humedad	11% mínimo 12,5 % máximo	11% mínimo 12,5 % máximo	11% mínimo 12,5 % máximo	11% mínimo 12,5 % máximo	INEN 286
Estado fitosanitario	Libre de todo insecto vivo y/o muerto, hongos y contaminantes sensoriales perceptibles				INEN 288
Forma	Grano normal	Grano normal	Grano normal	Grano normal	INEN 288
Color	Verde gris azulado	Verde gris azulado	Verde gris azulado	Verde a verde pálido	INEN 288
Número de defectos	Máximo 10 defectos secundarios en una muestra de 300 gramos	Máximo 15 defectos secundarios y sin defectos primarios en una muestra de 300 gramos	Máximo 23 defectos secundarios y sin defectos primarios en una muestra de 300 gramos	Máximo 45 defectos en una muestra de 300 gramos	INEN 289
Tamaño del grano	Mínimo 95% arriba de la zaranda #15. Máximo 5% debajo de la zaranda #15.	Mínimo 85% arriba de la zaranda #18. 0% debajo de la zaranda #15.	Mínimo 95% arriba de la zaranda #15. Máximo 5% debajo de la zaranda #15.	Mínimo 95% arriba de la zaranda #15. Máximo 5% debajo de la zaranda #14.	INEN 290
Calidad de taza*	Acidez, aroma y sabor de medio alto a alto, mediano cuerpo y tueste homogéneo.	Taza limpia y libre de sabores extraños.	Taza limpia y libre de sabores extraños.	Taza limpia y libre de sabores extraños.	ISO 6668

Fuente:

Figura 4. Descripción de los requisitos para *Coffea canephora* según la norma NTE INEN 285:2006.

REQUISITO	GRADO 1	GRADO 2	GRADO 3	MÉTODO DE ENSAYO
Humedad	11% mínimo 13 % máximo	11% mínimo 13 % máximo	11% mínimo 13 % máximo	INEN 286
Estado fitosanitario	Libre de todo insecto vivo y/o muerto, hongos y contaminantes sensoriales perceptibles			INEN 288
Forma	Grano normal redondeado	Grano normal redondeado	Grano normal redondeado	INEN 288
Color	Verde a verde claro	Verde pálido a marrón	Verde pálido a marrón	INEN 288
Número de defectos	Máximo 10 defectos secundarios en una muestra de 300 gramos	Máximo 45 defectos en una muestra de 300 gramos	Máximo 150 defectos en una muestra de 300 gramos	INEN 289
Tamaño del grano	Mínimo 95% arriba de la zaranda # 17. Máximo 5% debajo de la zaranda # 17.	Mínimo 85% arriba de la zaranda # 17. 0% debajo de la zaranda # 15.	Mínimo 50% arriba de la zaranda # 15. 0% debajo de la zaranda #11.	INEN 290
Calidad de taza	Taza limpia y libre de sabores extraños.	Taza limpia y libre de sabores extraños.	Taza limpia y libre de sabores extraños.	ISO 6668

Fuente:

2.7.2 Norma NTE INEN 1123 (Café tostado en grano o molido)

De acuerdo con las normas INEN aplicadas al grano de café verde en grano u clasificación va de acuerdo con su granulometría, contenido de cafeína y grado de tueste. Como se observa en la **Tabla 4**.

Tabla 4. Clasificación del café tostado o molido dispuesto por la norma NTE INEN 1123.

Clasificación	
Granulometría	Grado de tueste
Extrafino	Claro
Fino	Moderadamente claro
Mediano	Medio claro
Grueso	Medio o medio oscuro
	Moderadamente oscuro
	Oscuro o muy oscuro

Fuente:

Dentro de la norma también se estipula ciertos requisitos fisicoquímicos y microbiológicos que estos productos deben cumplir. A continuación, se detallan los requisitos (**Figura 5 y 6**).

Figura 5. Descripción de parámetros fisicoquímicos dentro del café molido.

Requisito	Unidad	Valores		Método de ensayo
		Mínimo	Máximo	
Humedad	Fracción en masa (%)	-----	3,5	NTE INEN-ISO 11294 NTE INEN-ISO 11817
Contenido de cafeína: - Café descafeinado - Café descafeinado parcialmente - Café sin descafeinar	Fracción en masa en base seca (%)	----- 0,1 1,0	0,1 < 1,0 -----	NTE INEN-ISO 20481
Sólidos solubles del extracto acuoso	Fracción en masa (%)	20,0	40,0	AOAC 973.21
Cenizas totales	Fracción en masa (%)	-----	5,0	NTE INEN 2679
Grado de tueste: - Muy oscuro - Oscuro - Moderadamente oscuro - Medio oscuro - Medio - Medio claro - Moderadamente claro - Claro	L*	13,04 14,43 15,83 17,22 18,66 21,44 29,32 > 31,09	14,42 15,82 17,21 18,65 21,43 29,31 31,08 ----	NTC 2442

Fuente:

Figura 6. Descripción de requisitos microbiológicos en café tostado grano o molido

Microorganismo	Unidad	Caso	n	c	m	M	Método de ensayo
Mohos y levaduras	UFC/g*	7 ^a	5	2	100	200	NTE INEN 1529-10
<p>* UFC/g: Unidades formadoras de colonia</p> <p>^a Caso 7: Peligro moderado de difusión limitada</p> <p>donde</p> <p>n es el número de muestras a analizar, m es el límite de aceptación, M es el límite superado el cual se rechaza, c es el número de muestras admisibles con resultados entre m y M.</p>							

Fuente:

2.7.3 Norma NTE INEN 1 122:2013 (Café soluble)

Según la norma la principal característica que debe tener este café es que se debe disolver completamente en agua caliente, también deben cumplir ciertos requisitos físicos químicos que se detallan a continuación en la **Figura 7**.

Figura 7. Descripción de requisitos físicos químicos que debe tener un café soluble

REQUISITOS	UNIDAD	CAFÉ SOLUBLE						CAFÉ SOLUBLE DESCAFEINADO						MÉTODO DE ENSAYO
		Atomizado		Aglomerado		Liofilizado		Atomizado		Aglomerado		Liofilizado		
		MIN	MAX	MIN	MAX	MIN	MAX	MIN	MAX	MIN	MAX	MIN	MAX	
Humedad	%	--	3,8	--	4,0	--	3,5	--	3,8	--	4,0	--	3,5	NTE INEN 1114
Cenizas totales	%	--	14	--	14	--	14	--	14	--	14	--	14	NTE INEN 1117
Cafeína en base seca	%	2,0	--	2,0	--	2,0	--	--	0,3	--	0,3	--	0,3	NTE INEN 1112 NTE INEN 1115
pH		4,7	5,5	4,7	5,5	4,7	5,5	4,7	5,5	4,7	5,5	4,7	5,5	Punto 5.2.2

Fuente:

Un punto sumamente importante que toca esta norma es que en ella especifica los límites máximos que puede tener un café por contaminantes, dentro de ella habla sobre metales pesados tales como: cobre, plomo, zinc, arsénico, estaño, cadmio y mercurio. A continuación, en la **Figura 8** se muestran los límites máximos permisibles de metales pesados en café soluble siguiendo la norma ya mencionada.

Figura 8. Descripción de los límites permitidos de metal pesado en café soluble

Metal	Límite máximo mg/kg
Cobre (Cu)	20
Plomo (Pb)	1
Zinc (Zn)	50
Arsénico (As)	0,5
Estaño (Sn)	20
Cadmio (Cd)	0,1
Mercurio (Hg)	0,1

Fuente:

2.8. Biorremediación

2.8.1 Definición de Biorremediación

Según la biorremediación es una técnica biotecnológica usada para mitigar el impacto que puede causar la contaminación de suelos y agua, en estos procesos se utilizan organismos vivos tales como bacterias, hongos y plantas que ayuden a limpiar zonas contaminadas, de igual forma se menciona que la UNESCO reporto que solo el 40 % de aguas residuales sumamente contaminadas se tratan de forma segura, el resto de las aguas residuales se mandan a mares y océanos afectando a la vida de los ecosistemas marinos. Estos factores hacen que encontrar una solución usando biorremediación sea más urgente de lo parece.

2.8.2 Tipos de Biorremediación

Los tipos de biorremediación se clasificarán según el organismo que se use y el lugar al que se aplique. A continuación, en la **Tabla 5** se detallan tres tipos de biorremediación.

Tabla 5. Descripción de los tipos de biorremediación.

Tipos de Biorremediación	
Microbiana	Se utilizan microorganismos como bacterias y hongos, transformando los contaminantes en formas menos tóxicas. Consiste en la utilización de plantas que ayuden a degradar contaminantes del suelo, agua y aire.
Fitorremediación	Su mecanismo consiste absorber estos contaminantes mediante sus raíces, acumularlos en sus tejidos y después degradarlos.
Asistida por enzimas	Se usan enzimas extraídas de microorganismo para degradar contaminantes.

Nota: Información tomada de

2.8.3 Técnicas de Biorremediación

Las técnicas más utilizadas para los procesos de biorremediación pueden dividirse en 2 tipos aerobias (necesitan la presencia de oxígeno) y de tipos anaeróbicas (pueden darse en

ausencia de oxígeno), cabe recalcar que cualquiera de estas técnicas puede ser aplicadas *in situ* (directo en el lugar de contaminación) o *ex situ* (contaminación tratada en laboratorio). A continuación, se detallan en la **Tabla 6** algunas de las técnicas más usadas dentro de la biorremediación:

Tabla 6. Descripción de las técnicas más utilizadas dentro de la biorremediación.

Técnicas de Biorremediación	
Bioventing	En el tratamiento se inyecta aire en suelos contaminados para aumentar la actividad de microorganismos aerobios.
Atenuación natural	Se basa en la capacidad que tiene el medio ambiente para degradar contaminantes en forma natural. Cabe recalcar que esta técnica tiene que ser monitoreada constantemente para asegurar que el proceso funcione.
Bioestimulación	Se adiciona nutrientes en el suelo para estimular la actividad de microorganismos con capacidad de degradar agentes contaminantes.
Biopilas	Se realizan pilas de suelo contaminado mezclado con material orgánico y se monitorea condiciones para asegurar que los microorganismos puedan crecer.

Nota: Información tomada de

2.8.4. Microorganismos con capacidad biorremediadora de metales pesados cadmio y plomo

De acuerdo con existen algunos microorganismos que se pueden utilizar para disminuir la contaminación por metales pesados algunos de ellos pueden ser del género *Penicillium*, *Apergillus*, *Mucor* y *Rhodotorula*.

