

Universidad de Los Andes
Facultad de Ciencias
Departamento de Química
Laboratorio de Investigación de Análisis Químico Industrial y Agropecuario (LIAQIA)

Trabajo Especial de Grado

Evaluación de cadmio en suelos cultivados con cacao

Br. Marlon Y. Arcila P.
Tutor: Prof. Alexis Zambrano.
Cotutor: Prof. Carlos Rondón.

Mérida, noviembre del 2023

CONTENIDO

Introducción	8
Capítulo I. Marco teórico	10
1. El Suelo. Generalidades	10
2. Importancia del suelo	10
3. Origen del suelo	10
4. Propiedades del suelo	11
5. Cadmio	15
6. Toxicidad del cadmio	15
7. Cadmio, actividad microbiana y respiración del suelo	16
8. Cacao. Generalidades	17
9. Cadmio en cacao	18
10. Fuentes naturales del cadmio	19
11. Fuentes antropogénicas del cadmio	19
12. Reciclado del cadmio dentro de sistemas de producción de cacao	21
13. Biodisponibilidad del cadmio	22
14. Propiedades del suelo que influyen la biodisponibilidad del cadmio	23
15. Espectrometría	26
16. Espectrometría de absorción	26
17. Espectrometría de absorción atómica	28
18. Instrumentación	28
19. Mecanismos de atomización del cadmio en ETAAS	31
20. Interferencias en ETAAS	32
21. Modificadores químicos y su aplicación en la determinación de cadmio	35
22. Medición de la señal	36

23.	Espectroscopia de absorción molecular en el UV-Vis	37
24.	Técnicas analíticas	38
25.	Parámetros analíticos	39
26.	Comparación entre técnicas espectroscópicas para la determinación de cadmio en suelos venezolanos	41
Capítulo II. Antecedentes		43
Capítulo III. Justificación del trabajo		46
1.	Planteamiento del problema	46
2.	Hipótesis	46
3.	Objetivos	46
Capítulo IV. Desarrollo experimental		48
1.	Aplicación de estrategias de mitigación.	48
2.	Toma de muestra.	49
3.	Tratamiento de la muestra.	50
4.	Determinación del contenido de agua.	50
5.	Determinación de pH	51
6.	Determinación de conductividad eléctrica	51
7.	Determinación de acidez intercambiable	52
8.	Respiración celular	53
9.	Determinación de capacidad de intercambio catiónico efectiva (CIC)	53
10.	Determinación de cadmio ambientalmente disponible	55
11.	Muestreo de granos de cacao	55
12.	Preparación de la muestra de licor de cacao	56
13.	Determinación de cadmio total en el licor de cacao	56
14.	Parámetros del equipo de absorción atómica con atomización electrotérmica (ETAAS)	57

Capítulo V. Resultados y discusión	59
1. Curvas de calibración	59
2. Determinación de cadmio en suelo y cacao	61
3. Efecto de la enmienda de cal agrícola	62
4. Efecto de la enmienda de estiércol vacuno compostado	67
5. Influencia del cadmio y las enmiendas en la respiración microbiana del suelo	68
6. Influencia de la conductividad.	69
7. Efecto de la remoción de los residuos de poda.	70
Conclusiones	72
Recomendaciones	73
Referencias Bibliográficas	74

www.bdigital.ula.ve

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Intercambio catiónico del Al (III) e hidronio.....	13
Figura 2: Equilibrios acuosos del aluminio en función del pH.	13
Figura 3. Adsorción de iones en coloides.....	14
Figura 4: Posibles fuentes de entrada de cadmio a los suelos de cultivo de cacao..	21
Figura 5: Fracciones de cadmio y biodisponibilidad en suelos.....	22
Figura 6. Propiedades del suelo que afectan la disponibilidad de cadmio para las plantas de cacao.	23
Figura 7. Componentes generales de un espectrómetro de absorción atómica.	29
Figura 8. Esquema de un instrumento de absorción atómica electrotérmico que proporciona una corrección de fondo con base en el efecto Zeeman.	32
Figura 9. Perfil típico de absorbancia vs tiempo para una señal de absorción atómica electrotérmica.	36
Figura 10. Espectro UV-Vis del cloruro de hexaminocobalto(III).....	37
Figura 11. Procedimiento de muestreo de suelo.....	49
Figura 12. Procedimiento tratamiento de la muestra.....	50
Figura 13. Procedimiento para determinación del contenido de agua.....	51
Figura 14. Procedimiento para determinación de pH.....	51
Figura 15. Procedimiento para determinación de conductividad del suelo.....	52
Figura 16. Procedimiento para determinación de capacidad de intercambio catiónico.	52
Figura 17. Procedimiento para determinación de acidez intercambiable.....	53
Figura 18. Procedimiento para determinación de determinación de la respiración microbológica del suelo.....	53
Figura 19. Procedimiento para determinación de capacidad de intercambio catiónico.	54
Figura 20. Procedimiento para determinación de cadmio ambientalmente disponible.....	55
Figura 21. Procedimiento para muestreo de granos de cacao.....	56
Figura 22. Procedimiento para preparación de la muestra de licor de cacao.	56
Figura 23. Procedimiento para preparación de la muestra de licor de cacao.	57
Figura 24. Curva de calibración para determinación de cadmio en suelo y cacao.....	60
Figura 25. Curva de calibración para determinación de CIC efectiva.....	60
Figura 26. Concentración de cadmio en suelo.....	61

Figura 27. Concentración de cadmio en cacao.	61
Figura 28. pH del suelo.	63
Figura 29. Capacidad de intercambio catiónico efectiva del suelo.	64
Figura 30. Reacciones de intercambio del aluminio en la superficie del suelo.....	65
Figura 31. Acidez intercambiable, libre y aluminio intercambiable.	66
Figura 32: Respiración microbiana del suelo.	69
Figura 33. Conductividad del suelo.....	70

www.bdigital.ula.ve

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Interpretación general de los valores de pH del suelo	12
Tabla 2. Comparación de métodos de análisis atómico	42
Tabla 3. Plan de muestreo y aplicación de enmiendas	49
Tabla 4. Parámetros de optimización para el equipo de absorción molecular UV/Visible	54
Tabla 5. Parámetros de optimización para el equipo de ETAAS empleados por Londero (2021) y Qasem (2021).	58
Tabla 6. Parámetros de optimización para el equipo de ETAAS obtenidos por Londero (2021).	58
Tabla 7. Parámetros de optimización para el equipo de ETAAS obtenidos por Qasem (2021).	58
Tabla 8. Curvas de calibración empleadas para la determinación de cadmio en suelo y cacao.	59

www.bdigital.ula.ve

INTRODUCCIÓN

El cadmio es un metal traza potencialmente tóxico que no tiene ninguna función biológica conocida en los humanos. El cadmio se acumula en el cuerpo humano y tiene una vida media biológica de 10-35 años. La exposición crónica al cadmio se ha relacionado con varios efectos adversos para la salud que incluyen disfunción renal tubular y osteomalacia (Püsa, 2014).

La dieta humana es la fuente principal del cadmio para el cuerpo en la población no fumadora y alimentos como el arroz, productos de grano de trigo o papas son los principales contribuyentes para la exposición dietaria al cadmio debido a su alto consumo. Sin embargo, otros alimentos como el chocolate, aunque son ingeridos en cantidades más pequeñas, también pueden contribuir debido a sus elevadas concentraciones de cadmio.

Para proteger a sus consumidores la Comisión Europea aprobó una nueva regulación en 2014 (con fuerza desde el 2019), que establece que la máxima cantidad de cadmio permitida en chocolates y polvos de cacao debe estar entre 0,10 y 0,80 ppm de Cd dependiendo del contenido de sólidos de cacao del producto (Commission Regulation (EU) No 488/2014. Artículo 2). Se espera que regulaciones similares se implementen alrededor del mundo, por ejemplo, en Australia y Nueva Zelanda, Rusia y los países del Mercosur. En Estados Unidos, particularmente en California, los productos con elevados niveles de cadmio pueden ser vendidos, pero es obligatorio reportarlo en el empaque (Assembly Bill No. 899, Capítulo 668. California, US). Las regulaciones de cadmio en cacao también han sido adoptadas por el *Codex Alimentarius*. Como resultado se ha incrementado la investigación internacional para monitorear y mitigar la acumulación de cadmio en el cacao. Aunque la mitigación del cadmio ha sido estudiada ampliamente para varios cultivos como el trigo, espinaca, arroz y papas, en el caso del cacao la investigación es incipiente.

La disponibilidad del cadmio para su absorción por parte de la planta de cacao depende en gran medida de las propiedades fisicoquímicas del suelo como el pH y el contenido de materia orgánica. Es por ello que en estudios anteriores se ha intentado mitigarlo por medio

de la aplicación de enmiendas al suelo, con mayor o menor éxito. En el presente trabajo se muestran los resultados de la aplicación de tres controles de mitigación del cadmio a un suelo cultivado con cacao ubicado en la finca Brisas del Sarare, ubicada en la Parroquia Urdaneta del estado Apure, Venezuela.

Las enmiendas seleccionadas consistieron en la aplicación de cal agrícola, una enmienda de compost de estiércol vacuno y la remoción de residuos de poda de la planta. El resultado esperado fue el incremento del pH y materia orgánica, junto con la eliminación del cadmio que retorna al suelo desde los restos vegetales de la planta. Los efectos de estas estrategias se analizaron por separado en un período de nueve meses. Para ello se determinó el cadmio en el suelo y en el grano de cacao por medio de la técnica de absorción atómica por atomización electrotérmica. Finalmente, se midieron propiedades fisicoquímicas del suelo relevantes para la absorción del metal.

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO I.

Marco teórico

1. El Suelo. Generalidades

Es un cuerpo natural dinámico compuesto por sólidos minerales y orgánicos, gases, líquidos y organismos vivos que puede servir como medio para el crecimiento de las plantas. Sus propiedades son el resultado de los efectos integrados del clima y los organismos vivos actuando sobre un material parental, de forma condicionada por la topografía, a lo largo de periodos de tiempo (Brady *et al.*, 2017).

2. Importancia del suelo

El suelo es crucial para la vida en la tierra. Las cualidades del suelo determinan la naturaleza de los ecosistemas vegetales y la capacidad de la tierra para soportar la vida animal y la sociedad. El suelo también juega un rol central en muchos de los desafíos ambientales modernos. Desde la contaminación del agua y el cambio climático, hasta la pérdida de biodiversidad y el suministro alimenticio humano, los ecosistemas del mundo son impactados por los procesos que se llevan a cabo en el suelo (Brady *et al.*, 2017).

El grado de dependencia del suelo que tiene la sociedad humana probablemente se incrementará en el futuro. Los suelos continuarán sufriendo casi toda la comida necesaria en el planeta. Además, la mayor parte de la fibra que usada para madera, papel y vestido tiene sus raíces en los suelos de bosques y tierras de cultivo. Aunque el uso de plásticos y fibras sintetizadas a partir del petróleo como sustitutos, a la larga se continuará dependiendo de los ecosistemas terrestres para esas necesidades (Brady *et al.*, 2017).

3. Origen del suelo

El suelo se forma continua pero lentamente a través de un proceso llamado meteorización. Este rompe rocas y minerales, modifica o destruye sus características físicas y químicas, y arrastra los fragmentos finos y productos solubles. La meteorización es un proceso bioquímico que involucra destrucción y síntesis, además, las rocas y minerales originales son destruidos por procesos de desintegración física y descomposición química (Brady *et al.*, 2017).

Sin afectar su composición, la desintegración física fragmenta las rocas, en rocas más pequeñas y eventualmente en arena y limo. Estos están comúnmente formados por minerales individuales. Simultáneamente, los minerales se descomponen químicamente, liberando materiales solubles y sintetizando nuevos minerales, algunos de ellos productos finales resistentes. Los nuevos minerales se forman por pequeñas alteraciones o por una transformación química completa del mineral original y la resíntesis de nuevos minerales. Durante los cambios químicos, el tamaño de partícula continúa decreciendo y los constituyentes continúan disolviéndose en la solución de meteorización. Las sustancias disueltas pueden recombinarse en minerales secundarios, abandonar el perfil de suelo si el agua es drenada o pueden ser tomadas por las raíces de las plantas (Brady *et al.*, 2017).

4. Propiedades del suelo

4.1 Conductividad eléctrica

Las sales siempre están presentes en el suelo y la conductividad eléctrica depende del tipo de sales y las cantidades presentes. En las regiones húmedas, se encuentran en baja concentración y no afectan el crecimiento de las plantas, mientras que en regiones áridas, semiáridas y cerca de lagos salados y océanos, pueden encontrarse una alta concentración de sales, con efectos negativos en el crecimiento de las plantas. Para medir la conductividad eléctrica de una solución, esta se coloca entre dos electrodos de geometría constante separados por una distancia conocida. Cuando se establece un potencial eléctrico entre los electrodos, la corriente varía directamente con la concentración total de sales disueltas. La corriente es inversamente proporcional a la resistencia de la solución, que puede medirse con un puente de resistencias. La conductividad eléctrica de un extracto de saturación es una medida de la salinidad del suelo y la conductividad eléctrica del agua de irrigación mide la salinidad del agua (Strawn *et al.*, 2020).

4.2 Acidez

El grado de acidez o alcalinidad del suelo, expresado como pH, es una variable maestra que afecta un amplio rango de propiedades químicas y biológicas del suelo. Esta variable química influencia grandemente la probabilidad de que las raíces de las plantas tomen tanto

nutrientes como elementos tóxicos. El pH del suelo también tiene impactos profundos en las comunidades de microorganismos del suelo y sus actividades. La mezcla de especies de plantas que dominan un paisaje bajo condiciones naturales usualmente refleja el pH del suelo. Para las personas que intentan producir cultivos o plantas ornamentales, el pH del suelo es un determinante principal de cuáles especies crecerán bien o siquiera crecerán en determinado lugar. El pH afecta la movilidad de muchos contaminantes en el suelo al influenciar la velocidad de su decaimiento bioquímico, su solubilidad y su adsorción en coloides. Así, el pH del suelo es un factor crítico en la predicción de la probabilidad de que un contaminante particular contaminará aguas subterráneas, aguas superficiales y cadenas alimenticias. Muchos factores complejos afectan el pH del suelo, pero los más importantes son el balance entre cationes ácidos y neutros en las superficies coloidales y el balance entre los iones H^+ y OH^- en la solución del suelo. Estos balances, por su parte, son controlados por la naturaleza de los sólidos coloidales. Por lo tanto, para entender y manejar la acidez del suelo, es esencial el conocimiento de los conceptos de superficies coloidales cargadas y el intercambio catiónico (Brady *et al.*, 2017). En la Tabla 1, se presenta la interpretación de la escala de pH del suelo y su capacidad de reacción, de acuerdo a Munita (2001).

Tabla 1: Interpretación general de los valores de pH del suelo. (Tomado de Munita, 2001)

Valores de pH	Reacción del suelo
> 8,5	Fuertemente alcalino
8,0-8,5	Moderadamente alcalino
7,5-8,0	Ligeramente alcalino
6,6-7,4	Neutro
6,0-6,5	Ligeramente ácido
5,5-6,0	Moderadamente ácido
5,0-5,5	Fuertemente ácido
< 5,0	Muy fuertemente ácido

4.3 Acidez intercambiable

Los investigadores sugieren que existen tres reservas principales de acidez en el suelo: (1) acidez activa debido a los iones H^+ en la solución del suelo; (2) acidez reemplazable con sales (intercambiable), que involucra al aluminio y el hidrógeno que es fácilmente intercambiable con otros cationes en soluciones salinas no amortiguadas; y (3) acidez residual, que puede ser neutralizada por cal u otros materiales alcalinos pero que no puede ser detectada por el reemplazo de sales. La acidez intercambiable está principalmente asociada con el aluminio intercambiable y los iones hidronio que está presentes en grandes cantidades en suelos muy ácidos. Estos iones pueden ser liberados a la solución del suelo por medio de intercambio catiónico con una sal no amortiguada (Figura 1), como el KCl (Brady *et al.*, 2017).

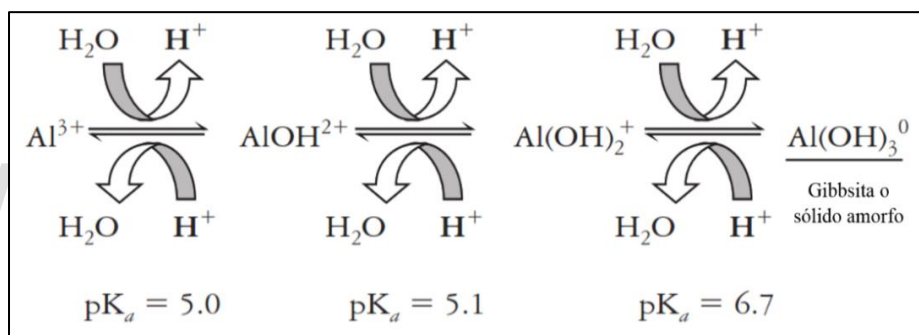


Figura 1: Intercambio catiónico del Al (III) e hidronio. (Adaptado Brady *et al.*, 2017)

Una vez liberado a la solución del suelo, el aluminio se hidroliza para formar H^+ adicional (Figura 2). El equivalente químico de la acidez intercambiable con sales en suelos fuertemente ácidos es cientos de veces mayor a la acidez activa en la solución del suelo (Brady *et al.*, 2017).

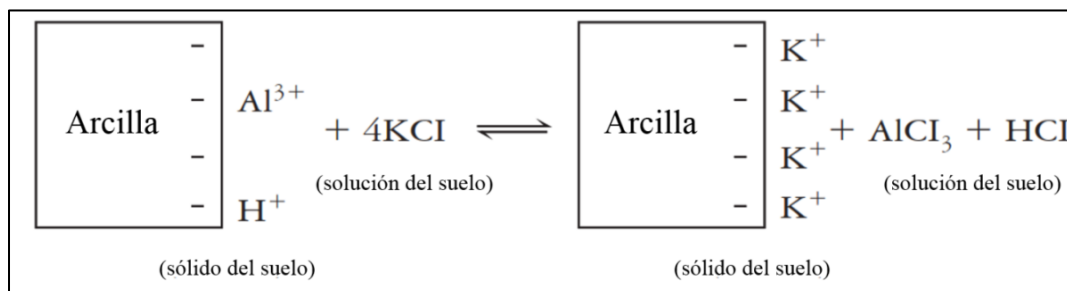


Figura 2: Equilibrios acuosos del aluminio en función del pH. (Adaptado Brady *et al.*, 2017)

4.4 Capacidad de intercambio catiónico

En los suelos, las cargas positivas y negativas de los coloides atraen y retienen una compleja variedad de cationes y aniones. En la Figura 3 la adsorción iónica se ilustra de manera simplificada: La proporción de cationes y aniones adsorbidos dependerá del tipo de sólidos que conformen el suelo ya que esto determina la proporción de cargas en su superficie. La adsorción de iones en las superficies coloidales ocurre por la formación de dos tipos diferentes de complejos coloide-ion llamados complejos de esfera exterior y complejos de esfera interior. En un complejo de esfera exterior las moléculas de agua hidratan o rodean a los cationes y aniones formando un puente entre el ion adsorbido y la superficie coloidal cargada. Así el ion está unido débilmente por atracción electrostática con varias capas de agua separando la superficie del ion. En consecuencia, los iones con esfera exterior son fácilmente reemplazados por especies similares. En contraste, los complejos de esfera interior se encuentran adsorbidos sin que estén involucradas moléculas de agua. Por lo tanto, se forman uno o más enlaces directos entre el ion adsorbido y la superficie coloidal (Brady *et al.*, 2017).

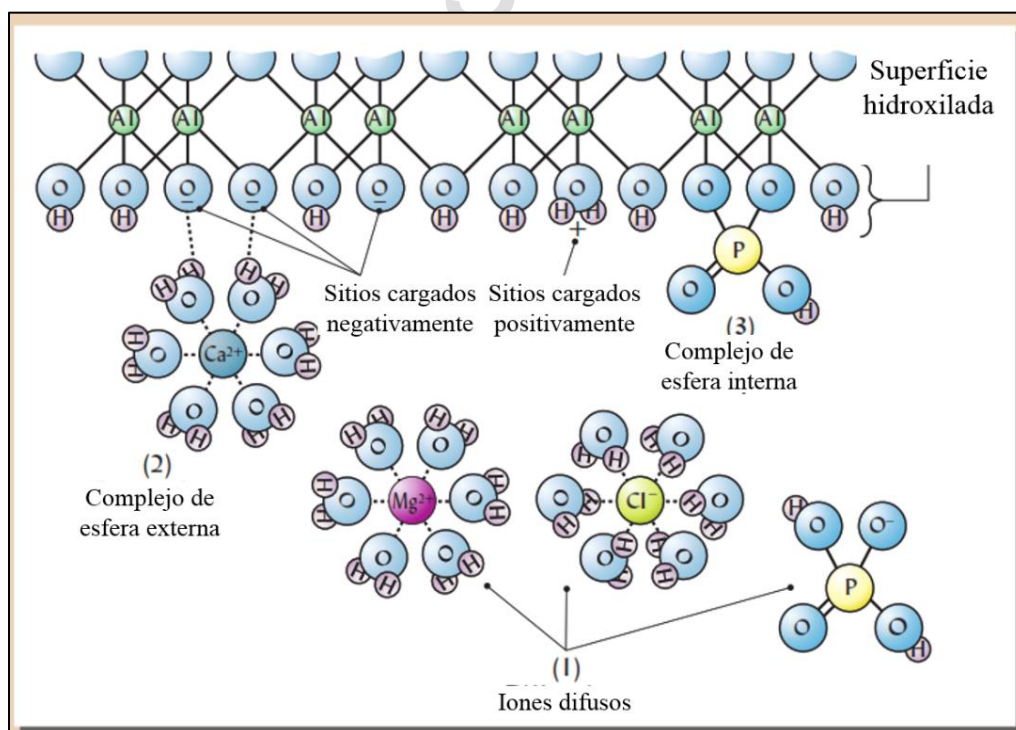


Figura 3. Adsorción de iones en coloides. (Adaptado Brady *et al.*, 2017).

En el caso de un complejo de esfera externa, que se encuentra débilmente unido a la superficie, el catión adsorbido se encuentra en constante movimiento cerca de la superficie coloidal. Existen momentos (microsegundos) cuando un catión adsorbido vibra y se aleja más de lo normal de la superficie coloidal. Tal momento es la oportunidad para que otro catión hidratado se acerque a una posición más cercana, reemplazando al ion original. El proceso descrito anteriormente es referido como intercambio catiónico o intercambio aniónico dependiendo del tipo de ion reemplazado (Brady *et al.*, 2017).

