

Método electroanalítico para determinar cadmio en pepa de cacao en la Parroquia Febres Cordero, Provincia de Los Ríos, Ecuador.

Romero, Hugo; Belduma, Diego; Rivera, Nicole; Monar, Juan
Grupo de Investigación Aplicaciones Electroanalíticas, Carrera Ingeniería en Alimentos, Universidad
Técnica de Machala.
Semillero de Investigación,
QUIBIOAL
hromero@utmachala.edu.ec

Resumen

La presente investigación tuvo como objetivo el desarrollo de una técnica voltamperométrica para la determinación de cadmio en almendras de cacao injerto proveniente de una finca ubicada en la localidad Parroquia Febres Cordero, en la provincia de Los Ríos, Ecuador. Para el análisis de almendras de cacao se realizó un muestreo aleatorio de las mazorcas de cacao, luego un cuarteo para tomar una muestra representativa y posteriormente se trasladó al laboratorio para el respectivo secado en una estufa a 75°C durante un día, a las muestras secas se les eliminó la cascarilla y con ayuda de un mortero se trituró las semillas, procediendo con la calcinación en crisoles a 400°C durante 8 horas, luego se trasladó a un desecador para que se enfríe y se sometió al proceso de digestión ácida. Finalmente, para el análisis electroanalítico voltamétrico de onda cuadrada se establecieron parámetros de validación como: precisión y linealidad, mediante una curva de calibración obtenida a partir de concentraciones de cadmio de 0,01; 0,05; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 y 1 mg/L (ppm). Para estas concentraciones de analito los coeficientes de variación no superaron el 2% lo que nos permite concluir que el método cumple las condiciones de precisión. Adicionalmente la linealidad de la curva de calibración es aceptable con un coeficiente de correlación de 0,983. Se pudo determinar una concentración de este metal pesado en la muestra de pepa de cacao nacional de 0.14 ppm y 0.05ppm para el cacao de injerto.

Palabras clave: *cadmio, voltamperometría, buffer, precisión, validación y electroanalítico.*

Abstract

The present research aimed to develop a voltammetric technique for the determination of cadmium in grafted cocoa almonds from a farm located in the Parroquia Febres Cordero locality, in the province of Los Ríos, Ecuador. For the analysis of cocoa beans, a random sampling of the cocoa pods was carried out, then a quartering to take a representative sample and later the samples were transferred to the laboratory for the respective drying in an oven at 75 ° C for one day. When dried, the husk was removed and the seeds were crushed with the help of a mortar, proceeding with the calcination in crucibles at 400 ° C for 8 hours, then they were transferred to a desiccator to cool and subjected to the acid digestion process. Finally, for the square wave electroanalytical voltammetric analysis, validation parameters were established such as: precision and linearity, by means of a calibration curve obtained from cadmium concentrations of 0.01; 0.05; 0.2; 0.4; 0.6; 0.8 and 1 mg / L (ppm). For these analyte concentrations, the coefficients of variation did not exceed 2%, which allows us to conclude that the method meets the precision conditions. Additionally, the linearity of the calibration curve is acceptable with a correlation coefficient of 0.983. It was possible to determine a concentration of this heavy metal in the national cocoa bean sample of 0.14 ppm and 0.05 ppm for graft cocoa.

Keywords: *cadmium, voltammetry, buffer, accuracy, validation and electroanalytical.*

Introducción:

La producción agrícola en estos últimos tiempos tiene un fuerte vínculo con tecnologías en desarrollo. El control y la caracterización de la seguridad alimentaria nunca antes han jugado un papel tan importante en el desarrollo de las exportaciones de un país. Así mismo, el

desarrollo, investigación e innovación de nuevos métodos analíticos y electroanalíticos como la voltamperometría en áreas poco tratadas, son piezas claves para trazar futuras aplicaciones de métodos rápidos y económicos que mejoren el desempeño de análisis en la producción en distintos niveles de la trazabilidad de un producto. Ecuador es uno de los más grandes productores y exportadores de cacao del mundo, este es cultivado principalmente en la región costa, de las cuales las provincias con mayor producción son: Guayas, Los Ríos, Cañar y Manabí (Moreno-Miranda et al., 2020).