De acuerdo con este estudio realizado se demuestra que los hongos son mucho más efectivos para reducir la contaminación causada por plomo, entre ellos los que más se destacan fueron: *Fusarium temperatum* CTLM05 seguido de *F. oxysporum* CTLM17 y *F. oxysporum* CTLM18. De la misma manera que la que se evaluó los hongos se destacan algunas bacterias removedores de plomo tales como: *B. subtilis* SSR3 y *Serratia sp.* SSR2.

Figura 9. Resultados de evaluación de hongos con capacidades biorremediadora para metales pesados

Cepas	1 mM				0.1 mM		
	Pb ⁺²	Cu ⁺²	Zn ⁺²	Ni ⁺²	Ag ⁺¹	Cr ⁺⁶	Cd ⁺²
<i>F. oxysporum</i> CTLM1	116 ± 5	35 ± 6	69 ± 3	69 ± 3	69 ± 3	96 ± 3	87 ± 3
<i>F. oxysporum</i> CTLM2	120 ± 5	36 ± 8	87 ± 5	69 ± 3	95 ± 5	134 ± 8	110 ± 3
<i>F. oxysporum</i> CTLM3	117 ± 4	55 ± 6	82 ± 10	81 ± 4	125 ± 4	140 ± 6	112 ± 4
<i>P. digitatum</i> CTLM4	76 ± 4	–	28 ± 3	59 ± 9	44 ± 7	78 ± 6	–
<i>F. temperatum</i> CTLM5	149 ± 3	47 ± 3	88 ± 3	53 ± 3	76 ± 6	101 ± 11	29 ± 0
<i>F. ramigenum</i> CTLM6	124 ± 4	6 ± 0	78 ± 5	41 ± 0	66 ± 4	116 ± 5	31 ± 5
<i>F. temperatum</i> CTLM7	123 ± 9	47 ± 5	92 ± 7	54 ± 2	69 ± 4	117 ± 6	–
<i>F. temperatum</i> CTLM8	115 ± 8	40 ± 5	90 ± 8	63 ± 2	77 ± 0	134 ± 6	19 ± 4
<i>F. fujikuroi</i> CTLM9	110 ± 2	11 ± 0	47 ± 6	50 ± 7	65 ± 4	101 ± 4	–
<i>F. nygamai</i> CTLM10	109 ± 4	28 ± 3	70 ± 4	40 ± 4	77 ± 4	131 ± 7	–
<i>P. vanluykii</i> CTLM11	85 ± 4	–	65 ± 9	61 ± 7	61 ± 0	217 ± 20	–
<i>F. oxysporum</i> CTLM12	114 ± 4	43 ± 7	86 ± 4	68 ± 5	123 ± 5	153 ± 5	51 ± 5
<i>F. fujikuroi</i> CTLM13	83 ± 6	20 ± 4	80 ± 5	64 ± 2	70 ± 3	102 ± 0	10 ± 3
<i>P. rubens</i> CTLM14	74 ± 5	9 ± 4	47 ± 7	84 ± 8	48 ± 4	73 ± 7	34 ± 7
<i>F. fujikuroi</i> CTLM15	119 ± 4	25 ± 4	89 ± 7	62 ± 2	75 ± 4	115 ± 2	–
<i>F. nygamai</i> CTLM16	125 ± 4	45 ± 3	90 ± 3	48 ± 2	70 ± 3	125 ± 0	–
<i>F. oxysporum</i> CTLM17	128 ± 9	28 ± 8	80 ± 4	55 ± 5	84 ± 3	108 ± 6	33 ± 8
<i>F. oxysporum</i> CTLM18	131 ± 6	46 ± 6	85 ± 9	88 ± 6	117 ± 8	161 ± 10	110 ± 3
<i>A. versicolor</i> CTLM19	81 ± 7	–	41 ± 6	56 ± 9	–	–	–
<i>M. circinelloides</i> CTLM20	107 ± 2	–	82 ± 5	21 ± 2	53 ± 3	106 ± 1	97 ± 2
<i>F. oxysporum</i> CTLM21	99 ± 9	27 ± 3	73 ± 3	50 ± 3	64 ± 3	90 ± 2	24 ± 4
<i>F. inflexum</i> CTLM22	117 ± 6	65 ± 4	87 ± 8	77 ± 7	104 ± 0	142 ± 0	98 ± 5
<i>R. dairenensis</i> CTLM24*	–	100 ± 10	96 ± 8	54 ± 8	12 ± 3	70 ± 9	11 ± 2

Fuente: Tabla de resultados recopilada de

Figura 10. Resultados de evaluación de bacterias con capacidades biorremediadora para metales pesados

Cepas	1 mM				0.1 mM		
	Pb ⁺²	Cu ⁺²	Zn ⁺²	Ni ⁺²	Ag ⁺¹	Cr ⁺⁶	Cd ⁺²
<i>B. cereus</i> SSR1	9 ± 4	84 ± 7	80 ± 5	78 ± 7	103 ± 10	115 ± 9	98 ± 1
<i>Serratia</i> sp. SSR2	–	–	55 ± 8	77 ± 1	–	75 ± 3	114 ± 10
<i>B. subtilis</i> SSR3	53 ± 2	8 ± 2	59 ± 17	109 ± 5	–	20 ± 1	87 ± 2
<i>S. epidermidis</i> SSR4	26 ± 5	5 ± 1	–	5 ± 1	5 ± 1	29 ± 4	–
<i>Serratia</i> sp. SSR5	50 ± 1	–	68 ± 4	27 ± 1	–	61 ± 4	102 ± 1
<i>B. licheniformis</i> SSR6	23 ± 1	19 ± 0	92 ± 25	76 ± 8	–	19 ± 1	102 ± 7
<i>Serratia</i> sp. SSR7	26 ± 1	–	64 ± 1	28 ± 1	–	95 ± 1	109 ± 11
<i>B. licheniformis</i> SSR8	29 ± 4	6 ± 1	6 ± 1	10 ± 1	8 ± 1	12 ± 2	85 ± 1
<i>S. epidermidis</i> SSR10	38 ± 4	5 ± 1	69 ± 1	5 ± 1	5 ± 0	26 ± 1	105 ± 11
<i>Serratia</i> sp. SSR11	33 ± 0	–	67 ± 9	18 ± 1	–	65 ± 4	86 ± 12
<i>Enterobacter</i> sp. SSR12	34 ± 5	–	78 ± 11	17 ± 2	6 ± 1	61 ± 7	93 ± 1
<i>Serratia</i> sp. SSR13	5 ± 0	20 ± 1	90 ± 2	63 ± 9	143 ± 9	–	112 ± 3
<i>B. cereus</i> SSR14	36 ± 3	2 ± 0	72 ± 3	27 ± 3	–	59 ± 1	90 ± 1
<i>Serratia</i> sp. SSR15	16 ± 4	98 ± 11	92 ± 4	166 ± 3	108 ± 10	78 ± 4	116 ± 3
<i>B. subtilis</i> SSR16	21 ± 4	39 ± 7	64 ± 1	70 ± 9	–	37 ± 7	88 ± 3
<i>B. subtilis</i> SSR17	5 ± 1	–	80 ± 5	56 ± 6	50 ± 4	–	78 ± 8
<i>B. licheniformis</i> SSR18	13 ± 1	10 ± 2	312 ± 2	196 ± 20	6 ± 3	56 ± 1	253 ± 8
<i>B. subtilis</i> SSR19	11 ± 2	12 ± 3	54 ± 11	100 ± 10	–	70 ± 8	96 ± 8

Fuente: Tabla de resultados recopilada de

Materiales y Métodos

3.1. Diseño de la investigación

Investigación de nivel básico, descriptiva y experimental.

3.2. Población, muestra y muestreo

3.2.1. Población

La población de estudio son los granos de café de las zonas cafeteras dentro del Ecuador, pertenecientes a las provincias de Manabí, Los Ríos, El Oro, Loja y Pichincha, se ha considerado trabajar con estas cinco provincias puesto que son las que concentran la mayor cantidad de productores de café de la especie *C.arábica*, como se observa en la **Tabla 7**.

Tabla 7. Producción de café arábico en el Ecuador año 2023

Región	Rendimiento por provincia	Superficie cultivada (Ha)	Porcentaje de producción nacional a la venta
Manabí	0.56 t/ha	405.3	96.35%
Los Ríos	0.22 t/ha	48.30	57.49%
El Oro	0.43 t/ha	165.7	79.76%
Loja	0.73 t/ha	349.6	93.54%
Pichincha	0.57 t/ha	90.37	100%

Fuente:

3.2.2. Muestra

La investigación incluyó 5 muestras de café arábico, las cuales fueron adquiridas de distintas zonas cafeteras pertenecientes a cinco principales provincias productoras de café del Ecuador: Manabí, Los Ríos, El Oro, Loja y Pichincha. Debido a razones de ubicación geográfica con relación al acceso a los cafetales, el muestreo se realizó entre las tres primeras semanas del mes de junio del presente año, tanto para identificación de la zona a muestrear como para la toma de la muestra. Los frutos de café recolectados fueron aquellos que estuvieran maduros y listos para su coleta.

Figura 11. Mapa del Ecuador con las coordenadas de las provincias muestreadas



Nota: Ilustración creada en Google earth, por autores (2024)

En la **Figura 11** y **Tabla 8** presenta las coordenadas de las cinco zonas a muestrear dado a su productiva de cafetales a nivel nacional. Se realizó un muestreo aleatorio simple para la designación de los puntos de recolecta de las muestras. De cada cafetal se recolectó 1kg de muestra de cerezos maduros, siguiendo un patrón en forma de Z a lo largo de 1ha, de manera que se cosecho 250g de cada cafeto, se resalta también que los mismos tenían una edad de 10 a 15 años. Se empleó este método para asegurar una colecta uniforme evitando el daño a los cafetales.

Para el traslado de la muestra al laboratorio de la Universidad Politécnica Salesiana Sede Guayaquil (UPS) - Campus María Auxiliadora, se utilizó coolers que en su interior contenían geles enfriantes permitiendo que el fruto se conserve fresco y no se fermente, para

su preservación dentro del laboratorio se introdujeron las muestras a un congelador a 4°C con la finalidad de conservarlas sin que pierdan sus propiedades organolépticas, como se observa en la **Figura 12**.

