



ESPECIACIÓN QUÍMICA Y BIODISPONIBILIDAD DEL CADMIO EN SUELOS CULTIVADOS CON CACAO EN COLOMBIA



Orlando Idárraga Castaño



Universidad
del Valle



Programa de Posgrado
en Ingeniería Sanitaria y Ambiental



Clima-LoCa



DeSIRA



Alliance
Biodiversity & CRY



**ESPECIACIÓN QUÍMICA Y BIODISPONIBILIDAD DEL CADMIO EN SUELOS CULTIVADOS CON
CACAO EN COLOMBIA**

ORLANDO IDÁRRAGA CASTAÑO

**Trabajo de grado para optar por el título de:
Magister en Ingeniería Sanitaria y Ambiental**

**UNIVERSIDAD DEL VALLE
FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA DE INGENIERÍA DE LOS RECURSOS NATURALES Y DEL AMBIENTE
POSGRADO EN INGENIERÍA SANITARIA Y AMBIENTAL
SANTIAGO DE CALI
2023**

**ESPECIACIÓN QUÍMICA Y BIODISPONIBILIDAD DEL CADMIO EN SUELOS CULTIVADOS CON
CACAO EN COLOMBIA**

ORLANDO IDÁRRAGA CASTAÑO

Código: 2103522

MARTHA CONSTANZA DAZA TORRES, MSc, PhD

Directora

MIRJAM PULLEMAN, MSc, PhD

Co-directora

WIETSE WIERSMA, MSc

Asesor

Grupo de Investigación

**GESTIÓN INTEGRAL DEL RIEGO PARA EL DESARROLLO AGRÍCOLA Y LA SEGURIDAD ALIMENTARIA
(REGAR)**

**UNIVERSIDAD DEL VALLE
FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA DE INGENIERÍA DE LOS RECURSOS NATURALES Y DEL AMBIENTE
POSGRADO EN INGENIERÍA SANITARIA Y AMBIENTAL
SANTIAGO DE CALI
2023**

NOTA DE APROBACIÓN

FIRMA DIRECTORA

FIRMA CODIRECTORA

FIRMA JURADO 1

FIRMA JURADO 2

DEDICATORIA

El amor, la felicidad, la ilusión y la comprensión representan lo que tú eres para mí, mi esposa Guissela Andrea te dedico este trabajo que simboliza el logro de nuestro esfuerzo y dedicación día a día, ratificando el camino que Dios y el universo iluminan para nuestras majestuosas historias de vida.

A mis grandes y amados padres Orlando y Melba Rosa, quienes iniciaron esta historia decidiendo hacerme participe de su proyecto de vida, familia y amor. Porque sin darse cuenta, ustedes me han dado y enseñado absolutamente todo lo que se necesita para vivir plenamente con felicidad, amor, gracia y pasión este camino de vida. Porque cada paso que doy ustedes lo dan conmigo.

A mis hermanas Yuliana y Yinerieth quienes son tan valientes, fuertes y amorosas, que con todos los esfuerzos que realizan junto con sus esposos y mis sobrinos, mantienen vivos los lazos inquebrantables que unen la familia y a nosotros como hermanos.

A la vida, la naturaleza, las energías y la química, que me dejan explorarlos día a día y fluyen a través de mis sentimientos, pensamientos y emociones.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios y la vida por la oportunidad que me dieron para retomar con mayor firmeza este camino de ciencia, curiosidad y muchas veces más preguntas que respuestas. Me enseñaron que al final del camino oscuro siempre estará la luz y que todos podemos llegar a esta.

Profesora Martha sinceramente agradezco su dirección, que muchas veces más que académica y profesional, fue personal. Que sin ningún interés abrió las puertas de su oficina y aula para guiarme en este proceso de investigación, aplaudo su nobleza.

A Mirjam Pulleman que ha representado un capítulo importante en mi vida, desde que me hizo la entrevista para entrar a CIAT hasta ahora que me ha dado su apoyo para culminar este proyecto de investigación.

A Wietse que apareció como un apoyo en este proceso de investigación, quizás por correlaciones de Pearson o Spearman, causalidad o simplemente casualidad. Aprendí mucho de ti.

Al proyecto Clima-LoCa, los investigadores y el personal de apoyo, quienes permitieron usar información preliminar y ser parte de esta gran iniciativa para la construcción de un mejor mundo.

A Mayesse y a César que además de su aval para desarrollar mi proyecto de investigación en el laboratorio, me aportaron ideas y puntos de vista nuevos para abordar algunas preguntas de investigación.

Al Laboratorio de Servicios Analíticos y mis colegas, especialmente Israel, Julio, Jose y Sergio, que me apoyaron con algunos procesos de laboratorio y siguieron mi proyecto de investigación. A Camilo Valencia por sus recomendaciones y conversaciones que fácilmente pudieron ser horas.

A la Universidad del Valle, mi alma mater por ser la herramienta de transformación social que representa para el país y formarme como profesional y persona.

A la Alianza Bioversity y CIAT que tiene una de las misiones más nobles de la humanidad, trabajar por la nutrición mundial, que me apoyó económicamente.

Al Fondo de Empleados del CIAT (CRECIAT) que, a través de su programa de Estímulos a la Excelencia Académica, me apoyó económicamente.

A toda mi familia, incluyendo mis suegros Alberto Jose y Elvia, mi cuñado Alberto Jose y su esposa Carolina, que me han acompañado con su apoyo emocional y familiar.

A Maribel quien siguió paso a paso todo este proceso y me ha dado su mano para encontrar nuevamente mi ser y buscar la luz que brille mi camino.

A Luis Fernando Londoño y Luis Fernando Delgado quienes contribuyeron con su voluntad y conocimiento para el desarrollo de este proyecto.

A todas las personas que de una u otra manera aportaron a mi proceso de formación e investigación un grano de arena para cumplir con esta gran meta.

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	11
ABSTRACT	12
1. INTRODUCCIÓN	13
2. JUSTIFICACIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	16
3. MARCO TEÓRICO.....	19
3.1. Propiedades fisicoquímicas del suelo y su relación con la planta.....	19
3.2. Presencia y movilidad del Cd en el ambiente	19
3.3. Biodisponibilidad del Cd en el suelo.....	20
3.4. Metodologías para determinar Cd extraíble y fracciones químicas de Cd en el suelo	21
4. ESTADO DEL ARTE	22
5. OBJETIVOS	28
5.1. Objetivo general.....	28
5.2. Objetivos específicos.....	28
6. METODOLOGÍA.....	29
6.1. OE1. Análisis de las fracciones de Cd en suelos a través de modelos geoquímicos para la comprensión de la distribución del elemento en el suelo	30
6.1.1. Recolección de información de muestreos, análisis preliminares y selección de muestras	30
6.1.2. Fraccionamiento químico de Cd para las muestras de suelos seleccionadas.....	31
6.2. OE2. Estudio de las correlaciones entre las diferentes fracciones del Cd en el suelo y la concentración de Cd en la planta.....	33
6.2.1. Estudio de los diferentes tratamientos estadísticos a aplicar.....	33
6.2.2. Análisis de correlaciones de las fracciones de Cd en el suelo vs el Cd en el grano... ..	33
6.3. OE3. Evaluación de métodos de extracción simple y fraccionamiento de Cd en suelos para la predicción del Cd en la planta a través de modelos de regresión lineal múltiple	33
6.3.1. Estudio de los fundamentos y aplicabilidad de los métodos de extracción simple empleados.....	34
6.3.2. Mediciones de Cd empleando los métodos de extracción simple seleccionados	35
6.3.3. Correlación de los resultados de Cd en el suelo vs Cd en la planta y modelos de regresión lineal múltiple	35
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	37
7.1. OE1. Análisis de las fracciones de Cd en suelos a través de modelos geoquímicos para la comprensión de la distribución del elemento en el suelo	39

7.1.1.	Recolección de información de muestreos y análisis preliminares	39
7.1.2.	Selección de muestras de suelos a estudiar.....	40
7.1.3.	Fraccionamiento químico de Cd para las muestras de suelos seleccionadas	44
7.2.	OE2. Estudio de las correlaciones entre las diferentes fracciones del Cd en el suelo y la concentración de Cd en la planta.....	47
7.2.1.	Estudio de los diferentes tratamientos estadísticos a aplicar.....	47
7.2.2.	Análisis de correlaciones de las fracciones de Cd en el suelo vs el Cd en el grano... 48	
7.3.	OE3. Evaluación de métodos de extracción simple y fraccionamiento de Cd en suelos para la predicción del Cd en la planta a través de modelos de regresión lineal múltiple	50
7.3.1.	Estudio de los fundamentos y aplicabilidad de los métodos de extracción simple empleados	50
7.3.2.	Mediciones de Cd empleando métodos de extracción simple seleccionados.....	52
7.3.3.	Correlación de los resultados de Cd en el suelo vs Cd en la planta	54
7.3.4.	Modelos de regresión lineal múltiple	61
8.	CONCLUSIONES	64
9.	RECOMENDACIONES	66
10.	REFERENCIAS.....	68
11.	ANEXO 1	73
12.	ANEXO 2	82

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Presencia de Cd en granos de cacao a nivel mundial (Meter et al., 2019)	13
Figura 2. Fracciones de Cd y biodisponibilidad en suelo (Meter et al., 2019).	16
Figura 3. Mapa de Colombia con 34 sitios seleccionados a estudiar	42
Figura 4. Gráfico de barras y error estándar para los porcentajes de extracción de métodos simples frente al Cd total por agua regia	54
Figura 5. Correlaciones de Spearman Cd en planta vs Cd extraído por métodos simples. ***p<0,01, **p <0,05, * p <0,1	55

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Niveles máximos permisibles de Cd en productos de cacao reglamentados por la Comisión Europea	14
Tabla 2. Principales investigaciones internacionales de Cd en cacao	23
Tabla 3. Principales investigaciones nacionales de Cd en cacao.....	25
Tabla 4. Metodología general de la investigación.....	29
Tabla 5. Criterios tenidos en cuenta para la selección de muestras de suelos y foliares a estudiar	31
Tabla 6. Variables utilizadas para calcular las entradas al software ORCHESTRA.....	32
Tabla 7. Métodos de extracción simple de Cd realizados para los suelos estudiados.....	35
Tabla 8. Clasificación de suelos por rango de pH, MO y arcilla.....	36
Tabla 9. Control de calidad de resultados obtenidos de extracciones realizadas	37
Tabla 10. Resumen de propiedades fisicoquímicas básicas para los 276 sitios de muestreo en Colombia	39
Tabla 11. Métodos de análisis y QC/QA laboratorio de Nottingham.....	39
Tabla 12. Distribución de los niveles de Cd en suelo y grano para 276 sitios muestreados en Colombia	40
Tabla 13. Distribución de muestras seleccionadas para extracciones. A: por orden taxonómico y B: por Departamento	41
Tabla 14. Propiedades fisicoquímicas de las 34 muestras seleccionadas.....	41
Tabla 15. Sitios seleccionados para estudio con sus principales características	43
Tabla 16. Concentraciones de Cd en fracciones del suelo arrojadas por ORCHESTRA	44
Tabla 17. Concentraciones de Cd en fracciones reorganizadas por capacidad de reacción.....	46
Tabla 18. Estudios de fraccionamiento químicos de Cd en suelos con cacao	47
Tabla 19. Correlaciones de Pearson y Spearman para valores de Cd en fracciones del suelo, grano y hoja.....	49
Tabla 20. Interacciones significativas entre niveles extractables de metales en el suelo y la acumulación en la planta <i>P. vulgaris</i>	52
Tabla 21. Métodos de extracción simple seleccionados.....	52
Tabla 22. Resultados de Cd para las extracciones simples aplicadas	53
Tabla 23. Correlaciones de Spearman para fracciones de Cd en el suelo vs Cd extraído por métodos simples	55
Tabla 24. Correlación de métodos simples vs Cd en el grano para rangos de pH	56

Tabla 25. Correlación de métodos simples vs Cd en el grano para rangos de MO.....	57
Tabla 26. Correlación de métodos simples vs Cd en el grano para rangos de arcilla	57
Tabla 27. Correlaciones Cd extraído por métodos simples vs Cd en grano de estudios similares ...	58
Tabla 28. Correlaciones Cd extraído por métodos simples vs Cd hoja de estudios similares	58
Tabla 29. Fuerza de extracción de Cd en suelo por métodos simples de estudios similares	59
Tabla 30. Componentes funcionales del método de extracción DTPA	60
Tabla 31. Componentes funcionales del método de extracción Mehlich 3.....	60
Tabla 32. Modelos seleccionados que predicen las concentraciones de Cd en el grano transformado a log10.....	61
Tabla 33. Ecuaciones de modelos de predicción de Cd en grano de estudios similares	62
Tabla 34. Concentraciones de Cd en el suelo estimados para tener Cd<0,80mg/kg en grano, según pH y MO	63
Tabla A35. Datos originales y de ORCHESTRA para extracción con HNO ₃	73
Tabla A36. Datos preliminares del proyecto Clima-LoCa	74
Tabla A37. Datos de óxidos e hidróxidos de hierro, amorfos y cristalinos	75
Tabla A38. Datos de óxidos e hidróxidos de aluminio.	76
Tabla A39. Datos de óxidos e hidróxidos de manganeso.....	77
Tabla A40. Datos de entrada al software ORCHESTRA (HFO: óxidos e hidróxidos de aluminio + hierro, HMO: óxidos de manganeso)	78
Tabla A41. Datos obtenidos luego de correr el modelo	79
Tabla A42. Datos obtenidos como valor absoluto	80
Tabla A43. Resultados de la prueba de Duncan para las medias de los porcentajes de extracción de Cd de los métodos simples frente a la concentración total por agua regia.....	85

LISTA DE SIGLAS O ABREVIATURAS

AAS	Espectrómetro de absorción atómica
AIC	Criterio de información de Akaike
BIC	Criterio de información Bayesiano
Cd	Cadmio
ICP-OES	Espectrofotómetro de emisión óptica con plasma acoplado inductivamente
ICP-MS	Espectrofotómetro de masas con plasma acoplado inductivamente
LAC	Latinoamérica y el caribe
LOQ	Límite de cuantificación del método
M3	Mehlich 3
MO	Materia orgánica
ORCHESTRA	Un marco orientado a objetos para componer modelos de especiación química y transporte masivo
QC/QA	Control y aseguramiento de calidad
UE	Unión europea

RESUMEN

El cacao es un alimento de gran importancia para la industria a nivel mundial y para el sustento de millones de pequeños productores, se produce en zonas tropicales y se exporta principalmente a Europa donde se utiliza como materia prima en la industria chocolatera. Estudios han encontrado alta presencia de cadmio (Cd) en el cacao producido en Latinoamérica y el Caribe (LAC), lo cual puede ser perjudicial para la salud y la inocuidad alimentaria, por ello se han establecido reglamentos para su control que incluyen límites máximos permitidos. La presencia del metal pesado en los suelos se debe a origen geológico y antropogénico, el cual es absorbido por las raíces de las plantas y transportado hacia los granos. La presente investigación evaluó la biodisponibilidad del Cd en el suelo para el cultivo de cacao, a través de métodos de fraccionamiento químico y extracción simple como aporte al conocimiento de las formas de distribución del metal pesado en las diferentes fracciones del suelo y su relación con la acumulación de Cd en la planta de cacao. Este conocimiento puede contribuir al diseño de estrategias de mitigación y control que reduzcan la presencia del Cd en el cacao.

Se estudiaron diversas muestras de suelo de 34 sitios, junto con muestras emparejadas de hojas y granos de cacao, en seis departamentos de Colombia. El software geoquímico de transporte y especiación de metales ORCHESTRA se corrió para el fraccionamiento del Cd y se aplicaron cuatro métodos de extracción simple: HNO_3 , EDTA, DTPA y Mehlich 3 en muestras de suelos. En general, los suelos estudiados tuvieron el siguiente orden en cuanto a las fracciones de Cd encontradas: residual > ácidos húmicos (HA) > ácidos fúlvicos (FA) > arcilla > óxidos de manganeso (HMO) > disuelto > óxidos de hierro y aluminio (HFO). No obstante, la distribución varió fuertemente por departamento. Las fracciones mayoritarias no se relacionaron con las fracciones más biodisponibles para la planta, mientras que las fracciones de Cd disuelto y unido a las arcillas que fueron minoritarias resultaron ser de mayor riesgo de movilidad, dado que tuvieron las mayores correlaciones con el Cd en el grano ($r=0,76$ y $0,76$; $p<0,01$) y la hoja ($r=0,62$ y $0,71$; $p<0,01$), respectivamente. Las extracciones simples DTPA y Mehlich 3, que usan soluciones más especializadas con buffer y agentes quelantes, mostraron las correlaciones más fuertes con el Cd en el grano ($r=0,78$ y $0,76$; $p<0,01$). Mientras que las extracciones DTPA y EDTA tuvieron las correlaciones más fuertes con el Cd en la hoja ($r=0,58$ y $0,57$; $p<0,01$). Las correlaciones del Cd total en el suelo por agua regia tuvieron las correlaciones más bajas a nivel general, con el Cd en el grano y Cd en la hoja, en comparación con las correlaciones obtenidas con los métodos de extracción simple y con las fracciones del Cd modeladas. Comparando la facilidad, los menores costos y el uso de reactivos con menor impacto ambiental, el análisis de Cd biodisponible con métodos simples de un solo paso, son una alternativa útil a la medición del Cd total, especialmente, para ser usado como indicador temprano de lo que va a suceder en el grano. La cantidad de Cd extraído con los métodos estudiados disminuyó en el siguiente orden: Total > HNO_3 > EDTA > Mehlich 3 > DTPA, los métodos con menor fuerza de extracción también tuvieron los valores menos variables, mostrando ser más específicos. La regresión lineal múltiple mostró que el Cd en el grano incrementa con el Cd total y el Cd DTPA del suelo y decrece con el pH y la materia orgánica (MO) ($R^2 = 0,81$; $p<0,01$). La inclusión del contenido de arcilla en los modelos de predicción no mejoró la precisión de ajuste y desfavoreció los Criterios de Información Akaike (AIC) y Bayesiano (BIC).

PALABRAS CLAVES: fraccionamiento químico, cadmio, cacao, extracción simple, suelos colombianos, modelación.

ABSTRACT

Cocoa is a food of great importance for the cocoa and chocolate industry and for the livelihoods of millions of smallholder producers, globally; it is produced in tropical areas and Europe is the main importer. Studies have found a high concentration of cadmium (Cd) in cocoa produced in Latin America and the Caribbean (LAC), which can be a hazard to human health; therefore, food safety regulations have been established that includes maximum permitted limits of Cd. The cacao plant absorbs Cd from the soil and transports it to the beans. The presence of heavy metal in the soil is due to geological and anthropogenic origin. The present research project evaluated the bioavailability of Cd in the soil for cocoa crop, through methods of chemical fractionation and single extraction. The study contributes to a better understanding of the distribution of the heavy metal in the soil fractions and its relationship with Cd accumulation in the cocoa plant. This knowledge can contribute to the design of mitigation and control strategies that reduce the presence of Cd in cocoa.

Diverse soil samples from thirty-four sites were studied, alongside paired leave and cocoa bean samples, across six departments of Colombia. The ORCHESTRA geochemical transport and speciation software was run, and four single extraction methods were applied: HNO₃, EDTA, DTPA and Mehlich 3 on soil samples. In general, the studied soils had the following order in terms of Cd fractions found: residual > humic acid (HA) > fulvic acid (FA) > clay > manganese oxides (HMO) > dissolved > iron and aluminium oxides (HFO). However, this distribution varied strongly by department. The majority fractions were not correlate with the most bioavailable fractions for the plant, while the dissolved and clay-bound Cd fractions that were in the minority turn out to have the highest mobility risk, since these had the highest correlations with bean Cd ($r=0,76$ and $0,76$, respectively; $p<0,01$) and leaf Cd ($r=0,62$ and $0,71$; $p<0,01$), respectively. The single extractions with DTPA and Mehlich 3, which use more specialized solutions with buffer and chelating agents, showed the strongest correlations with bean Cd ($r=0,78$ and $0,76$; $p<0,01$), while the DTPA and EDTA extractions had the strongest correlations with leaf Cd ($r=0,58$ and $0,57$, respectively; $p<0,01$). The correlations between total soil Cd by aqua regia and bean and leaf Cd were lower in general, in comparison with the correlations obtained with the simple extraction methods and with the modeled Cd fractions. Compared to the ease, lower costs and use of reagents with lower environmental impact, the bioavailable Cd analysis with single one-step methods is a useful alternative to the measurement of total Cd, especially to be used as an early indicator of what is going to happen in the grain. The amount of Cd extracted declined in the order: Total > HNO₃ > EDTA > Mehlich 3 > DTPA, the methods with the lowest extraction strength also had the least variable values, showing to be more specific. Multiple linear regression showed that Cd in the grain increases with total Cd and DTPA Cd of the soil and decreases with pH and organic matter content ($R^2 = 0,81$; $p<0,01$). The inclusion of clay content in the prediction models did not improve the accuracy of fit and disfavored the Akaike Information Criteria (AIC) and Bayesian (BIC).

KEYWORDS: chemical fractionation, cadmium, cacao, cocoa, single extraction, Colombian soils, modelling.

1. INTRODUCCIÓN

El Cd que es un metal pesado de origen natural presente en el ambiente, está distribuido en diferentes tipos de suelos y concentraciones alrededor del planeta. Su presencia en suelos agrícolas es de gran importancia dado que puede absorberse y transportarse a través de la planta, ingresa a la cadena trófica y se bioacumula en el cuerpo humano. Este metal se acumula principalmente en los riñones y el hígado, causando grandes afectaciones a la salud y desencadenando diversas enfermedades como insuficiencia renal, reducción de la densidad ósea y acción cancerígena (Maurice & Barraza, 2019).

Estudios a nivel mundial muestran altos contenidos de Cd en suelos cultivados con cacao, lo que ha conllevado a encontrar altos niveles de este metal pesado en los granos de cacao, principalmente en la región de LAC (Figura 1).

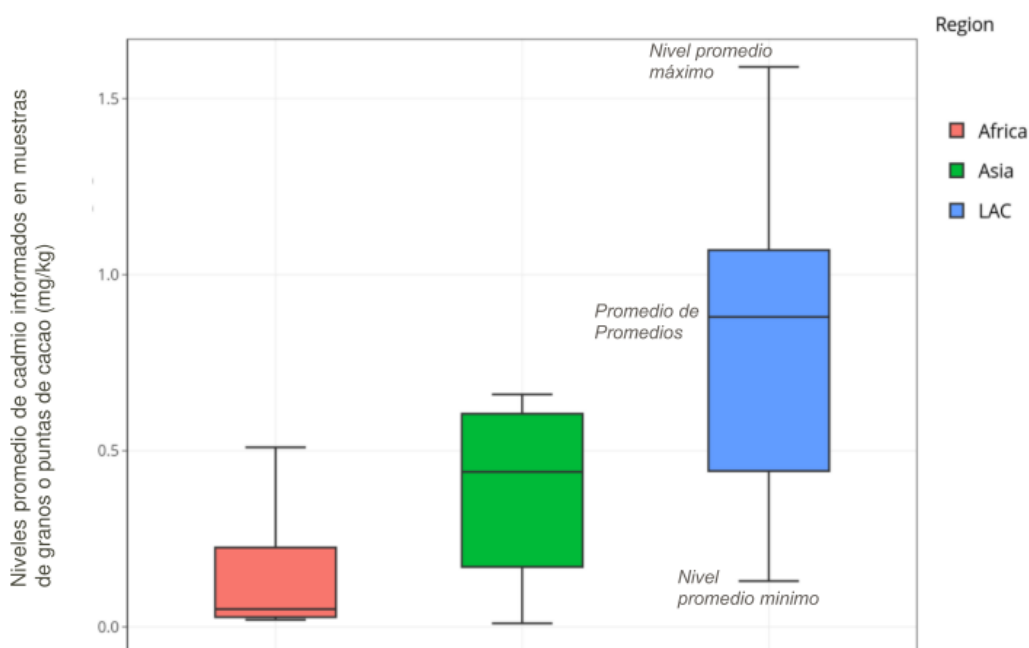


Figura 1. Presencia de Cd en granos de cacao a nivel mundial (Meter et al., 2019)

Si bien la región LAC no es la principal productora de cacao a nivel mundial, el cacao producido en esta región, de la cual es originario este fruto, es reconocido como cacao fino y de aroma (Afoakwa et al., 2008). Esta clasificación le ha concedido un gran valor en la industria del chocolate y ser altamente demandado en el mercado internacional.

El consumo medio de chocolate en el mundo asciende a un estimado de 0,9 kg per cápita al año. Los países europeos muestran promedios significativamente más altos. Los mayores consumidores de chocolate del mundo son los alemanes con un consumo per cápita de 11 kg al año. Suiza ocupa el segundo lugar con 9,7 kg per cápita, seguida de Estonia con 8,8 kg per cápita. El consumo medio de chocolate per cápita en Europa se estima en 5,0 kg (CBI, 2021).

Preocupados por mantener la inocuidad alimentaria y reducir la exposición de los consumidores de productos de chocolate, la Unión Europea (UE) estableció niveles máximos permisibles de Cd en

cacao y productos derivados de chocolate de acuerdo con la Tabla 1, reglamento que empezó a regir a partir del 1 de enero del 2019.

Tabla 1. Niveles máximos permisibles de Cd en productos de cacao reglamentados por la Comisión Europea

Producto	Nivel máximo permisible (mg/kg)
Chocolate con leche con un contenido de materia seca total de cacao < 30%	0.10
Chocolate con un contenido de materia seca total de cacao < 50%; chocolate con leche con un contenido de materia seca total de cacao ≥ 30%	0.30
Chocolate con un contenido de materia seca total de cacao ≥ 50%	0.80
Cacao en polvo vendido al consumidor final o como ingrediente en cacao en polvo edulcorado vendido al consumidor final (chocolate para beber)	0.60

(Meter et al., 2019)

El sector cacaotero en Colombia viene creciendo significativamente año a año, incluso en el primer trimestre de 2021 se registró el récord de producción de cacao más alta de la historia del país (FEDECACAO, 2021). Las exportaciones de cacao colombiano registraron un incremento de 2019 a 2020 del 22,27%, lo que representó más de 26 millones de dólares para la cadena (González, 2021).

En Colombia se vienen desarrollando trabajos de investigación relacionados con el Cd y la producción cacaotera. Por ejemplo, en un caso de estudio Gil et al., (2021) encontraron que el contenido de Cd en los suelos de las fincas evaluadas de Antioquia osciló entre 1,22 y 2,03 mg/kg, mientras que el contenido de Cd en los granos de cacao osciló entre 0,07 y 1,44 mg/kg. Asimismo, Bravo et al., (2018) estudiaron fincas en regiones cacaoteras de Santander, Arauca y Boyacá y encontraron que los niveles más altos de Cd total en suelo de 3,74 mg/kg estaban en el departamento de Boyacá.

Durante el análisis de investigación y soluciones potenciales para la mitigación de la contaminación del Cd en cacao que se realizó para la región LAC (Meter et al., 2019), los autores recomiendan enfocar las acciones futuras en: i) llenar la brecha de conocimiento con respecto a las bases fisiológicas de la absorción de Cd, el transporte a través de la planta y la acumulación en granos de cacao y ii) establecer consistencia en los resultados analíticos de laboratorio, centrándose en la estandarización del muestreo, los métodos de extracción de Cd y el análisis.

En el marco de estas iniciativas que se están realizando para mitigar el problema, la Alianza Bioversity y CIAT lidera un proyecto regional para Colombia, Perú y Ecuador, llamado Clima-LoCa (<https://climaloca.org/>). Este proyecto es financiado por la UE y aspira mejorar la movilización de la investigación y la capacidad de innovación para contribuir en el desarrollo sostenible del sector cacaotero. El proyecto aborda importantes desafíos relacionados con la resiliencia, la competitividad y la inclusión de los sectores del cacao en crecimiento.

Este proyecto de investigación nace buscando articular estas iniciativas regionales con las capacidades y necesidades del laboratorio de suelos de la Alianza, enlazando los conceptos de química y física de suelos aplicada con criterios de aseguramiento y control de calidad.

De acuerdo con el anterior, el objetivo general de la investigación es evaluar la distribución del Cd en suelos cultivados con cacao en Colombia, a través de métodos de fraccionamiento químico y

extracción simple como herramientas de estimación de la biodisponibilidad del metal pesado en el sistema suelo-planta que permitan identificar las fracciones de Cd con mayor riesgo de movilidad y predecir de manera temprana la absorción del Cd en la planta, para facilitar el enfoque de estrategias de mitigación más específicas.

2. JUSTIFICACIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La producción de cacao en LAC actualmente representa alrededor del 18% de la producción mundial, mientras que para la denominación cacao fino de aroma esta cifra sube al 76% (PROCOLOMBIA, 2016; Thomas et al., 2023). Esta producción ha ido en aumento en los últimos años, razón por la cual ha sido incluido en programas de desarrollo para aliviar la pobreza rural, promover la paz en regiones en posconflicto y reemplazar cultivos ilícitos. Teniendo en cuenta lo anterior, se ha venido considerando la gran relevancia de estudiar la biodisponibilidad del contenido de Cd en el suelo, hoja y grano en el cultivo del *Theobroma cacao* para predecir el comportamiento de este contaminante y su incidencia en la producción de chocolate fino y de aroma.

Argüello et al., (2019) reportaron que las concentraciones de Cd en los granos de cacao se relacionaron principalmente con el Cd en la hoja, lo que apunta a una fuente común de Cd en las plantas. Luego las concentraciones de Cd tanto en granos como en hojas estaban a su vez, relacionadas principalmente con el Cd en el suelo.

El contenido de Cd en suelo se puede dividir de manera general en tres fracciones en función de su presencia en el suelo: total, intercambiable y en la solución de suelo (Figura 2). Estudiar estas fases permitiría conocer la dinámica del Cd en el sistema suelo-planta para el cultivo de cacao.

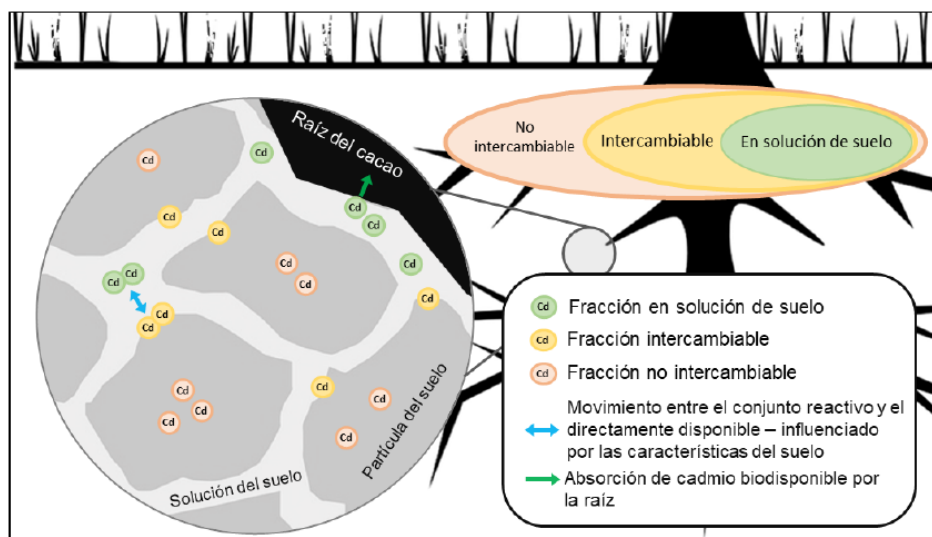


Figura 2. Fracciones de Cd y biodisponibilidad en suelo (Meter et al., 2019).

En los estudios que se han realizado para conocer la movilidad del Cd en el sistema suelo-planta en el trópico (Argüello et al., 2019; Chavez et al., 2015; Gil et al., 2021; Vanderschueren et al., 2021) encontraron que, si bien la concentración total de Cd en el suelo guarda una relación con el Cd en el grano de cacao, no existe una correlación que permita conocer la cantidad del metal que va a ser absorbido por la planta, por tanto, sugieren estudiar diferentes métodos de extracción para evaluar el Cd biodisponible y encontrar relaciones directas con la concentración en el grano.

