



**Nanopartículas de hierro/ sulfuro de hierro sintetizadas en prototipo y aplicadas en suelo dedicado al cultivo de cacao en Puerto Quito como tratamiento para inmovilizar cadmio**

Pozo Andrade, Carlos Santiago

Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

Trabajo de Titulación, Previo a la Obtención del Título de Ingeniero en Biotecnología

PhD. Cumbal Flores, Luis Heriberto

04 de marzo 2022



TESIS\_Santiago Pozo.docx

Scanned on: 21:0 March 4, 2022 UTC



Overall Similarity Score



Results Found



Total Words in Text

Identical Words	113
Words with Minor Changes	14
Paraphrased Words	0
Omitted Words	0



LUIS HERIBERTO  
CUMBAL FLORES



**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA  
CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA**

**CERTIFICACIÓN**

Certifico que el trabajo de titulación, **“Nanopartículas de hierro/ sulfuro de hierro sintetizadas en prototipo y aplicadas en suelo dedicado al cultivo de cacao en Puerto Quito como tratamiento para inmovilizar cadmio”** fue realizado por el señor **Pozo Andrade, Carlos Santiago** el cual ha sido revisado y analizado en su totalidad por la herramienta de verificación de similitud de contenido; por lo tanto cumple con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que lo sustente públicamente.

Sangolquí, 04 de marzo de 2022.

Firma:



.....  
**Ing. Cumbal Flores, Luis Heriberto PhD.**

**Director**

C. C. 1703553097



**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA  
CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA**

**RESPONSABILIDAD DE AUTORÍA**

Yo, **Pozo Andrade, Carlos Santiago**, con cédula de ciudadanía n°1003777107 declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de titulación: **“Nanopartículas de hierro/sulfuro de hierro sintetizadas en prototipo y aplicadas en suelo dedicado al cultivo de cacao en Puerto Quito como tratamiento para inmovilizar cadmio”** es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos, y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

**Sangolquí, 04 de marzo de 2022**

Firma

.....  
**Pozo Andrade, Carlos Santiago**

C.C.: 1003777107



**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA  
CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA**

**AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN**

Yo, Pozo Andrade, Carlos Santiago, con cédula de ciudadanía n°1003777107, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de titulación: Título: **“Nanopartículas de hierro/ sulfuro de hierro sintetizadas en prototipo y aplicadas en suelo dedicado al cultivo de cacao en Puerto Quito como tratamiento para inmovilizar cadmio”** en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi responsabilidad.

Sangolquí, 04 de marzo de 2022

Firma

.....  
**Pozo Andrade, Carlos Santiago**

C.C.:1003777107

### **Dedicatoria**

Dedico este trabajo a aquellos que siempre han estado junto a mí, mi familia, que siempre me ha apoyado, soportado y guiado a lo largo de este arduo camino.

## **Agradecimientos**

A mis padres y hermanos por su apoyo, por ser mi inspiración y ejemplo como persona y profesional. Gracias por su amor, confianza, trabajo y sobre todo por su sacrificio durante todos estos años que me ha permitido cumplir una meta más en mi vida.

De igual manera debo agradecer a cada uno de mis profesores, quienes, a lo largo de este camino universitario impartieron sus conocimientos que se verán reflejados en mi vida profesional.

Al Ing. Luis Cumbal PhD. Mi tutor de tesis, quien me abrió las puertas y confió en mí para la realización de este proyecto, gracias por el aporte en mi capacitación, enseñanza, confianza y por todo el apoyo brindado en este proceso.

A mis amigos, Diego y Jorge, por su amistad incondicional y apoyo durante todos estos años, llevare dentro de mi corazón todas las experiencias vividas dentro y fuera de las aulas con todos ustedes.

## Índice de Contenidos

### Contenido

<b>Copyleaks</b> .....	2
<b>Certificación</b> .....	2
<b>Responsabilidad de autoría</b> .....	4
<b>Autorización de Publicación</b> .....	5
<b>Dedicatoria</b> .....	6
<b>Agradecimientos</b> .....	7
<b>Índice de Contenidos</b> .....	8
<b>Índice de Tablas</b> .....	11
<b>Índice de figuras</b> .....	12
<b>Índice de abreviaturas</b> .....	14
<b>Resumen</b> .....	15
<b>Abstract</b> .....	16
<b>Capítulo 1: Introducción</b> .....	17
Formulación del Problema.....	17
Justificación del Problema .....	18
Objetivos .....	19
Marco Teórico .....	19
Suelo.....	19

Metales pesados en el suelo.....	20
Cadmio .....	21
Cadmio en suelos cacaoteros del Ecuador. ....	21
Remediación de suelos contaminados con metales pesados.....	22
Nanotecnología en la remediación de suelos.....	22
<b>Capítulo 2: Metodología</b> .....	<b>23</b>
Participantes .....	23
Zona de estudio .....	24
Periodo de investigación.....	24
Caracterización físico-química del suelo.....	24
Recolección y preparación de la muestra.....	24
Caracterización física .....	25
Características químicas.....	26
Isotermas de Adsorción de Cadmio. ....	33
Modelo cinético .....	34
Síntesis de Nanopartículas Multicomponente en Prototipo de Campo .....	35
Zona de aplicación de nanopartículas y muestreo .....	37
Inmovilización de Cadmio en Suelo .....	39
Desorción o lixiviación .....	39
Análisis Estadístico .....	39

<b>Capítulo 3: Resultados y Discusión</b> .....	40
Caracterización físico-química del suelo.....	40
Cinética de adsorción.....	44
Isotermas de adsorción de cadmio en suelo .....	46
Síntesis de nanopartículas de Fe/FeS en prototipo de campo .....	49
Aplicación de nanopartículas en suelo y evaluación de inmovilización de Cd. ....	52
<b>Capítulo 4: Conclusiones y Recomendaciones</b> .....	60
<b>Bibliografía</b> .....	61
<b>Anexos</b> .....	68

## Índice de Tablas

Tabla 1 <i>Método de extracción para fracción 3.</i> .....	30
Tabla 2 <i>Método de extracción para fracción 4.</i> .....	30
Tabla 3 <i>Método de extracción para fracción residual.</i> .....	31
Tabla 4 <i>Granulometría de la Muestra de Suelo de Cultivo de Cacao CCN51</i> .....	40
Tabla 5 <i>Resumen de los Parámetros Físico-químicos de suelo de cultivo de cacao CCN51</i> .....	42
Tabla 6. <i>Parámetros del modelo cinético de pseudo segundo orden.</i> .....	46
Tabla 7. <i>Datos experimentales resultantes, usados en el ajuste de las isotermas de adsorción.</i> .....	47
Tabla 8 <i>Constantes de los modelos Freundlich y Langmuir.</i> .....	48
Tabla 9. <i>Reactivos usados en síntesis de nanopartículas en prototipo de campo.</i> .....	49
Tabla 10. <i>Datos Promedio de Especiación Secuencial de Cd (mg/kg de suelo).</i> .....	54
Tabla 11. <i>Distribución de Cd en Suelo a Diferentes Tiempos de Aplicación de Tratamiento.</i> .....	56

## Índice de figuras

Figura 1. Secado de muestras de suelo al ambiente .....	25
Figura 2. Pesaje de las fracciones secas de suelo.....	26
Figura 3 Ejemplo del cambio de coloración en la titulación para valorar CIC. ....	27
Figura 4 Espectrofotómetro de absorción atómica AAnalyst 800.....	29
Figura 5 Equipo de plasma inducido y emisión óptica (ICP-OES) Thermo Scientific iCAP7000 .....	31
Figura 6 Ejemplo del cambio de coloración en la titulación para valorar bicarbonatos. ...	32
Figura 7 Prototipo para síntesis de nanopartículas en campo.....	36
Figura 8 Delimitación del área para aplicación de nanopartículas.....	37
Figura 9 Esquema de distribución de pozos para inyección de nanopartículas por goteo. Elaborado por: Luis Cumbal, PhD.....	38
Figura 10 Inyección de solución de nanopartículas sintetizadas en prototipo por goteo.	38
Figura 11 Granulometría del suelo de cultivo de Cacao CCN51.....	41
Figura 12 Efactor del pH en la Concentración de Distintos Metales en la Solución Suelo (Sánchez Barrón, 2016).....	43
Figura 13 Cadmio adsorbido en suelo en función del tiempo.....	44
Figura 14 Ajuste lineal de los modelos cinéticos, a) modelo de pseudo-primer orden; b) moldeo de pseudo-segundo orden.....	45
Figura 15 Representación de las isotermas de adsorción, a) ajuste lineal Langmuir; b) ajuste lineal Freundlich. y c) verificación del modelo .....	48
Figura 16 Muestra de nanopartículas sintetizadas en prototipo, verificación visual de su formación. a) solución previa a la formación de nanopartículas, b) solución de nanopartículas formadas de coloración negra. ....	50
Figura 17 Mediciones del tamaño de nanopartículas medidas en DLS.....	51

Figura 18 <i>Caracterización de nanomateriales sintetizadas en el prototipo de campo, a) imágenes SEM y b) imágenes TEM</i> .....	52
Figura 19 <i>Imagen satelital de la hacienda La Chocolatera, se marca el lugar aproximado de aplicación del tratamiento con NPs.</i> .....	53
Figura 20 <i>Porcentajes de Cd por fracción de suelo a distintos tiempos de muestreo.</i> ....	55
Figura 21 <i>Histogramas de la Concentración de Cadmio en Suelo para cada Fracción de Digestión</i> .....	57
Figura 22 <i>Comparación de las Medias del Contenido de Cd después del Tratamiento en cada Fracción</i> .....	59

