Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Ciencias Físicas
Escuela Profesional de Física

Aplicación de la zeolita tipo 5A como inhibidor de níquel (II) en plántulas de Theobroma cacao L. para genotipos de baja y alta capacidad de absorción de metales pesados

TESIS

Para optar el Título Profesional de Licenciado en Física

AUTOR

Yacu Vicente ALCA RAMOS

ASESOR

Dr. Juan Adrian RAMOS GUIVAR

Lima, Perú

2022



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Alca, Y. (2022). *Aplicación de la zeolita tipo 5A como inhibidor de níquel (II) en plántulas de Theobroma cacao L. para genotipos de baja y alta capacidad de absorción de metales pesados*. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Ciencias Físicas, Escuela Profesional de Física]. Repositorio institucional Cybertesis UNMSM.

Metadatos complementarios

Datos de autor	
Nombres y apellidos	Yacu Vicente Alca Ramos
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	46647937
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0002-2473-2658
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Juan Adrián Ramos Guivar
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	46209587
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0003-3293-7255
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	Sthy Warren Flores Daorta
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	10532794.
Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	Erich Victor Manrique Castillo
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	09608122
Miembro del jurado 2	
Nombres y apellidos	Robert Marino Espinoza Bernardo
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	41704209
Datos de investigación	

Línea de investigación	A.2.1.3. Aplicaciones de la Física en Nanociencia y Nanotecnología de Materiales magnéticos.
Grupo de investigación	NANOTECH - Grupo de investigación de nanotecnología aplicada para biorremediación ambiental, energía, biomedicina y agricultura.
Agencia de financiamiento	Proyecto Interdisciplinario para el Fomento de la Cooperación Interinstitucional en Investigación e Innovación-Política Nacional de Educación Superior Técnico Productiva (PNESTP-MINEDU)-2021 código B2113002i, financiado por MINEDU RR N° 009412-2021-R
Ubicación geográfica de la investigación	Edificio: Instituto de Cultivos Tropicales País: Perú Departamento: San Martín Provincia: San Martín Distrito: La Banda de Shilcayo Calle: Jirón Santa María N°-241 Latitud: -6.50777 Longitud: -76.00777
Año o rango de años en que se realizó la investigación	Setiembre 2021 - marzo 2022
URL de disciplinas OCDE	4.01.01-Agricultura https://concytec-pe.github.io/Peru-CRIS/vocabularios/ocde_ford.html#4.01.00

Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América

FACULTAD DE CIENCIAS FÍSICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE FÍSICA

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN FÍSICA

Siendo las 14:00 horas del viernes 09 de septiembre del 2022, en Auditorio del Instituto de Investigación de la Facultad de Ciencias Físicas, bajo la Presidencia del Dr.Sthy Warren Flores Daorta (Presidente), Mg.Erich Victor Manrique Castillo (Miembro), Dr. Juan Adrian Ramos Guivar (Asesor), Mg. Robert Marino Espinoza Bernardo (Suplente), se dio inicio a la Sesión Pública de Sustentación de Tesis para la Licenciatura en Física, mediante la Modalidad M1, del Bachiller:

YACU VICENTE ALCA RAMOS

Dando lectura al Resumen del Expediente, el Presidente del Jurado, invitó al Bachiller Alca Ramos, Yacu Vicente a realizar una exposición de Trabajo de Tesis titulada: "Aplicación de la zeolita tipo 5A como inhibidor de níquel (II) en plántulas de *Theobroma Cacao L.* para genotipos de baja y alta capacidad de absorción de metales pesados."

Concluida la exposición del candidato y luego de las preguntas de rigor por parte del Jurado, el Presidente, invitó al Bachiller y al público a abandonar momentáneamente la Sala de Sesión, para dar paso a la deliberación y calificación por parte del Jurado.

Al término de la deliberación del Jurado el Dr.Sthy Warren Flores Daorta, invitó al candidato y al público a pasar a la Sala de Sesión, para dar lectura al resultado de la deliberación. Ha obtenido la calificación de:

Aprobado con mención honrosa	18	DIECIOCHO
(MENCIÓN)	(NÚMERO)	(LETRAS)

Finalmente, el Presidente del Jurado, propone al consejo de la Facultad que se le declare Licenciado en Física al Bachiller Alca Ramos, Yacu Vicente. Siendo las 15:34 Horas, se levanta la Sesión.

Dr. Sthy Warren Flores Daorta
PRESIDENTE

Mg.Erich Victor Manrique Castillo
MIEMBRO

Dr. Juan Adrian Ramos Guivar
ASESOR

Mg. Robert Marino Espinoza Bernardo
SUPLENTE

Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú, Decana de América

FACULTAD DE CIENCIAS FÍSICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE FÍSICA

CALIFICACIÓN DEL JURADO

BACHILLER: YACU VICENTE ALCA RAMOS

SUSTENTACIÓN DE TESIS

"Aplicación de la zeolita tipo 5A como inhibidor de níquel (II) en plántulas de *Theobroma Cacao L.* para genotipos de baja y alta capacidad de absorción de metales pesados"

JURADO CALIFICADOR	NOTA	FIRMA
Dr. Sthy Warren Flores Daorta PRESIDENTE	19	
Mg.Erich Victor Manrique Castillo MIEMBRO	18	
Dr. Juan Adrian Ramos Guivar ASESOR	19	
Mg. Robert Marino Espinoza Bernardo SUPLENTE	17	
PROMEDIO FINAL	18	

CONDICIÓN : Aprobado con mención honrosa.
HORA : 15:34.

FECHA : Viernes 09 de septiembre de 2022

Dirección: Calle Germán Amézaga N.° 375 - Lima
Facultad de Ciencias Físicas
Apartado Postal: 14-0149 – Lima 14 Perú

Escuela Profesional de Física
6197000 Anexo 3805
E-mail eapfis@unmsm.edu.pe

Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

FACULTAD DE CIENCIAS FÍSICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE FÍSICA

INFORME DE EVALUACIÓN DE ORIGINALIDAD

1. Facultad: Ciencias Físicas
2. Escuela Profesional: Física
3. Autoridad Académica que emite el informe de originalidad: Mg. Jiménez Tintaya, César Omar
4. Apellidos y nombres de la autoridad académica: Mg. Jiménez Tintaya, César Omar
5. Operador del programa Informático de similitudes: Mg. Jiménez Tintaya, César
6. Documento evaluado: Tesis para optar el Título profesional de Licenciado en Física: "Aplicación de la zeolita tipo 5A como inhibidor de níquel (II) en plántulas de Theobroma cacao L. para genotipos de baja y alta capacidad de absorción de metales pesados"
7. Autor del documento: Yacu Vicente Alca Ramos
8. Fecha de recepción del documento: 11/01/23
9. Fecha de aplicación del programa informático de similitudes: 17/01/23
10. Software utilizado: Turnitin
11. Configuración del programa detector de similitudes
    - Excluye textos entrecomillados
    - Incluye Bibliografía
    - Excluye cadenas menores a 40 palabras
12. Porcentaje de similitudes según programa detector de similitudes: 6% (seis por ciento)
13. Fuentes originales de las similitudes encontradas
    - repositorio.ug.edu.ec< 1%
    - cybertesis.unmsm.edu.pe < 1%
    - tesis.ipn.mx< 1%
    - bibdigital.epn.edu.ec< 1%
    - hdl.handle.net< 1%
    - silo.tips< 1%
14. Observaciones: ninguna
15. Calificación de originalidad: Documento cumple criterios de originalidad, sin observaciones
16. Fecha del Informe: 19 de enero del 2023

UNMSM
Firmado digitalmente por JIMENEZ TINTAYA Cesar Omar FAU 20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 19.01.2023 12:44:31 -05:00

Firma del Evaluador

Dedicatoria

Dedicado a Máxima Ramos, Simona Reyna,

y Hermines Alca por su cariño

y apoyo incondicional.

gracias!

A Katherinne Gómez, Renzo Rueda,

Manuel Igreda y Elber Halanoca

por el soporte anímico en todos estos años.

Agradecimiento

Agradezco a mi asesor de Tesis, Prof. Juan Adrián Ramos Guivar en la realización de esta Tesis de Licenciatura, por su guía, consejos y por haber aportado sustancialmente en cuanto a comentarios, correcciones y principalmente por la motivación brindada en cada charla dentro de las instalaciones de la facultad.

Agradezco también al Dr. Enrique Arévalo Gardini y al Ing. Cesar Arévalo por las facilidades brindadas, por su guía, con sus consejos, comentarios durante mi estadía en el Instituto de Cultivos Tropicales (I.C.T) para el desarrollo del presente trabajo.

Al PROYECTO INTERDISCIPLINARIO-MINEDU 2021 N° B2113002i con Resolución rectoral de aprobación 09412-R-21, que, por medio del Vicerrectorado de investigación de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, hizo posible el financiamiento del presente trabajo.

ÍNDICE

RESUMEN viii
ABSTRACT ix
INTRODUCCIÓN x
1 GENERALIDADES 1
1.1 Theobroma Cacao L. 2
1.1.1 Genotipos de Cacao. 3
1.1.2 Genotipos utilizados en este trabajo. 4
1.1.3 El Cacao en el Perú y el Mundo. 6
1.2 Metales pesados en el suelo. 7
1.2.1 Níquel (Ni) 7
1.3 Zeolitas 8
1.3.1 Propiedades estructurales y de textura de las Zeolitas. 10
1.3.2 Relación Si/Al 11
1.3.3 Capacidad de Intercambio Iónico (C.I.I.). 11
1.3.4 Porosidad. 12
1.3.5 Propiedades de adsorción 12
1.4 Zeolita tipo 5A 13
2 TÉCNICAS EXPERIMENTALES 15
2.1 Rayos X 16
2.1.1 Difracción de Rayos X 16
2.1.2 Método de Rietveld 17
2.1.3 Función Perfil de Difracción. 19
2.2 Espectrometría Raman. 23
2.2.1 Dispersión. 23
2.2.2 Dispersión Raman. 24
2.3 Espectroscopia de Absorción Atómica 25
3 METODOLOGÍA 28
3.1 Metodología para la contaminación del sustrato. 29
3.1.1 Cálculo de la cantidad de solución contaminante 29
3.1.2 Incubación del metal pesado en el sustrato 30
3.2 Metodología para la siembra de plántulas de Cacao. 32
3.2.1 Recolección, preparación y homogenización del sustrato. 32
3.2.2 Implementación de un espacio idóneo para la siembra del cacao. 35

3.2.3 Recolección, y germinación de las semillas de cacao. 36
3.2.4 Preparación y Aplicación de la Zeolita 5A en macetas. 37
3.2.5 Distribución de las parcelas y las muestras de cada muestra. 38
3.2.6 Fase de laboratorio. 40
4 RESULTADOS Y DISCUSIONES 43
4.1 Caracterización por DRX. 44
4.2 Caracterización por espectroscopía micro-Raman 46
4.3 Análisis estadístico de resultados en plántulas de cacao. 50
4.3.1 Altura de plantones de cacao. 51
4.3.2 Diámetro de Tallo. 56
4.3.3 Longitud de la raíz. 61
4.3.4 Número de Hojas. 66
4.3.5 Concentración de níquel. 71
Conclusiones 79
Recomendaciones. 80
Referencias 81
ANEXOS 88

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 1 Valores de pH para cada punto de la estación Juan Bernito. 32
Tabla N° 2 Análisis de suelo 33
Tabla N° 3 Diseño de parcelas y el número de macetas teniendo en cuenta las 6 dosis y 5 repeticiones. 34
Tabla N° 4 Codificación de las parcelas para cada genotipo y para cada dosis. 39
Tabla N° 5 Parámetros refinados por el método de Rietveld. 45
Tabla N° 6 Etiquetas utilizadas de las dosis aplicadas y los genotipos utilizados 51
Tabla N° 7 Análisis de Varianza CNi con G1 y G2 para D1 51
Tabla N° 8 Análisis Tukey aplicado a la variable altura 52
Tabla N° 9 Análisis de Varianza CNi con G1 y G3 para D2. 52
Tabla N° 10 Análisis Tukey aplicado a la variable altura. 53
Tabla N° 11 Análisis de Varianza CNi con G1 y G3 para D3. 53
Tabla N° 12 Análisis Tukey aplicado a la variable altura. 54
Tabla N° 13 Análisis de Varianza CNi con G1 y G2 para D1 56
Tabla N° 14 Análisis Tukey aplicado a la variable diámetro 56
Tabla N° 15 Análisis de Varianza CNi con G1 y G3 para D2 58
Tabla N° 16 Análisis Tukey aplicado a la variable diámetro 58
Tabla N° 17 Análisis de Varianza CNi con G1 y G3 para D3. 59
Tabla N° 18 Análisis Tukey aplicado a la variable diámetro 60
Tabla N° 19 Análisis de Varianza CNi con G1 y G2 para D1 61
Tabla N° 20 Análisis Tukey aplicado a la variable raíz. 62
Tabla N° 21 Análisis de Varianza CNi con G1 y G3 para D2. 63
Tabla N° 22 Análisis Tukey aplicado a la variable raíz. 63
Tabla N° 23 Análisis de Varianza CNi con G1 y G3 para D3. 64
Tabla N° 24 Análisis Tukey aplicado a la variable raíz. 65
Tabla N° 25 Análisis de Varianza CNi con G1 y G2 para D1. 67
Tabla N° 26 Análisis Tukey aplicado a la variable Numero de hojas. 67
Tabla N° 27 Análisis de Varianza CNi con G1 y G3 para D2. 68
Tabla N° 28 Análisis Tukey aplicado a la variable Número de hojas. 69
Tabla N° 29 Análisis de Varianza CNi con G1 y G3 para D3. 69
Tabla N° 30 Análisis Tukey aplicado a la variable Número de hojas. 70
Tabla N° 31 Concentraciones de Ni en materia seca para cada genotipo respecto a cada dosis. 72
Tabla N° 32 Porcentajes de absorción y adsorción de Ni por parte de la plántula y Zeolita 5A. 72
Tabla N° 33 Análisis de Varianza CNi con G1 y G2 para D1. 73
Tabla N° 34 Análisis Tukey aplicado a la variable concentración de níquel. 73
Tabla N° 35 Análisis de Varianza CNi con G1 y G3 para D2. 75
Tabla N° 36 Análisis Tukey aplicado a la variable concentración de níquel. 75
Tabla N° 37 Análisis de Varianza CNi con G1 y G3 para D3. 76
Tabla N° 38 Análisis Tukey aplicado a la variable concentración de níquel. 77
Tabla N° 39 Análisis de varianza para plántulas sin Zeolita 5A y sin Ni 88
Tabla N° 40 Prueba Tukey Aplicada a las alturas 89
Tabla N° 41 Análisis de varianza para plántulas sin Zeolita 5A y sin Ni. 90
Tabla N° 42 Prueba Tukey Aplicada a la variable diámetro 90

Tabla N° 43 Análisis de varianza para plántulas sin Zeolita 5A y sin Ni 91
Tabla N° 44 Prueba Tukey Aplicada a la variable raíz 92
Tabla N° 45 Análisis de varianza para plántulas sin Zeolita 5A y sin Ni 93
Tabla N° 46 Prueba Tukey Aplicada a la variable Número de hojas 93
Tabla N° 47 Concentración de Ni en el lapso de 90 días de experimento. 94

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N° 1 Cuadro de compatibilidad sexual entre genotipos de cacao. 3
Figura N° 2 Genotipo ICS 39 4
Figura N° 3 Genotipo CCN-51 5
Figura N° 4 Genotipo TSH - 1188 5
Figura N° 5 Producción regional de cacao en grano, 2015-2021 (toneladas). 6
Figura N° 6 Estructuras de zeolitas formadas a partir de la unión de una unidad primaria 9
Figura N° 7 Tetraedro de silicio y oxígeno. 10
Figura N° 8 Tamaño de cavidad y canales de algunas zeolitas 12
Figura N° 9 Imagen de la estructura de la zeolita 5A 14
Figura N° 10 Estructura de la Zeolita tipo A. 14
Figura N° 11 Relación del ángulo de incidencia y la distancia interplanar de una red cristalina 17
Figura N° 12 Picos de difracción para distintos valores de η. 21
Figura N° 13 Interacción luz—molécula 24
Figura N° 14 Diagrama de Jablonski 25
Figura N° 15 Esquema de un equipo de absorción atómica 27
Figura N° 16 Espectrómetro de absorción atómica SpectrAA 55B 27
Figura N° 17 Peso del material contaminante en una balanza analítica Sartorius propiedad del ICT 31
Figura N° 18 Preparación de 0.5g de suelo previo a la medida del nivel de pH respectivo. 31
Figura N° 19 Recolección del suelo del punto elegido para la preparación del sustrato. 34
Figura N° 20 Vivero limpio y adecuado para la preparación de las macetas. 35
Figura N° 21 Pregerminado y aplicación de fungicida “Para chupadera” 36
Figura N° 22 Selección de frutos del árbol Theobroma cacao para su cosecha. 37
Figura N° 23 Peso de las dosis de 8 y 6 g de Zeolita 5A en una balanza analítica (izquierda). Aplicación de la zeolita en una maceta con 4 L de sustrato. (derecha) 38
Figura N° 24 Difractómetro RIGAKU del laboratorio de espectrometría Mössbauer y Magnetometría (LEMAG) del Centro de Ciencias Exactas de la Universidad Federal de Espíritu Santo. 45
Figura N° 25 Difractograma de la zeolita 5A 46
Figura N° 26 Microscopio Raman inVIa – Renishaw. Fuentes de rayos láser usados en el Centro de Caracterización de Materiales de la PUCP. 48
Figura N° 27 Espectro Raman de la Zeolita 5A con sus respectivos picos, después del recocido, junto a una imagen de dicha muestra antes de la exposición a láser. 49
Figura N° 28 Tamaño de las plántulas para cada muestra en los 90 días. 55
Figura N° 29 Significancia de las alturas para cada tratamiento aplicado a cada genotipo. 55

Figura N° 30 Significancia de los diámetros para cada tratamiento aplicado a cada genotipo. 57
Figura N° 31 Significancia de los diámetros para cada tratamiento aplicado a cada genotipo. 59
Figura N° 32 Significancia de los diámetros para cada tratamiento aplicado a cada genotipo. 60
Figura N° 33 Significancia del tamaño de la raíz para cada tratamiento aplicado a cada genotipo. 62
Figura N° 34 Significancia del tamaño de la raíz para cada tratamiento aplicado a cada genotipo. 64
Figura N° 35 Tamaño pequeño de la raíz debido a la presencia de Ni^{+2} y Al^{+3} en el sustrato. 65
Figura N° 36 Significancia del tamaño de la raíz parara cada tratamiento aplicado a cada genotipo. 66
Figura N° 37 Clorosis causada por la ausencia de Fe en las hojas 67
Figura N° 38 Significancia del número de hojas parara cada tratamiento aplicado a cada genotipo. 68
Figura N° 39 Significancia respecto al número de hojas para D2. 70
Figura N° 40 Significancia respecto al número de hojas para D2. 71
Figura N° 41 Concentración de Ni en plántulas G1 y G3 para D1..... 74
Figura N° 42 Concentración de Ni en plántulas G1 y G3 para D2..... 76
Figura N° 43 Concentración de Ni en plántulas G1 y G3 para D3..... 77
Figura N° 44 Significancia de las alturas para cada genotipo. 89
Figura N° 45 Significancia de los diámetros para cada genotipo. 91
Figura N° 46 Significancia de la longitud de la raíz para cada genotipo. 92
Figura N° 47 Significancia respecto al número de hojas para cada genotipo. 94
Figura N° 48 Efecto recalcitrante de la zeolita 5A sobre la semilla de cacao. 95
Figura N° 49 Procedimiento utilizado para la siembra y cultivo cacao 95
Figura N° 50 Distribución experimental de las plántulas de cacao..... 96

RESUMEN

En la presente tesis se estudió e implementó un procedimiento adecuado para inmovilizar e inhibir el metal pesado níquel en plántulas de *Theobroma cacao L.* aplicados a 3 genotipos, utilizando a la Zeolita 5A como agente inhibidor, pues dicho compuesto es un muy buen agente inhibidor de cationes divalentes como el Pb (II) y ha sido utilizado para la remediación de aguas. En el presente trabajo se aplicó la Zeolita 5A en suelos con la finalidad de inmovilizar e inhibir al Ni (II) en su estado divalente y así favorecer al crecimiento y calidad de los frutos del cacao. Como parte del estudio y análisis de la estructura de la Zeolita 5A se utilizó técnicas de Difracción de rayos-X (DRX) y Espectroscopía Raman para su respectiva caracterización estructural y vibracional e identificación de las fases cristalinas y modos Raman vibracionales como parte de la metodología a implementar. Así mismo el diseño experimental realizado para el tratamiento con el metal pesado, fue por parcelas divididas con 3 repeticiones por dosis. Se evaluaron factores morfológicos como altura, diámetro del tallo, longitud de raíz, número de hojas y la concentración final del metal pesado. Los resultados demostraron que el Ni afectó al desarrollo de plántula, siendo la altura el factor que más destacó en cuanto a su crecimiento respecto del control contaminado con Ni, además también se determinó que la zeolita 5A para las dosis de 1,2 y 4 g tuvo una gran capacidad de adsorción del Ni, destacando que el genotipo ICS-39 tuvo una baja capacidad de absorción de Ni.

Palabras clave: Zeolita 5A, Inhibición del Ni (II), absorción, *Theobroma cacao L.*

ABSTRACT

In the present work, a suitable procedure was studied and implemented to immobilize and inhibit heavy metals in cocoa seedlings applied to 3 genotypes, using Zeolite 5A as an inhibiting agent, since this compound is a very good inhibiting agent of divalent cations such as Pb (II) and has been used for water remediation. In the present work, Zeolite 5A was applied in soils to immobilize and inhibit Ni (II) in its divalent state and thus favor the growth and quality of cocoa fruits. As part of the study and analysis of the structure of Zeolite 5A, X-ray diffraction (XRD) and Raman spectroscopy techniques were used for their respective structural and vibrational characterization and identification of crystalline phases and vibrational Raman modes as part of the methodology to be implemented. Likewise, the experimental design carried out for the treatment with the heavy metal was by divided plots with 3 replicates per dose. Morphological factors such as height, stem diameter, root length, number of leaves and the final concentration of the heavy metal were evaluated: The results showed that Ni affected seedling development, with height being the most important factor in terms of growth compared to the Ni contaminated control. It was also determined that zeolite 5A for doses of 1.2 and 4 g had a high Ni adsorption capacity, highlighting that the ICS-39 genotype had a low Ni absorption capacity.

Keywords: Zeolite 5A, Ni (II) inhibition, absortion, *Theobroma cacao L.*

INTRODUCCIÓN

El cacao o conocido también por el nombre *Theobroma Cacao L*. es un producto originario de América central y América del sur pero que tiene a países como África, Ghana e Indonesia como mayores productores siendo su producción un 80 % de la producción mundial (cacao convencional) mientras que el 5% de la producción mundial corresponde a Sudamérica (Cacao fino). (Zug *et al.*, 2019)

En el año 2017 nuestro, país se perfilaba como uno de los mayores exportadores de cacao de la región solo por detrás de Ecuador, el cual es el primer productor de cacao fino en la región. Según (Romero, 2016) alrededor del 44%de la producción de cacao en el Perú corresponde a cacao fino y el 56% corresponde a cacao corriente. En los últimos 3 años, nuestro país se encuentra como tercer productor de Cacao por detrás de Ecuador y Brasil siendo el tercero en a nivel de la región y octavo a nivel mundial. (Huamán 2021).

En este contexto es importante el estudio y análisis de la producción cacaotera en el país, siendo de vital importancia su estudio desde un matiz científico tecnológico haciendo uso de diversas técnicas y métodos para su mejora en calidad y producción. Se han estudiado diversas técnicas en cuanto al cultivo de cacao siendo las más usuales aquellas que involucran fertilizantes y agentes biorremediadores que reducen el contenido de metales pesados como por ejemplo el uso de enmiendas orgánicas y/o enmiendas cálcicas como agente reductor de cadmio en la planta de cacao. (Correa, 2019)

En marzo de 2012, la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria con sus siglas en inglés (EFSA) recibió una solicitud Hellenic Food Authority (EFET) para un dictamen científico sobre el riesgo para la salud humana por la presencia de níquel (Ni) en los alimentos, abordando particularmente la presencia de Ni en las verduras. El Panel de la EFSA decidió extender la

evaluación de riesgos al Ni en agua para consumo humano y aguas minerales en estado natural, para evaluar su contribución a la exposición dietética al níquel. La presencia del Ni en alimentos y agua potable es determinada por factores tanto naturales como antropogénicos, estos últimos genéricamente identificables con y fuentes tecnológicas. En los alimentos y el agua potable, el Ni se presenta generalmente en forma divalente Ni (II), su estado de oxidación más estable.

No existen niveles máximos (NM) establecidos de Ni en la calidad de diversos alimentos. Para el agua potable, un valor paramétrico de 20 µg./L. Este valor se encuentra dentro del valor de referencia de 70 µg/L establecido por el Departamento de Salud Mundial. (World Health Organizationd Health, 2005). Además, según (Smart and Sherlock, 1987) se encontró una concentración de Ni de aproximadamente entre 8 – 12 mg/Kg.

