

## CONTROL DE LAS CONDICIONES ANALÍTICAS DE LOS LABORATORIOS PARA LA DETERMINACIÓN DE CADMIO E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS EN SUELOS Y TEJIDOS DE CACAO



**“CAJA DE HERRAMIENTAS PARA LA PREVENCIÓN Y MITIGACIÓN DE LA  
CONTAMINACIÓN DE CADMIO EN LA CADENA DE CACAO-ECUADOR”**



sembramos  
*Futuro*

*Lenín*



# GUÍA 6

## CONTROL DE LAS CONDICIONES ANALÍTICAS DE LOS LABORATORIOS PARA LA DETERMINACIÓN DE CADMIO E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS EN SUELOS Y TEJIDOS DE CACAO

Dirigida a: técnicos de laboratorio, agricultores, técnicos de fincas y asociaciones de productores.

### AUTORES

Eduardo Chávez<sup>1</sup>

### REVISIÓN PARES EXTERNOS

Laurence Maurice<sup>2</sup>; Luis Orozco Aguilar<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Escuela Superior Politécnica del Litoral, ESPOL. Facultad de Ciencias de la Vida. Campus Gustavo Galindo Km. 30.5 Vía Perimetral, P.O. Box 09-01-5863. Guayaquil, Ecuador. fchavez@espol.edu.ec

<sup>2</sup> Laboratoire Géosciences Environnement Toulouse (GET); Observatoire Midi-Pyrénées (OMP). 14 avenue Edouard Belin - 31400. Toulouse, France. laurence.maurice@ird.fr ; <https://orcid.org/0000-0003-3482-3892>

<sup>3</sup> Director de Investigación e Innovación del proyecto MOCCA-LWR. Oficinas: CATIE. Turrialba, Costa Rica. +5066434950. lorozcoaguilar@lwr.org ; <https://mocca.org/>

### **Coordinación general**

República del Ecuador  
Ministerio de Agricultura y Ganadería  
Programa Nacional de Reactivación de Café y Cacao



### **Coordinación editorial**

Magdalena López, Consultor Programas Cadena de Valor, GIZ  
Pedro Ramírez, GIZ  
José Luis Cueva Cango, MOCCA-Rikolto

### **Revisores internos**

Andrés Proaño, MAG; Luis Herrera, MAG; Luis Orozco, MOCCA-LWR; Verónica Proaño, AVSF;  
Ana Gabriela Velasteguí, CESA; Natalia Palomino, MOCCA-Rikolto; Luis Gualotuña, MAG

### **Fotografías**

Pedro Ramírez, GIZ; Luis Cacuango, Agrocalidad; Eduardo Chávez, ESPOL

### **Corrección de estilo y diagramación editorial**

Carla Bohórquez; Ricardo Bravo; Martín Quirola

### **Cita del documento**

#### **Versión digital:**

Chávez, E. (2021). Guía 6: Control de las condiciones analíticas de los laboratorios para la determinación de cadmio e interpretación de los resultados en suelos y tejidos de cacao. *Caja de herramientas para la prevención y mitigación de la contaminación de cadmio en la cadena de cacao-Ecuador* (1.ª ed., pp. 1-24). Quito, Ecuador. [https://balcon.mag.gob.ec/mag01/magapalidia/Caja%20de%20Herramientas\\_Cadmio\\_Cacao/](https://balcon.mag.gob.ec/mag01/magapalidia/Caja%20de%20Herramientas_Cadmio_Cacao/)

“La presente publicación ha sido elaborada con el apoyo financiero de la Unión Europea y el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA). Su contenido es responsabilidad exclusiva de los autores y no necesariamente refleja los puntos de vista de los donantes”.

Copyright © 2021. Todos los derechos reservados. Este documento puede reproducirse para fines no comerciales citando la fuente.

ISBN: 978-9942-22-519-1





# ÍNDICE

<b>1. Introducción</b>	<b>1</b>
<b>2. Condiciones y procedimientos iniciales</b>	<b>4</b>
2.1 Muestreo	4
2.2 Almacenamiento y transporte	4
2.3 Pre-tratamiento de muestras	5
<b>3. Condiciones analíticas</b>	<b>7</b>
3.1 Laboratorio analítico	7
3.2 Calidad de agua	8
3.3 Calidad de reactivos	8
3.4 Mineralización de las muestras	9
3.5 Determinación de cadmio – calibración, equipamiento y accesorios	10
3.6 Control analítico y de calidad (QA/QC)	11
3.7 Contramuestras	16
3.8 Otros parámetros relevantes	16
<b>4. Interpretación de resultados de laboratorio</b>	<b>17</b>
4.1 Suelos	19
4.2 Almendras	21
4.3 Hojas	21
<b>5. Referencias</b>	<b>23</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> <i>Valores mínimos, máximos, mediana y cuartiles (Q1: 25% y Q3: 75%) de las concentraciones de cadmio en muestras de suelos, almendras y hojas de cacao colectadas en el Ecuador.</i>	10
<b>Tabla 2.</b> <i>Características generales de materiales de referencia internacionales e interlaboratorios más utilizados.</i>	14

# 1. Introducción

De forma natural, el cadmio (Cd) está presente en suelos a una concentración promedio de ~0,40 mg cadmio por kg de suelo seco ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) (Six & Smolders, 2014). En términos de masa, esto representa una masa total aproximada de 0,8 kg de cadmio por hectárea a una profundidad de 15 cm. Concentraciones por encima de este promedio han sido reportadas en varios países como China, Estados Unidos, Alemania, Países Bajos, Australia, entre otros (Provoost et al., 2006). Elevados niveles de cadmio en el suelo son fácilmente transferibles a ciertas plantas y estos a su vez pueden bioacumularse en partes consumibles, como en las almendras de cacao.