Existen muchos debates sobre la definición precisa de biodisponibilidad, y sus métodos de medición aún deben estandarizarse para que el concepto pueda ser confiable, como una herramienta para la evaluación de riesgos. Para su estudio es importante considerar las interacciones fisicoquímicas

entre los metales y los suelos (p. ej., dependencia del pH y contenido de MO), el mecanismo de absorción por las plantas (p. ej., absorción activa y pasiva a través de las membranas de la raíz) y criterios de valoración biológicos (p. ej., toxicidad, crecimiento o bioacumulación). Por estas razones, existe un interés por desarrollar una definición más conceptual combinada con un aspecto operativo, que puede permitir la comprensión mecánica de la biodisponibilidad y la estandarización de una herramienta de medición de biodisponibilidad. Esto es de suma importancia a medida que la ciencia pasa de la investigación tradicional específica de una disciplina a actividades de investigación más multidisciplinarias en las que los investigadores deben hablar el mismo idioma (Kim et al., 2015).

Lo anterior significa que la acumulación de Cd en la planta no se puede explicar solo con Cd total del suelo y altos contenidos de éste, dado que las diferentes formas de disponibilidad, sumadas a las condiciones del sistema suelo-planta, pueden llevar a diferentes niveles de absorción. Luego, si no se conoce la relación de estos factores con el Cd extraído por la planta, dificulta la interpretación de los resultados de laboratorio como herramienta práctica de predicción del metal en la planta para el diseño de estrategias de gestión de la contaminación del cacao con Cd.

Dentro de los aspectos operativos del estudio de la biodisponibilidad, la especiación química de las fracciones de Cd del suelo y los métodos de extracción simple, son herramientas de medición esenciales para comprender el vínculo planta-Cd. Aunque este tipo de especiaciones del Cd del suelo se ha realizado para una variedad de suelos plantados con otros cultivos, y no en regiones tropicales para cacao el estudio de los suelos ha sido muy limitado, lo que dificulta el conocimiento sobre la vinculación cacao-Cd (Vanderschueren et al., 2021).

Algunas investigaciones han buscado modelos de predicción de la adsorción del Cd en el cacao, sin embargo, se han encontrado grandes dificultades en los análisis de los datos. Bravo et al., (2021) realizaron la primera encuesta a nivel nacional en Colombia sobre la distribución del contenido de Cd en suelos cacaoteros, y encontraron que existía una alta variabilidad en los factores correlacionados con Cd en suelo de cultivo de cacao en Colombia y sugieren que el estudio debe ser reforzado con un análisis de contenido de Cd en granos de cacao.

En los laboratorios de suelos normalmente se determinan los contenidos de nutrientes disponibles o intercambiables, que son formas químicas que las plantas pueden absorber. Por tanto, existen guías, normas y estándares internacionales que describen métodos de extracción para desarrollar en los laboratorios, como por ejemplo Fósforo por Bray II, elementos mayores (Ca, Mg y K) por acetato de amonio, etc. Para el caso de los metales pesados, la determinación de las fracciones disponibles también pueden ser buenos predictores para el metal absorbido por la planta. Correa et al., (2021) mencionan que, para el caso del Cd, el contenido total, por el contrario, generalmente solo representa menos del 50% de la variación de Cd absorbido por la planta de cacao, por lo tanto, la concentración total del metal es un predictor limitado de la absorción por los cultivos.

Los estudios que se han realizado en Colombia no han tenido en cuenta el Cd biodisponible a través de métodos simples y se han limitado principalmente al Cd total o pseudototal (digestiones fuertes ácidas) (Bravo et al., 2018, 2021), y los estudios que han determinado Cd biodisponible, no han tenido en cuenta una amplia gama de métodos de extracción, se han limitado a trabajar principalmente con EDTA para todos los tipos de suelos (Correa et al., 2021).

Cuando no se tienen guías o métodos estándar de laboratorio para determinar de manera operativa el Cd biodisponible los procedimientos analíticos no son eficientes y se incurren en reprocesamientos que aumentan los costos asociados a los análisis. Sumado a que los equipos y reactivos que se utilizan son bastante costosos, genera que el acceso por parte de los actores de la cadena de producción y transformación a los análisis de laboratorio sea difícil. Si no se realizan análisis de laboratorio, no se puede evaluar el problema potencial ni implementar acciones o estrategias de mitigación, creando incertidumbres que repercuten en la confianza del mercado y por ende en su economía.

La baja armonización en los métodos de análisis ejecutados por los laboratorios genera resultados que no son susceptibles de comparación, lo que dificulta los análisis que buscan una visión integral de la problemática para construir herramientas que permitan tomar decisiones e implementar estrategias de mitigación en el corto y largo plazo. Vanderschueren et al., (2021) , hicieron una completa revisión de los datos reportados hasta el momento del transporte del Cd desde el suelo hasta la barra de chocolate, prestando especial atención a la calidad de los datos. De un total de 46 publicaciones (obtenidas después de varios criterios de búsqueda), rechazaron la mayoría debido a que, entre otras razones, los resultados reportados estaban por debajo de los límites de detección, no publicaron resultados de Materiales de Referencia Certificado (MRC), los resultados de recuperación de los MRC estaban muy lejos de lo esperados y reportes de Cd en granos de cacao procesados de manera no convencional; al final se quedaron con solo 6 estudios que cumplían todos los criterios establecidos.

Estudiar métodos de extracción simple y especiación química de Cd en el suelo, con criterios de calidad, para determinar la especie biodisponible que mejor se correlacione con el Cd absorbido por la planta de cacao y llevado al grano, teniendo en cuenta la variación de las propiedades químicas y físicas más relevantes, en suelos tropicales de Colombia, permitirá contribuir a los vacíos metodológicos de laboratorio y de aplicación de estrategias que existen en la problemática de la presencia del Cd en el cacao.

Por tanto, se considera que el problema central es la incierta correlación de los métodos de extracción de Cd biodisponible en el suelo con el Cd en el grano de cacao en Colombia.

Pregunta de investigación:

¿Cómo se distribuyen las fracciones de Cd biodisponible en suelos cultivados con cacao en Colombia, de acuerdo con sus propiedades químicas y físicas (por ejemplo, pH y textura) y su relación con el Cd medido por métodos de extracción simple para predecir el Cd presente en el grano de cacao?

Hipótesis de trabajo:

Al conocer la distribución de las fracciones químicas de Cd en suelos de Colombia, los métodos de extracción simple de laboratorio se podrán delimitar de acuerdo con las propiedades del suelo, para correlacionar y modelar con el Cd que la planta concentra en el grano.

3. MARCO TEÓRICO

3.1. Propiedades fisicoquímicas del suelo y su relación con la planta

Desde el punto de vista científico más actualizado, la Edafología define el suelo como “un ente natural organizado e independiente, con unos constituyentes, propiedades y génesis que son el resultado de la actuación de una serie de factores activos (clima, organismos, relieve y tiempo) sobre un material pasivo (la roca madre)” (López, 2006).

Los suelos se diferencian por sus propiedades físicas, químicas y biológicas. Teniendo en cuenta que se constituyen por una mezcla de partículas sólidas orgánicas e inorgánicas en mayor o menor grado de desintegración, agua y aire en proporciones variables, la interacción de estos componentes le dan características físicas de textura, estructura, color, densidad, consistencia, porosidad, drenaje y profundidad efectiva particulares para cada suelo. En el caso de la textura, determina la proporción en la que se encuentran las partículas minerales de diversos tamaños (arena, limo y arcilla), que tienen especial significado en los aspectos de: aireación, movimiento del agua, retención de humedad, retención y liberación de iones, disponibilidad de nutrientes y con ellos en su productividad, uso y manejo (Jaramillo, 2002).

Las propiedades químicas del suelo también se derivan de las características de formación, material de origen, MO, actividad microbiana y reacciones que ocurren dentro del mismo. La composición química del suelo incluye la reacción de un suelo (pH) y la concentración de sus elementos químicos incluyendo los nutrientes para las plantas (fertilidad) (Hernández, 2013). De lo anterior se deriva la importancia de conocer todas estas propiedades para realizar una mejor gestión integral del suelo.

El pH constituye una de las propiedades químicas más importante en los suelos, ya que de él depende la disponibilidad de nutrientes para las plantas, determinando su solubilidad y la actividad de los microorganismos, los cuales mineralizan la MO. Otra propiedad importante es el intercambio iónico, el cual es un proceso reversible, estequiométrico y rápido mediante el cual, la fase sólida retira y retiene algunos iones de la solución del suelo, al tiempo que entrega cantidades equivalente de otros, por lo que esta propiedad gobierna la capacidad del suelo de hacer intercambio de nutrientes con la planta (Jaramillo, 2002).

En cuanto al Cd, este es un elemento no esencial para las plantas y su absorción se debe al transporte mediante procesos específicos y no específicos similares a los utilizados para iones como el Fe^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} y Mg^{2+} . Después de la absorción por el sistema radicular, el Cd^{2+} es transportado al xilema para llegar a las hojas. En las hojas Cd^{2+} es transportado activamente al floema desde donde llega a los frutos. El Cd también puede llegar a los frutos directamente por el xilema (Meter et al., 2019).

3.2. Presencia y movilidad del Cd en el ambiente

El término “metales pesados” se refiere al grupo de metales y metaloides de densidad relativamente alta ($>4,5 \text{ g/cm}^3$) como Pb, Cd, Cu, Hg, Sn y Zn, que pueden causar problemas de toxicidad. Estos elementos se encuentran contenidos en el material original que al meteorizarse se concentran en los suelos, por lo que aparecen de forma natural en bajas y altas concentraciones. Muchos de ellos son micronutrientes esenciales para plantas, animales y humanos, pero en concentraciones altas

pueden causar fitotoxicidad y dañar la salud humana a causa de su naturaleza no biodegradable, que causa que se acumulen fácilmente en los tejidos y organismos vivos (García & Dorronsoro, 2000).

Las principales fuentes antropogénicas de contaminación del suelo son los químicos usados o producidos como derivados de actividades industriales, desechos domésticos y municipales, incluyendo las aguas residuales, los agroquímicos y los productos derivados del petróleo. Estos químicos son liberados al medio ambiente accidentalmente, por ejemplo, los procedentes de derrames de petróleo o de la lixiviación desde los vertederos, o intencionalmente, como sucede con el uso de fertilizantes y plaguicidas, irrigación con aguas residuales no tratadas o la aplicación en suelos de lodos de depuradora (FAO, 2019).

El Cd representa uno de los mayores riesgos para la seguridad alimentaria y la salud humana, y este riesgo se ve exacerbado por su alta movilidad hacia las partes comestibles de los cultivos. Si bien este elemento no es esencial, dado que no cumple un propósito metabólico en las plantas, se absorbe como un catión divalente y se acumula en las raíces, vainas y granos de cacao (Rodríguez Albarracín et al., 2019).

Existe un interés creciente en la determinación del contenido de metales biodisponibles en los suelos porque, al evaluar el riesgo, lo que preocupa es la fracción capaz de ingresar y afectar los sistemas biológicos de un organismo, no el contenido total de metales. Desafortunadamente, el término biodisponible tiene diferentes significados en diferentes disciplinas y, tal vez como resultado, a veces se usa de manera poco específica en la literatura sobre suelos (Dutta & Lodhari, 2018). Por lo anterior, es importante que cuando se investiga sobre la biodisponibilidad de un elemento, se aclare los organismos objeto, las especies químicas y las rutas de exposición.

3.3. Biodisponibilidad del Cd en el suelo

En la agricultura y el estudio del sistema suelo-planta, el propósito de estudiar la biodisponibilidad de los metales, es evaluar la porción del elemento que está disponible en el momento o que puede volverse disponible bajo ciertas condiciones, en el suelo para ser tomado por la planta, lo que permitirá tomar decisiones apropiadas de manejo del cultivo, frente a nutrición y remediación, en el caso de los metales pesados.

Kim et al., (2015) concluyeron en una revisión crítica que hicieron de las definiciones y la implementación práctica de la biodisponibilidad de los metales pesados en los suelos: que la biodisponibilidad se puede considerar como un proceso dinámico complejo que comprende tres pasos de (1) disponibilidad ambiental, es decir, la cantidad total de metales pesados en el suelo, incluidas las fracciones reales y potenciales que se pueden disolver de la matriz del suelo en el agua intersticial, (2) biodisponibilidad ambiental, es decir, la cantidad de fracción disuelta en el agua intersticial que pueden absorber las raíces de las plantas u otros organismos del suelo, y (3) biodisponibilidad toxicológica, es decir, la cantidad de metal pesado que puede inducir fisiológicamente la bioacumulación u otro efecto dentro de las plantas dependiendo de la translocación, el metabolismo y la desintoxicación. Para cada metal pesado, las diferencias en la solubilidad, la movilidad en el suelo y la translocación dentro de las plantas, están dominadas por la

adsorción específica y no específica, así como por las diferentes afinidades de complejación para los ligandos inorgánicos y orgánicos que dependen en gran medida del pH del suelo (Kim et al., 2015).

El paradigma general sobre la absorción de metales del suelo es que las raíces absorben los elementos a través del agua intersticial y la concentración de los elementos disueltos afecta la tasa de absorción. Esto sugeriría que, la biodisponibilidad de Cd en el suelo aumenta a medida que disminuye el pH, lo que es un hecho, sin embargo, los efectos relativos son generalmente menores de lo que se puede esperar desde un punto de vista químico puro. De hecho, estudios recientes a gran escala de las concentraciones de metales en las plantas y la especiación de los metales en los suelos asociados demostraron que las concentraciones de Cd en el agua intersticial o las actividades de iones libres del Cd no explicaban las concentraciones en los cultivos (Dutta & Lodhari, 2018).

Para medir la biodisponibilidad del Cd en suelos específicamente en relación con la absorción por las plantas, también llamada fitodisponibilidad (Kim et al., 2015), se han establecido legislaciones y estándares internacionales que recomiendan el uso de extractantes débiles asociados a las fracciones disueltas de Cd en el agua intersticial: CaCl_2 , NH_4OAc , NH_4NO_3 , entre otros. No obstante, estos métodos arrojan valores muy bajos de Cd en la solución del suelo (menos del 5% del Cd total), por consiguiente, requieren el uso de equipos muy especializados como el ICP-MS, que normalmente no se tiene en los laboratorios de servicios de análisis de suelos. Por lo anterior, el objetivo de evaluar otros métodos de extracción simple y fraccionamiento químico, para definir las fracciones o extracciones que mejor correlacionen con el Cd en el grano, sirve como alternativa para la evaluación de la biodisponibilidad del Cd en el suelo para la planta, con tecnologías o métodos más simples.

3.4. Metodologías para determinar Cd extraíble y fracciones químicas de Cd en el suelo

Como se ha explicado anteriormente, existe un interés considerable en evaluar las fracciones del contenido total de metales asociados con fases minerales específicas del suelo. Esta información ahora está comenzando a estar disponible a través de la aplicación de métodos de análisis de especiación. Sin embargo, durante muchos años, los científicos del suelo han tratado de inferirlo mediante la aplicación de extractantes químicos selectivos, estas porciones son llamadas extraíbles o extractables. Aunque este enfoque ha producido mucha información útil, es importante tener en cuenta que los reactivos utilizados rara vez son completamente específicos. Por lo tanto, a menudo es beneficioso considerar que los extractantes no se dirigen a fases minerales precisas, sino a "reservorios" específicos de metales pesados en el suelo, cada uno de los cuales tendrá diferente solubilidad, movilidad e impacto ambiental potencial (Dutta & Lodhari, 2018).

La cuantificación de la cantidad de Cd en el suelo en cada una de las formas antes mencionadas requiere el uso de diferentes reactivos, soluciones o medios, que pueden extraer el Cd según su fuerza de unión y clasificarse como débiles, medios o fuertes. El tamaño de la fracción intercambiable se puede determinar por extracción usando ácidos débiles (p.e. EDTA 0,05 M, HCl 0,1 M o HNO_3 0,43 M), mientras que la fracción en la solución de suelo se mide con lisímetros o por una extracción del suelo utilizando sales débiles como CaCl_2 , $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, NaNO_3 o métodos de extracción DTPA). El contenido total de Cd del suelo generalmente se determina mediante la digestión con un ácido fuerte (EPA3050B para la digestión ácida de suelos – EPA 2015) (Meter et al., 2019).

Una forma de mejorar la selectividad de la extracción del suelo es aplicar no uno, sino una serie de reactivos, en orden creciente de "vigor", llamado fraccionamiento químico. Los metales liberados al principio de la serie son los que se unen más débilmente al suelo y, por lo tanto, tienen la mayor movilidad potencial. La extracción química secuencial puede subdividir el contenido de metales del suelo en depósitos, nominalmente asociados con diferentes fases minerales y que probablemente respondan de diferentes maneras a los cambios en las condiciones ambientales, como el pH o el potencial redox (Dutta & Lodhari, 2018). Se ha propuesto una amplia variedad de procedimientos de extracción secuencial desde los primeros trabajos de Tessier en 1979, que determinó las fracciones así: agua soluble, intercambiable, ácido soluble (unido a carbonatos), reducible (unido a óxidos de Fe y Mn), oxidable (unido a materia orgánica) y residual.

Otra de las metodologías para determinar el Cd en el suelo son los modelos geoquímicos, los cuales consisten en crear o diseñar modelos teóricos de reacción capaces de explicar lo observado en el sistema planta-suelo o las matrices de interés para cada investigador. En estos modelos se emplean los datos disponibles para determinar que reacciones químicas han ocurrido, las condiciones en las que ocurrieron y como cambiarían en la respuesta final de la variable estudiada (Gimeno & Peña, 1994). Estos modelos basados en procesos geoquímicos, que se desarrollan para calcular la concentración de iones metálicos libres disueltos en el agua intersticial y la fracción metálica disponible real utilizando las reacciones y constantes termodinámicas, también se pueden agrupar en varios tipos: 1 - programas que calculan la actividad libre de iones metálicos, por ejemplo MINTEQ 3.0, PHREEQ 3 (pH-REdox EQUilibrium) y ORCHESTRA (objetos que representan modelos de transporte y especiación química), 2 - modelos que calculan la unión de iones metálicos a geocoloides tales como ácido húmico y fúlvico, para ejemplo, el modelo NICA-Donnan (adsorción competitiva no ideal) y el WHAM/Modelo VI (modelo acuoso húmico de Windermere) que se incorporan como submodelos, como en Visual MINTEQ, y 3 - modelos que predicen adicionalmente la interacción del metal en el sitio de acción tóxica (es decir, ligandos bióticos) y puede calcular los niveles de efectos tóxicos, por ejemplo, BLM (modelo de ligando biótico) y TBLM (modelo de ligando biótico terrestre) (Kim et al., 2015).

4. ESTADO DEL ARTE

A nivel mundial se han venido adelantando estudios en las diferentes líneas de investigación alrededor de la problemática del Cd en el cacao, principalmente en los países de LAC, algunos con el apoyo principalmente de instituciones de Europa y Estados Unidos.

A continuación, se muestran los estudios más relevantes que aportaron información para el desarrollo del presente proyecto, los cuales se abordan en orden cronológico, primero a nivel internacional (Tabla 2) y posteriormente se incluirán los estudios en Colombia (Tabla 3).

Tabla 2. Principales investigaciones internacionales de Cd en cacao

Línea de investigación / País / Autor	Investigación	Metodología - Aspectos Generales	Resultados principales
Fisiología, relación Cd en suelo-planta, Cd biodisponible, ensayos de campo Ecuador (Chavez et al., 2015)	Evaluación del contenido de Cd y propiedades fisicoquímicas de suelos de Ecuador y Cd en las diferentes partes de las plantas de cacao cultivadas en fincas, con uso de diferentes métodos de extracción en suelos para predecir el Cd disponible.	19 fincas y sitios de muestreo: 4 profundidades, muestras de suelos y plantas. Se determinó Cd Total, con $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$ y Cd extraíble con Mehlich 3 (M3), HCl 0,1M, NH_4OAc 1M. Lecturas en ICP-OES Correlación por pares, regresión simple, análisis regresión por pasos	El Cd en los tejidos del cacao disminuyó en el siguiente orden: granos > cáscara >> hojas. 12 de los 19 lugares tenían un contenido de Cd en los granos superior al nivel crítico (0,6 mg/kg). La concentración de Cd en los granos estaba altamente correlacionada con el Cd por Mehlich 3 o HCl tanto a la profundidad de 0-5 cm como a la de 5-15 cm ($r=0,80$ y $0,82$ para M3, y $r=0,78$ y $0,82$ para HCl)
Fisiología, especiación, relación suelo-planta, Cd biodisponible, ensayos de campo Ecuador (Chavez et al., 2016b)	Fraccionamiento químico del suelo para estudios de especiación del Cd en el suelo buscando la mejor correlación con el Cd en el grano, luego estudiar la correlación con método de extracción simple. Experimento en campo a pequeña escala, 15 sitios de producción	15 sitios de muestreo. 15 muestras compuestas a 2 profundidades: 0-5 y 5-15 cm. Granos cacao de 3-4 vainas maduras. Análisis ICP-OES Test de multirango de Tukey-Kramer y análisis de correlaciones por pares	La distribución de las fracciones: oxidable > soluble en ácido > residual > reducible >> soluble en agua (intercambiable). La fracción soluble en ácido fue la que mejor correlacionó con el Cd en grano. La extracción con HCl 0,01M ($r=0,99$) fue la que mejor correlacionó con la fracción soluble en ácido, seguida de la extracción con Mehlich 3 (0,97)
Manejo de suelos, sistema suelo-planta, biodisponibilidad de Cd, ensayos de campo Bolivia (Gramlich et al., 2017)	Estudio de comparación de las concentraciones de Cd en hojas, vainas y granos bajo diferentes sistemas de producción, monocultivos, agroforestales, orgánico, convencional. Modelación de parámetros del suelo para determinar factores que influyen en la disponibilidad	4 diferentes sistemas de cultivos de cacao, suelo 0-10 y 10-25 cm. Análisis Cd agua regia, gradientes difusivos en películas delgadas (DGT), EDTA acetato de amonio. Lectura AAS Criterio de información de Akaike (AIC)	El modelo reveló que los árboles de cacao en sistemas agroforestales y el cultivar de árbol de cacao TSH565 acumularon menos Cd foliar que los árboles en monocultivos y el cultivar ICS 1, respectivamente
Fisiología, toxicidad de la planta por Cd, ensayos de invernadero Brasil (Pereira de Araújo et al., 2017)	Se plantaron semillas de cacao CCN51 para determinar el impacto de la toxicidad por Cd, se evaluaron diferentes aspectos	Condiciones controladas de invernadero, suelo arenoso, se añadió CdCl_2 (0,05 y 0,1 g/kg) Test de Tukey	La toxicidad del Cd del suelo ocasionó daño a la maquinaria fotosintética, metabolismo antioxidante, expresión génica y daño irreversible a la ultraestructura de las células radicales de las plantas de cacao CCN 51

Línea de investigación / País / Autor	Investigación	Metodología - Aspectos Generales	Resultados principales
Fisiología, distribución y mapeo, ensayos de campo Ecuador (Argüello et al., 2019)	Encuesta a nivel nacional para identificar distribución espacial de Cd en los granos de cacao y factores agronómicos y del suelo involucrados.	560 muestras emparejadas de suelos y plantas de 159 fincas de Ecuador, profundidad 0-15 cm. Digestión agua regia, lectura ICP-MS Criterio BIC. Análisis de regresión multivariado. Modelo LSM, variable VIF	El Cd total del suelo promedió 0,44 mg/kg. La concentración media de Cd en los granos fue de 0,90 mg/kg y el 45% de las muestras superó el umbral de 0,60 mg/kg. Las concentraciones de Cd en grano aumentaron con el aumento del Cd total del suelo, la disminución del pH, el manganeso extraíble con oxalato y el carbono orgánico ($R^2 = 0,65$)
Dinámica del Cd en la planta, especiación en la planta, ensayos de campo Ecuador (Vanderschueren et al., 2020)	Distribución del Cd en las diferentes partes del fruto de cacao y especiación en el grano, pruebas para comparar el efecto de la fermentación en la concentración final de Cd en el grano	4 sitios de muestreo, 3 frutos enteros por cada sitio. Análisis en LA-ICP-MS. Espectroscopía XANES para especiación de Cd en el grano sin fermentar. Test de Tukey y Test de Pearson.	Concentración de Cd en frutos de cacao: testa > grano ~placenta ~cáscara de la vaina > mucílago. La especiación del grano sin fermentar reveló que el Cd estaba unido a ligandos O/N en el nib y la testa. La fermentación indujo una migración de Cd desde los nibs hacia la testa, el factor de disminución fue de 1,3
Más allá de la acumulación de Cd: distribución de otros elementos traza en suelos y granos de cacao Ecuador (Barraza et al., 2021)	Determinación de Cd y once elementos trazas en suelos, tejido de cacao y licor de cacao	31 pequeñas fincas ubicadas en cinco provincias diferentes de Ecuador	Las concentraciones de As, Ba, Cd, Co, Cu, Cr, Mo, Mn, Ni, Pb, V y Zn son relativamente altas en los suelos, su transferencia al cacao sigue siendo bastante bajo. Las variedades de cacao mostraron diferentes niveles de elementos en cada tejido, pero su efecto está claramente modulado en el campo por la fisicoquímica del suelo y otros
Distribución de Cd en suelo y granos de cacao Perú (Thomas et al., 2023)	Modelo predictivo de cantidad de Cd en el suelo y en los granos de cacao en las áreas cultivables de Perú	Modelos predictivos múltiples de bosques aleatorios (RF) de concentraciones de Cd en el suelo y granos de cacao usando la función cforest en el paquete party para R	Los depósitos aluviales y las operaciones mineras también se asociaron con niveles más altos de Cd en los granos de cacao. A nivel nacional <20% de los hogares productores de cacao podrían verse afectados por las regulaciones de Cd, en el departamento más afectado esto podría llegar al 89%

En resumen, la planta absorbe el Cd desde el suelo y luego lo transporta hacia las hojas, las vainas y los granos de cacao. Se encontraron correlaciones significativas que muestran que el Cd en la planta aumenta con el Cd en el suelo y disminuye con el pH. Los primeros estudios trataron de conocer la dinámica del Cd en el sistema suelo-planta, analizando las diferentes fracciones del metal en el suelo y la planta; posteriormente se iniciaron los estudios grandes de distribución y presencia de Cd en las fincas cacaoteras de los diferentes países para construir los mapas de calor que se tienen actualmente para Ecuador y Perú (Argüello et al., 2019; Thomas et al., 2023).

Se encontraron estudios que han buscado correlacionar el Cd en la planta, con las diferentes propiedades físicas y químicas del suelo, incluyendo el análisis de Cd por diferentes métodos para evaluar su biodisponibilidad, con el fin de construir y/o modelar herramientas de predicción, para el diseño de estrategias de mitigación. Dentro de estos estudios se tienen trabajos de campo principalmente, pero también ensayos controlados bajo invernadero, algunos no incluyeron análisis de Cd en la planta, luego otros pocos solo incluyeron análisis de Cd en las hojas y otros pocos incluyeron análisis de Cd en el grano.

En la Tabla 3, se muestran los estudios que se han tenido en Colombia en orden cronológico.

Tabla 3. Principales investigaciones nacionales de Cd en cacao

Línea de investigación / País / Autor	Investigación	Metodología - Aspectos Generales	Resultados principales
Fraccionamiento del Cd en suelo y relación con la planta, ensayos de campo Colombia (tesis de maestría) (Rodríguez Albarracín et al., 2019)	Dinámica del Cd en suelos con niveles altos del elemento, en zonas productoras de cacao de Nilo y Yacopí, Cundinamarca	8 fincas, de 6 a 12 árboles, 2 profundidades 0-30 y 60-100 cm. Alrededor de cada árbol, hojarasca, hojas frescas y frutos maduros. Cd por agua regia y DTPA, lectura por AAS. Extracción secuencial Amacher Estadística descriptiva simple, test de Pearson, test de Spearman	Altas correlaciones del Cd en el grano con las fracciones de Cd en el suelo: intercambiable, carbonatos, MO y óxidos de Mn.
Mitigación, microbiología, dinámica Cd en el suelo-planta, ensayos de campo Colombia (Bravo et al., 2018)	Evaluar el contenido de Cd total en el suelo y los aspectos microbiológicos para entender la dinámica de las bacterias tolerantes al Cd (CdtB) cultivables en los suelos de cacao del noreste de Colombia	26 fincas de Arauca, Boyacá y Santander. 8 municipios, 3 puntos de muestreo en cada municipio, 1m profundidad. Cd agua regia lectura ICP-OES. Inmovilización de Cd soluble en un medio con CdCl ₂ Modelo de 2 parámetros de Kimura	Una granja de Boyacá mostró el nivel más alto de Cd total del suelo (3,74 mg/kg) seguido por Santander (2,76 mg/kg) y Arauca (1,16 mg/kg). El coeficiente de determinación entre el Cd total del suelo y las UFC de CdtB fue alto para la finca de Boyacá. Entre las cepas CdtB aisladas, Enterobacter sp. CdDB41 mostró la mayor capacidad de inmovilización de Cd en laboratorio, con una tasa de inmovilización de 0,220 mg/kg/h
Distribución del Cd en suelo y modelación, sistema suelo-planta, ensayos de campo Colombia (Rodríguez Albarracín et al., 2019)	Modelación del Cd en el grano con base en las propiedades del suelo y Cd disponible y total, mapeo y distribución. Municipio de Yacopí - Cundinamarca	12 sitios. En total 57 muestras a 2 profundidades 0-30 y 60-100 cm. Alrededor de cada árbol, hojarasca, hojas frescas y frutos maduros. Cd por agua regia y DTPA, lectura por AAS Estadística descriptiva simple, test de Pearson, test de Spearman. Análisis de conglomerados de Ward. Índice de Moran. Modelo de regresión espacial.	Al aumentar la profundidad del suelo se produjo una reducción del Cd total. Los contenidos de Cd en las almendras de cacao pueden ser modelados estadísticamente utilizando las variables explicativas medidas hasta 30 cm y 100 cm de profundidad del suelo, Cd en hojas, hojarasca, total y disponible, así como el pH del suelo.

Línea de investigación / País / Autor	Investigación	Metodología - Aspectos Generales	Resultados principales
Distribución del Cd en suelo y modelación, mapeo, ensayos de campo Colombia (Bravo et al., 2021)	Distribución espacial del Cd en Colombia para construir mapas de zonas calientes y frías, y correlaciones con 8 variables del suelo (pH, Ca, Fe, K, Mg, Mn, P y Zn) para predecir Cd	1837 muestras de suelos, en 19 departamentos (fincas < 5 Ha) profundidad 0-30 cm. Cd pseudototal ($\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4$). Lectura ICP-OES Correlograma, modelos de distribución espacial. Test de Pearson. Redes neuronales artificiales. Regresión lineal múltiple, operador de selección y reducción mínima absoluta y regresión de cresta	Las mayores asociaciones fueron las existentes entre el Cd y el Zn. El Ca tenía la segunda mayor correlación parcial con el Cd y su rendimiento predictivo ocupaba el segundo lugar. 777 de 1837 muestras de suelos exhiben concentración de Cd > 1 mg/kg
Manejo de suelos, sistema suelo-planta, biodisponibilidad de Cd, ensayos de invernadero Colombia (Correa et al., 2021)	Evaluación del efecto que tienen las propiedades físicas y químicas de suelos en invernaderos, sometidos a diferentes concentraciones de Cd añadido, frente a la absorción del Cd por la planta	3 suelos de áreas de cacao y un Andisol en condiciones controladas. Cd total agua regia y Cd disponible EDTA amonio. Lectura ICP-OES. Adición de Cd en 5 niveles, desde 0 hasta 20 µg/g Test de Pearson. Modelo de regresión lineal múltiple.	Relaciones entre las características químicas y físicas del suelo y el Cd disponible, densidades real y aparente, así como los contenidos de hierro, arena, magnesio, potasio, sodio y cobre. Además, se encontraron correlaciones de moderadas a fuertes entre el potasio y la densidad real, con el Cd foliar. Alta correlación de Cd foliar con Cd disponible por EDTA amonio (añadido)
Del suelo a la barra de chocolate: identificando pasos críticos en el viaje del Cd en una plantación de cacao colombiana Colombia (Bravo et al., 2022)	Evaluación de la concentración de Cd en cacao desde el suelo hasta la barra de chocolate en una sola finca en el distrito de Santander	Medición de Cd mediante ICP-OES, se correlacionó con el pH, la MO y el uso de fertilizantes a base de fósforo, del suelo. Se midieron semillas sin fermentar, granos fermentados y secos, cáscara, nibs y chocolate Test de Tukey, correlaciones de Pearson	La MO del suelo (2,93–3,78%), el pH del suelo (4,7–4,9), la concentración de fósforo del suelo (120–132 mg/kg) afectan la disponibilidad de Cd (correlaciones). Sin embargo, aún no está claro si la concentración de Cd de los fertilizantes basados en fosforo (3–30 mg/kg) es importante o no
Fuentes naturales y antropogénicas de Cd en suelos de cultivo de cacao de Santander Colombia (Joya-Barrero et al., 2023)	Análisis geoquímicos y petrográficos de fertilizantes, suelos y rocas de tres fincas para determinar el origen de Cd	37 muestras (23 muestras de suelos, 12 muestras de rocas y 2 muestras de fertilizantes) de San Vicente de Chucurí Santander Análisis de componentes principales (PCA), correlación lineal	Altos niveles de Cd, las rocas madre fueron la principal fuente de Cd en los suelos, los fertilizantes orgánicos pueden haber contribuido. El rango de pH del suelo, el contenido elevado de MO y la presencia de Mn y K disminuyeron la biodisponibilidad (PCA)

Como se puede observar en los estudios de Colombia, se han tenido avances en el mapeo de suelos a nivel nacional, identificando puntos calientes (Bravo et al., 2021), sin embargo, no se incluyeron análisis de Cd en la planta. En el estudio con mayor cantidad de muestras, de 1837 muestras de suelos, más del 42% resultaron con valores de Cd superior a 1 mg/kg.