En este trabajo de tesis de Licenciatura se pretende hacer uso de la zeolita 5A como un agente inhibidor de Ni (II) y probar su eficiencia en cuanto a su uso como adsorbente de metales divalentes en plántulas de *Theobroma Cacao L*. Esto es debido a que la estructura de la zeolita 5A está formada por una red tridimensional donde los iones O^{2-}, Si^{4+} y Al^{3+} forman eje central de la estructura y donde la capacidad de intercambio iónico está ligada con la relación que existe entre Si^{4+}/ Al^{3+}, donde mientras más sustituciones de Si^{4+} por Al^{3+} se dé, mayor será el desequilibrio eléctrico y por ende mayor será el intercambio iónico por lo que dicha propiedad será aprovechada para la captura de los iones divalentes de Ni (II). (Corona *et al.*, 2009)

En el primer capítulo se muestra generalidades respecto al cacao, su producción en nuestro país se habla también de las variedades y su importancia en términos económicos a nivel de región y mundial, dando a conocer la razón la importancia del estudio desde un punto de vista de aporte a la comunidad agricultora del país, así como también su influencia en el marco económico social. En el segundo capítulo se ofrece una breve revisión de a los materiales

zeolíticos, sus formas y sus propiedades, haciendo énfasis en sus aplicaciones como compuesto remediador. En el tercer y cuarto capítulo del presente trabajo se realiza una descripción de la metodología utilizada, las técnicas fisicoquímicas y las discusiones respectivas respecto a los resultados obtenidos, y dándolo a conocer mediante análisis estadísticos para comprobar la significancia de nuestro tratamiento, demostrándose así los objetivos cumplidos.

CAPÍTULO I

1 GENERALIDADES

1.1 Theobroma Cacao L.

El cacao es una especie propiamente nativa de la amazonia tropical de América del sur y México, cuenta con una abundante diversidad genética tanto en estado silvestre, así como también cultivado. La diversidad genética del cacao es debido a la forma de su reproducción sexual, ya que dicha flor es hermafrodita ya que posee polen y pistilo por lo que el polen fecunda al ovario que está dentro del pistilo, dicha fecundación usualmente es realizada por insectos de entre ellas la mosca polinizadora de cacao *Forciphomyia* (Avila *et al*., 2017).

La clasificación del cacao está generalmente dada por su tipificación: Forastero, Criollo y Trinitario:

Forastero: Este grupo es conocido también como cacao amazónico, pues, son originarios de la cuenca del Amazonas, esta variedad es de alta productividad y por ello es la domina el mercado a nivel mundial, ocupando cerca del 95% del cacao cultivado a nivel mundial, en países como Brasil, África, Ecuador, Colombia, Perú y a lo largo del rio Orinoco en Venezuela. Esta variedad también es conocida por su sabor ligeramente ácido y/o amargo, por lo que sus frutos por lo general se usan para hacer chocolates comunes. (García y Pérez, 2011)

Criollo: Se le conoce como "criollo" (indígena), apelativo dado por los españoles, debido a que fue inicialmente cultivado en América central, México, Venezuela, Trinidad, y algunas islas del Caribe, por lo que representa el primer grupo de cacao que fue domesticado en el mundo. Poseen un sabor frutado, de acidez y amargor sutil y poseen una delicadeza aromática. Esta variedad de cacao es de muy buena calidad por lo que su demanda es alta para la chocolatería fina y elaboraciones selectas. (García y Pérez, 2011)

Trinitario: Esta variedad es conocida también un hibrido de las variedades Criollo y forastero, de sabor afrutado y perfumado posee una amplia gama de sabores , recibe su nombre del país Trinidad donde inicialmente se cultivó y a partir de allí se extendió hacia países tropicales como Venezuela, Ecuador, Colombia, Camerún, Nueva Guinea , donde por lo general su producción

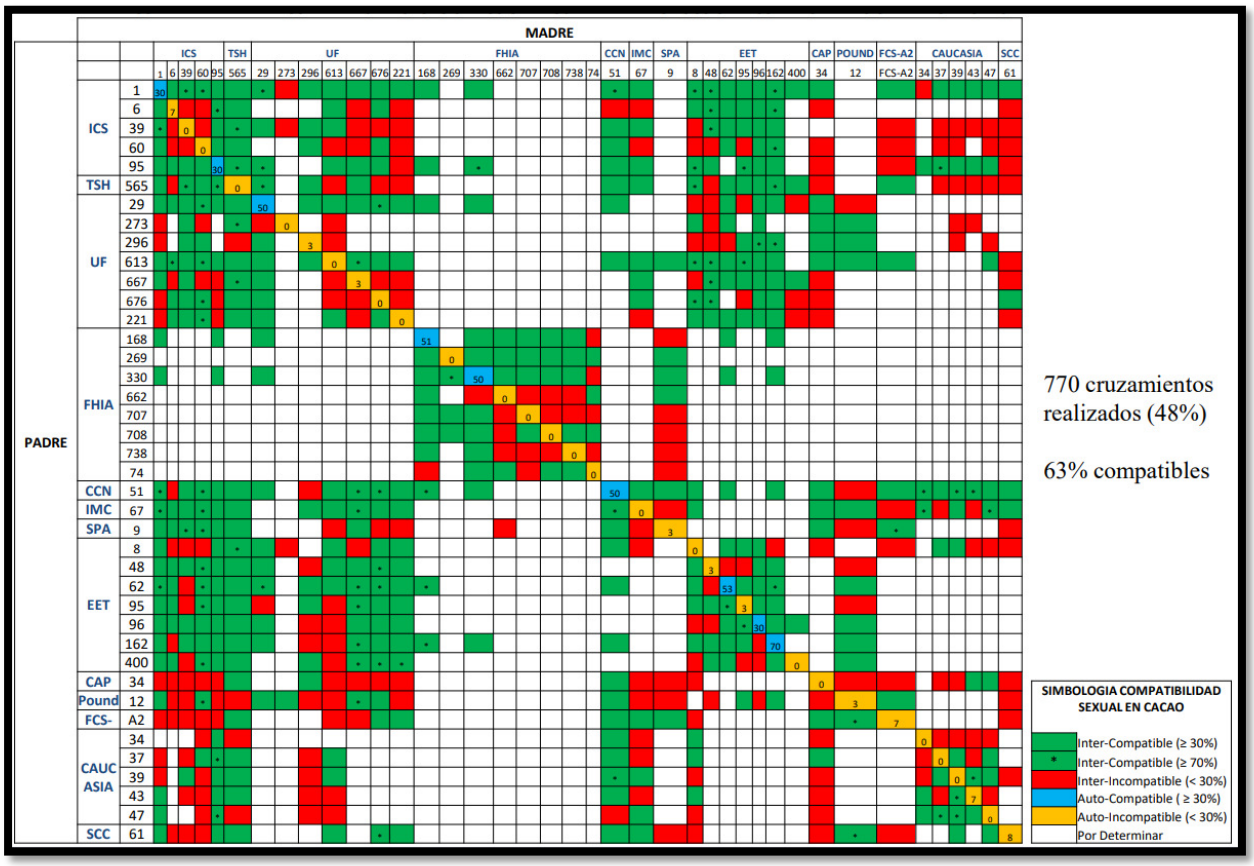
está ligada en conjuntos con la variedad Criollo (pero en menor cantidad) , por lo que también posee alta calidad, siendo la producción mundial de éste el 5%.(García y Pérez, 2011)

1.1.1 Genotipos de Cacao.

La diversidad existente entre variedades de cacao se debe a la compatibilidad o Inter compatibilidad genética que existe entre variedades, la cual tiene su génesis en la reproducción sexual, su mecanismo de polinización cruzada natural o recombinación genética Figura N°1.

Figura N° 1

Cuadro de compatibilidad sexual entre genotipos de cacao.



Nota: Adaptada de "*Compatibilidad sexual de cultivares de cacao para desarrollar propuestas de plantaciones con arreglos policlonales*", Fundación Hondureña de Investigación Agrícola (2019).

1.1.2 Genotipos utilizados en este trabajo.

En el catálogo de (García *et al.* 2010) "Cultivares de Cacao del Perú" se realiza una identificación plena de los genotipos en base a cinco descriptores para describir las características del cacao los cuales son: descriptores morfológicos, agronómicos, moleculares, industriales y de identidad. Para este trabajo se utilizó los siguientes genotipos de cacao.

a) ICS – 39

Genotipo correspondiente al grupo genético Trinitario, de gran tamaño con un color verde pigmentado con forma elipsoidal, surcos medianamente pronunciados, tiene aún aproximado de entre 30 a 35 semillas por cada mazorca, de sabor dulce (bajo), acidez (fuerte), y astringencia (media) (Figura N°2). Presenta una susceptibilidad a las enfermedades *Phytophthora palmivora* (pudrición parda), *Moniliophthora roreri* (Escoba de bruja) y *Crinipellis perniciosa* (Moniliasis). (García et al 2010). (García *et al.* 2010)

Figura N° 2

Genotipo ICS 39



Nota: (Imagen propia)

b) CCN – 51

Genotipo híbrido resultante del cruce de las variedades (IMC – 67 × ICS – 95) × Forastero desconocido, originario de Ecuador. Posee gran tamaño de color rojizo, surcos muy profundos, tiene una forma oblonga con una visible rugosidad superficial, presenta alrededor de 44 semillas por mazorca, posee dulzura (media), acidez (media), astringencia (media) y

susceptible también a las plagas “pudrición parda”, y a la “moniliasis” (moderadamente susceptible) Figura N°3. (García *et al.* 2010)

Figura N° 3

genotipo CCN-51



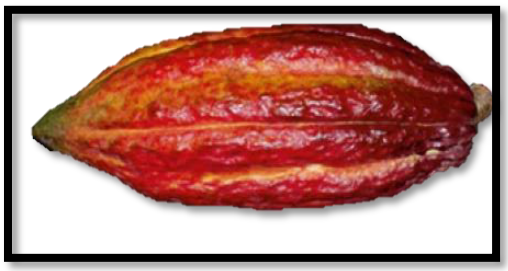
Nota: (Imagen propia)

c) TSH - 1188

Genotipo del tipo Forastero, tamaño grande, de anaranjado rojizo, tiene una forma oblonga, presenta nivel de surcos y rugosidad intermedios, produce entre 44 a 46 semillas por mazorca, dulzura (baja), acidez (media), astringencia (media) y presenta una alta capacidad de resistencia frente a plagas como la “pudrición parda”, “escoba de bruja” y una susceptibilidad moderada a la “moniliasis” (Figura N4). (García 2010)

Figura N° 4

Genotipo TSH - 1188



Nota: (Imagen propia)

1.1.3 El Cacao en el Perú y el Mundo.

A nivel mundial en los últimos años, la demanda de cacao ha ido aumentando, por ello también se ha incrementado su producción, que, a pesar de los eventuales problemas climáticos, sanitarios, antropogénicos, que ha mermado su producción a nivel mundial, la demanda sigue teniendo un pronóstico creciente, siendo áfrica la mayor productora a nivel mundial con 76% de la producción total, siendo seguidas por las Américas, Asia y Oceanía con un 19% y 5% respectivamente.(Huamán, 2021)

El Perú sigue siendo uno de los mayores productores de cacao a nivel de la región siendo el tercero con una producción total que oscila entre 150 a 158 miles de toneladas en los últimos dos años, de los cuales se exportaron entre 51 a 55 miles de toneladas en los periodos de 2019-2021. Perú es productor de las tres variedades de cacao: trinitario (53.3% de su producción total) proveniente de Junín, trinitario (37.3%) proveniente de las provincias Cusco y Ayacucho y Criollo (9.4%) de las provincias de San martín, Amazonas y Cajamarca.(Huamán, 2021)

Figura N° 5

Producción regional de cacao en grano, 2015-2021 (toneladas).

Departamentos	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021
PERÚ	**84 814**	**107 922**	**121 825**	**134 676**	**141 775**	**158 944**	**157 859**
San Martín	37 319	45 996	51 440	56 136	54 184	66 786	61 230
Junín	15 334	21 400	21 801	24 755	25 560	27 536	29 774
Ucayali	4 201	8 622	13 245	16 587	17 031	21 705	20 046
Huánuco	5 292	6 491	8 912	10 392	13 403	14 395	14 746
Cusco	8 048	10 788	8 707	8 192	9 915	7 476	6 576
Ayacucho	4 973	5 544	5 056	5 113	5 998	5 634	6 160
Pasco	1 144	1 338	1 835	3 881	4 407	4 033	4 597
Amazonas	4 718	4 224	6 352	4 514	5 108	5 052	4 081
Piura	768	658	599	1 009	1 438	1 385	1 540
Cajamarca	1 320	1 001	996	955	1 121	1 137	1 286
Otros	1 696	1 858	2 881	3 141	3 612	3 803	7 822

Nota: Imagen obtenida de *Boletín trimestral N°4 Comodities Cacao -MINAGRI*

1.2 Metales pesados en el suelo.

En general, los metales pesados están presentes en el suelo de forma natural como parte de su composición, así mismo también, hay actividades antropogénicas que producen dichos metales pesados como la minería, quema basura, uso de pesticidas, químicos y otros; así también existen actividades geológicas naturales como erupciones volcánicas, desgaste de los suelos, descomposición de organismos muertos, que favorecen el aumento de dichos metales. Dentro de los metales que se hallan en el suelo tenemos a los que forman parte de este en su composición, tales como: silicio, aluminio, hierro, magnesio, cobre, etc. Ahora bien, se consideran metales pesados a un grupo de elementos cuyas altas concentraciones son, muy nocivas y tóxicas para las plantas, organismos del suelo, animales y seres vivos en general. (Mahler, 2003). Tomando en cuenta el grupo de elementos como el plomo, cromo, mercurio, cobre, plata, níquel, cadmio, cobalto, zinc y Manganeso, son conocidos como oligoelementos, cuya función es servir de micronutrientes para cultivos y además es importante para el ciclo vital de ciertos organismos en pequeñas cantidades; el problema surge cuando dichos elementos se encuentran en concentraciones altas, donde su contribución como nutriente termina y se transforma en un agente contaminante para dichos organismos (García, I. and Dorronsoro, 2005). Los metales pesados en el suelo se encuentran como iones libres, éstos pueden estar retenidos en el mismo o también pueden movilizarse debido a distintos mecanismos biológicos o químicos ya sea en forma de soluciones o como parte sólida del suelo; dicha movilidad depende de varios factores tales como la especie de metal, textura suelo, tiempo, pH, potencial redox, capacidad de intercambio iónico de suelo, materia orgánica, humedad, entre otros (Sahuquillo et al., 2003).

1.2.1 Níquel (Ni).

El níquel fue incluido como microelemento esencial para las plantas en 1988 (Brown et al.,1998). A pesar de ello se ha demostrado que dicho elemento es fitotóxico cuando se acumula

en altas concentraciones; por lo general, el níquel se encuentra en el suelo superficial formando parte de otros compuestos tales como la nickelita, garnielita y en forma de sulfuros de hierro y níquel (Wood *et al*., 2004). Por otro lado, el níquel como parte de una disolución se encuentra fundamentalmente en su forma divalente Ni^{+2} de forma estable y capaz de movilizarse a través del perfil del suelo, por lo que generalmente suele encontrarse formando complejos ligandos y orgánicos. En su forma de Ni^{+2} es absorbido y transportado a los sitios metabólicamente activos de la planta ocasionando trastornos y efectos tóxicos; por lo que interfiere en la absorción y translocación de otros nutrientes necesarios para la planta ocasionando deficiencias en la misma.

Por otro lado, dicho metal pesado también es nocivo para la salud del ser humano ya que una de las formas en las se está en contacto es a través de los alimentos; como consecuencia de ello uno de los efectos que produce a raíz de ello es la presencia de alergias, dolor de abdomen, bronquitis, daño hepático y hasta en el caso extremo puede producir cáncer. (Nordberg and Costa, 2021). En cuanto a su presencia en el cacao, éste se encuentra en concentraciones bajas, pero se debe tener en cuenta que dicho metal es uno de los más abundantes en la superficie del suelo, así como también el hierro y cobalto. Hasta la fecha tanto el Codex Alimentarius, así como Comisión Europea no han designado un umbral máximo permitido para la concentración de níquel ni de plomo en cuanto al cultivo de cacao y sus derivados.

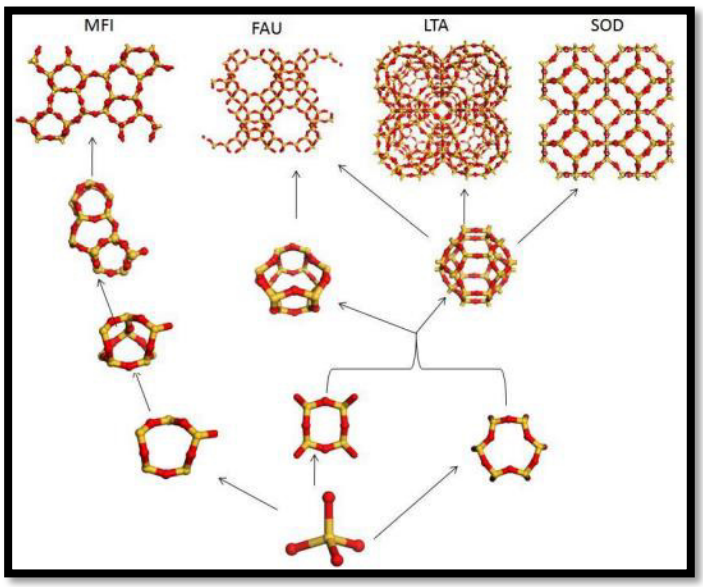
1.3 Zeolitas

Las zeolitas son sólidos cristalinos que poseen una estructura cristalina tridimensional de características porosas uniformes, están constituidas por la unión ordenada de estructuras primarias, siendo ésta constituida por cuatro átomos de oxígeno , formando así, los vértices de un tetraedro, unidos por un átomo de silicio o aluminio en el centro, esta estructura es denominada tetraedro $\mathbf{TO_4}$ donde **T** puede ser silicio o aluminio conectados entre sí por átomos

de oxígeno. Los tetraedros que componen la estructura primaria se pueden agrupar formando estructuras más complejas denominadas estructuras secundarias, siendo estas las causantes de su tridimensionalidad (Figura N°6). (Mgbemere *et al.*, 2017).

Figura N° 6

Estructuras de zeolitas formadas a partir de la unión de una unidad primaria



Nota: Se muestran estructuras complejas de zeolitas tipo Pentasil (MFI), Faujasita (FAU), Linde Tipo A (LTA), Sodalita (SOD). Imagen obtenida de *Dirección de estructuras en la síntesis de zeolitas usando cationes orgánicos imidazolios* (p.5), (Rojas, 2012).

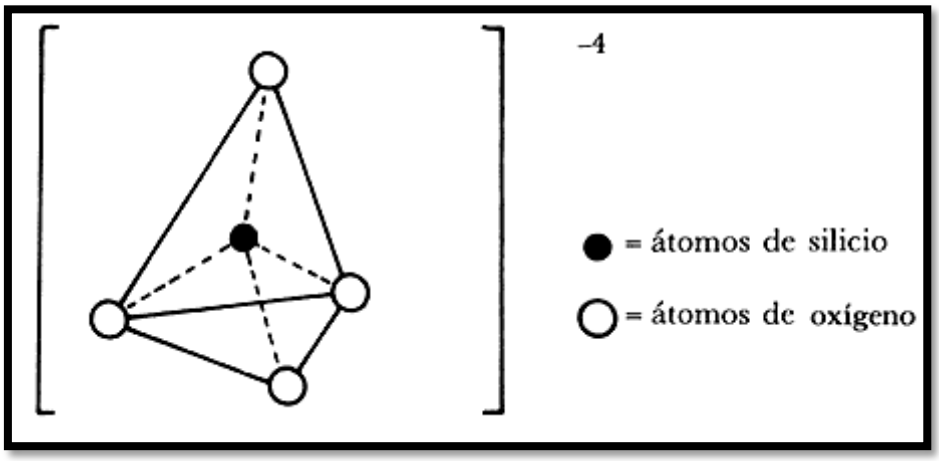
Las zeolitas son llamados también aluminosilicatos cristalinos que, desde un punto de vista químico, están formados por una estructura rígida, con cavidades porosas bien definidas, donde están situadas cationes metálicos y moléculas de agua, éstas últimas están presentes en los poros y son desprendidas de las zeolitas al aumentar de temperatura y en caso contrario se hidratan.

Las zeolitas tienen formula química general $M_{x/n}[(AlO_2)_x(SiO_2)_y \bullet m(H_2O)]$, donde "*n"* es la valencia del catión M, "*m*" es la cantidad de agua contenida en la zeolita. Como se puede

apreciar en la Figura N° 7 la base primaria de las estructuras zeolíticas son los tetraedros formados por $[\mathrm{AlO_4}]^{-5}$ y $[SiO_4]^{-4}$, los cuales están unidos con el oxígeno y debido a ello tienen una carga eléctricamente neutra formando estructuras tridimensionales. La carga iónica se forma cuando los átomos de Si (IV) son reemplazados por Al (III) lo cual origina un desequilibrio eléctrico, y es allí donde entra a tallar el catión metálico M que neutraliza la carga negativa provocada por dicho cambio (Calleja, 2009).

Figura N° 7

Tetraedro de silicio y oxígeno.



Nota: Imagen obtenida de *Caracterización de minerales zeolíticos mexicanos* (p.2*)*. (Jiménez 2004)

1.3.1 Propiedades estructurales y de textura de las Zeolitas.

Cuando estudiamos a las zeolitas, debemos tener en cuenta algunas propiedades características que poseen y que las diferencian unas de otras, pues estas propiedades son las que confieren a cada una de ellas una característica propia de cada tipo. Estas propiedades son consecuencia de las distintas estructuras zeolíticas y además cada estructura zeolítica se caracteriza por: la relación atómica de Si/Al, intercambio de cationes, y el tamaño y forma de sus poros.

1.3.2 Relación Si/Al

Como se ha mencionado antes, el contenido de cationes en las zeolitas es importante para determinar la relación que existe entre el Si/Al que éstas presentan, de forma que, si dicha relación cambia en una zeolita, también cambiará su contenido catiónico. La sustitución del ion Si^{+4} por uno de menor valencia como es el caso de Al^{+3} da a lugar a la formación de una carga negativa que será sustituida por un catión metálico o un protón. El intercambio de cargas que se genera, es responsable del carácter ácido o básico de la zeolita (Gomez, 2001). Cada estructura posee una relación Si/Al característico, siendo así por ejemplo la zeolita Linde A que tiene una relación Si/Al de 1, la zK-4, que con la misma armazón que la Linde A tiene una relación Si/Al de 2,5 mientras que la zeolita ZSM - 5, cuya relación Si/Al es de 20 Si, es decir no contiene aluminio (Calleja, 2009). En este aspecto se puede notar que aquellas zeolitas que poseen una relación baja de Si/Al tienen una mayor cantidad cationes intercambiables, son altamente hidrofílico y por el contrario si tienen una relación alta de Si/Al son hidrofóbicas (Auerbach *et al.*, 2021).

1.3.3 Capacidad de Intercambio Iónico (C.I.I.).

Es una magnitud que cuantifica el número de equivalentes de un catión que es retenido por una determinada cantidad de zeolita por intercambio iónico. Esta capacidad guarda relación con el Aluminio presente en la estructura zeolítica y depende directamente de su composición química (Breck, 1973). La relación que existe entre SiO_2/Al_2O_3 determina la capacidad de intercambio iónico determinando la correspondencia de una alta capacidad respecto a una baja relación de SiO_2/Al_2O_3 (Rodríguez-Fuentes and Inocente-Rodríguez, 2006)

1.3.4 Porosidad.

Debido a la estructura tridimensional que tienen las zeolitas éstas poseen canales y cavidades que permiten la adsorción de moléculas en su interior, dependiendo del tamaño o abertura y de la red de microporos, como se aprecia en la Figura N° 8, las zeolitas tienen la propiedad de actuar como un tamiz molecular tridimensional que permite que las moléculas con tamaños adecuados puedan alojarse en el interior de las cavidades (Calleja, 2009).

Figura N° 8

Tamaño de cavidad y canales de algunas zeolitas

Zeolita	Diámetro de la ventana (pm)	Diámetro de la cavidad (pm)
Sodalita	260	
Linde A	410	1140
Erionita A	360 x 520	
ZSM-5	510 x 550 540 x 560	
Faujasita	740	1180
Mordenita	670 x 700 290 x 570	

Nota: Diámetro de la zeolita Linde A, zeolita que contiene Na en su estructura.

Imagen tomada de *Importancia de las Zeolitas* (p.216) *(Calleja, 2009).*

La disposición de las cavidades y canales pueden decirnos mucho acerca de las zeolitas, pues según su posición pueden clasificarse en distintos grupos ya que, para clasificar a una zeolita en un determinado grupo, es necesario tener en cuenta el que los canales con las direcciones cristalográficas.