Por otro lado, la alteración de los suelos, recursos hídricos y del aire por metales pesados y metaloides, proyectan una tendencia de la problemática más severa que compromete la seguridad alimentaria y la salud pública a nivel local y mundial (Quispe Yana & Belizario Quispe, 2019), Los contaminantes metálicos del cacao pueden definirse como aquellos metales, no añadidos intencionalmente, que se encuentran presentes en el cacao como resultado (Castebianco, 2018), de su lugar de origen. Dentro de las sustancias tóxicas altamente peligrosas para la salud, tanto humana como de los agroecosistemas, se encuentran los metales pesados y algunos metaloides, entre ellos el cadmio (Cd), plomo (Pb), cinc (Zn), cobre (Cu), níquel (Ni), mercurio (Hg), arsénico (As) y cromo (Cr) (García-Céspedes & Lima-Cazorla, 2016).

El cadmio (Cd) es un metal pesado (MP), que por lo general no se encuentra en la naturaleza en estado puro, los MP son sustancias no degradables, por tanto, se consideran contaminantes estables y persistentes, al ser depositados al medio ambiente (Moreno Mariño et al., 2016), siendo el Cd una preocupación a nivel mundial. Puede provenir de desechos de procesos hidrometalúrgicos cercanos pero principalmente por prácticas de manejo de cultivos, incluido el uso extensivo de fertilizantes y pesticidas. la descomposición natural de las vainas y las hojas en la superficie del suelo, el Cd es absorbido fácilmente por las raíces y se acumula en los

brotos y frutos (Barraza et al., 2017), (provocando toxicidad, bioacumulación, alteraciones bioquímicas o mutagénesis, en plantas y animales), como iones o bajo la forma de compuestos organometálicos, por largos períodos de tiempo (Quispe Yana & Belizario Quispe, 2019), por lo que la absorción de la planta es una de las principales vías por las que los MP se incorporan en la cadena alimentaria (García-Céspedes & Lima-Cazorla, 2016). Las implicaciones asociadas con la contaminación por metales son de gran preocupación, particularmente en los sistemas de producción agrícola (Lima Cazorla et al., 2015).

Por lo que, al ser tóxico, el Cd puede afectar el crecimiento de las plantas, reducir la fotosíntesis y alterar sus actividades metabólicas y enzimáticas (Pais et al., 2018). Así mismo, la presencia de este metal pesado y de otros en los frutos de cultivo tiene relación directa con el suelo y el ambiente que lo rodea, es decir la contaminación de Cd en almendras de cacao, casi siempre se produce durante el proceso de cultivo y cosecha.

El Cd es el metal pesado con más atención porque se transfiere y se acumula en el cuerpo afectando nuestra salud, además de su extremado bajo valor tolerable, que está en el rango de 0,2 - 0,5 ppm para los alimentos terminados (Cayotopa-Torres & Arévalo-López, 2021).

La Unión Europea (UE) ha regulado el contenido de metales pesados en los alimentos y ha establecido un límite máximo de 0,1 a 0,8 mg/kg de Cd en el chocolate (según el contenido de cacao). Dicho reglamento entró en vigor en enero de 2019 (Reglamento de la UE N° 488/2014). Asimismo, los importadores europeos de semillas secas de cacao han considerado un contenido máximo de Cd de 0,5 mg/kg (Zamora et al., 2020). Y para las normas reguladoras de la FAO/OMS y la Comisión del Codex Alimentarius es de 0,1 mg/kg.

Por otro lado, los métodos electroquímicos son atractivos para la detección de trazas de metales debido a su bajo costo, su excelente sensibilidad y selectividad y su idoneidad para la

miniaturización (Rusinek et al., 2015), y la voltamperometría es una técnica electroquímica que permite aplicar un potencial variable a un electrodo de trabajo en un sistema electroquímico aquí se mide la corriente correspondiente, el flujo de corriente eléctrica se logra por medio de la reacción redox, se aplica la medición del potencial entre ambos electrodos, que genera corriente eléctrica que es captada por un amperímetro. Sin embargo existen variedad de técnicas voltamperométricas que se pueden aplicar.