La capacidad de intercambio catiónico es expresada como el número de moles de carga positiva adsorbidos por unidad de masa. Un suelo particular puede tener una CEC de 15 cmol/kg indicando que 1 kg de suelo puede retener 15 cmol de iones hidronio. Esto enfatiza que las reacciones de intercambio tienen lugar con base al intercambio de cargas y no al intercambio de iones (Brady *et al.*, 2017).

5. Cadmio

Cadmio (Cd), nombre derivado del latín *cadmia* y del griego *καδμεία*, que son nombres antiguos para la calamina o el óxido de zinc. Es un miembro, junto con el zinc y el mercurio, del Grupo 12 (IIB) de la tabla periódica de los elementos. Se caracteriza generalmente como un metal blanco plateado o blanco azulado suave y maleable y fue descubierto casi simultáneamente en 1817 por Strohmeyer y Hermann, ambos en Alemania, como una impureza en el carbonato de zinc. El metal de cadmio puede recuperarse como subproducto de la fundición de zinc, plomo o cobre y se utiliza comercialmente como recubrimiento resistente a la corrosión en acero, aluminio y otras aleaciones no ferrosas (Haynes, *et al.*, 2014).

6. Toxicidad del cadmio

Los humanos adquieren cadmio principalmente de la comida (1/3 de origen animal y 2/3 de origen vegetal) con absorción pobre de los intestinos, el humo de cigarrillo con buena absorción y del agua y aire inhalado. El mayor contenido de cadmio se encuentra en las papas, vegetales y cereales, además de estar en menor cantidad en frutas y bebidas. Aunque es posible intoxicarse severamente con cadmio de origen alimenticio, el principal grupo de

riesgo son los fumadores que viven en áreas industriales o tienen una exposición ocupacional al cadmio (Püsa, 2014).

La suma de todas las contribuciones de cadmio que hacen parte de la dieta normal americana produce un estimado de 73 µg de cadmio por día para una persona. Este valor no es significativamente diferente del límite de tolerancia provisional de la WHO (57-71 µg/día). Este límite se ha establecido con base a resultados de experimentos con animales y el análisis de exposiciones humanas en ambientes industriales. Por lo que si no se consume en exceso alimentos con alto contenido de cadmio, no se esperan riesgos de salud inminentes para la población en general (Bjeldanes, 2009).

Como consecuencia de una administración a largo plazo, el cadmio se acumula mayormente en el hígado y en los riñones. Una dosis de 0,2-0,3 mg de Cd causa daño a los túbulos renales y un 15% de los envenenamientos con cadmio terminan en muerte. Aunque el cuerpo humano puede metabolizar el cadmio en compuestos no dañinos, altas dosis de cadmio producirán serios problemas de salud. Esta toxicidad se manifiesta no solo en daño renal sino también en afecciones pulmonares y testiculares. En el caso específico de intoxicaciones causadas por comida o agua potable, se manifiestan desordenes gastrointestinales como incremento de salivación, náusea, vómito y diarrea que pueden desembocar en shock y muerte. Los antidotos del cadmio son los formadores de complejos. Por ejemplo, el EDTA y sus sales o el DTPA, así como compuestos de calcio. La vida media del cadmio en el organismo es de 7-30 años y es excretado por los riñones luego de dañar a este órgano (Püsa, 2014).

7. Cadmio, actividad microbiana y respiración del suelo

El suelo sirve de hábitat para una gran cantidad de microorganismos asociados con la salud del mismo. El cadmio, como metal pesado, tiene efectos tóxicos documentados para la microbiota. Sin embargo, las tendencias dependen del tipo de suelo y sus propiedades. Se ha determinado que los estudios realizados en laboratorio suelen sobreestimar el efecto de los metales en la microbiota del suelo. En consecuencia, cualquier estudio en laboratorio en el cual haya recuperación en los primeros 30 días de exposición, no representa un riesgo.

La mineralización del carbono orgánico para producir CO₂, comúnmente conocida como “respiración del suelo” es un indicador apropiado de la actividad total de la microflora involucrada en la descomposición de la materia orgánica. La respiración total del suelo ha sido el parámetro más estudiado para determinar el efecto de los metales en la actividad microbiológica del suelo. Los principales factores que afectan la toxicidad del cadmio para la microbiota son los siguientes (Doelman *et al.*, 1984):

7.1 Tipo de suelo: la cantidad de cadmio disponible para el organismo receptor depende de las características de suelo como el pH, la presencia de nutrientes minerales, materia orgánica y arcilla. Por ejemplo, la interacción entre la pared celular y el cadmio es más pronunciada en los suelos arenosos (Doelman *et al.*, 1984).

7.2 Tiempo: otro factor a considerar, ya que la capacidad del cadmio para ser desorbido disminuye con el tiempo (Doelman *et al.*, 1984).

7.3 Naturaleza de los microorganismos: los microorganismos del suelo pueden afectar la biodisponibilidad del cadmio al liberar compuestos específicos que forman complejos con el cadmio o al cambiar el pH del suelo. Además, al interactuar con la pared celular pueden movilizar el Cd fuertemente fijado en el suelo, especialmente en condiciones anaeróbicas. La evidencia sugiere que ocurren cambios en la estructura genética de las poblaciones de microorganismos bajo estrés a largo plazo por metales pesados. En el caso del cadmio, tales efectos adversos pueden llevar a la reducción de la biodiversidad y por lo tanto de las funciones de suelo (Doelman *et al.*, 1984).

8. Cacao. Generalidades

El género *Theobroma*, que en griego significa "alimento de los dioses", tiene sus raíces en América del Sur, al este de Los Andes, hace millones de años. Se ha identificado 22 especies dentro de este género, siendo *Theobroma cacao* la más conocida. Recientes hallazgos arqueológicos en el sur de Ecuador sugieren que las semillas de cacao eran utilizadas por las poblaciones nativas hace más de 5300 años, aproximadamente 1500 años antes de la domesticación del árbol. El cacao crece en una gran variedad de suelos y su crecimiento está determinado por las propiedades químicas del mismo ya que la planta

tiene un gran número de raíces para absorber nutrientes. El cacao puede crecer en suelos con un pH en el rango de 5,0-7,5. Por lo tanto, puede lidiar tanto con suelos ácidos como alcalinos, pero es necesario evitar la acidez excesiva (pH 4,0 y por debajo) o la alcalinidad (pH 8,0 y por encima). El cacao es tolerante a los suelos ácidos, siempre y cuando el contenido de nutrientes sea suficientemente alto. El suelo también debe tener un alto contenido de materia orgánica: 3,5% en los primeros 15 centímetros de suelo. Los suelos para el cacao deben tener ciertos equilibrios aniónicos y catiónicos. Las bases intercambiables en el suelo deben ser al menos del 35% de la capacidad total de intercambio catiónico (CEC), de lo contrario es probable que surjan problemas nutricionales. La relación óptima entre nitrógeno total y fósforo total debe ser de alrededor de 1,5 (Bartley, 2005).

Los granos de cacao son procesados para crear el licor de cacao, que es un líquido resultante de la molienda y el procesamiento de los granos a través de fermentación, secado y tostado. La palabra "licor" se refiere a la consistencia líquida del cacao lograda mediante la molienda hasta alcanzar un tamaño de partícula de 17 μm . Un tamaño de partícula de 25-35 μm da una textura arenosa en la boca, mientras que la mayoría de los chocolates finos tienen un tamaño de partícula de 5 μm (Quintana *et al.*, 2021).

9. Cadmio en cacao

El cadmio en productos del cacao se origina en los granos de cacao, y no por contaminación durante el procesamiento. Esto se demuestra por la fuerte correlación que existe entre la concentración de cadmio en el producto final de chocolate y su contenido de cacao. Mientras que todas las plantas absorben cadmio hasta cierto nivel, *Theobroma cacao* L. es bastante efectiva en ello. El estudio más antiguo que reporta la concentración de Cd en granos de cacao data de 1979 y resaltó que elevadas concentraciones de cadmio provenían típicamente de Latinoamérica. Generalmente, la mayor parte del cadmio en la planta proviene del suelo a través de su recepción por las raíces, mientras que solo una pequeña parte proviene del aire (Vanderschueren *et al.*, 2021). En Venezuela, estudios como el de Londero (2021) han mostrado que los niveles de cadmio en grano de cacao procesado (licor de cacao) pueden llegar hasta los 7 ppm aproximadamente para algunas muestras de cacao cultivado en el Alto Apure.

10. Fuentes naturales del cadmio

El cadmio es un elemento traza de la litosfera y se encuentra en una cantidad media de 0,41 mg/kg (Kabata-Pendias, 2010). Existen pocos minerales de cadmio en el ambiente y este metal se encuentra principalmente en minerales de zinc. Las concentraciones de cadmio en las rocas sedimentarias suelen ser mayores que en las ígneas y su concentración aumenta al incrementarse las cantidades de fósforo, azufre y carbono en las rocas. En suelos no contaminados, el contenido de cadmio está regido por la textura del suelo: 0,01-0,3 mg/kg en suelos arenosos y 0,2-0,8 mg/kg en suelos arcillosos (Alloway, 2013).

11. Fuentes antropogénicas del cadmio

La actividad humana puede incrementar la concentración de cadmio en los suelos de agricultura a través de la aplicación de fertilizantes de fosfato derivados de material sedimentario y la utilización de aguas de riego que provengan de áreas con altos niveles de cadmio. El minado y fundición de menas, el quemado de combustibles fósiles y otras actividades industriales pueden provocar la contaminación localizada de cadmio. En suelos tropicales en áreas húmedas, es común la migración del cadmio hacia abajo en el perfil del suelo (Kabata-Pendias, 2010) y por consiguiente se suele concluir que la presencia de cadmio en capas superiores en mayor proporción a las inferiores se debe a la acción antropogénica.

11.1 Inserción directa sobre suelos agrícolas

Los materiales aplicados directamente en los suelos pueden contener cadmio. Estos incluyen desechos de cloacas, compost, estiércol, fertilizantes de fósforo. Este último ha sido considerado por alguno como una de las principales fuentes de contaminación de cadmio en los suelos agrícolas lo largo del mundo. Esto se debe a que el cadmio suele encontrarse en altas concentraciones en las rocas fosfóricas de las cuales se deriva el fertilizante. El incremento de cadmio que resulta del uso de fertilizantes contaminados depende no solo de la concentración en la roca fuente, sino también del proceso de fertilización seguido. Otras enmiendas del suelo también contienen altos niveles de cadmio.

Estas incluyen compuestos de zinc y cal agrícola, ambas manufacturadas a partir de subproductos de la minería y otras industrias (Mortvedt, 1985).

Por otra parte, aunque el uso de fertilizantes con fósforo ha sido sugerido como el origen de las altas concentraciones de cadmio en el cacao, otros autores consideran que esto es improbable a gran escala. Vanderschueren *et al.*, (2021) discute los resultados obtenidos de la medición de cadmio en estos fertilizantes a largo plazo en una finca de cacao en Bolivia realizado por Gramlich *et al.*, (2017). Se encontró una concentración media de 102 mg Cd/kg P₂O₄, que es alta en comparación con la media de los fertilizantes europeos (28 mg Cd/kg P₂O₄). Una dosis anual sostenida de 20 kg P₂O₄/ha.año con el fertilizante local añadiría 2 g Cd/ha.año. Esto equivale a una adición al suelo de 0,001 mg Cd/kg suelo/año lo que implica una acumulación de apenas 0,1 mg Cd/kg suelo en 100 años. Esa acumulación de cadmio es irrealmente alta ya que la mayoría de la producción mundial de cacao está en manos de pequeños terratenientes que no usan comúnmente fertilizantes de fósforo. Este cálculo del peor escenario indica que los fertilizantes de fósforo no son la principal fuente de Cd en las plantaciones, o al menos no a gran escala.

11.2 Agua de irrigación y sedimentos

Ríos y flujos de agua que corren a través de áreas con altos niveles de cadmio pueden transportarlo junto con otros metales pesados hacia áreas agrícolas río abajo por la superficie, aguas subterráneas, o sistemas de irrigación. El cadmio puede originarse también por el humedecimiento de la roca madre pero las concentraciones se disparan por la minería y la degradación del terreno. Adicionalmente, el agua no necesita tener altos niveles de cadmio para afectar el suelo, bastan condiciones de salinidad y ciclos de inundación y secado para incrementar los niveles de cadmio en el suelo (Singh *et al.*, 1999).

11.3 Deposición atmosférica

Las principales fuentes de emisión de cadmio a la atmósfera son los procesos industriales que incluyen el minado y fundición, producción de hierro y acero, industrias de aceite y gas, incineración de desechos y producción de cemento (Alloway *et al.*, 1999). El

transporte del cadmio en la atmosfera depende del tamaño de partícula y se acumula en la capa húmica superior del suelo quedando disponible para las plantas. Sin embargo, no hay evidencia de la que la contaminación atmosférica lleve a incrementos en los niveles de cadmio en cultivos como el cacao debido a que las plantaciones no se encuentran localizadas normalmente cerca de industrias.

12. Reciclado del cadmio dentro de sistemas de producción de cacao

Los reportes de altas concentraciones de cadmio en los granos de cacao indican que las concentraciones son también altas o incluso mayores en las hojas y frutos. Las hojas muertas y las cáscaras de los frutos son usualmente dejadas en el suelo de las plantaciones para su degradación, reduciendo la pérdida de nutrientes y mejorando la materia orgánica del suelo. Así, los átomos de cadmio que se encuentren en estos tejidos pasarán al suelo y serán reciclados nuevamente a la planta. En la Figura 4, se describen las posibles fuentes de entrada del cadmio al suelo, tanto desde el punto de vista natural como antropogénico.

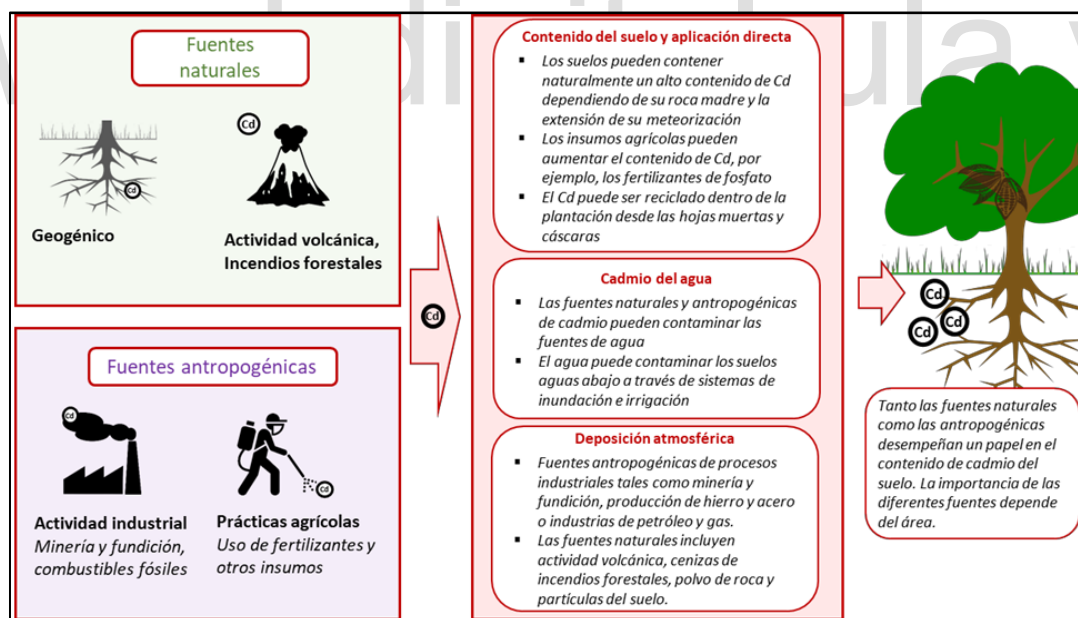


Figura 4: Posibles fuentes de entrada de cadmio a los suelos de cultivo de cacao. (Tomado de Meter *et al.*, 2019).

Varios estudios del perfil del suelo han determinado que la concentración de cadmio en el suelo decrece con la profundidad en las plantaciones de cacao (Vanderschueren *et al.*, 2021). Por otra parte, se esperaría que naturalmente el Cd en el suelo sea transportado y su

concentración aumente con la profundidad. Esto ha sido interpretado como evidencia de fuentes antropogénicas para el cadmio en plantaciones de cacao, con aplicaciones de fertilizantes de fósforo mencionados anteriormente. Sin embargo, es más plausible que este perfil de concentraciones se deba al efecto cíclico causado por la descomposición de la biomasa aérea de la planta que retorna el cadmio al suelo. Se ha calculado que el flujo anual de Cd retornado al suelo es de aproximadamente 10 g Cd/ha.año. Este número es mucho mayor que el determinado para la aplicación de fertilizantes de fósforo (Vanderschueren *et al.*, 2021).

13. Biodisponibilidad del cadmio

En el suelo, los metales trazas existen en muchas formas químicas y físicas, y no todas están disponibles para ser tomadas por los organismos vivos. El contenido de cadmio puede ser dividido en tres reservorios basado en la biodisponibilidad: cadmio total, reactivo y directamente disponible. El reservorio total contiene el reactivo, el directamente disponible y el no reactivo (cadmio no disponible por décadas, siglos o más). El reservorio reactivo consiste de iones de cadmio adsorbidos a las superficies reactivas de la materia del suelo y que están potencialmente disponibles para la absorción por parte de la planta. El reservorio directamente disponible está compuesto por los iones de cadmio libre o totalmente disueltos en la solución del suelo listos para ser tomados (Figura 5).

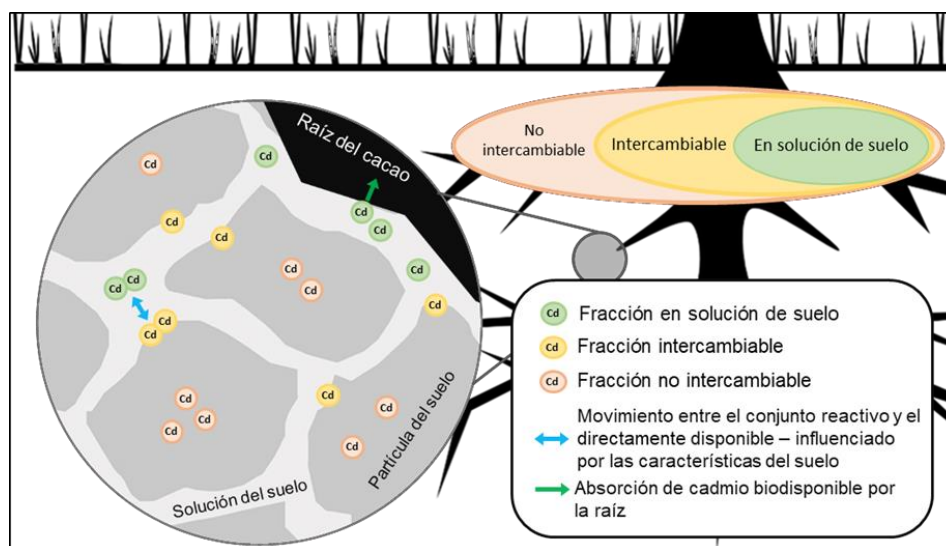


Figura 5: Fracciones de cadmio y biodisponibilidad en suelos. (Tomado de Meter *et al.*, 2019).

El movimiento del cadmio desde el reservorio reactivo hasta el directamente disponible está afectado por el pH del suelo, el contenido de materia orgánica, contenido de arcilla, capacidad de intercambio catiónico, la presencia de hidróxidos de metales, la conductividad eléctrica, el contenido de macro y micro nutrientes y la presencia de microorganismos (Singh *et al.*, 1999), tal como se representa en la Figura 6.

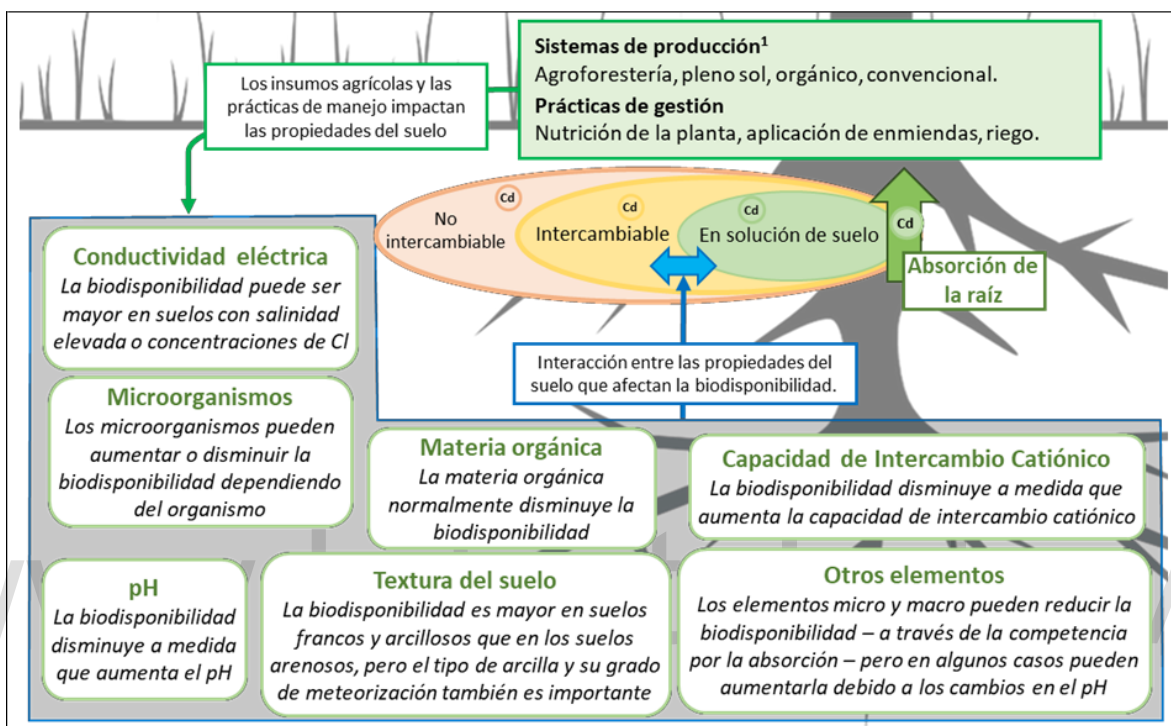


Figura 6. Propiedades del suelo que afectan la disponibilidad de cadmio para las plantas de cacao. (Tomado de Meter, *et al.*, 2019).