1.3.5 Propiedades de adsorción

La adsorción es un fenómeno netamente superficial mediante el cual se extrae una cantidad materia de una fase, que por lo general es sólida, ésta se deposita sobre la superficie de otra, en

este proceso se la llama “adsorbato” a la sustancia que se concentra en la superficie. En general las zeolitas poseen una gran área superficial, por lo que presentan una gran capacidad de adsorción, que en parte es provocada por los poros y cavidades. Si analizamos el tamaño de poro de una zeolita podemos notar que aquellas moléculas que son demasiado grandes tienen de ser discriminadas, por lo que esta propiedad es la que da origen a la propiedad de las zeolitas de ser un tamiz molecular. (Calleja, 2009)

1.4 Zeolita tipo 5A

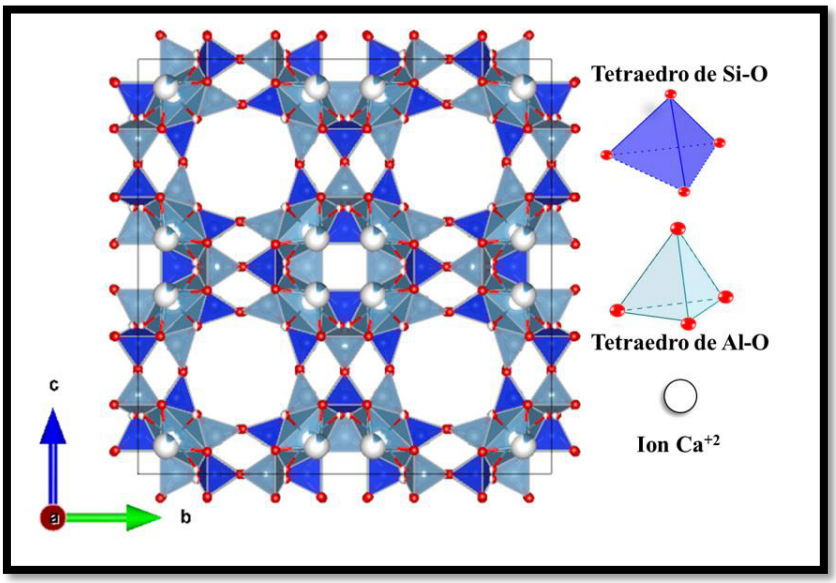
En general las estructuras zeolíticas del tipo A están compuestos de sodio y aluminosilicatos que conforman la estructura cristalina tridimensional que las define, dicha estructura cristalina es la que permite que el tamiz molecular adsorba algunas moléculas mientras rechaza otras moléculas que son demasiado grandes para caber dentro del cristal.

Los cristales de tipo A, inicialmente son todos de tipo 4 A, lo que significa que las cavidades de los poros tienen cuatro Angstroms de diámetro con una estructura cristalina de tipo A. Estos cristales 4A son pueden adsorber moléculas que tienen menos de 4 Å de diámetro, como el agua, por lo que permiten el paso de moléculas más grandes como el metano.(Briceño, 2019)

Si se desea una apertura de poro ligeramente más grande, se utiliza calcio en un intercambio iónico para producir un tamiz molecular Tipo 5A, pues un ion de sodio se intercambia con el ion de calcio ligeramente más pequeño, lo que aumenta el tamaño de los poros del cristal. La zeolita tipo 5A es capaz de adsorber ciertos mercaptanos, que son contaminantes muy comunes del crudo de petróleo por lo que estas propiedades permiten que este tamiz molecular se utilice en la refinación de GNL y GLP para eliminar los compuestos de azufre al tiempo que permite que los hidrocarburos deseados pasen a la corriente del producto. (Browning, 2017).

Figura N° 9

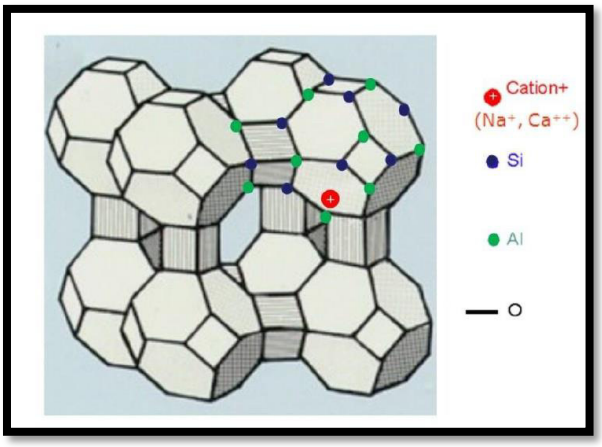
Imagen de la estructura de la zeolita 5A



Nota: estructura de la zeolita 5A obtenido mediante el software VESTA, utilizada para el refinamiento Rietveld (imagen propia).

Figura N° 10

Estructura de la Zeolita tipo A.



Nota: Zeolita tipo A cuyos cationes intercambiables característicos son Na y Ca. Imagen tomada de (https://es.slideshare.net/leugim89/zeolitas-28464310). Portilla (2013).

CAPÍTULO II

2 TÉCNICAS EXPERIMENTALES

2.1 Rayos X

Los rayos X fueron descubiertos en 1895 por el físico alemán Wilhelm Conrad Röntgen mientras se dedicaba al estudio de los rayos catódicos en un tubo de descarga gaseosa de alta tensión eléctrica (tubo de Crookes).

Los rayos X son radiaciones electromagnéticas cuya longitud de onda varia desde unos 10 nm hasta 0,01 nm. Este tipo radiación es producida en tubos sellados al vacío cuya finalidad es acelerar electrones desde un cátodo por medio de altas tensiones eléctricas y hacerlos incidir sobre un blanco metálico (ánodo) y de ello se observa que mientras menor sea la longitud de onda de los rayos X, mayor será su energía y poder de penetración. (IPICYT, 2020)

2.1.1 Difracción de Rayos X

La difracción es un fenómeno producido por la interacción de radiación electromagnética de cierta longitud de onda con los átomos internos de una estructura cristalina y dependiendo de la regularidad de dicha estructura se da a lugar distintos fenómenos llamados dispersión coherente, dispersión incoherente y absorción (Pecharsky, 2008). Los rayos X incidentes, al incidir sobre una muestra cristalina son dispersados en distintas direcciones, debido al ordenamiento periódico y ordenado de dicha estructura siendo tal que se produce un fenómeno llamado interferencia, ya sea del tipo constructiva o destructiva.

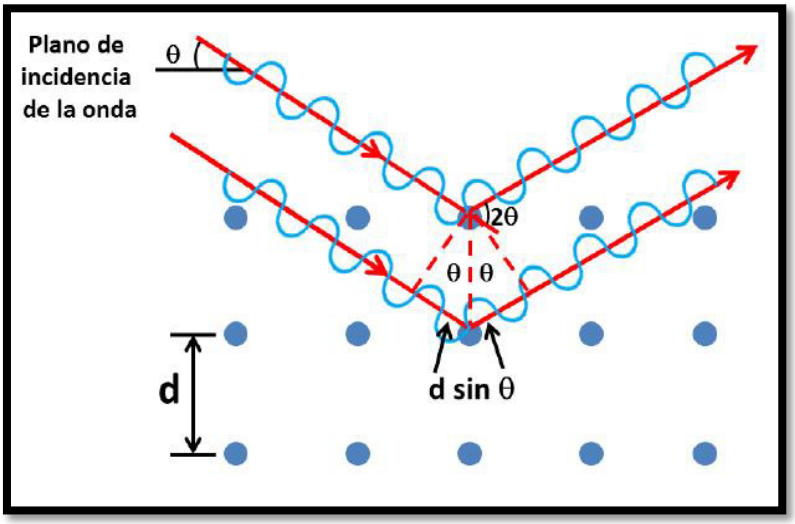
La regularidad de la estructura cristalina de la muestra es de vital importancia, pues si dicha muestra posee una regularidad en cuanto al orden periódico de los átomos que la conforman y, además, si los Rayos X difractados por planos paralelos separados por una distancia característica "**d**" y dicha distancia es lo suficientemente comparable a la longitud de onda de la radiación incidente, entonces se produce una interferencia tal que será captado por un

detector (Figura N° 11). Dicho fenómeno está representado por la ecuación (1) conocida como la ley cinética de Bragg.

$$n\lambda = 2dSen\theta \ldots (1)$$

Figura N° 11

Relación del ángulo de incidencia y la distancia interplanar de una red cristalina



Fuente: Representación de la Ley de Bragg. Imagen tomada de *Manual de Operación del difractómetro de rayos X D8 Advance, BUKER AXS.* (p.6). (IPICYT. 2020)

Para una familia de planos racionales {hkl} de distancia interplanar "d", los rayos incidentes de longitud de onda λ serán refractados solo si el ángulo de incidencia $\boldsymbol{\theta_{hkl}}$ cumpla la ley de Bragg. Como consecuencia de este fenómeno cada vez que el haz incidente se difracta desde la muestra hasta el detector y mide la intensidad, el ángulo del haz reflejado se despliega en el controlador obteniéndose así las cuentas de cada pulso que conforman el patrón de difracción de la muestra.

2.1.2 Método de Rietveld

La técnica de Difracción de rayos X es una técnica utilizada para la caracterización de materiales cristalinos, el cual se complementa con el método Rietveld, con el cual se puede

realizar refinamientos teóricos de parámetros estructurales, parámetros de red, posiciones atómicas, etc., y a su vez refina, también, parámetros experimentales que están ligadas a las condiciones experimentales de la muestra analizada en el difractómetro. Luego de ajustados estos parámetros, se realiza una serie de iteraciones hasta que el ajuste alcance un nivel de convergencia en donde los picos de intensidad experimentales sean similares a los teóricos.

(Casagrande and Blanco, 2004)

En la actualidad hay una serie de programas que tienen implementado este método y algunos de estos son de código abierto por ejemplo Fullprof Suite, DBWS, GSAS, entre otros. Para efectos de este trabajo se empleará el software Fullprof Suite debido a su interfaz simple (Editor PCR) con respecto a los datos de entrada y salida.

La función de minimización está dada por:

$$S_y = \sum_i w_i (y_i - y_{cal})^2 \qquad (2)$$

donde,

$w_i = \frac{1}{y_i}$

y_i : intensidad observada (experimental)

y_{cal} : Intensidad calculada

El cálculo de las intensidades calculadas y_{cal} se realizan a partir del factor $|F_K|^2$, donde F_K son los llamados factores de estructura calculados del modelo estructural, las reflexiones vecinas de Bragg y el fondo del difractograma. De esta manera la intensidad está dada por:

$$y_{cal} = s \sum_K L_K |F_K|^2 \phi(2\theta_i - 2\theta_K) P_K A + y_{bi} \qquad (3)$$

donde; s es el factor de escala que depende de la cantidad de la muestra irradiada, K representa el conjunto de los índices de Miller, (h, k, l) para una reflexión de Bragg, L_K contiene los

factores de Lorentz, polarización y los factores de multiplicidad (m_{hkl}), $\phi(2\theta_i - 2\theta_K)$ es una función para el perfil de la reflexión, de entre las que se encuentra funciones gaussianas, lorentzianas o ambas (pseudo Voigt), P_K, es la función de la orientación preferencial cuya importancia es relevante cuando no se tiene a la muestra en una disposición deseada, A, es un factor de absorción que depende del espesor de la muestra, F_K, definido para la K-ésima reflexión de Bragg y finalmente y_{bi} es el valor de fondo de la intensidad en el i-ésimo punto (Young y Wiles, 1982)

$$F_K = \sum_j f_j \exp\left[2\pi(hx_i + hy_i + lz_i\right] \qquad (4)$$

donde f_j es el factor de dispersión atómico, el cual mide la dispersión que ejerce cada átomo sobre los rayos X y es independiente de la posición del átomo en la celda unitaria.

2.1.3 Función Perfil de Difracción.

Al momento de describir un pico de difracción se debe recurrir a distintas funciones analíticas que puedan modelar, además del pico, el ancho a media altura, la asimetría, orientación preferencial, background, etc., y para ello éstas funciones generalmente están descritas por tres parámetros tales como su posición $(2\theta_K)$, una intensidad I_0 y el ancho a media altura (FWMH).

Para eso a continuación mostramos algunas de las funciones que modelan los picos del perfil de difracción:

a) Gauss (G)

$$\frac{C_0}{H_k \pi^{1/2}} \exp\left(-\frac{C_0(2\theta_i - 2\theta_K)^2}{H_K^2}\right) \qquad (5)$$

b) Lorentz (L)

$$\frac{C_1}{H_k \pi} 1/\left[1 + C_1\left(\frac{(2\theta_i - 2\theta_K)^2}{H_K^2}\right)\right] \qquad (6)$$

c) Pseudo-Voigt (pV)

$$\eta L + (1 - \eta)G \quad (7)$$

donde, el parámetro η puede ser refinado como una función lineal de 2θ , púes las variables refinables son NA y NB:

$$\eta = NA + NB * (2\theta) \quad (8)$$

El modelo pseudo – Voigt es la combinación lineal de una función Gaussiana y una Lorentziana. El parámetro η describe si la forma del pico de la difracción es Gaussiana PseudoVoigt o Lorentziana. Si el valor de η se encuentra entre 0 y 1 se tiene una combinación de ambas. (Figura N° 12)

d) Modificación de la función pseudo Voigt, Thompson-Cox-Hastings (TCHZ)

$$TCHZ = \eta L + (1 - \eta)G \quad (9)$$

donde:

$\eta = 1.336603q - 0.47719q^2 + 0.1116^3$

$q = \frac{\Gamma_L}{\Gamma}$

$\Gamma = (\Gamma_G^5 + A\Gamma G^4\Gamma_L + B\Gamma_G^3\Gamma_L^2 + C\Gamma_G^2\Gamma_L^3 + D\Gamma_G\Gamma_L^4 + \Gamma_L^5)^{0.2} = H_K$

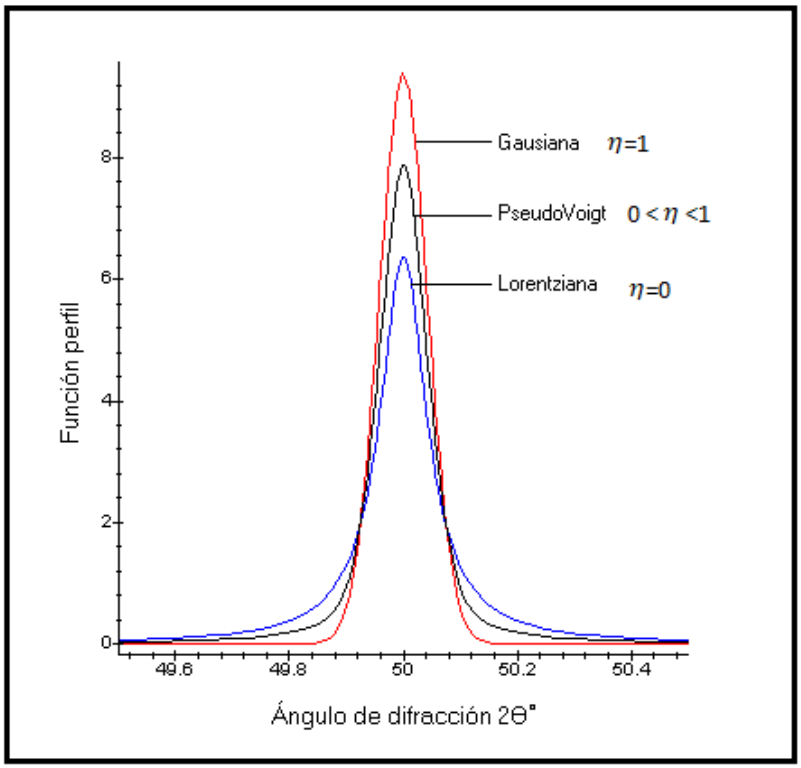
$A = 2.69269 \quad B = 2.42843 \quad C = 4.47163 \quad D = 0.07842$

$$\Gamma = (U\tan^2\theta + V tan\theta + W + Z/\cos^2\theta)^{1/2} \quad (10)$$

$$\Gamma_L = X tan\theta + Y/cos\theta$$

Figura N° 12

Picos de difracción para distintos valores de η.



Notas: Figura obtenida de *"Método de Rietveld para el estudio de estructuras cristalinas".* (p3). (Casagrande y catillo *2004). UNI.*

La modificación consiste en agregar el término con el parámetro Z al original de (Thompson et al., 1987); función pseudo-Voigt (TCH') para proporcionar un componente de la FWHM gaussiana que es constante en d. como lo es el componente Y del FWHM Lorentziano.

Los coeficientes de Cagliotti U, V, W (ensanchamiento instrumental) y Z (ensanchamiento por tamaño del cristal) son parámetros que pueden ser refinados y junto con los parámetros de forma X, Y. (Caglioti et al., 1960)

Con respecto al background puede tener diferentes orígenes, ya sea por presencia de fases amorfas en la muestra, a la fluorescencia producida por la muestra, etc. Por ello la importancia del modelado de la intensidad del fondo Y_b, el cual puede ser realizado de tres maneras:

a) Escribiendo manualmente los valores del fondo o background durante cada paso.

b) Mediante una interpolación lineal entre puntos seleccionados del patrón de difracción.

c) Utilización de una función que modele background.

Cuando se refina el background se utiliza una función polinómica que lo pueda representar de una forma más precisa, dicho polinomio puede tener un grado lo suficiente complejo para poder realizar un adecuado modelado del background por lo que también a su vez aumentan el número de variables a refinar.

Dentro de los criterios de refinamiento utilizados para verificar la validez del modelo se tienen los siguientes:

A) Residuo del patrón de peso: El factor R_{wp} del perfil ponderado, este número indica que los datos de la difracción son correctos, pues el numerador posee la función residuo que está siendo minimizada mientras se realiza el refinamiento.

$$R_{wp} = \left[\frac{\sum w_i\left(y_{i(obs)} - y_{cal}\right)^2}{\sum w_i\left(y_{i(obs)}\right)^2}\right]^{1/2} \qquad (11)$$

Donde:

$y_{i(obs)}$: intensidad observada en el paso i

$y_{i(cal)}$: intensidad observada en el paso i

B) El factor esperado: R_{exp}, es el cociente de los grados de libertad del sistema, donde N es la cantidad de observaciones mientras que P, la suma de las desviaciones estándar de las intensidades.

$$R_{exp} = \left[\frac{(N-P)}{\Sigma\left(y_{i(obs)}\right)}\right]^{1/2} \qquad (12)$$

c) El ajuste de "bondad" χ^2: Es un parámetro estadístico que describe la aceptabilidad de un ajuste para un conjunto de observaciones.

$$\chi^2 = \frac{R_{wp}}{R_{exp}} = \sqrt{\frac{\sum w_i(y_i - y_{cal})^2}{N-P}} \quad (13)$$

(IPICYT, 2020 citando a Young, 1995)

2.2 Espectrometría Raman.

La espectroscopía Raman es una técnica espectroscópica óptica fotónica de alta resolución empleada para el análisis cualitativo y cuantitativo en la ciencia de materiales, ya sea orgánico o inorgánico pudiendo así identificarlo a nivel vibracional y estructural. El efecto Raman surge luego de que la luz monocromática incidente interacciona con los electrones de la muestra cuyas características moleculares se desea obtener. Para entender mejor este fenómeno, debemos tener en claro un concepto importante que da a lugar a dicho fenómeno, llamada dispersión. (Ferraro *et al.*, 2003)

2.2.1 Dispersión.

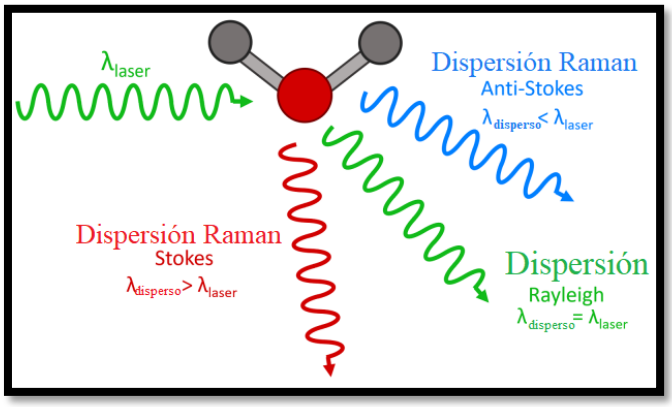
La dispersión es la desviación de luz de un haz monocromático al interactuar con una muestra (Figura 13), dicha interacción hace que el vector de campo eléctrico de una onda electromagnética se disperse con menor o mayor frecuencia, dependiendo de la vibración y rotación de las moléculas de la muestra que se está analizando. Estas interacciones producen oscilaciones periódicas en los electrones de las moléculas del compuesto; por lo que éste produce momentos eléctricos oscilantes y esto lleva a tener nuevas fuentes de radiación en todas las direcciones.

Tipos de dispersión:

1. Elástica (dispersión Rayleigh.): interacción fotón-molécula produce un nuevo fotón dispersado que posee la misma frecuencia que el fotón incidente por lo que la molécula vuelve a su estado energético inicial.
2. Inelástica: Se produce cuando la interacción fotón-molécula produce un fotón dispersado con una frecuencia distinta al fotón incidente, éstas pueden ser de baja frecuencia (mayor longitud de onda) y frecuencia más alta (menos longitud de onda).

Figura N° 13

Interacción luz—molécula.



Nota: Tres tipos de procesos de dispersión que pueden ocurrir cuando la luz interactúa con una molécula. Imagen tomada de *"What is Raman spectroscopy?"*. Edimburg Instruments 2022. *(https://www.edinst.com/blog/what-is-raman-spectroscopy/.)*

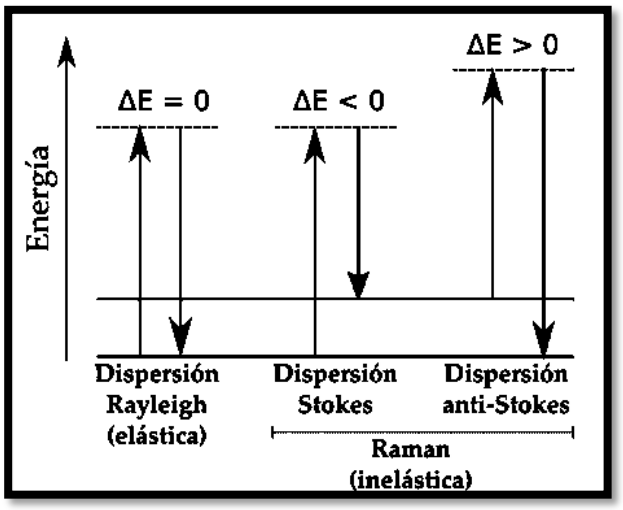
2.2.2 **Dispersión Raman.**

En la dispersión Raman actúan dos fotones de distintas energías cuya diferencia de energía es el resultado de un cambio de estado vibracional o rotacional de la molécula, causado por la interacción con los fotones, por esta razón, la espectroscopía Raman provee información acerca de las propiedades moleculares tanto como los modos y tipos vibracionales. La

intensidad de la luz dispersada depende de factores tales como tamaño de la partícula, ángulo con respecto al haz incidente, la frecuencia e intensidad del haz incidente. En la dispersión Raman la energía de la luz que incidente sobre la molécula no es suficiente para excitarla a un nivel electrónico de mayor energía, así el resultado de la dispersión Raman es cambiar el estado vibracional de la molécula (Figura N°14). (Mazariego, 2000).

Figura N° 14

Diagrama de Jablonski



Nota: Transiciones energéticas de Rayleigh, Stokes y Anti-Stokes. Imagen tomada de *Espectroscopía Raman de glóbulos rojos (gr) en individuos con y sin diabetes mellitus tipo II.* Rodríguez (2021)**.**

2.3 Espectroscopia de Absorción Atómica

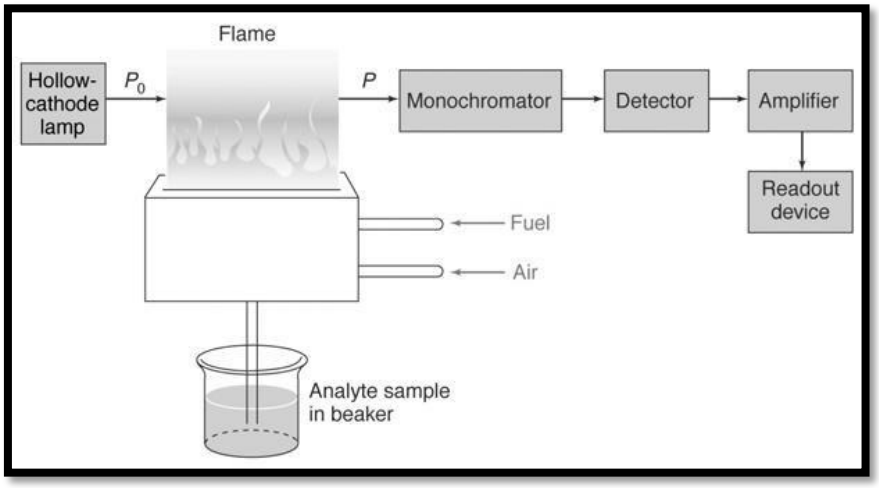
La absorción atómica es el proceso mediante el cual los átomos de un elemento en estado fundamental absorben energía a una determinada longitud de onda, dicha cantidad de radiación que se absorbe aumenta a medida que el número de átomos del elemento analizado

estén presentes en el camino óptico, lo cual nos permite determinar elementos existentes en la muestra. Cabe resaltar que esta técnica no requiere cantidades tan grandes de muestra pues la cantidad y puede llegar a determinar cantidades de elementos presentes en la muestra de hasta 10^{-14} g con razonable selectividad utilizándose esto con fines analíticos cuantitativos. En sus inicios este método se utilizó solo para la determinación de elementos metálicos, pero hoy en día se han desarrollado formas indirectas que permiten la cuantificación de una gran diversidad de aniones y compuestos orgánicos. (Martínez, 2020).

Para la detección de metales mediante esta técnica, se sigue un esquema simple como se muestra en la Figura N°15. El proceso inicia con la muestra líquida que contiene el metal disuelto en una solución, la cual pasara por el nebulizador para que se forme una niebla densa que contenga partículas del metal; luego es sometido a una llama, donde la solución que contiene las partículas del metal se evapora, quedando solamente los átomos del metal que se está analizando. Luego los átomos formados son irradiados por un haz de luz a una longitud de onda específica proveniente de una lampara de cátodo hueco, los átomos en cuestión absorben una fracción de la radiación que proviene de la lampara, así mismo un monocromador capta la radiación restante y es emitida a un detector que convierte dicha radiación en señales eléctricas para luego ser amplificadas y cuantificadas por un software. (Arias, 2010)

Figura N° 15

Esquema de un equipo de absorción atómica



Nota: Imagen tomada de *Espectroscopia de absorción atómica.* (Higuera 2016). https://slideplayer.es/slide/11117652/.