Materiales y Métodos

Se utilizó una solución estándar de cadmio de 1000 ppm a partir de la cual se preparó 10 mg/L (ppm) de Cd, para lo cual se colocó 1 ml (1000 uL) de la solución estándar de Cd en un balón volumétrico de 100 ml, el cual se aforó con agua desionizada y posteriormente se homogenizó la solución.

Se analizaron 6 muestras de disoluciones sintéticas de Cd mediante una voltametría de onda cuadrada, cada una de estas muestras tenía concentraciones de: 1, 0.8, 0.6, 0.4, 0.2, 0.05 mg/L (ppm), en balones volumétricos 25 ml enrasados con la solución electrolítica tiourea (TU) 0.01 M y ácido sulfúrico (H_2SO_4) 0.0035 M, la cual se preparó pesando 0.3807 g de TU junto con una adición de 100 uL de H_2SO_4 en un balón volumétrico de 500 ml con agua desionizada, procurando la correcta homogeneización, para posteriormente a la solución ajustarlo a un pH de 2.4 .

Para la voltametría de onda cuadrada se utilizaron tres electrodos y una celda electroquímica de 25 ml de capacidad, la cual fue tratada con ácido nítrico a 0.2 M, para posteriormente enjuagar con agua desionizada. La solución ácida fue preparada tomando 11.92 ml de HNO_3 concentrado que se aforó con agua desionizada en un balón volumétrico de 250 ml. Los electrodos que se utilizaron fueron: electrodo de referencia (Ag/AgCl), electrodo de oro

(electrodo de trabajo) y el electrodo de alambre de platino (contra electrodo).

El electrodo de trabajo se sometió previo a los análisis a un proceso de pulido con alúmina

(Al₂O₃) de 0.3 μm y agua des ionizada haciendo movimientos en forma de ocho, para eliminar impurezas incrustadas en el electrodo producto de mediciones anteriores. Se realizó una cronoamperometría en un medio de ácido nítrico 0.2.M.

Preparación de la muestra de cacao

Las muestras de almendras de cacao nacional e injerto fueron recolectadas de forma aleatoria en la localidad el Cantón Babahoyo, Parroquia Febres Cordero, recinto El Tigrillo-Bajo donde se colocaron en fundas ziploc, rotuladas y transportadas al Laboratorio de Aplicaciones Electroquímicas de la Universidad Técnica de Machala, Ecuador. Posteriormente se realizó un cuarteo de las almendras varias veces hasta obtener una muestra representativa para realizar el análisis correspondiente, que consistió en un proceso de secado en estufa a 70 °C durante 1 día. Una vez secas las muestras se les retiró la cascarilla y se procedió a pesar 10 g. Luego, con ayuda de un mortero se trituró las semillas, hasta que su tamaño sea menor o igual a 5mm, procurando que no se forme una pasta.

Cada muestra de 10 g se colocó en crisoles previamente sometidos a 700 °C durante 4 horas. Posteriormente los crisoles con la muestra fueron sometidos a calcinación en una mufla a 1000 °C por 8 horas y luego trasladados a un desecador para que se enfríe.

Digestión ácida adaptada para determinación de Cd en almendras de cacao

De acuerdo a la Asociación Oficial de Química Analítica (AOAC) 999.11, el proceso de digestión ácida se realiza para la determinación de metales pesados como: cadmio, plomo, zinc, cobre y hierro, de la siguiente manera:

Para digerir las muestras calcinadas a cada crisol se le agregó 6 ml de ácido clorhídrico (HCl) 6 M, asegurando que el reactivo cubra por completo la ceniza. Posteriormente se colocaron en un plato de calentamiento a 150°C por una hora hasta sequedad. Se adicionó 15 ml de ácido nítrico (HNO₃) 0.1 M y se dejó reposar por 2 horas. Se filtró la muestra haciendo lavados con 10 ml de ácido nítrico 0.1 M. El filtrado se enrasó con agua desionizada en un balón volumétrico de 25 ml.

Análisis de Cd en muestras de almendras de cacao

En la celda electroquímica se colocó 5 ml de volumen de muestra digerida, 10 ml de buffer de Tiourea 0.01 M + ácido sulfúrico 0.0035 M y una adición estándar de 0.2 mg/ L (ppm) de Cd a partir de un patrón de Cd de 10 mg/L (ppm).