14. Propiedades del suelo que influyen la biodisponibilidad del cadmio

14.1 Capacidad de intercambio catiónico

A medida que la capacidad de intercambio catiónico disminuye se incrementa la competencia entre los iones H^+ y Cd^{2+} por sitios de enlace con las superficies y esto resulta en la desorción desde las partículas de suelo hacia la solución del suelo. La capacidad de intercambio catiónico está influenciada por propiedades del suelo como la textura, el contenido de arcilla y la mineralogía, el pH y el contenido de materia orgánica (Adriano, 2001).

14.2 pH

El pH del suelo es uno de los parámetros más importantes influenciando la especiación, movilidad y solubilidad del cadmio y por tanto su biodisponibilidad. A medida que el pH se incrementa, también lo hace la capacidad de intercambio catiónico. En suelos alcalinos, el cadmio tiende a estar menos disponible y que está fuertemente unido a las partículas del suelo. El incremento del pH en suelos ácidos casi siempre lleva a la disminución de la absorción de cadmio por las plantas. Aunque esto puede ser revertido por la salinidad (Adriano, 2001). Las plantas de cacao crecen mejor en suelos con niveles de pH que van desde 5,0 hasta 7,5 y la aplicación de ciertas enmiendas a suelos acídicos que incrementen su pH reduce su absorción por la planta (Ramtahal *et al.*, 2018).

14.3 Contenido de materia orgánica

El contenido de materia orgánica de los suelos juega un rol importante en la biodisponibilidad del cadmio debido a su capacidad para adsorberlo. La capacidad de la materia orgánica para enlazarse al cadmio se debe a su alta capacidad de intercambio catiónico y a su habilidad quelante. El contenido orgánico también puede reducir la biodisponibilidad del cadmio de forma indirecta al afectar otras propiedades del suelo, por ejemplo, el pH. Sin embargo las sustancias húmicas a veces forman complejos solubles con el cadmio incrementando su movilidad (Adriano, 2001).

14.4 Textura del suelo

La textura del suelo influencia el contenido de cadmio y su biodisponibilidad debido a las diferentes capacidades de intercambio catiónico de la arena, limo y arcilla. Los suelos de texturas finas (arcillas), generalmente tienen una mayor capacidad de adsorción que texturas más gruesas (arenas). Por otra parte, el contenido total de cadmio parece ser mayor en suelos con limo que en suelos arenosos. Sin embargo, los estudios relacionados suelen ser inconsistentes debido a que las diferentes proporciones del mineral de arcilla poseen distintas capacidades de intercambio catiónico. Por esta razón, el contenido de arcilla no parece ser un indicador confiable de la biodisponibilidad del cadmio aunque juegue un papel importante en ella (Adriano, 2001).

14.5 Conductividad eléctrica

Una alta capacidad del suelo para conducir una corriente eléctrica se debe a la gran cantidad de cationes que se encuentran en los sitios de intercambio y esto indica un suelo fértil. Sin embargo, los suelos que tienen una alta conductividad eléctrica debido a un exceso de sodio, magnesio y cloruro, pueden ser contraproducente para la salud de las plantas y también puede incrementar la biodisponibilidad del cadmio. Para el cacao producido en ecosistemas de bosque lluvioso, una alta conductividad eléctrica es improbable. Sin embargo, en áreas donde son comunes ciclos de inundación y sequía (naturales o por irrigación), o donde el cacao crece bajo irrigación con aguas salinas, pueden darse problemas debido a que el cloruro puede complejarse con cadmio unido a partículas del suelo y traerlo a la solución. En suelos alcalinos, la concentración de cloruro probablemente afectará la absorción de cadmio por parte de la planta. Argüello *et al.*, (2019) encontraron que en un suelo con concentraciones mayores a 500 ppm del ion cloruro la biodisponibilidad del cadmio se incrementó dramáticamente. Esto corresponde a una conductividad eléctrica (1:5) de unos 350 $\mu\text{S}/\text{cm}$.

14.6 Macro y micro nutrientes

Sarwar *et al.*, (2010) indican que algunos iones pueden influenciar la absorción de cadmio de forma directa a través de la competencia por sitios intercambio, y a través de la quelación o complejación con compuestos de cadmio. Sin embargo, predecir su efecto es difícil y depende del compuesto aplicado y su modo de aplicación que puede resultar en un cambio de pH y capacidad de intercambio catiónico. Aplicar fertilizantes de fosfato no contaminados con cadmio ha reducido la disponibilidad del elemento al inmovilizarlo, o por el contrario incrementarla al reducir el pH. Por otra parte, el zinc comparte muchas propiedades químicas con el cadmio y esto ha llevado a la conclusión de que la deficiencia de cadmio en el suelo puede llevar al incremento de la absorción de cadmio ya que compiten por las mismas membranas de transporte. El silicio es conocido por reducir la disponibilidad del cadmio así como su absorción y movimiento en las plantas, y una fuente económica es la diatomita, que puede ser incorporada al suelo. En lo que respecta al nitrógeno, su efecto en la disponibilidad del cadmio depende de si se usa un fertilizante basado en nitrato o en amonio. En el caso de amonio, puede ocurrir la acidificación del

suelo. Finalmente, se ha encontrado que el 8% de la variación en la absorción de cadmio por parte de plantas de cacao está determinada por el manganeso biodisponible cuando la proporción Mn:Cd es 20:1. Esto se debe a que los oxihidróxidos de manganeso son adsorbentes fuertes de metales (Argüello *et al.*, 2019). Lo cual sólo ocurre en suelos fuertemente ácidos.

14.7 Microorganismos

Hay efectos positivos y negativos de los microorganismos del suelo en la disponibilidad del cadmio para las plantas. Las bacterias que son tolerantes al cadmio provienen de un grupo filogenético que muestra diversos mecanismos de inmovilización del cadmio al incrementar su bioprecipitación como otavita y formas secundarias de carbonato de calcio. Sin embargo, la actividad microbiana también puede incrementar la disponibilidad del cadmio por la excreción de ácidos orgánicos y la posterior solubilización de los minerales de cadmio (Bravo *et al.*, 2018).

15. Espectrometría

La espectrometría hace referencia a cualquier técnica que emplea la luz para determinar las concentraciones químicas. La radiación electromagnética, o luz, es una forma de energía cuyo comportamiento es descrito por las propiedades de ondas y partículas simultáneamente. Las características ópticas de la radiación como la difracción se explican mejor al describir la luz como onda. Sin embargo, muchas de las interacciones entre la radiación electromagnética y la materia, como la absorción y emisión, se describen mejor al tratar la luz como partícula, o fotón (Harris *et al.*, 2015).

16. Espectrometría de absorción

La espectrometría se divide de varias formas. En un grupo de técnicas, la energía es transferida entre un fotón de radiación electromagnética y el analito. En esta categoría se encuentra la espectrometría de absorción, donde el fotón absorbido promueve al analito de un estado de menor energía a un estado de mayor energía o excitado. La energía del fotón determinará el tipo de transición que ocurre en el analito. Por ejemplo, la absorción de un fotón de luz visible promueve a los electrones de valencia de las moléculas a estados de

mayor energía. La intensidad de los fotones pasando a través de una muestra es atenuada debido a la absorción. Esta absorción solo ocurre cuando la energía del fotón es igual a la diferencia de energía entre el estado basal y el excitado. La medición de esta atenuación, llamada absorbancia, sirve como señal. Por otra parte, cuando un analito en un estado de energía excitado retorna a su estado de baja energía ocurre la emisión de un fotón. Éste último fenómeno es la base de la espectrometría de emisión (Skoog *et al.*, 2008).

La atenuación de la radiación electromagnética al pasar a través de una muestra es descrita de forma cuantitativa por medio de dos términos relacionados: transmitancia y absorbancia. La transmitancia T es la fracción de luz que pasa a través de la muestra y se define como la razón entre la irradiancia de la luz luego de interactuar con la muestra P , y su irradiancia original P_0 :

$$T = \frac{P}{P_0} \quad (1)$$

Esta ecuación no distingue entre las diferentes formas en que ocurre la atenuación. Aparte de la absorción del analito, otros fenómenos contribuyen a la atenuación total: reflexión y absorción por el contenedor de la muestra, absorción por los componentes de la matriz aparte del analito y la dispersión de la radiación. Para compensar esta pérdida en todos los métodos espectroscópicos se emplea un blanco. La irradiancia de la luz que sale de este blanco es tomada como P_0 . Alternativamente, la atenuación de la radiación electromagnética se expresa como absorbancia A , que se define como:

$$A = -\log(T) \quad (2)$$

La absorbancia es más utilizada que la transmitancia ya que es una función lineal de la concentración del analito en determinadas condiciones. Esta es la idea expresada por la Ley de Beer-Lambert:

$$A = \epsilon bc \quad (3)$$

La absorbancia es adimensional y es directamente proporcional a la concentración del analito c , expresada en molaridad, y a la longitud de la trayectoria de la luz b , expresada en centímetros. ϵ es la absorptividad molar, con unidades de $M^{-1} \cdot cm^{-1}$, que indica cuánta luz es

absorbida a una longitud de onda particular por una sustancia determinada. De acuerdo con esta ley, un gráfico de absorbancia vs concentración del analito en una serie de soluciones estándar debe ser una línea recta. (Harvey, 2000).

La proporcionalidad afirmada por la Ley de Beer aplica solo a la radiación monocromática. Y funciona apropiadamente en concentraciones menores a 0,01 M para la mayoría de las sustancias. Esto se debe a que en soluciones concentradas, las moléculas de soluto interactúan entre sí por su proximidad. Por otra parte, la absorbancia puede verse afectada si la sustancia posee una concentración dependiente de un equilibrio químico, como un ácido débil (Harris *et al.*, 2015).

17. Espectrometría de absorción atómica

En la espectrometría atómica, las muestras vaporizadas a 2000-8000 K se descomponen en átomos e iones cuya concentración es medida por la emisión o absorción de radiación a longitudes de onda características y con un espectrómetro de masas en el caso de los iones. Una importante diferencia entre la espectroscopia atómica y la molecular es la amplitud de las bandas de emisión o absorción. Los espectros de absorción de líquidos y sólidos suelen tener anchos de banda de 10-100 nm. En contraste los espectros de átomos gaseosos consisten de líneas delgadas con amplitudes de 0,001 nm. Por lo tanto algunos instrumentos pueden medir hasta 70 elementos simultáneamente (Harris *et al.*, 2015).

18. Instrumentación

Los instrumentos usados para espectroscopia de absorción atómica poseen un diseño similar al presentado en la Figura 7. Allí se observa la presencia de una fuente de radiación, un soporte para muestra, un selector de longitud de onda, un detector y un procesador de señal y lectura.

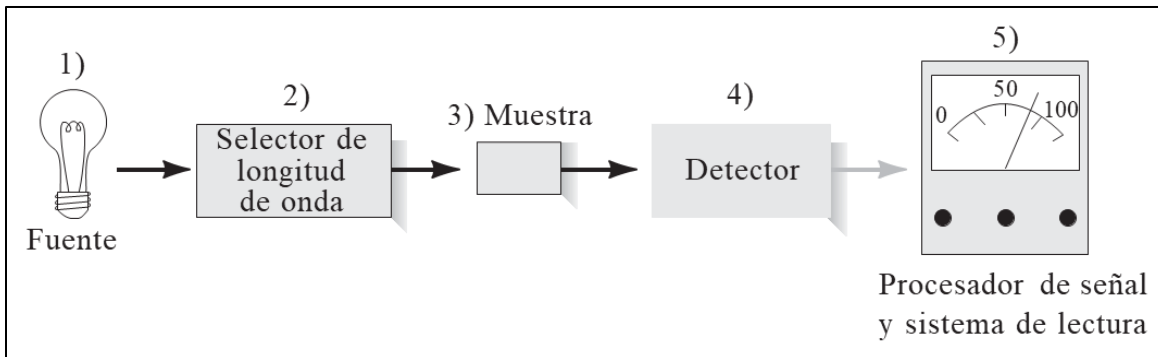


Figura 7. Componentes generales de un espectrómetro de absorción atómica. (Tomado de Skoog *et al.*, 2008).

18.1 Fuente de radiación: todas las formas de espectroscopia requieren una fuente de energía. En el caso de la absorción atómica, los fotones suministrados por fuentes deben corresponder a rangos estrechos del espectro electromagnético denominados líneas. Esto es así para que la absorbancia sea proporcional a la concentración. Para producir líneas estrechas de la frecuencia apropiada se emplean lámparas de cátodo hueco que contienen vapor del elemento que se va a analizar.

18.2 Selector de longitud de onda: aunque las lámparas de cátodo hueco son capaces de producir líneas de emisión casi monocromáticas en comparación a la radiación emitida por los átomos excitados de la muestra, es necesario utilizar monocromadores para seleccionar una sola línea de las emitidas por la lámpara y para rechazar la mayor cantidad de emisión posible proveniente de la llama o del horno de grafito.

18.3 Atomizadores en espectrometría de absorción atómica por atomización electrotérmica (ETAAS): en la espectrometría atómica, el analito es atomizado en una llama, un horno calentado eléctricamente o un plasma. Las llamas fueron usadas por décadas pero han sido reemplazadas por el plasma inductivamente acoplado y el horno de grafito.

Un horno de grafito calentado eléctricamente es más sensible que una llama y requiere menos muestra. El volumen de muestra inyectado va desde 1 a 100 μL y es agregado a través de un hoyo en el centro del tubo del horno. La luz de una lámpara de cátodo hueco viaja a través de ventanas en cada extremo del tubo. Además, para prevenir la oxidación del

grafito, se realizan purgas con el gas inerte argón junto con una temperatura máxima recomendada de 2550 °C por hasta 7 s.

En la espectrometría de llama, el tiempo de residencia del analito en el paso óptico es < 1 s a medida que asciende por la llama. Por otra parte, un horno de grafito confina la muestra atomizada en el paso óptico por varios segundos, permitiendo así una mayor sensibilidad. Mientras que se requieren 1-2 mL de muestra como mínimo para el análisis de llama, 1 µL es adecuado para un horno de grafito. En lo referente a la precisión, está rara vez es mejor al 5-10% con inyección manual. Pero un sistema de inyección automático puede mejorarla al 1%.

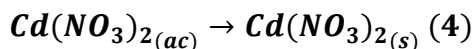
Comparado con las llamas, los hornos requieren mayor habilidad de parte del operador para encontrar las condiciones apropiadas para cada tipo de muestra. El horno es calentado en tres o más etapas para atomizar apropiadamente la muestra. Durante la etapa de secado, la muestra es evaporada a una temperatura relativamente baja, 110°C aproximadamente. Luego la temperatura es aumentada a 300-1200°C. En este punto la materia orgánica es incinerada o convertida en H₂O y CO₂. Posteriormente la temperatura se incrementa rápidamente a 2000-3000 °C lo que provoca la vaporización y atomización de la muestra. La atomización ocurre en un intervalo de tiempo que va desde milisegundos a segundos. Finalmente, la señal analítica es la absorbancia integrada en función del tiempo (área de pico) durante la atomización. Luego de la atomización, el horno es calentado a una mayor temperatura para limpiar el residuo.

El horno es purgado en cada etapa excepto en la atomización para remover material volátil. El flujo de gas es detenido durante la atomización para evitar expulsar el analito fuera del horno. Cuando se desarrolla un nuevo método para un nuevo tipo de muestra es necesario registrar la señal en función del tiempo. Esto se debe a que también se observan señales provenientes del humo durante la calcinación y del brillo del horno al rojo vivo durante la última etapa de la atomización (Harris *et al.*, 2015).

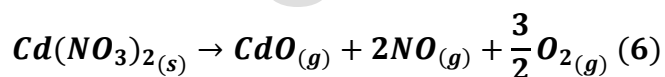
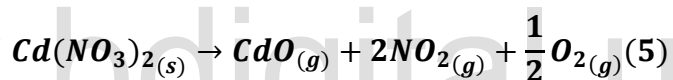
19. Mecanismos de atomización del cadmio en ETAAS

La atomización de los analitos en el horno de grafito ha sido estudiada extensivamente a lo largo de los años y se han propuesto diversos modelos. Lo que resulta claro para cada elemento en particular es la dependencia de los mecanismos de las condiciones experimentales empleadas: velocidad de calentamiento, masa inicial del analito y actividad de la superficie del atomizador.

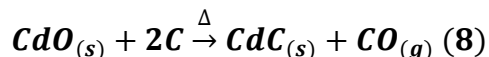
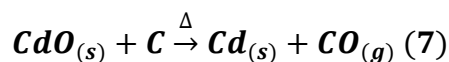
En el caso del cadmio, durante la etapa de secado generalmente precipita el $Cd(NO_3)_2$ en la superficie del grafito:



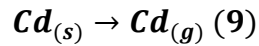
Posteriormente, en la pirólisis, ocurre la descomposición del nitrato por medio de dos reacciones (L'vov *et al.*, 1995b):



El óxido de cadmio se condensa en el tubo de grafito e interactúa con el carbono por medio de una reacción de oxido-reducción, o por medio de la formación del carburo de cadmio (Campbell *et al.*, 1974):



Finalmente, en la atomización, se descompone el CdC y el cadmio sólido sublima (Aller, 2002):



20. Interferencias en ETAAS

Diferentes criterios pueden ser empleados para la clasificación de interferencias en la ETAAS, sin embargo, es aceptable dividir las en dos grandes grupos: espectrales y no espectrales.

20.1 Interferencias espectrales: las interferencias como resultado del traslape de líneas espectrales son raras debido a su estrechez. Pero cuando esto ocurre basta con observar las variaciones en otras líneas correspondientes al elemento. Por otra parte, en el caso particular del horno de grafito, existen interferencias por la emisión de radiación de la pared del tubo. Esto es minimizado al asegurar el alineamiento correcto del horno y el paso de luz. Adicionalmente, a medida que aumenta la señal del analito, también lo hace la señal de fondo. Por lo tanto, la corrección de fondo siempre se usa en el análisis con horno. Mientras que la corrección de fondo continua puede usarse con la espectroscopia de llama, existen limitaciones para su efectividad en su uso con el horno de grafito. Por ello la forma de corrección de fondo más efectiva es la basada en el efecto Zeeman, ilustrada en la Figura 8.

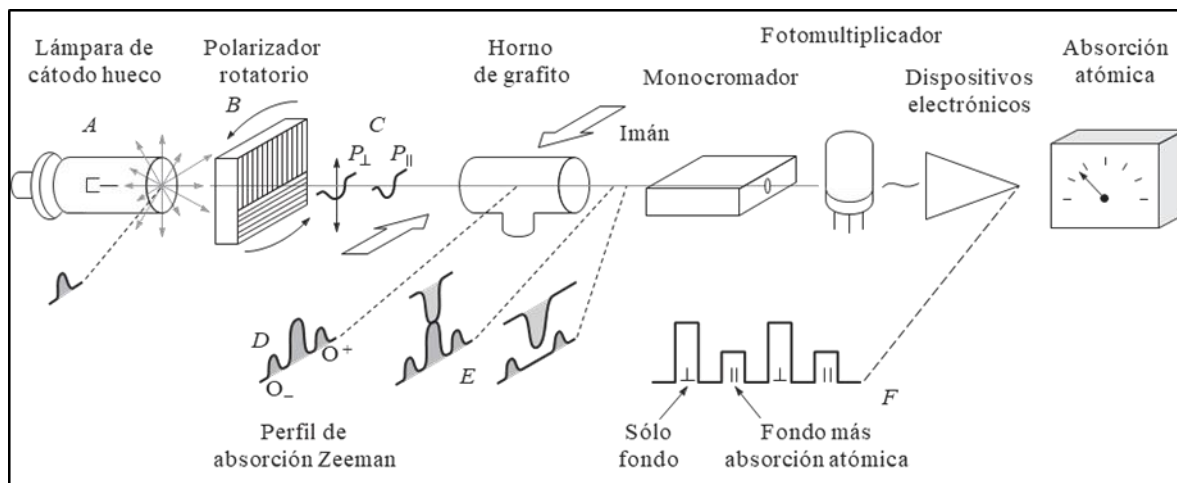


Figura 8. Esquema de un instrumento de absorción atómica electrotermostática que proporciona una corrección de fondo con base en el efecto Zeeman. Tomado de Skoog *et al.*, (2008).

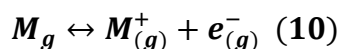
Un vapor atómico sometido a un campo magnético fuerte de aproximadamente 10 kG experimentará una división de los niveles de energía electrónicos, esto da lugar a la

formación de varias líneas de absorción para cada transición electrónica. La separación de dichas líneas es de 0,01 nm y la suma de sus absorbancias es igual a la absorbancia de la línea original. Este fenómeno ocurre en todos los espectros atómicos y genera varios patrones de división. El más sencillo de estos patrones está formado por una línea central o π que se encuentra en la longitud de onda original, y dos líneas satélite σ a distancias iguales. La aplicación del efecto Zeeman se basa en la respuesta diferenciada de cada tipo de línea a la radiación polarizada. La línea π solo absorbe radiación que ha sido polarizada en dirección paralela al campo magnético externo, mientras que las líneas σ solo absorben radiación polarizada a 90° del campo magnético.

La radiación no polarizada, originada en una lámpara de cátodo hueco, atraviesa un polarizador rotatorio que separa el haz en dos ciclos con componentes perpendiculares entre sí. Por otra parte, el horno está rodeado de un imán de 11 kG que divide los niveles energéticos de los átomos. Como se observa en la Figura 8, el pico central absorbe radiación polarizada en el plano del campo y es por ello que el analito solo absorbe radiación en la mitad del ciclo. Como la absorción y dispersión por parte de la matriz ocurre durante ambos ciclos, el sistema de adquisición de datos está programado para restar la absorbancia del semiciclo perpendicular de la del semiciclo paralelo produciendo así la corrección de fondo (Skoog *et al.*, 2008).

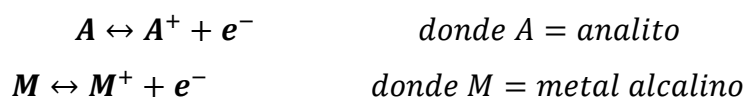
20.2 Interferencias no espectrales: Se originan en procesos físicos y/o químicos que alteran la cantidad de analito en el vapor atómico. Siendo más comunes que las interferencias espectrales, una de las formas más importantes de interferencia no espectral es la ionización de los átomos del analito. Hay, sin embargo, otras formas de interferencia que se originan en procesos físicos y químicos distintos al descrito anteriormente.