Figura N° 16

Espectrómetro de absorción atómica SpectrAA 55B



Nota: Equipo utilizado en instituto de cultivos tropicales ICT San Martin, Tarapoto.

Capítulo III

3 METODOLOGÍA

3.1 Metodología para la contaminación del sustrato.

3.1.1 Cálculo de la cantidad de solución contaminante

En (Alloway, 2012) se menciona que el suelo contaminado de Ni(II) presenta una concentración de 100 ppm, por lo que se tomó en cuenta dicha concentración para los cálculos respectivos. Para los cálculos para la preparación de la solución contaminante se tomaron como precursor contaminante el $NiCl_2 \bullet 6H_2O$, que fue disuelto en una fiola de 1 L con agua destilada. En la Figura N° 15 se muestra el momento en el que se realiza la pesa de 33.05 g de $NiCl_2 \bullet 6H_2O$.

Se requiere que cada maceta de 4 L tenga una concentración de Ni (II) de 100 ppm.

Cálculo de la concentración de Ni en una maceta.

$$C_1 * V_1 = C_2 * V_2$$

$$100_{ppm} * 4L = C_2 * 50\ mL$$

$$C_2 = 8000\ ppm$$

C_2: Concentración de Ni (II) disuelto en 1 L de agua destilada.

cálculo de la cantidad de **Ni** (II) en ***g*** que se debe pesar.

$$1ppm \rightarrow 1\ mg/L$$

$$8000ppm \rightarrow X\ g/L$$

$$X = 8\ g/L$$

Sabemos que la relación que existe entre el Ni y el compuesto $NiCl_2 \bullet 6H_2O$ está dado por:

$$\frac{\overline{M_{Ni}}}{\overline{M}_{\mathrm{Ni}Cl_2 \bullet 6H_2O}} = \frac{58.69}{237.79} = 0.247$$

La solución para preparar debe estar en la misma relación por lo que:

$$\frac{\overline{M_{Ni}}}{\overline{M}_{\mathrm{NiCl_2 \bullet 6H_2O}}} = 0.247 = \frac{8\ g/L}{m_{\mathrm{NiCl2 \bullet 6H2O}}} \qquad m_{\mathrm{NiCl_2 \bullet 6H_2O}} = 32.39\ g/L$$

La pureza del compuesto $NiCl_2 \bullet 6H_2O$ según el fabricante es del 98%, por lo que se quiere que dicha pureza sea del 100% entonces:

$$32.39\ g/L \rightarrow 98\%$$

$$m_{\mathrm{NiCl2 \bullet 6H2O}} \rightarrow 100\%$$

$$m_{\mathrm{NiCl2 \bullet 6H2O}} = 33.05\ g/L$$

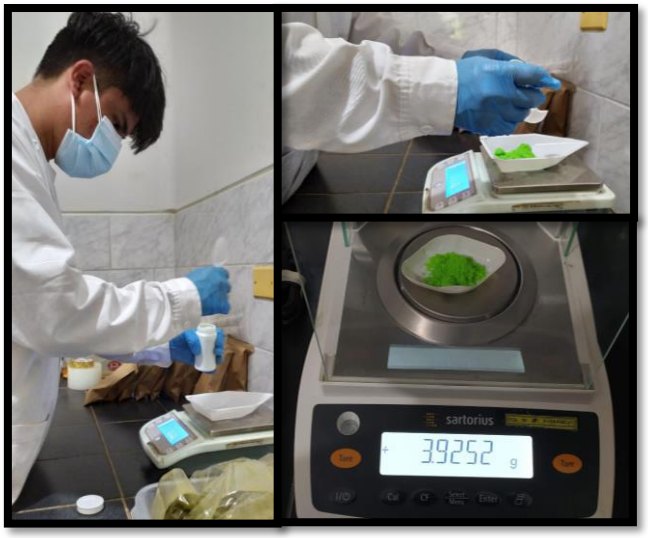
Si en 1 L se requieren 33.05 g, entonces en 7 L serán 231.4 g

3.1.2 Incubación del metal pesado en el sustrato

Para la contaminación del sustrato con la solución contaminante se procedió a colocar el sustrato en una bandeja, donde se procedió a verter la solución contaminante con una probeta de 50 mL, luego se procedió a mezclar de forma uniforme hasta que la solución sea homogénea en el sustrato. Seguidamente el proceso de mezcla será repetido por 3 veces por cada ciclo, siendo cada ciclo del contaminante humedecido y secado de forma uniforme, pues este proceso garantiza que los cationes de Ni, debido a su movilidad en el sustrato, este de forma uniforme en todo el volumen del sustrato.

Figura N° 17

Peso del material contaminante en una balanza analítica Sartorius propiedad del ICT



Nota: (imagen propia).

Figura N° 18

Preparación de 0.5g de suelo previo a la medida del nivel de pH respectivo.



Nota: (imagen propia)

3.2 Metodología para la siembra de plántulas de Cacao.

3.2.1 Recolección, preparación y homogenización del sustrato.

Según (Antonio *et al.*, 2004) el pH adecuado para el crecimiento eficiente del cacao oscila entre 6.0 a 6.5; permitiendo buenos rendimientos, pero también se ha demostrado que el cacao es adaptable a rangos de pH y dichos valores oscilan entre 4.5 hasta 8.5, por lo que en la Tabla N°1 se muestra los valores de pH obtenidos de los distintos puntos de donde se sacó una muestra, siendo el punto elegido con valores de pH 4.38, 4.62 y 4.80. En la Figura N°16 se muestra la preparación de la muestra antes de tomar las medidas de pH.

Tabla N° 1

*Valores de pH para cada punto de la estación Juan Bernito***.**

Puntos de muestra	pH
Punto 1 (Plantación de noni)	6.63 – 6.70 – 6.79
Punto 2 (Plantación de cítricos)	4.56 – 4.61 – 5.56
Punto 3 (Plantación de café)	4.18 – 4.52 – 4.64
Punto 4 (Plantaación de mangos)	4.38 – 4.50 – 5.88
Punto 5 (Plantación de carambola)	4.30 – 4.80 – 4.86
Punto 6 (Plantación de Teca)	5.03 – 5.08 – 5.13
Punto 7 (Plantación de ciruelo)	4.80 –5.56
Punto 8 (Plantación de sacha inchi)	5.21
Punto 9 (Plantación de plátano)	7.33 – 7.13 – 7.30
Punto 10 (Plantación de guanábano)	6.68 – 6.18 – 5.84

Por otro lado, al momento de tomar las muestras de suelo pertinentes se sometieron a un análisis de suelo para la caracterización de este, como se observa en la Tabla N°2.

Tabla N° 2

Análisis de suelo

Análisis Químico						
pH	**$CaCO_3$ (%)**	**M.O. (%)**	**N (%)**	**P (ppm)**	**K (ppm)**	**C.E (dS/cm)**
4.30	<0.3	0.81	0.04	1.65	24	0.08
CIC	CIC efec.	Ca	Mg	K	Na	Al^{+3}
			cmolc/kg			
8.60	4.60	1.62	0.58	0.06	0.34	2.00
análisis físico (%)		Arena	Limo	Arcilla	Clase textural	
		59.7	8.3	3204	Franco Arenoso	
Concentration de Ni (ppm)		1.83				

Luego se procedió con la colecta de suelo tomando entre 0 cm a 30 cm de la superficie (Arévalo-Gardini *et al.*, 2017) , la cantidad requerida de sustrato por maceta fue de 4 L para cada una, teniendo en cuenta que la densidad de tierra húmeda es de 1800 kg/cm^3 , debido al estado del suelo encontrado al momento de la extracción , la cantidad total para las 165 macetas fue aproximadamente de 1.188 kg.

La cantidad de 160 macetas corresponde a las distintas muestras que se optaron para el experimento como se muestra en la Tabla N°3.

Figura N° 19

Recolección del suelo del punto elegido para la preparación del sustrato.



Nota: (imagen propia)

Tabla N° 3

Diseño de parcelas y el número de macetas teniendo en cuenta las 6 dosis y 5 repeticiones.

Parcela A: Suelo no contaminado					
Genotipos	Repeticiones	Dosis	Zeolita	Metal Pesado	Total
3	5	-	-	-	15

Parcela B: Suelo contaminado con Níquel sin zeolita					
Genotipos	Repeticiones	Dosis	Zeolita	Metal Pesado	Total
3	5	--	---	1	15

Parcela C: Suelo contaminado con Níquel en presencia de zeolita					
Genotipos	Repeticiones	Dosis	Zeolita	Metal Pesado	Total
3	5	6	---	1	90

3.2.2 Implementación de un espacio idóneo para la siembra del cacao.

Según (Antonio *et al.*, 2004) el espacio (vivero) debe ser el mejor posible teniendo en cuanta varios parámetros como son la iluminación , la cantidad de sombra , topografía del terreno, etc. Debido a que estos parámetros influyen en su correcto crecimiento durante el periodo de prueba, así como también es importante darle el mantenimiento necesario como la extracción de malezas separación de semillas muertas, mantener a raya las plagas y hongos que puedan perjudicar el normal crecimiento de la planta. Hay que mencionar que las macetas estarán colocadas de forma aleatoria debido a que las condiciones en el vivero no son necesariamente iguales para las parcelas antes mencionadas. véase Figura N°20.

Figura N° 20

Vivero limpio y adecuado para la preparación de las macetas.



Nota: (imagen propia)

3.2.3 Recolección, y germinación de las semillas de cacao.

Para la recolección y germinación del cacao, se eligieron mazorcas maduras y bien constituidas ubicadas en el tercio superior del árbol (lo recomendable), luego se extraen las semillas ubicadas en las ¾ partes de la mazorca (semillas útiles) para luego ser limpiadas del mucilago que las cubre con aserrín mediante simple frotamiento. La germinación del cacao debe hacerse con cuidado y evitando que las semillas sean expuestas a contaminantes, serán dispuestas en una alfombra de aserrín húmedo a modo de "cama" para luego ser cubiertas con hojas de plátano para mantener la humedad. Lo recomendable es dejarlo incubar por un periodo de 1 o 2 días o hasta que la semilla tenga indicio de brote de raíz, lo cual significara que estar lista para ser sembrada (Antonio et al., 2004). Como parte del pregerminado se expuso a las semillas a un producto anti-fungicida; la dosis aplicada fue de 2 g/L, para evitar que dicha semilla se vea afectada por algún hongo, insecto y/o agente externo que pueda afectar su crecimiento. (Figura N°21 y 22)

Figura N° 21

Pregerminado y aplicación de fungicida "Para chupadera"



Nota: Imagen propia

Figura N° 22

Selección de frutos del árbol Theobroma cacao para su cosecha.



Nota: Mazorca con las semillas expuestas de cacao (izquierda) y Genotipos utilizados en el experimento. (Imagen propia)

3.2.4 Preparación y Aplicación de la Zeolita 5A en macetas.

La zeolita fue pesada en una balanza analítica en dosis de 0.5, 1, 2, 4, 6 y 8g respectivamente por cada genotipo utilizado, además se tuvo en cuenta el número de repeticiones por cada dosis; en (Lira-saldivar, 2016) se menciona que la zeolita puede ser utilizada como fertilizante de liberación lenta y mejorador de suelo (Figura N°23). La finalidad de la aplicación de la zeolita 5A como inhibidor de metal pesado, es que dicho compuesto tenga contacto con la parte radicular de la planta, por lo que se aplicó en la maceta en un orificio poco pronunciado alrededor de la semilla, siendo ésta mezclada con tierra en la relación de 1 a 2 debido a que la semilla es muy sensible a compuestos químicos por lo que la exposición directa puede ser perjudicial, debido a eso, se optó por colocar la semilla sobre una delgada capa de tierra entre la Zeolita 5A y la raíz de la semilla , esperando que la raíz con el paso del tiempo crezca y teniendo mayor consistencia tenga contacto con el compuesto. La semilla de

cacao debe estar colocada en el sustrato siendo cubierta solo la mitad para su debido crecimiento.

Figura N° 23

Peso de las dosis de 8 y 6 g de Zeolita 5A en una balanza analítica (izquierda). Aplicación de la zeolita en una maceta con 4 L de sustrato. (derecha)



Nota: (Imagen propia)

3.2.5 Distribución de las parcelas y las muestras de cada muestra.

Para este trabajo se utilizó el diseño de bloques aleatorios distribuido parcelas y con cinco repeticiones por cada tratamiento para cada genotipo, donde la parcela A de control con ausencia de metal pesado y zeolita será denominada parcela de control (P.C.), la parcela B tiene el metal pesado para cada genotipo (C.M.P) y mientras que la parcela C, donde los tratamientos fueron aplicados tanto con metal pesado y el compuesto Zeolita 5A (Z5A). Como se observa en la Tabla N°4.

Tabla N° 4

Codificación de las parcelas para cada genotipo y para cada dosis.

PARCELA A			PARCELA C		
	GENOTIPO	MUESTRA	GENOTIPO	DOSIS	MUESTRA
P.C.	ICS-39	C1-C5	ICS-39	D1	21 - 25
	CCN-51	C6-C10		D2	26 - 30
	TSH-1188	C11-C15		D3	31 - 35
				D4	36 - 40
				D5	41 - 45
				D6	46 - 50
			CCN-51	D1	51 - 55
				D2	56 - 60
				D3	61 - 65
				D4	66 - 70
				D5	71 - 75
				D6	76 - 80
			TSH-1188	D1	81 - 85
				D2	86 - 90
				D3	91 - 95
				D4	96 - 100
				D5	101 - 105
				D6	106 - 110
			PARCELA B		
			GENOTIPO		
		C.M.P.	ICS-39	D0	1 - 5
			CCN-51	D0	6 -10
			TSH-1188	D0	11 - 15

3.2.6 Fase de laboratorio.

Al término del tiempo establecido se procedió con el sacrificio de las plántulas de cacao teniendo en cuenta que dichas muestras serán analizadas en el laboratorio separando así la parte aérea de la parte radicular. Tener en cuenta que para este proceso las muestras para analizar fueron sometidas a un lavado previo qué consiste en exponer a la muestra a una solución de ácido clorhídrico al 0.5 % por 20 segundos luego se procedió a enjuagar dicha muestra con 500 mL de agua destilada.

Después del proceso respectivo de lavado y desinfección de las muestras se procedió a tomarles la medida del peso respectivo y la longitud, tanto de la parte aérea como la parte radicular para que luego dichas muestras sean guardadas sobres manila para su conservación y sometimiento a una estufa a 60 °C para su secado por el lapso de 3 días.

Pasado los 3 días se procedió con la trituración de las muestras mediante un molino mecánico para tenerlas muestras en polvo para su posterior análisis en el espectrómetro de absorción atómica (EEA) modelo VARIAN.

3.2.6.1 Variables biométricas.

A) Altura de la planta.

El registro de la altura de las alturas de las muestras se realizó con una regla milimetrada de 30 cm teniendo en cuenta que dicha medida se realiza desde la base del tallo hasta el ápice de la planta este proceso se realizó para cada muestra en cada parcela tomando dicha medida cada 15 días desde que la planta comienza a presentar parte aérea.

B) Diámetro de tallo.

Para la toma de medidas del diámetro de cada plántula se utilizó un vernier, así como también una regla milimetrada las medidas tomadas se realizaron cada 15 días, dicha medida está expresada en (mm).

C) Número de hojas.

El conteo del número de hojas de cada muestra se realizó desde que se presentó la primera hoja contando desde este entonces el número de hojas presentes en la planta durante los 90 días.

3.2.6.2 Indicadores de las variables de laboratorio

Las variables de laboratorio consistieron en el área, materia seca y análisis de Níquel de la parte aérea:

A) Área Foliar.

La toma Medidas del área foliar de cada muestra se realizó después del sacrificio de las plántulas, previamente lavadas y secadas, para lo cual se hizo uso del software ImajeJ, el cual da como resultado las medidas de dichas áreas expresadas en cm^2.

B) Materia Seca de la parte aérea.

Para el análisis de la materia seca se realizó la separación de tallos y hojas por una parte y raíz por otra, se lavó con agua destilada y con ácido clorhídrico al 0.5%. Se pesó la raíz y la parte aérea y se colocó en un sobre manila con su respectivo código en la estufa a 60 °C por 72 h y después se registró el peso seco y se expresó en gramos.

C) **Análisis de metales pesados en la parte aérea.**

Se trituraron las muestras de raíz y la parte aérea extrayendo de cada sobre manila, luego se recogió en una bolsa y se etiqueto con un código (un marcador indeleble) y se analizó en el laboratorio químico.

3.2.6.3 Preparación de la muestra

Para el proceso de preparación de muestras se tuvo en cuenta lo siguiente: para las muestras no contaminadas se requirió aproximadamente 2 g demuestra en polvo, mientras que para las muestras contaminadas con el metal pesado se requirió un peso de aproximadamente

0.3 g a 0.5 g; luego se adicionó 8 mL de ácido nítrico y se llevaron al bloque de digestión por un periodo de 10 horas aproximadamente a una temperatura de 130 °C luego de dicho proceso de digestión cada una de las muestras fue diluida en 50 mL de agua destilada para luego así pasar por el espectrómetro de absorción atómica en donde se analizaron la concentración del metal pesado.

Capítulo IV

4 RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1 Caracterización por DRX.

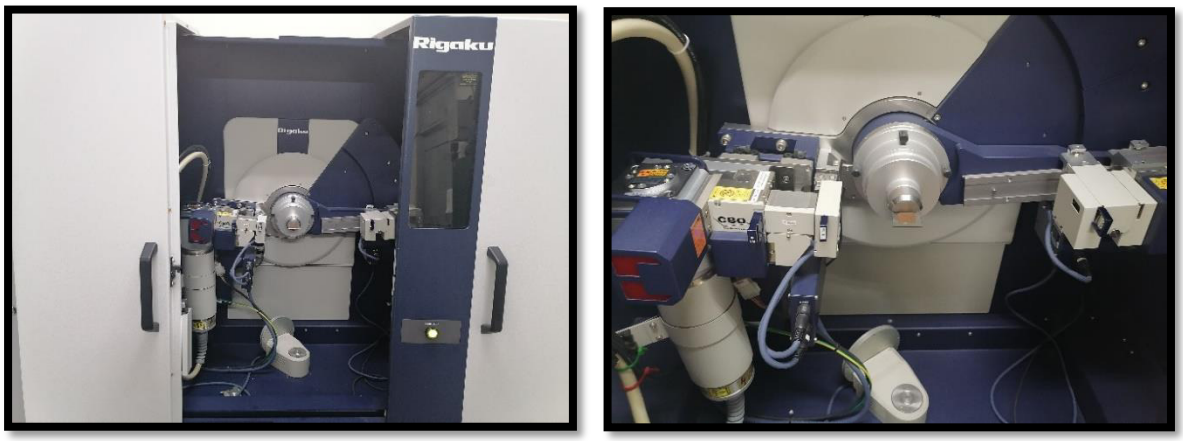
La muestra fue sometida a un análisis por difracción de rayos X en los laboratorios de espectrometría Mössbauer y Magnetometría (LEMAG) que está ubicado en Centro de Ciencias Exactas de la Universidad Federal de Espíritu Santo (UFES-Brasil). El difractómetro utilizado fue RIGAKU, el cual utiliza una radiación CuK_α (λ=1.5406 Å), 40 kV y 30 mA; para el análisis de la muestra en polvo el difractómetro operó con un arreglo óptico Bragg-Brentano, la cual está constituida por un goniómetro de radio fijo. Para el análisis del difractograma se comenzó con la identificación de la muestra mediante el software MatchV3 (versión 2021) para obtener los picos de Bragg , también se utilizó la herramienta WinPlotr para obtener un adecuado background del difractograma y se utilizó la carta cristalográfica (CIF) #2102128 del trabajo realizado por (Porcher *et al.*, 2000), además se utilizó el método de Rietveld para el refinamiento mediante el software Fullprof Suite y se organizó y ploteó el grafico del mismo mediante el software Origin 9.0.

La configuración inicial de la muestra tiene una estructura cubica, de grupo espacial $Fm\bar{3}c$ y parámetros de red $\mathrm{a} = \mathrm{b} = \mathrm{c} = 24.47$ Å.

Cabe resaltar también que al momento de refinar la muestra mediante el método de Rietveld se tomó en cuenta que el difractograma de la muestra corresponde a una fase hidratada por lo que al momento de refinar se agregó la contribución de oxígenos correspondientes a las moléculas (H y O) de agua presentes debido a la gran notoriedad de los tetraedros formados por los enlaces T-O-T, la cual hizo que aumentara la intensidad de los picos, entre los ángulos de 20° y 40° y se obtuvo un mejor refinamiento. Para hallar el tamaño del cristalito se requirió el archivo **.irf* generado por la muestra patrón utilizada que para este caso fue Al_2O_3 por lo que la estimación del tamaño estimado fue de 848.98 Å o 85 nm**.**

Figura N° 24

Difractómetro RIGAKU del laboratorio de espectrometría Mössbauer y Magnetometría (LEMAG) del Centro de Ciencias Exactas de la Universidad Federal de Espíritu Santo, Vitoria, Brasil.



Nota: Imagen propia

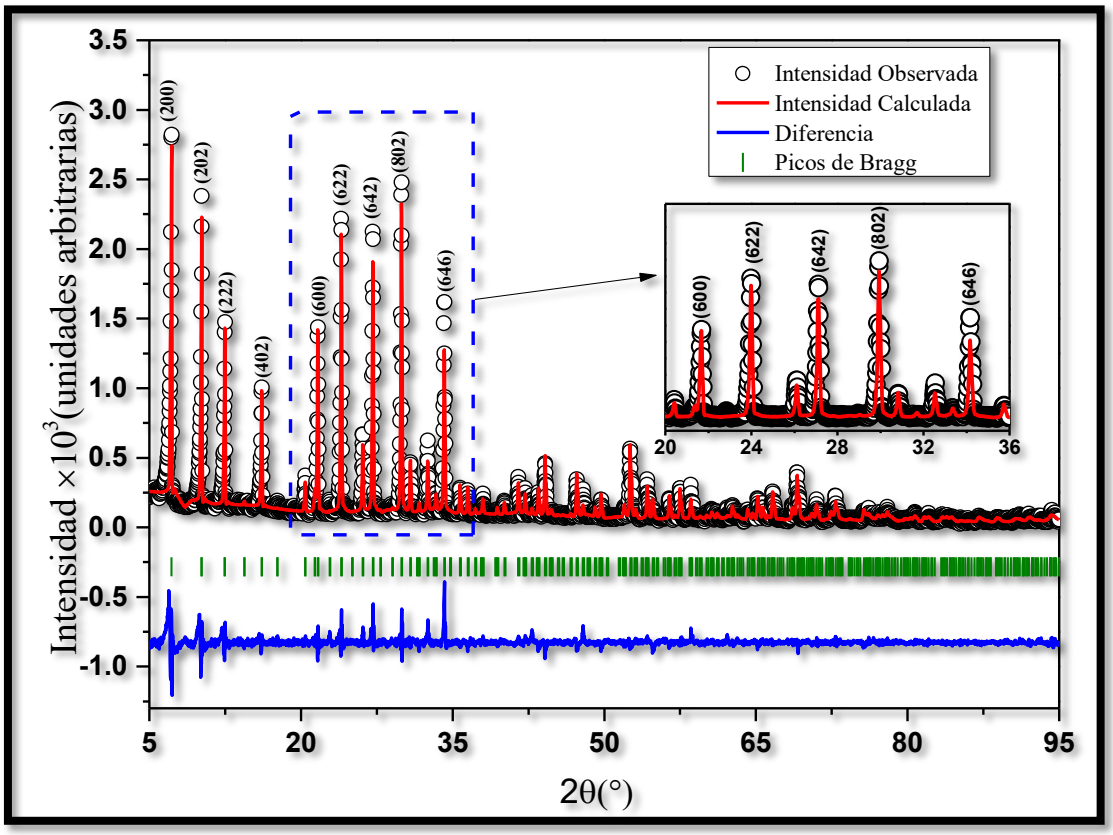
Tabla N° 5

Parámetros refinados por el método de Rietveld.

Muestra		Posiciones atómicas			Factor de térmico y Ocupancias		Parámetros de Red	Coeficientes de Cagliotti
		x	y	z	B (Å)	Occ.		
Sistema cúbico	Si	0.000	0.092	0.185	0.000	0.431	a = b = c = 24.6 Å α = β = γ = 90.0°	U = 0.005 V = -0.004 W = 0.003 I_G = 0.002 X= 0.005 Y = 0.045
	Al	0.000	0.184	0.095	0.000	0.429		
	O1	0.000	0.111	0.247	0.000	0.398		
	O2	0.0059	0.145	0.150	0.000	0.399		
	O3	0.053	0.059	0.171	0.000	0.431		
	Ca1	0.163	0.163	0.163	0.000	0.072		
	Ca2	0.099	0.099	0.099	0.000	0.116		
	Ca3	0.121	0.111	0.120	0.000	0.052		
	O4	0.003	0.015	0.083	0.000	0.118		
	O5	0.022	0.018	0.068	0.000	0.043		
	O6	0.189	0.189	0.189	0.000	0.109		
	O7	0.136	0.156	0.272	0.000	0.288		
	O8	0.176	0.100	0.265	0.000	0.333		
	O9	0.050	0.213	0.265	0.00	0.230		
	O10	0.211	0.034	0.237	0.000	0.121		
	O11	0.250	0.250	0.245	0.000	0.028		
Tamaño del cristalito (nm): 84.9								
Parámetros estadísticos (%)		$R_p = 28.9;\ \ R_{wp} = 28.3;\ \ R_{exp} = 16.81;\ \ \chi^2 = 2.84$						

Figura N° 25

Difractograma de la zeolita 5A



Nota: Refinamiento de la Zeolita 5A Rietveld con los respectivos índices de Miller obtenidos mediante el software MatchV3.En la gráfica se muestran la intensidad observada (círculos blancos), intensidad calculada (línea roja), la diferencia entre las intensidades observada y calculada (línea azul) y picos de Bragg (línea verde). (Imagen propia).