### Índice de abreviaturas

**INEC:** Instituto Nacional de Estadística y Censos

**UE:** Unión Europea

**Cd:** Cadmio

**CIC:** capacidad de intercambio catiónico

**min:** Minutos

**NP<sub>s</sub>MC:** Nanopartículas Multicomponente

**ANOVA:** análisis de varianza

**pH:** potencial de hidrógeno

**CENCINAT:** Centro de Nanociencia y Nanotecnología

**mg:** miligramos

**kg:** Kilogramos

**INIAP:** Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias

**TULSMA:** Texto Unificado de Legislación Secundaria del Ministerio del Ambiente

**nZVI:** Nanopartículas de hierro cero Valente

**FeS:** sulfuro de hierro

**NP:** nanopartículas

**ORP:** potencial de oxido reducción

## Resumen

En Ecuador, se ha evidenciado que más del 60% de los sectores productores de cacao presentan concentraciones de cadmio en mazorca superior al nivel crítico de 0,5 mg/kg, el cual está relacionado con el contenido de Cd en suelo y su disponibilidad. Se han experimentado varias metodologías con el propósito de reducir el cadmio disponible, como el uso de enmiendas con materiales orgánicos e inorgánicos. A nivel de laboratorio se ha realizado la aplicación de nanopartículas multicomponente de hierro/sulfuro de hierro (NPs/MC Fe/FeS) a pequeña escala (<4L) para reducir la disponibilidad de Cd en suelo, obteniéndose buenos resultados. Sin embargo, para que el tratamiento sea validado en campo fue necesario verificar su efectividad a escala mayor a 200L. En este contexto, el objetivo del estudio fue sintetizar NPs/MC Fe/FeS usando un prototipo de campo para luego aplicarlas en suelo dedicado al cultivo de cacao en una finca de Puerto Quito. En la síntesis de las NPs se usó cloruro de hierro (10g), sulfato de sodio (27g), borohidruro de sodio (237g) y sulfito de sodio (42g), compuestos químicos que fueron disueltos en agua de lluvia y posteriormente procesados en un prototipo, siguiendo un protocolo estandarizado a escala de laboratorio y el manual de usuario del equipo. La aplicación de las nanopartículas en campo se realizó por goteo en pozos de inyección situados alrededor de cada árbol de cacao. La evaluación de la inmovilización de cadmio en el suelo se llevó a cabo mediante extracción secuencial del metal pesado en 5 fracciones (intercambiable; ligada a carbonatos; ligada a óxidos de hierro y manganeso; ligada a materia orgánica y residual) y cuantificando el cadmio disponible en las fracciones intercambiable y unido a carbonatos. El suelo en estudio mostró buenas características para el cultivo de cacao y baja concentración de Cd en la fracción intercambiable (0,021mg/kg de suelo), el cual, después de 15 días del tratamiento se redujo en un 12%, movilizándose a la fracción residual del suelo. De los resultados de la aplicación de campo, se concluye que existe efectivamente inmovilización de Cd en el suelo, reduciéndose la disponibilidad para que el metal sea absorbido por el sistema radicular de las plantas de cacao.

Palabras clave:

- **NANOPARTÍCULAS MULTICOMPONENTE**
- **PROTOTIPO DE CAMPO**
- **INMOVILIZACIÓN DE CADMIO**

### **Abstract**

In Ecuador, it has been shown that more than 60% of the cocoa producing sectors have cadmium concentrations in the cob above the critical level of 0.5 mg/kg, which is related to the content of Cd in the soil and its availability. Several methodologies have been experimented with the purpose of reducing the available cadmium, such as the use of amendments with organic and inorganic materials. At the laboratory level, the application of multicomponent iron/iron sulfide nanoparticles (NPs/MC Fe/FeS) has been carried out on a small scale (<4L) to reduce the availability of Cd in soil, obtaining good results. However, for the treatment to be validated in the field, it was necessary to verify its effectiveness on a scale greater than 200L. In this context, the objective of the study was to synthesize NPs/MC Fe/FeS using a field prototype and then apply them to soil dedicated to cocoa cultivation on a farm in Puerto Quito. In the NPs synthesis, iron chloride (10g), sodium sulfate (27g), sodium borohydride (237g) and sodium sulfite (42g) were used, chemical compounds that were dissolved in rainwater and subsequently processed in a prototype, following a standardized protocol on a laboratory scale and the equipment user manual. The application of the nanoparticles in the field was carried out by dripping in injection wells located around each cocoa tree. The evaluation of cadmium immobilization in the soil was carried out by sequential extraction of the heavy metal in 5 fractions (exchangeable; bound to carbonates; bound to iron and manganese oxides; bound to organic and residual matter) and quantifying the available cadmium. In the fractions exchangeable and bound to carbonates. The soil under study showed good characteristics for cocoa cultivation and low concentration of Cd in the exchangeable fraction (0.021mg/kg of soil), which, after 15 days of treatment, was reduced by 12%, moving to the fraction residual soil. From the results of the field application, it is concluded that there is effectively immobilization of Cd in the soil, reducing the availability for the metal to be absorbed by the root system of cocoa plants.

Keywords:

- **MULTICOMPONENT NANOPARTICLES**
- **FIELD PROTOTYPE**
- **CADMIUM IMMOBILIZATION**

## Capítulo 1: Introducción

### Formulación del Problema

Al igual que el mercurio y el plomo, el cadmio es un metal pesado considerado como uno de los elementos más tóxicos para el consumo del ser humano (Castebianco, 2018). Actualmente, el cadmio está asociado a una variedad de alteraciones en la salud, con afecciones en órganos vitales: pulmones, riñones, huesos y probablemente desarrollo de carcinogénesis, debido a su fácil movilidad, extensa vida media y poder bioacumulativo (Reyes et al., 2016). Su distribución en la naturaleza está asociada a distintos minerales de zinc, plomo y cobre, así como a fuentes antropogénicas derivadas de la industria (Sánchez Barrón, 2016).

El reglamento No. 488/2014, que rige desde enero del 2019, planteó límites a productos derivados del cacao estableciendo una tolerancia de 0,5 a 0,7 mg/kg de Cd a estos productos (UE, 2014), lo que provocó que países productores y exportadores de cacao incluido Ecuador, evalúen los niveles de cadmio presentes en las zonas de cultivo. Los estudios realizados en Ecuador mostraron que más del 60% de los sectores productores de cacao presentan concentraciones de Cd en mazorca superior al nivel crítico de 0,5 mg/kg, el cual está relacionado con el contenido de cadmio en suelo y sus características (Chávez et al., 2015).

Se han experimentado varias metodologías con el propósito de reducir el cadmio disponible, como el uso de enmiendas con materiales orgánicos e inorgánicos. A nivel de laboratorio se ha realizado la aplicación de nanopartículas multicomponente de hierro/sulfuro de hierro (NPs/MC Fe/FeS) a pequeña escala (<4L) para reducir la disponibilidad de Cd en suelo, obteniéndose buenos resultados. Sin embargo, para que el tratamiento sea validado en campo es necesario verificar su efectividad a escala mayor a 200L. Por tanto, el objetivo del presente estudio es sintetizar NP/MC Fe/FeS usando un

prototipo de campo y aplicarlas en suelo dedicado al cultivo de cacao en una finca de Puerto Quito.

### **Justificación del Problema**

El cacao (*Theobroma cacao L.*), es uno de los principales productos agropecuarios de exportación y ocupa una amplia superficie (40%) de cultivo en el Ecuador (INEC, 2021). Por tanto, la implementación del reglamento No. 488/2014, donde se establecen límites del contenido de cadmio para derivados del cacao por la UE, ha orientado a la comunidad científica a describir el comportamiento del cadmio en los sistemas biológicos alrededor del cultivo de cacao y plantear alternativas de prevención, control y remediación (Nelino, 2021).

En Ecuador se ha evidenciado divergencia en el porcentaje de contenido de cadmio en suelo y granos, hablando de varias escalas (provincias, cantones e incluso campos de agricultores) (Argüello et al., 2019). La evaluación del cadmio en cuanto a presencia, concentración y disponibilidad es ineludible del suelo de uso agrícola (Reyes et al., 2016); en tal sentido, existe la necesidad de identificar soluciones que permitan la reducción de los niveles de cadmio en suelo destinado al cultivo de cacao. Una forma es estabilizar metales pesados para ello se adicionan productos al suelo que formen minerales conteniendo así a los contaminantes en una forma menos biodisponible; esta metodología se denomina inmovilización (Liu et al., 2018).

La implementación de tecnologías de inmovilización de metales pesados que involucren nanopartículas ha emergido generando resultados prometedores en procesos de remediación ambiental, siendo las nanopartículas a base de hierro las más comúnmente utilizadas por sus propiedades fisicoquímicas que las convierte en buenos donadores de electrones inmovilizando así metales pesados de una forma muy efectiva (Sharma et al., 2018).

## **Objetivos**

### General

- Sintetizar nanopartículas de hierro/sulfuro de hierro usando un prototipo de campo y aplicarlas en suelo dedicado al cultivo de cacao en Puerto Quito como tratamiento para inmovilizar cadmio.

### Específicos

- Sintetizar nanopartículas de hierro/sulfuro de hierro en el prototipo de campo.
- Muestrear y caracterizar fisicoquímicamente el suelo cacaotero bajo estudio.
- Aplicar nanopartículas de hierro/sulfuro de hierro sintetizadas en el prototipo de campo en un suelo dedicado al cultivo de cacao en Puerto Quito y evaluar la inmovilización de cadmio.

## **Marco Teórico**

### ***Suelo***

El suelo es la parte superficial de la corteza terrestre derivada de la deformación física, química y biológica de una roca madre, el cual, bajo diferentes condiciones ambientales, con el tiempo va diferenciando horizontes en capas verticales que se caracterizan por una serie de propiedades biológicas y fisicoquímicas (textura, porosidad, pH, CIC, etc.); va a estar constituido por minerales, material orgánico, agua y gases (Lizcano, 2020).

Los constituyentes del suelo, dependiendo de las características fisicoquímicas del mismo, se encuentran en un equilibrio químico, físico y biológico, el cual puede verse afectado por sustancias liberadas al ambiente por diversas actividades antropogénicas (minería, actividad agrícola, entre otras) y actividades geogénicas naturales (Rodríguez et al., 2019), estas sustancias pueden generar un impacto ambiental y problemas en la

salud del ser humano, puesto que pueden ingresar a la cadena alimenticia (Cristaldi et al., 2017). El suelo puede contaminarse con una gran variedad de sustancias que alteran su estado natural, siendo uno de éstos los metales pesados. Algunos esenciales para los organismos en bajas cantidades, como el Fe (hierro), Mn (manganeso), Zn (zinc), Cu (cobre)..., pero que a altas concentraciones son nocivos, y otros que resultan altamente tóxicos incluso a bajas concentraciones como el Cd (cadmio), Hg (mercurio) o el Pb (plomo) (Ortiz et al., 2007).

### **Metales pesados en el suelo**

Los metales pesados se definen así por propiedades como ductilidad, conductividad, especificidad de ligando y un número atómico  $>20$  (Duffus, 2003), pueden presentarse como un constituyente natural del suelo o derivarse de alguna actividad antropogénica; pero sin importar la fuente del o los metales pesados es esencial que no sobrepasen los límites permitidos puesto que pueden causar un crecimiento anormal e inhibir el desarrollo de las plantas, así como la reducción en poblaciones microbianas del suelo (Cristaldi et al., 2017). En general los metales pesados en altas concentraciones son tóxicos para los seres vivos, puesto que en moléculas pueden desnaturalizar enzimas, sustituir iones esenciales, bloquear grupos funcionales y afectar la integridad de orgánulos y membranas (Bajguz & Hayat, 2009).