Se encontraron algunos desarrollos frente al estudio del origen, movilidad y transporte del Cd en suelos cultivados con cacao. No obstante, se evidenciaron pocos estudios en LAC de fraccionamiento químico para evaluar las diferentes especies de Cd en el suelo y posteriormente, su correlación con el Cd en el cacao, lo únicos: Chavez et al., (2016b) en Ecuador y Rodriguez, (2017) en el departamento de Cundinamarca - Colombia.

En la mayoría de los estudios en cacao en otros países que han incluido Cd extraíble, se ha incluido Mehlich 3 y HCl; sin embargo, en Colombia, los métodos que principalmente se aplican para extracción de microelementos en suelos son DTPA y EDTA. En los estudios de correlación y posterior modelación, se han incluido en el análisis todos los tipos de suelos sin distinguir por sus propiedades fisicoquímicas y con poca variación entre los tipos de suelos.

El estado del arte muestra estudios que han investigado la distribución del Cd en el sistema suelo-planta en cultivos de cacao, análisis de correlaciones y dependencia con otras propiedades fisicoquímicas del suelo. Los resultados de investigación obtenidos para evaluar la biodisponibilidad del metal varían con el tipo de suelo estudiado, las metodologías aplicadas y los demás aspectos operativos bajo los cuales se configuran las investigaciones. Las metodologías aplicadas en la región han sido limitadas: en primer lugar, en cuanto a los métodos de extracción y especiación química del Cd en el suelo y, en segundo lugar, en cuanto a la variedad de los tipos de suelos estudiados. Por tal razón, para la presente investigación se plantearon los objetivos mostrados a continuación.

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo general

Evaluar la distribución del Cd en suelos cultivados con cacao en Colombia, a través de métodos de fraccionamiento químico y extracción simple como herramientas de estimación de la biodisponibilidad del metal pesado en el sistema suelo-planta.

5.2. Objetivos específicos

1. Analizar las fracciones químicas del Cd en suelos a través de modelos geoquímicos para la comprensión de la distribución del elemento en el suelo.
2. Estudiar las correlaciones entre las diferentes fracciones del Cd en el suelo y la concentración de Cd en la planta.
3. Evaluar los métodos de extracción simple y fraccionamiento de Cd en suelos para la predicción del Cd en la planta a través de modelos de regresión lineal múltiple.

6. METODOLOGÍA

La presente investigación contribuyó a los objetivos del proyecto Clima-LoCa, el cual es un proyecto regional llevado a cabo en Colombia, Perú y Ecuador. Las muestras de suelo analizadas provinieron de fincas cacaoteras de Colombia, que fueron tomadas desde el año 2020 hasta el 2022 ubicadas en los departamentos de Antioquia, Boyacá, Cesar, Nariño, Santander y Tolima. Asimismo, se trabajó de manera colaborativa con el proyecto de investigación del estudiante PhD Wietse Wiersma de la Universidad de Wageningen en Países Bajos.

El tema de investigación es reciente y con el presente proyecto se contribuyó a la construcción de líneas base y formulación de hipótesis, a través de una investigación exploratoria y descriptiva, que permitió constituir una visión cercana de la distribución del Cd en el suelo y su relación con la planta en fincas cacaoteras de Colombia. En la Tabla 4 se realiza una descripción general del tipo de investigación que se aplicó:

Tabla 4. Metodología general de la investigación

Nivel	Exploratorio y descriptivo, correlacional-causal
Diseño	Campo y documental, no experimental - transeccional
Propósito	Aplicada
Tipo	Investigación
Enfoque	Cuantitativo
Métodos para la recolección de datos	Mediciones y bibliográfico
Métodos para el tratamiento de datos	Estadísticos
Análisis de datos para obtener conclusiones	Hipotético deductivo (científico)

Para el control y aseguramiento de la calidad (QC/QA) de los resultados en las extracciones efectuadas, en cada corrida se incluyeron dos blancos, triplicados para una muestra y muestras con spike de Cd para las extracciones simples. De igual manera, se incluyeron cinco muestras de suelos recibidas de la Universidad de Wageningen, donde se corrieron los mismos protocolos desarrollados en este estudio para realizar comparación interlaboratorio. A continuación, se brinda más detalles de estos controles:

- Blancos: dos muestras de soluciones extractantes que tuvieron toda la marcha analítica, incluyendo agitación, filtración y dilución. Con los blancos preparados, se estimaron los límites de cuantificación de los métodos de análisis (LOQ).
- Triplicados: tres muestras pesadas y extraídas con el fin de evaluar la repetibilidad interna de los métodos, bajo las mismas condiciones: protocolo, reactivos, tiempos, equipos, personal, etc.
- Spike: se hicieron análisis por duplicado de muestras de referencia de suelo de CIAT y se incluyeron dos muestras de spike de Cd para las extracciones simples (HNO_3 , EDTA, Mehlich 3, DTPA), luego se calculó la recuperación con base en el promedio de las dos muestras con spike menos el valor promedio de las dos muestras de CIAT sin spike.

- Reproducibilidad: se incluyeron cinco muestras de suelos tropicales (Colombia y Ecuador) que fueron analizadas previamente en el Laboratorio de Suelos de la Universidad de Wageningen, utilizando los mismos protocolos aplicados en el Laboratorio de Servicios Analíticos del CIAT. A diferencia de la repetibilidad donde se mantienen las mismas condiciones de operación, en la reproducibilidad se compara bajo mismos métodos de análisis, pero diferentes condiciones de operación, en este caso, diferentes laboratorios.

A continuación, se describe la metodología que se aplicó de acuerdo con cada uno de los objetivos específicos (OE) y las fases dentro de cada uno de estos.

6.1. OE1. Análisis de las fracciones de Cd en suelos a través de modelos geoquímicos para la comprensión de la distribución del elemento en el suelo

En este objetivo se buscó hacer la recolección de información preliminar, para determinar los sitios de muestreo que cuenten con análisis de laboratorio previos en el suelo y el grano de cacao, y que incluyan una amplia variación en los tipos de suelos y sus propiedades fisicoquímicas. Inicialmente se revisaron los métodos de fraccionamiento químico con extracción secuencial para determinar las diversas especies de Cd: soluble, intercambiable, ácido soluble, reducible, oxidable y residual, que permitan conocer la distribución de estas fracciones en los suelos estudiados (Aikpokpodion et al., 2012; Chavez et al., 2016b) y su potencial de disponibilidad, movilización y transporte hacia la planta. Posteriormente, se incluyó la alternativa de emplear un modelo geoquímico para simular/calcular la especiación química.

El objetivo se planteó con el fin de conocer la forma en que se presenta éste metal pesado en el suelo para contribuir al diseño de estrategias de remediación o manejo de suelo (Dutta & Lodhari, 2018). Esta etapa se compone de dos fases, descritas de la siguiente manera:

6.1.1. Recolección de información de muestreos, análisis preliminares y selección de muestras

Para determinar las muestras seleccionadas, se hizo una búsqueda, recolección y organización de la información preliminar, a través de informes de resultados de análisis de laboratorio, publicaciones y reportes técnicos. Se consolidó la mayor información posible de los sitios que han sido muestreados previamente, haciendo énfasis principal en las propiedades fisicoquímicas del suelo y resultados de contenido de Cd en la planta.

A partir de la información preliminar, se procedió a construir criterios de selección que permitieron tomar decisión de las muestras y sitios de muestreo que fueron estudiados en las siguientes fases del proyecto. Los criterios seleccionados en orden jerárquico se muestran en la Tabla 5. Estos se construyeron a través de revisión científica, reuniones y entrevistas con las directoras y los investigadores del proyecto.

Tabla 5. Criterios tenidos en cuenta para la selección de muestras de suelos y foliares a estudiar

No.	Criterios de selección
1	Toma de muestra de hojas y granos del mismo árbol y suelo alrededor del mismo sitio
2	Que se cuenten con resultados de análisis fisicoquímicos y Cd para suelo, hoja y grano
3	Disponibilidad de las muestras de suelo almacenadas para realizar análisis posteriores
4	Valores de Cd total > 0,3 mg/kg en el suelo (3 µg/L en solución)
5	Distribución de órdenes taxonómicos similar a la población
6	Incluir muestras de los seis departamentos muestreados
7	Amplia variación entre pH, MO, arcilla y Cd en el suelo
8	Exclusión de muestras con propiedades similares
9	Contrastes entre propiedades (p.e. Cd similar en suelo y diferente en grano)
10	Disponibilidad de recursos (presupuesto y tiempo)

Teniendo en cuenta los límites de cuantificación en el ICP-OES, que muchas de las muestras poseen valores muy bajos de Cd en el suelo y que se realizarían mediciones de fracciones del Cd total; se revisó la relación entre las extracciones simples vs el Cd total y se encontró que el valor más bajo de Cd extraíble puede ser 40% del total por agua regia. De esta manera, se buscaron concentraciones de Cd que en teoría fueran mayores a 0,1 mg/kg en suelo (mayores a 1 µg/L de Cd en solución), para esto se filtraron las muestras por concentración de Cd total en suelo de mayor a menor y se agruparon las muestras hasta el valor de 0,3 mg/kg. Lo anterior, para asegurar que las extracciones arrojarán lecturas de Cd confiables que estuvieran por encima de los límites de cuantificación del equipo.

6.1.2. Fraccionamiento químico de Cd para las muestras de suelos seleccionadas

Si bien varios autores reportan la aplicación del método de extracción secuencial de Tessier, 1986 (Aikpokpodion et al., 2012; Chavez et al., 2016b), se revisó el método de Rauret de 1999, el cual modificó el método de la *Community Bureau of Reference* (BCR) de tres pasos para extracción secuencial (Ramtahal et al., 2015). También se revisó el uso de modelos geoquímicos con el software ORCHESTRA, el cual es un programa informático para calcular la especiación química y el transporte reactivo (Meeussen, 2023).

Se identificó que ORCHESTRA incluye varios modelos avanzados para la unión de iones: el modelo NICA-Donnan (adsorción competitiva no ideal NICA y la unión no específica basada en el equilibrio de la contracarga a través del volumen Donnan) para la unión de iones a materia orgánica disuelta y particulada, el modelo generalizado de dos capas (GTLN) y el modelo CD-MUSIC para la unión de iones a óxidos e hidróxidos de hierro. El software está escrito en Java y se ejecuta en Windows, Linux y Apple OSX (Meeussen, 2023). Una característica especial de ORCHESTRA en comparación con otros programas de especiación química es la posibilidad de que los usuarios agreguen expresiones y modelos (matemáticos) en formato de texto, viene con un gran conjunto de modelos de adsorción y se puede utilizar para simular reacciones de equilibrio, reacciones controladas cinéticamente, decaimiento radiactivo y transporte. Asimismo, puede crear diagramas de predominancia / pe-pH o de Pourbaix y permite a los usuarios construir nuevos modelos definiendo nuevas clases de objetos de modelo y palabras clave. ORCHESTRA se puede descargar gratuitamente desde: www.orchestra.meeussen.nl.

La evaluación arrojó herramientas de decisión que permitieron seleccionar el modelado geoquímico con el programa ORCHESTRA adaptado a los tipos de suelos seleccionados para el estudio y que, además, permitió obtener el mayor conocimiento posible de las fracciones de Cd en estos suelos, teniendo en cuenta los recursos disponibles en el laboratorio.

En esta fase final del OE1, se estudiaron las fracciones de Cd presentes en los suelos. En algunos casos también se les llama especies o reservas de Cd. Se corrió el software ORCHESTRA y se incluyeron herramientas de control y aseguramiento de calidad para la evaluación de la confiabilidad de los resultados. En la Tabla 6 se muestra las variables que requirió el modelo y los métodos aplicados para su obtención.

Las fracciones obtenidas con la extracción HNO_3 se consideran “totales reactivas” para el modelo. Las extracciones con oxalato de amonio permitieron cuantificar los óxidos e hidróxidos amorfos, mientras que las extracciones con ditionito de sodio permitieron cuantificar los óxidos e hidróxidos totales, por tanto, la resta entre ambas permitió cuantificar los óxidos e hidróxidos cristalinos. Para correr el modelo se requirió transformar las unidades de mg/kg a mol/l; los datos de entrada y las transformaciones realizadas se muestran en el Anexo 1. Para cuantificar la fracción residual, se restó la fracción reactiva (HNO_3) del Cd total (agua regia).

Las muestras utilizadas fueron preparadas para los análisis: se secaron a 60 °C hasta obtener una humedad constante (normalmente toma entre 12 y 24 horas) en hornos de calentamiento por convección, se trituraron con un molino de mortero y se tamizaron mediante malla de acero inoxidable a 2 mm. Para las extracciones ejecutadas, todas las muestras fueron filtradas con filtro de jeringa con membrana de 0,45 μm después de la centrifugación y previo a las lecturas en los equipos.

Tabla 6. Variables utilizadas para calcular las entradas al software ORCHESTRA

Variables (inputs)	Procedimiento	Método	Equipo lectura
pH	Datos preliminares	Mezcla en agua 10 g en 10 ml (1:1)	Potenciómetro
MO		Walkley & Black	Autoanalizador de flujo continuo Skalar San++ con detector UV-Vis
Arcilla		Bouyoucos	Probeta e hidrómetro
Cd, Cu y Zn	Extracción de metales reactivos con ácido nítrico	Ácido nítrico - HNO_3 0,43 M 4 g en 40 ml (1:10) Agitación 4 horas Centrifuga 10 min	ICP-OES Thermo Scientific iCAP 7200 duo
Fe, Al y Mn	Extracción de óxidos e hidróxidos totales con ditionito-citrato-extraíble (método ISO)	Acetato de sodio - CH_3COONa Citrato de sodio - $\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ Ditionito de sodio - $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ Ácido acético - CH_3COOH Ácido nítrico - HNO_3 0,14M pH: 4,8 1,5 g en 30 ml (1:20) Agitación 3,5 horas a baño maria a 60°C Centrifuga 30 min	
Fe, Al y Mn	Extracción de óxidos e hidróxidos de hierro y aluminio amorfos o poco cristalinos con oxalato de	Oxalato de amonio - $(\text{COONH}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ Ácido oxálico - $(\text{COOH})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ pH: 3,0 1,5g en 30ml (1:20) Agitación 4 horas	Espectrofotómetro de Absorción Atómica por llama Thermo Scientific Series

Variables (inputs)	Procedimiento	Método	Equipo lectura
	amonio (método ISO, método de agitación)	Centrifuga 30 min	

6.2. OE2. Estudio de las correlaciones entre las diferentes fracciones del Cd en el suelo y la concentración de Cd en la planta

En el desarrollo de este objetivo se buscó realizar el análisis estadístico de los datos obtenidos anteriormente, para determinar las correlaciones entre las diferentes fracciones de Cd determinadas en el OE1 y el Cd en la planta de cacao. A continuación, se describen las dos fases ejecutadas que contribuyeron a este objetivo:

6.2.1. Estudio de los diferentes tratamientos estadísticos a aplicar

Teniendo en cuenta que el presente proyecto de investigación fue de tipo exploratorio y descriptivo correlacional, se hizo uso de las diferentes herramientas estadísticas aplicables cuando se tienen datos que siguen una distribución normal o no paramétrica, la presencia de datos atípicos y la relación lineal o no de las variables; incluyendo el software y las pruebas de significancia. Se revisaron los tratamientos empleados en estudios similares (Tabla 2 y Tabla 3) y se hicieron consultas a expertos. El enfoque fue el uso de herramientas prácticas y asequibles que conlleven a resultados deductivos y apropiados al análisis que se requiere hacer.

6.2.2. Análisis de correlaciones de las fracciones de Cd en el suelo vs el Cd en el grano

Una vez seleccionados las pruebas y software a aplicar, se corrieron análisis estadísticos de Pearson y Spearman para comparar los resultados del OE1 frente a los resultados que ya se tienen previamente de Cd en cacao. Para evaluar los supuestos de las pruebas estadísticas, se aplicaron pruebas de normalidad de Shapiro-Wilk y Jarque-Bale, se transformaron datos a la escala logarítmica, se hicieron diagramas de cajas, histogramas y gráficos de densidad y dispersión. Al final se identificaron las fracciones de Cd en el suelo más correlacionables con la concentración de Cd de la planta; mediante el programa Excel y el software RStudio de uso libre. Se utilizaron algunos paquetes previamente desarrollados por otros usuarios, disponibles en la red, para hacer análisis de manera más automática y rápida, entre estos: *PerformanceAnalytics*, *tidyverse* y *ggpubr*.

6.3. OE3. Evaluación de métodos de extracción simple y fraccionamiento de Cd en suelos para la predicción del Cd en la planta a través de modelos de regresión lineal múltiple

Si bien los métodos de extracción secuencial permiten obtener un mayor conocimiento de las formas en que se encuentra el Cd en el suelo y su posible disponibilidad para la planta, tienen la desventaja de ser métodos costosos, largos y difíciles de aplicar en los laboratorios de análisis de rutina. Es por ello, que normalmente se emplean métodos de extracción simple que, si bien pierden algo de precisión en la predicción del metal disponible para la planta, tienen la ventaja de ser métodos fáciles de aplicar, rápidos y mucho más económicos.

Numerosos estudios han demostrado que los procedimientos de extracción óptimos son específicos para elementos, cultivos e incluso tipos de suelos particulares (Dutta & Lodhari, 2018; Meers,

Samson, et al., 2007). En este objetivo se evaluaron los métodos de extracción simple para Cd en el suelo para correlacionarlos con las fracciones/reservadas de Cd determinadas en el OE1 y posteriormente, valorar las correlaciones con el Cd en el grano de cacao de acuerdo con lo obtenido en el OE2. Finalmente se clasificó la capacidad de los métodos de laboratorio de Cd extraíble para predecir el Cd en la planta, de acuerdo con las propiedades fisicoquímicas del suelo. Para llevar a cabo este objetivo, se ejecutaron las siguientes cuatro fases:

6.3.1. Estudio de los fundamentos y aplicabilidad de los métodos de extracción simple empleados

Es importante conocer las ventajas y desventajas de los métodos de extracción simple, además de la aplicación de acuerdo con el tipo de suelo que se está estudiando. En general, en Colombia se emplean métodos de extracción de elementos menores en suelos con la solución DTPA, algunos artículos científicos reportan el uso de esta solución para metales pesados (Meers, Du Laing, et al., 2007; Ramtahal et al., 2015). Este método ha sido ampliamente aplicado en los laboratorios nacionales y se encuentra estandarizado en la norma técnica colombiana NTC-5526 (2007). Estudios previos de Cd extraíble en suelo con el fin de correlacionarlo con el Cd en la planta, emplearon métodos como Mehlich 3, HNO_3 , HCl, entre otros (Chavez et al., 2015; Gramlich et al., 2017; Ramtahal et al., 2015). Por lo anterior, se consultaron reportes previos, documentos científicos y guías de laboratorio, para estudiar los procedimientos a aplicar en las siguientes fases.

Para que un procedimiento de análisis de suelo sea autorizado para su uso con fines nutricionales, debe cumplir con los pasos consecutivos: 1) la evaluación de varias soluciones extractoras y métodos de análisis; 2) la correlación del rendimiento del cultivo o la cantidad del nutriente extraído por el mismo, con la cantidad de nutriente extraído por cada una de las soluciones extractoras; y 3) la calibración del procedimiento analítico, que consiste en estimar la concentración del elemento extraído a la cual ya no se observa una respuesta en rendimiento, es decir, estimar el nivel crítico, por encima del cual es improbable la respuesta del nutriente en cuestión (Castellanos Ramos & Santiago Rodríguez, 2016). Tratando de abordar la pregunta de investigación frente a los métodos de extracción de metales pesados que mejor predicen la respuesta en la planta; se emplearon criterios similares a los nutricionales para seleccionar los métodos a emplear.

Por lo tanto, para la selección de los métodos de extracción a utilizar se tuvo en cuenta los siguientes aspectos: las soluciones empleadas, la fracción nominal de interés, la fuerza del medio de extracción, el tipo de suelo y el cultivo (González et al., 2000; Mylavarapu et al., 2014). Una vez estudiados los métodos de extracción simple, se definieron los procedimientos que fueron aplicados en la presente investigación. Para esto fue importante, tener en cuenta los estudios previos aplicados en el cultivo de cacao, pero también los tipos de suelos y las prácticas comunes de los laboratorios nacionales en cuanto a los métodos de extracción y los equipos de lectura. Chavez et al., (2016a) emplearon HCl y Mehlich 3 para correlacionarlos posteriormente con las fracciones/especies, no obstante, en Colombia se han empleado otros métodos: DTPA, EDTA y Olsen (Correa et al., 2021; Rodríguez Albarracín et al., 2019).

Por último, se seleccionaron métodos que fueran fáciles y económicamente replicables en los laboratorios de análisis y que incluyeran: no solo un amplio alcance en cuanto a las fuerzas de extracción y las fracciones nominales de interés, sino también, que la concentración final de Cd en

la solución pudiera ser medida en el ICP-OES, por tanto, los métodos de extracción de fracciones solubles o disueltas no fueron tenidos en cuenta.

6.3.2. Mediciones de Cd empleando los métodos de extracción simple seleccionados

En la Tabla 7 se muestran los métodos de extracción simple seleccionados, estos se implementaron en el Laboratorio de Servicios Analíticos de la Alianza Bioversity – CIAT. Igual que con las extracciones realizadas para el fraccionamiento químico (software ORCHESTRA), en esta fase, se incluyeron criterios de aseguramiento y control de calidad, que permitieron evaluar la confiabilidad de los resultados: blancos, muestras por triplicados y muestras de referencia para comparación con laboratorio de la Universidad de Wageningen. Dado que no existen materiales de referencia certificados para suelos empleando estos métodos, se adicionaron spikes de Cd a muestras de referencia internas para tratar de evaluar la recuperación del elemento a través de los métodos estudiados. Asimismo, se incluyeron muestras de control internas, con el fin de caracterizarlas y tener valores de referencia internos, para futuros estudios.

No se tuvieron en cuenta los métodos de extracción de las especies de Cd más disponibles, como los que usan soluciones de agua, CaCl_2 y sales débiles, dado que, los límites de cuantificación del ICP-OES no permiten llegar a niveles tan bajos como un ICP-MS y se evitó tener valores de Cd en solución por debajo de estos niveles de confianza o que arrojaran valores de cero.

Tabla 7. Métodos de extracción simple de Cd realizados para los suelos estudiados

Procedimiento	Método	Equipo lectura
Extracción simple con ácido nítrico	Ácido nítrico - HNO_3 0,43M 4 g en 40 ml (1:10), Agitación 4 horas, Centrifuga 10 min	
Extracción simple con quelante EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético - $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_8 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (alternativamente: Na-EDTA o NH_4 -EDTA) Hidróxido de sodio - NaOH 2 M pH: 5 10 g en 40 ml (1:4), Agitación 24 horas, Centrifuga 10 min	
Extracción simple con quelante DTPA	Pentacetato de dietilentriamina - $\text{C}_{14}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_{10}$ Trietanolamina - $\text{C}_6\text{H}_{15}\text{NO}_3$ Cloruro de calcio - CaCl_2 pH: 7,3 10 g en 20 ml (1:2), Agitación 2 horas, Centrifuga 10 min	ICP-OES Thermo Scientific iCAP 7200 duo
Extracción simple con Mehlich 3	Ácido etilendiaminotetraacético - $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_8 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (alternativamente: Na-EDTA o NH_4 -EDTA) Fluoruro de amonio - NH_4F Nitrato de amonio - NH_4NO_3 Ácido acético - CH_3COOH Ácido nítrico - HNO_3 pH: 2,5 2 g en 20 ml (1:10), Agitación 5 min	

6.3.3. Correlación de los resultados de Cd en el suelo vs Cd en la planta y modelos de regresión lineal múltiple

En esta parte se estudiaron las concentraciones del Cd en el sistema suelo-planta, evaluando las correlaciones: inicialmente de las fracciones químicas obtenidas del OE1 y posteriormente, de las concentraciones obtenidas con los métodos simples de la fase anterior. Se identificaron las

fracciones modeladas que mejor correlacionaron con el Cd en la planta, luego estas mismas fueron correlacionadas con los resultados obtenidos por las extracciones simples. Lo anterior, con el fin de obtener la mayor información posible de los métodos empleados como herramientas operativas de medición de biodisponibilidad.

En este punto se emplearon gráficos de correlación con los datos sin transformar y se calcularon los coeficientes de Spearman. Luego, se clasificaron los suelos de acuerdo con los rangos de propiedades fisicoquímicas (Tabla 8), teniendo en cuenta recomendaciones para suelos de Colombia (Jaramillo, 2002). Este análisis se realizó con el fin de evaluar de qué manera los métodos de extracción simple se ven afectados por las propiedades del suelo y explicar, de manera mecanicista, cómo funciona cada solución de extracción en el suelo frente a las fracciones de interés para la planta.

Tabla 8. Clasificación de suelos por rango de pH, MO y arcilla

Rango pH	Clasificación	Rango MO (%)	Clasificación	Rango Arcilla (%)	Clasificación
<5,5	Acidez fuerte	<2,9	Bajo	<30	Bajo
5,5-5,9	Acidez moderada	2,9-5,5	Medio	30-39	Medio
6,0-6,9	Neutro	>5,5	Alto	>40	Alto
>7,0	Medio alcalino				

Adaptado de Jaramillo, (2002)

Finalmente, con los métodos de extracción simple se aplicaron modelos de regresión lineal múltiple con los datos de Cd transformados a logaritmo en base 10, para evaluar la capacidad de predicción de las variables estudiadas (incluyendo Cd extraíble) vs el Cd total tradicionalmente medido con agua regia. Se tuvieron en cuenta estudios previos donde han encontrado una fuerte correlación del Cd en el grano con las propiedades del suelo: Cd, pH, MO y arcilla (Argüello et al., 2019; Bravo et al., 2021; Ramtahal et al., 2015).

Se revisaron las metodologías estadísticas aplicadas en el estado del arte (Capítulo 4), donde se encontraron que los criterios de evaluación usados comúnmente fueron: R^2 , el Criterio de Información de Akaike (AIC) y el Criterio de Información Bayesiano (BIC). Normalmente emplearon uno o dos de los criterios. Para la presente investigación, se aplicaron los tres criterios con el fin de analizar su desempeño con las variables estudiadas.

El criterio R^2 mide lo bien que un modelo de regresión se ajusta a los datos reales, en otras palabras, es la medida de la precisión general del modelo. El AIC es una medida utilizada en estadística para comparar diferentes modelos y determinar cuál de ellos es el más adecuado para describir un conjunto de datos. El AIC proporciona una forma de equilibrar la bondad de ajuste del modelo y la complejidad del modelo. Cuanto menor sea el valor de AIC, mejor se considera el modelo (Burnham & Anderson, 2004).

La metodología de evaluación de modelo BIC, al igual que el criterio AIC, es una medida utilizada en estadística para evaluar diferentes modelos. El BIC es similar al AIC, pero tiene una penalización más fuerte por la complejidad del modelo (más variables). Al comparar varios modelos, el criterio para seleccionar el mejor modelo es elegir aquel con el valor de BIC o AIC más bajo. Un valor más bajo indica que el modelo tiene un buen ajuste a los datos con una menor complejidad (Burnham & Anderson, 2004).

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados y discusión se presentan en la misma disposición de la metodología ligada a cada objetivo específico (OE). Inicialmente, se presentan los resultados de QC/QA que son transversales a todas las fases del proyecto, los cuales son expuestos en la Tabla 9.

Tabla 9. Control de calidad de resultados obtenidos de extracciones realizadas

RESUMEN		BLANCOS	LOQ	REPETIBILIDAD	RECUPERACIÓN	REPRODUCIBILIDAD				
Extracción		mg/kg	mg/kg	CV (%)	Spike (mg/kg)	Rec (%)	R ²	Pendie	Intercep	CV (%)
HNO ₃	Cd	0,0	0,002	5%	125	97%	0,98*	0,98	0,02	6%
	Cu	-0,1	0,449	5%	-	-	0,99*	0,88	-0,46	16%
	Zn	-0,3	2,7	3%	-	-	0,99*	0,95	-0,99	12%
EDTA	Cd	0,0	0,006	1%	50	81%	1,00*	1,29	-0,05	16%
	Cu	0,0	0,115	8%	-	-	0,99*	1,01	-1,44	17%
	Zn	-0,1	1,5	7%	-	-	0,96*	1,23	-0,08	19%
M3	Cd	0,0	0,007	0%	125	62%	1,00*	0,79	0,00	23%
	Cu	0,5	1,217	2%	-	-	0,99*	0,89	-0,51	28%
	Zn	0,0	0,7	1%	-	-	0,98*	0,83	0,94	9%
DTPA	Cd	0,0	0,001	2%	25	86%	0,89	1,27	-0,13	7%
	Cu	0,0	0,272	6%	-	-	1,00*	0,76	-0,10	44%
	Zn	-0,1	0,1	3%	-	-	0,99*	1,01	-0,31	8%
Oxalato	Al	3,0	42,5	4%	-	-	1,00*	0,88	245,08	8%
	Fe	3,9	7,1	2%	-	-	0,99*	0,92	343,62	9%
	Mn	0,5	2,8	5%	-	-	0,99*	0,78	99,32	9%
Ditionito	Al	9,2	44,9	2%	-	-	1,00*	0,66	651,84	15%
	Fe	15,7	19,0	5%	-	-	0,97*	0,82	3282,27	12%
	Mn	1,4	14,8	5%	-	-	0,97*	1,18	-298,86	28%

* $p < 0,01$. Rec: recuperado, Pendie: pendiente, Intercep: intercepto, M3: Mehlich 3, LOQ: límite de cuantificación del método

- Blancos: los resultados obtenidos en mg/kg muestras valores bajos para los blancos lo que indica que durante las extracciones no se presentó contaminación cruzada, para los resultados finales no se aplicó corrección por blanco.
- LOQ: con los resultados obtenidos para los blancos, se aplicó la siguiente fórmula para el cálculo de los límites de cuantificación del método:

$$LOQ = \bar{X} + 10 \sigma$$

Donde:

LOQ: límite de cuantificación del método en mg/kg

$\bar{X}$: valor promedio de los blancos en mg/kg

σ : desviación de los blancos en mg/kg

Luego se compararon todos los resultados obtenidos para las muestras de suelos y se encontró que todos los valores estuvieron por encima de los LOQ, por tanto, son valores confiables para emplear en los análisis.

- Repetibilidad: para todos los elementos trabajados se obtuvo valores de coeficiente de variación (CV) por debajo de 10%, lo que muestra que los métodos aplicados tuvieron una alta repetibilidad para las condiciones del laboratorio. Lo anterior también evidencia que las muestras trabajadas fueron bastante homogéneas y que los tamaños de muestra trabajados fueron representativos.
- Dada la dificultad de encontrar materiales de referencia certificados para las extracciones específicas que se realizaron, el uso de spike puede ser un método útil para evaluar la recuperación y la exactitud de las mediciones, esto se aplicó para las extracciones con Cd a modo exploratorio. Los resultados muestran que para las extracciones HNO₃, EDTA y DTPA, la recuperación estuvo por encima del 80%, mientras que para M3 fue 62%. Los valores bajos se pueden explicar debido al cálculo del spike añadido (teórico), dado que se asume que el volumen final de la solución filtrada es el mismo añadido, pero no siempre es así porque el suelo retiene agua y normalmente el volumen final es menor. Esto afecta el cálculo y hace parecer que la recuperación es más baja de lo que realmente fue. Adicionalmente, el spike añadido en algunos casos fue muy alto (125 mg/kg) y dificultó la medición final, por ende, se tuvieron que hacer múltiples diluciones.
- Reproducibilidad: para evaluar la capacidad de los métodos de extracción para ser replicados por otros laboratorios o bajo otras condiciones de operación, se hicieron curvas de correlación lineal y se obtuvo valores de R² cercanos a uno con bastante significancia y, pendientes cercanas a uno. Los interceptos para las extracciones de metales pesados arrojaron valores cercanos a cero, como se esperaba, mientras que, para las extracciones de los óxidos de Al, Fe, y Mn los interceptos fueron más altos, pues las concentraciones de estos en los suelos son mucho más altas. Además, se estimaron los CV y se obtuvieron 14 elementos por debajo del 20%, tres elementos entre 20-30% y un elemento por encima del 30%; como era de esperarse la variación en la reproducibilidad fue mayor que en la repetibilidad. No obstante, los resultados muestran tendencias lineales y buena reproducibilidad, algunos elementos como el cobre tuvieron los CV más altos, este elemento fue medido por absorción atómica. En comparación con pruebas interlaboratorios internacionales como WEPAL, las variaciones para métodos de extracción de suelo suelen estar alrededor del 20%.