4.2 Caracterización por espectroscopía micro-Raman

El análisis de la muestra mediante la técnica de Espectroscopía micro-Raman se hizo en el centro de Caracterización de Materiales de la PUCP que cuenta con el espectrómetro de alta resolución Raman Renishaw (Figura N°26). La medición se realizó en el rango de 0 a 3000 cm^{-1} y se utilizó un láser cuya longitud de onda es de 785 nm correspondiente al espectro

infrarrojo; además, la potencia utilizada para fue de 41.4 mW con un porcentaje de 50%. A lo largo del espectro, no se mostró un cambio significativo que muestre indicios de alguna otra fase distinta.

Para el análisis de espectro Raman se tuvo en cuenta que la muestra es una Zeolita tipo A por lo que la estructura es la misma que las distintas zeolitas tipo A , pero en este caso debido al tamiz molecular de la muestra 5A se tiene que el catión intercambiable típico de las zeolitas tipo A que es el Sodio (Na) , en este caso dentro de la estructura de la zeolita 5A se tiene como catión intercambiable al Calcio (Ca) y como consecuencia de ello para este análisis se tomó como referencia el artículo de (P. K. Dutta and Del Barco, 1988) , en el cual se analiza una zeolita tipo A de Na.

En la Figura 27 se muestra el espectro correspondiente a la banda que va desde 100 cm^{-1} hasta 1200 cm^{-1}, pues es en este rango del corrimiento donde se observan los picos más importantes del espectro.

El primer pico corresponde al efecto que tiene el láser al incidir la muestra por lo que se puede ver en la Figura N°27 que la intensidad tiene una subida abrupta, luego para los picos que van desde 248 a 412 cm^{-1} corresponderían a los nodos que serían causados por los anillos que posee la zeolita , dicho sea de paso en el artículo se menciona que dichas frecuencias no cambian con respecto a la relación de Si/Al , mientras que el pico correspondiente a 491 cm^{-1} por lo que está ligado a los modos de estiramiento correspondientes a los enlaces T-O-T en donde se puede ver claramente que dicho pico se muestra muy pronunciado mientras que el pico de 699 cm^{-1} por el contrario es muy bajo, esto se debe según el artículo en mención, a la baja dependencia que tiene con respecto a la relación Si/Al . Por otro lado, se tiene la banda correspondiente a 970 a 1115 cm^{-1} donde se tiene que las contribuciones de los modos por parte de los enlaces T-O, la cual se debe a sus modos que tienen una vibración de flexión lo

cual sucede por varias razones, entre las más importantes el acompañamiento de cada átomo de Al en un tetraedro de Si enlazado por O.

Figura N° 26

Microscopio Raman inVIa – Renishaw. Fuentes de rayos láser usados en el Centro de Caracterización de Materiales de la PUCP.

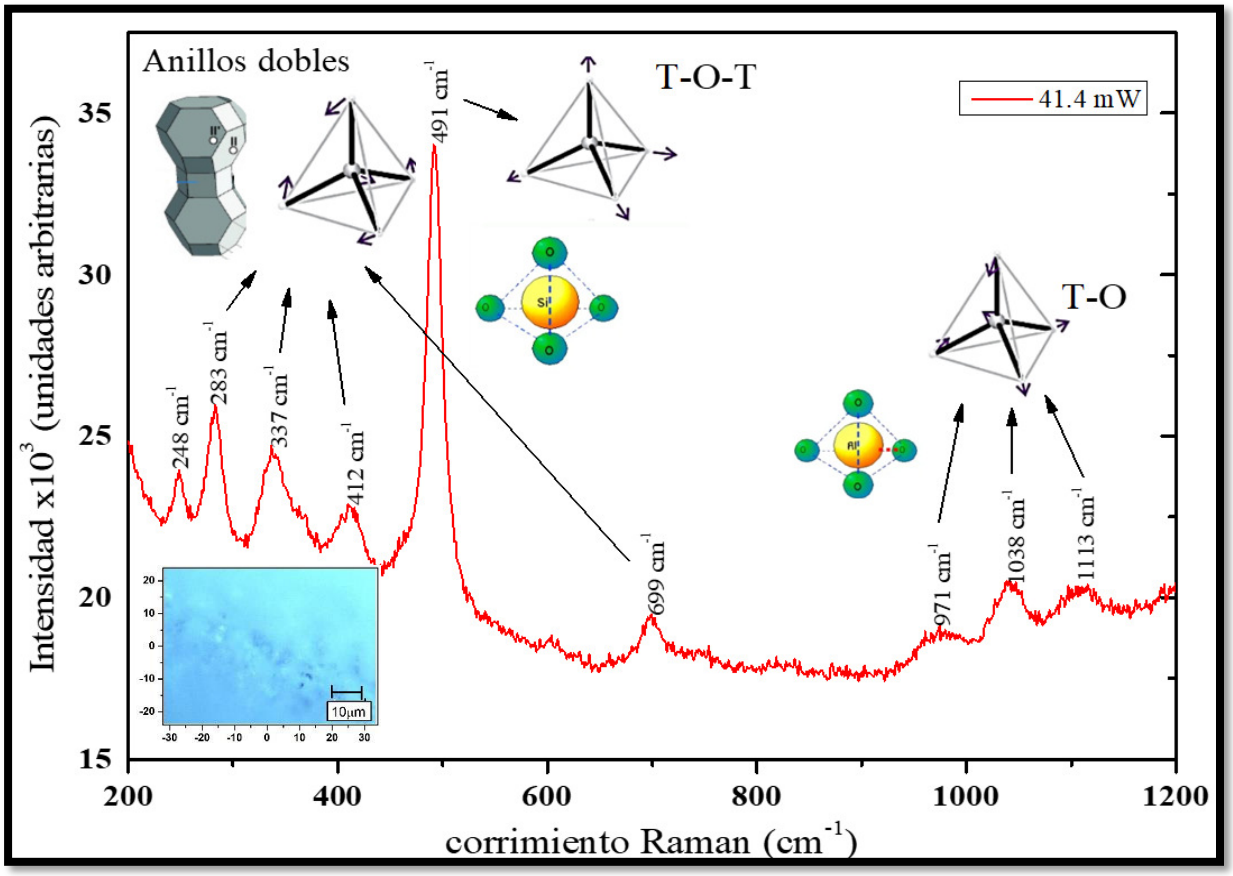


Nota: Imagen propia

.

Figura N° 27

Espectro Raman de la Zeolita 5A.



Nota: La imagen muestra el espectro Raman de la zeolita 5A con sus respectivos picos característicos después del recocido, mostrándose junto a ésta, una imagen de dicha muestra antes de la exposición a láser.

4.3 Análisis estadístico de resultados en plántulas de cacao.

Para el análisis de las distintas variables utilizadas en este trabajo, se recurrió a un análisis de varianza estadístico, cuya finalidad es buscar la significancia del tratamiento con Zeolita 5A con respecto a una muestra sin tratamiento, denominado control. Para el análisis respectivo se tomará como variables la dosis aplicada, genotipo de cada cacao y la interacción de dichas variables. Se necesita tomar en cuenta que para el análisis estadístico que se muestra de aquí en adelante se consideró tres repeticiones por cada plántula que sobrevivió al término del experimento. Para la mejor comprensión de las tablas se llamará D0 (0 g), D1 (1 g), D2 (2 g), D3 (4 g) a las dosis de Zeolita 5A respectivamente aplicadas como tratamiento para cada genotipo estudiado G1 (ICS-39), G2 (CCN-51) y G3 (TSH-1188). Para la estadística se hizo una comparación de la muestra contaminada con níquel sin presencia de Zeolita y solamente con níquel Control de Ni (CNi) con muestras de cada genotipo (tabla 6). El Análisis estadístico se realizó con Minitab Stadistical Software con una significancia $\alpha \leq 0.05$. Se evaluó el p-valor respecto de α para determinar la significancia de cada tratamiento, es decir, si $p \geq \alpha$ se acepta la hipótesis nula y por consiguiente no hay diferencia significativa en los tratamientos aplicados mientras que si $p < \alpha$, entonces existe significancia entre los tratamientos aplicados y se rechaza la hipótesis nula. Mediante el análisis de varianza, se identificó la significancia de los tratamientos mediante el análisis comparativo de Tukey para cada factor evaluado. Para grupos que no muestren una diferencia significativa dentro del análisis estadístico, se le asignó una misma letra y se aceptará la hipótesis nula, mientras que para grupos significativamente diferentes se les asignó letras diferentes y se rechazó la hipótesis nula. Para los cuadros de análisis estadísticos se utilizaron los siguientes términos para hallar los valores críticos F y p.

Grados de Libertad (G.L): cantidad de información de datos.

Suma de cuadrados (S.C).: Suma de cuadrados de cada elemento para cada tratamiento por factor ,media de los cuadrados (M.C.) y media de la suma de cuadrados por cada G.L.

Tabla N° 6

Etiquetas utilizadas de las dosis aplicadas y los genotipos utilizados

Dosis de Zeolita (g)	D0 0 g	D1 1 g	D2 2 g	D3 4 g
Genotipos	G1 ICS-39	G2 CCN-51	G3 TSH-1188	

4.3.1 Altura de plantones de cacao.

Para determinar la altura de los plantones de cacao se recurrió a un seguimiento quincenal en cuanto a las mediciones. Como se muestra en la Tabla N°7 se encontraron diferencias significativas en cuanto a los factores evaluados con respecto a la altura. Así mismo como se puede ver la en la Tabla N°8 la interacción de la dosis con respecto a cada genotipo donde se aplica la Zeolita 5A, se destaca los tratamientos aplicados con una dosis de 1 g para los genotipos G2 y G1 con media de alturas de 13.63 y 12.67 cm, con respecto a control con níquel que tiene una media de altura 10.02 cm, por lo que se puede inferir que dicha dosis es óptima.

Tabla N° 7

Análisis de Varianza CNi con G1 y G2 para D1

Fuente	**GL**	**SC Ajust.**	**MC Ajust.**	**Valor F**	**Valor p**
Dosis	1	27.938	27.938	1974.42	0.000*
Genotipo	1	0.924	0.924	65.31	0.000*
Dosis × Genotipo	1	0.500	0.500	35.35	0.000*
Error	8	0.113	0.014		
Total	11	29.4755			

***** *Significativo al 5 % con la prueba F.*

Tabla N° 8

Análisis Tukey aplicado a la variable altura

Dosis × genotipo	Media (cm)	Significancia		
D1 × G2	13.633	a		
D1 × G1	12.670		b	
D0 × G2	10.173			c
D0 × G1	10.026			c

Letras distintas son significativamente diferentes.

Ahora bien, análogamente analizamos el CNi con respecto a los genotipos G1 y G3 parala dosis D2 (2 g). Se puede notar, en la Tabla N° 9, que existe diferencia significativa con respecto a las alturas en los factores genotipo y su interacción, así mismo, el tratamiento aplicado en para el genotipo G1 es destacable (Tabla N°10).

Tabla N° 9

Análisis de Varianza CNi con G1 y G3 para D2.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Dosis	1	0.017	0.017	0.15	0.705
Genotipo	1	47.203	47.203	412.77	0.000*
Dosis × Genotipo	1	50.758	50.758	443.86	0.000*
Error	8	0.914	0.114		
Total	11	98.894			

***** *Significativo al 5 % con la prueba F.*

Tabla N° 10

Análisis Tukey aplicado a la variable altura.

Dosis×genotipo	Media (cm)	Significancia		
D2×G1	14.216	a		
D0×G3	10.173		b	
D0×G1	10.026		b	
D2×G3	6.136			c

Letras distintas son significativamente diferentes.

Ahora tenemos el comparativo del control de níquel (CNi) con respecto a los Genotipos G1 y G3 para una dosis de 4 g (D3) donde se puede notar que hay diferencia significativa en las alturas con respecto a las dosis aplicadas para cada genotipo Tabla N° 11.

Por otra parte, en la Tabla N°12 se puede apreciar la diferencia significativa de la dosis D3 en el genotipo G1, mientras que para la dosis D3 en el genotipo G1 no existe significancia alguna.

Tabla N° 11

Análisis de Varianza CNi con G1 y G3 para D3.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Dosis	1	30.720	30.720	479.56	0.000*
Genotipo	1	22.522	22.522	351.60	0.000*
Dosis × Genotipo	1	20.176	20.176	314.97	0.000*
Error	8	0.512	0.064		
Total	11	73.9314			

***** *Significativo al 5 % con la prueba F.*

Tabla N° 12

Análisis Tukey aplicado a la variable altura.

Dosis×genotipo	Media (cm)	Significancia
D3×G3	15.9667	a
D3×G1	10.6333	b
D0×G3	10.1733	b
D0×G1	10.0267	b

Letras distintas son significativamente diferentes.

De las tablas anteriores se puede notar que las muestras que contienen aplicación del compuesto zeolita 5A con respecto a las alturas evaluadas, podemos notar que el desarrollo de la plántula es favorable en cuanto a las muestras contaminadas. Por otro lado, si dichas muestras las comparamos con plántulas que no fueron expuestas a níquel ni a la zeolita (Figura 44, del anexo), se nota de forma inmediata que dichas plántulas alcanzaron un promedio de altura de 29.46 cm para el G1, 27.66 cm para el G2 y 27.57 cm para el G3; por lo que se puede apreciar la influencia del metal pesado. Teniendo en cuenta que la presencia de níquel en el sustrato fue administrada en una solución acuosa y además siendo un medio alcalino con un pH de 4.3 – 4.6, la movilidad del níquel fue alta, siendo absorbida por la plántula y teniendo efectos visibles en la altura. Esto se justifica en el hecho de la capacidad de intercambio iónico que existe en el sustrato, pues al ser un medio ácido, la presencia de H+ es muy alta y así mismo el intercambio por iones Ni^{+2} será mayor, siendo más probable que el intercambio catiónico sea favorable por el Ca^{2+} en la zeolita y por la hidratación superficial.

Figura N° 28

Tamaño de las plántulas para cada muestra en los 90 días.

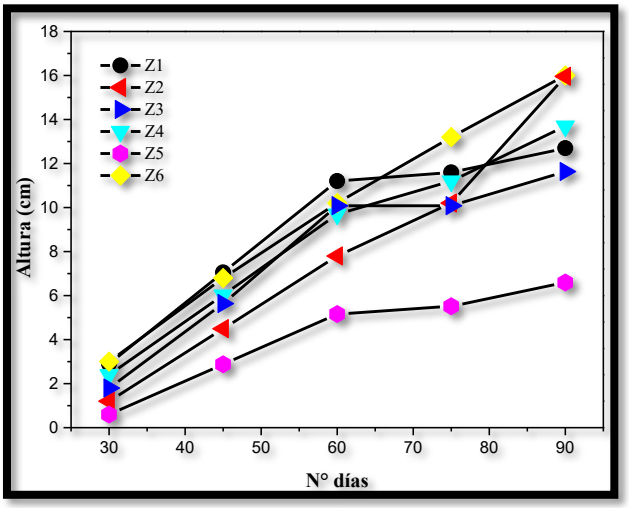
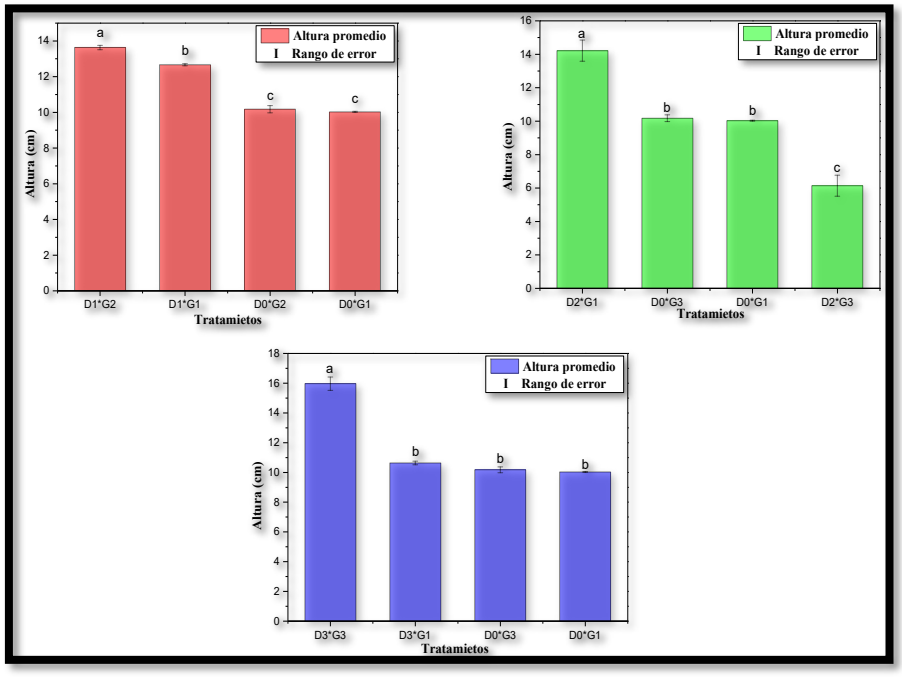


Figura N° 29

Significancia de las alturas para cada tratamiento aplicado a cada genotipo.



Nota: Las letras sobre las barras son los grupos que comparten la misma significancia dentro del análisis estadístico, letras iguales indican que no hay diferencia significativa respecto al tratamiento y letras diferentes comparten significancia entre tratamientos.

4.3.2 Diámetro de Tallo.

En las Tablas N°13 – 18, se puede apreciar la significancia entre los tratamientos aplicados y la influencia que tiene en cada uno de los genotipos utilizados.

Tabla N° 13

Análisis de Varianza CNi con G1 y G2 para D1

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Dosis	1	0.0070	0.0070	24.74	0.001*
genotipo	1	0.0040	0.0040	15.56	0.004*
Dosis×genotipo	1	0.0070	0.0070	24.74	0.001*
Error	8	0.002	0.0002		
Total	11	0.020			

***** *Significativo al 5 % con la prueba F.*

Como se puede apreciar en la Tabla N° 14 la influencia de la zeolita recae en el tratamiento utilizado para la dosis D1 en el genotipo G2, pues la media del grosor de los diámetros es de 0.316 (mm) con respecto a la media del CNi D0 en el mismo genotipo, mientras que para la aplicación de D1 en G1 no hay significancia alguna.

Tabla N° 14

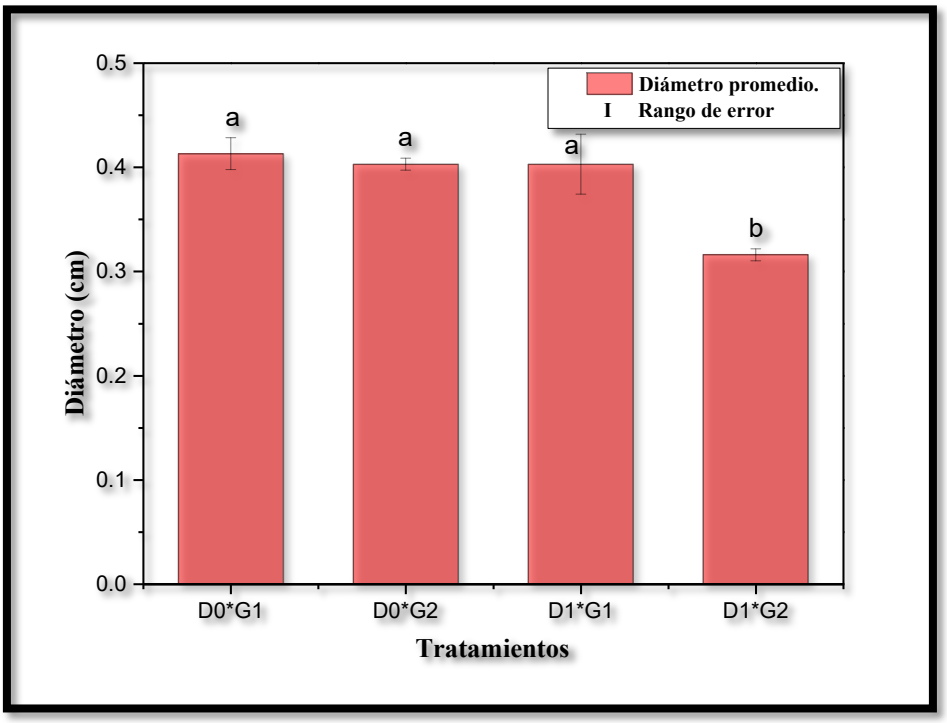
Análisis Tukey aplicado a la variable diámetro

Dosis×genotipo	Media (cm)	Agrupación	
D0×G1	0.413	a	
D0×G2	0.403	a	
D1×G1	0.403	a	
D1×G2	0.316		b

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Figura N° 30

Significancia de los diámetros para cada tratamiento aplicado a cada genotipo.



Nota: EL tratamiento en G1 mostro un mayor diámetro de tallo que en G2.

A continuación, se muestra la Tabla N°15 y N°16, para este caso se muestra una significancia en la variable dosis, pero se muestra la comparación respecto a la interacción con la variable genotipo, pues en las tablas Tabla N°15 y N°16 se puede notar dicha significancia de una mejor manera. Al igual que en el caso anterior se puede notar que la significancia se encuentra en las dosis aplicadas, observándose una notoria desventaja de la aplicación del compuesto, esto se explicara más adelante.

Tabla N° 15

Análisis de Varianza CNi con G1 y G3 para D2

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Dosis	1	0.0530	0.053	77.11	0.000 *
genotipo	1	0.0027	0.002	3.90	0.084
Dosis×genotipo	1	0.0012	0.001	1.73	0.224
Error	8	0.0055	0.0006		
Total	11	0.062			

***** *Significativo al 5 % con la prueba F.*

Tabla N° 16

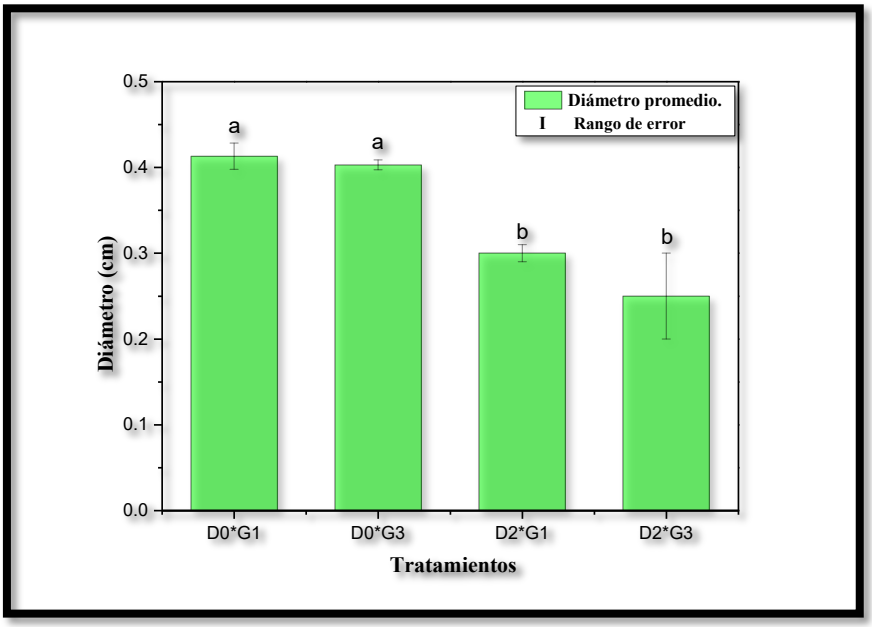
Análisis Tukey aplicado a la variable diámetro

Dosis×genotipo	Media (cm)	Agrupación	
D0×G1	0.413	a	
D0×G3	0.403	a	
D2×G1	0.300		b
D2×G3	0.250		b

Letras distintas son significativamente diferentes.

Figura N° 31

Significancia de los diámetros para cada tratamiento aplicado a cada genotipo.



Nota: Los tratamientos aplicados en G1 y G3 mostraron un diámetro de tallo menos respecto a sus controles contaminados.

Al igual que en las tablas anteriores, se nota la significancia de las dosis aplicadas a cada genotipo; sin embargo, se nota, al igual que los casos anteriores que el tratamiento con zeolita respecto a los diámetros no es lo esperado.