Al hablar de contaminación por metales hay que tener en cuenta que el contenido total de un elemento en el suelo no es tan importante como la forma o especie química bajo la que se encuentra, es decir, su especiación que dependerá de las características fisicoquímicas del suelo (Mulligan et al., 2001); de dicha especiación depende la distribución del metal en suelo y agua (superficial y subterránea), biodisponibilidad y toxicidad.

## **Cadmio**

El cadmio es un elemento químico ubicado en el grupo 12 de la tabla periódica, de valencia +2 en su forma natural, en su forma pura es maleable y dúctil, de color plateado claro, tiene alta movilidad en medio ácido y afinidad por el azufre (Sánchez Barrón, 2016). En el suelo se lo puede encontrar disuelto en agua como halogenuro, sulfato, bicarbonato y nitrato de cadmio, o adsorbido en superficies orgánicas e inorgánicas como óxido, hidróxido o carbonato; claro esto dependiendo de las características del suelo (Chávez et al., 2015).

Como todos los metales pesados la presencia de cadmio en el suelo puede ser debida a una combinación entre procesos naturales y antropogénicos que incluyen actividad volcánica erosión, incendios forestales, actividades mineras y fertilización (Nelino, 2021).

Aunque las plantas pueden absorberlo del suelo y bioacumularlo en diferentes tejidos, para los humanos en determinadas concentraciones el cadmio puede causar diferentes afecciones en pulmones, riñones, huesos e incluso generar cáncer, sin embargo, no podemos medir el consumo de cadmio del ser humano, ya que éste está presente en diferentes alimentos, como los derivados del cacao, especialmente el chocolate, producto altamente consumido por el ser humano (Jaramillo, 2018).

### **Cadmio en suelos cacaoteros del Ecuador.**

Desde hace más de una década, el Instituto de Investigaciones Agropecuarias del Ecuador se encuentra investigando la presencia de metales pesados en suelos agrícolas, aguas y en cultivos de exportación, particularmente analizando el cacao, en miles de muestras de suelos, tejidos de la planta y su agua de riego (INIAP, 2020). Con respecto al contenido de cadmio en suelos de cultivo de cacao se han observado que dependiendo de la región sobrepasan el valor mínimo permitido en el TULSMA que, conforme al criterio de calidad del suelo es de 0,5 mg de Cd/kg de suelo (TULSMA, 2017). Por ejemplo, Mite

& Durango, (2010) reportaron que el contenido de Cd en suelos para cultivo de cacao se encuentra sobre la norma en varias provincias del Ecuador con concentraciones que van desde 0,22-0,88 mg de Cd/kg de suelo en Esmeraldas a 0,46-2,37 mg de Cd/kg de suelo en Manabí y de 0,25-1,65 mg de Cd/kg de suelo en Guayas. Por otro lado, en el estudio de Chávez et al. (2015) se hallaron que los valores de 0,66-2,59 mg de Cd/kg de suelo en suelos dedicados al cultivo de cacao están altamente relacionados con la presencia de cadmio en mazorcas. También, se determinó como principales fuentes de contaminación: la quema de fundas plásticas provenientes de fertilizantes usados en la agricultura, cercanía a carreteras, suelos volcánicos y uso de aguas provenientes de mina (Mite & Durango, 2010).

### **Remediación de suelos contaminados con metales pesados**

En el medio (suelo, agua, aire) los metales pesados no pueden ser degradados, por lo que se los transforma o retira del lugar contaminado con la ayuda de diferentes técnicas de remediación avanzadas (físico-químicas y biológicas) (Mulligan et al., 2001); los tratamientos biológicos o biorremediación son procesos en los que se utilizan microorganismos, animales, plantas o enzimas que éstos producen para transformar y neutralizar las sustancias tóxicas, en este caso los metales pesados del suelo u otro contaminante (Soto et al., 2010); mientras que los tratamientos fisicoquímicos consisten en la adición de sustancias que puedan adsorber, inmovilizar, o precipitar con el fin de reducir la solubilidad y por ende la biodisponibilidad de los metales pesados evitando que estos se bioacumulen y entren en la cadena trófica (Mulligan et al., 2001).

### **Nanotecnología en la remediación de suelos**

La nano remediación ha nacido junto al desarrollo de la nanotecnología como una técnica viable para la remediación de suelos contaminados (Mulligan et al., 2001). Este tratamiento; consiste en el uso de nanomateriales que reducen, adsorben, oxidan, y

precipitan metales pesados y otros contaminantes reduciendo así su disponibilidad en el medio y ha mostrado, en la remediación de suelos contaminados mayor eficiencia y velocidad comparadas con otras técnicas (Sharma et al., 2018), por su pequeño tamaño (<100nm) que les confiere alta superficie específica y reactividad, y una fácil propagación por los poros del suelo (Liu et al., 2018).

Las nanopartículas más usadas en nano remediación son aquellas en base de hierro (hierro cero-valente, sulfuro de hierro, fosfato de hierro), en especial cuando se trata de remediar suelos contaminados con metales pesados puesto que participan en la mitigación de sus efectos tóxicos, al inmovilizarlos cuando se realiza un tratamiento in situ a través de una aplicación por inyección o aspersión (Borja et al., 2020); las nanopartículas de hierro cero Valente (nZVI), están conformadas por un núcleo de hierro metálico que posee un gran poder reductor y una cobertura de óxidos de hierro que presentan funciones electroestáticas coordinativas para atraer y adsorber iones metálicos (Cd (II), Pd (II), etc.) (Sharma et al., 2018), y han sido ampliamente usadas junto con las nanopartículas de sulfuro de hierro (FeS) en la remediación de suelos, evidenciando una buena capacidad de inmovilizar y reducir la disponibilidad de metales pesados (Llumiquinga Marcillo, 2018).

## **Capítulo 2: Metodología**

### **Participantes**

El presente estudio fue elaborado por Carlos Santiago Pozo Andrade, con la colaboración de la ingeniera Ámbar Oñate y la guía, como tutor del proyecto, del Ing. Luis Cumbal, Ph.D. director del Centro de Nanociencia y Nanotecnología (CENCINAT). Su financiamiento formó parte del proyecto INEDITA “Desarrollo y aplicación de nanomateriales en la recuperación de suelos cacaoteros contaminados con cadmio”.

## **Zona de estudio**

El proyecto constó de dos partes: la evaluación de la inmovilización de cadmio en suelos cacaoteros, realizada en el laboratorio de Materiales Avanzados del CENCINAT, ubicado en la Universidad de las Fuerzas Armadas –ESPE, en Sangolquí, cantón Rumiñahui, Provincia de Pichincha, y la aplicación en campo de NPs sintetizadas en el prototipo de campo, realizada en la finca Santa Lucía, parroquia La Abundancia- cantón Puerto Quito, Provincia de Pichincha.

## **Periodo de investigación**

La investigación inicio en marzo del 2021 y finalizó en enero del 2022, con una duración aproximada de 10 meses.

## **Caracterización físico-química del suelo**

### ***Recolección y preparación de la muestra***

Las muestras de suelo fueron recolectadas del sector dedicado al cultivo de cacao CCN51 de la Finca Santa Lucía en Puerto Quito. Las muestras se pusieron a secar a temperatura ambiente (ver Figura 1) y posteriormente fueron molidas y tamizadas por el tamiz N°10. Al suelo sin tamizar se lo caracterizó de forma física (textura, plasticidad, humedad), y para la caracterización química (pH, CIC, contenido de materia orgánica, carbonatos/ bicarbonatos) se utilizó el suelo tamizado.

**Figura 1.**

*Secado de muestras de suelo al ambiente*

***Caracterización física*****Granulometría.**

La granulometría de las partículas del suelo se realizó por el método de tamizado siguiendo la norma ASTM C 136 – 01. Se usaron los tamices # 3/8, 4, 8, 10, 12, 16, 20, 30, 40, 50, 60, 100, 200, 325 y 400. Primero, se pesó la muestra húmeda; una vez pesada se lavó con agua y se pasó por los tamices # 40, 200, 325 y 400; lo retenido en los tamices #40 y #200 se juntó y se pasó por los tamices desde #3/8. Posteriormente, se recolectó lo retenido en cada tamiz y se puso a secar en horno por 24 h. Finalmente, se pesaron las fracciones secas (ver Figura 2) y se expresó como porcentaje de la masa seca original. El límite líquido y límite plástico fueron determinados por el método de Casagrande que se detalla en el anexo A.

## Figura 2.

### *Pesaje de las fracciones secas de suelo*



### **Humedad.**

La norma NOM-021-SEMARNAT-2000 fue utilizada para determinar el porcentaje de humedad en suelo y para su cuantificación se aplicó la ecuación 1. Se pesaron tres crisoles vacíos, luego se llenaron los crisoles a ras con suelo húmedo y se volvió a pesar, después se los colocó en horno a 105°C por 24h y finalmente se pesó el crisol + suelo seco.

$$W\% = \frac{(H - C) - (S - C)}{S - C} * 100 \quad \text{Ecuación 1}$$

Donde: %W: porcentaje de humedad, H: peso del suelo húmedo + crisol, C: peso del crisol, S: peso del suelo seco + crisol

### ***Características químicas.***

#### **pH.**

Se midió utilizando la norma EPA 9045 D (método electrométrico). Para ello, se usó una relación suelo: agua de 1:2,5 y; en tubos falcon se colocaron 10g de suelo junto

con 25mL de agua tipo 1 y se dejó la solución en agitación por 30min, luego la muestra se puso en reposo por 30min para finalmente medir el pH con un equipo marca Mettler-Toledo previamente calibrado (Flores & Alcalá, 2010).

### **Capacidad de intercambio catiónico, CIC.**

Para medir el CIC se usó el método de acetato de amonio 1N a pH neutro, NTC 5349, (Jaramillo, 2002). Con este propósito, se pesó 10g de muestra de suelo seco, molido y pasado por tamiz #20 y se colocó en un tubo falcon, luego se añadieron 25mL de acetato de amonio 1N y se puso en agitación por 30 minutos en un rotor a 40rpm; posteriormente, se centrifugó a 6000rpm por 20 min; se descartó el sobrenadante y se lavó 3 veces con agua destilada. Al suelo lavado se le añadió 25mL de NaCl 10% y se centrifugó por 5 min, posteriormente se filtró y al filtrado se agregaron 10mL de formol 37%. Finalmente, previo a la titulación con NaOH 0,5N se añadieron 6 gotas de fenolftaleína, se tituló hasta que la solución se tornó de color rosado (ver Figura 3). El blanco se preparó con 25mL de NaCl 10%, 10mL de formol 37% y 6 gotas de fenolftaleína.