Tabla 8. *Coordenadas de muestreo de los granos de café*

Numero de Muestra	Nombre de la especie de café	Provincia	Coordenadas
1	<i>Coffea arábica</i>	Pichincha	0°05'32"N 78°45'14"W
2	<i>Coffea arábica</i>	Manabí	1°12'37"S 80°20'37"W
3	<i>Coffea arábica</i>	Loja	4°17'55"S 79°23'51"W
4	<i>Coffea arábica</i>	Los Ríos	1°33'27"S 79°28'50"W
5	<i>Coffea arábica</i>	El Oro	3°39'42.8"S 79°35'50.1"W

Nota. Descripción de lugares de obtención de muestra. S sur, W este y N norte

Figura 12. *Protocolo para la obtención de las muestras de café arábico*



Fuente: Ilustración creada con BioRender.com, por los autores (2024)

3.3. Materiales

3.3.1. Equipos

Las muestras de café fueron secadas en una estufa universal marca Memmert™ UN30 con convección natural y con SingleDISPLAY.

La digestión de las muestras se realizó en un digestor por microondas marca CEN modelo Mars 6™, con una potencia de 1800 W. Este equipo cuenta con sensores integrados, reconoce el tipo de muestra y cuenta los vasos automáticamente. Reduce el tiempo de preparación de la muestra en más de un 50 – 75% .

Para la determinación de la concentración de los metales pesados se llevó a cabo empleando Espectrometría de Emisión Atómica con Plasma de Acoplamiento Inductivo (ICP-OES) serie iCAP™ 7000 Plus de Thermo Scientific™. El equipo consta de una bomba peristáltica de 12 rodillos y 3 canales, conexión eléctrica de 220 v y para un gas argón, una válvula Sprint que se combina con un automuestreador automático para máximo rendimiento. Longitud de onda entre 166 y 847 nm .

3.3.2. Reactivos

Se emplearon estándares unielementales de Pb, Cd, Cr, Zn, Cu y Ni como fortificadores para cada una de las muestras.

Los reactivos utilizados en el proceso de digestión total de las muestras fueron: ácido nítrico (HNO₃) al 70% ^{p/p} y agua tipo I.

3.4. Procedimiento y técnica de recolección de datos

3.4.1. Procedimiento

3.4.1.1 *Secado, molienda y tamizaje de los granos y cáscara del café*

Para el secado, molienda y tamizaje del café la metodología se basó en un artículo llamado “La realidad ecuatoriana en la producción de café” , publicado por la revista Recimundo en el 2018 en donde se realizó el siguiente protocolo descrito en la **Tabla 9** y **Figura 13** respectivamente.

Tabla 9. Descripción del proceso de secado, molienda y tamizaje de granos y cáscara de café

Proceso	Cáscara y Grano
Despulpado	Despulsar todos los granos de café distribuir la cáscara y grano a lo largo de una superficie.
Secado	Colocar las muestras ya distribuidas en una estufa a 60°C por 7 horas, es importante revisar periódicamente la temperatura para que el secado sea uniforme.
Tostado	En una olla colocar los granos de café a una temperatura de 80°C e ir revolviendo hasta que estos se vean de color marrón oscuro.
Molienda	Colocar las muestras en un molino eléctrico de café, asegurándose que las partículas de café no sean tan pequeñas, evitando que se conviertan en polvo.
Tamizaje	Tamizar las muestras con un tamiz con malla N ° 35 (500 µm). Se coloca las muestras ya molidas y se agita suavemente para separar las partículas. (Realizar este proceso varias veces si es necesario).
Recolección	Recolectar 30g de cada muestra y almacenar en fundas ziploc correctamente rotuladas.

Nota: Elaborado por autores (2024)

3.4.1.2. Obtención de la borra del café

Para la obtención de la muestra de la borra, se recolecto 30g de café ya molido y tamizado, se lo coloco dentro de un colador con gasa y se agrega 450ml de agua hervida. Se dejo reposar por 12 horas a temperatura ambiente. Pasado el tiempo estimado se observa la formación de un residuo con textura semisólida esta se almacena en fundas ziploc correctamente rotuladas para su posterior análisis.

Figura 13. Proceso de secado, molienda y tamizaje de granos y cáscara de café



Nota: Ilustración creada con BioRender.com, por los autores (2024)

3.4.1.3. Control de calidad de las muestras

Para llevar un buen control de calidad sobre las muestras se utilizó blancos y cada una de las muestras fueron procesadas por duplicado, de igual forma como se mencionó antes se utilizó soluciones estándar tanto para cadmio como para plomo.

3.4.1.4. Preparación de soluciones estándar

De acuerdo con las soluciones estándar son importantes ya que con ellas se va a poder determinar la concentración de la sustancia desconocida a precisión.

Por lo tanto, se realizó un enriquecimiento en donde se realizó una solución con 500 µl de cada estándar de metal (Pb, Cd, Cr, Ni, Cu, Zn) y se aforó a 50 ml con HNO₃ al 2%, posterior a eso se agregó 100 µl a cada muestra de café y se realizó digesto nuevamente.

3.5. Técnicas

3.5.1. Digestión de las muestras de café (grano, cascara y borra)

De acuerdo con [] es una técnica la cual se utiliza para disolver matrices de muestras solidas en un líquido acuoso, se usa ácidos concentrados dentro de varios recipientes cerrado y se los somete a irradiación de microondas, aumentando no solo la velocidad de descomposición térmica si no también la solubilidad de metales.

Para la digestión se pesó 0.5g de cada muestra (cascara, grano y borra), y se la traslado a un tubo de teflón al cual se le adiciono 10ml de ácido nítrico (HNO_3) al 70%, cabe recalcar que estos compuestos químicos solo se deben trabajar dentro de una Sorbona ya que pueden ser altamente tóxicos.

Para la configuración del digestor se utilizó el siguiente protocolo:

Tabla 10. Programa de calentamiento

Etapa	Temperatura (°C)	Subida (mm)	Mantener (mm)	Presión (psi)	Potencia (W)	Agitación
1	200	20:00	15:00	800	900-1050	Apagado

Fuente:

Una vez digestadas las muestras se pasaron a jeringas y se filtraron con papel filtro de 45mm, posteriormente se aforaron con HNO_3 al 2% en matraces aforados de 50ml, se reservaron las muestras en frascos ámbar en refrigeración para ser colocados dentro del equipo.

3.5.2.2. Cuantificación de cadmio y plomo mediante ICP-OES

Para la cuantificación de cadmio y plomo en las muestras de café se utilizó el método de Espectrometría de Emisión Atómica con Plasma de Acoplamiento Inductivo (ICP-OES), esta técnica consiste en realizar un análisis multielemental el cual es capaz de detectar y cuantificar la mayoría de los elementos que se encuentran dentro de la tabla periódica, las concentraciones que identifican van desde el porcentaje hasta los ppb (partes por billón). Las muestras que se analizan dentro de este equipo deben ser netamente líquidas para posteriormente ser transformadas mediante un nebulizador y excitadas mediante un plasma de argón.

Dentro del espectrómetro las emisiones que producen los átomos excitados se recogen de forma óptica, obteniendo espectros de emisión para las líneas seleccionadas en cada elemento. Para la cuantificación de estos metales, la metodología fue respaldada por

3.6. Análisis de datos

Para el análisis y procesamiento de datos se realizó un Diseño Experimental Completamente al Azar (DCA) que de acuerdo con [1], este diseño se caracteriza en que todas las posibles fuentes de variación estén controladas y que solo exista un efecto del factor estudio.

Se seleccionó este diseño ya que dentro de nuestras variables todas son controladas mientras que lo único que influye sería el factor estudio que en este caso sería los niveles de cadmio y plomo de las cinco zonas del Ecuador. A continuación, en la **Figura 15** se muestran las fórmulas que se utilizan dentro de este diseño.

$$\sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^n (Y_{ij} - \bar{Y} \dots)^2 = n \sum_{i=1}^a (\bar{Y}_i - \bar{Y} \dots)^2 + \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^n (Y_{ij} - \bar{Y}_i)^2$$

A
B
C

Figura 14. Fórmulas de cálculo utilizadas para el Diseño Completamente al Azar,
Tomado de

Donde:

A = Suma de cuadrados TOTAL

B = Cuadrados de tratamiento

C = Cuadrados el error

Para el análisis estadístico del factor de estudio se realizó un ANOVA multifactorial el cual es un método estadístico para examinar las diferencias en las medidas de tres o más grupos. Cabe recalcar que este análisis solo puede utilizarse cuando se requiera investigar un solo factor y una sola variable.

Tabla 9. Descripción del diseño experimental

Diseño Experimental	
Factor	Niveles
Localidad	Costa y Sierra
Componentes de la muestra	Cascara, grano y borra
Variables de respuesta	Fórmula estadística
Niveles de Cadmio y Plomo	ANOVA multifactorial
DCA representado estadísticamente	$DCA = \gamma + \mu + \delta + \epsilon$

Nota.: Elaborado por los autores (2024)

Los resultados del ANOVA multifactorial mostrarán valores p para cada efecto a analizar si este valor está menor a 0.05 indicarán que el efecto analizado es estadísticamente significativo, es importante señalar que se haga en el software SPSS.

3.7. Desarrollo de fichaje crítico

Se realizará un fichaje crítico en donde se va a proponer una solución para reducir la bioacumulación de metales pesados. Para ello, se revisará varias publicaciones bibliográficas ya sean nacionales o internacionales utilizando diferentes plataformas de búsqueda tales como: Scopus, NCBI (National Center for Biotechnology Information), Open Science Directory, DOAJ (Directory of Open Access Journals), Dialnet Plus, Google Académicos, etc.

Los parámetros de búsqueda se van a centrar en palabras claves como: Biorremediación, Café, metales pesados, bioacumulación, Ecuador, suelos, Plomo y Cadmio. Como se mencionó anteriormente algunos artículos también serán internacionales, por lo tanto, dentro de los parámetros de lenguaje se realizarán búsquedas en español como en inglés.

Resultados y Discusiones

4.1 Determinar la concentración de Cd y Pb en granos de café de cinco zonas del Ecuador mediante utilización de ICP-OES.

4.1.1 Concentración de Plomo

El análisis en muestras de cascara, grano y borra de café en cinco zonas del Ecuador mediante ICP-OES, revelo una diferencia significativa de plomo (2.788 mg/Kg) en la cascara proveniente de la provincia de El Oro, superando el límite permisible de 1 mg/kg ya establecido por Norma INEN 1122. Si bien el resto de las provincias cumplieron con el límite ya establecido en sus muestras, como se observa en la **Tabla 10** se detectaron excepciones como es en el caso del grano de Pichincha y la cascara de los Ríos en las cuales se detectó 1.11mg/Kg.