Tabla N° 17

Análisis de Varianza CNi con G1 y G3 para D3.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Dosis	1	0.0075	0.007	27.27	0.001 *
genotipo	1	0.0085	0.008	31.03	0.001 *
Dosis×genotipo	1	0.0120	0.012	43.76	0.000 *
Error	8	0.0022	0.0002		
Total	11	0.030			

***** *Significativo al 5 % con la prueba F.*

Tabla N° 18

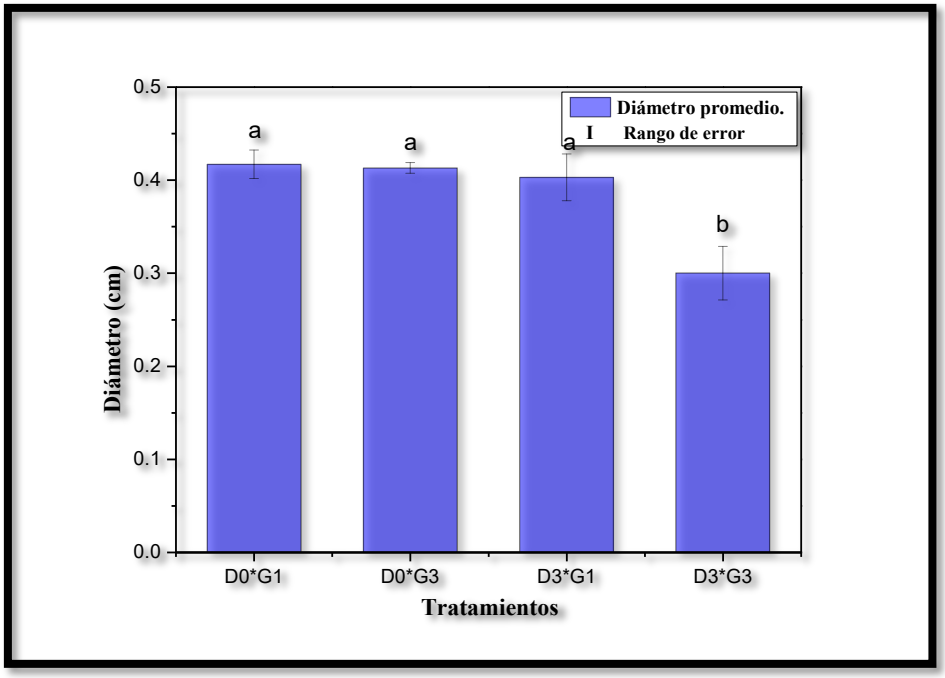
Análisis Tukey aplicado a la variable diámetro

Dosis×genotipo	Media (cm)	Agrupación	
D0×G1	0.417	a	
D0×G2	0.413	a	
D3×G1	0.403	a	
D3×G2	0.300		b

Letras distintas son significativamente diferentes.

Figura N° 32

Significancia de los diámetros para cada tratamiento aplicado a cada genotipo.



Nota: Se muestra que para G3 el tratamiento no mostró un mayor diámetro respecto a su control contaminado.

Ahora bien, como se pudo apreciar en las tablas anteriores Tablas N°15-18, las medias en los diámetros del CNi varían entre 4.13 – 4.15 mm mientras que las medias respecto a las aplicaciones del compuesto están entre 0.25 – 4.03 mm, esto se debe principalmente a la disponibilidad del Al^{+3} en el sustrato debido a lo alcalino del medio, lo cual causa un efecto negativo en cuanto a desarrollo del tallo al tamaño radicular, como se verá más adelante (Casierra y Aguilar, 2018).

4.3.3 Longitud de la raíz.

Como se mencionó en párrafos anteriores, la disponibilidad de Al^{+3} en el sustrato tiene influencia en el crecimiento de la parte radicular de la plántula, más aún tener en cuenta que el compuesto utilizado es un aluminosilicatos. Esto es debido a que el sustrato tiene un pH acido, lo cual propicia que haya una mejor movilidad del Ni debido a la abundancia de H^{+}. Al haber una disponibilidad de Ni^{+2} y $Al^{+3,}$ éstos llegan a ocupar sitios de intercambio iónico en el sustrato, por lo que se genera una deficiencia de microelementos esenciales tales como el Fe, Mg, K, expresándose, así como resultado de esto una reducción en cuanto al tamaño radicular.

Tabla N° 19

Análisis de Varianza CNi con G1 y G2 para D1

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Dosis	1	5.727	5.727	256.24	0.000*
genotipo	1	1.548	1.548	69.26	0.000*
Dosis×genotipo	1	0.118	0.118	5.28	0.051
Error	8	0.178	0.022		
Total	11	7.5718			

***** *Significativo al 5 % con la prueba F*

Tabla N° 20

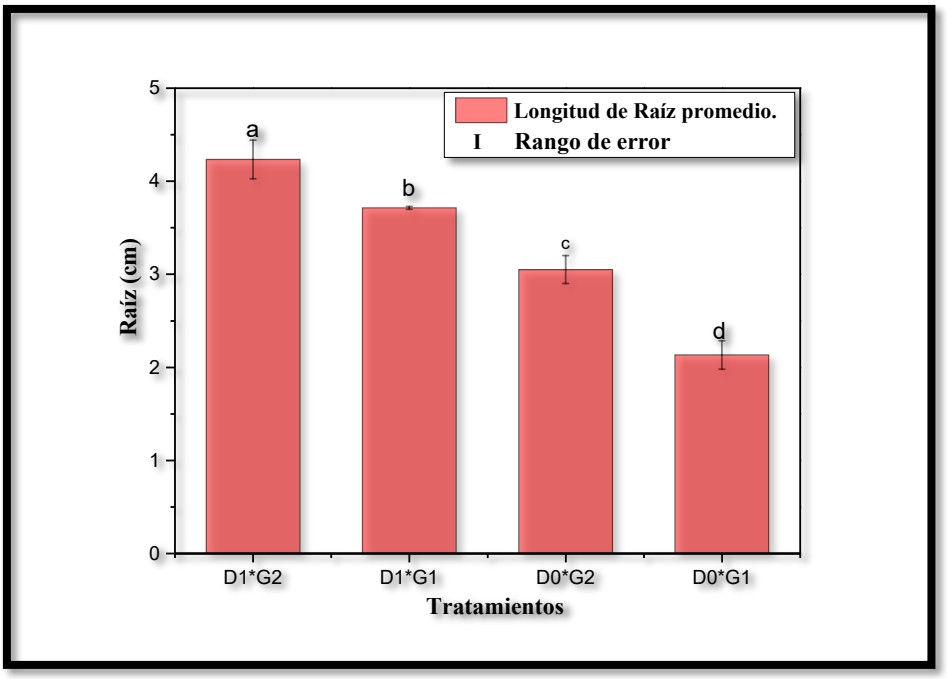
Análisis Tukey aplicado a la variable raíz.

Dosis×genotipo	Media (cm)	Agrupación		
D1×G2	4.233	a		
D1×G1	3.713		b	
D0×G2	3.050			c
D0×G1	2.133			d

Letras distintas son significativamente diferentes.

Figura N° 33

Significancia del tamaño de la raíz para cada tratamiento aplicado a cada genotipo.



Nota: En la figura se muestra que los tratamientos aplicados para G1 y G2 produjo un mayor crecimiento en las raíces, siento G2 quien obtuvo un mayor crecimiento.

Tabla N° 21

Análisis de Varianza CNi con G1 y G3 para D2.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Dosis	1	2.764	2.764	82.41	0.000 *
genotipo	1	0.625	0.625	18.65	0.003 *
Dosis×genotipo	1	5.658	5.658	168.65	0.000 *
Error	8	0.268	0.033		
Total	11	9.3170			

***** *Significativo al 5 % con la prueba F*

Tabla N° 22

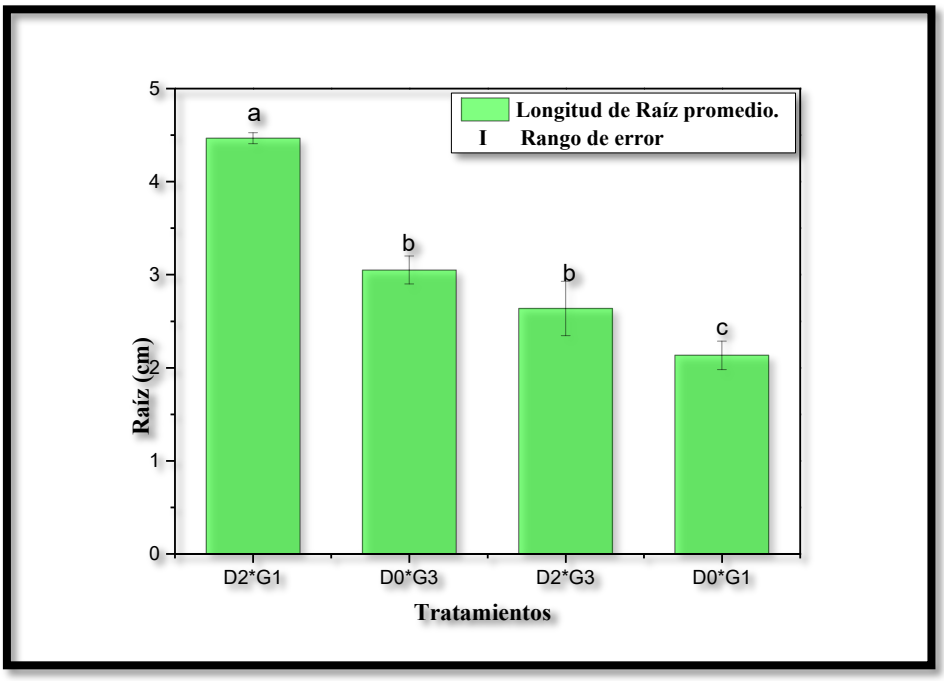
Análisis Tukey aplicado a la variable raíz.

Dosis×genotipo	Media (cm)	Agrupación		
D2×G1	4.466	a		
D0×G3	3.050		b	
D2×G3	2.636		b	
D0×G1	2.133			c

Letras distintas son significativamente diferentes

Figura N° 34

Significancia del tamaño de la raíz para cada tratamiento aplicado a cada genotipo.



Nota: Se muestra que D2 aplicado en G1 produjo un mayor crecimiento en comparación a G3 sometido a la misma dosis.

Tabla N° 23

Análisis de Varianza CNi con G1 y G3 para D3.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Dosis	1	16.9219	16.921	1144.01	0.000*
genotipo	1	0.0002	0.0002	0.01	0.908
Dosis×genotipo	1	2.5669	2.566	173.54	0.000*
Error	8	0.1183	0.014		
Total	11	19.6073			

** Significativo al 5 % con la prueba F.*

Tabla N° 24

Análisis Tukey aplicado a la variable raíz.

Dosis×genotipo	Media (cm)	Agrupación			
D3×G1	5.433	a			
D3×G3	4.500		b		
D0×G3	3.050			c	
D0×G1	2.133				d

Letras distintas son significativamente diferentes

Figura N° 35

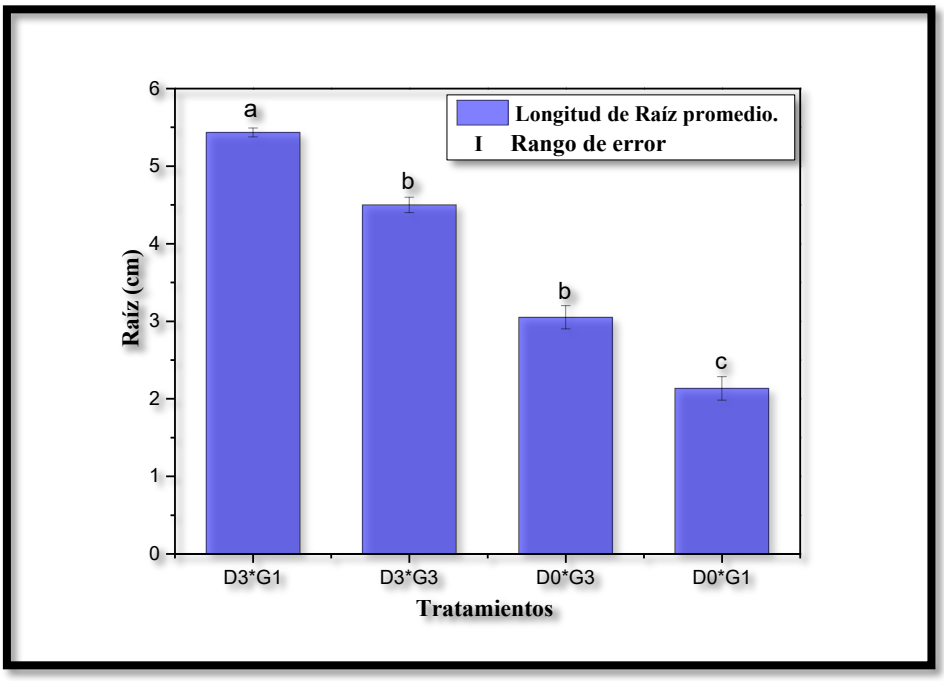
Tamaño pequeño de la raíz debido a la presencia de Ni^{+2} *y* Al^{+3} *en el sustrato*.



Nota: La imagen corresponde a la raíz de una plántula expuesta a altas concentraciones de Ni por un lapso de 90 días.

Figura N° 36

Significancia del tamaño de la raíz parara cada tratamiento aplicado a cada genotipo.



Nota: Para estos genotipos se puede mostrar mayor crecimiento respecto a sus controles contaminados siendo la dosis optima D3.

4.3.4 Número de Hojas.

En las tablas que se mostrarán a continuación podrá observarse que la producción de hojas es poca, pues como se muestra en la Tabla N° 26 existe significancia con respecto D0×G1 y D1×G2, pero dicha significancia es baja, lo cual nos da información respecto a la baja producción de hojas debido a la deficiencia de algunos microelementos esenciales que se ausentan por las razones anteriormente mencionadas que están ligadas a la presencia del metal pesado. Tal es el caso del Fe, que debido a la presencia de Ni, la plántula presenta como síntoma lo que se conoce como clorosis de la hoja (Figura 37).

Figura N° 37

Clorosis causada por la ausencia de Fe en las hojas



Tabla N° 25

Análisis de Varianza CNi con G1 y G2 para D1.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Dosis	1	5.333	5.333	16.00	0.004*
genotipo	1	3.000	3.000	9.00	0.017*
Dosis×genotipo	1	3.000	3.000	9.00	0.017*
Error	8	2.667	0.333		
Total	11	14.000			

***** *Significativo al 5 % con la prueba F.*

Tabla N° 26

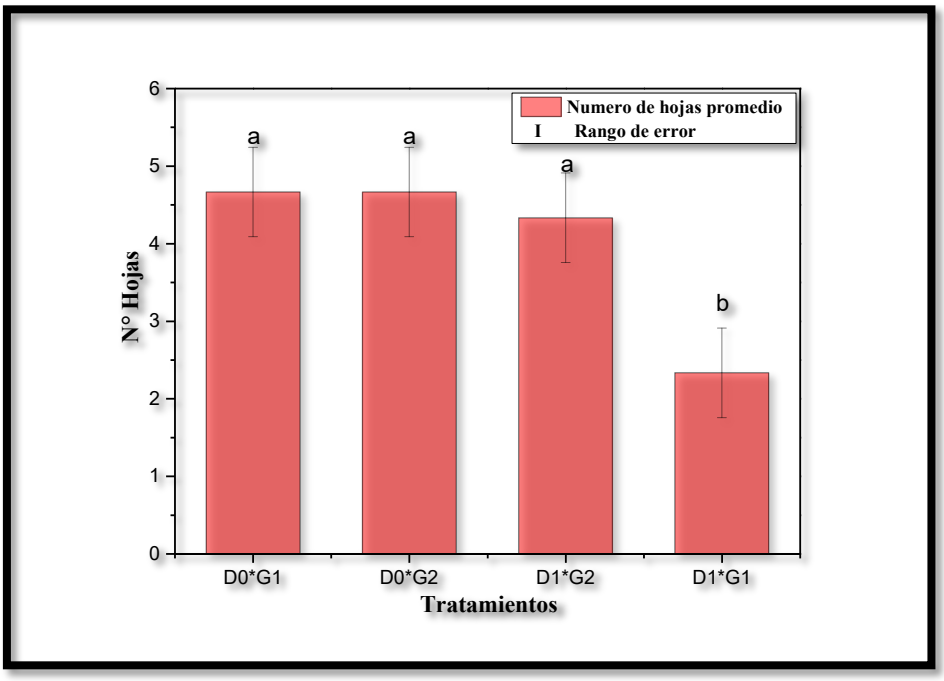
Análisis Tukey aplicado a la variable Numero de hojas.

Dosis×genotipo	Media	Agrupación	
D0×G1	4.666	a	
D0×G2	4.666	a	
D1×G2	4.333	a	
D1×G1	2.333		b

Letras distintas son significativamente diferentes.

Figura N° 38

Significancia del número de hojas parara cada tratamiento aplicado a cada genotipo.



Nota: El número de hojas para G2 estuvo dentro de la media respecto su control negativo, mientras que para G1 el tratamiento no produjo una mayor cantidad de hojas..

Tabla N° 27

Análisis de Varianza CNi con G1 y G3 para D2.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Dosis	1	33.333	33.333	100.00	0.000*
genotipo	1	0.000	0.000	0.00	1.000
Dosis×genotipo	1	0.000	0.000	0.00	1.000
Error	8	2.666	0.333		
Total	11	11	36.0000		

** Significativo al 5 % con la prueba F.*

Tabla N° 28

Análisis Tukey aplicado a la variable Número de hojas.

Dosis×genotipo	Media	Agrupación		
D0×G1	4.666	a		
D0×G3	4.666		a	
D2×G1	1.333			b
D2×G3	1.333			b

Letras distintas son significativamente diferentes..

En la Tabla N° 28 se puede observar la significancia de los tratamientos para una dosis D2 en sus respectivos genotipos D2×G1 y D2×G3 (ver Figura 39), pero como se mencionó antes, la influencia del níquel en la producción de hojas debido a la inhibición de otros microelementos esenciales es notable. En la Tabla N°30 se muestra que para la dosis D3 en el genotipo G3 (ver Figura 40) no hay significancia alguna, por lo que el tratamiento no inflye, siendo cuatro la media del número hojas producido.

Tabla N° 29

Análisis de Varianza CNi con G1 y G3 para D3.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Dosis	1	8.333	8.333	50.00	0.000*
genotipo	1	3.000	3.000	18.00	0.003*
Dosis×genotipo	1	3.000	3.000	18.00	0.003*
Error	8	1.333	0.166		
Total	11	15.667			

***** *Significativo al 5 % con la prueba F.*

Tabla N° 30

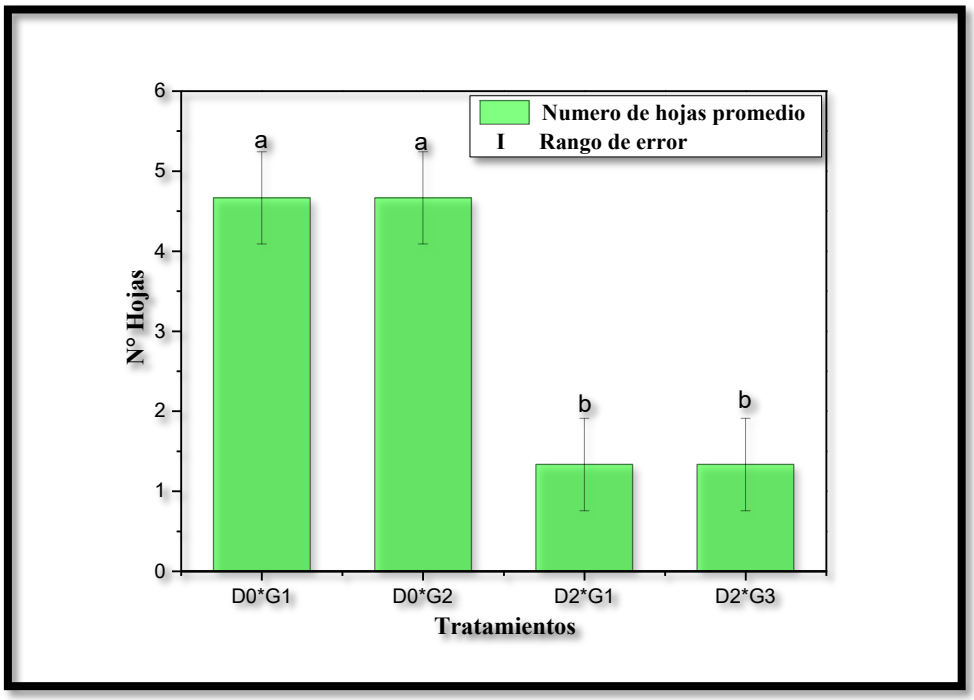
Análisis Tukey aplicado a la variable Número de hojas.

Dosis×genotipo	Media	Agrupación		
D0×G1	4.666	a		
D0×G3	4.666		a	
D3×G3	4.000			b
D3×G1	2.000			b

Letras distintas son significativamente diferentes.

Figura N° 39

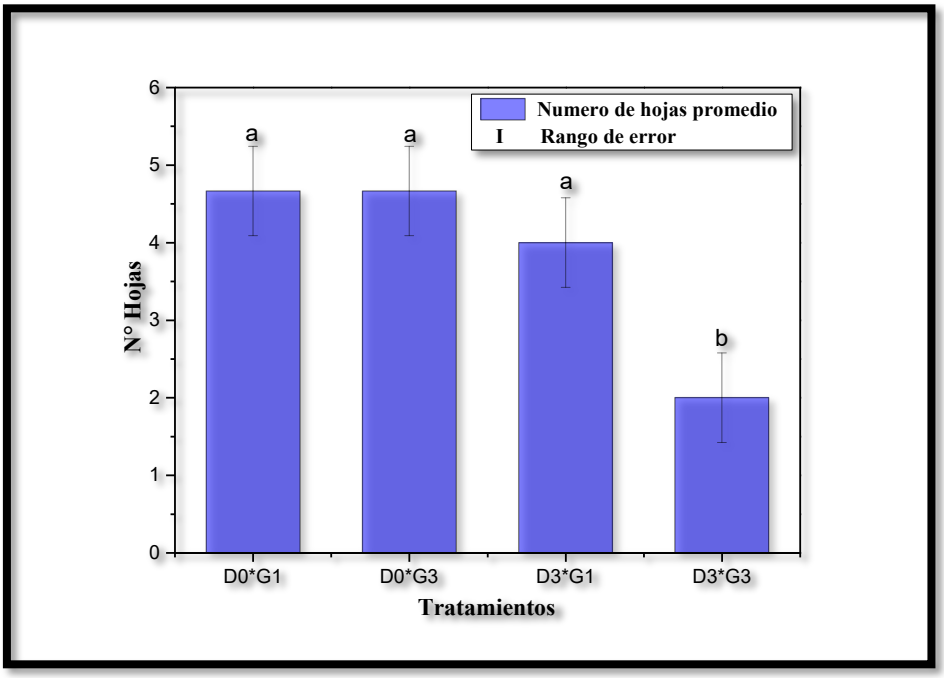
Significancia respecto al número de hojas para D2.



Nota: Para la D2 aplicados a G1 y G3 hay una reducción del número de hojas respectos a los tratamientos anteriores.

Figura N° 40

Significancia respecto al número de hojas para D2.



Nota: En la gráfica se muestra que los tratamientos aplicados no generan un desarrollo respecto al número de hojas, lo cual es evidencia de la falta de micronutrientes esenciales para el desarrollo de esta, debido a la fitotoxicidad por Ni.

4.3.5 Concentración de níquel.

Dentro del análisis de las concentraciones de metal pesado disponible en el sustrato, se debe tener en cuenta que la concentración inicial en la estación Juan Bernito dentro del Instituto de Cultivos Tropicales (ICT) fue de 1.83 ppm, y además en (Arévalo-Gardini *et al.*, 2016), se menciona que en la región San martín las concentraciones de Ni varían entre 1.64 a 13.69 ppm, por lo que se tuvo que contaminar el sustrato como se mencionó en el Capítulo 3. En la Tabla N°47 (anexo)**,** se muestra las concentraciones de Ni en el sustrato después de haber sido contaminado, llegando a una concentración de 70.21 ppm hasta 25.34 ppm, 90 días después de la contaminación. Solamente observando la variación de la concentración mencionada, es bueno suponer que parte de dicha concentración variante fue adsorbida por la zeolita 5A, y absorbida por la plántula. La estadística mostrada a continuación se realizó sobre el porcentaje de materia seca para cada genotipo en donde se aplicó la Zeolita 5A (Tabla N° 31)

Tabla N° 31

Concentraciones de Ni en materia seca para cada genotipo respecto a cada dosis.

Dosis	Genotipos	Peso Inicial	Peso Seco	Materia Seca MS %	([Ni]) (mg Kg^{-1})	[Ni]/Plántula (parte aérea) (µg g^{-1})
D1	G1	1.110	0.378	0.659	26.550	0.0194
D2		1.137	0.329	0.711	9.370	0.0075
D3		0.877	0.297	0.661	7.370	0.0042
D1	G2	2.067	0.568	0.725	17.400	0.026
D2	G3	1.064	0.146	0.863	40.700	0.0373
D3		1.556	0.945	0.393	15.700	0.0095

Tabla N° 32

Porcentajes de absorción y adsorción de Ni por parte de la plántula y Zeolita 5A.

Dosis		[Ni] CNi	[Ni] + Z5A	ABSORCIÓN*	ADSORCIÓN**
D1	G1	0.0832	0.0194	23%	77%
D2		0.0831	0.0075	9%	91%
D3		0.0831	0.0042	5%	95%
D1	G2	0.0830	0.026	31%	69%
D2	G3	0.0832	0.0373	45%	55%
D3		0.0831	0.0095	11%	89%

Porcentaje de Ni absorbido por la plántula (*)
Porcentaje de Ni adsorbido por la zeolita 5A (**)

Como se puede observar en la Tabla N°32 la zeolita 5A muestra porcentajes diferentes con respecto a la dosis aplicada para cada genotipo, siendo las mayores los valores de 91% correspondiente a la D2 para el G1, 95% para D3 en G1 y 89% para D3 en G3; además, se puede observar que el G1 y G2 tienen los menores porcentajes de absorción por parte de la

planta , lo cual evidencia la baja capacidad de absorción de dicho genotipo, mientras que G3 posee un 45% para la dosis D2 y 11% para G3, lo cual evidencia la influencia de la Zeolita.