### **Figura 3.**

*Ejemplo del cambio de coloración en la titulación para valorar CIC.*



La ecuación 2 se usó para determinar el CIC:

$$CIC = \frac{(Vm - Vb) * N * 100}{Pm} \quad \text{Ecuación 2}$$

Donde: Vm: volumen de titulación de la muestra; Vb: volumen de titulación del blanco; N: concentración de NaOH; Pm: peso de suelo seco

### **Materia orgánica (MO).**

La MO se determinó por calcinación, para ello primero se pesaron los crisoles a usar, luego se agregó a cada crisol 10g de suelo seco y se pesó el crisol + suelo. Una vez pesados se introdujeron los crisoles en la mufla para su calcinación a 600°C por 6 horas, al finalizar las 6 h se pasaron los crisoles a un desecador para su enfriamiento y una vez secos se volvieron a pesar. La reducción de masa en la calcinación de la muestra representa a la materia orgánica (Jaramillo, 2002) y se expresa en porcentaje con ayuda de la ecuación 3.

$$MO = \frac{(pi - p) - (pf - p)}{pi - p} * 100 \quad \text{Ecuación 3}$$

Donde: p, peso del crisol vacío; pi, peso del crisol +suelo; pf, peso del crisol + suelo después de la calcinación.

### **Metales**

Los metales totales fueron evaluados por medio de una extracción total del suelo basado en los Standard Digestion Methods in Multiwave PRO, siguiendo el método EPA 3051A (Digestión ácida asistida por microondas de sedimentos, lodos, suelos y aceite). Primero, se pesó 1 g de suelo y se agregó 3mL de HNO<sub>3</sub> y 9mL de HCl, se colocó en el microondas Multiwave PRO, con las condiciones de la tabla 4. Al finalizar la digestión en microondas, las muestras fueron centrifugadas y filtradas con un filtro de 0,22µm. el contenido de metales se evaluó en espectrómetro de absorción atómica, Perkin Elmer AA800 con la técnica de flama (ver Figura 4).

## Figura 4

*Espectrofotómetro de absorción atómica AAnalyst 800*



### **Análisis de cadmio contenido en el suelo**

Se siguió el procedimiento de extracción secuencial de Tessier para cuantificar trazas metálicas de los metales pesados en 5 fracciones del suelo: intercambiable; ligada a carbonatos; ligada a óxidos de hierro y manganeso; ligada a materia orgánica y Residual (Tessier & Campbell, 1979). A continuación, se describe el procedimiento de extracción secuencial tomando en cuenta que después de cada etapa se centrifugó por 5min a 6000rpm, se separó el sobrenadante para análisis de Cd y se realizaron 3 lavados con 8mL de agua tipo I en las mismas condiciones de centrifugado:

#### 1. Fracción intercambiable (F1)

Se agregaron 8mL de acetato de sodio (1M  $C_2H_3NaO_2$ , pH 8,2) a 1,0 g de suelo y se mantiene en agitación continua en rotor por 1 h.

#### 2. Fracción ligada a carbonatos (F2)

El pellet del lavado anterior se mezcló con 8mL de acetato de sodio (1M  $C_2H_3NaO_2$ , pH 5,0) y fue mantenido en agitación continua por 5 h.

### 3. Fracción ligada a óxidos de hierro y manganeso (F3)

El pellet de los lavados anteriores fue mezclado con 20mL de clorhidrato de hidroxilamina (0,04M  $NH_2OH.HCl$ ) en una solución 25% (v/v) de ácido acético. Según el protocolo de (Bahattin Gümgüm, 2001). Esta mezcla se llevó a microondas de digestión de muestras Multiwave Pro Anton Parr con las condiciones de la tabla 1.

**Tabla 1**

*Método de extracción para fracción 3.*

<b>Ramp</b>	<b>5 minutos, hasta 96°C</b>
<b>Hold</b>	15 minutos
<b>Cooling</b>	Hasta 50°C por 40 minutos

### 4. Fracción ligada a materia orgánica (F4)

El pellet limpio del lavado anterior se mezcló con 9mL de ácido nítrico (0,02M  $HNO_3$ ) y 16mL de agua oxigenada (30%  $H_2O_2$ ). Esta mezcla se llevó a microondas de digestión de muestras Multiwave Pro Anton Parr con las condiciones de la tabla 2.

**Tabla 2**

*Método de extracción para fracción 4.*

<b>Ramp</b>	<b>5 minutos, hasta 96°C</b>
<b>Hold</b>	10 minutos
<b>Cooling</b>	Hasta 50°C por 40 minutos

## 5. Fracción residual (F5)

El pellet limpio del proceso anterior se digirió con agua regia 1M, HNO<sub>3</sub>: HCl (8mL) en relación 1:3. Esta mezcla se llevó a microondas de digestión de muestras Multiwave Pro Anton Parr con las condiciones de la tabla 3.

**Tabla 3**

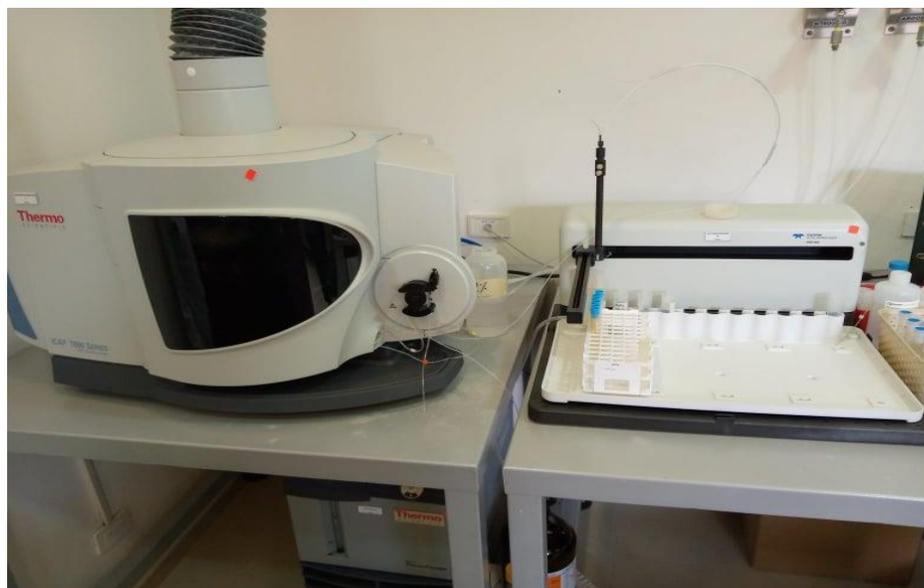
*Método de extracción para fracción residual.*

<b>Ramp</b>	<b>5 minutos, hasta 175°C</b>
<b>Hold</b>	5 minutos
<b>Cooling</b>	Hasta 50°C por 40 minutos

Una vez finalizada la extracción secuencial, los sobrenadantes almacenados fueron filtrados por un filtro de 0,22µm y se procedió a determinar el contenido de Cd con el equipo de plasma inducido y emisión óptica (ICP-OES), Thermo Scientific iCAP7000, de la USFQ con una longitud de onda de 228 (ver Figura 5).

**Figura 5**

*Equipo de plasma inducido y emisión óptica (ICP-OES) Thermo Scientific iCAP7000*



Los resultados fueron expresados en mg de contaminante/kg de suelo (ppm), para ello se utilizó la ecuación 4.

$$\frac{mg}{Kg} = \frac{\text{concentracion del metal } \left(\frac{mg}{L}\right) * \text{volumen de la muestra (L)}}{\text{peso de la muestrara (Kg)}} \quad \text{Ecuación 4}$$

### Carbonatos

Se siguió la norma NEN-ISO 10693. Se colocó en agitación por dos horas una solución con 50 g de suelo en 250mL de agua, de esta solución se tomó una alícuota de 15mL y se colocó en un matraz Erlenmeyer de 150mL. A la solución de suelo colocada en el matraz se le adicionó 1 gota de fenolftaleína y se esperó un minuto. Como no se evidenció ningún cambio de color, se añadió a la solución de suelo dos gotas del indicador de naranja de metilo y se continuó la titulación con ácido sulfúrico 0,01N hasta que se torne un color canela (ver figura 6).

### Figura 6

*Ejemplo del cambio de coloración en la titulación para valorar bicarbonatos.*



Con el volumen de titulación se usó la ecuación 7 para determinar los bicarbonatos.

$$\text{CO}_3 \left( \frac{\text{meq}}{\text{kg}} \right) = \frac{2y * N * R * 1000}{Wt} \quad \text{Ecuación 6}$$

$$\text{HCO}_3 \left( \frac{\text{meq}}{\text{kg}} \right) = \frac{(t - 2y) * N * R * 1000}{Wt} \quad \text{Ecuación 7}$$

Donde: y, volumen gastado en la primera titulación; t, volumen gastado en la segunda titulación; N, normalidad de la solución H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; R, radio entre el volumen total del extracto y el volumen del extracto utilizado para la titulación; Wt, peso de la muestra de suelo

#### ***Isotermas de Adsorción de Cadmio.***

Primero, se prepararon disoluciones de cadmio de 2, 5, 10, 15, 20, 40 y 80 ppm partiendo de una solución de 100 ppm. Luego se pesaron 20g de cada muestra de suelo y se los colocaron en una botella de 300mL con 200mL de solución de cadmio a distintas concentraciones previamente preparadas, esto se realizó por triplicado para cada muestra de suelo y se mantuvo a las botellas en agitación constante en un rotor mecánico por 48h, periodo en el cual se tomó alícuotas de 5mL para las concentraciones de 2 a 15 ppm y de 2mL para concentraciones de 20 a 80ppm ( se aforan a 5mL), esto a distintos tiempos entre 5 minutos y 48 horas y se agregaron 10μL de ácido nítrico para mantener las muestras hasta el filtrado. Una vez filtradas las alícuotas con un filtro de 0,22μm se procedió a determinar el contenido de cadmio con un espectrómetro de absorción atómica, Perkin Elmer AA800 con la técnica de flama.