Los resultados de QC/QA muestran que los métodos de extracción y las lecturas en los equipos, fueron procedimientos con altos índices de repetibilidad y reproducibilidad, siguieron tendencias en los niveles bajos y altos, lo que sugiere que podrían replicarse en otros laboratorios y bajo otras condiciones de operación, siguiendo los mismos protocolos de análisis. Las herramientas aplicadas, muestran buena capacidad para detectar tendencias, sesgos y variaciones, por lo tanto, se recomiendan aplicar para futuros estudios del mismo tipo.

7.1. OE1. Análisis de las fracciones de Cd en suelos a través de modelos geoquímicos para la comprensión de la distribución del elemento en el suelo

7.1.1. Recolección de información de muestreos y análisis preliminares

En la revisión que se hizo al momento de iniciar los análisis experimentales (diciembre 2022), se encontraron 276 sitios de muestreo, con muestras de suelo, hojas y granos del mismo árbol. Los análisis fisicoquímicos básicos se realizaron en el Laboratorio de Servicios Analíticos de CIAT en Palmira – Colombia, mientras que los análisis de metales pesados se realizaron en el laboratorio de la Escuela de Biociencias de la Universidad de Nottingham en Inglaterra. Los valores obtenidos para las propiedades fisicoquímicas de interés para este proyecto se muestran en la Tabla 10.

Tabla 10. Resumen de propiedades fisicoquímicas básicas para los 276 sitios de muestreo en Colombia

	pH (Un)	MO Total (g/kg)	Arcilla (%)	Cd Total Suelo (mg/kg)	Cd Total Grano (mg/kg)	Cd Total Hoja (mg/kg)
Promedio	5,7	62,7	34,6	0,73	1,58	4,95
Mínimo	4,2	10,1	11,1	0,02	0,05	0,12
Máximo	7,7	245,6	69,4	41,2	22,7	158,4
SD	0,7	36,2	14,2	2,7	2,9	13,4
Q1 (25%)	5,3	41,1	23,8	0,1	0,3	0,8
Q2 (50%)	5,7	56,3	33,5	0,2	0,6	1,5
Q3 (75%)	6,1	75,9	44,5	0,6	2,0	4,9

SD: desviación estándar, Q: cuartiles, MO: materia orgánica

De los resultados preliminares de Nottingham para metales pesados, se encontraron los criterios descritos en la Tabla 11 de QC/QA que garantizan la confianza de los resultados emitidos y los métodos de análisis aplicados.

Tabla 11. Métodos de análisis y QC/QA laboratorio de Nottingham

Análisis	Ácido de digestión	Equipos	QC/QA	Variación (%)	Recuperación (%)
Cd en suelo	Agua regia	Digestor microondas Anton Paar	Uso de materiales de referencia certificados de suelo, hoja de tomate y cacao en cada corrida (NIST 1573a, NIST 2711a, BCR142R, BD512)	Promedio < 10	Promedio: 95 Min: 90 Max: 104
Cd en hoja	Ácido nítrico	Plancha caliente Anton Paar ICP-MS Thermo-Fisher iCAP-Q (un cuadrupolo) y iCAP-TQ (triple cuadrupolo)	10 blancos operacionales en cada corrida	Promedio < 10	Promedio: 96 Min: 92 Max: 103
Cd en grano	Ácido nítrico		Duplicados de muestras cada 10 muestras	Promedio < 10	Promedio: 103 Min: 95 Max: 109

De las 276 muestras de suelos, el 61% correspondieron al orden Inceptisol, lo que coincide con lo reportado por Bravo et al., (2021), que estudiaron 1837 muestras de suelos de Colombia y encontraron 63% de suelos de este orden. Los Inceptisoles son suelos jóvenes de evolución baja a

media, ubicados en zonas más o menos estables a través del tiempo, con algún grado de desarrollo, fertilidad variable, desde alta, en las zonas de influencia en los ríos, hasta baja, en las zonas montañosas y húmedas. Le siguieron los Entisoles con el 25%, también son suelos jóvenes, con poca o ninguna evidencia de horizontes pedogenéticos, formados en zonas donde el material parental recientemente se deposita o en áreas donde la erosión es más rápida que la tasa de formación de suelo. Asimismo, son suelos que tienen muy baja evolución, presencia de minerales primarios fértiles por la constante sedimentación de diversos materiales, y poco fértiles en zonas de montaña. Por último, entre los principales órdenes se encontraron los Andisoles con 12% de presencia, que son suelos derivados de cenizas volcánicas, con poca o moderada evolución, retención de humedad alta, minerales con poca estructura cristalina ordenada. Tienen alta capacidad buffer, alta fijación de fósforo y MO, mediana fertilidad (Daza Torres, 2021).

En cuanto a los niveles de Cd, se hallaron 74 sitios con valor $\leq 0,10$ mg/kg de Cd total en el suelo, de estos sitios se revisaron los valores analizados de Cd en la planta y se halló que para 71 de estos, el valor de Cd en el grano fue $< 0,80$ mg/kg. Por el contrario, se encontraron 38 sitios con valor de Cd total $\geq 1,00$ mg/kg en el suelo; de estos, 37 tuvieron un valor $\geq 0,80$ mg/kg de Cd en el grano.

Analizando como se distribuyen las concentraciones de Cd total en el suelo y en el grano para los sitios muestreados, teniendo en cuenta el límite máximo de la UE para productos de cacao y chocolate (Unión-Europea, 2014), e intentando determinar valores seguros y riesgosos para la producción del cacao en Colombia, se clasificaron las muestras estudiadas según la Tabla 12. Se hallaron 74 sitios con valor $\leq 0,10$ mg/kg de Cd total en el suelo, de estos sitios se revisaron los valores analizados de Cd en la planta y se halló que para 71 de estos, el valor de Cd en el grano fue $< 0,80$ mg/kg. Por el contrario, se encontraron 38 sitios con valor de Cd total $\geq 1,00$ mg/kg en el suelo; de estos, 37 tuvieron un valor $\geq 0,80$ mg/kg de Cd en el grano.

Tabla 12. Distribución de los niveles de Cd en suelo y grano para 276 sitios muestreados en Colombia

Clasificación	Cd total suelo (mg/kg)	Cd en grano (mg/kg)	Probabilidad (%)
Rango seguro	$\leq 0,10$	$< 0,80$	96
Rango incierto	$> 0,10 < 1,00$	$< 0,80$	54
		$\geq 0,80$	46
Rango riesgoso	$\geq 1,00$	$\geq 0,80$	97

Elaboración propia

Una vez identificados los sitios de muestreo, junto con las coordenadas geográficas, se utilizó el software de sistemas de información geográfica ArcGIS para ubicar los puntos dentro de los mapas de suelos reportados por el Instituto Geográfico Agustín Codazzi -IGAC (<https://geoportal.igac.gov.co/>), con el fin de identificar información relevante de suelos como clima, paisaje y especialmente órdenes taxonómicos para las muestras tomadas en el proyecto.

7.1.2. Selección de muestras de suelos a estudiar

Al aplicar los criterios de selección descritos en la metodología (6.1.1) resultaron 34 muestras de suelos seleccionadas (Figura 3 y Tabla 15). Se mantuvo la distribución de los órdenes taxonómicos, para obtener 65% de Inceptisoles. Simultáneamente se hizo la distribución por departamento, las siete muestras del Cesar seleccionadas fueron suelos Entisoles. Se encontraron seis suelos Molisoles cuyas concentraciones estaban por debajo de 0,3 mg/kg, por lo que no se consideraron en esta

investigación, y dos suelos Andisoles con $Cd > 0,3$ mg/kg, que si se consideraron. Del departamento de Nariño solo se obtuvo tres muestras con $Cd > 0,3$ mg/kg las cuales se incluyeron. La única muestra de suelo Alfisol tuvo $Cd < 0,3$ mg/kg. Se incluyeron muestras para los seis departamentos que han sido muestreados hasta la fecha (Tabla 13).

Tabla 13. Distribución de muestras seleccionadas para extracciones. A: por orden taxonómico y B: por Departamento

A			B		
Muestras seleccionadas			Muestras seleccionadas		
Orden Taxonómico	Muestras	%	Departamento	Selección	%
Inceptisoles	22	65%	Antioquia	8	24%
Entisoles	9	26%	Boyacá	5	15%
Andisoles	3	9%	Cesar	7	21%
Total	34	100%	Nariño	3	9%
			Santander	4	12%
			Tolima	7	21%
			Total	34	100%

Dentro de cada departamento se excluyeron las muestras con propiedades similares de pH, MO, Cd en hojas, Cd en granos y arcillas. Dentro de las muestras seleccionadas para cada departamento se incluyó todo el rango de las propiedades de interés, asimismo, contemplando contrastes entre estos, por ejemplo, algunas con Cd en suelo similares, pero pH y Cd en grano diferente (Tabla 14).

Tabla 14. Propiedades fisicoquímicas de las 34 muestras seleccionadas

	pH (Un)	MO Total (g/kg)	Arcilla (%)	Cd Total Suelo (mg/kg)	Cd Total Grano (mg/kg)	Cd Total Hoja (mg/kg)
Promedio	6,0	55,1	33,0	3,3	5,8	20,5
Mínimo	4,3	16,2	11,1	0,3	0,4	1,0
Máximo	7,6	121,2	62,2	41,2	22,7	158,4
SD	0,8	28,5	14,2	7,2	5,3	31,7
Q1 (25%)	5,5	29,0	18,2	0,6	1,4	2,4
Q2 (50%)	6,0	52,2	33,7	1,2	3,9	8,4
Q3 (75%)	6,5	77,9	41,0	2,3	9,7	23,3

SD: desviación estándar, Q: cuartiles, MO: materia orgánica



Figura 3. Mapa de Colombia con 34 sitios seleccionados a estudiar

Tabla 15. Sitios seleccionados para estudio con sus principales características

Sitio	Departamento	Arcilla (%)	Textura Clase	pH	MO g/kg	Cd Total mg/kg Suelo	Cd Total mg/kg Hoja	Cd Total mg/kg Grano	Clima	Paisaje	Relieve	Orden
1	Cesar	17,2	Franco arenosa	6,75	19,1	0,7	1,8	1,2	Cálido Semihúmedo	Piedemonte	Abanicos y glacis	Entisol
2	Cesar	15,9	Franca	7,64	30,5	0,4	1,7	1,1	Cálido Semihúmedo	Piedemonte	Abanicos y glacis	Entisol
3	Cesar	11,1	Franca	7,02	16,5	4,2	28,4	11,8	Cálido Semihúmedo	Piedemonte	Abanicos y glacis	Entisol
4	Cesar	13,6	Franco arenosa	6,08	16,4	1,4	16,3	10,3	Cálido Semihúmedo	Piedemonte	Abanicos y glacis	Entisol
5	Cesar	12,4	Franca	7,00	16,3	1,8	19,0	8,0	Cálido Semihúmedo	Piedemonte	Abanicos y glacis	Entisol
6	Cesar	15,0	Franco arenosa	7,22	27,0	3,9	5,2	3,7	Cálido Semihúmedo	Piedemonte	Abanicos y glacis	Entisol
7	Cesar	34,0	Franco arcillosa	7,40	29,0	2,0	4,3	3,2	Cálido Semihúmedo	Piedemonte	Abanicos y glacis	Entisol
8	Nariño	38,9	Franco arcillosa	5,65	48,9	0,3	4,7	1,6	Cálido Húmedo	Planicie marina	Plano de marea	Entisol
9	Nariño	62,2	Arcillo limosa	5,07	46,0	0,4	7,4	1,3	Cálido Húmedo	Planicie aluvial	Plano de inundación	Inceptisol
10	Nariño	40,3	Arcillo limosa	6,28	60,8	0,3	1,7	0,7	Cálido Húmedo	Planicie aluvial	Terrazas	Andisol
11	Tolima	47,5	Arcillosa	5,95	63,7	0,4	2,1	0,4	Templado Húmedo	Montaña	Lomas y colinas	Andisol
12	Tolima	22,1	Franco arcillo arenosa	6,67	121,2	0,8	1,0	0,6	Templado Húmedo	Montaña	Lomas y colinas	Andisol
13	Tolima	30,0	Franco arcillo arenosa	6,38	56,9	2,2	7,9	3,8	Templado Semihúmedo	Montaña	Filas y vigas	Inceptisol
14	Boyacá	55,4	Arcillosa	4,35	55,4	0,6	20,0	4,4	Templado Húmedo	Montaña	Filas y vigas	Inceptisol
15	Boyacá	16,7	Franco arenosa	6,03	88,2	10,8	24,5	9,4	Templado Húmedo	Montaña	Crestas y crestones	Inceptisol
16	Boyacá	39,7	Franco arcillosa	5,43	62,1	41,2	158,4	22,7	Cálido Húmedo	Montaña	Crestas y crestones	Inceptisol
17	Boyacá	16,6	Franco arenosa	6,17	101,8	8,6	16,8	4,4	Templado Húmedo	Montaña	Crestas y crestones	Inceptisol
18	Boyacá	49,9	Arcillo limosa	4,56	43,8	1,3	49,8	10,1	Templado Semihúmedo	Montaña	Lomas y colinas	Inceptisol
19	Santander	38,0	Franco arcillosa	6,55	27,8	1,4	15,0	6,5	Cálido Semihúmedo	Lomerío	Lomas y colinas	Inceptisol
20	Santander	27,2	Franco arcillo limosa	5,78	24,5	1,7	32,3	10,5	Cálido Semihúmedo	Lomerío	Lomas y colinas	Inceptisol
21	Santander	51,7	Arcillosa	5,32	29,1	0,8	33,7	8,9	Cálido Semihúmedo	Lomerío	Lomas y colinas	Inceptisol
22	Santander	40,6	Arcillo limosa	6,11	22,0	0,6	12,7	5,6	Cálido Semihúmedo	Lomerío	Lomas y colinas	Inceptisol
23	Tolima	32,9	Franco arcillo arenosa	5,37	95,5	0,6	3,9	2,0	Templado Húmedo	Montaña	Filas y vigas	Inceptisol
24	Tolima	34,7	Franco arcillo arenosa	5,52	80,8	0,4	3,2	1,3	Templado Húmedo	Montaña	Filas y vigas	Entisol
25	Tolima	40,1	Arcillosa	6,02	47,8	2,3	98,6	15,3	Templado Semihúmedo	Montaña	Filas y vigas	Inceptisol
26	Tolima	42,8	Arcillosa	5,67	78,3	8,6	56,4	10,7	Templado Semihúmedo	Montaña	Filas y vigas	Inceptisol
27	Antioquia	58,9	Arcillosa	5,67	61,6	0,5	8,9	3,4	Templado semiárido	Montaña	Crestas y espinazos	Inceptisol
28	Antioquia	17,3	Franco arenosa	6,34	76,7	1,5	2,2	1,7	Templado Húmedo	Montaña	Crestas y espinazos	Inceptisol
29	Antioquia	41,2	Arcillosa	5,72	88,0	0,5	1,5	0,5	Templado Húmedo	Montaña	Crestas y espinazos	Inceptisol
30	Antioquia	33,5	Franco arcillo arenosa	7,03	73,3	0,7	1,4	0,6	Templado Húmedo	Montaña	Crestas y espinazos	Inceptisol
31	Antioquia	31,2	Franco arcillo arenosa	4,89	92,5	1,0	15,2	4,1	Templado Húmedo	Montaña	Crestas y espinazos	Inceptisol
32	Antioquia	44,0	Arcillosa	5,79	44,7	4,1	1,3	9,7	Templado Húmedo	Montaña	Crestas y espinazos	Inceptisol
33	Antioquia	21,1	Franco arcillo arenosa	5,36	41,2	0,6	5,1	2,2	Cálido Semihúmedo	Montaña	Crestas y espinazos	Inceptisol
34	Antioquia	28,1	Franco arcillosa	5,53	86,0	5,0	34,3	13,8	Templado Húmedo	Montaña	Abanicos y glacis	Inceptisol

7.1.3. Fraccionamiento químico de Cd para las muestras de suelos seleccionadas

Resultó importante considerar no sólo los requerimientos de las extracciones secuenciales en cuanto a equipos de medición avanzados como el ICP-MS, sino también el tiempo requerido para hacer cada una de las extracciones y el alto costo total de las extracciones y análisis. Se determinó el uso del software ORCHESTRA que, por el contrario, no requiere tantas extracciones ni equipos muy avanzados para lectura, dado que usa como entradas al modelo, los resultados de los análisis fisicoquímicos que ya se tenían previamente y la aplicación de dos extracciones simples (Tabla 6) para medir Fe, Al y Mn en equipos de lectura más convencionales y menos avanzados como el Espectrofotómetro de Absorción Atómica por llama (EAA).

Kim et al., (2015) revisaron las ventajas y limitaciones de las diferentes formas de evaluar la disponibilidad de metales pesados en el suelo, incluyendo las extracciones químicas y los modelos geoquímicos, e igual que en la presente investigación, identificaron al software ORCHESTRA, junto con otros, como herramientas de cálculo de la concentración de iones metálicos libres disueltos en el agua intersticial y la fracción metálica disponible real utilizando las reacciones y constantes termodinámicas.

Las fracciones de Cd en el suelo para los suelos estudiados obtenidas con el programa ORCHESTRA se muestran en la Tabla 16. Los datos de entrada y las transformaciones realizadas se muestran en el Anexo 1.

Tabla 16. Concentraciones de Cd en fracciones del suelo arrojadas por ORCHESTRA

Sitio	Disuelto	HFO	HMO	Arcilla	HA	FA	Residual	Suma
mg/kg								
1	0,003	0,004	0,107	0,005	0,233	0,038	0,336	0,726
2	0,001	0,003	0,115	0,000	0,133	0,010	0,102	0,364
3	0,016	0,125	2,078	0,037	1,229	0,214	0,534	4,232
4	0,012	0,003	0,040	0,073	0,722	0,169	0,370	1,389
5	0,006	0,033	0,651	0,012	0,547	0,088	0,475	1,813
6	0,004	0,019	0,844	0,002	0,347	0,044	2,672	3,931
7	0,003	0,021	0,548	0,002	0,278	0,029	1,133	2,015
8	0,002	0,000	0,001	0,008	0,137	0,033	0,101	0,282
9	0,003	0,000	0,001	0,065	0,200	0,063	0,085	0,418
10	0,001	0,000	0,004	0,002	0,121	0,021	0,142	0,291
11	0,002	0,000	0,005	0,008	0,187	0,041	0,111	0,353
12	0,005	0,000	0,002	0,017	0,357	0,107	0,263	0,751
13	0,009	0,002	0,054	0,026	0,801	0,161	1,169	2,224
14	0,004	0,000	0,000	0,133	0,182	0,076	0,187	0,582
15	0,031	0,002	0,110	0,102	2,548	0,648	7,327	10,768
16	0,190	0,006	0,247	4,508	11,555	3,616	21,093	41,214
17	0,021	0,000	0,025	0,064	1,756	0,457	6,270	8,593
18	0,009	0,000	0,001	0,327	0,409	0,160	0,440	1,347
19	0,005	0,004	0,144	0,020	0,390	0,071	0,796	1,429

Sitio	Disuelto	HFO	HMO	Arcilla	HA	FA	Residual	Suma
mg/kg								
20	0,003	0,000	0,007	0,020	0,202	0,048	1,451	1,732
21	0,004	0,000	0,003	0,074	0,223	0,064	0,406	0,773
22	0,003	0,001	0,013	0,020	0,199	0,042	0,353	0,630
23	0,003	0,000	0,000	0,014	0,223	0,064	0,251	0,556
24	0,002	0,000	0,000	0,006	0,132	0,034	0,211	0,386
25	0,014	0,001	0,061	0,112	1,104	0,258	0,796	2,347
26	0,051	0,001	0,017	0,727	3799	1,082	2,953	8,630
27	0,003	0,000	0,001	0,022	0,233	0,058	0,233	0,550
28	0,004	0,001	0,032	0,004	0,367	0,072	1,014	1,494
29	0,002	0,000	0,001	0,007	0,171	0,042	0,251	0,473
30	0,002	0,000	0,088	0,001	0,150	0,019	0,399	0,658
31	0,004	0,000	0,000	0,041	0,301	0,106	0,561	1,013
32	0,023	0,003	0,150	0,320	1,613	0,420	1,609	4,138
33	0,003	0,000	0,001	0,020	0,233	0,065	0,275	0,598
34	0,028	0,001	0,053	0,238	2,080	0,613	2,022	5,034
Promedio	0,014	0,007	0,159	0,207	0,975	0,266	1,659	3,286
Mínimo	0,001	0,000	0,000	0,000	0,121	0,010	0,085	0,282
Máximo	0,190	0,125	2,078	4,508	11,555	3,616	21,093	41,214
% Cd total	0,4%	0,2%	4,8%	6,3%	29,7%	8,1%	50,5%	100%

HFO: óxidos de aluminio y hierro, HMO: óxidos de manganeso, HA: ácidos húmicos, FA: ácidos fúlvicos

En promedio la distribución de las fracciones de Cd en los suelos estudiados decreció en el siguiente orden: *residual > HA > FA > arcilla > HMO > disuelto > HFO*. Estas fracciones se graficaron en términos porcentuales (Figura A1 del Anexo 2) para los suelos estudiados por departamento, en la cual se puede apreciar en general que las fracciones residual y unida a HA son las más representativas. Un caso particular fueron las muestras de suelo del departamento del Cesar que tienen las mayores fracciones de óxidos e hidróxidos, incluso en algunos casos, la fracción HMO es la mayoritaria (cerca del 50%) por encima de la residual y de la HA. En estos suelos, se encontraron los valores más altos de pH, su orden son Entisoles los cuales son suelos poco evolucionados, contienen bajos niveles de arcilla y baja MO, suelos con poco desarrollo de horizontes B.

Para los suelos del departamento de Santander, la fracción que predominó fue la residual; en general, estos suelos mostraron bajos niveles de Cd total en el suelo, pero alta transferencia al grano. Allí se hace interesante posteriormente correlacionar las demás fracciones con el Cd en la planta. En los suelos del departamento del Tolima, las fracciones de Cd que fueron predominantes fueron las unidas a los ácido húmicos y fúlvicos, bastante por encima de las fracciones residuales, igual que los suelos del departamento de Nariño, que coinciden con los altos niveles en general de MO en el suelo (Tabla 15). En el departamento de Boyacá, sin bien no fueron las mayoritarias, se presentaron los niveles más altos para las fracciones de Cd unido a las arcillas, llegando casi a 25%.

Con el fin de comparar con resultados previos de especiación química y evaluar la capacidad de reacción de cada fracción, al igual que Gutiérrez et al., (2022) se consideraron las fracciones HA y FA

como oxidables debido a la unión con la materia orgánica. En cuanto a las fracciones reducibles, se consideraron HMO y HFO dada la unión a los óxidos de aluminio, hierro y manganeso. Las fracciones estudiadas hacen parte de las fracciones reactivas, puesto que las no reactivas se encuentran en la fase residual, las fracciones unidas a las arcillas se asocian a las fracciones intercambiables; sin embargo, esta fracción será menor que la fracción que normalmente se conoce como intercambiable, dado que en este trabajo solo se estarán teniendo en cuenta los sitios de intercambio de los minerales de arcilla y no del resto de las superficies con carga. Los datos se reagruparon de acuerdo con la capacidad de reacción encontrada (Tabla 17).

Tabla 17. Concentraciones de Cd en fracciones reorganizadas por capacidad de reacción

Sitio	Agua-soluble	Reducible	Intercambiable	Oxidable	Residual	Suma
	mg/kg					
Promedio	0,014	0,166	0,207	1,241	1,659	3,286
Mínimo	0,001	0,000	0,000	0,142	0,085	0,282
Máximo	0,190	2,203	4,508	15,171	21,093	41,214
% Cd total	0,4%	5,0%	6,3%	37,8%	50,5%	100%

Los resultados obtenidos se compararon con estudios previos (Tabla 18) y se encontró que las diferentes metodologías arrojan resultados comparables y útiles para el estudio de las fracciones de Cd en el suelo. En los tres casos de estudios con suelos tropicales (Aikpokpodion et al., 2012; Chavez et al., 2016b; Rodriguez, 2017), se encuentran diferencias en la fracción predominante y la fracción minoritaria. Para el caso de Ecuador la principal fracción fue la unida a la materia orgánica, lo que se evidenció en varias muestras de Colombia, especialmente, en los suelos de los departamentos de Nariño, Tolima y Antioquia; la fracción minorita fue agua-soluble, seguida de la reducible (unida a óxidos e hidróxidos de Al, Fe y Mn), resultados similares a los encontrados en esta investigación.

Una diferencia por tener en cuenta con la especiación química y el uso de ORCHESTRA, es que este último, no diferencia la fracción ácido-soluble (carbonatos). En las extracciones secuenciales, para extraer la fracción ácido-soluble se suele usar acetato de sodio, el cual podría también extraer parte de las fracciones intercambiables enlazadas más fuerte y parte de las fracciones unidas a óxidos e hidróxidos amorfos que estén enlazados a Cd pero que la fuerza de unión no sería tan fuerte que pueda extraerse con una sal orgánica. Por tanto, la fracción ácido-soluble podría estar incluida, parte en las fracciones reducibles (HFO y HMO) y parte en la fracción de arcilla, de las fracciones arrojadas por ORCHESTRA. Por otra parte, para la MO, el modelo puede diferenciar entre los ácidos húmicos y fúlvicos y generar información que permita desarrollar estrategias de inmovilización más precisas, dado que hace parte de la fracción más reactiva.

En la Tabla 18 se incluyó un estudio realizado en Cundinamarca en Colombia, donde aplicaron extracción secuencial diferente a Tessier, y encontraron a diferencia de los resultados generales del actual estudio, que la fracción mayoritaria fue la reducible, mientras que la menor fue la residual. Para el estudio de Cundinamarca, se revisaron los valores de pH y se encontró que estuvieron ligeramente ácidos y los valores de MO entre medio y alto.

Tabla 18. Estudios de fraccionamiento químicos de Cd en suelos con cacao

Distribución de fracciones de Cd en el suelo	Metodología	Referencia
Oxidable > carbonatos (ácido-soluble) > residual > reducible >> agua-soluble (+intercambiable)	Especiación de Tessier 15 muestras, 0-5 cm	Ecuador (Chavez et al., 2016b)
Residual > oxidable > agua-soluble > carbonatos (ácido-soluble) > intercambiable > reducible	Especiación de Tessier 10 muestras, profundidad 0-15 cm	Nigeria (Aikpokpodion et al., 2012)
Principalmente oxidable cuando pH < 6,5 Y reducible cuando pH >6,5	Modelación, revisión de literatura	(Dutta & Lodhari, 2018)
Reducible > oxidable > carbonatos (ácido-soluble) > intercambiable > residual	Especiación de Amacher (1996) 37 muestras, 0-30 cm	Colombia (Cundinamarca) (Rodríguez, 2017)
Residual > oxidable >> intercambiable >> reducible > agua-soluble	Modelación, 34 muestras, 0-20cm 34 muestras, profundidad 0-20 cm	Colombia (Idarraga, 2023) actual estudio

7.2. OE2. Estudio de las correlaciones entre las diferentes fracciones del Cd en el suelo y la concentración de Cd en la planta

En la parte final del anterior numeral, se reorganizaron las fracciones de Cd en el suelo obtenidas del software ORCHESTRA, con el objetivo de realizar comparaciones con otros estudios similares. Para el desarrollo de este objetivo específico se utilizaron los resultados arrojados por el modelo para realizar las correlaciones con el Cd en la planta.

7.2.1. Estudio de los diferentes tratamientos estadísticos a aplicar

En el estudio del arte realizado (Tabla 2 y Tabla 3) se encontró el amplio uso del método de Pearson para evaluar las correlaciones entre variables, éste método contempla siete supuestos: tres de los cuales se relacionan con el diseño del estudio y con la forma en que se miden las variables (escalas continuas, variables emparejadas, independencia de los casos) y cuatro más según la relación, distribución y variabilidad de los datos (linealidad, normalidad, homocedasticidad, datos atípicos) (Laerd, 2020). Sin embargo, en el contexto de la investigación aplicada, no se encontró evidencia de que los estudios profundizaran el cumplimiento de los siete supuestos, se enfocan principalmente en aspectos de linealidad y normalidad.

Para el presente estudio, se aplicaron dos métodos de correlación: Pearson y Spearman. Restrepo & Gonzalez, (2007) destacan como principales supuestos del método Pearson: la normalidad y la ausencia de datos atípicos (outliers) para cada variable, y la linealidad en la correlación, para cada par de variables a estudiar. Por el contrario, se encontró que la correlación de Spearman es la versión no paramétrica de Pearson, estudia asociaciones monotónicas y se usa cuando se violan notablemente los supuestos de la correlación de Pearson, por tanto, estudia asociaciones que no requieren que la relación entre las variables sea lineal (Hauke & Kossowski, 2011).

Cuando se aplicaron las pruebas de normalidad de Shapiro-Wilk y Jarque-Bale a cada variable, se obtuvo que los datos originales no seguían una distribución normal. Estas pruebas de normalidad

aplican cuando la cantidad de datos es menor a 50. Yap & Sim, (2011) mostraron que, para distribuciones simétricas de cola corta, la prueba de Shapiro-Wilk tienen mejor potencia, mientras que, para distribuciones simétricas de cola larga, el poder de la prueba de Jarque-Bera es bastante comparable con la prueba de Shapiro-Wilk. En cuanto a las distribuciones asimétricas, la prueba de Shapiro-Wilk es la más potente.

Se hicieron histogramas y gráficos de densidad (Figura A2) que mostraron distribuciones asimétricas para las fracciones de Cd en el suelo y distribución simétrica para el Cd en la planta, pero con cola larga hacia la derecha. Igualmente se hicieron gráficos de barras y error estándar (Figura A3) que mostraron la presencia de datos atípicos. Lo anterior, evidenció que las variables corresponden a distribuciones no paramétricas, los datos no se ajustaban a la normalidad y tenían una distribución logarítmica con sesgo a la izquierda.

Teniendo en cuenta lo anterior, se procedió a aplicar dos tratamientos a los datos para posterior correlación. En el primer tratamiento se transformaron las fracciones obtenidas en el OE1 a través del logaritmo en base 10 buscando cumplir los supuestos de Pearson. Se hicieron gráficos de barras y error estándar para los valores transformados y se obtuvo la Figura A4, que mostró distribuciones normales, donde la media está más cerca de la mediana y esta vez solo mostró un dato atípico para algunas fracciones.

Revisando los datos atípicos, se encontró que correspondían a las muestras del sitio No. 16, con valores de Cd total en grano de 22,7 mg/kg, en hoja de 158,4 mg/kg y en suelo de 41,2 mg/kg. Se procedió a retirar estos datos del análisis y se obtuvieron distribuciones normales, con una significancia mayor al 5%. Además de la identificación como dato atípico en la gráfica, se revisó la base de datos completa y se detectó que este sitio presentó el dato más alto de Cd encontrado en los 276 sitios muestreados hasta el momento, y las diferencias con los datos que le seguían eran bastante representativas.

En el segundo tratamiento, se trabajó con los datos naturales obtenidos de las fracciones de Cd. En vista de evaluar las condiciones naturales del suelo y los fenómenos que explican la respuesta del Cd en la planta, se mantuvieron los datos originales sin transformarlos, para posteriormente realizar correlaciones de Spearman que tienen menor exigencia en los supuestos estadísticos. Para este caso, igualmente se retiraron los valores obtenidos para el sitio No. 16, puesto que son datos bastante atípicos y podrían condicionar las correlaciones estudiadas.