20.2.1 Ionización: las interferencias por ionización ocurren cuando el analito (con bajo potencial de ionización) es parcialmente ionizado. Esto disminuye el número de átomos neutrales en la fase de vapor y por lo tanto la señal analítica. La ionización del analito puede ser expresada de la forma siguiente:



Este equilibrio tiene su constante de ionización que depende de la temperatura y del elemento en cuestión, pero no de su concentración. Aunque el grado de ionización si depende de la concentración.

Esta interferencia puede ser corregida (o al menos compensada) con el uso de un buffer de ionización, es decir, al añadir un exceso de un elemento fácilmente ionizable (normalmente un metal alcalino). Este añadido a estándares y muestras modifica la población de átomos de analito de acuerdo con el siguiente esquema:



La presencia de la segunda reacción desplaza el balance de ionización del analito hacia la izquierda incrementando su población de átomos neutros (Skoog *et al.*, 2008).

20.2.2 Interferencias físicas: surgen como consecuencia de procesos físicos, siendo los más notables los siguientes:

- Pérdida de analito durante la etapa de pirólisis.
- Vaporización incompleta del analito debido a (i) oclusión, (ii) limpieza incompleta del atomizador, (iii) atrapamiento en la superficie del sólido y (iv) migración en la superficie del atomizador o partículas formadas.
- Cambios en la eliminación del analito como consecuencia de (i) expulsión térmica del analito, (ii) variación de la velocidad de difusión del analito, (iii) reducción de la vida media de residencia y (iv) distribución espacial heterogénea del analito.

20.2.3 Interferencias químicas: son el resultado de desplazamientos en equilibrios químicos durante la etapa de atomización. Estos cambios originan la formación de varios compuestos (óxidos, cloruros, sulfuros, compuestos refractarios, etc.). También se pueden formar compuestos intermetálicos y sales como fosfatos y yoduros. Los efectos de la formación de estas especies son los siguientes:

- Formación en la fase gaseosa de especies del analito que se difunden lejos del paso óptico causando pérdidas anteriores a la disociación y atomización.

- Reacciones en la fase condensada que producen un compuesto del analito que es volatilizado y expulsado del tubo antes de la atomización.
- Expulsión térmica del analito junto con gases de la matriz antes de que se alcance la temperatura de atomización.
- Cambios en el mecanismo de atomización del analito por la presencia de químicos en la matriz y que actúan en el analito. Un efecto memoria surge de la atomización incompleta o fallo en la limpieza del atomizador, lo que causa un incremento en las señales posteriores.

El uso de modificadores químicos y de plataformas de atomización puede ser eficaz en la disminución de efectos de matriz. Además, bajas temperaturas de pirolisis, altas velocidades de calentamiento, y bajas temperaturas de atomización tienden a mover el pulso de absorción hacia la región isotérmica de la curva de temperatura. Esto resulta en una mayor sensibilidad por altura de pico y una mayor liberación de interferencias de matriz. Finalmente el efecto de memoria puede ser eliminado al utilizar mayores temperaturas de atomización o mayores tiempos de atomización y limpieza (Aller, 2002).

21. Modificadores químicos y su aplicación en la determinación de cadmio

Los modificadores químicos pueden ser definidos como compuestos que son introducidos en un atomizador de grafito simultáneamente con las muestras analizadas y que disminuyen drásticamente los efectos de la matriz. El efecto de la mayoría de los modificadores químicos consiste en la remoción de la matriz de la muestra en la etapa de pirolisis mientras que los analitos permanecen en el atomizador. Esto se logra con dos técnicas: la conversión de los compuestos de la matriz en compuestos volátiles o por la disminución drástica en la volatilidad de los compuestos de los analitos. Esto último hace posible remover casi enteramente los compuestos no volátiles de la matriz a temperaturas superiores a los 1000 °C (Volynskii, 2003).

En el caso del cadmio, se emplea paladio como modificador. El Pd reduce termoquímicamente al Cd formando compuestos intermetálicos con éste. Las actividades termoquímicas de estas aleaciones son menores que en el analito puro. De esta forma, el Cd

puede ser llevado a la temperatura de atomización sin pérdidas por volatilización durante la etapa de incineración (Morishige *et al.*, 1994).

22. Medición de la señal

Las señales de absorción atómica electrotrémica representan la absorbancia obtenida en el intervalo de tiempo en cual el vapor atómico de analito se encuentra en el paso óptico. La Figura 9 muestra un perfil típico de absorbancia vs tiempo.

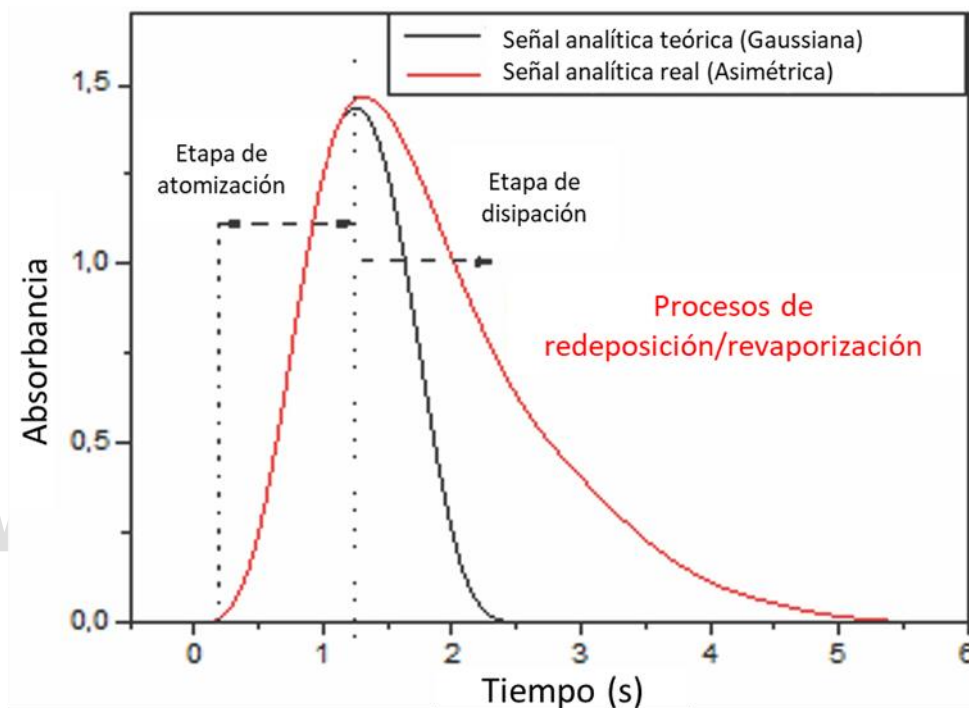


Figura 9. Perfil típico de absorbancia vs tiempo para una señal de absorción atómica electrotrémica. Tomado de Aller (2002).

Dos parámetros analíticos se distinguen. La absorbancia y la absorbancia integrada. La absorbancia (adimensional) es medida en el máximo del pico, mientras que la absorbancia integrada se determina por el área bajo la curva entre el tiempo de aparición y el tiempo final. Las características del perfil del pico dependen de varios parámetros que afectan el grado de vaporización y de atomización. Ambos procesos son regulados por la composición de la matriz, la atmósfera en el atomizador, la superficie del atomizador y el programa de temperatura (Aller, 2002).

23. Espectroscopia de absorción molecular en el UV-Vis

Cuando una molécula o ion absorbe radiación ultravioleta visible, sufre un cambio en su configuración electrónica de valencia. Los electrones de valencia en las moléculas orgánicas y los aniones inorgánicos ocupan orbitales moleculares cuantizados con enlaces sigma, σ , enlaces pi, π , y no enlazantes, n. Los orbitales moleculares antienlazantes sigma, σ^* , y antienlazantes pi, π^* , desocupados, a menudo se encuentran lo suficientemente cerca en energía como para que sea posible la transición de un electrón de un orbital ocupado a uno desocupado. Cuatro tipos de transiciones entre los niveles de energía cuantificados dan cuenta de los espectros UV/Vis moleculares. De estas transiciones, las más importantes son $n \rightarrow \pi^*$ y $\pi \rightarrow \pi^*$, porque involucran grupos funcionales que son característicos del analito y longitudes de onda que son fácilmente accesibles. Los enlaces y grupos funcionales que dan lugar a la absorción de la radiación ultravioleta y visible se denominan cromóforos (Harvey, 2000). Muchos iones de metales de transición, como Cu^{2+} y Co^{2+} , forman soluciones coloreadas porque el ion metálico absorbe la luz visible. Las transiciones que dan lugar a esta absorción se deben a los electrones de valencia en los orbitales d del ion metálico. Para un ion metálico libre, los cinco orbitales d tienen la misma energía. Sin embargo, en presencia de un ligando complejo o una molécula de solvente, los orbitales d se dividen en dos o más grupos que difieren en energía. Por ejemplo, en el complejo octaédrico $\text{Co}(\text{NH}_3)_6^{3+}$, las seis moléculas de amoníaco perturban los orbitales d en dos grupos. Las transiciones $d-d$ resultantes para los iones de metales de transición son relativamente débiles y se muestran en el espectro de la Figura 10 para el complejo anterior.

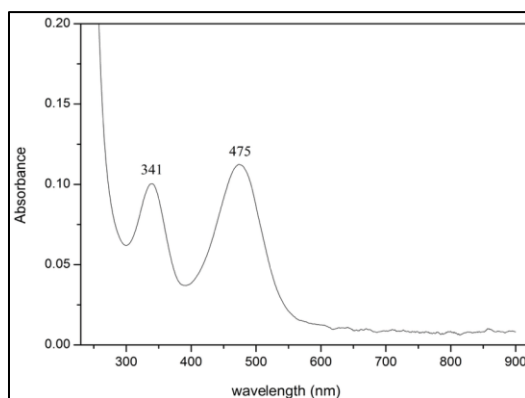


Figura 10. Espectro UV-Vis del cloruro de hexaminocobalto(III). Tomado de Sotiles *et al.*, (2019).

Los instrumentos que utilizan monocromadores para la selección de longitudes de onda se denominan espectrómetros. En la espectroscopia de absorbancia, donde la transmitancia es una relación de dos potencias radiantes, el instrumento se denomina espectrofotómetro. El espectrofotómetro más simple es un instrumento de un solo haz equipado con un monocromador de longitud de onda fija. No se mide la irradiancia incidente, P_0 , directamente. Más bien, la irradiancia de la luz que pasa a través de una cubeta de referencia que contiene disolvente puro (o un blanco de reactivo) se define como P_0 . Luego, esta cubeta se retira y se reemplaza por una idéntica que contiene la muestra. La irradiancia de la luz que incide en el detector después de pasar a través de la muestra es la cantidad P . Conocer tanto P como P_0 permite determinar la transmitancia y absorbancia de la misma forma que se discutió en anteriormente para la absorción atómica. La cubeta de referencia compensa la reflexión, la dispersión y la absorción por parte de la cubeta y el disolvente. La cubeta de referencia que contiene disolvente puro actúa como blanco en la medición de la transmitancia.

Para el análisis espectrofotométrico, normalmente se elige la longitud de onda de máxima absorbancia por dos razones: (1) La sensibilidad del análisis es mayor en la máxima absorbancia; es decir, obtenemos la máxima respuesta para una determinada concentración de analito. (2) La curva es relativamente plana en el máximo, por lo que hay poca variación en la absorbancia si el monocromador se desvía un poco o si el ancho de la banda transmitida cambia ligeramente. La Ley de Beer se cumple cuando la absorbancia es constante en la banda de la longitud de onda seleccionada (Skoog *et al.*, 2008).

24. Técnicas analíticas

Anteriormente se vio que la absorción atómica sigue la Ley de Beer, siendo la absorbancia directamente proporcional a la concentración. De este hecho se deriva la aplicabilidad de curvas de calibración normal en la determinación de elementos como el cadmio. Sin embargo, en la absorción atómica, las desviaciones de la linealidad ocurren con mayor frecuencia que en la absorción molecular. Por ello, debido al número de variables no controladas en las mediciones, es necesaria la preparación periódica de las curvas de calibración.

25. Parámetros analíticos

25.1 Especificidad: es la habilidad del método analítico para distinguir al analito del resto de componentes de la matriz de la muestra. Al desarrollar un ensayo es necesario determinar que impurezas agregar de forma deliberada para probar la especificidad (Harris, 2015).

25.2 Linealidad: mide el grado de correspondencia de una curva de calibración con una línea recta. Esto muestra que la respuesta instrumental es proporcional a la cantidad de analito. Una forma común de medir la linealidad es el cuadrado del coeficiente de correlación, R^2 .

R^2 , es la fracción de varianza observada que puede ser atribuida al modelo matemático escogido (en este caso una línea recta). Si R^2 no es muy cercano a 1, el modelo matemático no explica muy bien todas las fuentes de varianza. Para un componente principal de un desconocido, un valor de R^2 sobre 0,995 o quizás 0,999 es considera un buen ajuste para muchos propósitos (Harris, 2015).

25.3 Exactitud: expresa la cercanía al “valor verdadero” (Harris, 2015). Las formas de mostrar exactitud incluyen:

- Analizar un material certificado de referencia en una matriz similar al desconocido. El método empleado debe ser capaz de encontrar el valor certificado para el analito.
- Comparar los resultados de dos o más métodos analíticos.
- Analizar un blanco dopado con una concentración conocida de analito.
- Es posible realizar una adición estándar. Un ensayo exacto será capaz de determinar la concentración de analito conocida que fue agregada.

25.4 Precisión: hace referencia al grado de concordancia entre medidas replicadas. Usualmente se expresa como desviación estándar, incertidumbre estándar o intervalo de confianza. Las dos categorías principales de precisión son repetibilidad y reproducibilidad. La repetibilidad describe la dispersión de resultados cuando una persona usa un procedimiento para analizar la misma muestra con el mismo método varias veces. La reproducibilidad describe la dispersión de los resultados cuando diferentes personas en

diferentes laboratorios, usando instrumentos diferentes intenten seguir el mismo procedimiento.

Otros tipos de precisión son los siguientes: La precisión del instrumento es la repetibilidad observada cuando una muestra es introducida de forma repetida (> 10 veces) en un instrumento. Por otra parte, la precisión intra-ensayo es evaluada con alícuotas de un material homogéneo que son analizadas a lo largo de un día con un mismo equipo. La precisión intermedia, también llamada robustez es la variación observada cuando un análisis es llevado a cabo por diferentes personas en diferentes días en diferentes instrumentos. Finalmente, la precisión interlaboratorios es equivalente a la reproducibilidad (Harris, 2015).

25.5 Rango de linealidad: es el intervalo de concentraciones en el cual la linealidad, exactitud y precisión son todos aceptables (Skoog *et al.*, 2008).

25.6 Límite de detección: es la concentración mínima de analito con una señal significativamente mayor a la señal que surge del blanco. No existe acuerdo entre los analistas e instituciones en este punto, sin embargo hay una tendencia a definir el límite de detección como la concentración de analito que produce una señal igual a la señal del blanco y_B más tres veces la desviación estándar del blanco s_B , esto último representa el ruido o variación aleatoria en el blanco (Miller *et al.*, 2010):

$$\text{Límite de detección} = y_B + 3s_B \quad (11)$$

25.7 Límite de cuantificación: cuando la señal es tres veces mayor al ruido, es detectable, pero no es apropiada para mediciones precisas. Por ello se define el límite de cuantificación como el límite inferior para mediciones cuantitativas precisas en contraste con la detección cualitativa (Miller *et al.*, 2010):

$$\text{Límite de cuantificación} = y_B + 10s_B \quad (12)$$

26. Comparación entre técnicas espectroscópicas para la determinación de cadmio en suelos venezolanos

Las agencias reguladoras y laboratorios privados han desarrollado varios métodos para la determinación rutinaria de metales pesados en suelos. Estos métodos aplican las diferentes técnicas bien establecidas como la espectroscopia de emisión atómica de plasma acoplado inductivamente (ICP-AES), espectrometría de masas por plasma acoplado inductivamente (ICP-MS), espectroscopia de absorción atómica de llama (FAAS) y de atomización electrotrémica (ETAAS). En términos de límites de detección, rango de linealidad, interferencias y números de elementos analizados simultáneamente, las técnicas de espectroscopia por emisión atómica proveen mejores prestaciones que las técnicas de absorción atómica. Sin embargo los estudios indican que la etapa más importante en las metodologías de análisis de suelos corresponde a la digestión ácida de las muestras. Además, se ha demostrado que los laboratorios pueden lograr resultados igual de satisfactorios con cualquiera de las técnicas mencionadas (Rose *et al.*, 2001).

El cadmio puede encontrarse en concentraciones de al menos 0,02 ppm en el suelo venezolano (Sánchez *et al.*, 2011). Por lo tanto, su determinación no exige el uso de costosas técnicas multielementales con límites de detección que rondan las ppt. La espectroscopia de absorción atómica por absorción electrotrémica (ETAAS) provee las características necesarias para la determinación de cadmio en suelos en términos de prestaciones analíticas y económicas (Tabla 2). Todo esto asumiendo un tratamiento correcto de la muestra.

Tabla 2. Comparación de métodos de análisis atómico (Tomado de: Harris, 2015).

	Absorción por llama	Absorción por horno	Emisión por plasma	Plasma Espectrometría de masa
Límite de detección (ppb)	10-1000	0,01-1	0,1-10	0,00001-0,0001
Rango lineal	10 ²	10 ²	10 ⁵	10 ⁸
Precisión				
Corto plazo (5-10 min)	0,1-1%	0,5-5%	0,1-2%	0,5-2%
Largo plazo (horas)	1-10%	1-10%	1-5%	< 5%
Interferencias				
Espectrales	Muy pocas	Muy pocas	Muchas	Pocas
Químicas	Muchas	Muchas	Muy pocas	Algunas
Tiempo de análisis	10-15 s/elemento	3-4 min/elemento	6-60 elementos/min	Todos los elementos en 2-5 min
Sólido disuelto	0,5-5%	>20% lodos y suelos	1-20%	0,5-0,4%
Volumen de muestra	Grande	Muy pequeño	Medio	Medio
Proporción de costo	1	2	4-9	10-15

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO II. Antecedentes

Gramlich *et al.* (2018), en La Lima, Honduras, estudiaron la absorción del cadmio del suelo por parte del cacao. Con el objetivo de determinar los factores que gobiernan dicha absorción llevaron a cabo una revisión de 55 fincas de cacao en Honduras para las cuales determinaron las concentraciones de Cd en hojas, cáscaras y granos; y analizaron su relación con una variedad de suelos aledaños y factores de cada sitio. Estas determinaciones fueron realizadas por medio de espectroscopia de absorción atómica con horno de grafito para el Cd y de llama para el Fe y Zn. Con un promedio de $2,6 \pm 4,4$ mg/kg, las concentraciones de Cd fueron mayores en las hojas que en los granos. Con un promedio de $1,1 \pm 0,2$ mg/kg la concentración de Cd en los granos excedía el límite propuesto por Estados Unidos. Sin embargo, debido a que no se encontraron influencias de fertilizantes ni industrias vecinas se concluyó que las variaciones en la concentración de cadmio se deben a causas naturales. El cadmio del suelo disponible en gradientes de capas finas fue el mejor predictor del cadmio en granos. Seguido por el Cd total en el suelo, el pH y la geología.

En otra investigación, Argüello *et al.* (2018), estudiaron las propiedades del suelo y los factores agronómicos que afectan la concentración de cadmio en los granos de cacao en todo el territorio de Ecuador. Para ello se recolectaron muestras pareadas de suelo y plantas en 560 locaciones en todo el país además de información de las prácticas empleadas por los productores. El Cd total promedio fue de 0,44 mg/kg lo cual es típico de suelos jóvenes no contaminados. El promedio de concentración de Cd en granos descascarillados fue de 0,90 mg/kg y el 45% de las muestras excedía el límite de 0,60 mg/kg. Estas determinaciones fueron realizadas por espectroscopia de emisión atómica con plasma inductivamente acoplado. Un análisis de regresión multivariable mostró que la concentración de cadmio se incrementó con el cadmio total en el suelo y que disminuyó al decrecer el pH del suelo, y al aplicar manganeso extraíble con oxalato y carbono orgánico. Esto sugiere que la solubilidad del Cd en el suelo afecta principalmente a la absorción de Cd por la planta. Por otra parte, se concluyó que las concentraciones relativamente grandes de Cd en granos en Ecuador están relacionadas con la alta capacidad de absorción de las plantas combinado con su cultivo en suelos jóvenes en lugar de los suelos meteorizados con Cd agotado. Adicionalmente, los investigadores recomendaron la aplicación de enmiendas para

modificar las propiedades del suelo estudiadas y así disminuir la disponibilidad del cadmio en suelo.

Ramtahal *et al.* (2019) estudiaron la efectividad de enmiendas del suelo consistentes de biocarbón y cal en la mitigación de la bioacumulación del cadmio en plantas de cacao. Para ello se realizaron estudios *in vitro*, invernadero y de campo con cuatro, tres y tres réplicas respectivamente para evaluar la efectividad del biocarbón y la cal en varias proporciones de aplicación sobre el pH, biodisponibilidad del Cd y bioacumulación del cadmio en *Theobroma cacao* L. Para el estudio *in vitro*, el suelo conteniendo Cd fue enmendado con cinco niveles de biocarbón y cal, mientras que para los estudios en invernadero y de campo se probaron cuatro proporciones de aplicación. La investigación mostró que, aunque bajas proporciones eran efectivas en las condiciones *in vitro*; al progresar hacia las condiciones de invernadero y campo las proporciones y frecuencia de aplicación debían incrementarse, ya que la efectividad y longevidad de los tratamientos era comprometida por factores ambientales tales como las precipitaciones. Los investigadores concluyeron que ambas enmiendas eran complementarias en su acción ya que la cal se mostró más efectiva que la misma proporción de biocarbón pero su tiempo efectivo era menor.

Posteriormente, Vanderschueren *et al.* (2021) publicaron un meta-estudio con 780 datos pareados de suelos-plantas de cacao. Este estudio concluyó que las concentraciones de Cd en granos de cacao se explican en gran parte por el pH, el carbono orgánico y el Cd del suelo. Por ello, observaron que la mayoría de los estudios de mitigación del cadmio implican enmiendas que pueden reducir la absorción de Cd por las plantas al reducir la concentración de Cd en el suelo disponible para las plantas (biochar, cal o yeso) o al saturar los mecanismos de absorción a través de los cuales el Cd puede ingresar a la planta (fertilización con Zn). Se ha informado que la aplicación de cal agrícola y biochar en ensayos de campo de cacao resulta en factores de reducción de hasta 1,9 pero como ambos tratamientos se basan en un efecto de encalado, estas enmiendas son principalmente efectivas en suelos ácidos. Si bien las enmiendas podrían ofrecer una solución a mediano plazo fácilmente aplicable, su incorporación está limitada debido al sistema de raíces del árbol. Los investigadores indican que a largo plazo, el cultivo de variedades con baja tendencia a absorber Cd probablemente brinda la mayor capacidad de mitigación, pero la

investigación genética y de cultivo se ve limitada actualmente por la falta de comprensión sobre el mecanismo de absorción del Cd en el fruto del cacao. Las prácticas postcosecha, como la fermentación, pueden disminuir ligeramente las concentraciones de Cd en el producto final, por lo que también desempeñan un papel importante en la calidad del producto.