Para obtener la concentración de Cd que es adsorbido por el suelo, se aplicó la ecuación 8.

$$q_{eq} = \frac{v}{m}(c_i - c_{eq}) \quad \text{Ecuación 8}$$

Dónde:  $q_{eq}$ , adsorción de Cd (mg/g);  $v$ , volumen de la solución (L);  $m$ , masa del sorbente (g);  $c_i$ , concentración inicial del metal (mg/L);  $c_{eq}$ , concentración del metal en equilibrio en la fase líquida (mg/L)

Una vez obtenidos los valores  $q_{eq}$  y  $c_{eq}$  se definieron los modelos de Langmuir y Freundlich con la ayuda de las ecuaciones 9 y 10. Para el primer modelo se graficó  $1/q_{eq}$  vs  $1/c_{eq}$ , mientras que para el segundo modelo se graficó  $\log(q_{eq})$  vs  $\log(c_{eq})$ .

$$\frac{1}{q_{eq}} = \left( \frac{1}{K_l q_m} \right) \frac{1}{c_{eq}} + \frac{1}{q_m} \quad \text{Ecuación 9}$$

$$\log(q_{eq}) = \log(K_a) + \frac{1}{n} \log(c_{eq}) \quad \text{Ecuación 10}$$

Donde:  $K_a$ , es la capacidad de adsorción (mg/g)(L/mg)<sup>1/n</sup> y  $n$  es la intensidad de adsorción.  $q_m$ , capacidad máxima de adsorción (mg/g) y  $K_l$ , constante de Langmuir (L/mg).

### **Modelo cinético**

Primero, se pesaron 20g de suelo y se los colocó en un reactor de 300mL, conteniendo 200mL de solución de cadmio a distintas concentraciones. Luego, el reactor se lo colocó en agitación a 40rpm durante 48h. Estos experimentos, se realizan por triplicado para validarlos. Se tomaron alícuotas de 2mL a distintos tiempos entre 5 minutos y 48 horas y se agregaron 10 $\mu$ L de ácido nítrico para mantener las muestras hasta el filtrado. Una vez filtradas con un filtro de 0,22 $\mu$ m, se procedió a determinar el contenido de cadmio con un espectrómetro de absorción atómica, Perkin Elmer AA800 con la técnica de flama. Finalmente, se aplicó la ecuación 8 para determinar la concentración de Cd adsorbido para cada tiempo.

Para describir la velocidad de adsorción del Cd en suelo y el tiempo necesario para alcanzar el equilibrio, se evaluaron los modelos cinéticos de pseudo-primer orden y pseudo-segundo orden usando las ecuaciones 11 y 12.

$$\ln(q_e - q) = \ln(q_e) - k_1 t \quad \text{Ecuación 11}$$

$$\frac{t}{q} = \frac{1}{k_2(q_e)^2} + \frac{1}{q_e} t \quad \text{Ecuación 12}$$

Donde:  $k_1$  es la constante velocidad de adsorción de Lagergren ( $\text{min}^{-1}$ );  $q$  y  $q_e$  son las cantidades de Cd adsorbido a un tiempo  $t$  y en el equilibrio respectivamente,  $t$  es el tiempo (min),  $k_2$  es la constante de velocidad de pseudo-segundo orden ( $\text{kgmg}^{-1}\text{min}^{-1}$ )

### **Síntesis de Nanopartículas Multicomponente en Prototipo de Campo**

El PT, prototipo de campo (ver Figura 7), fue operado siguiendo el manual de usuario del equipo y la síntesis de nanopartículas se realizó en base al protocolo propuesto por Llumiquinga, (2018), pero escalado para un volumen final de 250L de agua de lluvia y usando sulfito de sodio junto a la evacuación del oxígeno disuelto en el agua con burbujeo de nitrógeno gas para obtener condiciones reducidas, los reactivos usados se detallan en la Tabla 9; El PT consta de dos tanques: tanque principal (TP) de 500L y el tanque de mezcla (TM) de 200L. Primero, se llenó el tanque de almacenamiento con agua de lluvia, previamente almacenada en una cisterna, y se procedió a rellenar los tanques TP y TM, abriendo las válvulas respectivas (A1,A2,A3) hasta el volumen requerido ( 180L, 70L) en cada tanque observando el bypass del equipo. Una vez que los tanques estuvieron con los volúmenes requeridos, se inició la mezcla en el TP del sulfito de sodio ( $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ) agregando 42g y se mezcló a 225 rpm por 5min con el fin de evitar que se reoxigene el líquido. Acto seguido, se abrió la válvula de escape de gas D4 y las válvulas D1 y D2 conectadas al tanque de nitrógeno y se ajustó el caudal de gas a 30L/min por 15 minutos y se verificó un valor de 000mV de ORP y se cerraron las válvulas. Posteriormente, se agregaron 10g de sulfato de sodio ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) y

27g de cloruro férrico ( $\text{FeCl}_3$ ) triturado y se mezcló por 15 minutos. A los 5 min se procedió a encender el motor del TM al máximo y mezclar 237,5g de borohidruro de sodio ( $\text{NaBH}_4$ ). Previo a traspasar la solución de  $\text{NaBH}_4$  del TM al TP, se tomó una alícuota del TP, para verificar que la completa disolución de los reactivos. Finalmente, se hizo pasar la solución del TM al TP y se mezcló por 10 min a 445 rpm. De igual manera, se tomó una alícuota para determinar si existe la formación de nanopartículas de color negro. Una vez terminada la síntesis se recolectó una muestra para su caracterización y se procedió a la aplicación en el suelo a tratar.

La caracterización de las nanopartículas se realizó en el Laboratorio de caracterización de Materiales con ayuda de Microscopia electrónica.

### **Figura 7**

*Prototipo para síntesis de nanopartículas en campo*



### Zona de aplicación de nanopartículas y muestreo

El prototipo de campo fue transportado a la zona de aplicación de nanopartículas en la finca Santa Lucía ubicada a 10Km del recinto La Abundancia, vía Recinto 10 de Agosto, cantón Puerto Quito. Inicialmente, se delimitó 1,25 m de radio a partir del tronco del árbol de cacao para la aplicación del tratamiento (ver Figura 8), luego se limpió la basura (hojas y ramas), se recogieron muestras de suelo y se marcaron los puntos donde se realizaron los pozos de inyección con ayuda de una barra metálica siguiendo el esquema mostrado en la figura 9.

#### Figura 8

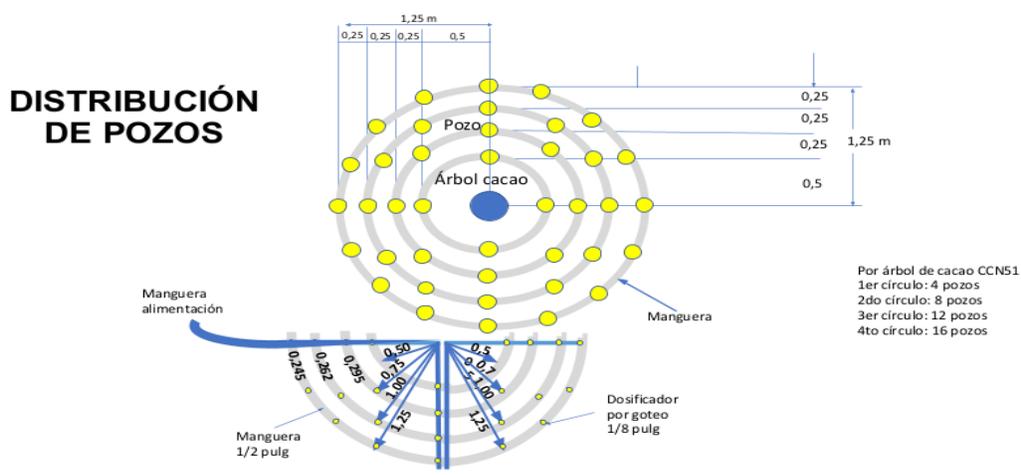
*Delimitación del área para aplicación de nanopartículas.*



A continuación, se ajustó el flujo de inyección, regulando las válvulas del manifold de salida del prototipo con agua a un promedio de 0,5L/min y se preparó el sistema de inyección. Este dispositivo consistió en un soporte metálico de 25cm de altura, en el que se colocaron los goteros. Posteriormente, se sintetizaron las nanopartículas en el prototipo siguiendo el protocolo descrito anteriormente. Finalmente, se aplicó la solución de nanopartículas por goteo (ver Figura 10) durante dos minutos.

**Figura 9**

*Esquema de distribución de pozos para inyección de nanopartículas por goteo.*



*Nota. Elaborado por: Luis Cumbal, PhD.*

Una vez transcurridos los dos minutos, se movió el sistema de inyección al siguiente árbol y se lo dosificó con NPs. Una vez terminada la inyección de nanopartículas en los diferentes árboles, se procedió a lavar los tanques del prototipo. Las muestras de suelo fueron recogidas a una profundidad de 10cm a las 24 horas y 15 días después del tratamiento y se almacenaron en fundas plásticas previamente etiquetadas para su transporte al laboratorio y posterior procesamiento y análisis.

**Figura 10**

*Inyección de solución de nanopartículas sintetizadas en prototipo por goteo.*



## Inmovilización de Cadmio en Suelo

Después de aplicar las nanopartículas en el suelo cacaotero de Puerto Quito, se evaluó la inmovilización y disminución de la disponibilidad de cadmio por usando el método de extracción secuencial, desarrollado por Tessier (1979) y detallado en la sección anterior.

### Desorción o lixiviación

Los ensayos de lixiviación se realizaron aplicando diferentes fluidos de extracción (agua de lluvia, agua destilada con 100mg/L de carbonato de calcio, agua potable y agua ácida a pH 2), para el cual se pesaron 5g de suelo tratado en campo y se les agregó 40mL de cada fluido de extracción. Estos ensayos se realizaron en tubos falcón de 50mL y se los dejó en contacto por 24h en constante agitación.

Posteriormente, se determinó el contenido de cadmio, con un espectrómetro de adsorción atómica, Perkin Elmer AA800 con la técnica de flama. Los resultados fueron expresados en mg de contaminante/kg de suelo (ppm), para ello se utilizó la ecuación 4.

$$\frac{mg}{Kg} = \frac{\text{concentracion del metal } \left(\frac{mg}{L}\right) * \text{volumen de la muestra (L)}}{\text{peso de la muestrara (Kg)}} \quad \text{Ecuación 4}$$

### Análisis Estadístico

Se realizó dos pruebas de normalidad, Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk, a los resultados obtenidos de la concentración de Cd en las diferentes fracciones resultantes de la extracción secuencial; y luego se definió el uso de pruebas paramétricas (ANOVA) y no paramétricas (Kruskal-Wallis). Todas las pruebas estadísticas se realizaron en el programa OriginPro y se comparó la variación de la concentración de cadmio en suelo, contenido en las diferentes fracciones de la extracción secuencial después del tratamiento con nanopartículas.