7.2.2. Análisis de correlaciones de las fracciones de Cd en el suelo vs el Cd en el grano

Con los datos normalizados, se evaluaron las correlaciones lineales de Pearson junto con los gráficos de dispersión mostrados en la Figura A5 y resumidos en la Tabla 19, se encontró que el orden decreciente del coeficiente de correlación de las fracciones vs el Cd en el grano fue la siguiente: disuelto > arcilla > HA ≈ FA > residual >> HFO > HMO. La fracción Cd disuelto tuvo la correlación más fuerte ($r=0,73$; $p<0,01$), similarmente, las fracciones arcilla, HA y FA mantuvieron correlaciones fuertes y significativas. Mientras que las fracciones de Cd unido a HFO y HMO, mostraron correlaciones muy débiles y con menos significancia. Las correlaciones lineales más fuerte entre las mismas fracciones Cd en el suelo fueron: disuelto y HA-FA, lo que muestra una relación muy importante entre la fracción oxidable de Cd en el suelo unida a la materia orgánica y la fracción que

ya se encuentra disuelta. Los gráficos de dispersión para las correlaciones más fuertes mostraron relaciones lineales como parte de los supuestos en los que se basa el método Pearson.

Las correlaciones Pearson con el Cd en la hoja, si bien mantuvieron las fuertes correlaciones explicando un origen similar, a diferencia del Cd en el grano, mostraron otro orden: arcilla > disuelto > FA > HA, la fracción con mayor correlación fue la del Cd unido a la arcilla. Lo anterior, podría explicarse teniendo en cuenta que las rutas de absorción de Cd al grano y a la hoja son diferentes. Vanderschueren et al., (2023) sugieren que el Cd en las semillas de cacao probablemente se origina en la redistribución del floema desde el tallo, las ramas o las hojas maduras y no del transporte directo de la raíz a la semilla a través del xilema.

Tabla 19. Correlaciones de Pearson y Spearman para valores de Cd en fracciones del suelo, grano y hoja

Fracciones Cd	R Pearson		R Spearman	
	Cd grano	Cd hoja	Cd grano	Cd hoja
Disuelto	0,73***	0,59***	0,76***	0,62***
HFO	0,35*	0,086	0,34	0,081
HMO	0,33	0,069	0,31	0,041
Arcilla	0,69***	0,67***	0,76***	0,71***
HA	0,67***	0,52**	0,70***	0,52**
FA	0,67***	0,58***	0,72***	0,59***
Residual	0,60***	0,41*	0,65***	0,45**
Cd hoja	0,85***	-	0,85***	-

*** $p < 0,01$, ** $p < 0,05$, * $p < 0,1$

Para los datos no transformados, se analizaron las correlaciones no paramétricas de Spearman (Figura A6 y Tabla 19), donde se determinó que las correlaciones vs Cd en grano siguieron el orden decreciente: disuelto $\approx$ arcilla > FA > HA > residual >> HFO > HMO. La distribución fue similar a la de los datos normalizados, aquí se tuvieron correlaciones ligeramente más fuertes, la mayor fue con el Cd disuelto ($r=0,76$; $p<0,01$). Para los datos naturales, al igual que para los transformados, se encontró que las correlaciones más fuertes entre las fracciones del suelo fueron: disuelto y HA-FA. Del mismo modo, sucedió con el Cd en la hoja para los datos transformados vs naturales, las correlaciones mantuvieron el orden, la fuerza y la significancia, e igualmente, cambiaron ligeramente cuando se comparan con las correlaciones de Cd en el grano. En cuanto a los gráficos de dispersión para las correlaciones más fuertes con el Cd en la planta, las distribuciones no siguieron relaciones lineales.

Para el estudio de las correlaciones de Cd en el suelo vs Cd en la planta, se podrían aplicar transformaciones que normalicen los datos y linealicen las correlaciones para hacer estudios paramétricos como Pearson. Sin embargo, estudiando los datos sin hacer transformación y aplicando estudios no paramétricos como Spearman, se encuentran resultados bastante comparables con Pearson.

La normalización de los datos permite un análisis lineal, no obstante, se pierde sensibilidad pues realiza ajustes paramétricos a los datos, que se podrían explicar dada la naturaleza de la absorción del Cd en el sistema suelo-planta; sin embargo, la correlación de estos en el cultivo de cacao es un tema que aún sigue en estudio. Mientras que, en el estudio no paramétrico de Spearman, se obtiene correlaciones similares, sin necesidad de aplicar ajustes matemáticos (como Log10). Como se

revisará más adelante, cuando el objetivo es aplicar modelos predictivos si es necesario aplicar transformaciones para normalizar los datos, pero cuando el objetivo es exploratorio y explicativo usar los datos originales sin transformarlos es una opción viable, usando las correlaciones de Spearman.

Al igual que Rebekić et al., (2015), donde compararon el coeficiente de Pearson y Spearman en el mismo conjunto de datos de concentración de Cd y zinc del grano de trigo, para correlacionarlos con rendimientos de producción; en el presente proyecto, se encontró que la selección del coeficiente de correlación más conveniente depende principalmente del tipo de variables, la presencia de valores atípicos, la normalidad y la linealidad de la relación. En Colombia, Rodríguez Albarracín et al., (2019) estudiaron correlaciones de Cd en el sistema suelo-planta, aplicando correlaciones de Pearson y Spearman debido a que no siempre existe una relación lineal entre el par de variables contrastadas y en ese sentido, buscaron relaciones monótonas que también proporcionaron información útil con Spearman.

7.3. OE3. Evaluación de métodos de extracción simple y fraccionamiento de Cd en suelos para la predicción del Cd en la planta a través de modelos de regresión lineal múltiple

En este último objetivo se aplicó el método científico para evaluar la correlación del Cd obtenido por extracción simple, inicialmente con las fracciones modeladas de Cd en el suelo y finalmente, las correlaciones directas con el Cd en la planta.

7.3.1. Estudio de los fundamentos y aplicabilidad de los métodos de extracción simple empleados

En la evaluación de los métodos de extracción simple que se reportan en libros, artículos y literatura científica, se clasifican los métodos por su poder de extracción. A veces, más que el contenido total de un metal en el suelo se determina lo que se denomina "pseudototal" mediante la utilización de ácidos fuertes o agua regia en el proceso de digestión. Al no utilizar HF, este contenido pseudototal normalmente no incluye el metal fuertemente asociado a los silicatos (González et al., 2009) y representa el contenido máximo de metal potencialmente soluble y móvil, por ende, el máximo potencial contaminante de un metal en un suelo determinado.

Los iones cargados positivamente, como los formados por metales, pueden ser adsorbidos a los constituyentes del suelo cargados negativamente. Estos elementos están sujetos a reacciones de intercambio catiónico y pueden reponer fácilmente los niveles de solución del suelo. Los metales débilmente adsorbidos se consideran lábiles y disponibles para la absorción por parte de la planta. Se ha propuesto una amplia variedad de extractantes para determinar la intercambiabilidad del metal. Otros parámetros importantes son la concentración molar del extractante, la proporción de líquido a sólido del protocolo y el tiempo de equilibrio (Meers, Du Laing, et al., 2007).

Se encontró que los métodos son clasificados de acuerdo con su naturaleza y la fracción objetivo del metal que se pretende extraer. Por lo anterior, existen los métodos diseñados para extraer fracciones solubles, estos métodos usan soluciones suaves que van desde el agua hasta sales muy diluidas como el cloruro de calcio. Este método ha sido recomendado en algunos países europeos y combina una capacidad de extracción adecuada con una baja concentración salina en el extracto, lo

cual facilita la determinación de los metales debido a que la matriz en que se encuentran es menos compleja (González et al., 2009). Posteriormente, se encuentran los métodos que usan sales más fuertes, que apuntan a extraer las fracciones intercambiables de los suelos, aquí se encuentra el cloruro de potasio, acetato de amonio, nitrato de amonio, entre otros; estas soluciones logran hacer intercambio con los iones que están enlazados a los sitios de intercambio del suelo, se usan en exceso y con varios lavados. En comparación con las bases intercambiables divalentes, como el Ca, los cationes monovalentes NH_4 , K y Na son menos competitivos para la desorción de metales pesados de la matriz del suelo (Meers, Du Laing, et al., 2007). Además, el uso de nitrato como extractante no provoca complejo ni movilización adicional de metales pesados, como es el caso de los extractantes a base de cloruro.

También se estudiaron los métodos de extracción que usan soluciones ácidas diluidas, allí se encuentran los ácidos orgánicos como el ácido cítrico y el ácido oxálico, así como los ácidos inorgánicos como el ácido nítrico y el ácido clorhídrico. Los ácidos en general disuelven u oxidan las fracciones orgánicas solubles, asimismo aportan cargas positivas (H^+) que favorecen el intercambio y la solubilidad de las demás fracciones. Normalmente, estos métodos extraen las fracciones de Cd reactivo y le siguen en fortaleza a las digestiones totales que usan temperatura, como el caso del agua regia.

Los metales extraíbles con ácido nítrico en el suelo se han sugerido como una medida para los metales geoquímicamente activos presentes en el suelo. El término 'activo' implica susceptibilidad a las interacciones químicas con los sólidos del suelo que controlan las concentraciones de la solución. Meers, Du Laing, et al., (2007) indican que esta terminología propuesta puede ser algo vaga y, por lo tanto, podría ser mejor referirse a la fracción como metales extraíbles con ácido. El ácido nítrico como extractante tiene como beneficio particular que no se espera interferencia del extractante en la movilización de metales, a diferencia de lo que ocurre con extractantes como el ácido acético o el ácido clórico (Meers, Samson, et al., 2007).

Por último, se encontraron los métodos de extracción que, si bien se consideran aún simples, dado que se hacen normalmente en un paso, posterior agitación y filtración; usan agentes/soluciones más especializadas para extraer fracciones específicas e imitar los efectos de la rizosfera en el suelo. Entre estos agentes se evidenciaron las soluciones complejantes o quelantes como el EDTA, el DTPA y el Mehlich 3. Estas soluciones se preparan con más reactivos que buscan crear ambientes amortiguadores o buffer, con el fin de asegurar que las soluciones no cambian su forma y propósito en los diferentes rangos de pH que están en el suelo. Estas son empleadas para extraer elementos del suelo enlazados a estructuras más complejas, como el caso de los microelementos o elementos trazas. Los quelantes EDTA y DTPA junto con el ácido acético, simulan el comportamiento complejante de los exudados de las raíces, regulando un intercambio constante de iones hidrógeno para liberar sitios de coordinación con los cationes metálicos.

El estudio de diferentes métodos de extracción de suelos y sus interacciones con la acumulación de metales pesados en las plantas, permite identificar el desempeño de cada uno de estos frente a los metales de interés (Tabla 20) y proponer métodos calibrados y correlacionados con el cultivo.

Tabla 20. Interacciones significativas entre niveles extractables de metales en el suelo y la acumulación en la planta *P. vulgaris*

	Cd	Cu	Ni	Pb	Zn
Rhizon	X			X	(X)
NaNO ₃	X			ND	X
CaCl ₂	X	X	X	X	X
NH ₄ NO ₃	X	(X)	X	ND	X
MgCl ₂		X	(X)	X	X
NH ₄ OAc		X	(X)	X	(X)
HOAc		X		X	
HNO ₃		X		X	
HCl		X		X	
DTPA		X	(X)	X	
NH ₄ OAc-EDTA		X	(X)	X	
<i>Aqua regia</i>		X		X	

(Meers, Samson, et al., 2007)

7.3.2. Mediciones de Cd empleando métodos de extracción simple seleccionados

Una vez estudiados los métodos de extracción simple, se hizo un análisis (Tabla 21) de los aspectos operativos y de aplicación para clasificarlos según los tipos de extractantes utilizados e identificar las ventajas y desventajas de cada uno.

Tabla 21. Métodos de extracción simple seleccionados

Método	Tipo	Criterios	Ventajas	Desventajas
HNO ₃	Ácido inorgánico	Fácilmente aplicable con soluciones/reactivos que normalmente se tienen en el laboratorio. Aplica a suelos con altos contenidos de MO	Método usado normalmente para determinar fracción "reactiva". Solución bastante estable	Al ser un ácido fuerte se disocia completamente y aporta iones H ⁺ de manera excesiva que lo hacen poco selectivo y con mayor variación
EDTA	Complejante	Agente complejante simple, económico de fácil aplicación	Acción quelante fuerte, se cuenta con estudios previos en Colombia con esta metodología para comparar	No usa buffer, inestable en el tiempo, vigencia de la solución muy baja, se afecta bastante por el pH del suelo. Tiempo de extracción muy largo
DTPA	Buffer Complejante	Método ampliamente usado para microelementos, recomendado en Colombia a través de la norma NTC. Más específico	Uso de solución buffer y pH ajustado a 7,3, más económico que M3. Uso de CaCl ₂ para disminuir disolución de carbonatos. Menos variable.	Si bien ha sido utilizado para todo tipo de suelos, ha sido recomendado principalmente para suelos neutros y alcalinos. Uso de varios reactivos que incrementa su costo de aplicación
Mehlich 3	Buffer especializado	Conocido mundialmente, desarrollado para múltiple propósito,	Uso de reactivos para todo propósito de extracción: disueltos, intercambiables, ácido-	Usa la mayor cantidad de reactivos que incrementa su costo de aplicación. Mayor tiempo requerido

Método	Tipo	Criterios	Ventajas	Desventajas
		solución estable y más específico a las fracciones biodisponibles	solubles y complejante. Tiempo de extracción corto. Uso de buffer y pH ajustado a 2,5. El mismo extracto se puede usar para lecturas de macronutrientes	para la preparación de las soluciones previas

Elaboración propia

En la Tabla 22 se muestran los resultados obtenidos para Cd medido por ICP-OES para las cuatro extracciones simples seleccionadas. La extracción más rápida fue M3 dado que la agitación solo fue 5 minutos, mientras que EDTA fueron 24 horas. La extracción más sencilla en uso de reactivos fue HNO₃ mientras que las más complejas fueron M3 y DTPA, por la preparación previa de varias soluciones y los ajustes requeridos de pH.

Tabla 22. Resultados de Cd para las extracciones simples aplicadas

Sitio	Departamento	Arcilla (%)	pH	MO g/kg	Total mg/kg Suelo	HNO3 mg/kg Suelo	EDTA mg/kg Suelo	DTPA mg/kg Suelo	M3 mg/kg Suelo	Total mg/kg Hoja	Total mg/kg Grano	Orden Suelo
1	Cesar	17,2	6,75	19,1	0,7	0,4	0,4	0,2	0,3	1,8	1,2	Entisol
2	Cesar	15,9	7,64	30,5	0,4	0,3	0,3	0,1	0,2	1,7	1,1	Entisol
3	Cesar	11,1	7,02	16,5	4,2	3,7	3,0	2,3	3,1	28,4	11,8	Entisol
4	Cesar	13,6	6,08	16,4	1,4	1,0	0,9	0,7	0,8	16,3	10,3	Entisol
5	Cesar	12,4	7,0	16,3	1,8	1,3	1,2	0,9	1,1	19,0	8,0	Entisol
6	Cesar	15,0	7,22	27,0	3,9	1,3	1,6	0,6	0,8	5,2	3,7	Entisol
7	Cesar	34,0	7,4	29,0	2,0	0,9	0,9	0,5	0,6	4,3	3,2	Entisol
8	Nariño	38,9	5,65	48,9	0,3	0,2	0,2	0,1	0,1	4,7	1,6	Entisol
9	Nariño	62,2	5,07	46,0	0,4	0,3	0,3	0,1	0,2	7,4	1,3	Inceptisol
10	Nariño	40,3	6,28	60,8	0,3	0,1	0,1	0,1	0,1	1,7	0,7	Andisol
11	Tolima	47,5	5,95	63,7	0,4	0,2	0,2	0,1	0,1	2,1	0,4	Andisol
12	Tolima	22,1	6,67	121,2	0,8	0,5	0,5	0,3	0,2	1,0	0,6	Andisol
13	Tolima	30,0	6,38	56,9	2,2	1,1	1,1	0,8	0,8	7,9	3,8	Inceptisol
14	Boyacá	55,4	4,35	55,4	0,6	0,4	0,4	0,1	0,2	20,0	4,4	Inceptisol
15	Boyacá	16,7	6,03	88,2	10,8	3,3	4,6	4,0	3,7	24,5	9,4	Inceptisol
16	Boyacá	39,7	5,43	62,1	41,2	20,1	20,9	20,2	18,3	158,4	22,7	Inceptisol
17	Boyacá	16,6	6,17	101,8	8,6	2,3	2,3	2,0	2,1	16,8	4,4	Inceptisol
18	Boyacá	49,9	4,56	43,8	1,3	0,9	0,9	0,6	0,6	49,8	10,1	Inceptisol
19	Santander	38,0	6,55	27,8	1,4	0,6	0,6	0,5	0,5	15,0	6,5	Inceptisol
20	Santander	27,2	5,78	24,5	1,7	0,3	0,7	0,5	0,5	32,3	10,5	Inceptisol
21	Santander	51,7	5,32	29,1	0,8	0,4	0,4	0,3	0,3	33,7	8,9	Inceptisol
22	Santander	40,6	6,11	22,0	0,6	0,3	0,2	0,2	0,2	12,7	5,6	Inceptisol
23	Tolima	32,9	5,37	95,5	0,6	0,3	0,3	0,1	0,1	3,9	2,0	Inceptisol
24	Tolima	34,7	5,52	80,8	0,4	0,2	0,2	0,1	0,1	3,2	1,3	Entisol
25	Tolima	40,1	6,02	47,8	2,3	1,6	1,6	1,3	0,8	98,6	15,3	Inceptisol
26	Tolima	42,8	5,67	78,3	8,6	5,7	4,9	4,1	1,9	56,4	10,7	Inceptisol
27	Antioquia	58,9	5,67	61,6	0,5	0,3	0,4	0,3	0,2	8,9	3,4	Inceptisol
28	Antioquia	17,3	6,34	76,7	1,5	0,5	0,4	0,3	0,3	2,2	1,7	Inceptisol
29	Antioquia	41,2	5,72	88,0	0,5	0,2	0,2	0,2	0,2	1,5	0,5	Inceptisol
30	Antioquia	33,5	7,03	73,3	0,7	0,2	0,3	0,2	0,2	1,4	0,6	Inceptisol
31	Antioquia	31,2	4,89	92,5	1,0	0,5	0,5	0,2	0,2	15,2	4,1	Inceptisol
32	Antioquia	44,0	5,79	44,7	4,1	2,5	2,7	2,0	2,3	1,3	9,7	Inceptisol
33	Antioquia	21,1	5,36	41,2	0,6	0,3	0,3	0,3	0,2	5,1	2,2	Inceptisol
34	Antioquia	28,1	5,53	86,0	5,0	3,0	3,1	1,6	0,8	34,3	13,8	Inceptisol

M3: Mehlich 3

Seguidamente, se calcularon los porcentajes de extracción de cada método simple frente al Cd total por agua regia para cada muestra analizada (Figura 4). Se realizó la prueba estadística de Duncan (Tabla A43 del Anexo 2) donde se evidenció que los promedios de las extracciones con HNO_3 y EDTA se clasificaron en el mismo grupo y mostraron los mayores porcentajes, mientras que las medias de DTPA y M3 fueron menores y se clasificaron en un grupo diferente. Los valores individuales más altos se obtuvieron para HNO_3 , que representa la extracción más cercana a la digestión con agua regia. En cuanto a las varianzas, se identificó que la mayor variación se obtuvo para HNO_3 y las variaciones más bajas fueron para DTPA y M3, lo que muestra que las extracciones complejantes especializadas con buffer son mucho más específicas y selectivas. Para el caso de la extracción con HNO_3 se observó que es menos selectiva dada su forma química de operación al acidificar el medio de manera excesiva.

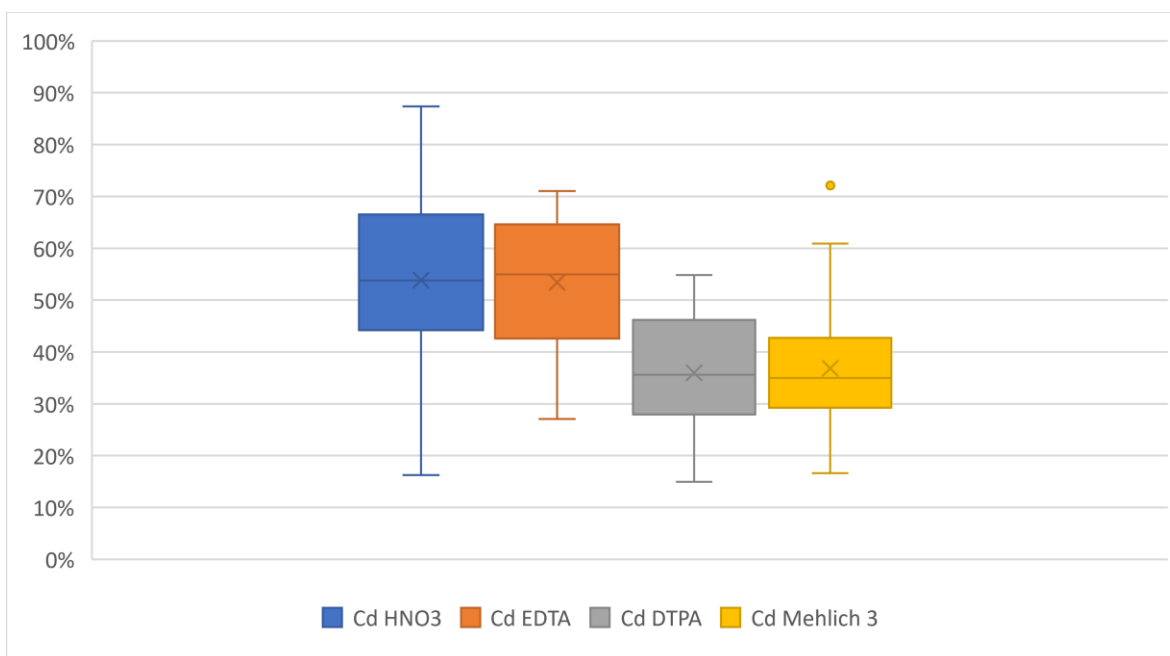


Figura 4. Gráfico de barras y error estándar para los porcentajes de extracción de métodos simples frente al Cd total por agua regia

7.3.3. Correlación de los resultados de Cd en el suelo vs Cd en la planta

Este último numeral se abordó inicialmente desde las correlaciones de las fracciones de Cd obtenidas con el modelo vs el Cd extraído por métodos simples, luego se realizaron las correlaciones directamente de las extracciones simple vs Cd en planta.

Para empezar, se realizó la correlación de las fracciones de Cd en el suelo obtenidas de ORCHESTRA que mayor correlación tuvieron con el Cd en el grano: disuelto, arcilla, HA-FA, con el Cd extraído a través de los cuatro métodos simples empleados. Como se observa en la Tabla 23, en general, las correlaciones más fuertes se presentaron con la extracción HNO_3 seguida de EDTA > DTPA > M3. Frente a las fracciones, las correlaciones más fuertes se dieron con la fracción HA, lo que se puede explicar dado que los métodos simples utilizados son fuertes y muy relacionados con los metales adsorbidos en la MO. Para la fracción disuelta, el HNO_3 tuvo una correlación fuerte ($r=0,93$ $p<0,01$), en esta fracción el Cd prácticamente se encuentra libre como ion y la extracción más sencilla de las

aplicadas como es con HNO_3 naturalmente tuvo la mejor correlación. Por el contrario, si bien las correlaciones con arcilla fueron bastante significativas, fueron las más bajas. Como se mencionó, las extracciones simples seleccionadas son fuertes y, además de extraer las fracciones más disponibles, apuntan principalmente a fracciones nominales más complejas de extraer y menos disponibles, pero la fracción Cd-arcilla del modelo, está más relacionada a la fracción intercambiable que podría extraerse de mejor manera con una sal o ácidos orgánicos débiles.

Tabla 23. Correlaciones de Spearman para fracciones de Cd en el suelo vs Cd extraído por métodos simples

Método de extracción simple	Coeficiente de correlación de Spearman para fracciones de Cd en el suelo			
	Fracción de Cd-disuelto	Fracción de Cd-arcilla	Fracción de Cd-FA	Fracción de Cd-HA
HNO_3	0,93***	0,61***	0,85***	0,96***
EDTA	0,89***	0,57***	0,81***	0,94***
DTPA	0,87***	0,57***	0,80***	0,93***
Mehlich 3	0,84***	0,53***	0,74***	0,90***

*** $p < 0,01$

Por otro lado, se determinaron las correlaciones de los métodos de extracción simple vs el Cd concentrado en la planta (Figura 5). Los coeficientes estuvieron cercanos y fueron bastante significativos, la mayor correlación del Cd en el grano fue con el Cd extraído por el método DTPA ($r=0,78$ $p<0,01$), siguieron el orden decreciente: DTPA > M3 > EDTA > Total > HNO_3 . Para el caso del Cd en la hoja, las correlaciones disminuyeron notablemente, no obstante, mantuvieron una correlación estadísticamente significativa y siguieron el orden decreciente: DTPA > EDTA > HNO_3 > M3 > Total, que como se explicó anteriormente, las rutas de absorción son diferentes para el grano y la hoja (Vanderschueren et al., 2023).

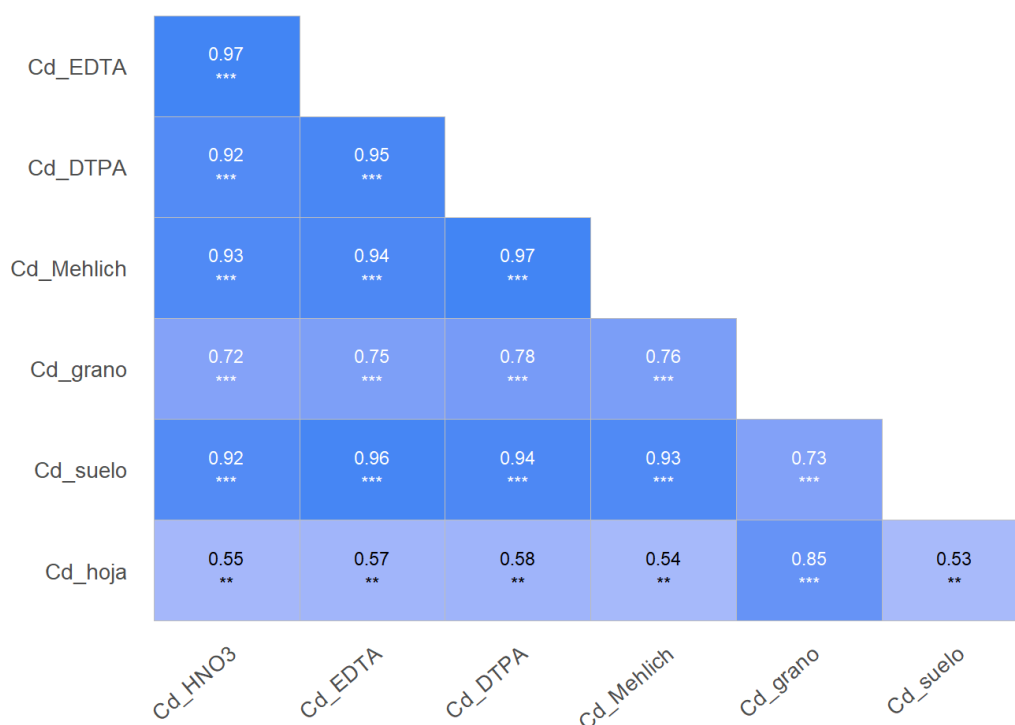


Figura 5. Correlaciones de Spearman Cd en planta vs Cd extraído por métodos simples. *** $p<0,01$, ** $p<0,05$, * $p<0,1$

El método DTPA es recomendado en Colombia (ICONTEC, 2007) como extracción complejante para determinación de micronutrientes disponibles (cobre, zinc, hierro y manganeso), considerando que la cantidad de metal quelatado o complejo que se acumula en la disolución durante la extracción, está en función tanto de la actividad del ion metálico en el suelo, como la disponibilidad del suelo de reponer aquellos iones (Dutta & Lodhari, 2018). Además, dada su condición amortiguadora, se recomienda para suelos de rango amplio de pH. Por el contrario, la extracción fuerte HNO_3 y la digestión agua regia para Cd total son métodos menos específicos a fracciones biodisponibles del suelo, si bien, evalúan la capacidad “reactiva” del Cd concentrado en el suelo, en comparación con los demás métodos estudiados, son las que menos distinguen fracciones correlativas con el Cd en la planta.

Continuando con los análisis de correlación del Cd extraído por métodos simples vs Cd en la planta y para evaluar de qué manera los métodos de extracción simple se ven afectados por las propiedades del suelo, se corrieron análisis por rangos de pH, MO y arcilla, según la clasificación mostrada en la Tabla 8.

Con respecto al pH (Tabla 24), en general los coeficientes mejoran para los rangos ácidos, igualmente para los pH ligeramente alcalinos el coeficiente llega a $r=1,00$ ($p<0,01$), para el rango neutro (6,0-6,9) todos los coeficientes disminuyeron. En cuanto a los métodos, estos se notan sensibles dependiendo del rango de pH, lo que muestra su especificidad. Para suelos ácidos los métodos que mejor correlacionan son los quelantes, especialmente el M3. Cuando el pH se incrementa el EDTA pierde correlación, dado que no usa agente amortiguador y su pH fue ajustado a 5,0. En general, el DTPA mantuvo fuertes correlaciones y se mantuvo dentro de los primeros que mayor correlacionan. La disminución en la correlación para el rango neutro se debe a que los métodos utilizados no son específicos para la solución del suelo o la parte intercambiable, dado que no se usaron soluciones acuosas o sales diluidas para tal fin.

Tabla 24. Correlación de métodos simples vs Cd en el grano para rangos de pH

pH	Clasificación	n	Orden métodos (R Spearman)
<5,5	Acidez fuerte	7	M3 (0,93**) > DTPA = EDTA (0,86*) > Total (0,82*) > HNO_3 (0,75*)
5,5-5,9	Acidez moderada	9	Total (0,85**) > EDTA (0,82*) > HNO_3 (0,78*) > DTPA (0,77*) > M3 (0,75*)
6,0-6,9	Neutro	11	M3 (0,67*) > DTPA = EDTA = HNO_3 (0,60*) > Total (0,52)
>7,0	Medio alcalino	6	M3 = HNO_3 (1,00**) > DTPA (0,94*) > EDTA (0,89*) > Total (0,77)
4,4-7,6	Todo el rango	33	DTPA (0,78***) > M3 (0,76***) > EDTA (0,75***) > Total (0,73***) > HNO_3 (0,72***)

*** $p<0,01$, ** $p<0,05$, * $p<0,1$

Con respecto a la MO (Tabla 25), cuando se trabaja en el rango bajo, las correlaciones disminuyeron y las únicas que se mantuvieron significativas ($p<0,05$) fueron DTPA y M3. Cuando se trabajó el rango medio, fue donde se obtuvo las correlaciones más fuertes, sin embargo, DTPA ocupó el último puesto. En este rango, el HNO_3 mostró la mejor correlación debido a su alta capacidad oxidante sumada al suministro de iones H^+ que favorecen la extracción. En el rango alto los métodos que tuvieron ligeramente una mejor correlación fue EDTA y total, esta fue una de las pocas ocasiones donde el total estuvo dentro de las primeras posiciones por correlación fuerte. Lo anterior se debe

a que el EDTA es el quelante más fuerte de los métodos trabajados por el número mayor de posiciones de coordinación (octadentado), mientras que la extracción total, debido al uso del agua regia y altas temperaturas, hacen que estos métodos se favorezcan cuando la MO es alta.

Tabla 25. Correlación de métodos simples vs Cd en el grano para rangos de MO

MO (%)	Clasificación	n	Orden métodos (R Spearman)
<2,9	Bajo	8	DTPA = M3 (0,67*) > EDTA (0,50) > Total (0,48) > HNO ₃ (0,36)
2,9-5,5	Medio	10	HNO ₃ (0,85**) > M3 = EDTA (0,83**) > Total (0,82**) > DTPA (0,79**)
>5,5	Alto	15	EDTA (0,83***) > Total (0,80***) > HNO ₃ (0,79***) > DTPA (0,74**) > M3 (0,71**)
1,6-12,1	Todo el rango	33	DTPA (0,78***) > M3 (0,76***) > EDTA (0,75***) > Total (0,73***) > HNO ₃ (0,72***)

*** $p < 0,01$, ** $p < 0,05$, * $p < 0,1$

Por último, se determinaron los rangos para arcilla (Tabla 26) la cual representa minerales silicatados con carga negativa, y se encontró que el rango que obtuvo las más altas correlaciones en comparación con el total, considerando la totalidad de las muestras (33), fue el rango alto de arcillas. En este caso, las uniones que se forman entre el metal pesado y la arcilla son más fuertes, se requieren agentes de extracción más fuertes como el agua regia (Total), no obstante, está muy cerca el M3 que usa igualmente EDTA como agente quelante sumado al HNO₃ que rompe los enlaces más fuertes.