Provincias	Grano 1 mg/Kg	Grano 2 mg/Kg	Cascara 1 mg/Kg	Cascara 2 mg/Kg	Borra 1 mg/Kg	Borra 2 mg/Kg
Pichincha	1,11	0,35	0,480	0,784	0,555	0,614
Loja	0,344	0,648	0,363	0,446	0,438	0,576
Los Ríos	0,7	0,849	1,111	0,909	0,714	0,517
El Oro	0,660	0,370	2,788	1,851	0,471	0,363
Manabí	0	0,363	0,5	0,614	0,714	0,377

Tabla 10. Concentración real con factor de dilución para cada muestra de café, elaborado por autores (2024)

Tal como se dijo antes, en la **Figura 15** los resultados del análisis de las muestras de café mostraron una preocupante concentración en la cascara de la provincia de El Oro superando los estándares establecidos por la Norma Técnica del Ecuador INEN 1122. Esta bioacumulación de plomo según se atribuye a una estructura porosa en la cáscara del café, facilitando la absorción de contaminantes del suelo y del agua.

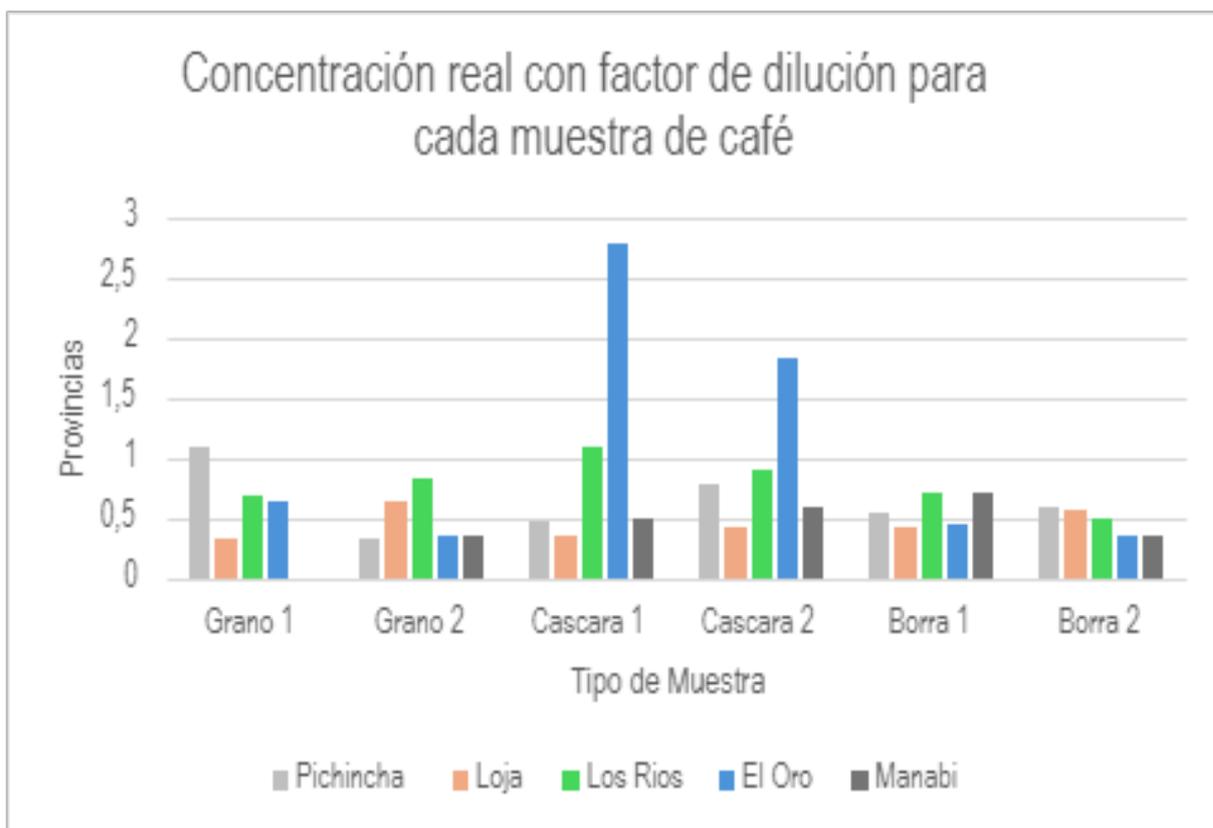


Figura 15. Concentración de muestra de café mg/Kg, elaborado por autores (2024)

La Provincia de El Oro es reconocida por su intensa actividad minera, como una de las ocho provincias con más minería en el Ecuador, se ve especialmente afectada por la contaminación de suelos debido a prácticas de minería ilegal. La realidad que vive esta provincia podría explicar los elevados niveles de plomos encontrados en esta región.

Sin embargo esta problemática se puede transformar en una oportunidad de acuerdo con lo que en su artículo se ha demostrado el potencial de la cascara de café como absorbente de metales pesados, ya que esta cuenta con una composición rica en lignina y celulosa permitiendo un excelente intercambio iónico con los metales, estos residuos pueden remover hasta el 97,10% de plomo presentes en el suelo, transformándose en una alternativa económica y sostenible para la biorremediación de estos suelos.

4.1.2 Concentración Cadmio

En el análisis de muestras de café de cinco provincias, empleando la técnica ICP-OES para la determinación de Cadmio, se pudo evidenciar que ninguna muestra sobrepaso el límite de detección. Estos resultados señalan que las 15 muestras analizadas cumplen con los estándares de calidad fijados en la norma INEN1122, la cual señala que el límite máximo permisible de cadmio en café sea de 0.1mg/Kg.

Aunque la contaminación por cadmio es común en suelos agrícolas ecuatorianos y la presencia de este contaminante podría asociarse a prácticas agrícolas inadecuadas, como es el uso de fertilizantes contaminados o su vez el riego de plantaciones con agua contaminada resultados de este análisis sugieren la presencia de una bioacumulación limitada de este tipo de metal en los granos de café.

Algunos estudios previos realizados han demostrado que las plantas de café pueden ser grandes acumuladoras de cadmio en sus raíces y hojas, sin embargo, cuando se habla de su translocación a los granos este porcentaje de cadmio resulta ser bajo ya que dentro del grano del café existe una gran variedad de ácidos orgánicos que se hace que se puedan formar quelatos con el cadmio, los quelatos se caracterizan por ser compuestos grandes y menos biodisponibles haciendo que la absorción del grano sea complicada .

Un estudio reveló que los granos frescos de café contenían alrededor de 0.37mg/Kg de cadmio, mientras que el molido y la bebida de café sus niveles eran indetectables. Esto da a entender que la presencia de cadmio en suelo no afecta significativamente a la planta de café, ni mucho menos a la calidad del producto final

La influencia de las prácticas de cultivo y el tipo de suelo actuara en la contaminación del metal. En un estudio comparativo entre el sistema de producción convencional y el orgánico en plantaciones de café, se observa que la concentración de cadmio era mayor en suelo que en los tejidos de las plantas, reforzando la idea de que el fruto de los cafetos absorbe de manera limitada este metal pesado .

4.2. Emplear técnicas bioestadísticas para identificar diferencias significativas en el contenido de metales pesados en granos de café provenientes de cinco zonas del Ecuador.

La evaluación del contenido de metales pesados de los granos de café de diferentes regiones geográficas es fundamental para garantizar la calidad e inocuidad del producto. La aplicación de técnicas bioestadísticas como se observa en la **Tabla 13**, facilitando la identificación de diferencias significativas en los niveles de metales pesados entre diferentes áreas de evaluación. En este estudio el objetivo es comparar el contenido de metales pesados en los granos de café de cinco regiones diferentes del Ecuador.

Tabla 11. Concentración de plomo en granos de café, cascara de café y borra del café

Numero de muestra	Provincia	Tipo de muestra	Replica 1 mg/Kg Pb	Replica 2 mg/Kg Pb	Promedio mg/Kg Pb
1	Pichincha	Grano	0,012	0,004	0.062
2	Pichincha	Cascara	0,005	0,008	0.0065
3	Pichincha	Borra	0,006	0,007	0.0065
4	Loja	Grano	0,004	0,007	0.0055
5	Loja	Cascara	0,004	0,004	0.004
6	Loja	Borra	0,005	0,006	0.0055
7	Los Ríos	Grano	0,007	0,009	0.008
8	Los Ríos	Cascara	0,012	0,01	0.011
9	Los Ríos	Borra	0,008	0,006	0.007
10	El Oro	Grano	0,007	0,007	0.007
11	El Oro	Cascara	0,029	0,02	0.0245
12	El Oro	Borra	0,005	0,004	0.0045
13	Manabí	Grano	0	0,004	0.002
14	Manabí	Cascara	0,005	0,007	0.006
15	Manabí	Borra	0,008	0,004	0.006

Nota: Elaborado por los autores (2024)

4.2.1. Estadísticos descriptivos para cuantificación de plomo

El análisis descriptivo que se observa en la **Tabla 14** muestra una variabilidad considerable en las concentraciones de plomo en las diferentes partes del grano provenientes de cinco diferentes provincias. Las variables analizadas fueron provincia, tipo de muestra, media y desviación estándar, estas variables permiten la identificación de patrones y tendencias relevantes.