Más recientemente, Wade *et al.* (2022) realizaron otro metaestudio de los factores biofísicos que determinan la cantidad de Cd derivado del suelo que termina en el grano de cacao. Para ello compilaron sistemáticamente una base de datos climáticos, edáficos y de plantas de todo el Cinturón del Cacao, que se encuentra aproximadamente a 20 grados de latitud a ambos lados del Ecuador. A partir de este conjunto de datos compilados, emplearon árboles de regresión potenciados para sintetizar y evaluar cuantitativamente estos controladores del Cd en el grano de cacao. La concentración total de Cd en el suelo, el pH del suelo y el Cd de las hojas fueron los mejores predictores del contenido de Cd en el grano. Ellos encontraron que tanto el Cd disponible en el suelo como el contenido de carbono orgánico en el mismo (SOC) tuvieron efectos insignificantes sobre el Cd total en el grano. Sin embargo, el pH del suelo y el SOC disminuyeron el grado de bioconcentración del Cd total del suelo y en consecuencia, la concentración de Cd del grano. Por lo tanto, dada la dificultad de remediar suelos enriquecidos con Cd, los resultados del estudio sugieren que las estrategias de mitigación de Cd que se centran en enfoques basados en la fisiología de las plantas (por ejemplo, mejoramiento genético, portainjertos) tienen una probabilidad más alta de éxito que las estrategias basadas en el suelo (por ejemplo, remediación).

CAPÍTULO III.

Justificación del trabajo

1. Planteamiento del problema

En la última década se han incrementado las regulaciones a nivel mundial para limitar los niveles permitidos de cadmio en los productos del cacao. Esto ha traído consigo un aumento de las investigaciones relacionadas con la mitigación de la absorción del cadmio por parte de la planta de cacao. Aunque existen estudios que han determinado el contenido de cadmio en algunos suelos y cacaos venezolanos, la investigación y aplicación de medidas de mitigación de este metal en el contexto del país se encuentra en sus inicios. Para un país productor de cacao fino de aroma como Venezuela, es de gran importancia cumplir con las regulaciones internacionales para el cadmio en productos de cacao. El cacao producido en el Alto Apure (Brisas del Sarare), es un ejemplo de cacao reconocido internacionalmente, pero cuyos niveles de cadmio no cumplen con las regulaciones mencionadas. Por ello, el estudio de la disponibilidad y mitigación de cadmio en suelos y cacao cultivados en esta zona, no solo aportaría conocimientos en el área sino posibles soluciones que contribuyan a la competitividad del cacao venezolano en el mercado global.

2. Hipótesis

El encalado, el uso de enmiendas orgánicas y la remoción de residuos de poda son medidas que remediarán la absorción de cadmio por parte de plantas de cacao cultivadas en el Alto Apure.

3. Objetivos

2.1 Objetivo general

Estudiar la disponibilidad de cadmio en un suelo agrícola cultivado con cacao en el Alto Apure con fines de mitigación.

2.2 Objetivos específicos

- Caracterizar un suelo agrícola cultivado con cacao en el Alto Apure por medio de propiedades fisicoquímicas relevantes para la biodisponibilidad del cadmio.

- Evaluar el efecto de la aplicación de enmiendas y la remoción de residuos de la planta en la biodisponibilidad de cadmio en el suelo agrícola cultivado con cacao en el Alto Apure.
- Comparar la efectividad de las estrategias de remediación para disminuir la concentración de cadmio en el grano de cacao.

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO IV.

Desarrollo experimental

A continuación se describen las estrategias de mitigación aplicadas en el suelo cultivado con cacao ubicado en Brisas del Sarare, Parroquia Urdaneta, estado Apure. Coordenadas: 7°10'17.0"N 71°40'25.1"W. Además, se listan las metodologías estandarizadas por organizaciones internacionales (ISO, EPA, AOAC) que fueron empleadas para determinar las propiedades fisicoquímicas del suelo y el contenido de cadmio en suelos y granos de cacao. Esto permitió la evaluación de las variables relevantes para la disponibilidad del cadmio y su concentración en suelos y granos en cada etapa de las estrategias de mitigación propuestas (Tabla 1).

1. Aplicación de estrategias de mitigación.

El terreno cultivado con cacao se encuentra dividido en 4 lotes, el lote 4 fue empleado como control a lo largo de la aplicación de las estrategias mitigación. En el lote 1 se aplicó cal dolomítica, en lote 2 se agregó una enmienda orgánica y en el lote 3 fueron removidos los residuos de poda de las plantas de cacao.

1.1 Toma de muestra control inicial: Para determinar los niveles de cadmio y las propiedades fisicoquímicas del suelo antes de la aplicación de estrategias de mitigación se realizó un muestreo sistemático aleatorizado del suelo de todos los lotes para tener un control de las condiciones iniciales.

1.2 Encalado del suelo: se aplicaron 300 g de cal dolomítica por planta de cacao, y luego de 3 meses fue muestreado el suelo del lote. Seguidamente, se agregaron 500 g de cal dolomítica y se tomó una nueva muestra de suelo luego de 3 meses. Finalmente, se encaló con 800 g del mismo material y se tomó la muestra final.

1.3 Aplicación de enmienda orgánica: se aplicaron 2 kg de enmienda orgánica compostada de origen vacuno por planta de cacao, a los tres meses el suelo del lote fue muestreado. El proceso se repitió por otros dos ciclos tomando muestras del cacao producido en cada uno.

1.4 Remoción de residuos de poda de las plantas de cacao: Fueron removidos los residuos de poda en el lote correspondiente y cada tres meses se muestreó el suelo y el cacao del lote. Esto de forma que ambos coincidan con la toma de muestra de 1.2 y 1.3.

Tabla 3. Plan de muestreo y aplicación de enmiendas

Inicio	3 meses	6 meses	9 meses
Muestreo total de terreno.	Muestreo del suelo de cada lote.	Muestreo del suelo de cada lote.	Muestreo del suelo de cada lote.
300 g de cal por planta en lote 1.	300 g de cal por planta en lote 1.	300 g de cal por planta en lote 1.	Muestreo del caco producido en cada lote.
2 kg de enmienda por planta en lote 2	2 kg de enmienda por planta en lote 2.	2 kg de enmienda por planta en lote 2.	
Remoción de residuos de poda.	Remoción de residuos de poda.	Remoción de residuos de poda.	
		Muestreo del caco producido en cada lote.	Muestreo del caco producido en cada lote.

2. Toma de muestra.

El muestreo se realizó de acuerdo a la norma **ISO 1038-1:2003. Calidad del suelo. Muestreo. Parte 4: Orientación sobre los procedimientos para la investigación de sitios naturales, cercanos a cultivos y cultivados.**

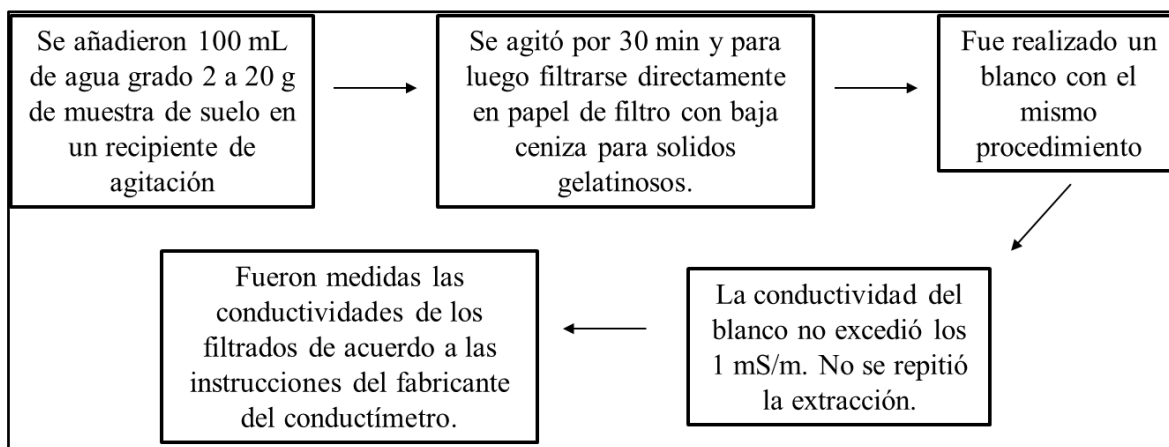


Figura 11. Procedimiento de muestreo de suelo.

En este estándar se describe el muestreo de suelos en áreas destinadas para la agricultura y el cultivo de especies arbóreas. Aplicable para investigaciones fisicoquímicas y biológicas. Para el tipo de suelo estudiado, se toman muestras compuestas perturbadas siguiendo un patrón de muestreo al azar. Luego estas se almacenan en bolsas de plástico.

3. Tratamiento de la muestra.

ISO 11464:2006. Calidad del suelo. Pretratamiento de muestras para análisis fisicoquímico: Las muestras de suelo analizadas fueron secadas al aire. El suelo molido molido para luego ser tamizado de forma que el tamaño máximo de las partículas no excediera los 2 mm.

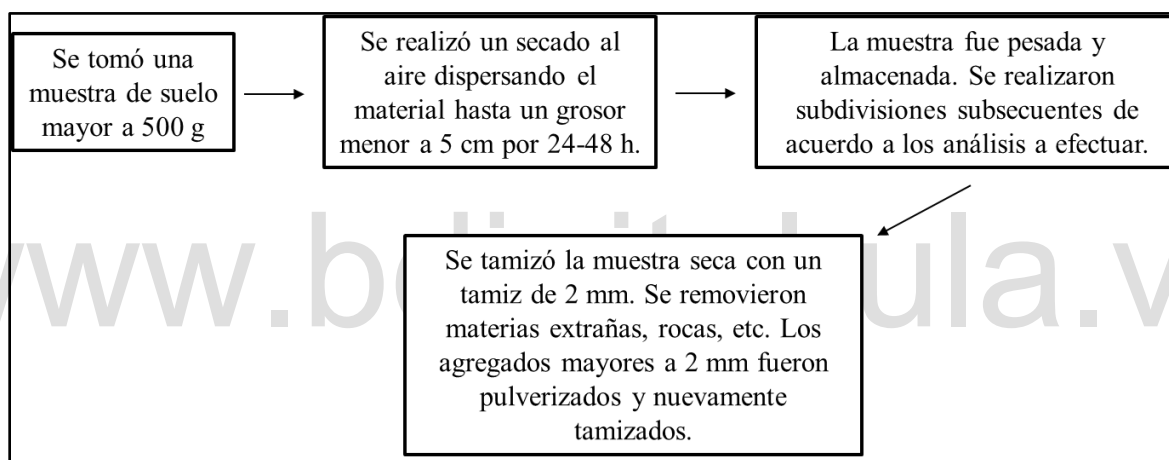


Figura 12. Procedimiento tratamiento de la muestra.

4. Determinación del contenido de agua.

ISO 11465:1993. Calidad del suelo. Determinación del contenido de materia seca y contenido de agua en base a la masa. Método gravimétrico: Las muestras de suelo tratadas en base a las normas anteriores se secaron hasta una masa constante a 105 ± 5 °C. La diferencia de masa antes y después del procedimiento se utilizó para calcular la materia seca y de agua en base a la masa.

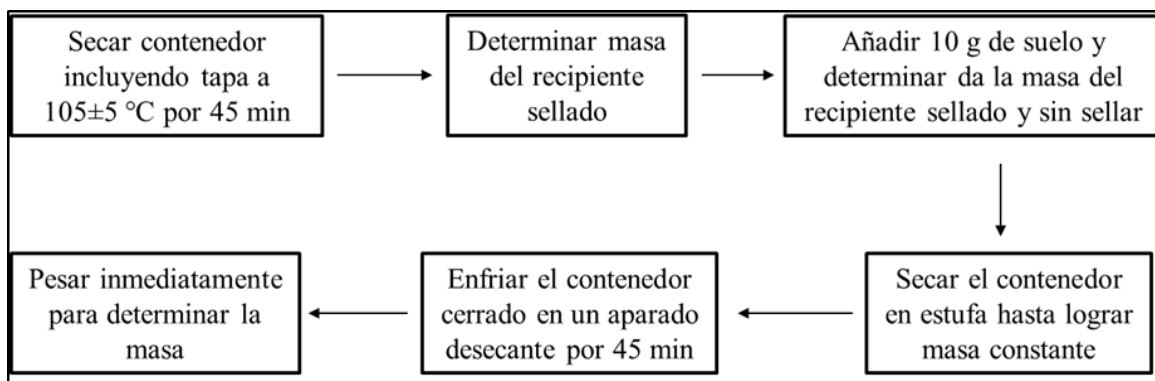


Figura 13. Procedimiento para determinación del contenido de agua.

5. Determinación de pH

ISO 10390:1994. Calidad del suelo. Métodos químicos. Determinación de pH: Para la aplicación de este método se formó una suspensión de suelo en cinco veces su volumen de una solución acuosa 0,01 M de CaCl_2 . Luego de esto el pH fue medido empleándose un pH-metro.

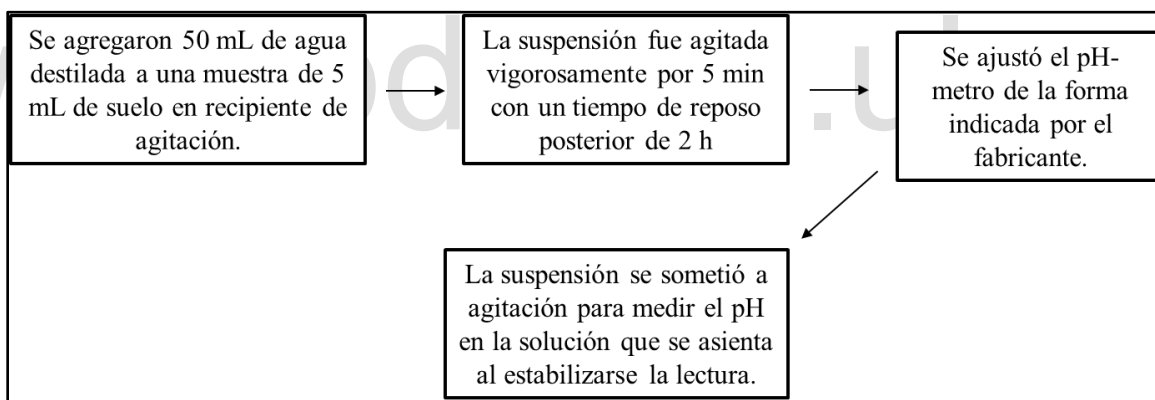


Figura 14. Procedimiento para determinación de pH.

6. Determinación de conductividad eléctrica

ISO 11265:1994. Calidad del suelo. Métodos químicos. Determinación de conductividad eléctrica específica: Suelo secado al aire fue extraído con agua a 20 °C con una proporción de extracción de 1:5 (m/V), para disolver los electrolitos. La conductividad eléctrica específica del extracto filtrado fue medida y el resultado corregido a 25 °C.

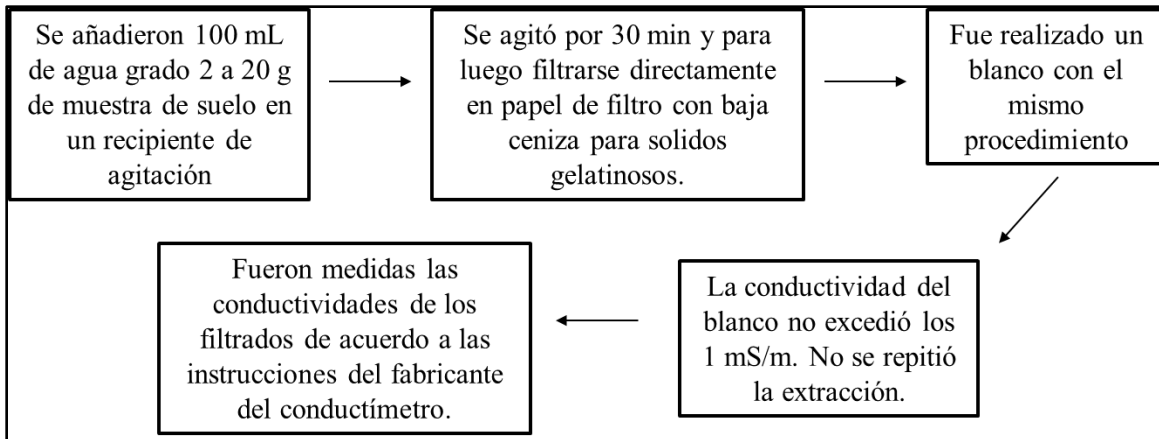


Figura 15. Procedimiento para determinación de conductividad del suelo.

7. Determinación de acidez intercambiable

ISO 11260:1994. Calidad del suelo. Determinación de la capacidad de intercambio catiónico y nivel de saturación base usando solución de cloruro de bario: La metodología de extracción con cloruro de bario que aparece en esta norma fue empleada para generar los extractos que luego fueron usados en la determinación de acidez intercambiable. El suelo fue saturado respecto al bario al tratarlo tres veces con una solución de cloruro de bario 0,1 M.

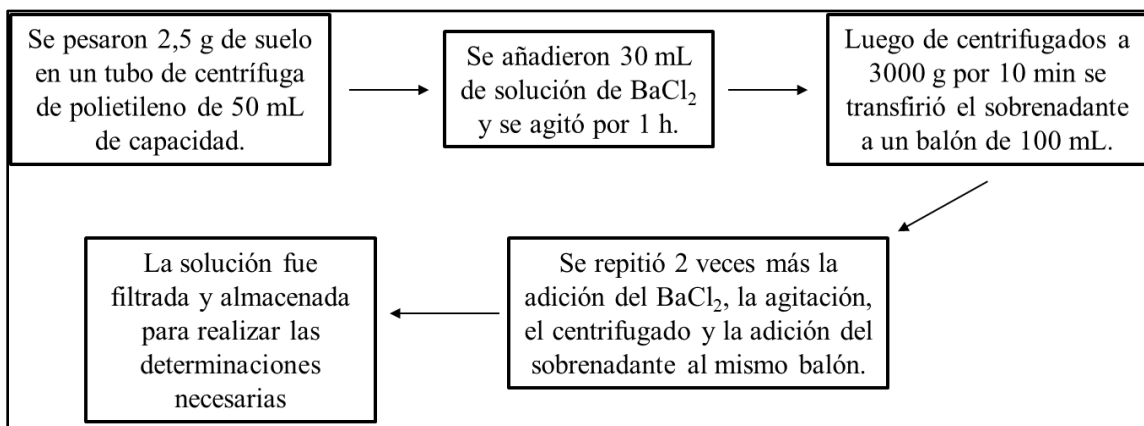


Figura 16. Procedimiento para determinación de capacidad de intercambio catiónico.

ISO 14254:2001. Calidad del suelo. Determinación de acidez intercambiable en extractos de cloruro de bario: La muestra de suelo fue extraída de acuerdo con la ISO 11260. El extracto 0,1 M se tituló con una solución de NaOH 0,05 M hasta pH = 7,8. Permitted the use of phenolphthalein as an indicator. Additionally, a method

alternativo para determinar acidez libre en el cual fue agregado NaF para complejar los iones de Al^{3+} . De esta forma solo se detectó la acidez de los iones H^+ .

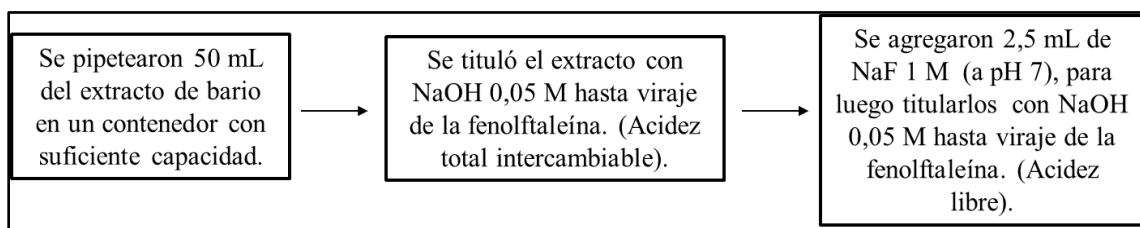


Figura 17. Procedimiento para determinación de acidez intercambiable.

8. Respiración celular

ISO 16072:2011. Calidad del suelo. Métodos de laboratorio para la determinación de la respiración microbológica del suelo: El suelo fue incubado en un recipiente cerrado, y el CO_2 liberado se absorbió en una solución de NaOH. Luego de una titulación por retroceso del NaOH no consumido, se calculó la cantidad de CO_2 liberada. Para evaluar el efecto de la enmienda orgánica sobre la posible toxicidad del cadmio se incubaron muestras de suelo usadas como control y suelo con enmienda orgánica añadida.

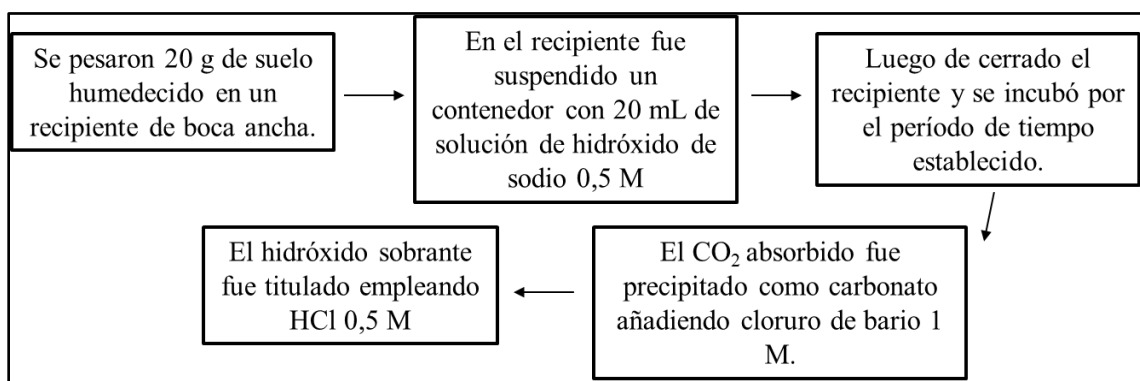


Figura 18. Procedimiento para determinación de la respiración microbológica del suelo.