### Capítulo 3: Resultados y Discusión

#### Caracterización físico-química del suelo

En la profundidad de 0 a 15 cm, se tomaron las muestras de suelo, porque en esta zona ocurre el mayor intercambio de nutrientes entre el suelo y las raíces del árbol de cacao (Wessel, 1971), por lo que es la más idónea para realizar el análisis físico-químico y es en esta zona donde se aplicó el tratamiento con nanopartículas. También, a esta zona, se la menciona como una buena referencia al momento de evaluar las características físico-químicas de suelo de cultivo de cacao (Van Vliet et al., 2015). La tabla 4 resume la granulometría del suelo de Puerto Quito y la figura 11 ilustra la curva granulométrica para suelo de cultivo de cacao CCN51, encontrándose que tiene 42 % de arena (para partículas mayores a 0,04mm) y 58% de finos (partículas menores a 0.04mm), respectivamente.

**Tabla 4**

*Granulometría de la Muestra de Suelo de Cultivo de Cacao CCN51*

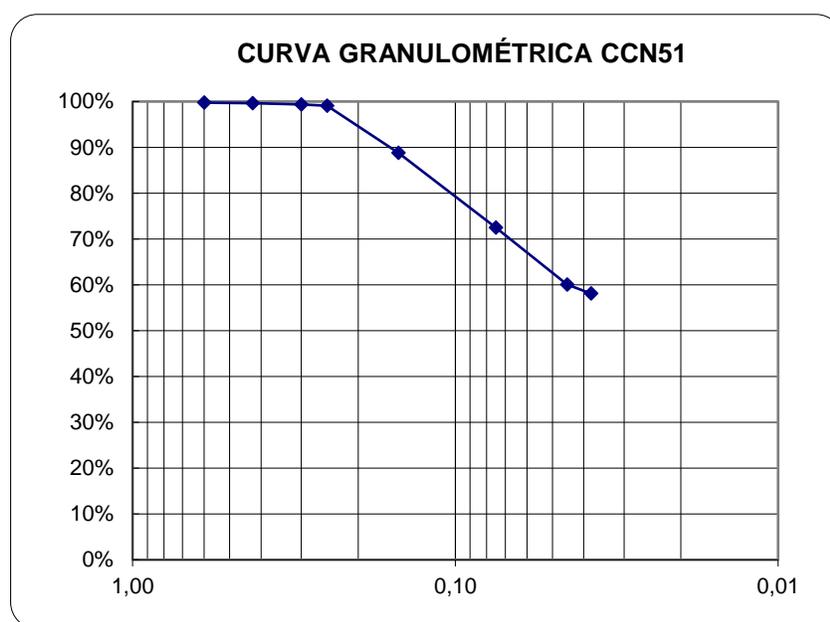
Tamiz #	Diámetro de malla (mm)	Retenido			Pasa %
		Parcial	Total	%	
10	2,00	0	0	0	100
100	0,15	30,9	30,9	11,2%	89%
200	0,08	45,0	75,9	27,5%	72%
325	0,05	34,2	110,2	39,9%	60%
400	0,04	5,4	115,6	41,9%	58%

Considerando los porcentajes de arena y arcilla en el suelo de este estudio, se determina que el *suelo de cultivo de Cacao CCN51* es fino, franco o franco arcilloso (USDA, 1999); y a los elevados valores de límite líquido y límite plástico, (ver Tabla 5) definen que los finos de la muestra de suelo, en su mayoría son arcillosos (Rassim,

2015). Estas características influyen en la humedad y la capacidad de retener agua, pues el cultivo de cacao requiere altos porcentajes de humedad (70-80%) (Van Vliet et al., 2015). También, se ha evidenciado que la disponibilidad de Cd es menor en suelos de textura fina con alto contenido de arcilla (Sánchez, 2016).

**Figura 11**

*Granulometría del suelo de cultivo de Cacao CCN51*



El pH del suelo es un indicador de los nutrientes disponibles para las plantas, así como de la movilidad y solubilidad de diferentes constituyentes del suelo y contaminantes inorgánicos como los metales pesados (Graterón, 2020). Un ejemplo es el Cd, que para pH >5 su disponibilidad se mantiene <0,5 mg/L (ver figura 12). Para el cultivo de cacao se recomienda pH levemente ácido a neutro (6-7) (Van Vliet et al., 2015), pero se han reportado valores de pH de 5,2-5,6 en zonas con altas precipitaciones que provocan la filtración de cationes básicos, y en suelos con alto contenido de materia orgánica por la presencia de residuos ácidos (Sánchez, 2016). El suelo de cultivo de cacao CCN51 de la finca Santa Lucía, donde hay lluvias significativas la mayor parte del año, presenta un suelo ácido de pH 5,6, alto contenido

de materia orgánica (28%) y elevada CIC (ver tabla 5), de los que depende la solubilidad y disponibilidad de metales pesados, entre ellos el Cd (Jaramillo, 2018). Como el pH del suelo es menor a 7, no se pudo cuantificar carbonatos en el suelo (Buurman et al., 1997), pero si bicarbonatos encontrándose que tiene 1,5 meq/kg de suelo.

**Tabla 5**

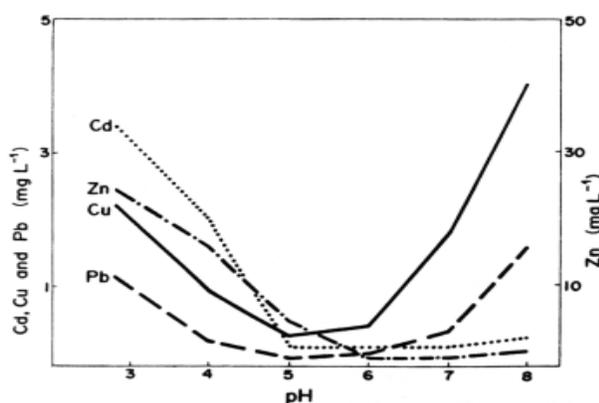
*Resumen de los Parámetros Físico-químicos de suelo de cultivo de cacao CCN51*

<b>Parámetros</b>	
Textura	42% arena
	58% finos
Humedad natural	78,5%
Límite líquido	83%
Límite plástico	63%
Capacidad de intercambio catiónico, CIC (meq/100gde suelo)	18,16
Potencial de hidrogeno, pH	5,6
Materia orgánica (%)	27,77
Cadmio total (Cd) en mg/kg	0,4588
Cadmio disponible en mg/kg	0,044
Hierro (Fe) en mg/kg	1030,272
Zinc (Zn) en mg/kg	7,5456
Manganeso (Mn) en mg/kg	22,6
Bicarbonatos (meq/kg de suelo)	1,5

Se conoce que los metales pesados se encuentran naturalmente como componentes del suelo y pueden variar su disposición o concentración general por actividades antropogénicas (Prieto Méndez et al., 2009); y aunque se encuentren en bajas concentraciones pueden ser adsorbidos y bioacumulados por las plantas y con ello ingresar a la cadena alimentaria, desencadenando una variedad de diferentes afecciones en la salud (Sánchez, 2016). Particularmente, las plantas de cacao pueden adsorber el Cd disponible en solución o incluso acceder a él desde la fase sólida del suelo por efectos de difusión, y lo pueden acumular en diferentes partes de la planta (Huauya et al., 2012). La principal preocupación es que la cantidad de cadmio se puede acumular en la mazorca, la que es usada posteriormente en la fabricación de derivados muy usados en alimentación principalmente de niños, lo que ha generado muchas preocupaciones (Reyes et al., 2016). Se evaluó el contenido de Cd en el suelo de estudio de la finca Santa Lucía de Puerto Quito y aunque la concentración de Cd (0,4588ppm) es menor al límite permisible de 0,5ppm, y su fracción disponible para las plantas es aún más bajo (0,044ppm), se sabe que el Cd se acumula en las almendras de cacao (Huauya-Rojas et al., 2012).

### Figura 12

*Efecto del pH en la Concentración de Distintos Metales en la Solución Suelo (Sánchez Barrón, 2016).*

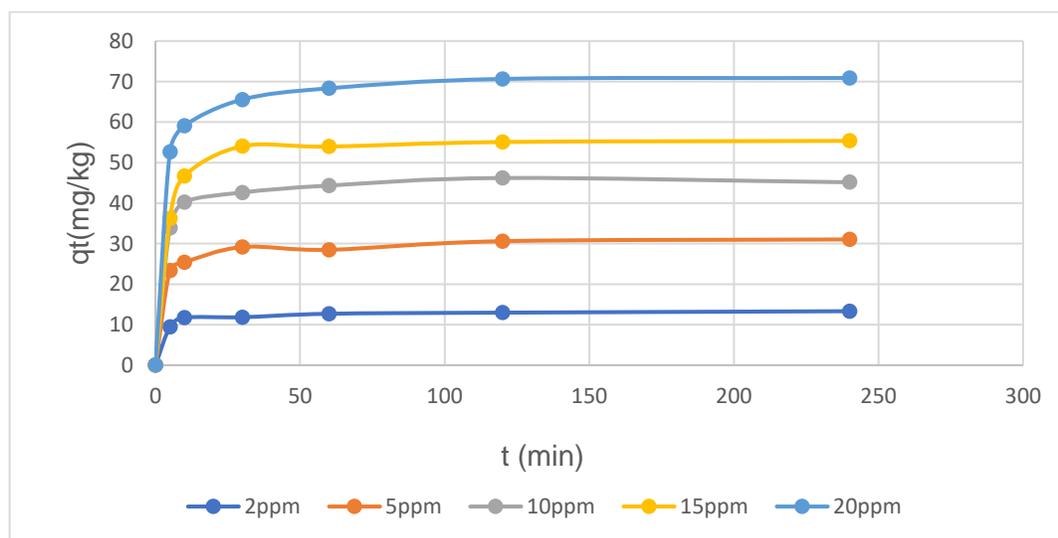


### Cinética de adsorción

En la figura 13 se observa el Cd adsorbido por el suelo en función del tiempo para diferentes concentraciones en solución y que tiende al equilibrio a los 240min, este tiempo fue elegido para el análisis posterior de las isothermas puesto que éstas se evalúan en el equilibrio (Sánchez et al., 2011). También, se observa que en los primeros 10min se alcanza el máximo de adsorción debido a que la superficie de los microporos del suelo se satura, es decir, el suelo ya no puede adsorber más Cd en su superficie (Simonin, 2016). En este periodo de tiempo, el mecanismo de captura de los iones cadmio, se cree que es por adsorción física, ya que es bastante rápido (Cumbal et al, 2015).