Los límites de las regulaciones de la Unión Europea (UE) de cadmio en productos terminados de cacao varían entre 0,10 y 0,80  $\text{mg kg}^{-1}$  de materia seca. Estas concentraciones, en cantidades mínimas (trazas), deben ser medidas de forma precisa para minimizar el potencial reporte de resultados erróneos. No existe una regulación internacional de cadmio en suelos, por lo que cada país implementa sus propias regulaciones y tampoco existe una normativa para regular las metodologías de análisis de los suelos y/o tejidos, por lo que cada laboratorio o país implementa las propias. Algunos países han determinado utilizar niveles máximos de cadmio total (biodisponible + recalcitrante<sup>1</sup>), otros países han optado por utilizar cadmio fitodisponible, mientras que otro grupo de países ha intentado incorporar el cadmio en el suelo (fitodisponible<sup>2</sup> y/o total) en combinación con propiedades fisicoquímicas como el pH (Provoost et al., 2006).

En suelos, el cadmio se encuentra de forma predominante como un catión divalente ( $\text{Cd}^{2+}$ ) que puede estar asociado a diferentes componentes del suelo como materia orgánica o minerales (Guía 3). Para estimar el cadmio en las muestras de suelo y/o tejido, es necesario implementar procedimientos agresivos que puedan romper estructuras orgánicas y minerales (Abt et al., 2018; Masson et al., 2010; Yanus et al., 2014).

---

<sup>1</sup>Recalcitrante: contenidos de cadmio no biodisponibles para ser absorbidos por la planta presente en el suelo.

<sup>2</sup>Fitodisponible: es la especie química del elemento disponible presente en el suelo, que la planta puede absorber.

En el suelo, el cadmio está asociado a minerales como carbonatos, óxidos de hierro/manganeso y a la materia orgánica (Argüello et al., 2019), por lo que se requiere romper estas estructuras previo a la evaluación de cadmio total.

Esta guía provee criterios básicos para la determinación de cadmio en laboratorios y detalla las características y condiciones de los laboratorios para una correcta medición de cadmio en diferentes matrices. Adicionalmente, se incorpora una sección de interpretación de análisis de cadmio en laboratorio para técnicos y agricultores.





## 2. Condiciones y procedimientos iniciales

### 2.1 Muestreo

A pesar de que esta guía está orientada a la determinación analítica de cadmio, es oportuno reconocer la importancia de un muestreo representativo que incluya la variabilidad natural de cadmio en las plantaciones (39% de coeficiente de variación (CV) a nivel de la hectárea).

El resultado de laboratorio solo será aplicable a la realidad si: el plan de muestreo se realizó correctamente, si las muestras no fueron contaminadas entre sí, si el etiquetado fue adecuado, entre otros (Guía 4). Es importante planificar con anticipación el muestreo y utilizar las herramientas apropiadas para evitar la contaminación “cruzada” de las muestras.

### 2.2 Almacenamiento y transporte

Las muestras de suelo, hojas y cacao deberán ser conservadas y transportadas de acuerdo a las instrucciones de las Guías 4 y 7. Se recuerda que las muestras de las hojas deben ser colocadas en fundas de papel con orificios por un periodo no mayor a 48 horas. Es conveniente mantener las almendras de cacao dentro de las mazorcas y que estas sean conservadas a temperatura controlada (ejemplo: 4 °C) para evitar su deterioro y las mismas deben ser transportadas lo más rápido posible al laboratorio para su procesamiento. Si el transporte toma más de 24 horas, por ejemplo, desde lugares distantes como la Amazonía, es importante que las mazorcas se transporten en un contenedor hermético con abundante hielo.