Tabla 12. Estadísticas descriptivas de las concentraciones de una variable dependiente por provincias y tipo de muestra

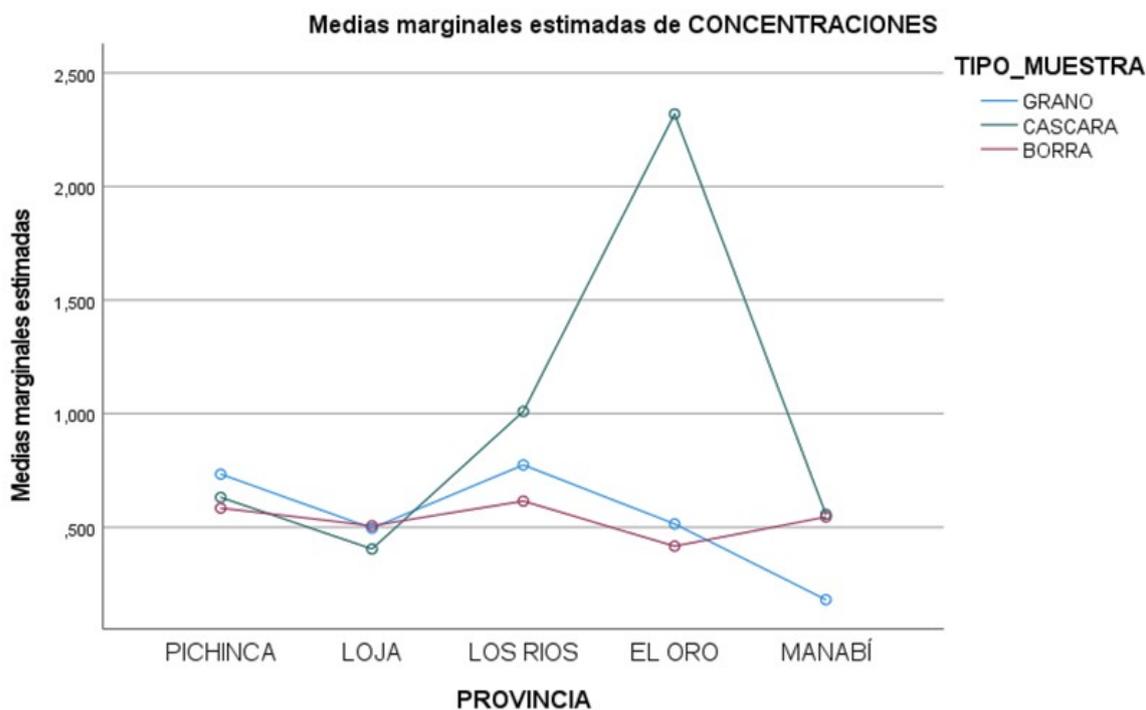
Estadísticos descriptivos				
Variable dependiente: CONCENTRACIONES				
PROVINCIA	TIPO_MUESTRA	Media	Desv. Desviación	N
PICHINCA	GRANO	,73400	,533159	2
	CASCARA	,63200	,214960	2
	BORRA	,58450	,041719	2
	Total	,65017	,266663	6
LOJA	GRANO	,49600	,214960	2
	CASCARA	,40450	,058690	2
	BORRA	,50700	,097581	2
	Total	,46917	,119867	6
LOS RIOS	GRANO	,77450	,105359	2
	CASCARA	1,01000	,142836	2
	BORRA	,61550	,139300	2
	Total	,80000	,204200	6
EL ORO	GRANO	,51500	,205061	2
	CASCARA	2,31950	,662559	2
	BORRA	,41700	,076368	2
	Total	1,08383	1,007679	6
MANABÍ	GRANO	,18150	,256680	2
	CASCARA	,55700	,080610	2
	BORRA	,54550	,238295	2
	Total	,42800	,249634	6
Total	GRANO	,54020	,315686	10
	CASCARA	,98460	,772306	10
	BORRA	,53390	,125064	10
	Total	,68623	,516665	30

Nota: Elaborado por autores (2024)

Se puede observar una alta variabilidad en las concentraciones de plomo evidenciada por una elevada desviación estándar en varios grupos, mostrando una dispersión de los datos, sugiriendo que las concentraciones de plomo pueden variar incluso estando dentro de la misma provincia y tipo de muestra.

La concentración más alta de plomo que se observa es en la cascara de la provincia de El Oro destacando por tener las medias más altas en total.

Figura 16. Diagrama estadístico descriptivo de las concentraciones de una variable dependiente por provincias y tipo de muestra



Nota: Elaborado por autores (2024)

4.2.1.1. Descripción de la grafica

Ejes

- **Eje Y:** medias marginales estimadas de las concentraciones
- **Eje X:** provincias de Ecuador (indica que el análisis se centra en una comparación geográfica)

En la **Figura 16** se observa que el pico más alto en relación provincia y tipo de muestra es la cascara de El Oro dando a entender que existe mayor concentración de plomo en este lugar, por otra parte, el pico de concentración de plomo más bajo que se encuentra es en el grano de la provincia de Manabí.

La diferencia de la presencia de concentraciones de plomo entre las provincias de El Oro y Manabí puede atribuirse a varios factores ambientales, geológicos y antropogénicos, una de las principales causas de contaminación por metales pesados en suelos es la minería. Se sabe que en la provincia de El Oro existe una gran actividad minera,

especialmente en la extracción de oro ya que para su proceso de refinación se hace uso del plomo, causando contaminación en el medio ambiente

Por otro lado, en la provincia Manabí se tiene una menor actividad minera, por lo que existiría una menor presencia de contaminación de este metal

4.2.2. Análisis de varianza (ANOVA) para cuantificación de plomo en muestras de grano, cascara y borra de café

En la **Tabla 15** se muestra un análisis de varianza (ANOVA) en donde se evalúa una variable dependiente (Concentraciones de plomo). Los factores por considerar dentro de este análisis son: las provincias, el tipo de muestra de café y la interacción que existe entre ambos. Los resultados revelan que el factor de las provincias como el del tipo de muestra tendrá efectos significativos en las concentraciones, dando valores menores a 0.05, específicamente con un valor $P= 0.001$, lo que sugiere que el tipo de muestra de café va a variar su concentración según la provincia.

Tabla 13. Resultados del Análisis de Varianza ANOVA, elaborado por autores (2024)

Pruebas de efectos inter-sujetos

Variable dependiente: CONCENTRACIONES

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	6,683 ^a	14	,477	6,766	<,001
Intersección	14,127	1	14,127	200,234	<,001
PROVINCIA	1,717	4	,429	6,083	,004
TIPO_MUESTRA	1,336	2	,668	9,465	,002
PROVINCIA * TIPO_MUESTRA	3,631	8	,454	6,432	,001
Error	1,058	15	,071		
Total	21,869	30			
Total corregido	7,741	29			

a. R al cuadrado = ,863 (R al cuadrado ajustada = ,736)

Con respecto al modelo corregido se ve un valor de R cuadrado de 0.863, lo que equivale al 86.3% de la variabilidad de las concentraciones, cabe recalcar que la interacción tiene un F sugiriendo un efecto significativo.

4.2.3 Control de Calidad de Muestras Fortificadas

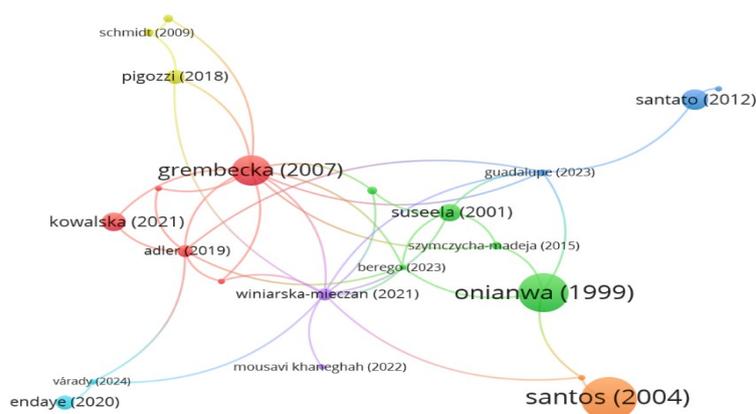
Se analizaron muestras de granos de café provenientes de 5 regiones distintas del Ecuador. Los resultados mostraron un porcentaje de recuperación del 93% para el grano, 100% para la cáscara y 116% para la borra. Todos los componentes evaluados se encuentran dentro del rango establecido (80-120%), cumpliendo así con los criterios de calidad.

4.3. Desarrollo de una estrategia de mitigación para la reducción de la acumulación de cadmio y plomo en los granos de café mediante un fichaje crítico.

Para dar cumplimiento con lo propuesto, se seleccionan los principales artículos encontrados, en la base de datos de Scopus, se filtra la categoría *Environmental Science*, con las palabras claves *Cadmium, Lead, Coffee, Food intake Food contamination, Heavy metal, Adsorption y risk assessment*, el resultado da evidencia a una base de datos con 159 autores con un total de 110 resultados hallados. Estos autores están conectados a través de clústeres de colores, y se visualizan redes bibliométricas, la **Figura 17** y **Figura 18** muestran esta relación existente.

A pesar de que se encontró una cantidad notable de documentos relacionados con el tema, un acercamiento analítico a estos trabajos de investigación mostro que cierto de estos no contaban con información actualizada sobre este estudio, razón por la cual se excluyeron. Tras los filtros de selección, análisis y recuperación, la base de datos final integró a 10 autores con un total de 52 trabajos: 44 artículos, cuatro revistas, dos capítulos de libros, un artículo de conferencia y una reseña de conferencia.

Figura 17. Análisis bibliométrico por autores o coautoría

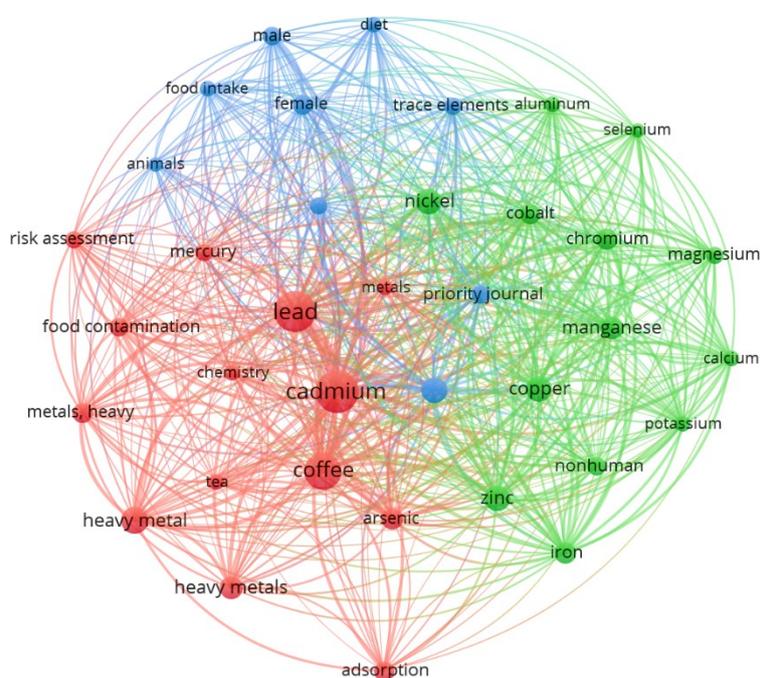


Nota: Ilustración creada en VOSviewer por autores (2024)

El segundo componente de análisis efectuada en la base de datos es por países con mayor número de publicaciones en los temas relacionados “*Metales pesados*”; “*Cadmio*”; “*Plomo*”; “*Evaluación de riesgos*”; “*Contaminación alimentaria*”; “*Café*”.