9. Determinación de capacidad de intercambio catiónico efectiva (CIC)

ISO 23470:2011. Calidad de suelos, determinación de la capacidad de intercambio catiónica efectiva (CIC) y cationes intercambiables utilizado una solución de tricloruro de hexaminocobalto. Los cationes retenidos por el suelo fueron intercambiados

con iones hexaminocobalto (III) en solución acuosa con agitación por 60 min. La CIC se obtuvo por la diferencia entre la cantidad inicial de hexaminocobalto (III) en solución y la cantidad restante en el extracto luego del intercambio. La medición de la concentración de hexaminocobalto (III) en el extracto se realizó mediante una determinación espectrofotométrica directa del complejo de cobalto formado. Esta determinación fue realizada en espectrofotómetro UV/Visible UVmini-1240V de marca Shimadzu. Para ésta determinación no se requirió la optimización de los parámetros del equipo por lo cual se siguieron las instrucciones de la norma ISO y del manual del fabricante para la operación del equipo. Los parámetros empleados son resumidos en la Tabla 2.

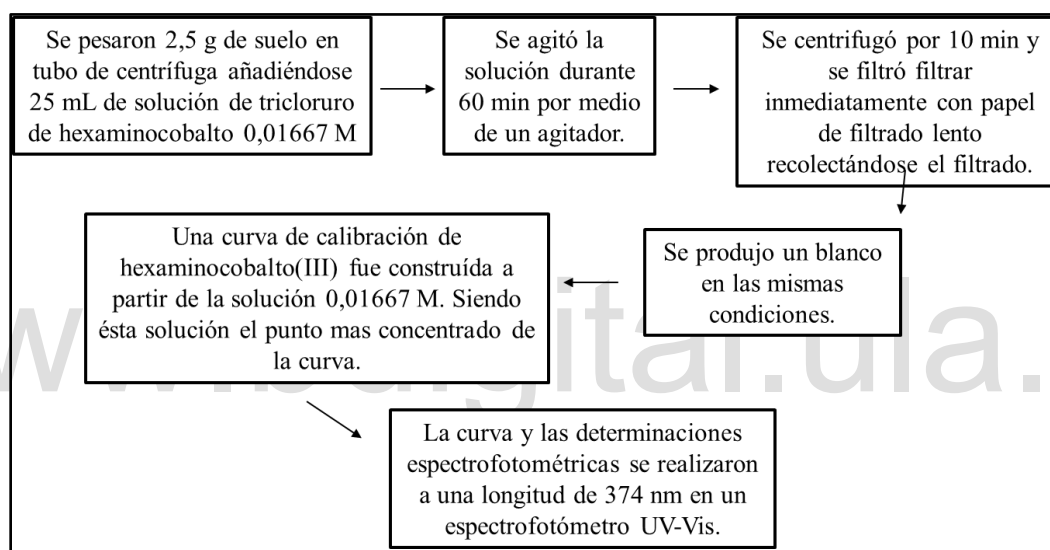


Figura 19. Procedimiento para determinación de capacidad de intercambio catiónico.

Tabla 4. Parámetros de optimización para el equipo de absorción molecular UV/Visible

Parámetro	Espectrofotómetro Shimadzu UV/Visible UVmini-1240V
Fuente	Lámpara de Deuterio, lámpara halógena de tungsteno.
Modo de medida	Altura de pico
Longitud de onda para determinación de hexaminocobalto (III)	475 nm
Tipo de cubeta	Cuarzo
Volumen de muestra en cubeta	7 mL
Corrección de línea base	Automática por ordenador del equipo

10. Determinación de cadmio ambientalmente disponible

Método EPA 3050B. Digestión ácida de sedimentos, lodos y suelos: Se realizó una digestión ácida incompleta para disolver todos los elementos no unidos a las estructuras de silicatos por lo que no es una digestión total. La digestión implicó pesar una muestra representativa del suelo y la adición repetida de ácido nítrico y peróxido de hidrógeno. El filtrado del proceso de digestión fue analizado siguiendo las recomendaciones del fabricante del equipo, junto con parámetros optimizados obtenidos por estudios anteriores en la matriz del suelo.

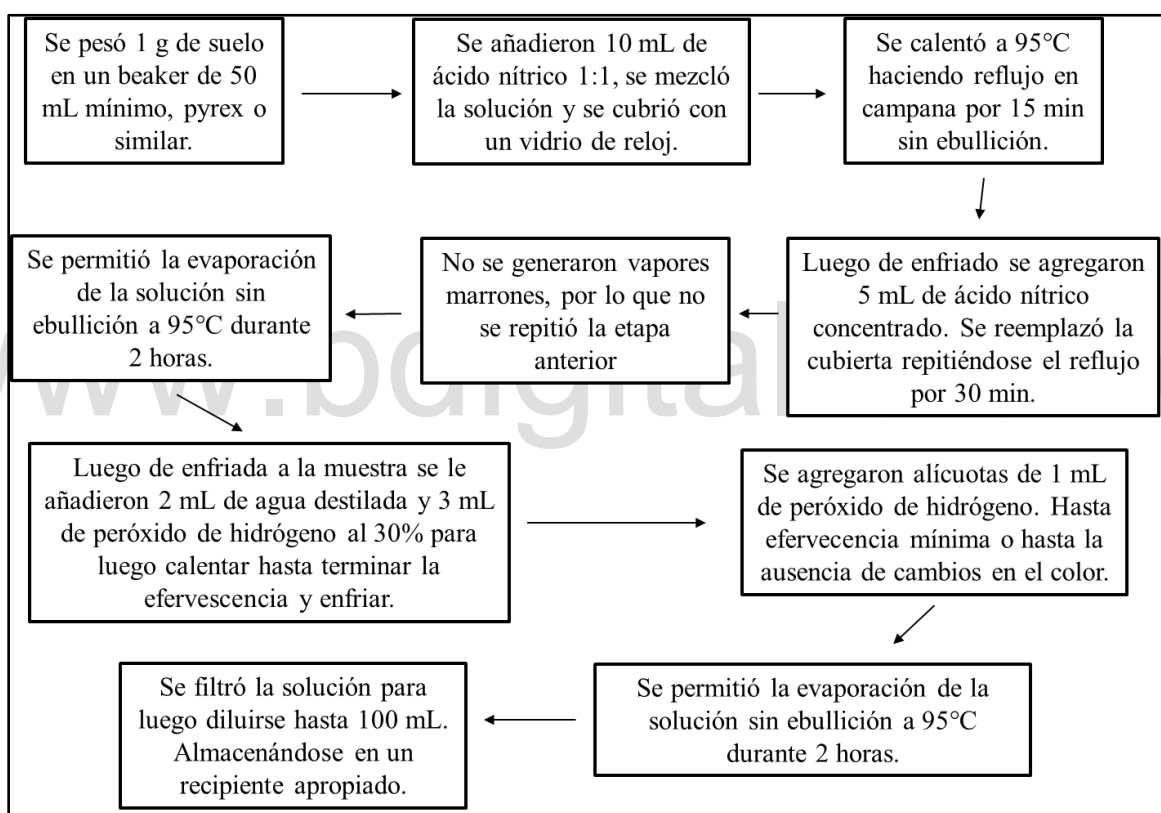


Figura 20. Procedimiento para determinación de cadmio ambientalmente disponible.

11. Muestreo de granos de cacao

COVENIN 1339:1995. Granos de cacao. Toma de muestras: Las muestras primarias de cacao fueron tomadas al azar de una tercera parte de los sacos de cada lote de terreno. Para ello se empleó un punzón saca muestras de dimensiones especificadas en la norma. Luego,

a partir de la mezcla de las muestras primarias se estableció una muestra reducida para el laboratorio con un divisor cónico.

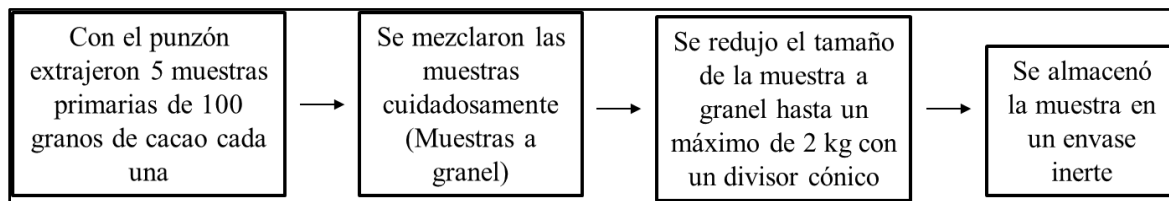


Figura 21. Procedimiento para muestreo de granos de cacao.

12. Preparación de la muestra de licor de cacao

La preparación habitual del licor de cacao implica que los granos de cacao secos y fermentados se someten a un proceso de tostado, descascarillado y molienda para obtener la fase líquida del licor de cacao. Sin embargo, para la determinación de cadmio solo es requerido el proceso de descascarillado y molienda para homogeneizar las muestras. Para ellos se siguió un procedimiento desarrollado en el LIAQIA.

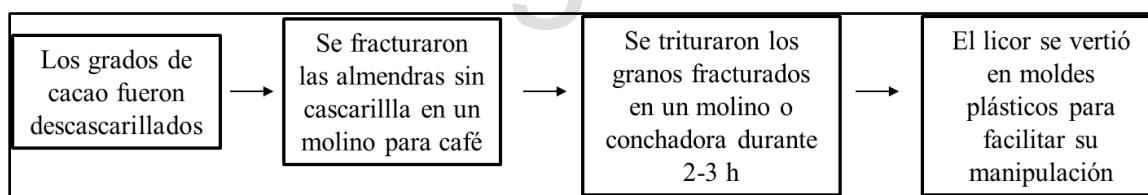


Figura 22. Procedimiento para preparación de la muestra de licor de cacao.

13. Determinación de cadmio total en el licor de cacao

AOAC Official Method 999.11 Determinación de plomo, Cadmio, Cobre, Hierro y Zinc en alimentos: Las muestras de ensayo fueron secadas y calcinadas a 450°C con una rampa de temperaturas de 50 °C/h. Luego se añadió ácido nítrico 6 M para luego secar la solución. El residuo fue disuelto en el mismo ácido 0.1 M. Finalmente, se filtró la solución y el filtrado fue empleado usado para la determinación del cadmio con el método de absorción atómica con atomización electrotérmica.

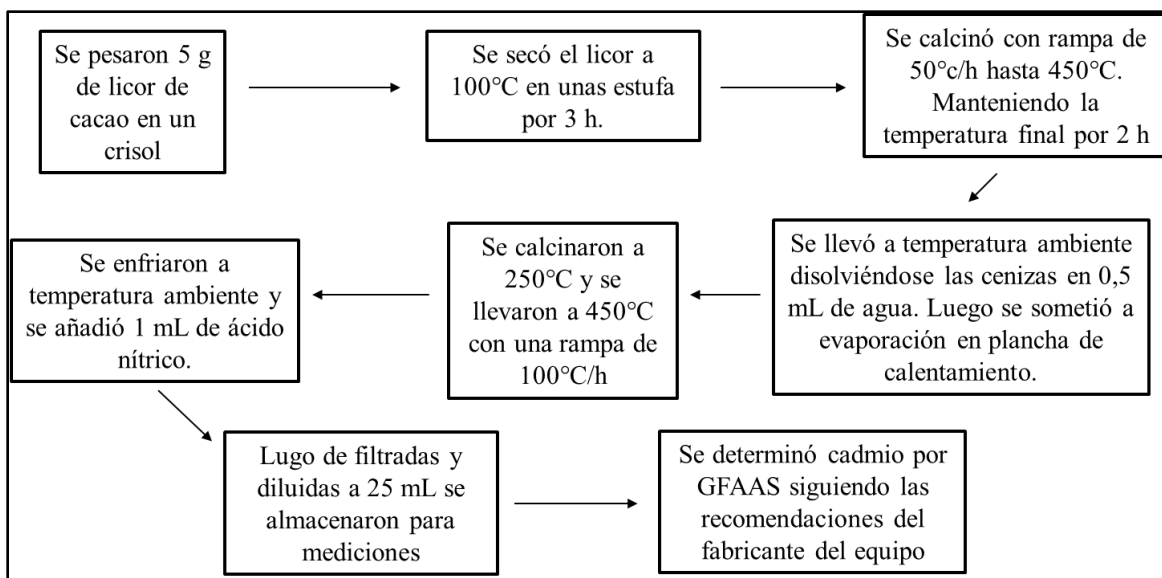


Figura 23. Procedimiento para preparación de la muestra de licor de cacao.

14. Parámetros del equipo de absorción atómica con atomización electrotérmica (ETAAS)

La determinación de la concentración de cadmio en las muestras de suelo analizadas requirió el uso de parámetros óptimos para el equipo de absorción atómica por absorción electrotérmica de marca Perkin-Elmer modelo AAnalyst 600 con automuestreador AS-800. Para ello se siguieron las recomendaciones del fabricante y se consideraron mediciones anteriores de muestras similares de suelo y cacao en el mismo equipo. Estos estudios fueron realizados por Londero (2021) y Qasem (2021). En ellos se determinó la ausencia de efectos de matriz para la determinación de suelo y cacao. Para esto realizaron curvas de adición estándar. Además, establecieron la exactitud y precisión del método por medio de estudios de recuperación y múltiples repeticiones de curvas de calibración sencilla. Los límites de detección (LOD) y cuantificación (LOQ) fueron determinados por medio de medidas repetidas del blanco. Todos estos datos se muestran en las Tablas 3, 4 y 5.

Tabla 5. Parámetros de optimización para el equipo de ETAAS empleados por Londero (2021) y Qasem (2021).

Parámetro	Espectrómetro de absorción atómica Perkin Elmer AAnalyst 600
Fuente	Lámpara de cátodo hueco
Corriente de la lámpara	7 mA
Modo de medida	Área de pico
Longitud de onda para determinación de Cd	228,8 nm
Volumen de inyección de muestra	20 µL
Corrector de fondo	Corrector de fondo Zeeman
Atomizador	Transversal
Tubo de grafito	Plataforma de L'vov
Modificador químico	Pd
Cantidad de modificador	10 µg en 10 µL de volumen de inyección

Tabla 6. Parámetros de optimización para el equipo de ETAAS obtenidos por Londero (2021).

Etapa	Temperatura (°C)	Tiempo de rampa (s)	Tiempo de espera (s)	Flujo de gas (mL/min)
Secado	110	1	30	250
Secado	130	15	30	250
Pirólisis	400	10	30	250
Atomización	1400	0	5	0
Limpieza	2450	1	3	250

Tabla 7. Parámetros de optimización para el equipo de ETAAS obtenidos por Qasem (2021).

R ²	Sensibilidad	LOD (ppb)	LOQ (ppb)	% Recuperación
0,9999	0,0564	0,0106	0,0354	101,3

CAPÍTULO V. Resultados y discusión

1. Curvas de calibración

La determinación de cadmio en muestras de suelo requirió la construcción de varias curvas de calibración para asegurar el control estadístico de sistema. Para ello, las soluciones de las curvas fueron procesadas por el equipo en distintas secuencias. Los resultados de estas mediciones junto con sus parámetros estadísticos asociados son presentados en la Tabla 8.

Tabla 8. Curvas de calibración empleadas para la determinación de cadmio en suelo y cacao.

[Cd] (ppb)	Curva I	Curva II	Curva III	Curva IV	Curva V	Prom	DE	CV
0	0,0178	0,0176	0,0180	0,0176	0,0178	0,01776	0,000167	0,94
0,5	0,0493	0,0497	0,05	0,0498	0,0495	0,04966	0,000270	0,54
1	0,0757	0,0773	0,0767	0,0777	0,0767	0,07682	0,000756	0,98
2	0,128	0,1291	0,1301	0,1294	0,1293	0,12918	0,000760	0,59
4	0,2432	0,2461	0,2489	0,2467	0,2469	0,24636	0,00206	0,83
8	0,462	0,4626	0,4687	0,4654	0,4627	0,46428	0,00280	0,60
m	0,05538	0,05547	0,05626	0,05580	0,05552	0,05569	0,00036	0,64
b	0,01959	0,02044	0,02006	0,02028	0,02038	0,02015	0,00034	1,71
R²	0,99987	0,99975	0,99979	0,99978	0,99974	0,99979	0,00005	0,01
			Sensibilidad (ppb⁻¹)	LOD (ppb)	LOQ (ppb)			
			0,05538	0,01	0,04			

Promedio (Prom). Desviación estándar (DE). Coeficiente de variación (CV). Pendiente (m). Corte (b). Coeficiente de linealidad (R²).

La evaluación de la linealidad de la curva de calibración se realizó por medio de los criterios establecidos por la norma ISO 8466-1. En ella se describe el Test de Mandel. Este compara el modelo de calibración lineal con uno alternativo (cuadrático en este caso). El resultado de esta prueba arrojó un ($p > 0,05$) concluyéndose que el modelo lineal es adecuado para modelar los datos de calibración. Para la realización de esta prueba se empleó el software Minitab 21. En la Figura 24 se muestra una curva de calibración construida con todas las mediciones de absorbancia.

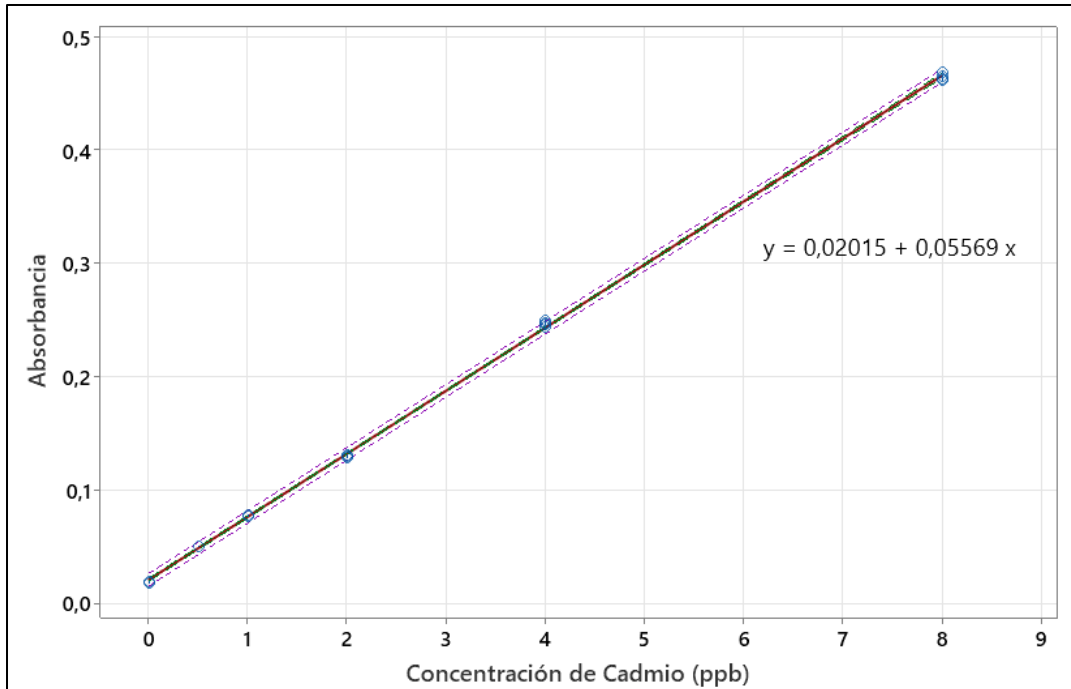


Figura 24. Curva de calibración para determinación de cadmio en suelo y cacao.

El cálculo de la capacidad de intercambio catiónico efectiva requirió la construcción de una curva de calibración con soluciones del ión hexaminocobalto (III), tal como se describió en el capítulo anterior. La curva de calibración sencilla empleada se muestra en la Figura 25. El test de Mandel arrojó un resultado ($p > 0,05$) concluyéndose que el modelo lineal es adecuado para modelar los datos de calibración.

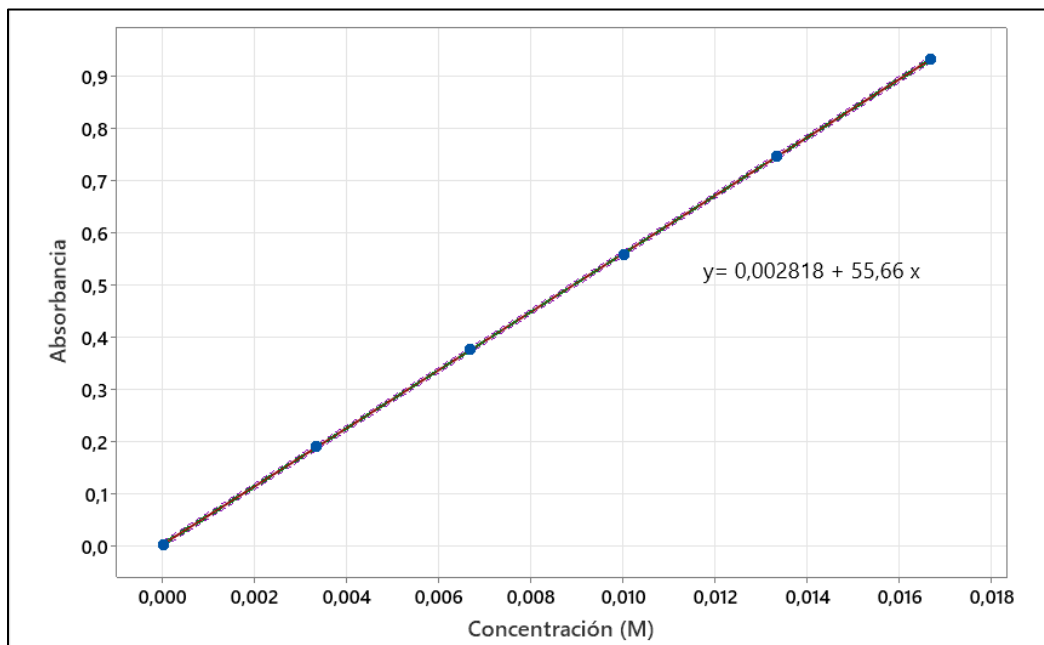


Figura 25. Curva de calibración para determinación de CIC efectiva.

2. Determinación de cadmio en suelo y cacao

Las concentraciones de cadmio en suelos y granos de cacao se presentan en las Figuras 26 y 27. Todas las muestras de fueron analizadas por triplicado. En ambos gráficos la concentración de cadmio es organizada en función de la estrategia de remediación aplicada y del tiempo en que se tomó la muestra de suelo o cacao.