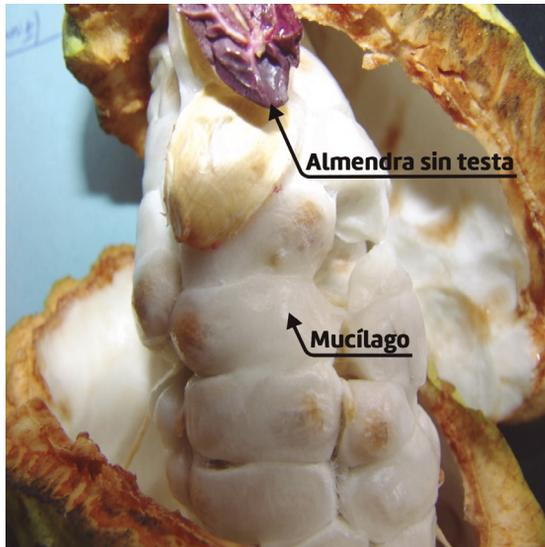
## 2.3 Pre-tratamiento de muestras

Este es un paso crítico para minimizar el riesgo de contaminación externa y mejorar la precisión analítica. Varias labores forman parte de esta sección como: limpieza, homogeneización, secado, pulverizado y tamizado. Una vez que las muestras lleguen a los laboratorios, se deben limpiar especialmente las hojas, para eliminar las partículas adheridas en la superficie. Para ello, las hojas deben ser sumergidas en un recipiente con agua desionizada para remover partículas de polvo, musgos, etc., y enjuagar nuevamente. Después de este doble enjuague, las hojas deben ser secadas con papel absorbente. Una vez limpias, las hojas se secan en una estufa a 65 °C ( $\pm 5$  °C) por 72 horas o hasta alcanzar un peso constante. Una vez secas, se las debe triturar usando un mortero y pistilo, triturador de martillo, o licuadora, para posteriormente pasar por un tamiz de  $< 0,80$  mm. Las muestras secas y homogeneizadas se almacenan en envases o fundas de plástico herméticamente cerradas para su posterior análisis.

Los suelos se secan a una temperatura  $\sim 40$  °C, la cual se alcanza en un invernadero o en una estufa por un periodo de 72 horas o hasta que se alcance un peso final estable. Una vez seco, el suelo debe mezclarse utilizando un recipiente de plástico, de vidrio, de porcelana o de ágata. Con la ayuda de un mortero y pistilo se rompen los terrones grandes y se vuelve a homogeneizar. Las muestras de suelo se deben pasar por un tamiz de 2 mm (en nylon y no metálico), para remover partículas grandes y restos vegetales.

Las mazorcas de cacao deben abrirse usando un cuchillo limpio; opcionalmente, se puede usar una tabla y el pistilo para romper la estructura externa y extraer los granos, o un cuchillo de cerámica para sacar el mucílago y la pulpa de los granos, trabajando siempre con guantes sin talco.

Los granos deben colocarse en un colador de plástico y lavarse con abundante agua tratando de remover el mucílago. El lavado de las almendras debe concluir con un enjuague con agua desionizada. Una vez limpias, las almendras deben colocarse en una estufa a 65 °C ( $\pm 5$  °C) por 72 horas o hasta alcanzar un peso constante. Luego, se deben triturar usando



un mortero y pistilo (de porcelana o de ágata), triturador de martillo o molidor de café.

Una pregunta por responder es si el triturado debe contener la testa (piel) de la almendra o es preferible la remoción. Estudios previos han encontrado una mayor concentración de cadmio en la testa que en la almendra, lo que llevaría a pensar que la remoción de la testa tendría un impacto en la medición final (Vanderschueren et al., 2020). La opción de remoción o no de la testa quedará a criterio del laboratorio; sin embargo, el reporte del análisis debe especificar si este se realizó con o sin testa.

Las labores de pre-tratamiento de muestras deben realizarse en un cuarto separado de donde se ejecutan las mediciones, ya que en este paso existiría un mayor riesgo de contaminación.

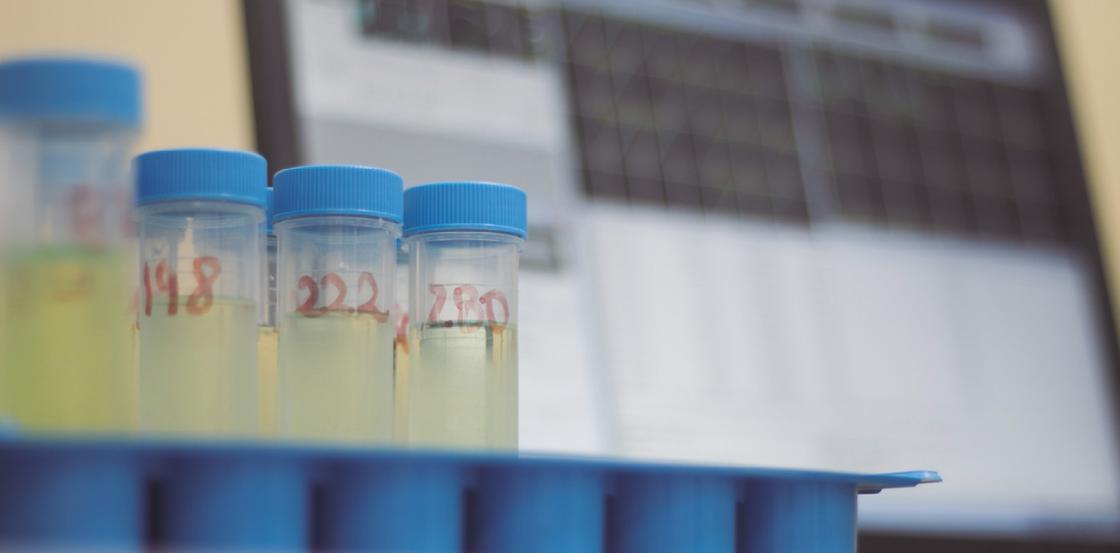
## 3. Condiciones analíticas

Existe una gran diversidad de condiciones que son particulares de cada laboratorio como ambientes, equipamiento, metodología, personal, uso permitido de reactivos, entre otros. Todo esto influirá en la calidad y precisión con la que se determinarán los parámetros de interés, especialmente las concentraciones de cadmio. En esta sección se revisarán las condiciones analíticas que influirán en las mediciones de cadmio (en particular) en el suelo y en los tejidos de la planta.