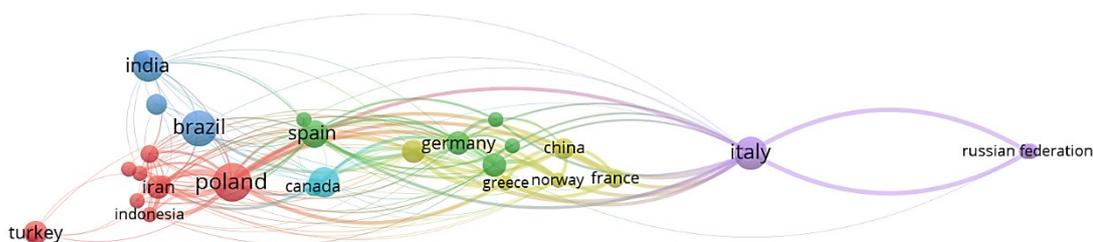
Los resultados de la búsqueda son 10 países con menos de diez publicaciones relacionadas en los últimos seis años [2019-2024]. La **Figura 19** muestra la información donde se evidencia que las redes con enlaces de mayor predominancia corresponden a las cabeceras centrales del clúster, destacando a Polonia, Italia, España y Brasil.

Figura 18 . Análisis bibliométrico por palabras clave



Nota: Ilustración creada en VOSviewer por autores (2024)

Figura 19 . Análisis bibliométrico por países con mayor número de publicaciones



Nota: Ilustración creada en VOSviewer por autores (2024)

4.3.1. Análisis de los principales microorganismos con capacidad biorremediadora de metales pesados

La evaluación del potencial biorremediador se destaca alrededor de 11 cepas de microorganismos, como se observa en la **Tabla 16**. Siendo así, los más destacados el hongo *F. oxysporum CTLM02*, *F. oxysporum CTLM03*, y *F. oxysporum CTLM18*, muestran una alta eficiencia de remoción tanto para cadmio como para plomo, alcanzando hasta un 93% y 92% de remoción efectiva. Esto sugiere que estos hongos podrían tener mecanismos específicos o una mayor capacidad de adaptación a ambientes contaminados con estos metales pesados.

Por otro lado, las bacterias *Bacillus spp.ECd004* y *Pseudomonas aeruginosa* se consideran buenas opciones para disminuir contaminantes ya que muestran una considerable eficiencia en la remoción de cadmio hasta un 92% y plomo hasta un 88% respectivamente, lo cual, aunque menor que el de otros microorganismos, sigue siendo significativo y útil en escenarios donde estas especies pueden proliferar más fácilmente

Sin embargo, no todos los microorganismos muestran la misma eficiencia, lo que subraya la importancia de la selección específica según la necesidad del proceso de remediación. Un ejemplo de ello es *Trichoderma asperellum TS141* presenta una eficiencia de remoción del 76.17% para cadmio. Otro ejemplo son los hongos micorrizas arbusculares (HMA), muestran una eficiencia del 30% para cadmio y 70% para Plomo cuando se emplean métodos físicoquímicos y biológicos, como lo destaca

A pesar de que tanto la cepa de *Trichoderma asperellum TS141* como la de *Bacillus spp.ECd004* no resultan ser tan efectivas en cuanto a la remoción de metales pesados, según estas dos opciones pueden considerarse viables en cuanto a su costo y a sus estudios previamente evaluados.

Tabla 14. Algunos microorganismos implicados en la biorremediación de metales pesados.

Tipo de MO	Nombre del MO	Nombre de la publicación	Autor de la publicación	Porcentaje de remoción en Cd	Porcentaje de remoción en Pb
Hongo	<i>F. oxysporum</i> CTLM2	Control biológico de <i>Fusarium oxysporum</i> , agente causal de la pudrición del corno en gladiolo, mediante estreptomicetos	(Muñoz-Silva et al., 2019)	95%	89%
	<i>F. oxysporum</i> CTLM03			92%	83%
	<i>F. oxysporum</i> CTLM17			89%	70%
	<i>F. oxysporum</i> CTLM18			90%	80%
Hongo	<i>Trichoderma asperellum</i> TS141	<i>Trichoderma spp.</i> , <i>Pseudomonas spp.</i> , y <i>Bacillus spp.</i> como agentes	(Cardona, 2024)	76,17%.	82%
	<i>Trichoderma harzianum</i> TS103			82%	87%
Bacteria	<i>Pseudomona syringae</i>	biorremediadores en suelos contaminados con cadmio	(Cardona, 2024)	70%	61%
	<i>Bacillus subtilis</i>			59,64%	80%
	<i>Bacillus spp.</i> ECd004			87%	70%
Bacteria	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Biorremediación de metales pesados Cadmio (Cd), cromo (Cr) y mercurio (Hg) Mecanismos bioquímicos e ingeniería Genética: una revisión	(Beltrán-Pineda & Gómez-Rodríguez, 2016b)	92%	88%
Hongo micorriza	<i>HMA</i> (micorrizas arbusculares)	Aplicación de métodos fisicoquímicos y biológicos en suelos contaminados con cadmio y plomo	(Vega-Jara, 2021b)	30%	70%

Nota: Elaboradora por autores, 2024

Conclusiones y Recomendaciones

5.1. Conclusiones

- El estudio revela una contaminación por plomo en las cáscaras de café de El Oro, Los Ríos y Pichincha, superando los límites establecidos por la norma INEN 1122. Si bien no se detectó cadmio, es necesario profundizar en las causas de la contaminación por plomo y evaluar los riesgos para la salud y el medio ambiente.
- Los resultados del ANOVA multifactorial confirman la hipótesis de que la contaminación por plomo en las cáscaras de café varía significativamente entre las diferentes provincias. La elevada concentración de plomo en las muestras de El Oro plantea serias preocupaciones respecto a la seguridad alimentaria y la salud pública en esta región.
- La utilización conjunta de hongos, bacterias y micorrizas podría potenciar la eficiencia de la biorremediación de suelos contaminados con metales pesados. Las cepas evaluadas, especialmente *Fusarium oxysporum*, mostraron una alta capacidad para remover cadmio y plomo, abriendo nuevas perspectivas para el desarrollo de tecnologías de remediación ambiental más sostenibles

5.2. Recomendaciones

- Extender el estudio a más regiones cafeteras del Ecuador, para de esta forma tener una visión más integral sobre la presencia de estos metales pesados como Cd y Pb en el café ecuatoriano, lo cual permitiría identificar patrones geográficos de contaminación.
- Mediante este trabajo de investigación se podrían surgir avances en el conocimiento de la biorremediación de metales pesados mediante la exploración de alternativas relacionadas a nuevas metodologías. Asimismo, es importante destacar la preservación sostenible del medio ambiente mediante otros mecanismos de tratamiento para mitigar los efectos negativos causados por la acumulación de metales pesados en cultivos agrícolas.
- Promover la colaboración interdisciplinaria entre investigadores de las áreas implicadas con el fin de abordar en su totalidad la problemática de contaminación por metales pesados en los cultivos cafeteros.

Referencias Bibliográficas

- Aguilar, C. , & Chamba, M. (2022). “*Caracterización fisicoquímica de la borra del café tostado y molido con enfoque al aprovechamiento en el sector productivo.*”
- Alegria Arce, D. F., Castro Silva, I. C., Mejia Rojas, M. E., & Moreno Gomez, K. A. (2023). Beneficios del Café y Terapia para el Dolor Crónico en Pacientes con Diagnóstico de Cáncer. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 7(5), 9143–9162. https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v7i5.8483
- Aparicio-Zambrano, R., Rojas-Fermín, L., Velasco, J., Usubillaga, A., Sosa, M., & Rojas, J. (2019). Chemical characterization and antimicrobial activity of the essential oil of the leaves of *Libanothamnus neriifolius* (Asteraceae). *Revista Peruana de Biología*, 26(1), 95–100. <https://doi.org/10.15381/rpb.v26i1.15912>
- Astudillo B. (2021). *Identificación del comportamiento morfológico de cinco cultivares de café arábigo en la finca Andil de la UNESUM.*
- Ballesteros. (2011). *Determinación de la eficacia de Azolla caroliniana como matriz de hiperacumulación de metales pesados cuantificados.*
- Bautista, D. (2006). *CAFÉ VERDE EN GRANO. CLASIFICACION Y REQUISITOS.*
- Beltrán-Pineda, M. E., & Gómez-Rodríguez, A. M. (2016a). Biorremediación de metales pesados cadmio (Cd), cromo (Cr) y mercurio (Hg), mecanismos bioquímicos e ingeniería genética: una revisión. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, 12(2), 172–197. <https://doi.org/10.18359/rfcb.2027>
- Beltrán-Pineda, M. E., & Gómez-Rodríguez, A. M. (2016b). Biorremediación de metales pesados cadmio (Cd), cromo (Cr) y mercurio (Hg), mecanismos bioquímicos e ingeniería genética: una revisión. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, 12(2), 172–197. <https://doi.org/10.18359/rfcb.2027>
- Bettiol, W., & Ghini, R. (2011). Impacts of Sewage Sludge in Tropical Soil: A Case Study in Brazil. *Applied and Environmental Soil Science*, 2011, 1–11. <https://doi.org/10.1155/2011/212807>

- Calderón-Guevara, M. N., Carpio-Rivera, N. Y., & Galarza-Mora, W. G. (2023). Metales pesados Cd, Pb y Hg: Una problemática de salud pública en el contexto de las relaciones internacionales e importancia de la academia en su mitigación. *MQRInvestigar*, 7(3), 2545–2578. <https://doi.org/10.56048/mqr20225.7.3.2023.2545-2578>
- Calero. (2023). *CONTAMINACIÓN DE METALES PESADOS EN EL ECUADOR, UN ANÁLISIS QUÍMICO, AMBIENTAL, TOXICOLÓGICO, NORMATIVO Y ANALÍTICO*.
- Cañas. (2014). *Análisis de los factores que inciden en la producción de café en el Ecuador 2000 – 2011*.
- Cardona, D. (2024). *Trichoderma spp., Pseudomonas spp., y Bacillus spp. COMO AGENTES BIORREMEDIADORES EN SUELOS CONTAMINADOS CON CADMIO*.
- Carmelo, C. , Ramírez, V. , Martínez, J. , Quintero, V. , Baez, B. , Munive, J. , & Murrieta, N. (2022). *Los metales pesados en la historia de la humanidad, los efectos de la contaminación por metales pesados y los procesos biotecnológicos para su eliminación: el caso de Bacillus como bioherramienta para la recuperación de suelos*.
- Carvajal, E. , & Giraldo, L. (2020). *Coffee Waste used as Biosorbent for Heavy Metals Removal in Wastewater*. <https://doi.org/10.21500/20275846.44477>
- CEM. (n.d.). *Microwave Digestion of Coffee Beans*. Retrieved August 25, 2024, from <https://cem.com/>
- Cruz, E. , Montes, K. , & Angamarca, G. (2024). Técnicas estadísticas multivariantes utilizadas en la calidad del servicio universitaria: Una revisión del estado del arte. *REVISTA MULTIDISCIPLINAR G-NER@NDO* ISSN:2806-5905. <https://orcid.org/0000-0003->
- CSIC. (2019). *ESPECTROSCOPIA DE EMISIÓN ATÓMICA ICP-OES*.
- de la Cueva, F., Naranjo, A., Torres, B. P., & Aragón, E. (2021). Presence of heavy metals in raw bovine milk from Machachi, Ecuador. *Granja*, 33(1), 21–30. <https://doi.org/10.17163/LGR.N33.2021.02>