Resultados y discusión:

Parámetros óptimos para Voltametría de Onda Cuadrada

Efecto del pH en la solución Buffer

Para evaluar el efecto del pH en las reacciones electroquímicas a diferentes niveles de pH: 1.8, 2.4, 4.2 se utilizó la solución buffer de Tiourea (CH₄N₂S) 0.01 M + ácido sulfúrico (H₂SO₄) 0.0035 M con 1 mg/L (ppm) de Cd.

Se determinó que a pH 2,4, la reacción electroquímica para Cd con la solución buffer de tiourea 0,01 M + ácido sulfúrico 0,0035 M muestra un pico que está entre -0,60 y -0,75V. Por lo tanto, todos los análisis se desarrollaron utilizando el buffer de tiourea 0,01 M con pH 2,4 + ácido sulfúrico 0,0035 M, como se muestra en la Figura 1.

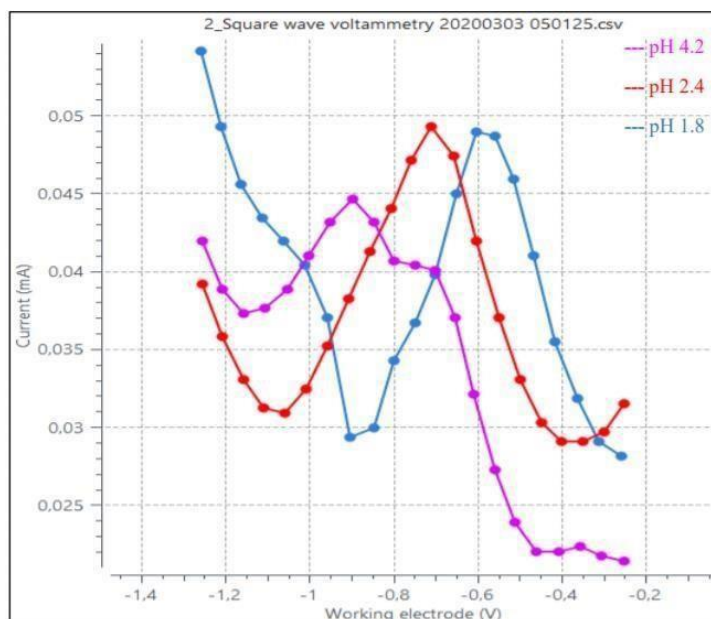


Figura: Voltamograma de SWV comparando pH (4,2 ; 2,4 y 1,8), en una solución de tiourea 0,01 M + ácido sulfúrico 0,0035 M en presencia de 1 mg/kg de Cd. Condiciones de la SWV: $f = 60$ Hz; $\Delta E_p = 60$ mV; $\Delta E_s = 50$ mV.

Efecto de la frecuencia (f)

El efecto de la frecuencia en la respuesta electroquímica se calculó en diferentes niveles de frecuencia utilizando la solución buffer de Tiourea 0.01 M + ácido sulfúrico 0.0035 M con 1 mg/L de Cd.

En la Figura 2, la frecuencia que presenta la mejor respuesta electroquímica, con un pico más alto se encuentra a 60 Hz en comparación con las curvas obtenidas a 40 y 20 Hz. Sin embargo, también se realizó una prueba a 80 Hz obteniéndose un valor de pico superior a 60 Hz, pero se observó que cuando se cambiaba la concentración, aunque la amplitud era mayor, la respuesta no tenía la capacidad de reducir continuamente la corriente. Por lo tanto, todos los análisis se realizan a una frecuencia de 60 Hz.