### 3.1 Laboratorio analítico

Es el espacio donde se encuentran los equipos de mineralización de muestras y de medición de soluciones. Este debe estar aislado de los lugares donde se reciben las muestras, donde se secan y se las procesan para evitar la contaminación por partículas pequeñas y la contaminación cruzada con otras muestras o tejidos.





### 3.2 Calidad de agua

Para la determinación de cadmio (y otras propiedades fisicoquímicas) el uso de agua en los laboratorios es clave. Típicamente, en los laboratorios de suelos y tejidos se han realizado los procesos analíticos con agua desionizada (o agua desmineralizada). Sin embargo, esta calidad de agua no asegura la determinación de elementos traza, como el cadmio, con precisión y sin contaminación. Para la preparación de estándares, soluciones y diluciones, entre otros, es imperativo el uso de agua ultra pura (nano-pure o Milli-Q®), la cual es libre de contaminantes en traza.

### 3.3 Calidad de reactivos

El uso de reactivos grado analítico, con pureza superior al 99%, es de gran importancia. Desde el punto de vista analítico es necesario que la concentración de cadmio en los reactivos no aumente el elemento a las muestras que se analizan. Para los equipos con una sensibilidad superior, como el ICP-MS, el uso de ácidos ultra puros es altamente deseable para mejorar los límites de cuantificación. Dado que el precio de los ácidos ultra puros vendidos para uso en laboratorios es caro, se puede destilar los ácidos (con equipos en teflón); se recomienda destilar los ácidos dos veces para mejorar los análisis de ICP-MS.

### 3.4 Mineralización de las muestras

Conocido también como “digestión” o “ataque”, es el proceso por el cual las muestras pasan de un estado sólido a uno líquido, es decir a una solución sin ninguna partícula. Consiste en la adición de ácidos y oxidantes a una temperatura  $> 80\text{ }^{\circ}\text{C}$  por un tiempo superior a 2 horas.

El procedimiento busca romper los lazos químicos entre el(os) elemento(s) a ser analizado(s) y los diferentes componentes de las muestras. En suelos, el cadmio estará asociado principalmente a la materia orgánica, a minerales ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) y oxi-hidróxidos de Fe/Mn, por lo que los procedimientos deben afectar estos lazos químicos. Hay un sin número de protocolos para la mineralización de muestras en la literatura; estos procesos deben ser seleccionados en base a las condiciones de laboratorio, experiencia de los técnicos en el manejo de reactivos peligrosos (como el HF), acceso a reactivos en los países, etc. Además, existen opciones de mineralización abierta o cerrada (Barraza, 2020). La mineralización abierta utiliza una plancha de calentamiento o un bloque de digestión, mientras que la cerrada utiliza un equipo de microondas. Las características de cada instrumento dependerá de la marca y el modelo. Lo importante es que la mineralización de las muestras sea completa para la determinación de cadmio total y más liviana para la del cadmio fitodisponible.



Es importante que, durante los procesos de mineralización, se incluyan procedimientos de control analítico y de calidad (QA/QC), analizando blancos de reactivos y materiales de referencia certificados, lo cual se explica más adelante.

### 3.5 Determinación de cadmio – calibración, equipamiento y accesorios

Una vez que las muestras son mineralizadas y que el cadmio es extraído en la solución ácida, es necesario preparar las condiciones para la determinación del elemento investigado de acuerdo al equipo a utilizar. Lo primero que se debe garantizar es una calibración del equipo, la misma que represente las concentraciones de cadmio que se encuentran en las muestras en solución (tomando en cuenta los diferentes factores de dilución). En un estudio reciente, realizado en Ecuador (Argüello et al., 2019), la concentración promedio de cadmio en suelos fue de  $0,44 \text{ mg kg}^{-1}$ , la de almendras  $0,90 \text{ mg kg}^{-1}$  y la de hojas  $2,62 \text{ mg kg}^{-1}$ . En la tabla 1 se muestran los valores medios y cuartiles para cada tipo de matriz.

**Tabla 1.** Valores mínimos, máximos, mediana y cuartiles (Q1: 25% y Q3: 75%) de las concentraciones de cadmio en muestras de suelos, almendras y hojas de cacao colectadas en el Ecuador.

Tipo de muestras	Mínimo	Q1	Cuartiles ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) Mediana	Q3	Máximo
Suelos	0,02	0,20	0,33	0,54	6,90
Almendras	0,03	0,29	0,53	1,02	10,39
Hojas	0,13	0,77	1,45	2,84	55,51

Fuente: Argüello et al. (2019).

Con la información de la Tabla 1, los laboratorios deberían ajustar las curvas de calibración para cubrir al menos el 75% de los valores (Q3). No se recomienda que los valores de calibración superen el valor máximo, ya



que esto afectaría las mediciones de la mayoría de muestras. Es importante recalcar que los valores de la Tabla 1 son expresados en kg de masa seca, por lo que los laboratorios tendrán que ajustar estos valores a la dilución final de sus soluciones.