**Figura 13**

*Cadmio adsorbido en suelo en función del tiempo.*

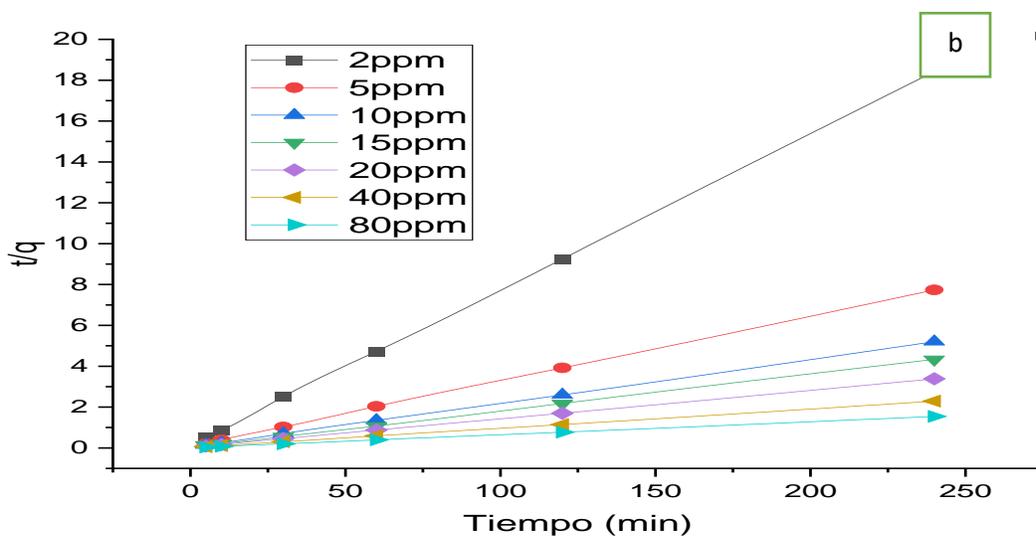
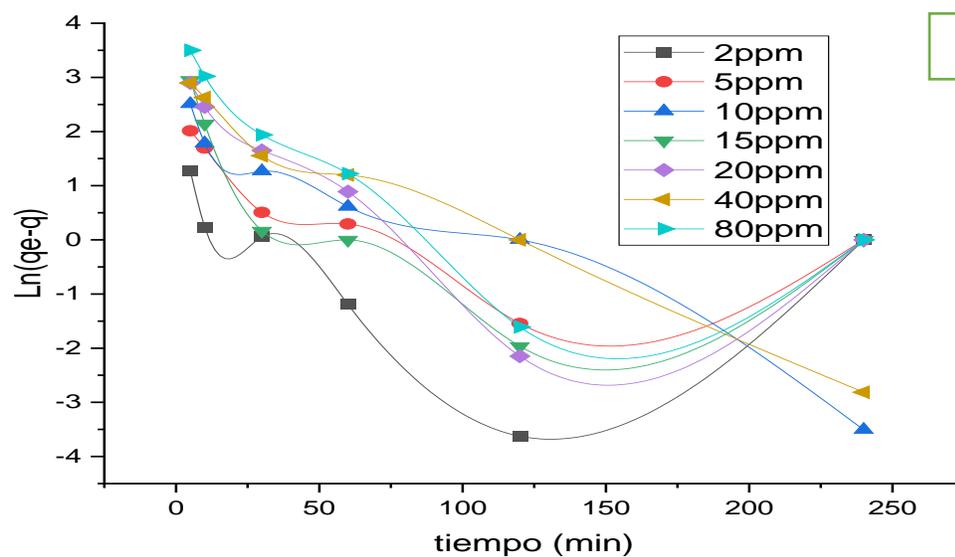


Los modelos cinéticos de pseudo primer-orden (propuesto por Lagergren) y pseudo segundo-orden, son generalmente usados para describir la tasa de adsorción de solutos (Simonin, 2016). En la figura 14a se puede observar que la adsorción de cadmio en suelo no se ajusta al modelo de pseudo primer-orden, mientras que en la figura 14b se evidencia que la cinética de adsorción sigue el modelo de pseudo

segundo-orden con  $R^2=0,99$ , esto confirma lo reportado en otros estudios con  $R^2$  de 0,95-0,98 para el modelo de pseudo segundo-orden como descriptor de la adsorción de Cd en suelo (Lu et al., 2021; Sánchez, 2018; sen Gupta & Bhattacharyya, 2011), los parámetros y la velocidad de adsorción inicial (h) del modelo se muestran en la tabla 6.

**Figura 14**

*Ajuste lineal de los modelos cinéticos.*



*Nota. a) modelo de pseudo-primer orden; b) moldeo de pseudo segundo-orden.*

El ajuste de los datos con el modelo de pseudo segundo-orden sugiere una adsorción química mediada por enlaces químicos presentes en la superficie del adsorbente (Simonin, 2016). En la tabla 6 se puede visualizar la dependencia de los parámetros cinéticos ( $q_e$ ,  $k_2$ ,  $h$ ) en función de la concentración inicial ( $C_i$ ),  $K_2$  es inversamente proporcional a  $C_i$ , mientras que tanto  $q_e$  y  $h$  aumenta conforme aumente la concentración inicial de cadmio en solución.  $K_2$  no solo está relacionada con la concentración inicial, también puede verse afectada por el pH y temperatura (sen Gupta & Bhattacharyya, 2011).

**Tabla 6.**

*Parámetros del modelo cinético de pseudo segundo-orden.*

$C_i$ (mg/L)	$q_{eexp}$ (mg/kg)	Modelo cinético de pseudo segundo-orden			
		$q_e$ (mg/kg)	$K_2$ (kg/mg min)	$R^2$	$h$ (mg/kg min)
2	13,33	13,14	0,038	1	6,64
5	31,04	31,35	0,013	0,99	12,72
10	46,17	46,51	0,010	0,99	21,88
15	55,21	55,87	0,012	0,99	37,59
20	70,76	71,42	0,009	1	45,43
40	104,87	105,26	0,006	1	69,93
80	155,36	156,25	0,004	1	100

*Nota: la velocidad de adsorción inicial  $h=k_2q_e^2$*

### Isotermas de adsorción de cadmio en suelo

Se determinó que la adsorción del cadmio en el suelo estudiado se ajusta con mejor precisión a la isoterma de Freundlich ( $R^2=0,994$ ), ya que el coeficiente de correlación fue mayor al ajuste lineal de Langmuir ( $R^2=0,972$ ) (ver Figura 15a y b). En la tabla 7 se indican los datos usados para realizar el ajuste lineal de las isotermas de

adsorción. Las constantes de aproximación en cada modelo se muestran en la tabla 8 y en la figura 15c se observa la comprobación de que el modelo de Freundlich aproxima satisfactoriamente la adsorción del Cd por parte del suelo.

**Tabla 7.**

*Datos experimentales resultantes, usados en el ajuste de las isotermas de adsorción.*

Volumen (L)	C <sub>i</sub> (mg/L)	C <sub>w</sub> (mg/L)	q <sub>eq</sub> (mg/kg)	Freundlich		Langmuir	
				log (C <sub>eq</sub> )	log(q <sub>eq</sub> )	1/C <sub>eq</sub>	1/q <sub>eq</sub>
0,2	1,74	0,41	13,33	-0,39	1,12	2,47	0,08
0,2	4,74	1,63	31,04	0,21	1,49	0,61	0,03
0,2	9,07	4,55	46,17	0,66	1,66	0,22	0,02
0,2	14,06	8,22	55,21	0,91	1,74	0,12	0,02
0,2	19,36	12,07	70,76	1,08	1,85	0,08	0,01
0,2	38,54	27,36	104,87	1,44	2,02	0,04	0,01
0,2	76,82	61,76	155,36	1,79	2,19	0,02	0,01

Las isotermas de adsorción son indicadores de la distribución de moléculas entre las fases líquida y sólida en el equilibrio e informan la capacidad del adsorbente (Buurman et al., 1997), en este caso, el suelo de estudio según el modelo de isoterma de Freundlich, tiene una capacidad de adsorción  $K_a=22,03 \text{ (mg/g)(L/mg)}^{1/n}$  y una velocidad o afinidad de adsorción  $n=2,092$ . Este modelo asume heterogeneidad en la superficie del adsorbente y que no existe límite de carga de adsorción (Ho & Mckay, 2002), mientras que con el modelo de Langmuir se observa una capacidad máxima de adsorción de Cd  $q_m =84,82 \text{ mg/kg}$  y una afinidad asociada a la energía de enlace  $K_i=0,449 \text{ L/mg}$  (Sánchez et al., 2011). Los valores de los parámetros de Freundlich

indican que el suelo de estudio tiene una buena capacidad de adsorción de cadmio. Esta capacidad de adsorción está relacionada con el contenido de materia orgánica, arcilla, el pH y CIC del suelo.

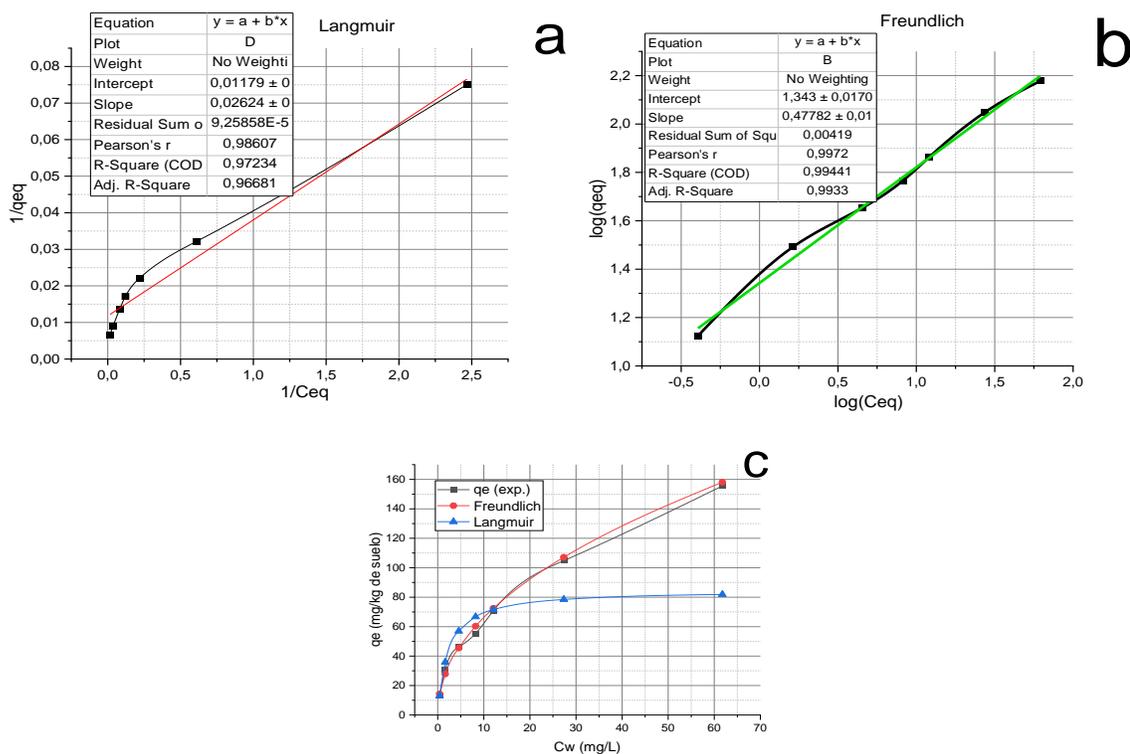
**Tabla 8.**

*Constantes de los modelos Freundlich y Langmuir.*

	Freundlich	Langmuir
$q_m(\text{mg/kg})$		84,82
$k_l (\text{L/mg})$		0,449
$k_a(\text{mg/g})(\text{L/mg})^{1/n}$	22,03	
$1/n$	0,478	