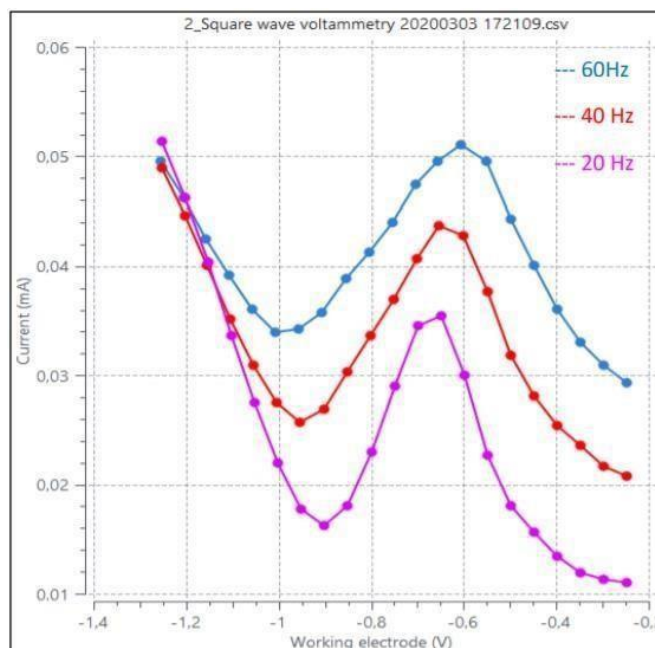


Figura 2. Voltamograma de SWV comparando frecuencias de 20, 40 y 60 Hz, en una solución de tiourea 0,01 M + ácido sulfúrico 0,0035 M en presencia de 1 mg/L de Cd. Condiciones de la SWV; $\Delta E_p = 60$ mV; $\Delta E_s = 50$ mV y $f = 60, 40$ y 20 Hz.

Efecto del pulso de la variación de potencial, amplitud (ΔE_p)

El efecto del pulso de amplitud o tamaño de pulso en la respuesta electroquímica se evaluó a distintos niveles utilizando la solución buffer de Tiourea 0.01 M + ácido sulfúrico 0.0035 M con 1 mg/L(ppm) de Cd (Figura 3). Se logró la mejor respuesta electroquímica a 60 mV, obteniendo un voltamograma bien definido ubicado en el potencial de oxidación del analito, mientras que, a valores inferiores de potencial no se pudo obtener una curva con elevación prolongada ni bien definida. Por lo tanto, los análisis se desarrollaron con un tamaño de pulso de 60 mV que es el valor más alto soportado por el montaje electroquímico sin que se presente un sobre potencial del electrodo.

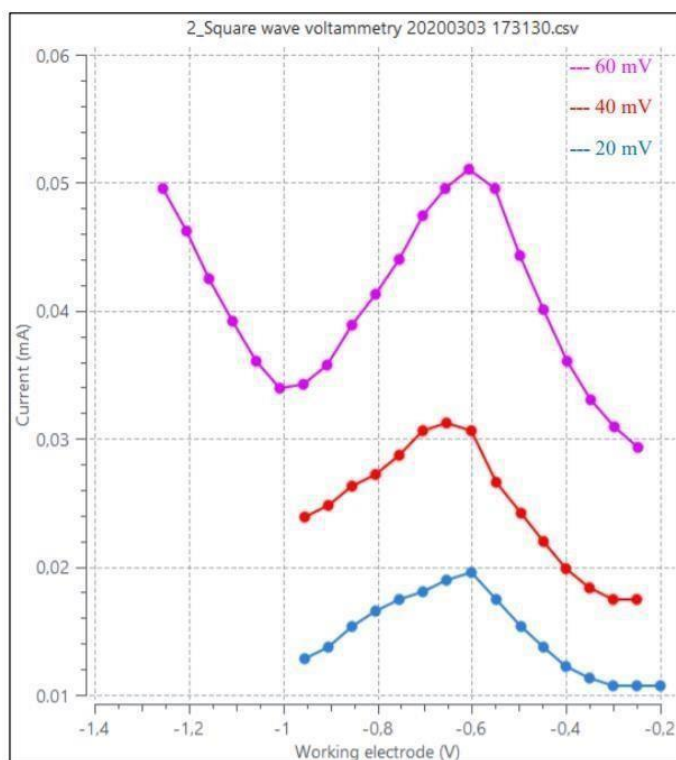


Figura 3. Voltamograma de SWV comparando ΔE_p : 20, 40 y 60 Hz, en una solución de tiourea 0,01 M + ácido sulfúrico 0,0035 M en presencia de mg/L de Cd. Condiciones de la SWV: $\Delta E_s = 50$ mV y $f = 60$ Hz y $\Delta E_p = 20, 40$ y 60 mV

Efecto de la concentración de Cadmio para Validación de Método Voltamperométrico por SWV

Para la validación del método se utilizó un electrodo de oro en una solución buffer de tiourea 0.01 M + ácido sulfúrico 0.0035 M pH 2.4, obteniendo un voltamograma por SWV, como se muestra a continuación en la Figura 4.