Dentro del equipamiento disponible para la determinación de elementos, la más común es la espectrometría (Guía 5). Las más conocidas y utilizadas son: espectrometría de plasma de emisión óptica (ICP-OES), espectrometría de plasma de masas (ICP-MS), espectrometría de absorción atómica (AAS) y espectrometría de absorción atómica acoplada a un horno de grafito (GF-AAS). Estos equipos difieren en el mecanismo de medición y la sensibilidad para detectar cadmio (y otros metales) en solución (Yanus et al., 2014). Como norma general se puede inferir que la concentración final de cadmio en las soluciones (expresada como mg del contaminante por masa seca en kg) es tentativamente la siguiente:

- AAS  $\sim 1 \text{ mg kg}^{-1}$
- GF-AAS  $\sim 0,01 \text{ mg kg}^{-1}$
- ICP-OES  $\sim 0,1 \text{ mg kg}^{-1}$
- ICP-MS  $< 0,01 \text{ mg kg}^{-1}$

Estos valores son referenciales y estarán afectados por la dilución final, las características del laboratorio, los valores promedio de los blancos de reactivos, la sensibilidad del equipo, entre otros.

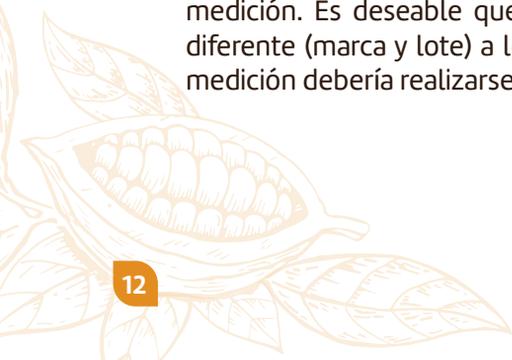
Aunque no es un accesorio crítico para la determinación de cadmio en solución, es recomendable que los laboratorios cuenten con un auto muestreador, que permita la toma de muestras de forma automática. Este implemento minimizará el error humano en las mediciones y hará más eficiente la medición.

### 3.6 Control analítico y de calidad (QA/QC)

Quizá el factor más importante dentro del proceso analítico es la inclusión de un sistema de detección de errores durante el proceso de

pretratamiento, pesado y mineralización (control analítico), así como también el proceso de determinación en solución (control de calidad). Este sistema es conocido como QA/QC (Quality Assurance / Quality Control) e incluye una serie de procesos que son:

- **Blancos del equipo:** consiste en el análisis del medio de dilución de las muestras a ser analizadas. Por ejemplo, para lecturas con ICP-MS, es agua Milli-Q acidificada con  $\text{HNO}_3$  (0,37 M). Estos blancos se leen primero, antes y después de la curva de calibración, para averiguar la limpieza de los tubos donde circulan las muestras y la calidad de la solución de enjuague entre cada muestra.
- **Blancos de reactivos:** consiste en la adición de ácidos y otros reactivos sin muestras. Ayuda a calcular los límites de cuantificación y detección, y se deben incluir cada cierto número de muestras o lotes de medición, por ejemplo, cada 20 muestras. Por serie se recomienda por lo menos tres valores de blancos.
- **Replicados:** consiste en la evaluación independiente de la concentración de cadmio en una misma muestra, desde el pesado hasta la determinación de cadmio; se llaman replicados de mineralización. Sirve para medir la repetibilidad de los resultados y se debería incluir al menos una solución (duplicado) o dos (triplicado) de una misma muestra cada 10 muestras.
- **Medición de un estándar secundario (en solución):** consiste en la evaluación de una concentración conocida de cadmio en una solución estándar certificada y adaptada al equipo utilizado. Esta concentración debe ser diferente a la que se incluye en la curva de calibración, pero tiene que estar dentro de estos rangos (con o sin dilución). Ayuda a corroborar la estabilidad de la calibración y medición. Es deseable que la solución se realice con un estándar diferente (marca y lote) a los que se utilizó para la calibración. Esta medición debería realizarse cada 20 muestras.



- Medición de un material de referencia internacional certificado: consiste en la adición de un material internacional de referencia certificado que se incluye con las demás muestras durante el proceso de determinación de cadmio (desde la mineralización hasta la lectura). Ayuda a evaluar todo el proceso de medición y el porcentaje de recuperación de una muestra certificada. Estos materiales deberían incorporarse al menos tres por cada lote de muestras (para calcular el valor promedio y la desviación estándar).
- Medición de un material de referencia interno: adicionalmente al material de referencia certificado e internacional, los laboratorios podrán incluir una muestra conocida interna como referencia. También se calcula un porcentaje de recuperación y estas muestras pueden incluirse en intervalos más cortos, por ejemplo, cada 15 muestras. Los valores obtenidos para esta muestra interna pueden ser comparados para evaluar la estabilidad del equipo en el tiempo, la reproducibilidad del personal a cargo del proceso analítico, e identificar fuentes de errores.

Para mayor información de los QA/QC recomendamos revisar la sección correspondiente en Sparks et al. (1996). Existen varias opciones de materiales de referencia internacionales y se resumen en la Tabla 2. Es muy importante que el material de referencia internacional seleccionado tenga similitud con la matriz que se evalúe. Entre lo más importante es que sea el mismo tipo de muestra (por ejemplo, si la muestra es de suelo, se debe revisar que el material de referencia incluya la determinación de cadmio en suelos) y que la concentración del elemento sea similar a la concentración certificada. Es muy recomendado evitar materiales de referencia con concentraciones muy elevadas o inferiores a la que el equipo de medición pueda detectar.