Tabla N° 33

Análisis de Varianza CNi con G1 y G2 para D1.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Dosis	1	0.010	0.010	63212.16	0.000*
genotipo	1	0.000	0.000	194.12	0.000*
Dosis×genotipo	1	0.000	0.000	194.12	0.000*
Error	8	0.000	0.000		
Total	11	0.010813			

***** *Significativo al 5 % con la prueba F.*

Tabla N° 34

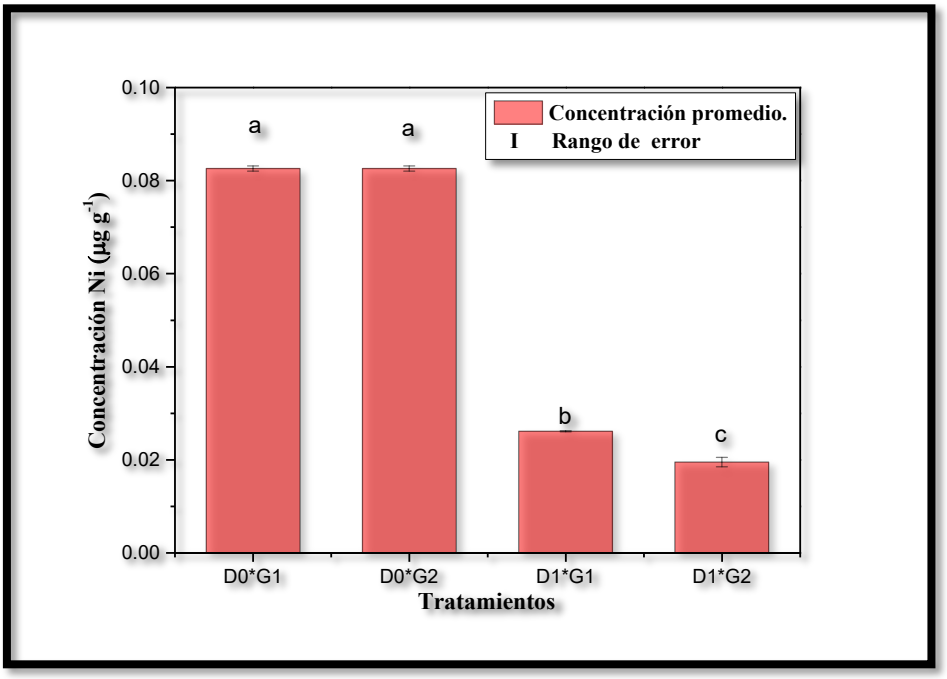
Análisis Tukey aplicado a la variable concentración de níquel.

Dosis×genotipo	Media (µg g^{-1})	Agrupación		
D0×G1	0.0826	a		
D0×G2	0.0826	a		
D1×G1	0.0261		b	
D1×G2	0.0195			c

Letras distintas son significativamente diferentes.

Figura N° 41

Concentración de Ni en plántulas G1 y G2 para D1.



Nota: Las concentraciones halladas en las plántulas son muy bajas respecto a sus controles contaminados.

En las Tablas N° 33 y 34 se puede apreciar que las plántulas sometidas a tratamientos con D1 tienen una gran significancia respecto al CNi como se aprecia en la Figura N°39. Lo cual denota la alta capacidad de la zeolita 5A para adsorber al Ni, cuyas medias de concentración están entre 0.019 y 0.026 µg g^{-1} frente a los 0.82 µg g^{-1} que presenta el control de níquel CNi.

Tabla N° 35

Análisis de Varianza CNi con G1 y G3 para D2.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Dosis	1	0.010	0.0108	65338.90	0.000*
genotipo	1	0.0006	0.0006	3996.27	0.000*
Dosis×genotipo	1	0.0006	0.0006	3996.27	0.000*
Error	8	0.000	0.0000		
Total	11	0.012			

***** *Significativo al 5 % con la prueba F.*

Tabla N° 36

Análisis Tukey aplicado a la variable concentración de níquel.

Dosis×genotipo	Media (µg g^{-1})	Agrupación		
D0×G1	0.0826	a		
D0×G3	0.0826	a		
D2×G3	0.0373		b	
D2×G1	0.0075			c

Letras distintas son significativamente diferentes

En las Tablas N° 35 y 36, también se puede notar significancia de los tratamientos D2 respecto al genotipo G1 y G1 siendo las concentraciones promedio en las plántulas alrededor de 0.037 µg g^{-1} para D2×G3 y 0.007 µg g^{-1} para D2*G1, por lo que se puede contrastar con los porcentajes de adsorción y absorción de la Tabla N°32, siendo la Zeolita un buen adsorbente.

En la gráfica N° 40 se puede apreciar lo antes mencionado, hay una significancia considerable respecto a la concentración de Ni en las plántulas evaluadas.

Tabla N° 37

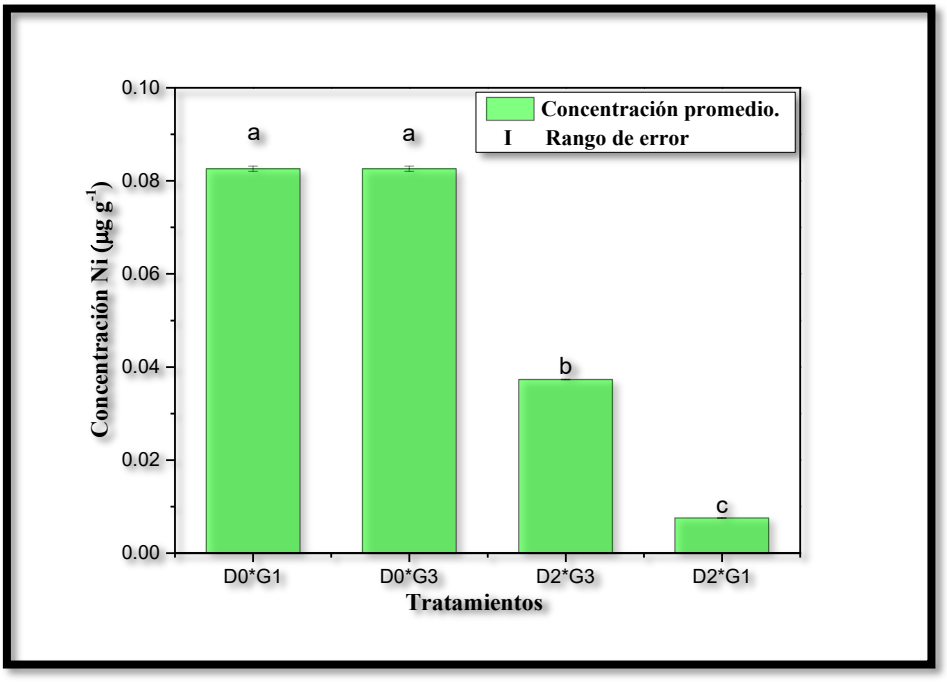
Análisis de Varianza CNi con G1 y G3 para D3.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Dosis	1	0.017	0.0172	103420.27	0.000*
genotipo	1	0.000	0.000	126.39	0.000*
Dosis×genotipo	1	0.000	0.000	126.39	0.000*
Error	8	0.000	0.000		
Total	11	0.0172			

***** *Significativo al 5 % con la prueba F.*

Figura N° 42

Concentración de Ni en plántulas G1 y G3 para D2.



Nota: Los niveles de concentración de Ni en el G1 con aplicación de D2 resulto mucho menor respecto sus contrapartes contaminada con Ni.

Análogamente a los casos anteriores la diferencia significativa se presenta en para los tratamientos utilizados con dosis D2 aplicados a los genotipos G1 y G3.

Tabla N° 38

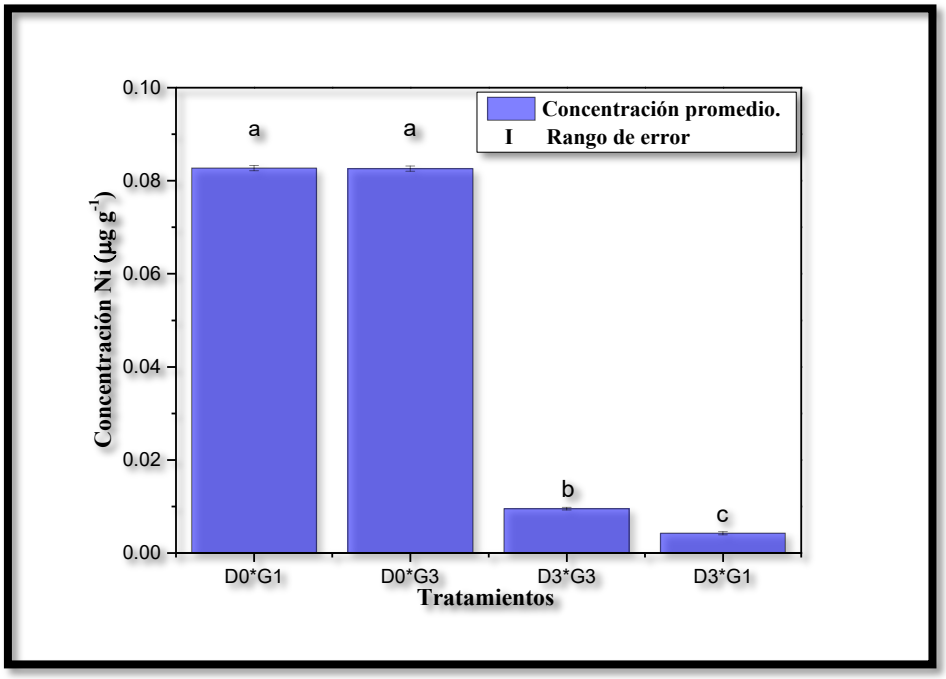
Análisis Tukey aplicado a la variable concentración de níquel.

Dosis×genotipo	Media (µg g^{-1})	Agrupación		
D0×G1	0.0827	a		
D0×G3	0.0826	a		
D3×G3	0.0095		b	
D3×G1	0.0042			c

Letras distintas son significativamente diferentes.

Figura N° 43

Concentración de Ni en plántulas G1 y G3 para D3.



Nota: Para los tratamientos con D3 las concentraciones fueron mucho menos, lo cual evidencia la efectividad del compuesto zeolítico .

En las Tablas N°37 y 38, al igual que en los casos anteriores se observa la alta significancia relacionada a la concentración de Ni en las muestras de plántulas analizadas G1 y G3 para D3. Todo lo mencionado anteriormente respecto a las concentraciones se justifica por medio de los procesos de intercambio iónico que ocurre en el sustrato mezclado con la zeolita 5A, pues debido a la acidez del sustrato, el níquel tendrá una mayor movilidad, además debemos tener en cuenta que en dicho medio el níquel forma complejos tales como $NiSO_4$ en presencia de iones sulfato presentes en el sustrato ya sea debido a fertilizantes remanentes , materia orgánica etc. así también , se debe tener en cuenta que en el proceso osmótico de la planta involucra el intercambio de iones H^+ y OH^-, así como la absorción de micronutrientes necesarios para la planta como Ca^{+2}, K^+, Mg^{+2} , etc., de forma que, se mantiene un equilibrio eléctrico de iones. Al haber una concentración alta de níquel hay una gran cantidad de iones de Ni^{+2} excedentes, además la Zeolita 5A al tener una relación de Si/Al igual a 1 es un compuesto hidrofílico por lo que se hidrata en presencia de moléculas de agua y las retiene en su cavidad central (de mayor tamaño) , así mismo los cationes de Ca^{+2} presidentes en la zeolita se polarizan generando un desequilibrio eléctrico dentro de la estructura zeolítica y generando la adsorción del metal pesado, por lo que a consecuencia de eso, la cantidad de metal pesado que absorbe la plántula por medio de la raíz en menor con respecto a la concentración de dicho metal en el sustrato.

Conclusiones

- Al momento de realizar el refinamiento Rietveld a la muestra de zeolita 5A , se agregó las contribuciones de los oxígenos O4 al O11 (Tabla N° 5), pues dicha contribución dentro de la estructura zeolítica permitió que las intensidades de los picos centrales correspondientes al rango de 20 ° y 40 ° se elevaran , esto debido a que dicha muestra corresponde a una zeolita hidratada , lo que nos dice que dicho compuesto es hidrofílico por lo que la relación Si/Al es baja , para este caso dicha relación es 1.
- Los resultados correspondientes a la aplicación de la zeolita 5A para la adsorción de Ni, mostraron que el compuesto tiene una alta eficiencia, obteniéndose porcentajes de adsorción de 95% y 91% para dosis de 2 y 4 g aplicados al genotipo ICS-39 (G1) y cuyo porcentaje de absorción por parte de la plántula 5%, lo cual nos muestra que dicho genotipo es de baja capacidad de absorción de metal pesado. Por otro lado, se obtuvo en cuanto el genotipo CCN -51 (G2), se observó que la dosis optima de zeolita fue de 1 g, obteniéndose así una adsorción de 69% y por último en cuanto al genotipo TSH1188 la dosis optima resulto ser la aplicación de 2 g.
- Dentro del análisis estadístico respecto a la morfología de las plántulas, se destaca la altura alcanzada por parte de las plántulas sometidas a tratamiento respecto a la plántula de control contaminada con Ni, como se aprecia en la Figura 29 en los genotipos G1 para la dosis de 1 g las alturas superaron los 13 cm mientras que el CNi apenas alcanzó los 10 cm.
- Dentro de los factores analizados estadísticamente, se observa la baja significancia que se tiene con respecto a la producción de hojas, tamaño de raíz y diámetro, pues esto es debido a la falta de elementos esenciales que la planta necesita para desarrollarse, pues un claro ejemplo es la deficiencia de Fe, que se debe a las altas concentraciones de Ni, lo cual produce la clorosis en las hojas.

- La influencia del pH respecto a la movilidad del Ni fue un factor importante, pues al ser un medio alcalino se generó, un de equilibrio iónico en el sustrato que favoreció la captación de Ni^{+2} por parte de la zeolita 5A.
- Dentro del difractograma en el rango de 10 °θ a 40 °θ hay picos de intensidad que no alcanzan los puntos observados, esto es debido a la cantidad de oxígenos que existen dentro de la zeolita y además podría explicarse esto debido a lo modos vibracionales del mismo dentro de los enlaces T-O.

Recomendaciones.

- Dentro de todo el proceso que implica la siembra y cultivo del cacao, se debe tener en cuenta los siguiente: la semilla de cacao en su fase de pregerminado es muy sensible y susceptible a mohos, bacterias y plagas, por lo que se recomienda usar un fungicida para evitar dicho problema.
- También al momento de aplicar la zeolita en el sustrato, debe tener en cuenta el punto anterior, y no se debe poner en contacto la zeolita con la semilla. Para este trabajo se utilizó un procedimiento mostrado en el anexo adjunto, pues la zeolita 5A es un compuesto hidrofílico por lo que, al estar en contacto con el agua, esta se hidrata muy rápido por lo que al estar en contacto con la semilla lo que hace es causar un efecto recalcitrante sobre esta y no permitirá a la semilla desarrollarse o en el peor de los casos la matará (Figura N°48 del anexo.)
- De este experimento en fase vivero, se recomienda usar un sustrato con un pH neutro o básico, pues de ese modo la movilidad del metal será baja por lo que la planta podrá desarrollarse de forma adecuada.

Referencias

Antonio, I., Vargas, C., Jaime, E., Rivera, M., Técnico, R., Carmith, T., Elsa, D., Torres, C., Asenjo, I. G., Salazar, I. J., and Molina, I. P. (2004). " MANUAL DEL CULTIVO DEL CACAO ."

Arévalo-Gardini, E., Arévalo-Hernández, C. O., Baligar, V. C., and He, Z. L. (2017). *Heavy metal accumulation in leaves and beans of cacao (Theobroma cacao L.) in major cacao growing regions in Peru.* Science of the Total Environment, 605–606 (2017), 792–800. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.06.122

Arévalo-Gardini, E., Obando-Cerpa, M. E., Zúñiga-Cernades, L. B., Arévalo-Hernández, C. O., Baligar, V., and He, Z. (2016). *Heavy metals in soils of cocoa plantations (Theobroma cacao l.) in three regions of Peru.* Ecología Aplicada, 15(2), 81.

Arias, R. L. C. (2010). *Determinacion de metales por absorcion atomica a la llama.* [Tesis de licenciatura, Universidad Mayor de San Andrés]. https://repositorio.umsa.bo/handle/123456789/17909

Auerbach, S. M., Carrado, K. A., and Dutta, P. K. (2021). *Zeolites: A Primer. In Handbook of Zeolite Science and Technology.* https://doi.org/10.1201/9780203911167-7

Avila, A., Campos, M., Guharay, F., and Camacho, A. (2017). Aprendiendo e innovando sobre la producción de plantas de cacao en vivero. http://infocafes.com/portal/wp-content/uploads/2016/05/19_Guia_3_Viveros.pdf

Breck, D. W. (1973). Zeolite Molecular Sieves, Structure, Chemistry and Use. https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/ba-1971-0101.ch001

Briceño, J. (2019). Síntesis de Zeolita LTA modificada (iones Ca^{2+} y NH^{4+}) empleando el método hidrotérmico para la captura de gases de invernadero (CH_4 y CO_2) Revista *Ciencia e Ingeniería, 40(2), 171–184. https://www.redalyc.org/journal/5075/507567825008/*

Browning, E. (2017). 3A, 4A, 5A, 13X… WHAT'S THE DIFFERENCE? https://hengyeinc.com/3a-4a-5a-13x-whats-the-difference/

Caglioti, G., Paoletti, A., and Ricci, F. P. (1960). *On resolution and luminosity of a neutron diffraction spectrometer for single crystal analysis*. Nuclear Instruments and Methods, 9(2), 195–198. https://doi.org/10.1016/0029-554X(60)90101-4

Calleja, A. (2009). La Importancia De Las Zeolitas. https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3760692.

Casierra-Posada, F., & Aguilar-Avendaño, O. E. (2018). Estrés por aluminio en plantas: reacciones en el suelo, síntomas en vegetales y posibilidades de corrección. Una revisión. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas, 1(2), 246–257.* https://doi.org/10.17584/rcch.2007v1i2.8701

Corona, O. L., Hernández, M. A., Hernandez, F., Rojas, F., Portillo, R., Lara, V. H., and Carlos, F. M. (2009). Propiedades de adsorción en zeolitas con anillos de 8 miembros: I. microporosidad y superficie externa. *Matéria (Rio de Janeiro)*, 14(3), 918–931. https://doi.org/10.1590/s1517-70762009000300004

Correa, J. (2019). *Efecto de enmiendas cálcicas y orgánicas en la absorción de cadmio en plantones de cacao (Theobroma cacao L.)*. [Tesis de licenciatura Universidad Nacional de San Martín] . https://repositorio.unsm.edu.pe/handle/11458/3237

Dutta, P. K., & Del Barco, B. (1988). Raman spectroscopy of zeolite a: influence of Si/Al ratio. *Journal of Physical Chemistry*, 92(2), 354–357. https://doi.org/10.1021/j100313a022

Alloway,B.J.(2012). *Heavy Metals in Soils:Trace Metals and Metalloids in Soils and Their* Biooavailability: (22) Science and Business Media

Ferraro, J. R., Nakamoto, K., y Brown, C. W. (2003). Introductory Raman Spectroscopy (Vol. 4, Issue 3).

García, I. and Dorronsoro, C. (2005). Contaminación por Metales Pesados. En Tecnología de Suelos. http://edafologia.ugr.es/

García Carrión, L. (2010). *Cultivares de cacao del perú* - MINAGRI. https://www.midagri.gob.pe/portal/download/pdf/direccionesyoficinas/dgca/cultivares_c

acao.pdf

García, M., and Pérez, J. (2011). *Estudio Agromorfológico y fisicoquímico de ecotipos de cacao cultivados en los municipios de Usulután y California del Departamento de Usulután en El Salvador*.[Tesis de Licenciatura, Universidad Dr. José Matías Delgado] .https://webquery.ujmd.edu.sv/siab/bvirtual/BIBLIOTECA VIRTUAL/TESIS/04/AGI/ADTESGE0001266.pdf

Gomez, M. (2001). *Sintesis, caracterización y aplicaciones cataliticas de zeolitas básicas.*[Tesis de doctorado, Universidad Complutense de Madrid]. https://eprints.ucm.es/id/eprint/4846/

Mgbemere,H., Ikenna C. Ekpe, y Ganiyu I. Lawal. (2017). Zeolite Synthesis, Characterization and Application Areas: A Review. *International Research Journal of Environmental Sciences*, 6(10), 45–59.

Huamán, S. O. G. (2021). Observatorio de COMMODITIES Cacao. Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego, 1–13.

IPICYT. (2020).*Manual de operación del difractómetro de rayos X*. http://www.linan-ipicyt.mx/Manual XRD.pdf

Lira-saldivar, R. H. (2016). Agronanotecnología: nueva frontera de la revolución verde. https://ciqa.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1025/149/1/Libro Agronano

tecnologia.pdf

Mahler, R. L. (2003). General Overview of nutrition for Field and Container Crops. https://www.fs.fed.us/rm/pubs/rmrs_p033/rmrs_p033_026_029.pdf

Martínez, M. R. (2020). Análisis Instrumental. Espectrometría de Absorción Atómica (EAA). Universidad Politécnica de Valencia, 1–10. https://riunet.upv.es:443/handle/10251/138418

Nordberg, G. F., & Costa, M. (2021). *Handbook on the Toxicology of Metals*. https://books.google.com.pe/books?id=nKulgztuzL8C&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false

Pecharsky Vitalij K., and Peter Y. Zavalij. (2008). *Fundamentals of Powder Diffraction and Structural Characterization of materials.*Springer Publishing.

Perez Mazariego, J. L. (2000). *Caracterización de analgesicos comunes mediante espectroscopia raman*[Tesis de licenciatura, Universidad Nacional Autonoma de Mexico]. https://repositorio.unam.mx/contenidos/3425151

Petrick Casagrande, S., y Blanco, R. C. (2004). Método de Rietveld para el estudio de estructuras cristalinas. 2(1), 1–5.

Porcher, F., Souhassou, M., Graafsma, H., Puig-Molina, A., Dusausoy, Y., and Lecomte, C. (2000). Refinement of framework disorder in dehydrated CaA zeolite from single-crystal synchrotron data. *Acta Crystallographica Section B: Structural Science*, 56(5), 766–772. https://doi.org/10.1107/S0108768100006893

Rodríguez-Fuentes, G., & Inocente Rodríguez, I. (2006). Eliminacion de metales tóxicos mediante zeolitas naturales. https://zeocat.es/docs/aguametalestoxicos.pdf

Romero, C. A. (2016). Estudio del Cacao en el Perú y el Mundo. Ministerio de Agricultura y Riego. Scielo, 1–90. https://bibliotecavirtual.minagri.gob.pe/index.php/analisis-economicos/estudios/2016/21-estudio-del-cacao-en-el-peru-y-en-el-mundo/file

Rojas, A. E. (2012) *Dirección de estructuras en la síntesis de zeolitas usando cationes orgánicos imidazolios.*[Tesis doctoral,Instituto de Ciencias Materiales de Madrid]. http://hdl.handle.net/10486/11265

Sahuquillo, A., Rigol, A., and Rauret, G. (2003). Overview of the use of leaching/extraction tests for risk assessment of trace metals in contaminated soils and sediments. Trends in Analytical Chemistry, 22(3), 152–159. https://doi.org/10.1016/S0165-9936(03)00303-0

Smart, G. A., and Sherlock, J. C. (1987). Nickel in Foods and the Diet. Food Additives and Contaminants, 4(1), 61–71. https://doi.org/10.1080/02652038709373616

Thompson, P., Cox, D. E., and Hastings, J. B. (1987). Rietveld refinement of Debye–Scherrer synchrotron X-ray data from Al_2O_3. *Journal of Applied Crystallography,* 20(2), 79–83. https://doi.org/10.1107/S0021889887087090

Wood, B. W., Reilly, C. C., & Nyczepir, A. P. (2004). Mouse-ear of Pecan: I. Symptomatology and occurrence. *HortScience,* 39(1), 87–94. https://doi.org/10.21273/hortsci.39.1.87

World Health Organizationd Health. (2021). Nickel in Drinking-water: background document for development of WHO Guidelines for drinking-water quality . (No. WHO/HEP/ECH/WSH/2021.6). World Health Organization.

Young, R. A. (1995). The rietveld method (Vol. 5, pp. 1-38). International union of crystallography.

Young, R. A., & Wiles, D. B. (1982). Profile shape functions in Rietveld refinements. *Journal of Applied Crystallography,* 15(4), 430–438. https://doi.org/10.1107/s002188988201231x

Zug, K. L. M., Huamaní Yupanqui, H. A., Meyberg, F., Cierjacks, J. S., and Cierjacks, A. (2019). Cadmium Accumulation in Peruvian Cacao (Theobroma cacao L.) and Opportunities for Mitigation. *Water, Air, and Soil Pollution, 230(3)*, 1–18. https://doi.org/10.1007/s11270-019-4109-x

ANEXOS

ANEXO 1

ESTADÍSTICA RELACIONADA CON LAS PLÁNTULAS DE CONTROL CERO

Como se mencionó en la sección 4.3, para los análisis estadísticos realizados en dicho capitulo solo se tomó la estadística comparativa de muestras con Ni sin zeolita (D0) y los tratamientos D1, D2, D3 para los genotipos G1, G2 y G3, pues nuestro interés radica en hallar la significancia de nuestro tratamiento frente a una muestra control contaminada sin tratamiento. En esta sección se muestra el análisis estadístico entre las plántulas de la parcela A denominadas control cero, pues son aquellas plántulas que no estuvieron expuestas al metal pesado ni a las dosis de zeolita 5A.