- Dejud, D., Mou, V., Acosta, P., & Broce, K. (2022). Determinación de la calidad del agua del Río Caldera, Boquete, Chiriquí. *Ciencia y Práctica*, 2(3). <https://doi.org/10.52109/cyp2022321>
- Delgadillo, A. , González, C. , García, F. , Villagómez, J. , & Acevedo, O. (2011). *FITORREMEDIACIÓN: UNA ALTERNATIVA PARA ELIMINAR LA CONTAMINACIÓN*.
- Fernández-Guarnizo, P., Sánchez-Castillo, M., & Jumbo-Benítez, N. (2023). Sustentabilidad de los sistemas agroforestales de café especial de altura en el sector sur oriental del cantón Loja. *Bosques Latitud Cero*, 13(2), 80–90. <https://doi.org/10.54753/blc.v13i2.1887>
- Figueroa, Mendoza, & Champagna. (2010). Quantification of K, Ca, Mg y P minerals in coffee (*Coffea arabica* L. var. Typica) pulp and parchment. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 1(2), 221–230. <http://www.rvcta.org>
- Haro S. (2020). *EVALUACIÓN DE LOS DEFECTOS DE CALIDAD DE CAFÉ VARIEDAD ARÁBIGA (Coffea arabica) Y ROBUSTA (Coffea canephora) MEDIANTE VISIÓN ARTIFICIAL*.
- Heredia, D. , & Robalino, J. (2021). *Análisis correlacional de los rendimientos del sector cafetalero y el crecimiento económico del Ecuador. Perspectiva antes y después de la pandemia*.
- Herrera, J. , & Cortina, H. (2013). *Taxonomía y clasificación del café*. https://doi.org/10.38141/cenbook-0026_07
- Huaraca, J. N., Pérez-Sosa, L., Bustinza-Cabala, L. S., & Pampa-Quispe, N. B. (2020). Organic amendments in the immobilization of cadmium in contaminated agricultural soils: A review. In *Informacion Tecnologica* (Vol. 31, Issue 4, pp. 139–152). Centro de Informacion Tecnologica. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642020000400139>

INIAP, COFENAC, & PROMSA. (2004). VARIEDADES MEJORADAS DEL CAFÉ ARÁBIGO UNA CONTRIBUCIÓN PARA EL DESARROLLO DE LA CAFICULTURA EN EL ECUADOR. In *Estación Experimental Pichilingue*.

International Coffee Organization. (2019). *Aspectos botánicos del café*.

ISASA Latam, S. A. (n.d.). *Sistema de Digestión por microondas Mars 6™*. Retrieved August 25, 2024, from <https://isasalatam.com/preparacion-de-muestras/mars-6-cem/>

Jacto. (2022). *Biorremediación: en qué consiste y cómo se aplica*.

Jiménez Buri, K. A., Quezada, J. M., & Vega Granda, A. del C. (2023). Análisis de las exportaciones del café en el Ecuador, periodo 2017-2021. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 7(1), 6166–6184. https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v7i1.4909

Lara, Díaz, & Paredes. (2023). *EL CADMIO Y SU IMPACTO EN LA PRODUCCIÓN DE CAFÉ*. <https://doi.org/https://doi.org/10.58299/UTP.125>

Ligia de Souza Silva, M., Cesar Vitti, G., & Ricardo Trevizam, A. (2007). Concentração de metais pesados em grãos de plantas cultivadas em solo com diferentes níveis de contaminação. In *Pesq. agropec. bras.*

Londoño Franco, L. F., Londoño Muñoz, P. T., & Muñoz Garcia, F. G. (2016). Los riesgos de los metales pesados en la salud humana y animal. *Bioteología En El Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 14(2), 145. [https://doi.org/10.18684/bsaa\(14\)145-153](https://doi.org/10.18684/bsaa(14)145-153)

Maddela, N. R., Kakarla, D., García, L. C., Chakraborty, S., Venkateswarlu, K., & Megharaj, M. (2020). Cocoa-laden cadmium threatens human health and cacao economy: A critical view. In *Science of the Total Environment* (Vol. 720). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137645>

Malik, J., Szakova, J., Drabek, O., Balik, J., & Kokoska, L. (2008). Determination of certain micro and macroelements in plant stimulants and their infusions. *Food Chemistry*, 111(2), 520–525. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.04.009>

- Manoj, S. R., Karthik, C., Kadirvelu, K., Arulselvi, P. I., Shanmugasundaram, T., Bruno, B., & Rajkumar, M. (2020). Understanding the molecular mechanisms for the enhanced phytoremediation of heavy metals through plant growth promoting rhizobacteria: A review. *Journal of Environmental Management*, 254. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.109779>
- Mantuano, W. P., Ganchozo, B. I., Landín, A. C., Vera Tumbaco, M., & Ortega, J. G. (2022). PRINCIPALES ENFERMEDADES CAUSANTES DE LA PÉRDIDA DE RENDIMIENTOS DE LOS CULTIVOS DE CAFÉ ARÁBIGO (*Coffea arabica* L.) EN LA ZONA SUR DE MANABÍ, ECUADOR. *Publicación Cuatrimestral*, 6(2), 117–134. <https://orcid.org/0000-0001-9776-9235>.
- Matés, J. M., Segura, J. A., Alonso, F. J., & Márquez, J. (2010). Roles of dioxins and heavy metals in cancer and neurological diseases using ROS-mediated mechanisms. In *Free Radical Biology and Medicine* (Vol. 49, Issue 9, pp. 1328–1341). <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.07.028>
- Mero, M., Pernía, B., Ramírez-Prado, N., Bravo, K., Ramírez, L., Larreta, E., & Egas, F. (2019). Concentration of cadmium in water, sediments, *eichhornia crassipes* and *pomacea canaliculata* in the Guayas (Ecuador) river and tributaries. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 35(3), 623–640. <https://doi.org/10.20937/RICA.2019.35.03.09>
- Miinjae. (2013). *CAFÉ SOLUBLE. REQUISITOS*.
- Ministerio de Agricultura y Ganadería - MAG, C. (2024). *Rendimientos de café 2023 - Caracterización y Producción*. <https://sipa.agricultura.gob.ec/index.php/informe-de-rendimientos-objetivos/rendimiento-de-cafe>
- Miranda, F. (2017). *Presencia de metales pesados Cadmio y Plomo en el estuario del río Chone - Manabí, Ecuador*.
- Mundaca, Y. , & Huamán, J. (2021). “*EVALUACIÓN DE CADMIO EN GRANOS DE CAFÉ, CAFÉ TOSTADO MOLIDO Y ESENCIA DE CAFÉ (Coffea arabica L.) PROCEDENTES DE FINCAS MANEJADAS CONVENCIONALMENTE, EN EL DISTRITO SAN IGNACIO, CAJAMARCA, CAMPAÑA 2020.*”

- Muñoz-Silva, L., Olivera-Gonzales, P., Santillán-Torres, M., & Tamariz-Angeles, C. (2019). Heavy metals tolerant microorganisms from mine tailing wastelands Santa Rosa, Jangas (Peru). *Revista Peruana de Biología*, 26(1), 109–118. <https://doi.org/10.15381/rpb.v26i1.15914>
- Oliva, García, Chuquizita, Rubio, Santos, & Collazos. (2021). *Concentraciones de Cadmio en el sistema suelo-planta en los cultivos de café en dos sistemas de producción.*
- Ortiz, C. (2016). *CAFÉ TOSTADO EN GRANO O MOLIDO. REQUISITOS.*
- Ortiz Conforme, M. A., Pernia Santos, B., Mosquera Aspiazu, A. G., Gallardo Campoverde, A. A., & Landívar Vera, J. (2022). El cadmio y su efecto en el crecimiento de la caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.). *Revista Científica y Tecnológica UPSE*, 9(2), 109–117. <https://doi.org/10.26423/rctu.v9i2.714>
- Pabón, S. , Benítez, R. , Sarria, R. , & Gallo, J. (2020). Contaminación del agua por metales pesados, métodos de análisis y tecnologías de remoción. Una revisión. *Entre Ciencia e Ingeniería.*
- Peréz, Ramírez, & Pérez. (2007). *Validación del método analítico para la determinación de valsartán en plasma humano por HPLC/UV con adición de estándar empleando losartán como estándar interno.*
- Sanmartín C. (2023). *Efecto de tres tiempos de maceración y dos concentraciones de café sobre las características fisicoquímicas y organolépticas de licor de café.* Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE.
- Santana, D. (2017). Efectos de la aplicación de microorganismos fijadores de nitrógeno en plantación de café variedad caturra rojo. *Revista Alfa*, 1(3), 98–110. <https://doi.org/10.33996/revistaalfa.v1i3.31>
- Silva, S. , Queiroz, F. , Rodrigues, M. , Passos, R. , Mundstock, A. , Rodrigues, K. , & Garcia, F. (2017). Determination of heavy metals in the roasted and ground coffee beans and brew. *African Journal of Agricultural Research*, 12(4), 221–228. <https://doi.org/10.5897/ajar2016.11832>