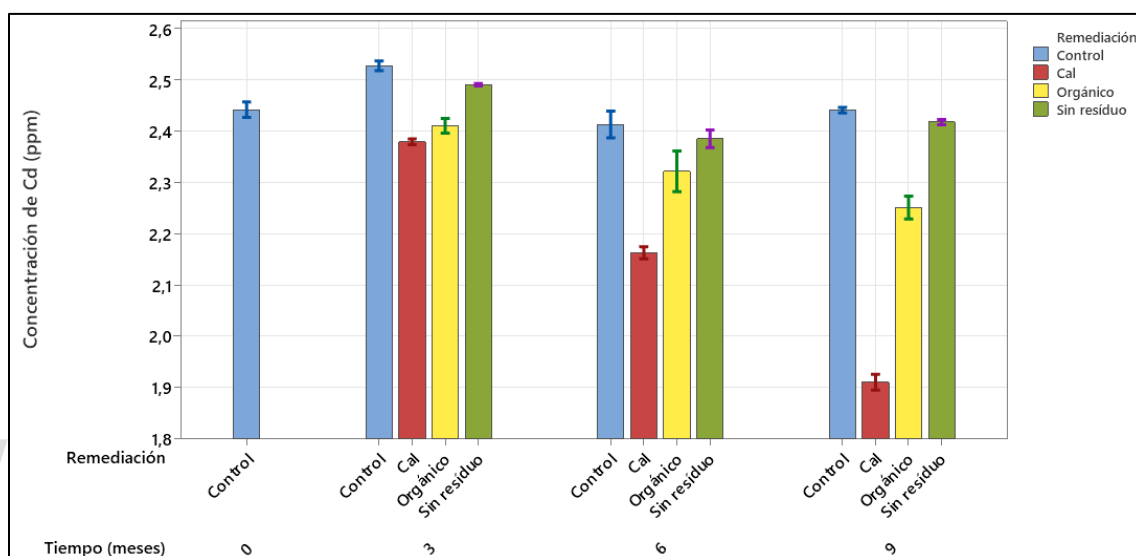


Figura 26. Concentración de cadmio en suelo.

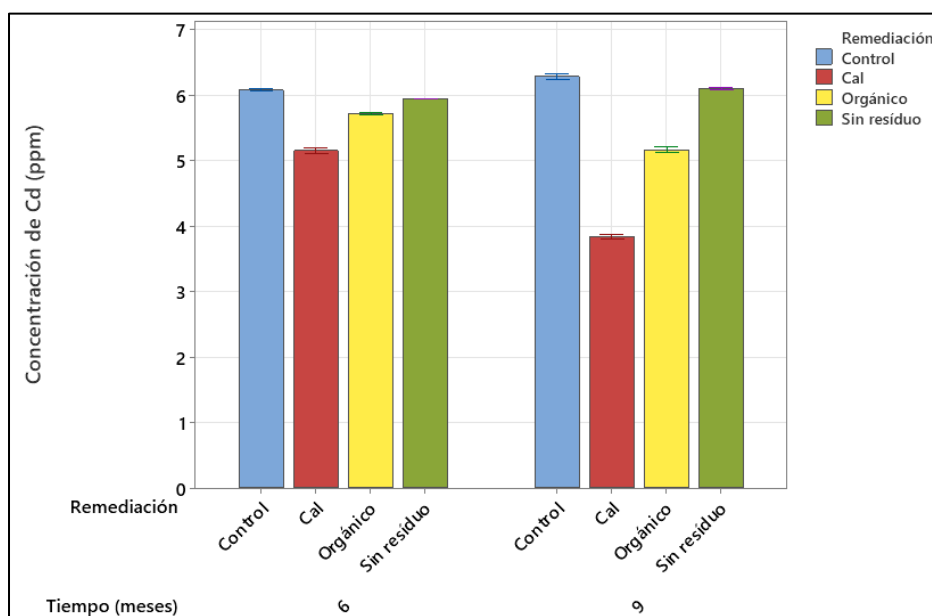


Figura 27. Concentración de cadmio en cacao.

La concentración de cadmio determinada para el lote de terreno usados como control se corresponden con lo reportado para suelos latinoamericanos (entre 0,22 y 10,8 ppm), que suelen ser geológicamente jóvenes (Vanderschueren *et al.*, 2021). Por ello, aunque las concentraciones sean altas, éste no puede ser clasificado como contaminado. El suelo analizado ha sido catalogado como Inceptisol (Grau, 2007) y éste se forma por la deposición aluvial lo que explica la alta concentración de cadmio. La clasificación del suelo implica que es un sustrato joven con un desarrollo mínimo de los horizontes. En consecuencia, se espera que propiedades fisicoquímicas como el pH y la capacidad de intercambio catiónico no sean favorables para la fijación de cationes en su superficie (Brady *et al.*, 2017). Si los cationes no se encuentran fijos en la superficie del suelo, entonces estarán disponibles para ser tomados por la planta. Esto es una razón importante por la cual se observan tan altas concentraciones de Cd en los granos de cacao.

Además de las características del suelo, la propia naturaleza del Cd contribuye a su disponibilidad para la planta. Esto se entiende mejor al compararlo con el Zn, que es el análogo químico del Cd. Sin embargo, la concentración de Zn en los tejidos de las plantas es relativamente constante sin importar su concentración en el suelo. Por otra parte, la concentración de Cd en los tejidos si se incrementa con la concentración del suelo. Esto se debe a que la absorción de Cd no es regulada por límites fisiológicos, es decir, la demanda de la planta (Smolders *et al.*, 2019). La alta disponibilidad del cadmio se manifestó en las concentraciones del metal encontradas en los granos de cacao, la cual fue aproximadamente de 6 ppm. Este resultado es coherente con lo reportado por Londero (2021), y ubica al cacao producido en Brisas del Sarare fuera de la regulación de la Norma COVENIN 50: 2018 1 era Revisión que establece un límite de 0,3 ppm de cadmio en granos de cacao.

3. Efecto de la enmienda de cal agrícola

El propósito de las enmiendas de cal agrícola es el incremento del pH y la disminución de la toxicidad del aluminio propia de suelos ácidos. Los resultados de las mediciones de pH que se observan en la Figura 28 indican que el suelo cultivado con cacao es por naturaleza muy fuertemente ácido ($\text{pH} < 5$) según la clasificación presentada por Munita (2001). Sin embargo, se neutralizó la acidez del suelo con la aplicación constante de cal agrícola en el

lote destinado para ello. Esto se observa en el aumento de la diferencia de pH entre el lote de control y el remediado con cal agrícola. El resultado fue la disminución progresiva de la concentración de cadmio disponible para la planta (Figura 26, remediación con cal) y una subsecuente mitigación en la acumulación del metal en los granos de cacao (Figura 27, remediación con cal).

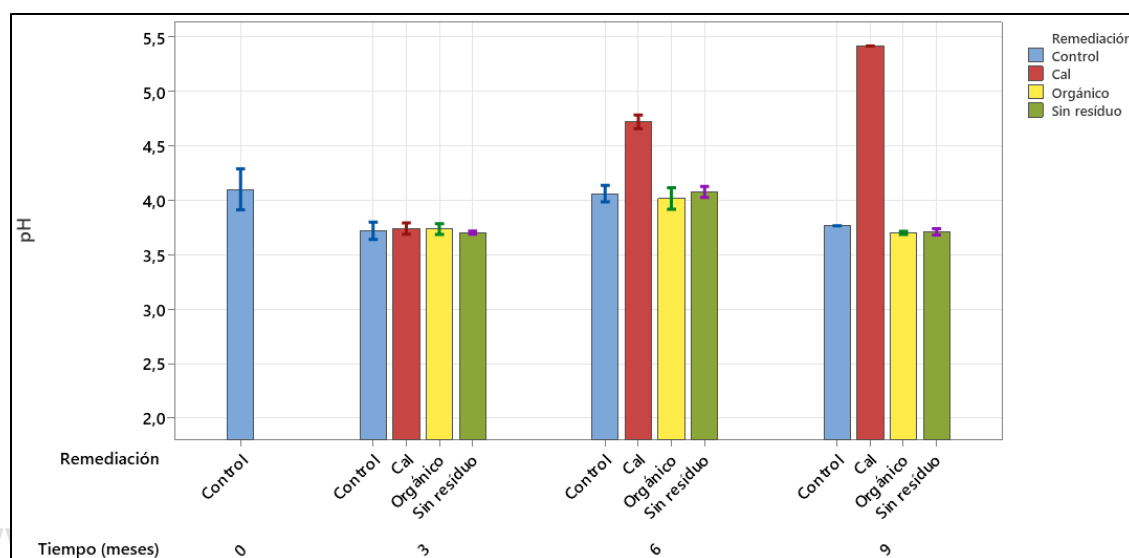
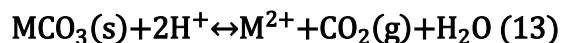


Figura 28. pH del suelo.

El pH de los suelos tiene mayor influencia en la solubilidad del cadmio que cualquier otro factor. Esto es predecible debido a las reacciones de solubilidad de óxidos, hidróxidos y carbonatos de este metal y cualquier otro presente en el suelo (Ec. 13). Sin embargo, los fenómenos de absorción influenciados por el pH también son fundamentales en el control de la solubilidad del metal (Alloway, 2013).



A medida que el pH del suelo se incrementa ocurren diversos cambios. Por una parte, la carga superficial de los sitios de absorción del cadmio se hace más negativa aumentando su adhesión a la superficie del suelo. Además, disminuye la competencia por los sitios de absorción por parte de iones hidronio (H_3O^+) y de cationes disueltos como el Al^{3+} y el AlOH^{2+} . Esto debido a la neutralización de los iones H_3O^+ y la reprecipitación de los iones de aluminio como $\text{Al}(\text{OH})_3$ (Alloway, 2013). El efecto del incremento del pH sobre la

interacción del Cd con la superficie del suelo puede notarse en la variación de la capacidad de intercambio catiónico efectiva por efecto de la enmienda de cal (Figura 29).

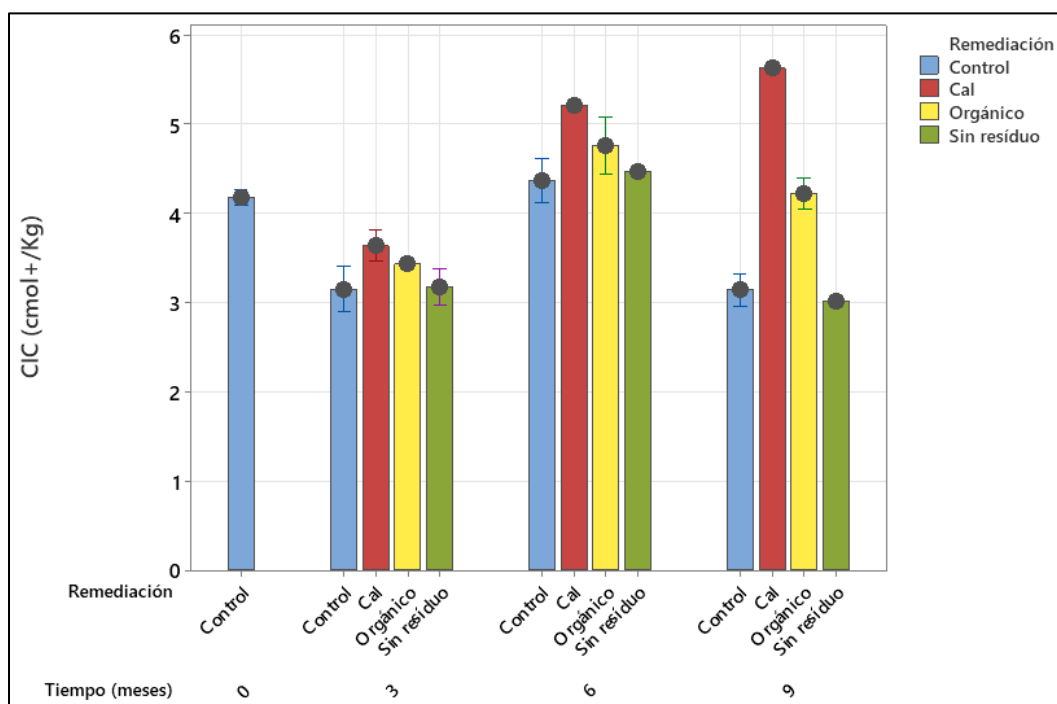


Figura 29. Capacidad de intercambio catiónico efectiva del suelo.

Se observa que la CIC efectiva de los suelos de control es menor a 5 cmol+/Kg. Esto es consistente con la clasificación de Inceptisol presentada por Grau (2007). Los suelos así categorizados tienen una baja CIC debido a su limitada fracción coloidal y reducido contenido de materia orgánica. Dicho efecto es agravado por el pH ácido del suelo. En consecuencia, puede entenderse por qué la CIC efectiva se incrementó con las aplicaciones sucesivas de cal agrícola.

La influencia del incremento del pH sobre la capacidad de intercambio catiónica tiene un efecto positivo en la mitigación del cadmio. Sin embargo, el incremento del pH puede provocar la especiación del cadmio a través de la formación de complejos solubles como hidróxidos y bicarbonatos. Adicionalmente, si el aumento del pH libera aniones formadores de complejos solubles, estos traerán una mayor cantidad del metal a la solución. Estos efectos contrarios pueden ser parte de la razón por la cual no siempre es efectiva la aplicación de enmiendas de cal para disminuir la absorción de cadmio por parte de las plantas de cacao. Sin embargo, también es cierto que estudios como el de Argüello *et al.*,

(2020) se determinó que la profundidad de incorporación del material de encalado es un factor fundamental para la disminución de la absorción de cadmio por parte de la planta de cacao. Además, los posibles cambios en la actividad de las raíces a causa de la deficiencia de nutrientes como el Zn sugieren que la aplicación del encalado junto con una suplementación de Zn puede mejorar el efecto de la estrategia de mitigación. En consecuencia en estudios posteriores se debería determinar la influencia del suelo subsuperficial en la absorción de cadmio y la suplementación de Zn como estrategias que actúen en conjunto para incrementar la mitigación de este metal en el suelo del Alto Apure.

Un pH bajo del suelo es definido como una alta concentración de iones hidronio, no obstante, el aluminio juega un papel central en la acidez de éste. El aluminio es el principal constituyente de la mayoría de los minerales del suelo (aluminosilicatos y óxidos de aluminio), incluyendo arcillas. Cuando los iones hidronio son adsorbidos a la superficie de la arcilla, no permanecen como iones intercambiables, sino que atacan del mineral, liberando cationes Al^{3+} en el proceso. Los iones Al^{3+} se adsorben en los sitios de intercambio catiónico del coloide. Estos iones Al^{3+} intercambiables se encuentra a su vez en equilibrio con el Al^{3+} disuelto en la solución (Figura 30). (Brady *et al.*, 2017).

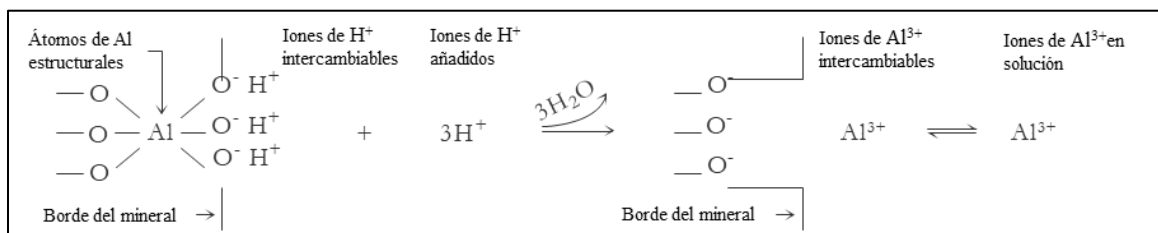


Figura 30. Reacciones de intercambio del aluminio en la superficie del suelo (adaptado de Brady *et al.*, 2017).

El Al^{3+} intercambiable y soluble tiene dos roles críticos en la acidez de suelo. En primer lugar el aluminio es altamente tóxico para la mayoría de los organismos. Sin embargo, de mayor interés para el presente estudio es que los iones Al^{3+} tienen una fuerte tendencia a hidrolizar. Esta división del agua produce la unión del aluminio con iones OH^- , dejando a los iones hidronio libres para disminuir la acidez del suelo (Figura 1).

El efecto de la enmienda de cal agrícola sobre la acidez intercambiable y el aluminio intercambiable del suelo cultivado con cacao se observa en la Figura 31. Luego de seis meses disminuyeron ambos valores en proporciones coherentes con lo esperado y la máxima variación se presenta a los 9 meses. La cal dolomítica aplicada reacciona con el dióxido de carbono y el agua para producir el ion bicarbonato. Como el dióxido de carbono se encuentra a presiones parciales superiores a las condiciones atmosféricas, la reacción se desplaza hacia la derecha (Strawn *et al.*, 2020):

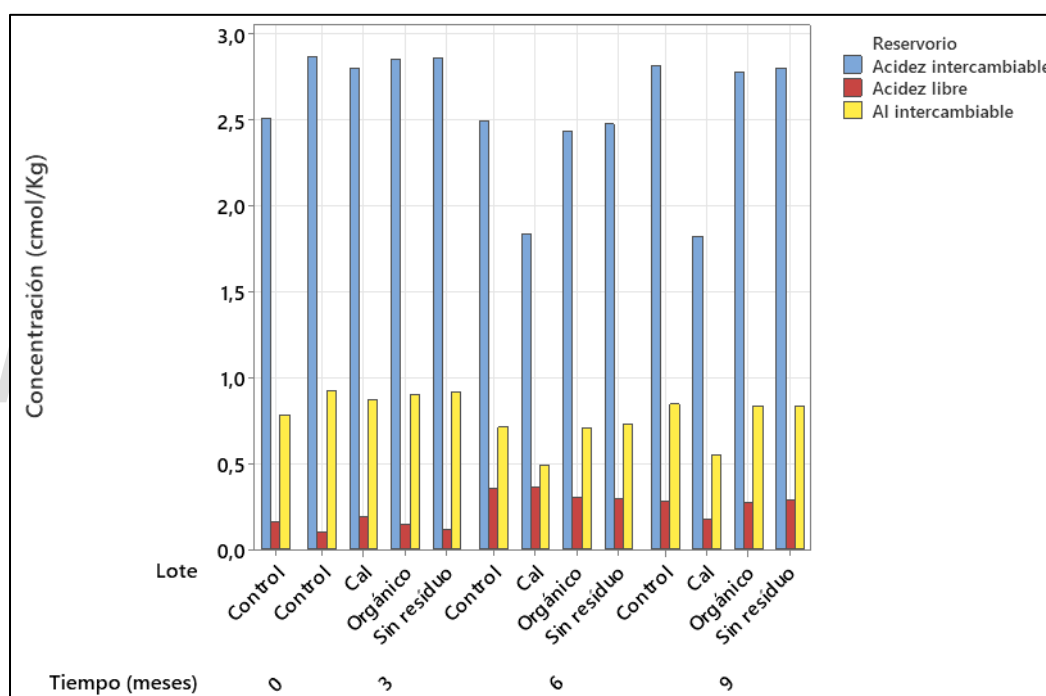
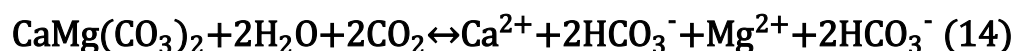


Figura 31. Acidez intercambiable, libre y aluminio intercambiable.

Los bicarbonatos de calcio y magnesio son mucho más solubles que los carbonatos, así que el bicarbonato formado es bastante reactivo con la acidez intercambiable y libre del suelo. El Ca^{2+} y el Mg^{2+} reemplazan a los iones hidronio y Al^{3+} en el complejo coloidal:



La insolubilidad del $\text{Al}(\text{OH})_3$, la débil disociación del agua y la liberación de dióxido de carbono a la atmosfera desplazan estas reacciones hacia la derecha. Adicionalmente, la adsorción de los iones de calcio y magnesio disminuye la saturación acida en el complejo coloidal, incrementándose así el pH de la solución. Podría pensarse que los iones Ca^{2+} y Mg^{2+} liberarían al Cd^{2+} , al reemplazarlo cuando está adsorbido a los sólidos coloidales. Pero la razón por la cual la solubilidad del cadmio casi siempre decrece con el aumento de pH se encuentra en las fuerzas de enlace con el suelo que existen entre los iones alcalinos/alcalinotérreos y los iones de metales pesados. Los primeros se encuentran débilmente unidos, por fuerzas electrostáticas, en la forma de cationes hidratados. El cadmio, en contraste, está unido de forma específica a los óxidos hidrogenados como complejos de esfera interna. En consecuencia, aunque los iones de Ca^{2+} y Mg^{2+} liberan una pequeña cantidad de Cd^{2+} , este efecto es negado por los iones bicarbonato que neutralizan los iones hidronio adheridos a la superficie del suelo. Así, quedan sitios disponibles para el enlazamiento fuerte del cadmio. Todo esto como resultado de una menor competencia por parte de los iones hidronio y de aluminio (Strawn *et al.*, 2020).

4. Efecto de la enmienda de estiércol vacuno compostado

En las Figuras 26 y 27 se muestra el efecto de la materia orgánica añadida en forma de estiércol compostado sobre el cadmio disponible en el suelo y absorbido por el cacao. Aunque a los nueve meses la disminución no fue tan pronunciada como la conseguida con la enmienda de cal, se observa que el cadmio fue efectivamente mitigado por la materia orgánica añadida. Esto se debe a que, después de pH, el contenido de materia orgánica del suelo es el principal factor que controla la concentración de cadmio en la solución del sustrato.

El humus es el producto orgánico de la descomposición continua de restos de plantas y animales, es muy heterogéneo y existe en formas coloidales y moleculares. En contraste con los constituyentes minerales, el humus se concentra en los 20 cm de la capa superior del suelo. Estructuralmente, los materiales húmicos son 20-30% alifáticos, 10-20% carbohidratos y 20-40% aromáticos. De esta forma, el cadmio puede unirse a varios sitios en los humus compuestos de una mezcla de átomos donadores: oxígeno, nitrógeno y azufre. Las cargas negativas en el humus generan atracciones coulómbicas simples con los iones

metálicos alcalinos y alcalinotérreos. Sin embargo, los metales pesados como el cadmio se encuentran como parte de complejos de esfera interna y forman quelatos polidentados con la materia orgánica. Estas interacciones son probablemente dominadas por la formación de dos o tres enlaces con una mezcla de grupos carboxílicos e hidroxilos. Además, aparentemente estos enlaces se dan con grupos en la misma molécula pero no entre moléculas húmicas distintas (Tipping, 2002). Los procesos descritos anteriormente explican el incremento de la capacidad de intercambio catiónico del suelo donde se aplicó la enmienda orgánica (Figura 29), y se ha determinado que en este tipo de sustratos que poseen naturalmente una baja cantidad de materia orgánica, gran parte de su CIC proviene de la materia orgánica que contienen (Brady *et al.*, 2017).