Tabla 26. Correlación de métodos simples vs Cd en el grano para rangos de arcilla

Arcilla (%)	Clasificación	n	Orden métodos (R Spearman)
<30	Bajo	13	DTPA = EDTA (0,74**) > M3 (0,71**) > Total (0,66*) > HNO ₃ (0,59*)
30-39	Medio	8	HNO ₃ = EDTA (0,74*) > DTPA (0,71*) > Total (0,64*) > M3 (0,60)
>40	Alto	12	Total (0,93***) > M3 (0,90***) > HNO ₃ (0,87***) > DTPA (0,86***) > EDTA (0,82**)
11-62	Todo el rango	33	DTPA (0,78***) > M3 (0,76***) > EDTA (0,75***) > Total (0,73***) > HNO ₃ (0,72***)

*** $p < 0,01$, ** $p < 0,05$, * $p < 0,1$

En general, el método que mayor correlación tuvo fue el DTPA, muy seguido del M3, incluso en varios rangos de propiedades fisicoquímicas el M3 mostró mejores atributos en relación con el Cd en el grano. Esto demuestra que el desarrollo de métodos más específicos con agentes quelantes y amortiguadores, mejoran la extracción del Cd en comparación con los métodos más básicos como el HNO₃ y el EDTA, y mucho más con el total, que no distingue las diferentes fracciones del Cd en el suelo.

Se revisaron las correlaciones obtenidas en estudios de campo previos entre diferentes métodos de extracción de Cd en el suelo frente al Cd en el grano (Tabla 27) y se estableció que los estudios que incluyeron la extracción con DTPA tuvieron en general, las mejores correlaciones, la mayoría cercanas a 0,80 ($p < 0,05$). Dado que las correlaciones se emplearon para generar modelos predictivos, se usaron ajustes y correlaciones de Pearson. En cuanto a las correlaciones de Spearman halladas, (Rodríguez Albarracín et al., 2019) determinaron correlaciones de 0,78 ($p < 0,05$) similares a las encontradas en el actual estudio.

Tabla 27. Correlaciones Cd extraído por métodos simples vs Cd en grano de estudios similares

Orden de correlación Cd en suelo por métodos simples vs Cd grano de cacao	Metodología Investigación	Referencia
DTPA (0,848**) > AB-DTPA (0,842**) > EDTA (0,840**) > CaCl ₂ (0,453*) > NH ₄ NO ₃ (0,310)	R Pearson, 3 sitios de muestreo, 12 árboles por sitio, 0-30cm	(Ramtahal et al., 2015)
HNO ₃ – digestión (0,35**)	R Pearson, 7 sitios, 8-12 árboles, 0-30cm	(Ramtahal et al., 2016)
M3 (0,80**) > HCl (0,78**) > Total (0,56**) > NH ₄ OAc (0,43)	R Pearson, 19 sitios, 1 árbol, dos profundidades 0-5 y 5-15cm	(Chavez et al., 2015)
DGT (0,63)	Pearson, 55 sitios, 2 árboles, 0-10 y 10-25cm	(Gramlich et al., 2018)
DTPA = Total (0,78**)	Spearman, 5 sitios, 12 árboles por sitio, 0-30cm	(Rodríguez Albarracín et al., 2019)
DTPA (0,78***) > M3 (0,76***) > EDTA (0,75***) > Total (0,73***) > HNO ₃ (0,72***)	Spearman, 34 sitios, 1 árbol, 0-20cm	Idarraga, 2023 (actual estudio)

*** $p < 0,01$, ** $p < 0,05$, * $p < 0,1$

Lo mismo se hizo para las correlaciones frente al Cd en la hoja, para los estudios revisados se encontró la misma tendencia que bajan los coeficientes de correlación en comparación con Cd en el grano, los órdenes en general se mantuvieron al igual que las significancias (Tabla 28).

Tabla 28. Correlaciones Cd extraído por métodos simples vs Cd hoja de estudios similares

Orden de correlación Cd en suelo por métodos simples vs Cd hoja de cacao	Metodología Investigación	Referencia
AB-DTPA (0,758**) > DTPA (0,752**) > EDTA (0,730**) > CaCl ₂ (0,285) > NH ₄ NO ₃ (0,160)	Ver Tabla 27	(Ramtahal et al., 2015)
HNO ₃ – digestión (0,34**)	Ver Tabla 27	(Ramtahal et al., 2016)
DTPA = M3 (0,66**)	Pearson, 15 sitios de muestreo, 3 árboles por sitio, 0-20cm	(Lewis et al., 2021)
DGT (0,69)	Ver Tabla 27	(Gramlich et al., 2018)
Total (0,72**) > DTPA (0,71**)	Ver Tabla 27	(Rodríguez Albarracín et al., 2019)
DTPA (0,58***) > EDTA (0,57***) > HNO ₃ (0,55**) > M3 (0,54**) > Total (0,53**)	Ver Tabla 27	Idarraga, 2023 (actual estudio)

*** $p < 0,01$, ** $p < 0,05$, * $p < 0,1$

En cuanto a la fuerza de extracción de los diferentes métodos aplicados, se evidenció que, en todos los estudios revisados junto con el actual reporte (Tabla 29), el agua regia representa las mayores concentraciones seguidas por los ácidos inorgánicos HCl y HNO₃. Luego se encontraron los agentes quelantes, EDTA > M3 > DTPA y por último los métodos con ácidos y sales débiles y extracción con agua. Sin embargo, como se pudo ver anteriormente, la fuerza de extracción no siempre va correlacionada con la disponibilidad del metal para la planta, por ende, se deben siempre tener en cuenta las demás propiedades fisicoquímicas del suelo y las capacidades de extracción de cada método, para decidir cuál aplicar según los objetivos de la investigación.

Tabla 29. Fuerza de extracción de Cd en suelo por métodos simples de estudios similares

Fuerza de extracción métodos simples	Metodología Investigación	Referencia
Total > EDTA > DTPA > AB-DTPA > CaCl ₂ > NH ₄ NO ₃	3 sitios de muestreo, 12 árboles por sitio, 0-30cm	(Ramtahal et al., 2015)
Total > HCl > M3 > NH ₄ OAc	19 sitios de muestreo, 1 árbol por sitio, dos profundidades 0-5 y 5-15cm	(Chavez et al., 2015)
Total > HNO ₃ > M3 > DTPA > Agua	15 sitios, 3 árboles, 0-20cm	(Lewis et al., 2021)
Total > HNO ₃ > HCl > HOAc > EDTA > DTPA > NH ₄ OAc > MgCl ₂ > NH ₄ NO ₃ > Ca(NO ₃) ₂ > CaCl ₂ > NaNO ₃ > Rizón	28 sitios, 0-25cm (ácido)	(Meers, Du Laing, et al., 2007)
Total > HCl > HNO ₃ > EDTA > HOAc > DTPA > MgCl ₂ > NH ₄ OAc > Ca(NO ₃) ₂ > NH ₄ NO ₃ > CaCl ₂ > NaNO ₃ > Rizón	28 sitios, 0-25cm (neutro a ligeramente alcalino)	(Meers, Du Laing, et al., 2007)
Total > HNO ₃ > EDTA > M3 > DTPA	34 sitios, 1 árbol, 0-20cm	Idarraga, 2023 (actual estudio)

Existen numerosos métodos de extracción de metales que se utilizan para evaluar la concentración de metales en los suelos. La Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (USEPA) y la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) utilizan los protocolos de ácido nítrico y agua regia respectivamente como estándar para determinar las concentraciones de metales en lodos, suelos y biorresiduos tratados. Estos protocolos de digestión usan ácidos fuertes, pero no logran la descomposición total de la muestra de suelo ya que no disuelven los compuestos refractarios en el suelo. De igual manera, se utilizan para evaluar la contaminación del suelo y determinar la disponibilidad de metales a largo plazo para las plantas. Por otra parte, para estimar el contenido inmediatamente disponible del metal en los suelos, se emplean extractantes más débiles y especializados como los agentes tampón quelantes (Lewis et al., 2021).

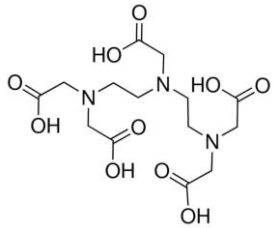
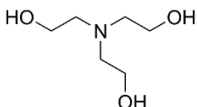
Ramtahal et al., (2018) utilizaron el Cd extractable por DTPA para evaluar el efecto del encalado en la disponibilidad de Cd en suelos y su absorción en cacao en Trinidad y Tobago, en un experimento que duró 18 meses en el cual se monitorearon los cambios en la disponibilidad del metal pesado en el suelo, como respuesta al uso de cal. El método de extracción por DTPA fue un indicador sensible, que les permitió evaluar la eficacia del encalado, igualmente lo hicieron Ramtahal et al., (2019) para evaluar la eficacia tanto de la cal como del biocarbón. Rodríguez Albarracín et al., (2019) usaron el método de DTPA para hacer modelado de regresión espacial de suelos con alto contenido de Cd en una zona productora de cacao del centro de Colombia y generar mapas de distribución. Con el uso de la herramienta se evaluó la correlación con el Cd en el grano a través de coeficientes de Spearman. En estudios similares, Chavez et al., (2016a) emplearon el método de Mehlich 3 para analizar la efectividad de la aplicación de vermicompost y zeolita en la reducción del Cd disponible en suelos para el cultivo de cacao.

En cuanto al uso de modelos geoquímicos, Gao et al., (2022) usaron la extracción por DTPA y HNO₃ para análisis de metales pesados, como variables de entrada de las porciones “reactivas”, usando el modelo multisuperficial ECOSAT, para predecir la concentración total del metal pesado disuelto. Al igual que el presente estudio, encontraron que las cantidades de los metales pesados extraídos con

HNO₃ fueron mayores que los obtenidos con DTPA. La precisión de las predicciones de solubilidad de los metales previstas por el modelo fue mayor cuando se usaron los resultados de la extracción por DTPA como entrada del modelo, que cuando se usaron los resultados de la extracción por HNO₃.

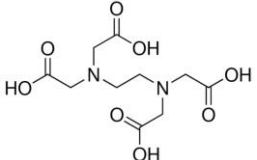
Considerando que las extracciones que mostraron mejor correlación con el Cd en la planta fueron la DTPA y M3, se profundizó el análisis de las funciones químicas del suelo que intervienen en estas dos extracciones. El desarrollo del método DTPA por Lindsay & Norvell, (1978) se basó, en parte, en consideraciones teóricas. El extractante se tampona a pH 7,30 y contiene CaCl₂ (Tabla 30).

Tabla 30. Componentes funcionales del método de extracción DTPA

Componente	Función
Ácido dietilentriaminopentaacético (DTPA) 	Agente quelante de metales. Es un ácido aminopolicarboxílico formado por 3 aminas con cinco grupos carboxilos. Más grande que el EDTA y con más sitios de coordinación, 8 sitios de enlace (ligando octadentado)
Trietanolamina (Tea) 	Base orgánica débil que actúa como agente buffer y disminuye la variación de pH. La solución se tampona a pH 7,3
Cloruro de calcio (CaCl₂)	Establece el equilibrio con CaCO₃ a un nivel de CO₂ aproximadamente 10 veces superior al de la atmósfera. Por lo tanto, el extractante impide la disolución de CaCO₃ y la liberación de nutrientes ocluidos que normalmente no están disponibles para las plantas

El extractante Mehlich 1 (1953), fue desarrollado para medir contenido de nutrientes en suelos ácidos, es utilizado por laboratorios en el sureste de los Estados Unidos y en varios países de LAC y África donde prevalecen suelos con pH ácidos. El Mehlich 2 (1978) y finalmente el Mehlich 3, introducido en 1984, extraen los principales nutrientes, así como los micronutrientes, de los suelos con una amplia gama de propiedades fisicoquímicas. Este extractante ha sido utilizado por muchos laboratorios estatales y privados en todo el mundo, incluido el laboratorio de la División Agronómica NCDA&CS (Department of Agriculture and Consumer Services, 2013). Sus componentes funcionales se describen en la Tabla 31.

Tabla 31. Componentes funcionales del método de extracción Mehlich 3

Componente	Función
Ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) 	Agente quelante de metales y previene la precipitación de fluoruro de calcio. Contiene dos aminas unidas con cuatro grupos carboxilo. 6 sitios de coordinación (ligando hexadentado)

Componente	Función
Ácido acético (CH_3COOH)	Tampona la solución de extracción a pH 2,5 cuando se agregan y mezclan todos los reactivos, evitando así que el calcio se precipite como fluoruro de calcio
Nitrato de amonio (NH_4NO_3)	Facilita la extracción de cationes básicos como calcio, magnesio, sodio y potasio y reacciona con ácido acético para formar acetato de amonio
Ácido nítrico (HNO_3)	Extrae una porción de fosfatos de calcio y su componente ácido $[\text{H}^+]$ ayuda en la extracción de cationes básicos y de micronutrientes
Fluoruro de amonio (NH_4F)	Extrae fosfatos de hierro y aluminio y el ion NH_4^+ complementa al nitrato de amonio en la extracción de cationes básicos

Los métodos DTPA y M3 aplican extracciones especializadas para elementos metálicos, que se han empleado principalmente para biodisponibilidad de micronutrientes (Fe, Mn, Cu, Zn) y que muestran importantes bondades para evaluar la biodisponibilidad de metales pesados. Las diferencias en la cantidad de metales extraídos de estos métodos dependerán del efecto del pH, la capacidad de quelación, DTPA vs EDTA del M3, la concentración de los quelantes, el tiempo de agitación y la temperatura de extracción empleada.

7.3.4. Modelos de regresión lineal múltiple

Finalmente, se corrieron modelos de regresión lineal múltiple para determinar la capacidad de predicción del Cd en el grano. Las variables incluidas en los modelos se agruparon de acuerdo con el Cd en el suelo utilizado (Tabla 32) empleando el Cd total por agua regia, las extracciones simples mejor correlacionadas (DTPA y M3) y las fracciones modeladas mejor correlacionadas (disuelto y unido a la arcilla). Todas las variables se transformaron con $\log_{10}$ a excepción del pH que es una unidad que naturalmente se reporta como $\log_{10}$. Se llevaron a cabo los parámetros de evaluación de modelos R^2 ajustado, AIC y BIC.

Tabla 32. Modelos seleccionados que predicen las concentraciones de Cd en el grano transformado a $\log_{10}$

Modelo	Variables incluidas	R^2 ajustado	AIC	BIC
Grupo 1				
1	$\log [\text{Cd total suelo}^{***}]$	0,47***	27	31
2	$\log [\text{Cd total suelo}^{***}], \text{pH}^*$	0,55***	22	28
3 †	$\log [\text{Cd total suelo}^{***}], \text{pH}^{***}, \log [\text{MO}^{***}]$	0,81***	-5	2
4	$\log [\text{Cd total suelo}^{***}], \text{pH}^{***}, \log [\text{MO}^{***}], \log [\text{arcilla}]$	0,81***	-4	5
Grupo 2				
1	$\log [\text{Cd DTPA}^{***}]$	0,54***	22	27
2	$\log [\text{Cd DTPA}^{***}], \text{pH}^*$	0,61***	17	23
3 †	$\log [\text{Cd DTPA}^{***}], \text{pH}^{***}, \log [\text{MO}^{***}]$	0,81***	-4	3
4	$\log [\text{Cd DTPA}^{***}], \text{pH}^{***}, \log [\text{MO}^{***}], \log [\text{arcilla}]$	0,80***	-3	6
Grupo 3				
1	$\log [\text{Cd M3}^{***}]$	0,53***	23	28
2	$\log [\text{Cd M3}^{***}], \text{pH}^{**}$	0,64***	15	21
3	$\log [\text{Cd M3}^{***}], \text{pH}^{***}, \log [\text{MO}^{***}]$	0,76***	3	10
4	$\log [\text{Cd M3}^{***}], \text{pH}^{***}, \log [\text{MO}^{***}], \log [\text{arcilla}]$	0,75***	6	14
Grupo 4				
1	$\log [\text{Cd disuelto}^{***}]$	0,52***	24	28

Modelo	Variables incluidas	R ² ajustado	AIC	BIC
2	log [Cd disuelto***], pH	0,51***	25	31
3	log [Cd disuelto***], pH**, log [MO***]	0,75***	3	11
4	log [Cd disuelto***], pH, log [MO***], log [arcilla]	0,75***	5	14
Grupo 5				
1	log [Cd arcilla***]	0,45***	28	32
2	log [Cd arcilla***], pH**	0,57***	21	27
3	log [Cd arcilla***], pH, log [MO**]	0,68***	12	20
4	log [Cd arcilla***], pH, log [MO**], log [arcilla]	0,68***	13	22

*** $p < 0,01$, * $p < 0,05$, * $p < 0,1$, MO en g/kg, arcilla en %, Cd en mg/kg

Los grupos 1 y 2 mostraron los modelos con mayor R^2 y más bajos criterios BIC - AIC, lo que muestra que el Cd total y el Cd DTPA son las mejores variables predictivas. Dentro de estos grupos, los modelos número 3 (marcados con †), que incluyeron adicionalmente pH y MO mostraron los mejores resultados explicando el 81% del Cd en el grano. Estos estuvieron por encima de los modelos 4 que incluían la arcilla, dado que esta no fue significativa (sin asteriscos) y tuvieron valores BIC más altos.

En general, la inclusión de MO mejora el modelo y la significancia del pH. Para los grupos 4 y 5, las variables pH y arcilla resultaron no significativas, aunque el modelo general sí. Además, se obtuvo los mayores valores de los criterios BIC - AIC que muestra menor ajuste entre la bondad de los modelos y su complejidad, en comparación con los modelos de los grupos 1 a 3.

Los resultados obtenidos para los criterios AIC y BIC, que, si bien apuntan a objetivos ligeramente diferentes, se utilizaron en conjunto para la selección de los modelos más sólidos. Ambos criterios arrojaron resultados consecuentes, por tanto, el uso de uno solo es suficiente. En todo caso, el criterio BIC penaliza más fuerte la complejidad del modelo, cuando se incluyen más variables, por tanto, promueve modelos más parsimoniosos.

Teniendo en cuenta los mejores modelos encontrados en el presente estudio, se tabularon las ecuaciones de estos, junto con estudios similares (Tabla 33) de suelos de Ecuador y el estudio de Vanderschueren et al., (2021) donde hicieron metaanálisis con los datos reportados en la literatura, y se encontró que las ecuaciones propuestas en el actual estudio son bastante comparables siguiendo las mismas tendencias, con un R^2 mayor y menor número de muestras. En esta tabla también se incluyó el mejor modelo encontrado usando la extracción con Mehlich 3 (M3).

Tabla 33. Ecuaciones de modelos de predicción de Cd en grano de estudios similares

Ecuación del modelo	R ²	n	Referencia
$\log_{10}(\text{Bean Cd})$ $= 1,34 + 0,86 * \log_{10}(\text{Total Soil Cd}) - 0,18$ $* \text{pH} - 0,25 * \log_{10}(\text{SOC})$	0,41	334	(Vanderschueren, et al., 2021)
$\log_{10}(\text{Cd bean}) = 1,66 + 0,94 * \log_{10}(\text{soil CDT}) - 0,21 * \text{pH}$ $- 0,63 * \log_{10}(\%OC)$	0,57	559	(Argüello et al., 2019)
$\log_{10}(\text{Cd grano})$ $= 2,93 + 0,35 * \log_{10}(\text{Cdt suelo}) - 0,30 * \text{pH}$ $- 0,43 * \log_{10}(\text{MO})$	0,81	29	Idarraga, 2023 (actual estudio)
$\log_{10}(\text{Cd grano})$ $= 3,02 + 0,76 * \log_{10}(\text{Cd DTPA}) - 0,27 * \text{pH}$ $- 0,36 * \log_{10}(\text{MO})$			

Ecuación del modelo	R ²	n	Referencia
$\log_{10} (Cd \text{ grano})$ $= 3,01 + 0,80 * \log_{10}(Cd \text{ M3}) - 0,29 * pH$ $- 0,29 * \log_{10}(MO)$	0,76	29	

Unidades de medida de Cd en mg/kg, SOC y OC en % y MO en g/kg

En los modelos para predecir el Cd en el grano, el aporte del Cd en el suelo es positivo, mientras que el pH y la MO es negativo. Cuando se usa Cd en el suelo extraído por DTPA, el coeficiente de multiplicación (0,76) es el doble en comparación de la ecuación que usa el Cd total por agua regia (0,35). La dependencia del Cd total fue menos fuerte en el modelo propuesto en comparación con los estudios previos (0,35 vs 0,86 y 0,94), por el contrario, la dependencia fue más fuerte para el pH. Los resultados de la modelación muestran que el Cd extraído por DTPA tiene una capacidad de predicción mejor o igual que la del Cd total por agua regia.

Por último, se determinaron los niveles de Cd totales, DTPA y M3 que deberían presentar los análisis de suelos para obtener concentraciones en el grano < 0,80 mg/kg (Tabla 34). Se tuvieron en cuenta los valores usados para clasificar los suelos por rango de pH y MO de la Tabla 8.

Tabla 34. Concentraciones de Cd en el suelo estimados para tener Cd<0,80mg/kg en grano, según pH y MO

Rango pH	Cd total por agua regia (mg/kg)			Cd DTPA (mg/kg)			Cd M3 (mg/kg)		
	Baja MO	Media MO	Alta MO	Baja MO	Media MO	Alta MO	Baja MO	Media MO	Alta MO
Acidez fuerte	0,01	0,02	0,02	0,04	0,05	0,05	0,04	0,05	0,05
Acidez moderada	0,02	0,04	0,04	0,05	0,07	0,07	0,05	0,07	0,07
Neutro	0,12	0,25	0,26	0,11	0,15	0,15	0,12	0,15	0,15
Medio alcalino	0,14	0,31	0,32	0,12	0,16	0,16	0,13	0,16	0,16

La Tabla 34 muestra que a medida que la acidez disminuye y la MO aumenta, el sistema suelo-planta puede soportar mayores concentraciones de Cd en el suelo sin transportarlo a la planta. Por tanto, las estrategias de mitigación y control que permitan reducir los niveles de Cd en el grano deberían estar enfocados a aumentar el pH y la MO del suelo, con la aplicación de enmiendas y el manejo agronómico apropiado que permitan inmovilizar las especies más biodisponibles en el suelo (disuelta e intercambiable) para evitar que sean absorbidas por la planta y concentradas en el grano. Lo anterior concuerda con lo publicado por Gutiérrez et al., (2022), donde aplicaron compost en la superficie del suelo para modificar la movilidad del Cd y encontraron que posiblemente la adición de materia orgánica de alta calidad (por ejemplo altos niveles de FA) ayuda a mitigar la contaminación por Cd.

Por otra parte, los suelos estudiados a nivel general se clasificaron con acidez moderada y MO alta, por tanto, los valores obtenidos de Cd en el suelo (mg/kg): Total (agua regia) < 0,04, DTPA < 0,07 y Mehlich 3 < 0,07, predicen concentraciones menores a 0,80 mg/kg de Cd en el grano.

8. CONCLUSIONES

- ✓ La revisión del estado del arte mostró que los resultados de investigación obtenidos para evaluar la biodisponibilidad del metal varían significativamente con el tipo de suelo estudiado, las metodologías aplicadas y los aspectos operativos bajo los cuales se configuran las investigaciones, es decir, para analizar y poner en prácticas resultados de este tipo, es de especial cuidado, revisar las metodologías aplicadas.
- ✓ De los 276 sitios con muestras emparejadas de suelos, granos y hojas, el valor promedio de Cd total fue 0,73 mg/kg en el suelo, 1,58 mg/kg en el grano y 4,95 mg/kg en la hoja. De estos, 110 sitios, que representan el 40%, tuvieron un valor de Cd en el grano $\geq 0,80$ mg/kg; mientras que 42 sitios, que representan el 15%, tuvieron un valor de Cd total en el suelo $\geq 1,00$ mg/kg.
- ✓ Las fracciones mayoritarias de Cd obtenidas en los suelos estudiados fueron la residual y la unida a la MO (HA-FA), las minoritarias fueron la disuelta y la unida a los óxidos de hierro y aluminio. Sin embargo, las fracciones que representan mayor riesgo de movilidad hacia la planta son la disuelta y la intercambiable (unida a la arcilla). Aunque la distribución entre muestras fue muy variada, se encontraron patrones similares dentro de los suelos de cada departamento. Esto sugiere que los suelos distribuyen las fracciones de Cd de formas muy diversas para hacer recomendaciones generales y, por el contrario, los estudios se deben enfocar por regiones más específicas para diseñar acciones a tomar más eficientes.
- ✓ Las mejores correlaciones individuales entre el Cd del suelo extraído con DTPA y Mehlich 3, con el Cd en el grano, sumado a los resultados obtenidos de los modelos de regresión lineal múltiple; sugiere que medir el Cd extraíble con estos métodos simples tiene la misma, o en algunos casos, mejor capacidad de predicción que el Cd total por agua regia, en los suelos estudiados con cultivos de cacao. Además, puede ser más sensible a la variación en el tiempo y el manejo agronómico del cultivo, por ende, puede ser usado como indicador temprano de lo que va a pasar en el grano.
- ✓ El análisis de Cd biodisponible con métodos de extracción simple, puede ser una alternativa útil a la medición del Cd total, si se comparan la facilidad y los menores costos y tiempos requeridos para desarrollar las extracciones de un solo paso; con la complejidad, mayores gastos de reactivos y mayor impacto ambiental del uso del agua regia.
- ✓ Cuando los suelos se clasifican por rangos de acuerdo con sus propiedades fisicoquímicas pH, MO y arcilla, cambian las fuerzas y significancias de las correlaciones entre el Cd del suelo y la concentración en la planta, mostrando que el desempeño y capacidad de predicción de los métodos estudiados de extracción y digestión se notan influenciados por las condiciones del suelo. Para pH, las correlaciones mejoraron favoreciendo el método M3 cuando se trabajaron los suelos con acidez fuerte y medio alcalino. Las extracciones fuertes con HNO₃ y EDTA se favorecieron para suelos con media y alta MO. Mientras que los suelos con altos contenidos de arcilla favorecieron la correlación con la digestión por agua regia.

- ✓ El uso de modelos de regresión lineal múltiple permitió evaluar la alta capacidad de predicción del Cd en el grano a partir de las variables estudiadas en el suelo, explicando hasta el 81% de la variación a partir del Cd total en el suelo o el Cd por DTPA, sumado al pH y la MO.

9. RECOMENDACIONES

- ✓ Validar los resultados del modelado geoquímico con el software ORCHESTRA con extracciones de suelo usando CaCl_2 para comparar con los resultados de las fracciones de Cd-disuelto calculadas. Adicionalmente, correr el modelo con las extracciones de DTPA y Mehlich 3 para comparar resultados obtenidos en el actual estudio donde se usaron los resultados de la extracción con HNO_3 .
- ✓ Con el fin de comparar las fracciones de salida de ORCHESTRA con otros métodos de fraccionamiento de metales pesados para facilitar los estudios de biodisponibilidad, revisar la posibilidad de ajustar las expresiones o modelos matemáticos usados en el software para distinguir como las fracciones ácido-solubles y las fracciones intercambiables, no solo de la arcilla sino del resto de colides minerales del suelo.
- ✓ Teniendo en cuenta la dificultad de cuantificar las concentraciones de Cd cuando se aplican extracciones débiles asociadas al agua intersticial o fases intercambiables del suelo, emplear el software ORCHESTRA de manera más simplificada con menos entradas, con el fin de obtener únicamente las fracciones disueltas y/o unidas a las arcillas, como herramienta de evaluación simple de la biodisponibilidad del Cd para la planta.
- ✓ Un paso importante en el estudio de las relaciones que existen entre las variables del suelo y la planta debe ser la selección del método de correlación más apropiado con base en los supuestos de los métodos de Pearson. Para un estudio de estadística pura, se recomienda evaluar a profundidad cada uno de los supuestos, no obstante, en el campo de aplicación de las ciencias del suelo, se recomienda priorizar los supuestos con base en el tipo de variables estudiadas y los recursos disponibles.
- ✓ Enfocar las tecnologías de inmovilización del metal pesado, tanto a las fracciones más disponibles (disuelta e intercambiable), como a las fracciones potencialmente disponibles como la oxidable (unida a FA y HA), en la cual se encuentran las mayores reservas de Cd en los suelos estudiados.
- ✓ Ampliar los estudios de correlaciones de Cd extraído por métodos simples con el Cd en la planta, utilizando mayor cantidad de muestras dentro de los rangos de pH por encima y por debajo de 5,5 y MO por encima de 2,9%, con el fin de confirmar las tendencias encontradas en el presente estudio hacia el favorecimiento de los métodos DTPA, Mehlich 3 y HNO_3 .
- ✓ Emplear los fundamentos estudiados de la química de los métodos de extracción más especializados que usan soluciones buffer y agentes quelantes, para variar las condiciones de aplicación de estos, por ejemplo: para DTPA tamponar la solución a un pH más bajo y usar una sal débil para favorecer la extracción de la fase intercambiable y para M3 tamponar la solución a un pH más alto y bajar la concentración de HNO_3 ; e incluso proponer nuevas soluciones de extracción, que apunten a extraer en un solo paso, las sumatoria de las fracciones de Cd más biodisponibles que se encontraron: disuelto + unido a la arcilla + unido a la MO.

- ✓ Establecer guías y recomendaciones a nivel regional o nacional, a través de los comités técnicos nacionales, las instituciones metrológicas y los organismos y autoridades competentes, para abordar la biodisponibilidad de los metales pesados en el suelo para las plantas, desde un enfoque operacional y mecanicista, que permita tanto armonizar los términos y conceptos, como los protocolos y métodos de evaluación.
- ✓ Correlacionar y calibrar los métodos de extracción de metales pesados para evaluar la biodisponibilidad en los principales cultivos de Colombia, con un enfoque similar al que se usa con los métodos de extracción de nutrientes, para determinar la capacidad de predicción y los valores críticos de cada método estableciendo las variables de respuesta en la planta.
- ✓ En vista del potencial uso de los métodos de extracción simple como DTPA o Mehlich 3 para evaluar la biodisponibilidad de metales pesados en el suelo para las plantas, emplear los resultados obtenidos del presente estudio y/o proyectos similares, para modelar el Cd extractable a partir del Cd total por agua regia y otras variables como pH y MO.
- ✓ Emplear las ecuaciones de los modelos de regresión lineal múltiple propuestos, con datos nuevos que se obtengan con obtengan del proyecto Clima-LoCa o proyectos similares, para evaluar su precisión con mayor cantidad de muestras, y ajustar los coeficientes en caso de ser necesario.
- ✓ Cuando se requiera un análisis de laboratorio, definir muy bien los objetivos del estudio, para decidir cuál es el método de extracción o digestión más apropiado a emplear. Por ejemplo, si la intención es evaluar la biodisponibilidad temprana o a mediano plazo usar métodos de extracción simple, mientras que, si el objetivo es evaluar el potencial de contaminación, usar el método de digestión agua regia.
- ✓ Estudiar las fracciones de metales pesados en el suelo y su relación con la concentración en la planta para otros cultivos, con el fin de diseñar estrategias de mitigación más específicas y eficientes, que busquen minimizar los procesos de traslocación de metales pesados a la cadena trófica y disminuir el riesgo de ingesta de estos contaminantes en la dieta humana.