- Stroheker, T., Chung, Y. J., Scholz, G., & Mazzatorta, P. (2019). A global approach for prioritizing chemical contaminants in raw materials of food for infants and young children. *Food Control*, *105*, 71–77. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.05.024>
- Suazo, T. (2020). *Caracterización morfológica y molecular de café (Coffea arabica L.) variedad Catrenic proveniente de las fincas CENECOOPFedecaruna y El Rosal de Nicaragua, Laboratorio de Biotecnología, UNAN-Managua, 2018-2020.*
- UNAM. (2024). *Diseño Completamente al azar (DCA).*
- Vázquez, J., Sangurima, C., & Alvarez-Vera, M. (2019). Lead (Pb) concentrations in lettuce crops (*Lactuca sativa*) in Azuay, Ecuador. *Scientia Agropecuaria*, *10*(3), 423–427. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2019.03.13>
- Vega-Jara, L. (2021). *APLICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICO-QUÍMICOS Y BIOLÓGICOS EN SUELOS CONTAMINADOS CON CADMIO Y PLOMO.* <https://www.unheval.edu.pe>
- Vejarano, R., Gurreonero-Fernández, J., & Castillo-Herrera, A. (2018). *Adsorption of lead (Pb) from contaminated aqueous mediums using banana (Musa paradisiaca) peel.*
- Venegas Sánchez, S., Orellana Bueno, D., & Pérez Jara, P. (2018). La realidad Ecuatoriana en la producción de café. *RECIMUNDO*, 72–91. <https://doi.org/10.26820/recimundo/2.2018.72-91>
- Vilela, W. , Espinoza, M. , & Bravo, A. (2020). La contaminación ambiental ocasionada por la minería en la provincia de El Oro. *Estudios de La Gestión. Revista Internacional de Administración.* <https://doi.org/10.32719/25506641.2020.8.8>
- Wróbel, M., Śliwakowski, W., Kowalczyk, P., Kramkowski, K., & Dobrzyński, J. (2023). Bioremediation of Heavy Metals by the Genus *Bacillus*. In *International Journal of Environmental Research and Public Health* (Vol. 20, Issue 6). MDPI. <https://doi.org/10.3390/ijerph20064964>

Anexos

Anexo 1. Muestreo de café



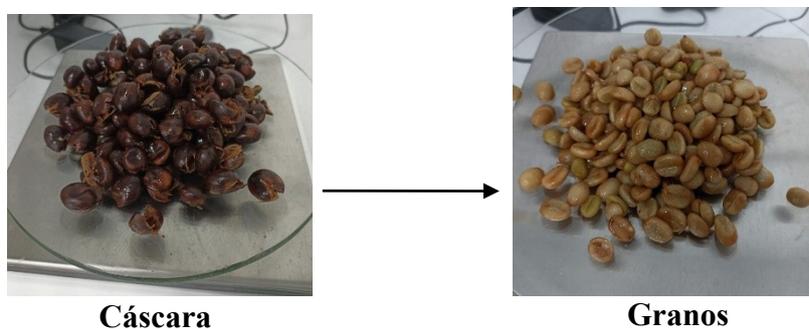
Nota : Recolección de muestras manualmente de las provincias Manabí, Los Ríos, El Oro, Loja y Pichincha

Anexo 2. Pesaje de cerezos de café



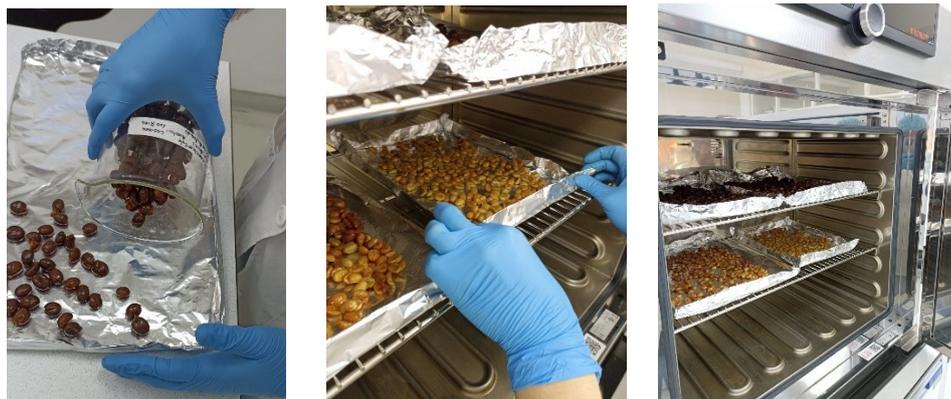
Nota: Las muestras se preparan meticulosamente en el laboratorio para asegurar la precisión en los análisis posteriores.

Anexo 3. Despulpado de los cerezos



Nota: Ambas partes del fruto se separan cuidadosamente para su análisis individual.

Anexo 4. Preparación y secado de granos y cáscaras de las muestras



Nota: Las muestras se colocan en papel aluminio y se deshidratan en la estufa antes de ser preparadas para el proceso de tostado.

Anexo 5. Proceso de tostado de los granos y cáscara de café



Nota: Tras el secado, las muestras se preparan para el proceso de molienda y tamizado, asegurando que estén en óptimas condiciones para su análisis.

Anexo 6. Proceso de molienda y tamizado de los granos y cáscara de café

a) Cáscara

b) Granos



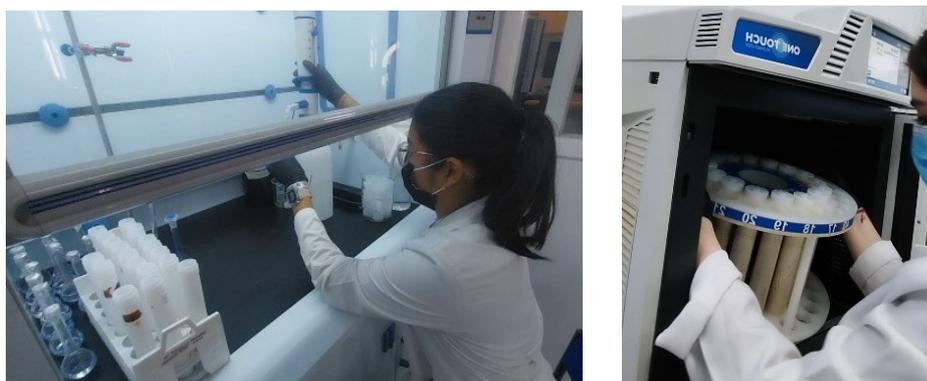
Nota: a) Las cáscaras secas se muelen en un mortero y luego se tamizan cuidadosamente ; b) Los granos secos se muelen en una licuadora y se tamizan para obtener un tamaño uniforme de las partículas.

Anexo 7. Pesaje de muestras molidas y tamizadas para la digestión



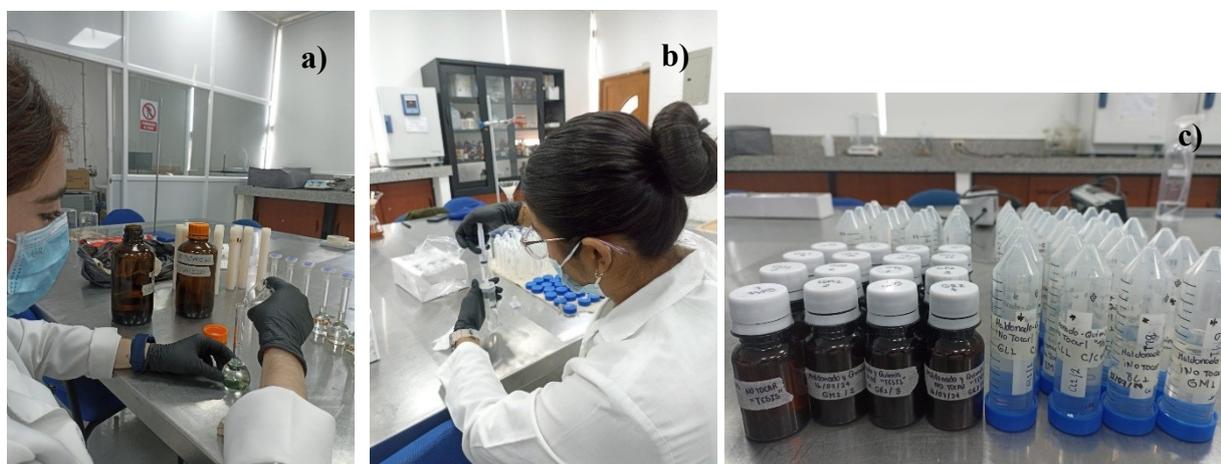
Nota: Se pesan 0.5g de cada muestra molida y tamizada para su posterior digestión asistida por microondas.

Anexo 8. Preparación de muestras de café para digestión asistida por microondas



Nota: Las muestras se tratan con ácido nítrico al 70% antes de procedes con la digestión asistida por microondas.

Anexo 9. Muestras digeridas



Nota: a) Enrasamiento con ácido nítrico al 2% ; b) Filtrado de las muestras ; c) almacenamiento un tubo falcón

Anexo 10. Preparación de estándar



Nota: Estandar multielemental para calibración de curva en ICP-OES

Anexo 11. Lectura de muestras en ICP-OES

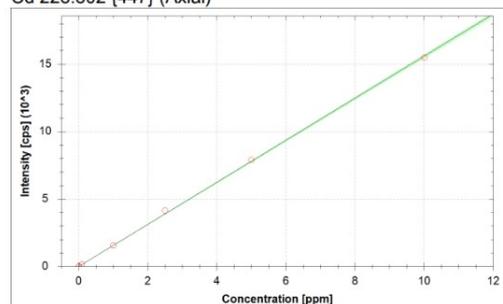


Nota: Análisis de estándares y muestras de cascara, grano y borra del café utilizando el ICP-OES para determinar la concentración de elementos presentes.

Anexo 12. Grafica de calibración de ICP-OES

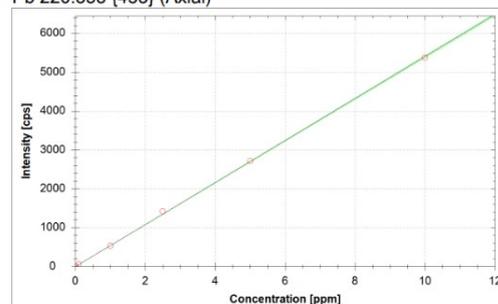
Calibration Graphs

Cd 228.802 {447} (Axial)



$f(x) = 1558.9624 \cdot x + 2.7839$
 $R^2 = 0.9996$
 BEC = 0.002 ppm
 LoD = N/A

Pb 220.353 {453} (Axial)



$f(x) = 540.7285 \cdot x + -4.3521$
 $R^2 = 0.9997$
 BEC = -0.008 ppm
 LoD = N/A

Anexo 12. Selección de información para el desarrollo del fichaje crítico