Al ser una fijadora de cationes, la materia orgánica tiene también influencia en el aluminio intercambiable del suelo. Por una parte, la materia orgánica de alto peso molecular puede unirse fuertemente a los iones de aluminio evitando que éstos alcancen concentraciones tóxicas en la solución del suelo. Adicionalmente, la presencia de ácidos orgánicos de bajo peso molecular puede formar complejos solubles con el aluminio, y que no son tóxicos para plantas y animales. Si en lugar del aluminio se consideran los iones de cadmio, estas interacciones pueden explicar por qué las enmiendas orgánicas no siempre son efectivas en la fijación del cadmio para evitar su absorción por la planta de cacao. Además, es importante destacar que el ganado vacuno que originó el estiércol empleado se alimenta en terrenos cercanos a los cultivos de cacao. En consecuencia es de esperarse que exista presencia de cadmio en el estiércol, ya ocupando sitios de adsorción. Esto puede limitar su capacidad para mitigar el cadmio (Strawn *et al.*, 2020).

5. Influencia del cadmio y las enmiendas en la respiración microbiana del suelo

La respiración microbiana del suelo, fue usada como medidor del efecto del cadmio sobre la abundancia y actividad de microorganismos del suelo. La Figura 32 muestra las curvas de respiración construidas a partir del CO₂ emitido por el suelo usado como control y aquel donde se aplicó la enmienda orgánica. El efecto de ésta última se puede observar en los niveles superiores de CO₂ que fueron emitidos en comparación con el control.

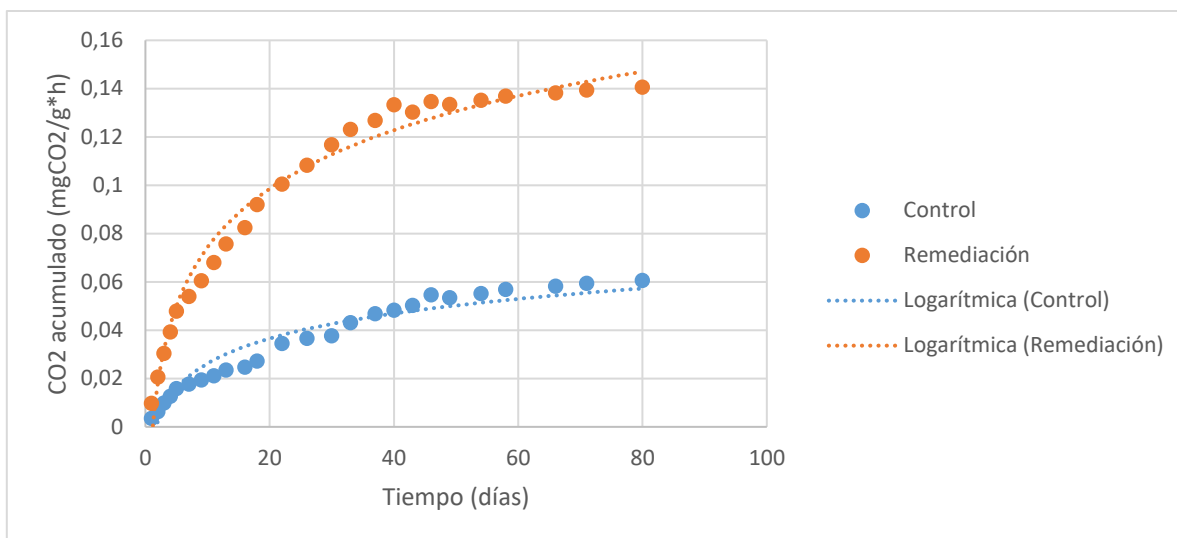


Figura 32: Respiración microbiana del suelo.

De existir una alta toxicidad debido a la presencia del Cd (u otros contaminantes) el comportamiento de la curva de respiración hubiera presentado un disminución rápida y pronunciada. Luego de esto se observaría una recuperación de la respiración microbiana o su estabilización. La razón de este comportamiento se encuentra en los dos posibles efectos que tiene el cadmio sobre los microorganismos del suelo. En primer lugar puede que su población disminuya por la toxicidad. Por otra parte, los organismos que produzcan metalotioneínas que se unan con el cadmio, reducirían el efecto tóxico del metal. Como la curva no refleja ninguno de estos comportamientos, se concluye que los niveles de cadmio presentes en el suelo no son suficientemente altos para afectar a la población microbiana agregada con la enmienda orgánica. Esto concuerda con los límites predichos de concentración de cadmio (2,3 ppm) que no tendrá efecto sobre los microorganismos del suelo (Alloway, 2013).

6. Influencia de la conductividad.

La conductividad eléctrica (CE) del suelo es una forma indirecta de determinar la cantidad de iones que posee. La Figura 33 muestra la CE medida en los suelos estudiados. Allí se observa que no ocurrieron variaciones significativas en esta propiedad como consecuencia de la aplicación de las enmiendas, excepto a los 9 meses en el lote donde se agregó cal agrícola. Este comportamiento es de esperarse debido a los iones Ca^{2+} y Mg^{2+} que son

portadores de carga añadidos con el encalado, y su influencia sobre la conductividad no se notó hasta los 9 meses. Los niveles de CE menores a 30 $\mu\text{S}/\text{cm}$, indican que el suelo presenta una salinidad apropiada, así que no hay concentraciones suficientemente altas de aniones como el Cl^- , conocidos por formar complejos solubles con el Cd^{2+} .

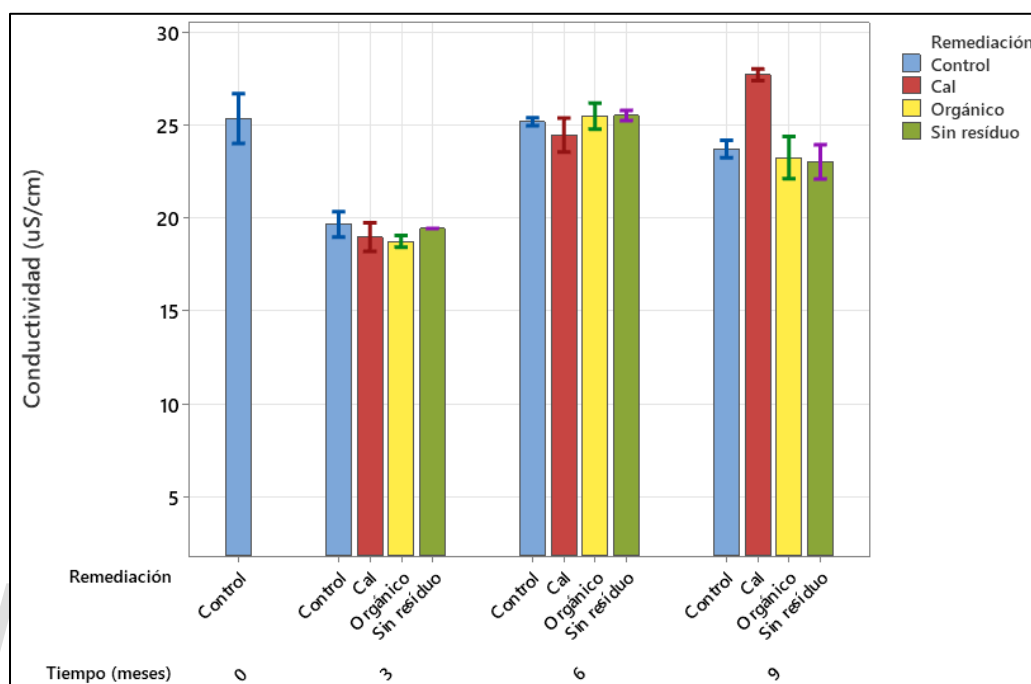


Figura 33. Conductividad del suelo.

7. Efecto de la remoción de los residuos de poda.

Entre las estrategias aplicadas para mitigar la absorción de cadmio, la menos efectiva fue la remoción de los residuos de poda de la planta. Esta tuvo un efecto mínimo en la disminución del cadmio disponible en el suelo (Figura 26) y en el cadmio presente en los granos de cacao (Figura 27); en ambos casos, sin importar la etapa en que se realizó el muestreo (3, 6 o 9 meses). Considerando los altos niveles de cadmio reportados para el cacao producido en Brisas del Sarare (Londero, 2021) y los determinados en el presente estudio, se esperaba una alta concentración de cadmio en los residuos de poda de la planta. No obstante, los resultados indican que no son suficientemente altos para que su eliminación marque una diferencia en el corto período de tiempo abarcado en esta investigación. Ello se observa en las mediciones de pH, acidez intercambiable y CIC efectiva del suelo donde se aplicó esta estrategia. En las Figuras 28, 29 y 31 se muestra que

no ocurrieron variaciones significativas de estas propiedades del suelo, y por lo tanto no hubo cambios en la disponibilidad del cadmio. Sin embargo, con base en lo reportado por Gramlich et al., (2017), se estima que en períodos de tiempo superiores es posible disminuir la concentración del cadmio del grano de cacao solo por sustraer el metal que retorna al suelo. Por otra parte, hay que tomar en consideración que eliminar los residuos vegetales de la planta puede afectar a largo plazo el contenido de materia orgánica del suelo.

www.bdigital.ula.ve

Conclusiones

- La aplicación de la técnica instrumental de espectroscopía de absorción atómica por atomización electrotrémica ha demostrado ser eficaz para la cuantificación de cadmio en muestras de suelo y granos de cacao provenientes de Brisas del Sarare, estado Apure. Esta metodología proporcionó resultados que permitieron la evaluación de la efectividad de las enmiendas para la mitigación del cadmio.
- El suelo cultivado con cacao ubicado en Brisas del Sarare, estado Apure, es un suelo muy fuertemente ácido ($\text{pH} < 5$), y con una baja capacidad de intercambio catiónico ($< 5 \text{ cmol}^+/\text{kg}$). Estas características, junto con su clasificación como Iseptisol, permitieron explicar las concentraciones de cadmio encontradas en el suelo y en los granos de cacao cultivado allí.
- La enmienda de cal dolomítica redujo la disponibilidad del cadmio para la planta de cacao al incrementar el pH del suelo y la capacidad de intercambio catiónico e inmovilizar el aluminio intercambiable.
- La enmienda de estiércol vacuno compostado, permitió reducir la disponibilidad del cadmio para la planta de cacao al incrementar la capacidad de intercambio catiónico del suelo.
- La comparación de las tres estrategias de mitigación de cadmio indica que la aplicación de cal dolomítica fue la más efectiva, seguida por la enmienda de estiércol vacuno compostado. Finalmente, la remoción de residuos de poda fue la estrategia con menor resultado debido al corto tiempo empleado para su ejecución.
- La construcción de curvas de respiración no arrojó evidencia de toxicidad del cadmio para los microorganismos del suelo cultivado con cacao. Pero su estabilización indicó que un intervalo de tres meses es el apropiado para aplicar nuevamente la enmienda materia orgánica.

Recomendaciones

- Evaluar el efecto sobre la mitigación del cadmio que puedan tener otros tipos de enmiendas de cal dolomítica y de materia orgánica. Variando factores como el tamaño de partícula en el caso de la cal agrícola, y empleando enmiendas orgánicas de distinto origen.
- Estudiar el efecto sobre la disponibilidad del cadmio con estrategias como la incorporación de especies vegetales como la *Heliconia psittacorum*, que compitan con la planta de cacao por el cadmio del suelo, el uso de hongos micorrízicos arbusculares y la suplementación de Zn (Meter et al., 2019). Todas ellas en el contexto específico de los suelos cultivados con cacao de Brisas del Sarare.
- Evaluar el efecto de la remoción de los residuos de poda durante un período de tiempo superior a 9 meses, y así determinar con mayor confianza la factibilidad de ésta estrategia para eliminar el Cd del sistema suelo-planta.
- Aunque las enmiendas de cal agrícola y estiércol vacuno compostado mitigaron la absorción de cadmio por parte de la planta, es necesario continuar el estudio de estas estrategias para incrementar la fijación del metal, disminuyendo su acumulación en los granos de cacao, de forma que sea posible cumplir con las regulaciones nacionales e internacionales para el cacao y sus productos derivados.

Referencias Bibliográficas

Adriano, D. (2001). Trace elements in terrestrial environments biogeochemistry, bioavailability, and risks of metals. Springer. New York, USA. (P. 263-306)

Association of Official Analytical Chemists. (1999). AOAC Official Method 999.11. Determination of lead, cadmium, copper, iron, and zinc in foods. atomic absorption spectrophotometry after dry ashing.

Aller, A. (2018). Fundamentals of Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry. World Scientific Publishing Co. New Jersey, USA. (P. 185-222).

Aller, A. (2002). Electrothermal atomization mechanisms: theoretical and practical considerations. Trends in Appl. Spectrosc., 4: 101–112.

Alloway, B. J. (2013) Heavy metals in soils. Springer. New York, USA. (P. 283-308)

Argüello, D. Chavez, E. Lauryssen, F. Vanderschueren, R. Smolders, E. Montalvo, D. (2019). Soil properties and agronomic factors affecting cadmium concentrations in cacao beans: A nationwide survey in Ecuador. Science of the Total Environment 649. 120–127.

Argüello, D. Montalvo, D. Blommaert, H. Chavez, E. Smolders, E. (2020). Surface soil liming reduces cadmium uptake in cacao seedlings but subsurface uptake is enhanced. J. Environ. Qual. 49:1359–1369.

Bartley, B. (2005). The genetic diversity of cacao and its utilization. CABI Publishing. Oxfordshire, UK. (P. 51)

Bjeldanes, L. Shibamoto, T. (2009). Introduction to Food Toxicology. Second Edition. Elsevier Inc. London, UK. (P. 206).

Brady, N. Weil, R. (2017) The Nature and Properties of Soils. Pearson Education Limited. Essex, England. (P. 51-53)

Campbell, W.C. and Ottaway, J.M. (1974). Atom-formation processes in carbon- furnace atomizers used in atomic-absorption spectrometry. Talanta, 21: 837–844.

Chen, H. Zhang, W. Yang, X. Wang, P. McGrath, S. Zhao, F. (2018). Effective methods to reduce cadmium accumulation in rice grain. *Chemosphere*. 05. 143.

Chen, D. Liu, X. Biana, R. Chenga, K. Zhanga, X. Zhenga, J. Josepha, S. Crowleya, D. Pana, G. Lia, L. (2018). Effects of biochar on availability and plant uptake of heavy metals – A metaanalysis. *Journal of Environmental Management* 222 (2018) 76–85.

Comisión Venezolana de Normas Industriales. (1995). Norma COVENIN 1339:1995. Granos de cacao. Toma de muestras.

Comisión Venezolana de Normas Industriales. (2018). Norma COVENIN 50:2018. Granos de cacao.

Christensen, T. (1984). Cadmium soil sorption at low concentrations: I. Effect of time, cadmium load, pH, and calcium. *Water Air Soil Pollut.* 21, 105–114.

Commission Regulation (EU) No 488/2014. Artículo 2. 12 de mayo del 2014. Unión Europea.

Gramlich, A., Tandy, S., Andres, C., Chincheros Paniagua, J., Armengot, L., Schneider, M., Schulin, R., (2017). Cadmium uptake by cocoa trees in agroforestry and monoculture systems under conventional and organic management. *Sci. Total Environ.* 580, 677–686.

Gramlich, A. Tandy, S. Gauggel, C. López, M. Perla, D. Gonzalez, V. Schulin, R. (2018). Soil cadmium uptake by cocoa in Honduras. *Science of the Total Environment* 612. 370–378.

Grau, P. (2007). Geovenezuela. Tomo V: Geografía de la división política territorial del país. Fundación Empresas Polar. Caracas, Venezuela. (P. 358)

Haynes, W. (2014). *CRC Handbook of Chemistry and Physics*. 95th Edition. CRC Press. Taylor & Francis Group. Boca Raton, USA. (P. 731).

Harris, D. Charles, L. (2015). *Quantitative Chemical Analysis*, Ninth Edition. W. H. Freeman and Company. New York, USA. (P. 95-106, 529-544).

- Harvey, D. (2000) Modern Analytical Chemistry. McGraw-Hill. USA. (P. 368-422)
- International Organization for Standardization. (2003). ISO 1038-1:2003. Soil quality — Sampling — Part 1: Guidance on the design of sampling programmes.
- International Organization for Standardization. (1994). ISO 10390:1994. Soil quality — Determination of pH.
- International Organization for Standardization. (1994). ISO 11260:1994. Soil quality — Determination of effective cation exchange capacity and base saturation level using barium chloride solution.
- International Organization for Standardization. (1994). ISO 11265:1994 Soil quality — Determination of the specific electrical conductivity
- International Organization for Standardization. (2006). ISO 11464:2006. Soil quality — Pretreatment of samples for physico-chemical analysis.
- International Organization for Standardization. (2001). ISO 14254:2001. Soil quality — Determination of exchangeable acidity in barium chloride extracts.
- International Organization for Standardization. (2002). ISO 16072:2002. Soil quality — Laboratory methods for determination of microbial soil respiration.
- International Organization for Standardization. (2018). ISO 23470:2018. Soil quality — Determination of effective cation exchange capacity (CEC) and exchangeable cations using a hexamminecobalt(III)chloride solution.
- International Organization for Standardization. (2008). ISO 19730:2008. Soil quality — Extraction of trace elements from soil using ammonium nitrate solution
- Legislative counsel's digest. Assembly Bill No. 899. Chapter 668. 10 de octubre del 2023. California, US.

Londero, K. (2021). Determinación de cadmio en licor de cacao mediante espectroscopia de absorción atómica en horno de grafito. (Tesis de pregrado, no publicada). Universidad de Los Andes. 70 p.

L'vov, B.V. and Novichikhin, A.V. (1995b). Mechanism of thermal decomposition of anhydrous metal nitrates. *Spectrochim. Acta*, 50: 1427–1448.

Rose, M. Knaggs, M. Owen, L. Baxter, M. (2001). A review of analytical methods for lead, cadmium, mercury, arsenic and tin determination used in proficiency testing. *J. Anal. At. Spectrom.*, 16, 1101–1106.

Meter A., Atkinson R.J. and Laliberte B. (2019). Cadmium in Cacao from Latin America and the Caribbean – A Review of Research and Potential Mitigation Solutions. *Bioversity International*, Rome.

Miller, J. C. Miller, J. N. (2010). *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*. Sixth Edition. Pearson Education Limited. Essex, England. (P. 124-126)

Mortvedt, J. (1985). Plant Uptake of Heavy Metals in Zinc Fertilizers Made From Industrial By-Products. *Journal of Environmental Quality* 14.

Morishige, Y. Hirokawa, K. Yasuda, K. (1994). The role of metallic matrix modifiers in graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*. No. 350, (P. 410-412).

Morrow, H. (2010). Cadmium and Cadmium Alloys. *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*. John Wiley & Sons.

Munita, J. (2001) *Agenda del salitre*. 11° Edición. Soquimch Comercial. Chile. (P. 27-45).

Qasem, V. (2021). Evaluación de una enmienda orgánica como agente de remediación en un suelo contaminado con cadmio. (Tesis de pregrado, no publicada). Universidad de Los Andes. 87 p.

Quintana, L. García, A. (2021). Evaluación integral de la Calidad sensorial del cacao. Universidad Nacional Abierta y a Distancia. Bogotá, Colombia. (P. 51-52).

Püsa, T. (2014). Principles of Food Toxicology. Second Edition. CRC Press. Boca Raton, USA. (P. 214).

Ramtahal, G. Umaharan, P. Hanuman, A. Davis, C. Ali, L. (2019). The effectiveness of soil amendments, biochar and lime, in mitigating cadmium bioaccumulation in *Theobroma cacao* L. Science of the Total Environment 693. 133563.

Sanchez, N. Rivero, C. Martínez, Y. (2011). Cadmio disponible en dos suelos de Venezuela: efecto del fósforo. Revista Ingeniería, Universidad de Carabobo. Vol. 18, No. 2.

Sarwar, N., Ullah, S., S Malhi, S., Zia, M., Naeem, A., Saif, S., & Farid, G. (2010). Role of Mineral Nutrition in Minimizing Cadmium Accumulation by Plants. Journal of Science of Food and Agriculture, 90.

Singh, B. R., & McLaughlin, M. J. (1999). Cadmium in Soils and Plants (M. J. McLaughlin & B. R. Singh, Eds.).

Strawn, D. Bohn, H. O'Connor, G. (2020). Soil Chemistry, Fifth Edition, John Wiley & Sons Ltd. Oxford, UK. (P. 334).

Skoog, D. Holler, F. Crouch, S. (2008). Principios de análisis Instrumental, Sexta edición. Cengage Learning Editores. México, D.F. (P. 230-247).

Sotiles, A. R. Massarottib, F. Pires, J. C. Facchin, M. E. Budziak, C. R. (2019). Cobalt Complexes: Introduction and Spectra Analysis. Orbital: Electron. J. Chem. 11 (6): 348-354.

Tipping, E. (2002). Cation binding by humic substances (Cambridge environmental chemistry series, Vol. 12). New York: Cambridge University Press.

U.S. Environmental Protection Agency. (1996) EPA Method 3050B: Acid Digestion of Sediments, Sludges, and Soils.

Vanderschueren, R. Argüello, D. Blommaert, H. Montalvo, D. Barraza, F. Maurice, L. Schreck, E. Schulin, R. Lewis, C. Vazquez, K. Umaharan, P. Chavez, E. Sarret, G. Smolders, E. (2021). Mitigating the level of cadmium in cacao products: Reviewing the transfer of cadmium from soil to chocolate bar. *Science of the Total Environment* 781. 146779.

Volynskii, A. (2003). Chemical Modifiers in Modern Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry. *Journal of Analytical Chemistry*, Vol. 58, No. 10, (P. 905–921).

Wade, J. Ac-Pangan, M. Favoretto, V. Taylor, A. Engeseth, N. Margenot, A. (2022). Drivers of cadmium accumulation in *Theobroma cacao* L. beans: A quantitative synthesis of soil-plant relationships across the Cacao Belt. *PLoS ONE* 17(2): e0261989.

Zhu, H. Chen, C. Xu, C. Zhu, Q. Huang, D. (2016). Effects of soil acidification and liming on the phytoavailability of cadmium in paddy soils of central subtropical China. *Environmental Pollution*. Vol. 219. (P. 99-106).

www.bdigital.ula.ve