Como se verá en las tablas de esta sección la comparativa con respecto a las variables: altura, diámetro, longitud de la raíz y el número de hojas, muestran significancia respecto a la muestra contaminada con Ni sin zeolita (D0) en promedio, en efecto, es de esperarse tales resultados en la estadística, puesto que las plántulas contaminadas experimentaron una alta fitotoxicidad por níquel, muriendo en algunos casos, mientras que las muestras de control cero crecieron y se desarrollaron con normalidad.

Tabla N° 39

Análisis de varianza para plántulas sin Zeolita 5A y sin Ni

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Genotipos	3	727.24	242.415	151.96	0.000*
Error	8	12.76	1.595		
Total	11	740.01			

Tabla N° 40

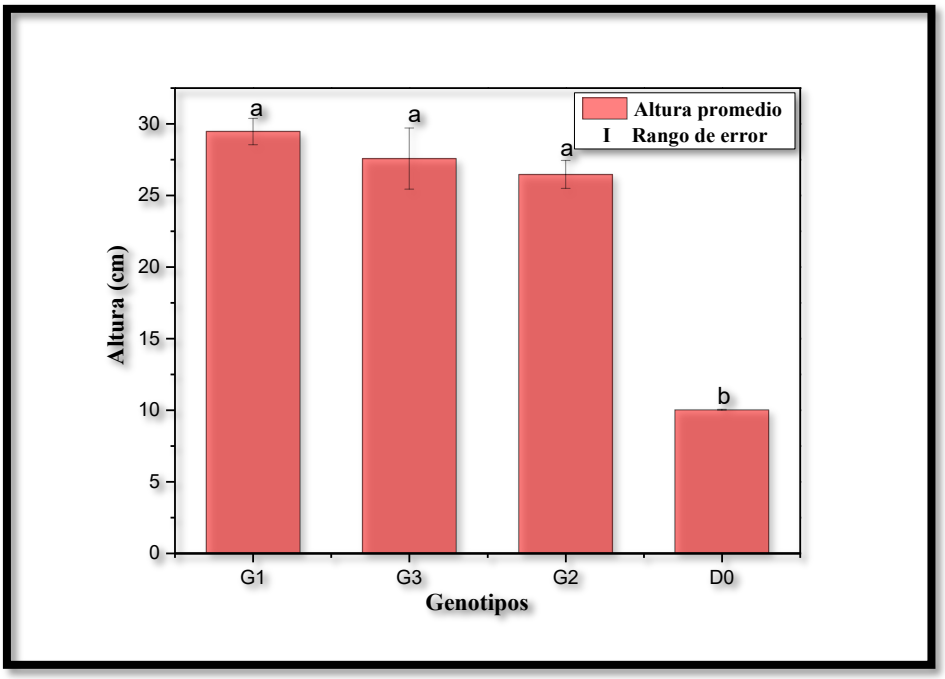
Prueba Tukey Aplicada a las alturas

genotipo	Media	Agrupación
G1	29.467	a
G3	27.57	a
G2	26.467	a
D0	10.026	b

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Figura N° 44

Significancia de las alturas para cada genotipo.



Nota: Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes, se puede observar el efecto notable que tiene el contaminante en la altura respecto a una plántula en sustrato sin metal pesado.

La Tabla N° 39 muestra una diferencia significativa de los genotipos G1, G2 y G3 respecto a D0, seguido de la Figura N° 44, donde se puede ver que las plántulas de la parcela A alcanzaron una altura que varía entre 26 a 27 cm, mientras que D0 solo alcanzó 10.02 cm.

Por otro lado, las Tablas N° 40 y 41 nos muestra que, con respecto a la variable diámetro, no existe significancia alguna, ya que, en ambos casos, tanto para los genotipos G1, G2, G3 respecto a la muestra D0 la media de los diámetros oscila entre 4 a 5 cm.

Tabla N° 41

Análisis de varianza para plántulas sin Zeolita 5A y sin Ni.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Genotipos	3	0.01507	0.005	1.48	0.292
Error	8	0.02713	0.003		
Total	11	0.04220			

***** *Significativo al 5 % con la prueba F.*

Tabla N° 42

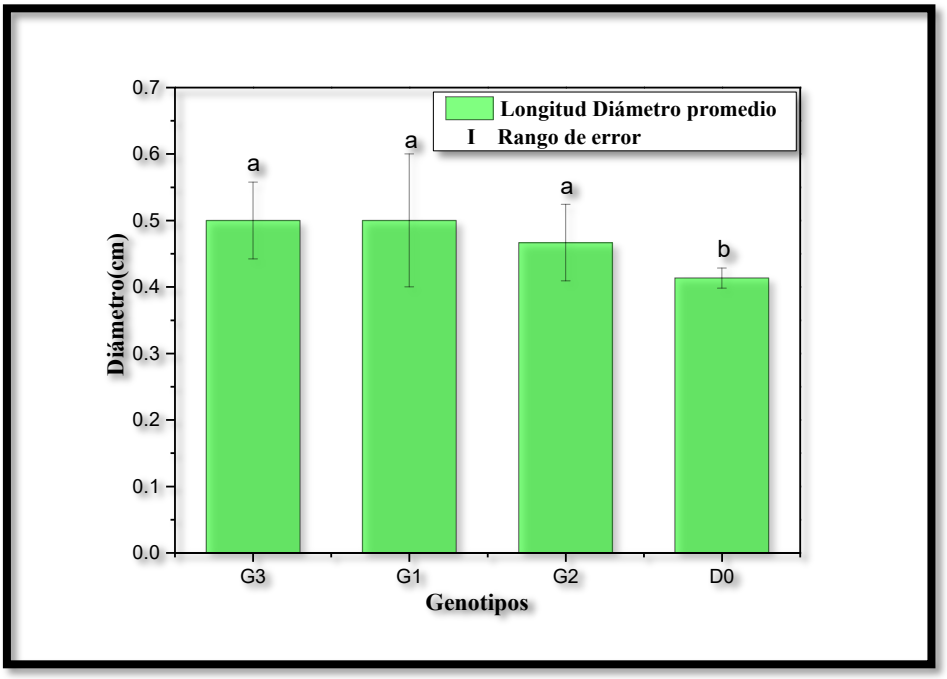
Prueba Tukey Aplicada a la variable diámetro

genotipo	Media (cm)	Agrupación
G3	0.500	a
G1	0.500	a
G2	0.466	a
D0	0.413	a

Letras distintas son significativamente diferentes

Figura N° 45

Significancia de los diámetros para cada genotipo.



Nota: Los diámetros de plántulas de control cero fueron mayores a su contraparte contaminada.

Tabla N° 43

Análisis de varianza para plántulas sin Zeolita 5A y sin Ni

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Genotipos	3	1960.5	653.49	51.18	0.000*
Error	8	102.1	12.77		
Total	11	2062.6			

***** *Significativo al 5 % con la prueba F.*

Tabla N° 44

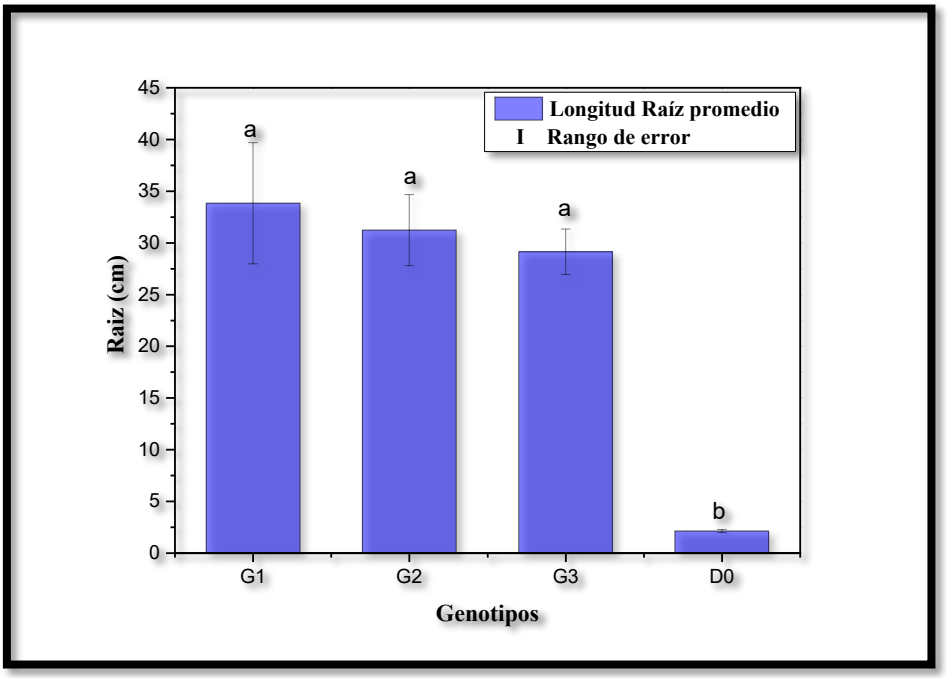
Prueba Tukey Aplicada a la variable raíz

genotipo	Media	Agrupación
G1	33.83	a
G2	31.23	a
G3	29.13	a
D0	2.1333	b

Letras distintas son significativamente diferentes.

Figura N° 46

Significancia de la longitud de la raíz para cada genotipo.



Nota: Para la longitud de raíces se puede notar la gran diferencia lo cual muestra de forma cualitativa y cuantitativa el efecto de Ni en la plántula.

Por último, tenemos la estadística comparativa aplicada a la variable número de hojas, donde una vez más se observa la muestra contaminada no logra desarrollarse y por ende no produce una mayor cantidad de hojas, y en consecuencia su capacidad fotosintética también se ve comprometida de forma negativa. Figura N°47

Tabla N° 45

Análisis de varianza para plántulas sin Zeolita 5A y sin Ni

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Genotipos	3	121.583	40.528	34.74	0.000*
Error	8	9.333	1.167		
Total	11	130.917			

***** *Significativo al 5 % con la prueba F.*

Tabla N° 46

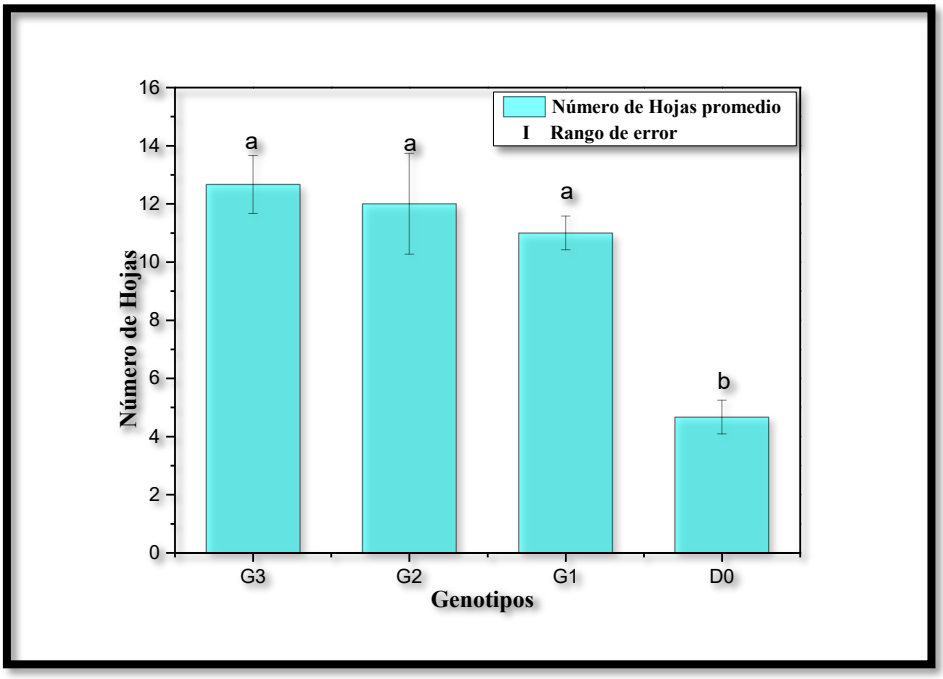
Prueba Tukey Aplicada a la variable Número de hojas

genotipo	Media	Agrupación
G3	12.667	a
G2	12.00	a
G1	11.000	a
D0	4.667	b

Letras distintas son significativamente diferentes

Figura N° 47

Significancia respecto al número de hojas para cada genotipo.



Nota: El número de hojas para el control cero fue hasta 5 veces mayor que su contraparte contaminada en promedio para cada genotipo.

Tabla N° 47

Concentración de Ni en el lapso de 90 días de experimento.

[Ni] sin contaminar (ppm)	[Ni] contaminado Fase inicial (ppm)	[Ni] contaminado Fase inicial (ppm)
1.83	70.21	25.34

Figura N° 48

Efecto recalcitrante de la zeolita 5A sobre la semilla de cacao.



Figura N° 49

Procedimiento utilizado para la siembra y cultivo de cacao

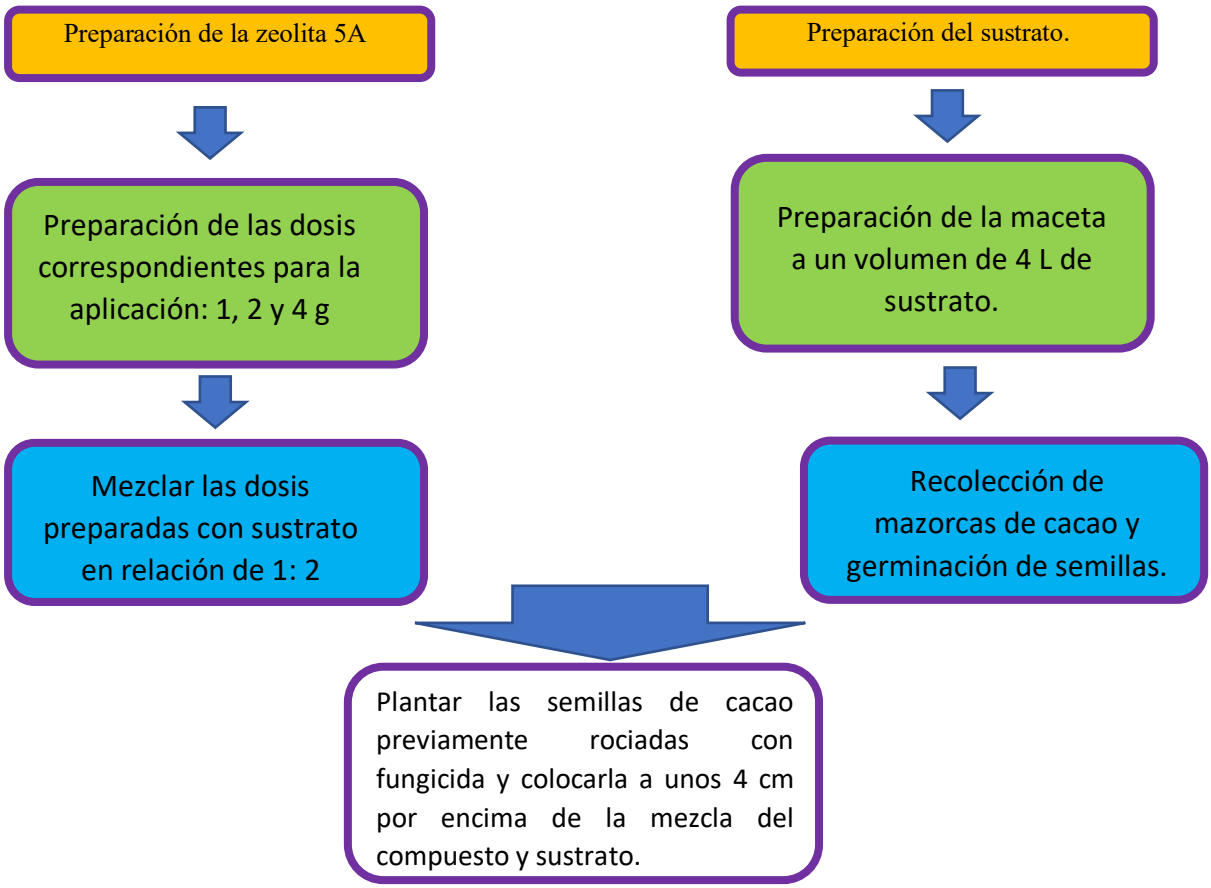
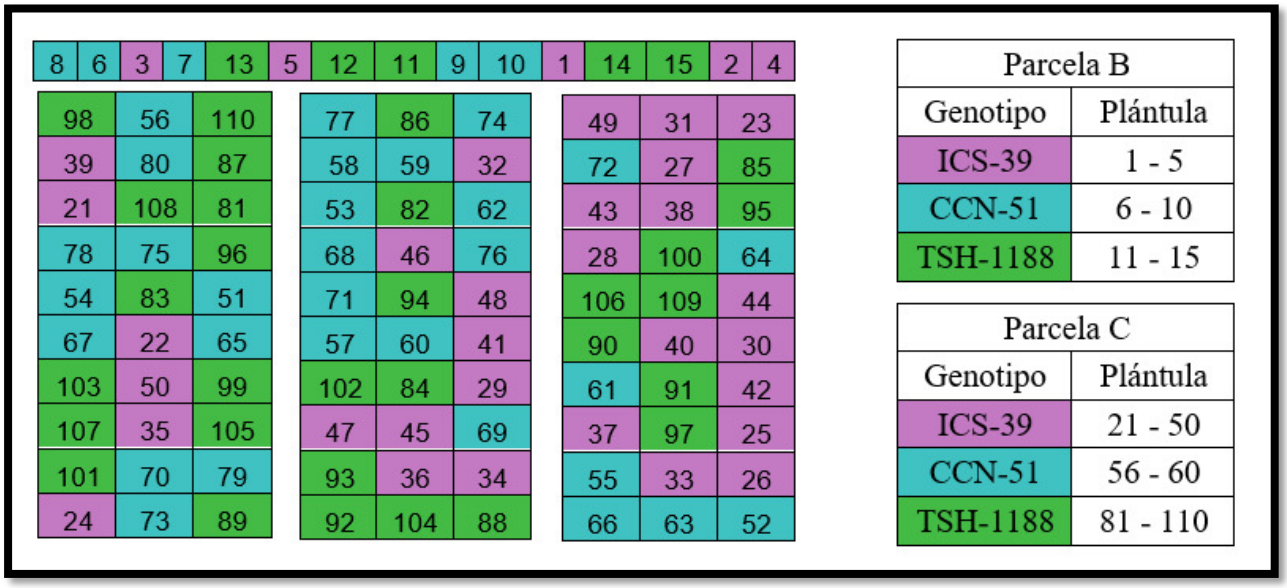


Figura N° 50 *Distribución experimental de las plántulas de cacao.*



Parcela B	
Genotipo	Plántula
ICS-39	1 - 5
CCN-51	6 - 10
TSH-1188	11 - 15

Parcela C	
Genotipo	Plántula
ICS-39	21 - 50
CCN-51	56 - 60
TSH-1188	81 - 110

ANEXO 2 CAPACITACIONES

Certificado del curso de Espectroscopía UV-Visible: Conceptos y aplicaciones



REGISTRO N° 0310-2021-CERSEU-FCF

Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

FACULTAD DE CIENCIAS FÍSICAS

Centro de Responsabilidad Social y Extensión Universitaria

C E R S E U

C E R T I F I C A D O

Otorgado a:

VICENTE ALCA RAMOS

Por su participación en calidad de ASISTENTE al CURSO DE ESPECTROSCOPÍA UV–VISIBLE: CONCEPTOS Y APLICACIONES; realizado del 10 de Mayo al 23 de Junio del 2021 con una duración de 40 horas, Organizado por el Grupo de Investigación de Nanotecnología aplicada para Biorremediación Ambiental, Energía, Biomedicina y Agricultura (NANOTECH) de la Facultad de Ciencias Físicas–UNMSM; modalidad virtual.

Lima, julio 21 del 2021.

UNMSM Firmado digitalmente por BUSTAMANTE DOMINGUEZ Angel Guillermo FAU 20148092282 soft. Motivo: Soy el autor del documento Fecha: 29.07.2021 19:51:55 -05:00

Dr. Angel Guillermo Bustamante Domínguez
Decano - FCF

UNMSM Firmado digitalmente por SAAVEDRA JUAN DE DIOS Miguel Fidencio FAU 20148092282 soft. Motivo: Soy el autor del documento Fecha: 23.07.2021 18:40:06 -05:00

Lic. Miguel Fidencio Saavedra Juan de Dios
Director del CERSEU- FCF

Pasantía ICT

INSTITUTO DE CULTIVOS TROPICALES
INVESTIGACIÓN Y EXTENSIÓN AGRÍCOLA PARA EL DESARROLLO DE LA AMAZONIA PERUANA
CERTIFICADO INDECOPI N° 00072183

CONSTANCIA DE PASANTÍA DE INVESTIGACIÓN

Tarapoto, 22 de marzo del 2022

El presente documento es para informar que YACU VICENTE ALCA RAMOS, tesista de Licenciatura del "GRUPO DE INVESTIGACIÓN DE NANOTECNOLOGÍA APLICADA PARA BIORREMEDIACIÓN AMBIENTAL, ENERGÍA, BIOMEDICINA Y AGRICULTURA (NANOTECH)" de la Facultad de Ciencias Físicas, de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, ha permanecido y realizado una pasantía de investigación de seis (6) meses en las instalaciones del Instituto de Cultivos Tropicales de Tarapoto (ICT), desde el 17 de setiembre del 2021 al 17 de marzo del 2022. Las actividades de investigación realizadas por la tesista YACU VICENTE ALCA RAMOS se listan en el siguiente orden:

1. Ayudantía en laboratorio de suelos a fin de manejar los protocolos utilizados en el análisis de muestras.
2. Se tomó muestras de suelos dentro de la estación Juan Bernito para su respectivo análisis de pH e identificar el punto idóneo para la colecta de sustrato.
3. Colecta de suelo del punto elegido, siendo la cantidad de 118 kg de suelo.
4. Limpieza, preparación y rotulado de 165 macetas.
5. Preparación de la solución contaminante de 7 L de $NiCl2{\bullet}6H2O$ para una concentración de 100 ppm de Ni.
6. Mezclado homogéneo de suelo y su disposición para la incubación de metal pesado.
7. Colecta de mazorcas de cacao de la estación Juan Bernito, siendo cuatro tipos de clones utilizados CCN-51, ICS-39, TSH-188, ICS-95.
8. Preparación de las 6 dosis de zeolita 5A por cada tratamiento siendo 0.5, 1, 2, 4, 6 y 8 g respectivamente.
9. Pre germinado, sembrado y aplicación de zeolita 5A.
10. Segunda colecta de semillas de la "Estación Choclino" para la repetición del experimento y la estimación de la concentración de Ni.
11. Regado de las plántulas con agua destilada hasta dos veces al día (mañana y tarde).
12. Sacrificio y lavado de las plántulas con agua destilada y una solución de HCl al 0.5% para la parte aérea y 1% para la parte radicular, así como también secado en estufa a 70 °C por dos días.
13. Pulverización y codificación de las muestras tanto de la parte aérea de la plántula, así como también muestras de suelo.
14. Limpieza del vivero y almacenamiento del suelo contaminado.

Los resultados obtenidos serán analizados y discutidos rigurosamente en su tesis de Licenciatura titulada "APLICACIÓN DE ZEOLITA 5A COMO INHIBIDOR DE NÍQUEL (II) Y SU USO COMO FERTILIZANTE EN LA PLÁNTULA DE THEOBROMA CACO L. PARA GENOTIPOS DE BAJA Y ALTA CAPACIDAD DE ABSORCIÓN DE METALES PESADOS.", dentro del marco del Proyecto Interdisciplinario para el Fomento de la Cooperación Interinstitucional en Investigación e Innovación-Política Nacional de Educación Superior Técnico Productiva (PNESTP-MINEDU)-2021, con título "Impacto en la estructura fitofísica a nivel de plántula de Theobroma cacao L. causada por la absorción de cadmio, níquel y la implementación de nanofertilizantes como solución alternativa de su bio-movilidad"; código B2113002i, financiado por MINEDU, aprobado con Resolución Rectoral N° 009412-2021-R. bajo supervisión de su co-asesor Prof. Dr. Juan Adrián Ramos Guivar, responsable del GI NANOTECH y su asesora Dra. María Rosario Calixto Cotos.

Por lo cual, se deja constancia el presente documento que certifica la pasantía de investigación de la tesista YACU VICENTE ALCA RAMOS como conformidad ante las autoridades pertinentes.

Atentamente.

INSTITUTO DE CULTIVOS TROPICALES
Tarapoto - Perú
Dr. Enrique Arévalo Gardini
Coordinador General

Oficina Central Tarapoto:
Av. Ahuashiyacu S/N - cuadra 16, Sector Laguna Venecia, la Banda del Shilcayo - Tarapoto - Referencia: Esquina Mz. "L" Urb. Santa Bárbara II

Casilla Postal SERPOST N° 201

Contacto:
E.mail: ict@ict-peru.org - lucindav@ict-peru.org

www.ict-peru.org

ANEXO 3 SOLICITUD DE PATENTE

Patente de invención solicitada a INDECOPI con el título: "PROCEDIMIENTO PARA USO DE LA ZEOLITA 5A COMO INHIBIDOR DEL TRANSPORTE DEL METAL PESADO NÍQUEL HACIA LAS PLÁNTULAS DE *Theobroma Cacao L.* A NIVEL DE SUSTRATO", bajo revisión del Vicerrectorado de Investigación, última fecha de revisión 26 de julio de 2022.