**Tabla 2.** Características generales de materiales de referencia internacionales e interlaboratorios más utilizados.

Características de materiales de referencia e interlaboratorios más utilizados						
Tipo	Característica	Código	Procedencia	Cantidad (g)	Cd (total) mg kg <sup>-1</sup>	Sitio Web
Suelo	San Joaquin	SRM 27 09 <sup>a</sup>	NIST	50	0,371	<a href="https://www.nist.gov/srmors/view_detail.cfm?srm=2709a">https://www.nist.gov/srmors/view_detail.cfm?srm=2709a</a>
Suelo	New Jersey	SRM 27 06	NIST	50	0,31	<a href="https://www.nist.gov/srmors/view_detail.cfm?srm=2706">https://www.nist.gov/srmors/view_detail.cfm?srm=2706</a>
Suelo	Light Sand	BCR – 142R	Unión Europea	50	0,34	<a href="https://crm.jrc.ec.europa.eu/p/40454/40470/By-application-field/Environment/BCR-142R-LIGHT-SANDY-SOIL-trace-element/s/BCR-142R">https://crm.jrc.ec.europa.eu/p/40454/40470/By-application-field/Environment/BCR-142R-LIGHT-SANDY-SOIL-trace-element/s/BCR-142R</a>
Suelo	Loamy soil	ERM CC141	Unión Europea	20	0,35	<a href="https://crm.jrc.ec.europa.eu/p/q/soil/ERM-CC141-LOAM-SOIL-elements/ERM-CC141">https://crm.jrc.ec.europa.eu/p/q/soil/ERM-CC141-LOAM-SOIL-elements/ERM-CC141</a>
Suelo	Organic-rich	BCR – 700	Unión Europea	40	> 65,4 (Cd extraíble)	<a href="https://crm.jrc.ec.europa.eu/p/40456/40494/By-analyte-group/Extractable-element-species/BCR-700-ORGANIC-RICH-SOIL-extractable-elements/BCR-700">https://crm.jrc.ec.europa.eu/p/40456/40494/By-analyte-group/Extractable-element-species/BCR-700-ORGANIC-RICH-SOIL-extractable-elements/BCR-700</a>
Suelo	Banana soil – Filipinas	ISE 847	WEPAL	100	0,65	<a href="http://www.wepal.nl/website/products/RefMatISE.htm">http://www.wepal.nl/website/products/RefMatISE.htm</a>
Suelo	Calcareous clay	ISE 861	WEPAL	100	0,247	<a href="http://www.wepal.nl/website/download_files/consensus/ISE/ISE861.pdf">http://www.wepal.nl/website/download_files/consensus/ISE/ISE861.pdf</a>
Suelo	Clay	ISE 961	WEPAL	100	0,816	<a href="http://www.wepal.nl/website/download_files/consensus/ISE/ISE961.pdf">http://www.wepal.nl/website/download_files/consensus/ISE/ISE961.pdf</a>
Hojas	Ry grass	ERM-CD 281	Unión Europea	10	0,12	<a href="https://crm.jrc.ec.europa.eu/p/q/plant/ERM-CD281-RYE-GRASS-trace-elements/ERM-CD281">https://crm.jrc.ec.europa.eu/p/q/plant/ERM-CD281-RYE-GRASS-trace-elements/ERM-CD281</a>
Hojas	Maize	IPE 133	WEPAL	25	0,26	<a href="http://www.wepal.nl/website/download_files/consensus/IPE/IPE133.pdf">http://www.wepal.nl/website/download_files/consensus/IPE/IPE133.pdf</a>
Hojas	Tomato leaves	SRM 15 73 <sup>a</sup>	NIST	50	1,517	<a href="https://www.nist.gov/srmors/view_detail.cfm?srm=1573a">https://www.nist.gov/srmors/view_detail.cfm?srm=1573a</a>
Hojas	Spinach leaves	SRM 15 70 <sup>a</sup>	NIST	60	2,876	<a href="https://www.nist.gov/srmors/view_detail.cfm?srm=1570a">https://www.nist.gov/srmors/view_detail.cfm?srm=1570a</a>
Chocola	Dark chocolate	ERM-BD 512	Unión Europea	3	0,302	<a href="https://crm.jrc.ec.europa.eu/p/q/CHOCOLATE/ERM-BD512-DARK-CHOCOLATE-Cd-Cu-Mn-Ni/ERM-BD512">https://crm.jrc.ec.europa.eu/p/q/CHOCOLATE/ERM-BD512-DARK-CHOCOLATE-Cd-Cu-Mn-Ni/ERM-BD512</a>
Chocola	Baking chocolate	SRM 23 84	NIST	455	0,0734	<a href="https://www.nist.gov/srmors/view_detail.cfm?srm=2384">https://www.nist.gov/srmors/view_detail.cfm?srm=2384</a>



## 3.7 Contramuestras

Una de las prácticas comunes en laboratorios es el análisis de contramuestras, las cuales deben ser guardadas en condiciones que permitan su reanálisis, en caso que el cliente lo requiera.

## 3.8 Otros parámetros relevantes

Adicional al cadmio, los laboratorios deberían reportar parámetros de suelo que están relacionados a la biodisponibilidad de cadmio. Uno de ellos es el pH del suelo, el cual puede tener valores ácidos ( $< 6,7$ ) o ligeramente alcalinos a alcalinos ( $> 7$ ). Estos valores deben ser reportados al igual que el método de estimación (como la razón o relación suelo:agua).