10. REFERENCIAS

- Afoakwa, E. O., Paterson, A., Fowler, M., & Ryan, A. (2008). Flavor formation and character in cocoa and chocolate: A critical review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48(9), 840–857. <https://doi.org/10.1080/10408390701719272>
- Aikpokpodion, P. E., Lajide, L., & Aiyesanmi, A. F. (2012). Metal fractionation in soils collected from selected cocoa plantations in ogun state, Nigeria. *World Applied Sciences Journal*, 20(5), 628–636. <https://doi.org/10.5829/idosi.wasj.2012.20.05.2769>
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.08.292>
- Barraza, F., Schreck, E., Uzu, G., Lévêque, T., Zouiten, C., Boidot, M., & Maurice, L. (2021). Beyond cadmium accumulation: Distribution of other trace elements in soils and cacao beans in Ecuador. *Environmental Research*, 192. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.110241>
- Bravo, D., Leon-Moreno, C., Martínez, C. A., Varón-Ramírez, V. M., Araujo-Carrillo, G. A., Vargas, R., Quiroga-Mateus, R., Zamora, A., & Rodríguez, E. A. G. (2021). The First National Survey of Cadmium in Cacao Farm Soil in Colombia. *Agronomy*, 11(4), 761. <https://doi.org/10.3390/agronomy11040761>
- Bravo, D., Pardo-Díaz, S., Benavides-Erazo, J., Rengifo-Estrada, G., Braissant, O., & Leon-Moreno, C. (2018). Cadmium and cadmium-tolerant soil bacteria in cacao crops from northeastern Colombia. *Journal of Applied Microbiology*, 124(5), 1175–1194. <https://doi.org/10.1111/jam.13698>
- Bravo, D., Santander, M., Rodríguez, J., Escobar, S., Ramtahal, G., & Atkinson, R. (2022). ‘From soil to chocolate bar’: identifying critical steps in the journey of cadmium in a Colombian cacao plantation. *Food Additives and Contaminants - Part A*, 39(5), 949–963. <https://doi.org/10.1080/19440049.2022.2040747>
- Burnham, K., & Anderson, D. R. (2004). *Multimodel Inference Understanding AIC and BIC in Model Selection*. 33(2), 261–304. <https://doi.org/10.1177/0049124104268644>
- Castellanos Ramos, J., & Santiago Rodriguez, J. D. (2016). El Análisis de Suelo, Diagnóstico, Calidad y Asertividad. *Artículos Técnicos de INTAGRI*, 7. <https://www.intagri.com/articulos/suelos/el-analisis-de-suelo-diagnostico-calidad-y-asertividad>
- CBI. (2021). *Contents of this page 1*. (Vol. 1, Issue March). <https://www.cbi.eu/market-information/cocoa/trade-statistics>
- Chavez, E., He, Z. L., Stoffella, P. J., Mylavarapu, R., Li, Y., & Baligar, V. C. (2016a). Evaluation of soil amendments as a remediation alternative for cadmium-contaminated soils under cacao plantations. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(17), 17571–17580. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6931-7>
- Chavez, E., He, Z. L., Stoffella, P. J., Mylavarapu, R. S., Li, Y. C., & Baligar, V. C. (2016b). Chemical speciation of cadmium: An approach to evaluate plant-available cadmium in Ecuadorian soils under cacao production. *Chemosphere*, 150, 57–62.

<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.02.013>

- Chavez, E., He, Z. L., Stoffella, P. J., Mylavarapu, R. S., Li, Y. C., Moyano, B., & Baligar, V. C. (2015). Concentration of cadmium in cacao beans and its relationship with soil cadmium in southern Ecuador. *Science of the Total Environment*, 533, 205–214. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.06.106>
- Correa, J. E., Ramírez, R., Ruíz, O., & Leiva, E. I. (2021). Effect of soil characteristics on cadmium absorption and plant growth of *Theobroma cacao* L. seedlings. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(13), 5437–5445. <https://doi.org/10.1002/jsfa.11192>
- Daza Torres, M. C. (2021). Clase de Contaminación de suelos. *Universidad Del Valle*.
- Department of Agriculture and Consumer Services, N. C. (2013). *Mehlich-3 Extractant*. Website. <https://www.ncagr.gov/agronomi/meh3.htm>
- Dutta, S. K., & Lodhari, D. R. (2018). Heavy Metals in Soils. In B. J. Alloway & J. T. Trevors (Eds.), *Topics in Mining, Metallurgy and Materials Engineering* (Tercera). Springer. https://doi.org/10.1007/978-981-10-5172-2_2
- FAO. (2019). La contaminación del suelo: una realidad oculta. In *Organizacion de las Naciones Unidas para la alimentacion y la agricultura FAO*. <http://www.fao.org/3/I9183ES/i9183es.pdf>
- FEDECACAO. (2021). *El primer trimestre del 2021 registró la producción de cacao más alta de la historia en Colombia*. Fedecacao. <https://www.fedecacao.com.co/post/el-primer-trimestre-del-2021-registró-la-producción-de-cacao-más-alta-de-la-historia-en-colombia#:~:text=Bogotá D.C.%2C 19 de mayo,incremento del 47%25 frente a>
- Gao, H., Koopmans, G. F., Song, J., Groenenberg, J. E., Liu, X., Comans, R. N. J., & Weng, L. (2022). Evaluation of heavy metal availability in soils near former zinc smelters by chemical extractions and geochemical modelling. *Geoderma*, 423(February), 115970. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2022.115970>
- Garcia, I., & Dorronsoro, C. (2000). *Contaminación del suelo*. <http://www.edafologia.net/conta/tema00/progr.htm>
- Gil, J. P., López-Zuleta, S., Quiroga-Mateus, R. Y., Benavides-Erazo, J., Chaali, N., & Bravo, D. (2021). Cadmium distribution in soils, soil litter and cacao beans: a case study from Colombia. *International Journal of Environmental Science and Technology*. <https://doi.org/10.1007/s13762-021-03299-x>
- Gimeno, M. J., & Peña, J. (1994). Principios básicos de la modelización geoquímica directa e inversa. *Estudios Geológicos*, 50, 359–367. <https://doi.org/https://doi.org/10.3989/egeol.94505-6328>
- González, D., Almendros, P., & Álvarez, J. M. (2009). Métodos de análisis de elementos en suelos : disponibilidad y fraccionamiento. *Anales de Química*, 105(3), 205–212.
- González, J. V., Cajuste, L. J., Trinidad, A., & Reyes, F. G. (2000). *Correlation and Calibration of Extraction Solutions of Available Phosphorus in*. 287–291.
- Gonzalez, X. (2021). *La producción de cacao alcanzó cifra récord en 2020 y llegó a las 63.416 toneladas*. La República; Agronegocios. <https://www.agronegocios.co/agricultura/la-produccion-de-cacao-alcanzo-cifra-record-en-2020-y-llego-a-las-63416-toneladas-3123391>

- 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. *Science of the Total Environment*, 580, 677–686. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.12.014>
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.145>
- Gutiérrez, E., Chávez, E., Gamage, K. H. H., Argüello, D., Galkaduwa, M. B., & Hettiarachchi, G. M. (2022). Cadmium fractionation in soils affected by organic matter application: Transfer of cadmium to cacao (*Theobroma cacao* L.) tissues. *Frontiers in Environmental Science*, 10(September), 1–13. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2022.954521>
- Hauke, J., & Kossowski, T. (2011). Comparison of values of pearson's and spearman's correlation coefficients on the same sets of data. *Quaestiones Geographicae*, 30(2), 87–93. <https://doi.org/10.2478/v10117-011-0021-1>
- Hernández, J. C. (2013). Edafología y Fertilidad, Curso de Entomología Agrícola. *Universidad Nacional Abierta y a Distancia*, 1–205.
- ICONTEC. (2007). *Norma Técnica Colombiana NTC 5526. Calidad de Suelo. Determinación de micronutrientes disponibles: cobre, zinc, hierro y manganeso* (p. 8).
- Jaramillo, D. (2002). Introducción a la ciencia del suelo. *Introducción a La Ciencia Del Suelo*, 619.
- Joya-Barrero, V., Huguet, C., & Pearse, J. (2023). Natural and Anthropogenic Sources of Cadmium in Cacao Crop Soils of Santander, Colombia. *Soil Systems*, 7(1), 12. <https://doi.org/10.3390/soilsystems7010012>
- Kim, R. Y., Yoon, J. K., Kim, T. S., Yang, J. E., Owens, G., & Kim, K. R. (2015). Bioavailability of heavy metals in soils: definitions and practical implementation—a critical review. *Environmental Geochemistry and Health*, 37(6), 1041–1061. <https://doi.org/10.1007/s10653-015-9695-y>
- Laerd, S. (2020). Pearson Product-Moment Correlation - When you should run this test, the range of values the coefficient can take and how to measure strength of association. In *Statistics.Laerd.Com*. Correlation coefficients are used in statistics to measure how strong a relationship is between two variables. There are several types of correlation coefficient, but the most popular is Pearson's. Pearson's correlation (also called Pearson's R) is a corr
- Lewis, C., Lennon, A. M., Eudoxie, G., Sivapatham, P., & Umaharan, P. (2021). Plant metal concentrations in *Theobroma cacao* as affected by soil metal availability in different soil types. *Chemosphere*, 262, 127749. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127749>
- Lindsay, W. L., & Norvell, W. A. (1978). Development of a DTPA Soil Test for Zinc, Iron, Manganese, and Copper. *Soil Science Society of America Journal*, July, 48–50.
- López, A. J. (2006). Manual De Edafología. *Media*, 806(Enero), 1–92. <http://www.emisarios.unican.es/herramientas.htm>
- Maurice, L., & Barraza, F. (2019). *Bioacumulación del cadmio en el cacao y riesgos sanitarios asociados*.
- Meers, E., Du Laing, G., Unamuno, V., Ruttens, A., Vangronsveld, J., Tack, F. M. G., & Verloo, M. G.

- (2007). Comparison of cadmium extractability from soils by commonly used single extraction protocols. *Geoderma*, 141(3–4), 247–259. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2007.06.002>
- Meers, E., Samson, R., Tack, F. M. G., Ruttens, A., Vandegehuchte, M., Vangronsveld, J., & Verloo, M. G. (2007). Phytoavailability assessment of heavy metals in soils by single extractions and accumulation by *Phaseolus vulgaris*. *Environmental and Experimental Botany*, 60(3), 385–396. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2006.12.010>
- Meeussen, H. (2023). *ORCHESTRA | Geochemical and Transport Modelling*. <http://orchestra.meeussen.nl/>
- Meter, A., Atkinson, R. J., & Laliberté, B. (2019). *Cadmio en el cacao de América Latina y el Caribe – Análisis de la investigación y soluciones potenciales para la mitigación*. Bioersity. <https://hdl.handle.net/10568/102354>
- Mylavarapu, R., Obreza, T., Morgan, K., Hochmuth, G., Nair, V., & Wright, A. (2014). Extraction of Soil Nutrients Using Mehlich-3 Reagent for Acid-Mineral Soils of Florida. *Edis*, 2014(7), 1–7. <https://doi.org/10.32473/edis-ss620-2014>
- Pereira de Araújo, R., Furtado de Almeida, A. A., Silva Pereira, L., Mangabeira, P. A. O., Olimpio Souza, J., Pirovani, C. P., Ahnert, D., & Baligar, V. C. (2017). Photosynthetic, antioxidative, molecular and ultrastructural responses of young cacao plants to Cd toxicity in the soil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 144(January), 148–157. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.06.006>
- PROCOLOMBIA. (2016). *Lo que debe saber para exportar cacao fino de aroma*.
- Ramtahal, G., Chang Yen, I., Ahmad, N., Bekele, I., Bekele, F., Maharaj, K., Wilson, L., & Harrynanan, L. (2015). Prediction of Soil Cadmium Bioavailability to Cacao (*Theobroma cacao* L.) using Single-Step Extraction Procedures. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 46(20), 2585–2594. <https://doi.org/10.1080/00103624.2015.1089262>
- Ramtahal, G., Chang Yen, I., Hamid, A., Bekele, I., Bekele, F., Maharaj, K., & Harrynanan, L. (2018). The Effect of Liming on the Availability of Cadmium in Soils and Its Uptake in Cacao (*Theobroma cacao* L.) In Trinidad & Tobago. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 49(19), 2456–2464. <https://doi.org/10.1080/00103624.2018.1510955>
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.07.369>
- Ramtahal, G., Yen, I. C., Bekele, I., Bekele, F., Wilson, L., Maharaj, K., & Harrynanan, L. (2016). Relationships between Cadmium in Tissues of Cacao Trees and Soils in Plantations of Trinidad and Tobago. *Food and Nutrition Sciences*, 07(01), 37–43. <https://doi.org/10.4236/fns.2016.71005>
- Rebekić, A., Lončarić, Z., Petrović, S., & Marić, S. (2015). Pearson's or Spearman's correlation coefficient - Which one to use? *Poljoprivreda*, 21(2), 47–54. <https://doi.org/10.18047/poljo.21.2.8>
- Restrepo, L. F., & Gonzalez, J. (2007). De Pearson a Spearman. *Rev Col Cienc Pec*, 20, 183–192.

- Rodríguez Albarracín, H. S., Darghan Contreras, A. E., & Henao, M. C. (2019). Spatial regression modeling of soils with high cadmium content in a cocoa producing area of Central Colombia. *Geoderma Regional*, 16, e00214. <https://doi.org/10.1016/j.geodrs.2019.e00214>
- Rodríguez Albarracín, H. S., Darghan Contreras, A. E., & Henao, M. C. (2019). Spatial regression modeling of soils with high cadmium content in a cocoa producing area of Central Colombia. *Geoderma Regional*, 16. <https://doi.org/10.1016/j.geodrs.2019.e00214>
- Rodriguez, H. (2017). Dinámica del cadmio en suelos con niveles altos del elemento, en zonas productoras de cacao de Nilo y Yacopí, Cundinamarca. *Universidad Nacional de Colombia*, 107–153. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/62944>
- Thomas, E., Atkinson, R., Zavaleta, D., Rodriguez, C., Lastra, S., Arango, K., Pezo, A., Aguilar, J., Tames, M., Ramos, A., Cruz, W., Cosme, R., Espinoza, E., Chavez, C. R., & Ladd, B. (2023). The distribution of cadmium in soil and cacao beans in Peru. *Science of The Total Environment*, 881(December 2022), 163372. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.163372>
- Unión-Europea. (2014). REGLAMENTO (UE) No 488/2014 DE LA COMISIÓN de 12 de mayo de 2014. In *Diario Oficial: Vol. L 138/75* (pp. 1–5).
- Vanderschueren, R., Argüello, D., Blommaert, H., Montalvo, D., Barraza, F., Maurice, L., Schreck, E., Schulín, R., Lewis, C., Vazquez, J. L., 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. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146779>
- Vanderschueren, R., De Mesmaeker, V., Mounicou, S., Isaure, M.-P., Doelsch, E., Montalvo, D., Delcour, J. A., Chavez, E., & Smolders, E. (2020). The impact of fermentation on the distribution of cadmium in cacao beans. *Food Research International*, 127. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108743>
- Vanderschueren, R., Wantiez, L., Blommaert, H., Flores, J., Chavez, E., & Smolders, E. (2023). Revealing the pathways of cadmium uptake and translocation in cacao trees (*Theobroma cacao* L.): A 108Cd pulse-chase experiment. *Science of the Total Environment*, 869(November 2022), 161816. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.161816>
- Yap, B. W., & Sim, C. H. (2011). Comparisons of various types of normality tests. *Journal of Statistical Computation and Simulation*, 81(12), 2141–2155. <https://doi.org/10.1080/00949655.2010.520163>

11. ANEXO 1

TRANSFORMACIÓN Y DATOS DE ENTRADA Y SALIDA DEL SOFTWARE ORCHESTRA

La entrada del modelo consistió en el pH, contenido de arcilla, 1 mM $\text{Ca}(\text{NO}_3)$ como concentración de la solución de fondo y cadmio “total reactivo” medido con la extracción de HNO_3 . Basándose en otros experimentos en curso, se asumió que el 48% es HA y el 11% es FA en fase sólida. La materia orgánica disuelta es muy variable y los estudios aún están en curso, por el momento, se asumió que el 2% está disuelta, y de ésta, el 20% son HA y el 40% son FA. La adsorción de arcilla se basó en arcillas 1:1 descritas con el modelo Donnan.

Para cuantificar los óxidos, se utilizaron las extracciones con oxalato de amonio y ditionito. El hierro y el aluminio se modelizaron con la misma partícula modelo que tenía una superficie supuesta de $600 \text{ m}^2/\text{g}$. Las concentraciones de oxalato de amonio de Fe y Al se utilizaron para calcular la cantidad de óxidos amorfos basándose en una masa molar supuesta de 95 y 84 g/mol. Se supuso que la diferencia entre las concentraciones obtenidas por el oxalato de amonio y el ditionito representan la fracción de óxido cristalino, para la que se supuso que las partículas de óxido de Fe y Al tienen masas molares de 89 y 78 g/mol, respectivamente. La cantidad total de óxidos (HFO) se calculó sumando los óxidos amorfos de Al y Fe, y 1/6 de los óxidos cristalinos, ya que tienen una superficie reactiva unas 6 veces menor ($100 \text{ m}^2/\text{g}$). Para el manganeso no se hizo distinción entre especies de óxido, y se utilizó la ditionito y una masa molar de 119 g/mol para calcular el HMO.

Tabla A35. Datos originales y de ORCHESTRA para extracción con HNO_3 .

Muestra	Datos originales			OCHESTRA		
	Cd (mg/kg)	Cu (mg/kg)	Zn (mg/kg)	Cd (mol/L)	Cu (mol/L)	Zn (mol/L)
1	0.39	2.06	2.59	3.47E-07	3.24E-06	3.96E-06
2	0.26	3.18	9.91	2.33E-07	5.00E-06	1.52E-05
3	3.70	2.16	3.96	3.29E-06	3.40E-06	6.05E-06
4	1.02	1.99	4.05	9.07E-07	3.14E-06	6.19E-06
5	1.34	1.98	3.94	1.19E-06	3.12E-06	6.02E-06
6	1.26	2.17	7.89	1.12E-06	3.41E-06	1.21E-05
7	0.88	2.10	7.80	7.84E-07	3.31E-06	1.19E-05
8	0.18	9.56	12.76	1.61E-07	1.51E-05	1.95E-05
9	0.33	22.43	26.77	2.96E-07	3.53E-05	4.09E-05
10	0.15	23.15	11.35	1.33E-07	3.64E-05	1.74E-05
11	0.24	19.73	21.18	2.16E-07	3.10E-05	3.24E-05
12	0.49	20.76	68.64	4.34E-07	3.27E-05	1.05E-04
13	1.05	10.51	21.36	9.38E-07	1.65E-05	3.27E-05
14	0.39	2.95	8.80	3.51E-07	4.64E-06	1.35E-05
15	3.34	4.70	17.04	2.97E-06	7.39E-06	2.61E-05
16	20.08	8.26	40.46	1.79E-05	1.30E-05	6.19E-05
17	2.26	6.54	23.49	2.01E-06	1.03E-05	3.59E-05
18	0.91	2.91	13.48	8.07E-07	4.58E-06	2.06E-05

	Datos originales			OCHESTRA		
19	0.63	3.31	4.89	5.63E-07	5.21E-06	7.49E-06
20	0.28	1.58	2.14	2.50E-07	2.49E-06	3.27E-06
21	0.37	3.42	10.30	3.27E-07	5.39E-06	1.58E-05
22	0.28	2.70	5.33	2.46E-07	4.25E-06	8.15E-06
23	0.30	6.33	3.70	2.71E-07	9.97E-06	5.66E-06
24	0.17	4.93	12.64	1.55E-07	7.76E-06	1.93E-05
25	1.55	3.77	7.89	1.38E-06	5.93E-06	1.21E-05
26	5.68	6.65	67.31	5.05E-06	1.05E-05	1.03E-04
27	0.32	16.67	12.44	2.82E-07	2.62E-05	1.90E-05
28	0.48	34.27	41.34	4.27E-07	5.39E-05	6.32E-05
29	0.22	16.11	20.67	1.98E-07	2.54E-05	3.16E-05
30	0.26	53.13	28.30	2.31E-07	8.36E-05	4.33E-05
31	0.45	11.55	5.15	4.02E-07	1.82E-05	7.88E-06
32	2.53	30.67	56.35	2.25E-06	4.83E-05	8.62E-05
33	0.32	9.92	14.87	2.87E-07	1.56E-05	2.27E-05
34	3.02	27.04	57.32	2.68E-06	4.26E-05	8.77E-05

Tabla A36. Datos preliminares del proyecto Clima-LoCa

Muestra	Factor	0.48	0.11
	SOC	HA	FA
	(kg/kg)	(kg/kg)	(kg/kg)
1	0.0191	9.19E-03	2.11E-03
2	0.0305	1.46E-02	3.35E-03
3	0.0165	7.93E-03	1.82E-03
4	0.0164	7.86E-03	1.80E-03
5	0.0163	7.80E-03	1.79E-03
6	0.0270	1.30E-02	2.97E-03
7	0.0290	1.39E-02	3.19E-03
8	0.0489	2.35E-02	5.38E-03
9	0.0460	2.21E-02	5.06E-03
10	0.0608	2.92E-02	6.69E-03
11	0.0637	3.06E-02	7.01E-03
12	0.1212	5.82E-02	1.33E-02
13	0.0569	2.73E-02	6.26E-03
14	0.0554	2.66E-02	6.09E-03
15	0.0882	4.23E-02	9.70E-03
16	0.0621	2.98E-02	6.83E-03
17	0.1018	4.89E-02	1.12E-02
18	0.0438	2.10E-02	4.81E-03
19	0.0278	1.33E-02	3.05E-03

Muestra	Factor	0.2	0.4
	DOC	HA	FA
	(kg/L)	(kg/L)	(kg/L)
1	3.83E-05	7.66E-06	3.06E-06
2	6.09E-05	1.22E-05	4.87E-06
3	3.30E-05	6.61E-06	2.64E-06
4	3.27E-05	6.55E-06	2.62E-06
5	3.25E-05	6.50E-06	2.60E-06
6	5.41E-05	1.08E-05	4.32E-06
7	5.81E-05	1.16E-05	4.64E-06
8	9.79E-05	1.96E-05	7.83E-06
9	9.21E-05	1.84E-05	7.36E-06
10	1.22E-04	2.43E-05	9.73E-06
11	1.27E-04	2.55E-05	1.02E-05
12	2.42E-04	4.85E-05	1.94E-05
13	1.14E-04	2.28E-05	9.10E-06
14	1.11E-04	2.22E-05	8.86E-06
15	1.76E-04	3.53E-05	1.41E-05
16	1.24E-04	2.48E-05	9.93E-06
17	2.04E-04	4.07E-05	1.63E-05
18	8.75E-05	1.75E-05	7.00E-06
19	5.55E-05	1.11E-05	4.44E-06

Muestra	Factor	0.48	0.11
	SOC	HA	FA
	(kg/kg)	(kg/kg)	(kg/kg)
20	0.0245	1.18E-02	2.69E-03
21	0.0291	1.39E-02	3.20E-03
22	0.0220	1.06E-02	2.42E-03
23	0.0955	4.58E-02	1.05E-02
24	0.0808	3.88E-02	8.89E-03
25	0.0478	2.30E-02	5.26E-03
26	0.0783	3.76E-02	8.61E-03
27	0.0616	2.96E-02	6.78E-03
28	0.0767	3.68E-02	8.43E-03
29	0.0880	4.23E-02	9.68E-03
30	0.0733	3.52E-02	8.07E-03
31	0.0925	4.44E-02	1.02E-02
32	0.0447	2.14E-02	4.91E-03
33	0.0412	1.98E-02	4.53E-03
34	0.0860	4.13E-02	9.46E-03

Muestra	Factor	0.2	0.4
	DOC	HA	FA
	(kg/L)	(kg/L)	(kg/L)
20	4.90E-05	9.79E-06	3.92E-06
21	5.81E-05	1.16E-05	4.65E-06
22	4.40E-05	8.81E-06	3.52E-06
23	1.91E-04	3.82E-05	1.53E-05
24	1.62E-04	3.23E-05	1.29E-05
25	9.56E-05	1.91E-05	7.65E-06
26	1.57E-04	3.13E-05	1.25E-05
27	1.23E-04	2.46E-05	9.86E-06
28	1.53E-04	3.07E-05	1.23E-05
29	1.76E-04	3.52E-05	1.41E-05
30	1.47E-04	2.93E-05	1.17E-05
31	1.85E-04	3.70E-05	1.48E-05
32	8.93E-05	1.79E-05	7.15E-06
33	8.24E-05	1.65E-05	6.59E-06
34	1.72E-04	3.44E-05	1.38E-05

Tabla A37. Datos de óxidos e hidróxidos de hierro, amorfos y cristalinos

Muestra	Oxalato	Amorfo		Ditionito		Cristalino	
	Fe-AO	Fe	FeOx	Fe-D	Fe	Fe	FeOx
	(mg/kg)	(mol/kg)	(kg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mol/kg)	(kg/kg)
1	1556	0.028	2.65E-03	13238	11682	0.209	3.10E-03
2	1250	0.022	2.13E-03	5942	4693	0.084	1.25E-03
3	1973	0.035	3.36E-03	6655	4682	0.084	1.24E-03
4	1824	0.033	3.10E-03	7125	5301	0.095	1.41E-03
5	1926	0.034	3.28E-03	6576	4650	0.083	1.24E-03
6	1878	0.034	3.19E-03	16108	14231	0.255	3.78E-03
7	2244	0.040	3.82E-03	20886	18642	0.334	4.95E-03
8	6946	0.124	1.18E-02	17201	10255	0.184	2.72E-03
9	19168	0.343	3.26E-02	32998	13830	0.248	3.67E-03
10	9110	0.163	1.55E-02	25722	16612	0.297	4.41E-03
11	9320	0.167	1.59E-02	24526	15206	0.272	4.04E-03
12	4588	0.082	7.80E-03	12804	8216	0.147	2.18E-03
13	3332	0.060	5.67E-03	12800	9468	0.170	2.51E-03
14	7019	0.126	1.19E-02	30053	23034	0.412	6.12E-03
15	3479	0.062	5.92E-03	32990	29510	0.528	7.84E-03
16	3166	0.057	5.39E-03	32447	29280	0.524	7.78E-03

Muestra	Oxalato	Amorfo		Ditionito		Cristalino	
	Fe-AO	Fe	FeOx	Fe-D	Fe	Fe	FeOx
	(mg/kg)	(mol/kg)	(kg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mol/kg)	(kg/kg)
17	1924	0.034	3.27E-03	11438	9514	0.170	2.53E-03
18	5714	0.102	9.72E-03	22822	17107	0.306	4.54E-03
19	2635	0.047	4.48E-03	18923	16288	0.292	4.33E-03
20	3329	0.060	5.66E-03	21186	17858	0.320	4.74E-03
21	7382	0.132	1.26E-02	24764	17382	0.311	4.62E-03
22	3722	0.067	6.33E-03	18097	14374	0.257	3.82E-03
23	6274	0.112	1.07E-02	11820	5545	0.099	1.47E-03
24	3351	0.060	5.70E-03	12700	9349	0.167	2.48E-03
25	3233	0.058	5.50E-03	12639	9405	0.168	2.50E-03
26	4537	0.081	7.72E-03	8551	4014	0.072	1.07E-03
27	8201	0.147	1.40E-02	34887	26685	0.478	7.09E-03
28	9249	0.166	1.57E-02	41701	32453	0.581	8.62E-03
29	6823	0.122	1.16E-02	22281	15458	0.277	4.11E-03
30	4555	0.082	7.75E-03	14403	9848	0.176	2.62E-03
31	11543	0.207	1.96E-02	29572	18030	0.323	4.79E-03
32	6833	0.122	1.16E-02	37949	31117	0.557	8.26E-03
33	6666	0.119	1.13E-02	19409	12743	0.228	3.38E-03
34	17521	0.314	2.98E-02	43442	25921	0.464	6.88E-03

Tabla A38. Datos de óxidos e hidróxidos de aluminio.

Muestra	Oxalato	Amorfo		Ditionito		Cristalino	
	Al-AO	Al	AlOx	Al-D	Al	Al	AlOx
	(mg/kg)	(mol/kg)	(kg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mol/kg)	(kg/kg)
1	507	0.019	1.58E-03	1810	1303	0.048	6.28E-04
2	399	0.015	1.24E-03	890	491	0.018	2.37E-04
3	305	0.011	9.48E-04	852	548	0.020	2.64E-04
4	358	0.013	1.12E-03	1015	656	0.024	3.16E-04
5	287	0.011	8.94E-04	896	608	0.023	2.93E-04
6	630	0.023	1.96E-03	2220	1590	0.059	7.66E-04
7	920	0.034	2.86E-03	2687	1768	0.066	8.52E-04
8	2741	0.102	8.53E-03	3617	876	0.032	4.22E-04
9	1763	0.065	5.49E-03	2383	619	0.023	2.98E-04
10	4523	0.168	1.41E-02	4481	-42	-0.002	-2.00E-05
11	4476	0.166	1.39E-02	4823	347	0.013	1.67E-04
12	29561	1.096	9.20E-02	16670	-12891	-0.478	-6.21E-03
13	1220	0.045	3.80E-03	2226	1006	0.037	4.85E-04
14	2443	0.091	7.61E-03	4956	2513	0.093	1.21E-03

Muestra	Oxalato	Amorfo		Ditionito		Cristalino	
	Al-AO	Al	AlOx	Al-D	Al	Al	AlOx
	(mg/kg)	(mol/kg)	(kg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mol/kg)	(kg/kg)
15	1956	0.072	6.09E-03	4191	2235	0.083	1.08E-03
16	1474	0.055	4.59E-03	3699	2225	0.082	1.07E-03
17	968	0.036	3.01E-03	1933	965	0.036	4.65E-04
18	1607	0.060	5.00E-03	3293	1687	0.063	8.13E-04
19	450	0.017	1.40E-03	1451	1002	0.037	4.83E-04
20	1505	0.056	4.69E-03	1614	109	0.004	5.24E-05
21	960	0.036	2.99E-03	2144	1184	0.044	5.71E-04
22	581	0.022	1.81E-03	1315	733	0.027	3.53E-04
23	9193	0.341	2.86E-02	8266	-927	-0.034	-4.47E-04
24	2282	0.085	7.10E-03	2910	629	0.023	3.03E-04
25	917	0.034	2.85E-03	1209	292	0.011	1.41E-04
26	1132	0.042	3.52E-03	1337	205	0.008	9.90E-05
27	1514	0.056	4.71E-03	3956	2443	0.091	1.18E-03
28	3543	0.131	1.10E-02	6006	2463	0.091	1.19E-03
29	2885	0.107	8.98E-03	3935	1050	0.039	5.06E-04
30	1963	0.073	6.11E-03	3323	1360	0.050	6.55E-04
31	5094	0.189	1.59E-02	8027	2932	0.109	1.41E-03
32	1384	0.051	4.31E-03	3498	2114	0.078	1.02E-03
33	2414	0.089	7.52E-03	3426	1012	0.038	4.88E-04
34	2855	0.106	8.89E-03	4945	2090	0.077	1.01E-03

Tabla A39. Datos de óxidos e hidróxidos de manganeso.