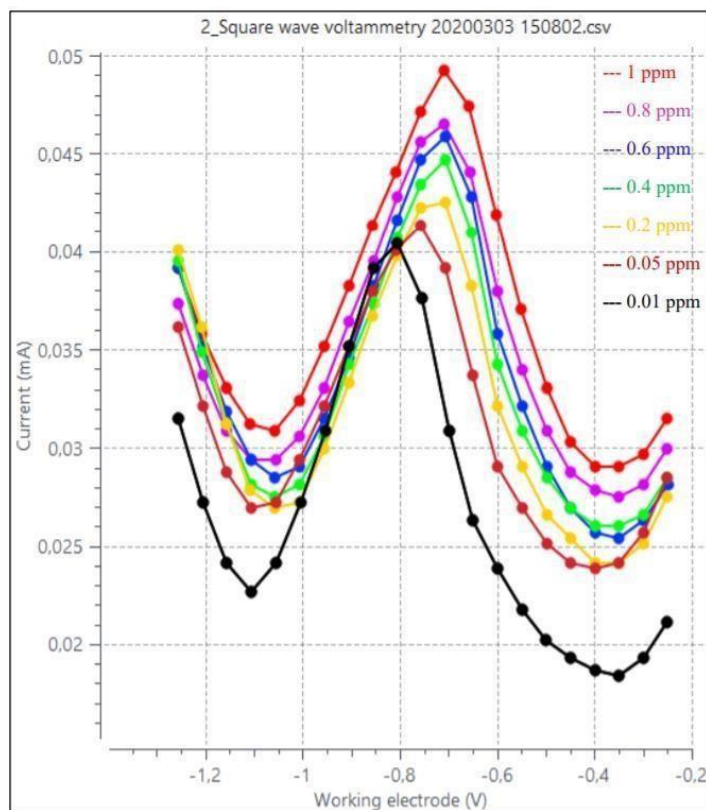


Figura 4. Voltamograma de SWV a diferentes concentraciones de Cd en una solución de Tiourea 0,01 M + ácido sulfúrico 0,0035 M. Parámetros: $f = 60$ Hz; $\Delta E_p = 60$ mV; $\Delta E_s = 50$ mV, consideraciones los más óptimos a concentraciones de 0,001; 0,05; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1 mg/L (ppm)

La linealidad del método se determinó mediante 5 repeticiones de muestra sintética de concentraciones: 0.01, 0.05, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 y 1 mg/L (ppm) , utilizando la solución buffer antes mencionada, permitiendo un coeficiente de correlación $R = 0.983$, con una pendiente (m) de 0.0090 y un intercepto de 0.0403.

A continuación, la Tabla 1 muestra los valores de corriente en miliamperios obtenidos a diferentes concentraciones de cadmio en ppm.

Repeticiones	Intensidad de Corrientes de Concentraciones de Cadmio (ppm)						
	1	0,8	0,6	0,4	0,2	0,05	0,01
1	0,04876	0,04776	0,04602	0,04488	0,04273	0,04175	0,04030
2	0,04967	0,04770	0,04581	0,04480	0,04290	0,04191	0,04033
3	0,04848	0,04648	0,04695	0,04485	0,04255	0,04144	0,04039
4	0,04856	0,04656	0,04534	0,04420	0,04289	0,04139	0,04039
5	0,04977	0,04777	0,04573	0,04496	0,04228	0,04191	0,04066
Media	0,04904	0,04725	0,04596	0,04474	0,04267	0,04168	0,04041
Sb	0,00062	0,00067	0,00060	0,00027	0,00026	0,00025	0,00014
%CV	1,27	1,42	1,31	0,61	0,61	0,61	0,35

A partir de los datos de la Tabla 1, se pudo determinar la ecuación de la recta ($y = 0.0090 x + 0.0403$) tal como se puede observar en la Figura 5.