También deben reportar valores de Materia Orgánica del Suelo (MOS) y el método analítico utilizado. Este punto es importante y difícil de estandarizar, ya que los laboratorios utilizan diferentes metodologías para la estimación de MOS. La forma más precisa de hacer esta medición es por calcinación y determinación de  $\text{CO}_2$  mediante instrumentos automáticos (analizadores de C o multielementos C, H, N y S).

## 4. Interpretación de resultados de laboratorio

Una de las limitantes al momento de establecer criterios de mitigación y/o acción en sitios contaminados es la interpretación correcta de los resultados de laboratorio. A continuación se hará referencia a los valores típicos que reportan los laboratorios y sus interpretaciones. Se recomienda tomar esto como una guía referencial y no como algo mandatorio; los técnicos e investigadores tendrán un criterio más profundo de cada caso en particular.

Un punto muy importante que hay que considerar primero es la heterogeneidad de la distribución de los metales como el cadmio en los suelos y en diferentes tejidos del cacao (granos, hojas, mazorcas). La variabilidad de la distribución espacial del cadmio en suelos y plantas puede ser muy alta (superior al error de los análisis), tanto a la escala (espacial) de una finca de una hectárea a otra finca de 100 hectáreas, como la variabilidad temporal; es decir, de una estación (seca y lluviosa) a la otra.





BLOQUE 2

## 4.1 Suelos

Quizá es la matriz cuyos resultados van a variar con mayor frecuencia, debido a que los laboratorios implementarán su protocolo de digestión y/o extracción de cadmio en suelos. Incluso si una misma muestra es llevada a dos laboratorios diferentes, los valores variarán en no menos del 10%. Para suelos, esta guía hará referencia al cadmio total, ya que es un método más homogeneizado (aunque hay varios protocolos, particularmente el uso de ácido fluorhídrico permite solubilizar todos los materiales que componen el suelo).

Para establecer el valor referencial (cadmio en el suelo) se debe tener en cuenta el Factor de Bioconcentración (BCF) de cadmio del suelo a las almendras encontrado en estudios anteriores (Argüello et al., 2019; Barraza et al., 2017). Para este ejercicio se tomará el valor referencial de  $BCF = 1,62$  sabiendo que este valor es muy variable (0,9 a más de 5) y puede variar así, en una misma finca y/o de un árbol al otro. Esto quiere decir que por cada unidad de cadmio en el suelo ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) la concentración en la almendra tendrá un valor  $1,62 \text{ mg kg}^{-1}$ . Si el valor esperado de cadmio en la almendra es  $0,8 \text{ mg kg}^{-1}$ , entonces el valor de cadmio en el suelo deberá ser  $0,49$ . Es necesario mencionar, que este factor de bioconcentración y la correspondiente concentración en las almendras, puede verse afectado por el pH. Cuando el pH es bajo ( $\text{pH} = 5$ ) la concentración de cadmio total en el suelo no debe superar los  $0,26 \text{ mg kg}^{-1}$ , mientras que si el pH es alto ( $\text{pH} = 7$ ), el cadmio total en el suelo puede tener valores de  $0,73 \text{ mg kg}^{-1}$ . En ambos casos la concentración de cadmio en las almendras sería  $\sim 0,80 \text{ mg kg}^{-1}$  lo que indica la gran influencia del pH en la transferencia suelo-planta.

En suelos ácidos (por ejemplo:  $< 6$ ) el cadmio estará más biodisponible y por lo tanto tendrá un mayor riesgo de acumulación en las plantas. Si se encuentra en zonas de altas precipitaciones, suelos rojizos o amarillos, es probable que tenga problemas de acidez del suelo. Es importante mantener el pH de los suelos en un valor  $> 6$ , por lo que no se recomienda la aplicación de fertilizantes con altos contenidos de azufre ni nitrógeno en forma de amonio, al menos no de forma prolongada.

Otro factor importante a considerar es el contenido de materia orgánica en el suelo para asegurar su salud y la actividad biológica subterránea. Idealmente, un suelo debe contener ~5% de materia orgánica, valores menores a este reducirían la capacidad de absorción de cadmio por lo que aumentaría la fitodisponibilidad del metal en la planta. En sitios con potencial contaminación y un bajo porcentaje de materia orgánica, es recomendable la aplicación de productos orgánicos como compost, vermicompost, ácidos húmicos, biocarbón (realizado a partir de residuos vegetales que no sean de cacao), entre otros, y que estén libres de cadmio.

Como se indica en la Guía 1, los abonos orgánicos a base de estiércol pueden contener concentraciones elevadas de cadmio, por lo que es muy importante que se realice un análisis previo a la aplicación y así asegurarse que no se incorpora cadmio al suelo en los abonos orgánicos.

Ciertos fertilizantes, fosfatados por ejemplo, pueden contener niveles muy elevados de cadmio y no se pueden utilizar en el cultivo de cacao.



## 4.2 Almendras

No existe en la regulación actual (de ningún país) un límite máximo de cadmio permitido para almendras secas, fermentadas o no. Sin embargo, es recomendable realizar un análisis previo al envío de un lote comercial y corroborar el nivel de cadmio en el lote. Una limitante para realizar esta actividad es que no existe un protocolo de muestreo para lotes comerciales, específicamente para la determinación de cadmio; sin embargo, se puede emplear la metodología de muestreo descrita en la Norma NTE INEN ISO 2292 “Granos de cacao – Muestreo”.