Muestra	Ditionito Total		
	Mn-D	Mn	MnOx
	(mg/kg)	(mol/kg)	(kg/kg)
1	356	0.006	7.71E-04
2	257	0.005	5.58E-04
3	190	0.003	4.11E-04
4	143	0.003	3.09E-04
5	215	0.004	4.65E-04
6	710	0.013	1.54E-03
7	486	0.009	1.05E-03
8	409	0.007	8.87E-04
9	751	0.014	1.63E-03
10	855	0.016	1.85E-03
11	1458	0.027	3.16E-03
12	384	0.007	8.31E-04

Muestra	Ditionito Total		
	Mn-D (mg/kg)	Mn (mol/kg)	MnOx (kg/kg)
13	479	0.009	1.04E-03
14	86	0.002	1.86E-04
15	938	0.017	2.03E-03
16	851	0.015	1.84E-03
17	396	0.007	8.57E-04
18	350	0.006	7.59E-04
19	682	0.012	1.48E-03
20	692	0.013	1.50E-03
21	851	0.015	1.84E-03
22	447	0.008	9.69E-04
23	642	0.012	1.39E-03
24	590	0.011	1.28E-03
25	660	0.012	1.43E-03
26	262	0.005	5.67E-04
27	541	0.010	1.17E-03
28	1696	0.031	3.67E-03
29	611	0.011	1.32E-03
30	2809	0.051	6.08E-03
31	600	0.011	1.30E-03
32	1800	0.033	3.90E-03
33	626	0.011	1.36E-03
34	2204	0.040	4.77E-03

Tabla A40. Datos de entrada al software ORCHESTRA (HFO: óxidos e hidróxidos de aluminio + hierro, HMO: óxidos de manganeso)

Muestra	pH	Cd+2.tot	SHA	SFA	HFO	HMO	Arcilla	Ca+2.diss	NO3-.dis	DHA	DFA
	N/A	(mol/L)	(kg/kg)	(kg/kg)	(kg/kg)	(kg/kg)	(kg/kg)	(mol/L)	(mol/L)	(kg/L)	(kg/L)
1	6.75	3.47E-07	9.19E-03	2.11E-03	7.96E-03	7.71E-04	1.72E-01	0.0001	0.0002	7.66E-06	3.06E-06
2	7.64	2.33E-07	1.46E-02	3.35E-03	4.85E-03	5.58E-04	1.59E-01	0.0001	0.0002	1.22E-05	4.87E-06
3	7.02	3.29E-06	7.93E-03	1.82E-03	5.81E-03	4.11E-04	1.11E-01	0.0001	0.0002	6.61E-06	2.64E-06
4	6.08	9.07E-07	7.86E-03	1.80E-03	5.94E-03	3.09E-04	1.36E-01	0.0001	0.0002	6.55E-06	2.62E-06
5	7	1.19E-06	7.80E-03	1.79E-03	5.70E-03	4.65E-04	1.24E-01	0.0001	0.0002	6.50E-06	2.60E-06
6	7.22	1.12E-06	1.30E-02	2.97E-03	9.70E-03	1.54E-03	1.50E-01	0.0001	0.0002	1.08E-05	4.32E-06
7	7.4	7.84E-07	1.39E-02	3.19E-03	1.25E-02	1.05E-03	3.40E-01	0.0001	0.0002	1.16E-05	4.64E-06
8	5.65	1.61E-07	2.35E-02	5.38E-03	2.35E-02	8.87E-04	3.89E-01	0.0001	0.0002	1.96E-05	7.83E-06
9	5.07	2.96E-07	2.21E-02	5.06E-03	4.21E-02	1.63E-03	6.22E-01	0.0001	0.0002	1.84E-05	7.36E-06
10	6.28	1.33E-07	2.92E-02	6.69E-03	3.40E-02	1.85E-03	4.03E-01	0.0001	0.0002	2.43E-05	9.73E-06

Muestra	pH	Cd+2.tot	SHA	SFA	HFO	HMO	Arcilla	Ca+2.diss	NO3-.dis	DHA	DFA
	N/A	(mol/L)	(kg/kg)	(kg/kg)	(kg/kg)	(kg/kg)	(kg/kg)	(mol/L)	(mol/L)	(kg/L)	(kg/L)
11	5.95	2.16E-07	3.06E-02	7.01E-03	3.40E-02	3.16E-03	4.75E-01	0.0001	0.0002	2.55E-05	1.02E-05
12	6.67	4.34E-07	5.82E-02	1.33E-02	9.58E-02	8.31E-04	2.21E-01	0.0001	0.0002	4.85E-05	1.94E-05
13	6.38	9.38E-07	2.73E-02	6.26E-03	1.25E-02	1.04E-03	3.00E-01	0.0001	0.0002	2.28E-05	9.10E-06
14	4.35	3.51E-07	2.66E-02	6.09E-03	2.69E-02	1.86E-04	5.54E-01	0.0001	0.0002	2.22E-05	8.86E-06
15	6.03	2.97E-06	4.23E-02	9.70E-03	2.09E-02	2.03E-03	1.67E-01	0.0001	0.0002	3.53E-05	1.41E-05
16	5.43	1.79E-05	2.98E-02	6.83E-03	1.88E-02	1.84E-03	3.97E-01	0.0001	0.0002	2.48E-05	9.93E-06
17	6.17	2.01E-06	4.89E-02	1.12E-02	9.28E-03	8.57E-04	1.66E-01	0.0001	0.0002	4.07E-05	1.63E-05
18	4.56	8.07E-07	2.10E-02	4.81E-03	2.01E-02	7.59E-04	4.99E-01	0.0001	0.0002	1.75E-05	7.00E-06
19	6.55	5.63E-07	1.33E-02	3.05E-03	1.07E-02	1.48E-03	3.80E-01	0.0001	0.0002	1.11E-05	4.44E-06
20	5.78	2.50E-07	1.18E-02	2.69E-03	1.51E-02	1.50E-03	2.72E-01	0.0001	0.0002	9.79E-06	3.92E-06
21	5.32	3.27E-07	1.39E-02	3.20E-03	2.07E-02	1.84E-03	5.17E-01	0.0001	0.0002	1.16E-05	4.65E-06
22	6.11	2.46E-07	1.06E-02	2.42E-03	1.23E-02	9.69E-04	4.06E-01	0.0001	0.0002	8.81E-06	3.52E-06
23	5.37	2.71E-07	4.58E-02	1.05E-02	4.03E-02	1.39E-03	3.29E-01	0.0001	0.0002	3.82E-05	1.53E-05
24	5.52	1.55E-07	3.88E-02	8.89E-03	1.56E-02	1.28E-03	3.47E-01	0.0001	0.0002	3.23E-05	1.29E-05
25	6.02	1.38E-06	2.30E-02	5.26E-03	1.10E-02	1.43E-03	4.01E-01	0.0001	0.0002	1.91E-05	7.65E-06
26	5.67	5.05E-06	3.76E-02	8.61E-03	1.24E-02	5.67E-04	4.28E-01	0.0001	0.0002	3.13E-05	1.25E-05
27	5.67	2.82E-07	2.96E-02	6.78E-03	2.69E-02	1.17E-03	5.89E-01	0.0001	0.0002	2.46E-05	9.86E-06
28	6.34	4.27E-07	3.68E-02	8.43E-03	3.66E-02	3.67E-03	1.73E-01	0.0001	0.0002	3.07E-05	1.23E-05
29	5.72	1.98E-07	4.23E-02	9.68E-03	2.52E-02	1.32E-03	4.12E-01	0.0001	0.0002	3.52E-05	1.41E-05
30	7.03	2.31E-07	3.52E-02	8.07E-03	1.71E-02	6.08E-03	3.35E-01	0.0001	0.0002	2.93E-05	1.17E-05
31	4.89	4.02E-07	4.44E-02	1.02E-02	4.17E-02	1.30E-03	3.12E-01	0.0001	0.0002	3.70E-05	1.48E-05
32	5.79	2.25E-06	2.14E-02	4.91E-03	2.52E-02	3.90E-03	4.40E-01	0.0001	0.0002	1.79E-05	7.15E-06
33	5.36	2.87E-07	1.98E-02	4.53E-03	2.27E-02	1.36E-03	2.11E-01	0.0001	0.0002	1.65E-05	6.59E-06
34	5.53	2.68E-06	4.13E-02	9.46E-03	4.66E-02	4.77E-03	2.81E-01	0.0001	0.0002	3.44E-05	1.38E-05

Tabla A41. Datos obtenidos luego de correr el modelo

Muestra	ORCHESTRA OUTPUT (mol/L)					
	Cd+2.diss	Cd+2.HFO_part_I	Cd+2.HMO_part_I	Cd+2.CLAY_part_I	Cd+2.SHA_part_I	Cd+2.SFA_part_I
1	2.38E-09	3.77E-09	9.50E-08	4.30E-09	2.08E-07	3.38E-08
2	1.12E-09	2.65E-09	1.02E-07	1.45E-10	1.18E-07	9.00E-09
3	1.38E-08	1.11E-07	1.85E-06	3.27E-08	1.09E-06	1.91E-07
4	1.07E-08	2.70E-09	3.57E-08	6.53E-08	6.43E-07	1.50E-07
5	5.75E-09	2.91E-08	5.79E-07	1.06E-08	4.87E-07	7.85E-08
6	3.20E-09	1.66E-08	7.50E-07	1.95E-09	3.09E-07	3.87E-08
7	2.47E-09	1.90E-08	4.87E-07	1.96E-09	2.47E-07	2.62E-08
8	1.53E-09	3.87E-11	5.42E-10	7.48E-09	1.22E-07	2.95E-08
9	2.77E-09	2.76E-11	6.48E-10	5.82E-08	1.78E-07	5.61E-08

Muestra	ORCHESTRA OUTPUT (mol/L)					
	Cd+2.diss	Cd+2.HFO_part_I	Cd+2.HMO_part_I	Cd+2.CLAY_part_I	Cd+2.SHA_part_I	Cd+2.SFA_part_I
10	1.19E-09	1.59E-10	3.24E-09	1.80E-09	1.07E-07	1.91E-08
11	1.96E-09	1.17E-10	4.36E-09	7.01E-09	1.67E-07	3.60E-08
12	4.04E-09	3.53E-11	1.57E-09	1.55E-08	3.17E-07	9.54E-08
13	8.29E-09	1.75E-09	4.83E-08	2.35E-08	7.13E-07	1.44E-07
14	3.49E-09	1.61E-12	4.76E-11	1.18E-07	1.62E-07	6.77E-08
15	2.71E-08	1.49E-09	9.38E-08	9.09E-08	2.20E-06	5.58E-07
16	1.69E-07	4.97E-09	2.19E-07	4.01E-06	1.03E-05	3.22E-06
17	1.85E-08	2.06E-10	2.16E-08	5.66E-08	1.52E-06	3.95E-07
18	8.43E-09	9.04E-12	7.04E-10	2.91E-07	3.64E-07	1.42E-07
19	4.07E-09	3.34E-09	1.28E-07	1.75E-08	3.47E-07	6.32E-08
20	2.52E-09	2.17E-10	6.64E-09	1.78E-08	1.80E-07	4.28E-08
21	3.24E-09	6.86E-11	2.56E-09	6.56E-08	1.98E-07	5.71E-08
22	2.28E-09	5.43E-10	1.16E-08	1.78E-08	1.77E-07	3.71E-08
23	2.55E-09	1.34E-11	4.12E-10	1.27E-08	1.98E-07	5.73E-08
24	1.45E-09	5.69E-12	2.79E-10	5.15E-09	1.18E-07	3.04E-08
25	1.25E-08	1.23E-09	5.46E-08	9.99E-08	9.82E-07	2.30E-07
26	4.55E-08	9.19E-10	1.49E-08	6.47E-07	3.38E-06	9.62E-07
27	2.58E-09	6.54E-11	1.20E-09	1.94E-08	2.07E-07	5.13E-08
28	3.69E-09	6.01E-10	2.84E-08	3.67E-09	3.27E-07	6.40E-08
29	1.83E-09	1.69E-11	5.43E-10	6.60E-09	1.52E-07	3.72E-08
30	1.35E-09	4.41E-10	7.85E-08	5.52E-10	1.34E-07	1.65E-08
31	3.89E-09	7.41E-12	3.62E-10	3.61E-08	2.68E-07	9.41E-08
32	2.04E-08	2.79E-09	1.33E-07	2.85E-07	1.44E-06	3.74E-07
33	2.99E-09	5.00E-11	1.28E-09	1.74E-08	2.07E-07	5.81E-08
34	2.48E-08	7.65E-10	4.76E-08	2.12E-07	1.85E-06	5.45E-07

Tabla A42. Datos obtenidos como valor absoluto

Muestra	VALOR ABSOLUTO (mg/kg)					
	Disuelto	HFO	HMO	Arcilla	HA	FA
1	2.67E-03	4.24E-03	1.07E-01	4.83E-03	2.33E-01	3.80E-02
2	1.26E-03	2.98E-03	1.15E-01	1.63E-04	1.33E-01	1.01E-02
3	1.55E-02	1.25E-01	2.08E+00	3.68E-02	1.23E+00	2.14E-01
4	1.21E-02	3.03E-03	4.02E-02	7.34E-02	7.22E-01	1.69E-01
5	6.46E-03	3.27E-02	6.51E-01	1.19E-02	5.47E-01	8.82E-02
6	3.60E-03	1.86E-02	8.44E-01	2.19E-03	3.47E-01	4.36E-02
7	2.78E-03	2.13E-02	5.48E-01	2.20E-03	2.78E-01	2.95E-02

Muestra	VALOR ABSOLUTO (mg/kg)					
	Disuelto	HFO	HMO	Arcilla	HA	FA
8	1.72E-03	4.35E-05	6.09E-04	8.41E-03	1.37E-01	3.31E-02
9	3.11E-03	3.10E-05	7.28E-04	6.54E-02	2.00E-01	6.31E-02
10	1.33E-03	1.79E-04	3.64E-03	2.02E-03	1.21E-01	2.15E-02
11	2.20E-03	1.32E-04	4.90E-03	7.88E-03	1.87E-01	4.05E-02
12	4.54E-03	3.97E-05	1.77E-03	1.74E-02	3.57E-01	1.07E-01
13	9.32E-03	1.97E-03	5.42E-02	2.65E-02	8.01E-01	1.61E-01
14	3.93E-03	1.81E-06	5.36E-05	1.33E-01	1.82E-01	7.61E-02
15	3.04E-02	1.67E-03	1.05E-01	1.02E-01	2.47E+00	6.27E-01
16	1.90E-01	5.59E-03	2.47E-01	4.51E+00	1.16E+01	3.62E+00
17	2.08E-02	2.32E-04	2.43E-02	6.36E-02	1.71E+00	4.44E-01
18	9.48E-03	1.02E-05	7.91E-04	3.27E-01	4.09E-01	1.60E-01
19	4.58E-03	3.76E-03	1.44E-01	1.97E-02	3.90E-01	7.11E-02
20	2.83E-03	2.43E-04	7.46E-03	2.00E-02	2.02E-01	4.81E-02
21	3.64E-03	7.71E-05	2.88E-03	7.37E-02	2.23E-01	6.41E-02
22	2.56E-03	6.11E-04	1.31E-02	2.00E-02	1.99E-01	4.17E-02
23	2.86E-03	1.51E-05	4.63E-04	1.43E-02	2.23E-01	6.45E-02
24	1.63E-03	6.39E-06	3.14E-04	5.79E-03	1.32E-01	3.42E-02
25	1.41E-02	1.38E-03	6.14E-02	1.12E-01	1.10E+00	2.58E-01
26	5.11E-02	1.03E-03	1.68E-02	7.27E-01	3.80E+00	1.08E+00
27	2.90E-03	7.35E-05	1.34E-03	2.18E-02	2.33E-01	5.77E-02
28	4.15E-03	6.76E-04	3.20E-02	4.13E-03	3.67E-01	7.20E-02
29	2.06E-03	1.90E-05	6.10E-04	7.42E-03	1.71E-01	4.18E-02
30	1.52E-03	4.96E-04	8.83E-02	6.20E-04	1.50E-01	1.85E-02
31	4.37E-03	8.33E-06	4.07E-04	4.06E-02	3.01E-01	1.06E-01
32	2.29E-02	3.14E-03	1.50E-01	3.20E-01	1.61E+00	4.20E-01
33	3.36E-03	5.62E-05	1.43E-03	1.95E-02	2.33E-01	6.54E-02
34	2.79E-02	8.60E-04	5.35E-02	2.38E-01	2.08E+00	6.13E-01

Disuelto = en la solución del suelo, como Cd²⁺ libre o complejo

HFO = ligado a óxidos de hierro y aluminio

HMO = unido a óxidos de manganeso

HA = unido a ácidos húmicos sólidos (materia orgánica)

FA = unido a ácidos fúlvicos sólidos (materia orgánica)

12. ANEXO 2

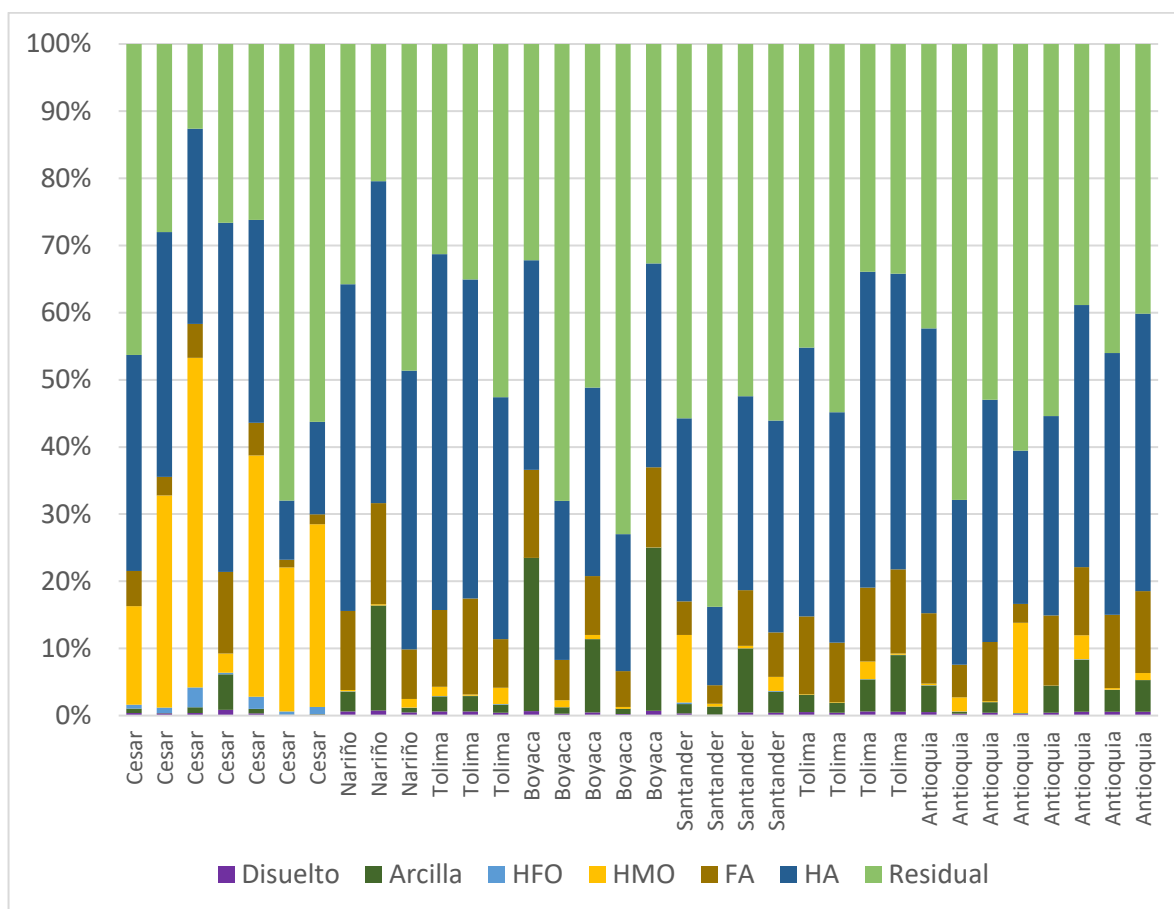
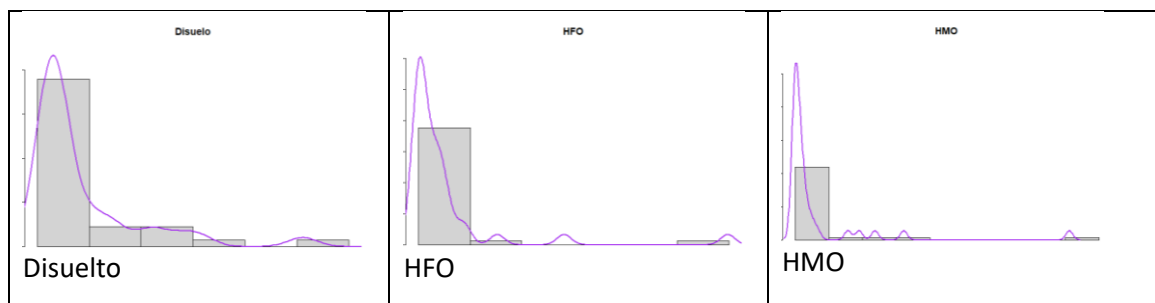


Figura A1. Distribución relativa de concentraciones de Cd por fracción en los suelos estudiados por departamentos. HFO: óxidos de aluminio y hierro, HMO: óxidos de manganeso, HA: ácidos húmicos, FA: ácidos fúlvicos



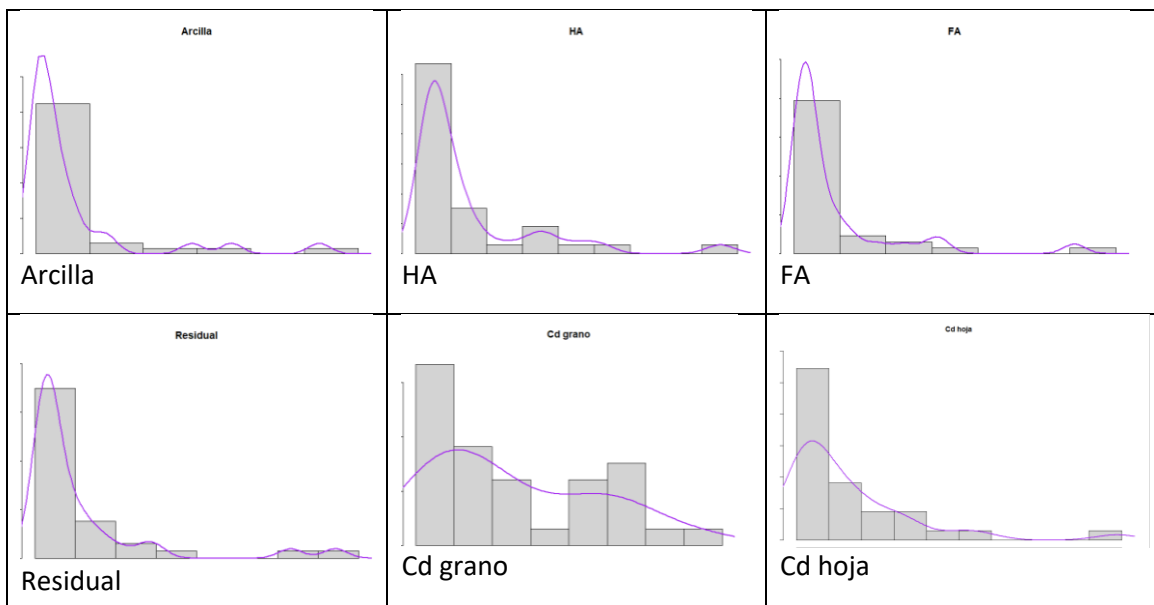


Figura A2. Histogramas y gráficos de densidad para fracciones de Cd en el suelo, hoja y grano

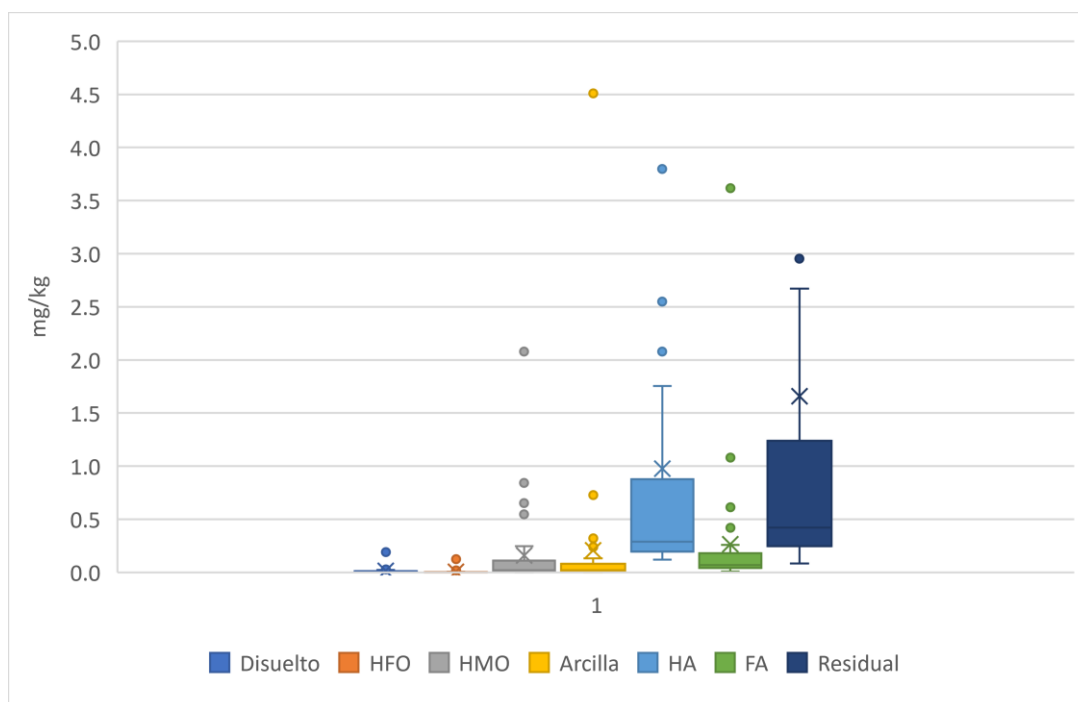


Figura A3. Gráfico de barras y error estándar para los valores de Cd originales asociados a las diferentes fracciones del suelo.

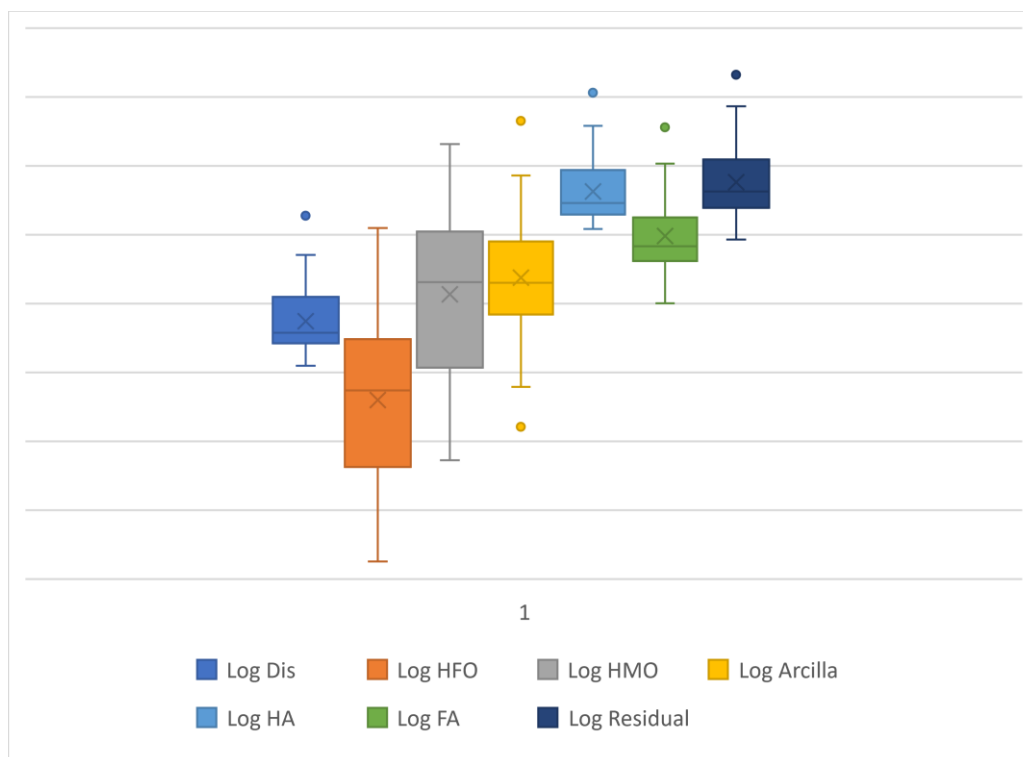


Figura A4. Gráfico de barras y error estándar para los valores de Cd transformados (Log10) asociados a las diferentes fracciones del suelo.

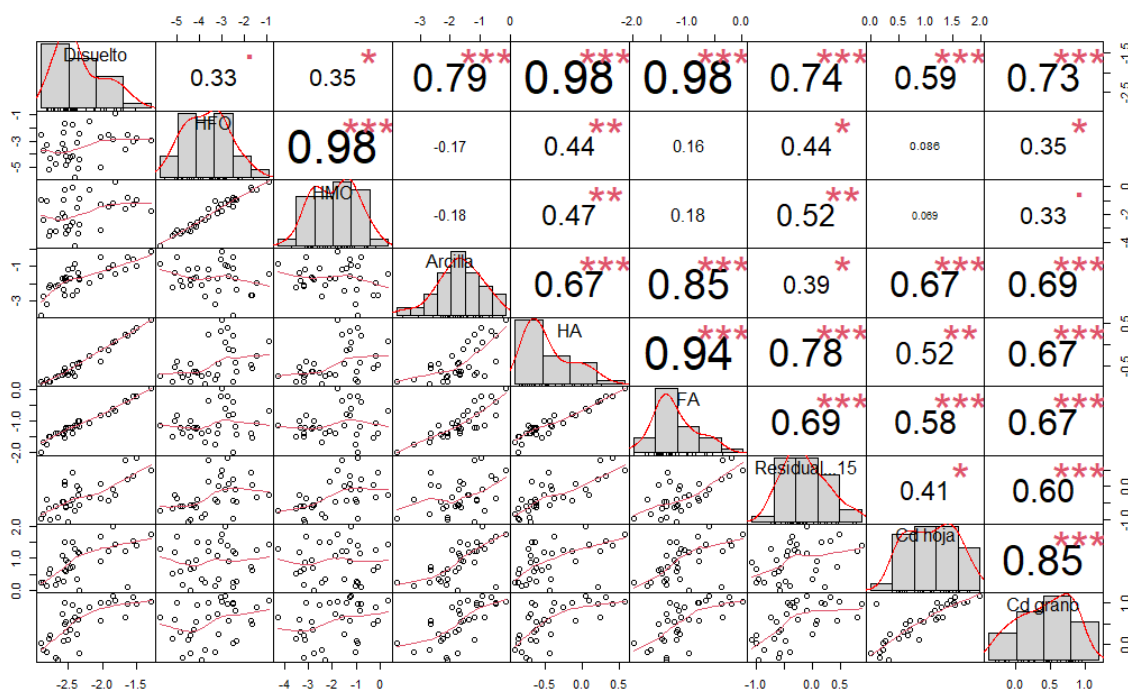


Figura A5. Correlaciones de Pearson para valores de Cd en fracciones del suelo y planta, transformados con logaritmo 10. *** $p < 0,01$, ** $p < 0,05$, * $p < 0,1$

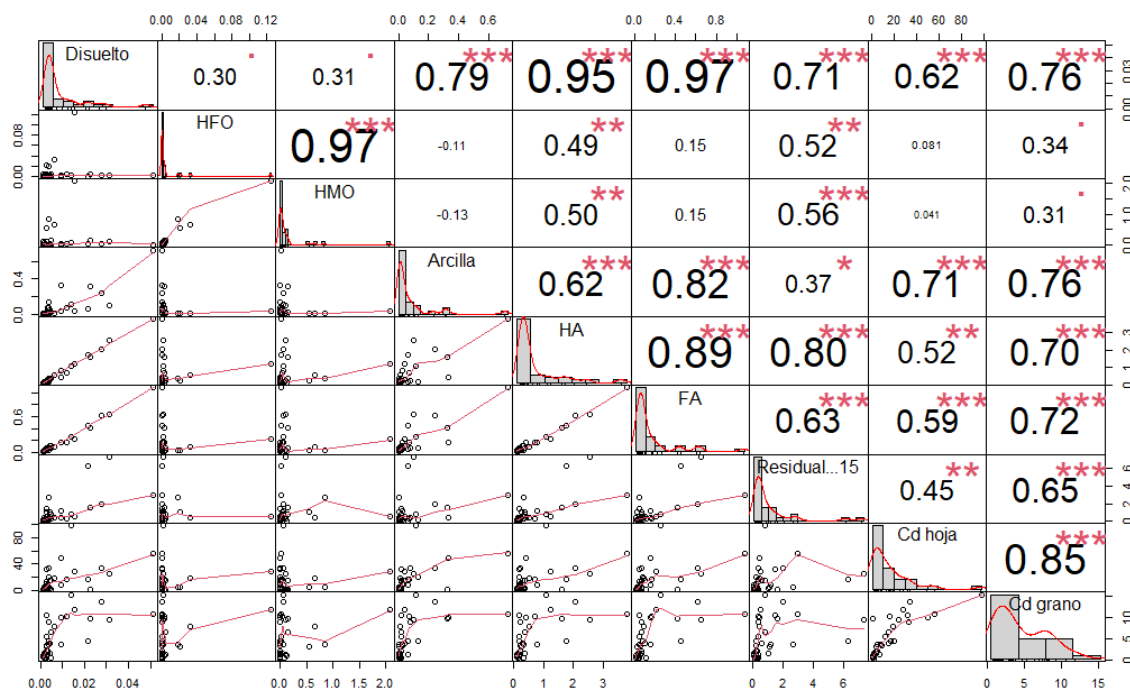


Figura A6. Correlaciones de Spearman para valores de Cd en fracciones del suelo y grano. *** $p < 0,01$, ** $p < 0,05$, * $p < 0,1$

Tabla A43. Resultados de la prueba de Duncan para las medias de los porcentajes de extracción de Cd de los métodos simples frente a la concentración total por agua regia

Método de extracción	Extracción media (%)	Grupos
HNO3	53.85	a
EDTA	53.35	a
Mehlich 3	36.76	b
DTPA	35.94	b