Figura 5. Correlación entre la intensidad de corriente en miliamperios obtenidos a diferentes concentraciones de cadmio en ppm.

Conclusiones

Se desarrolló la técnica de voltimetría de onda cuadrada (SWV), obteniendo resultados que permitieron la validación de la técnica cumpliendo los parámetros de validación: precisión, y linealidad. La linealidad del método se determinó mediante 5 repeticiones de muestra sintética de concentraciones: 0.01, 0.05, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 y 1 mg/L (ppm), permitiendo obtener un coeficiente de correlación de 0.983, con una pendiente (m) de 0.0090 y un intercepto de 0.0403.

Para estas concentraciones de analito los coeficientes de variación no superaron el 2% lo que nos permite concluir que el método cumple las condiciones de precisión.

La cuantificación de cadmio (Cd) realizada mediante un electrodo de trabajo de teflón dopado con punta de oro permitió determinar que el cacao nacional tiene una concentración de 0.14 ppm y 0.05ppm para el cacao de injerto.

Bibliografía:

- Barraza, F., Schreck, E., Lévêque, T., Uzu, G., López, F., Ruales, J., Prunier, J., Marquet, A., & Maurice, L. (2017). Cadmium bioaccumulation and gastric bioaccessibility in cacao: A field study in areas impacted by oil activities in Ecuador. *Environmental Pollution*, 229, 950–963.
- Castebianco, J. A. (2018). Técnicas de remediación de metales pesados con potencial aplicación en el cultivo de cacao. *LA GRANJA. Revista de Ciencias de La Vida*, 27(1), 21–35.
- Cayotopa-Torres, J., & Arévalo-López, L. (2021). Nuevos agentes de biorremediación de cadmio: Especies de Trichoderma nativas de la rizósfera de árboles de cacao. *Scientia; Rivista Di Scienza*.
<https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/scientiaagrop/article/view/3465>
- García-Céspedes, D., & Lima-Cazorla, L. A. (2016). Agroecosistemas con probables riesgos a la salud por contaminación con metales pesados. *Revista Cubana de*.
http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S2224-54212016000100004&script=sci_arttext&tlng=en
- Lima Cazorla, L., García Céspedes, D., & Torres Leyva, O. (2015). Estudio del contenido de metales pesados en suelos urbanos agrícolas adyacentes a una planta de acero mediante fluorescencia de rayos X. *Nucleus*.
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-084X2015000100008

Moreno Mariño, Y. L., García Colmenares, J. M., & Chaparro Acuña, S. P. (2016).

VOLTAMMETRIC QUANTIFICATION OF LEAD AND CADMIUM IN FRESH POTATO. *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica*, 19(1), 97–104.

Moreno-Miranda, C., Molina, I., Miranda, Z., Moreno, R., & Moreno, P. (2020). La cadena de valor de cacao en Ecuador: una propuesta de estrategias para coadyuvar a la sostenibilidad. *Bioagro*, 32(3), 205–214.

Pais, A. R., Dina, L. N., Alves, E. R., Rezende, H. C. de, Silva, L. A. da, & Alves, V. A. (2018).

DETERMINAÇÃO DE CÁDMIO EM BIJUTERIAS ORIUNDAS DA CHINA. *Química Nova*, 41, 1218–1225.

Quispe Yana, R. F., & Belizario Quispe, G. (2019). Concentración de metales pesados: cromo, cadmio y plomo en los sedimentos superficiales en el río Coata, Perú. *Revista Boliviana de Química*. http://www.scielo.org.bo/scielo.php?pid=S0250-54602019000200003&script=sci_abstract&tlng=en

Rusinek, C. A., Bange, A., Papautsky, I., & Heineman, W. R. (2015). Cloud Point Extraction for Electroanalysis: Anodic Stripping Voltammetry of Cadmium. *Analytical Chemistry*, 87(12), 6133–6140.

Zamora, E. C. D., Reyes-Evangelista, L. A., Aldoradin-Puza, E., Londoño-Bailon, P., & Aleman-Polo, J. M. (2020). Cd and Pb reduction in cocoa (*Theobroma cacao*) nib using two organic amendments. *Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales*, 7(1), 20–29.