El valor de la concentración de cadmio en las almendras será total, por lo que los análisis de una misma muestra en laboratorios diferentes deben ser similares (variación < 10%). La concentración permitida de cadmio en las almendras la establece comúnmente el comprador y varía entre 0,50 y 0,80 mg kg<sup>-1</sup> (comunicaciones personales con exportadores). Como se indica en esta guía, es importante asegurar un buen muestreo de la finca (ver Guía 4). Esto asegurará una representación homogénea del predio analizado.

## 4.3 Hojas

En caso de no tener mazorcas para el análisis, se podrá tomar hojas para la cuantificación de cadmio. En investigaciones realizadas se ha detectado una gran correlación entre hojas y almendras de cacao (Argüello et al., 2019; Barraza et al., 2017). No obstante, se sugiere que los análisis se realicen en granos de cacao, porque puede existir influencia de las variedades en la partición del elemento en la planta. Existe una relación de ~3,1 entre la concentración de hojas y la de almendras. Por ejemplo, si la concentración deseada en las almendras es 0,80 mg kg<sup>-1</sup>, la concentración en hojas no debe ser superior a 2,4 mg kg<sup>-1</sup>. Se deberá tomar como referencia estos valores y ejemplos, ya que pueden existir variaciones por factores exógenos.



## 5. Referencias

- Abt, E., Fong Sam, J., Gray, P., Robin, L.P. (2018). Cadmium and lead in cocoa powder and chocolate products in the US Market. *Food Addit. Contam. Part B Surveill.* 00, 1–11. doi:10.1080/19393210.2017.1420700
- Argüello, D., Chávez, 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. *Sci. Total Environ.* 649. doi:10.1016/j.scitotenv.2018.08.292
- Barraza, F., Schreck, E., Lévêque, T., Uzu, G., López, F., Ruales, J., Prunier, J., Marquet, A., Maurice, L. (2017). Cadmium bioaccumulation and gastric bioaccessibility in cacao: A field study in areas impacted by oil activities in Ecuador. *Environ. Pollut.* 229, 950–963. doi:10.1016/j.envpol.2017.07.080
- Barraza, F. (2020). Guía para la determinación de cadmio (Cd) en muestras de cacao en grano y en polvo. *Cacao Seguro*. Instituto de Cultivos Tropicales (ICT) en Tarapoto, Perú, pp 55.
- Masson, P., Dalix, T., Bussiere, S. (2010). Determination of Major and Trace Elements in Plant Samples by Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 41, 231–243. doi:10.1080/00103620903460757
- Provoost, J., Cornelis, C., Swartjes, F. (2006). Comparison of Soil Clean-up Standards for Trace Elements Between Countries: Why do they differ? (9 pages). *J. Soils Sediments* 6, 173–181. doi:10.1065/jss2006.07.169
- Six, L., Smolders, E. (2014). Future trends in soil cadmium concentration under current cadmium fluxes to European agricultural soils. *Sci. Total Environ.* 485–486, 319–328. doi:10.1016/j.scitotenv.2014.03.109
- Sparks, D.L., Page, A.L., Helmke, P.A., Loeppert, R.H., Soltanpour, P. N.,

Tabatabai, M. A., Johnston, C. T., Sumner, M. E. (1996). *Methods of Soil Analysis: Part 3 Chemical Methods*, 5.3. Soil Science Society of America, Inc., American Society of Agronomy, Inc. Book Series:SSSA Book Series. Online ISBN:9780891188667 DOI:10.2136/sssabookser5.3

Vanderschueren, R., De Mesmaeker, V., Mounicou, S., Isaure, M.P., Doelsch, E., Montalvo, D., Delcour, J.A., Chávez, E., Smolders, E. (2020). The impact of fermentation on the distribution of cadmium in cacao beans. *Food Res. Int.* 127, 108743. doi:10.1016/j.foodres.2019.108743

Yanus, R.L., Sela, H., Borojovich, E.J.C., Zakon, Y., Saphier, M., Nikolski, A., Gutflais, E., Lorber, A., Karpas, Z. (2014). Trace elements in cocoa solids and chocolate: An ICPMS study. *Talanta* 119, 1–4. doi:10.1016/j.talanta.2013.10.048



La “colección de guías sobre recomendaciones y buenas prácticas para la prevención y mitigación de la contaminación de cadmio” es el resultado del esfuerzo de diferentes actores que, bajo la coordinación del Ministerio de Agricultura y Ganadería, han rescatado y sistematizado conocimientos y buenas prácticas, generadas por investigadores y técnicos nacionales e internacionales, útiles para prevenir y mitigar la contaminación por cadmio en la cadena del cacao. Las publicaciones que componen esta colección han sido elaboradas, publicadas y difundidas gracias al apoyo de las siguientes instituciones y organizaciones:



Proyecto  
Cadenas de valor  
inclusivas y sostenibles



Plataforma Multi-agencia  
Cacao 2030-2050



@AgriculturaEc

AgriculturaEcuador

agricultura.ec

/AgriculturaEcuador

ISBN: 978-9942-22-519-1



9789942225191

Dirección: Av. Eloy Alfaro N30-350 y Av. Amazonas

Código postal: 170516 / Quito-Ecuador. Teléfono: 593-2 396-0100