**Figura 15.**

*Representación de las isotermas de adsorción, a) ajuste lineal Langmuir; b) ajuste lineal Freundlich. y c) verificación del modelo*



### Síntesis de nanopartículas de Fe/FeS en prototipo de campo

Las NPs aplicadas fueron sintetizadas en base al protocolo propuesto por Llumiquinga, (2018) y que a nivel de laboratorio mostraron una buena inmovilización de Cd y otros metales pesados en suelo y agua. Para la síntesis en el prototipo de campo se tuvo en cuenta que en el traspaso de la solución de borohidruro del reactor de mezcla al reactor principal existe alrededor del 5% de pérdida en volumen, lo que implica menor masa para la reacción de formación de las nanopartículas, razón por la cual el peso de borohidruro usado fue un 5% mayor al requerido realmente; también se consideró el uso de sulfito de sodio para disminuir el ORP junto con el burbujeo de N<sub>2</sub>, como se indica en la tabla 9. Para facilitar y agilizar el proceso de síntesis, el agua de lluvia fue transportada de la cisterna de almacenamiento hasta el reactor; las masas de reactivos usadas fueron pesadas en el momento de síntesis; antes de realizar la síntesis se lavó los tanques del prototipo y se revisó el perfecto funcionamiento de los sensores de pH y ORP, de los cuales depende la adecuada formación de NPsMC.

**Tabla 9.**

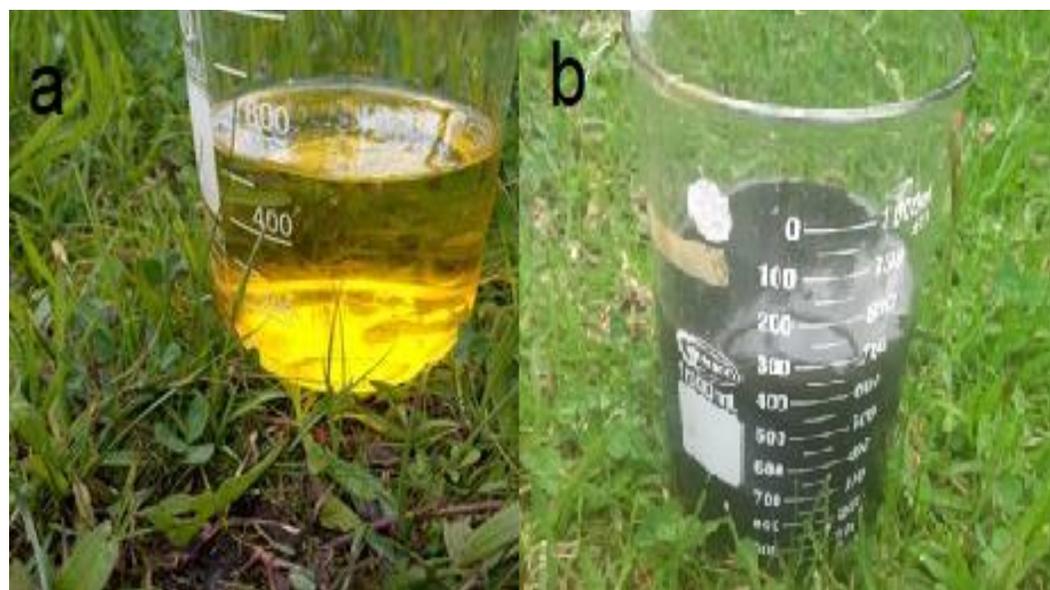
*Reactivos usados en síntesis de nanopartículas en prototipo de campo.*

	NPs en laboratorio		NPs en prototipo	
	(protocolo original)		(aplicación real)	
<b>Volumen (L)</b>	2,00	0,120	200,00	60
<b>Sulfato de sodio (g)</b>	0,10		10,00	
<b>Cloruro férrico (g)</b>	0,27		27,00	
<b>Borohidruro de sodio (g)</b>		1,815		237,5
<b>Sulfito de sodio (g)</b>	-		42,00	
<b>N</b>	5min		15min	

La primera evaluación de las nanopartículas sintetizadas en el prototipo de campo se realizó de forma visual (ver Figura 16), se obtuvo una muestra del fondo del tanque principal y se observó la formación de nanopartículas, al presentar estas una coloración negra como reporta Llumiquinga (2018). Adicionalmente, el pH de las nanopartículas fue medido por el sensor de pH del prototipo y éste se mantuvo en 8,5.

**Figura 16.**

*Muestra de nanopartículas sintetizadas en prototipo, verificación visual de su formación*



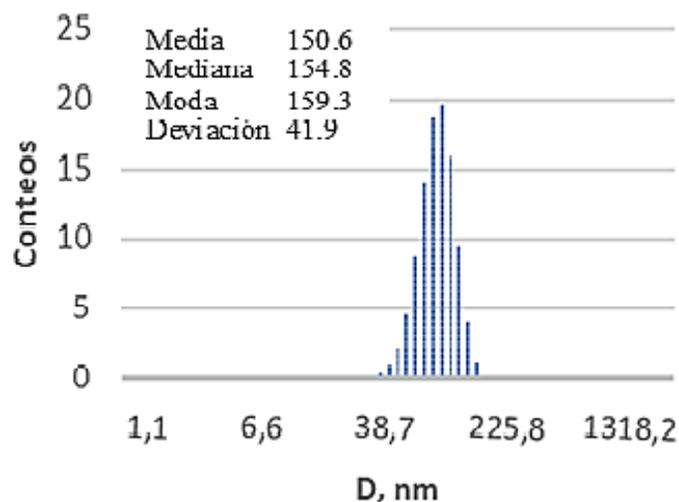
*Nota. a) solución previa a la formación de nanopartículas, b) solución de nanopartículas formadas de coloración negra.*

Durante la formación de NPs<sub>Mc</sub> Fe/FeS se liberan gases ( $H_2$  y  $H_2S$ ) provocando un burbujeo con efecto de choque entre las NPs formadas (Kim et al., 2011), que sumado al magnetismo característico de las mismas aceleran su aglomeración; también se sabe que a mayor volumen el tiempo de aglomeración se reduce (Vasarevičius et al., 2020). Por otro lado, Llumiquinga, (2018) menciona, que las nanopartículas usadas en ese estudio, en de 2 horas aglomeran para un volumen de reactor de 4 L. Este

fenómeno fue observado en el prototipo de campo, en el que después de la síntesis de 250L de nanocompuestos, la aglomeración de NPs provocaron obstrucciones en el sistema de inyección de las NPs a suelo, en aproximadamente 30min.

**Figura 17.**

*Mediciones del tamaño de nanopartículas medidas en DLS*

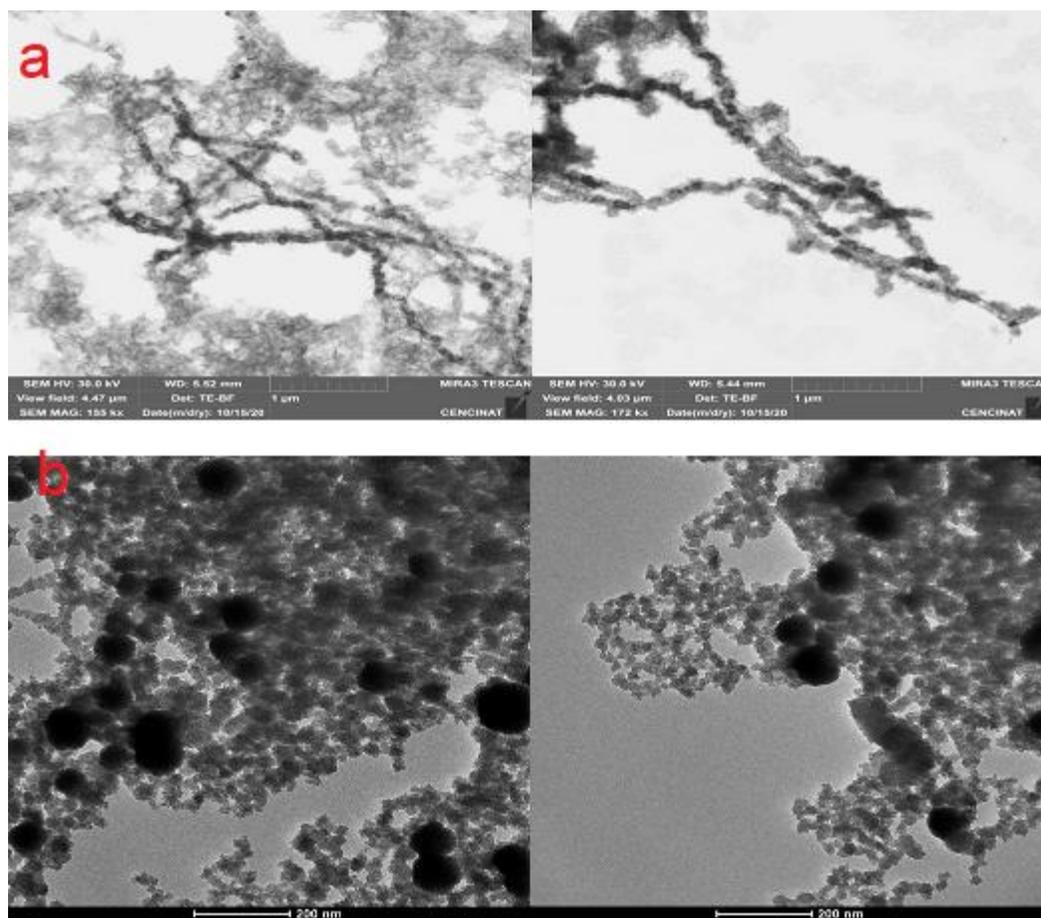


Se caracterizó por tamaño a las partículas obtenidas con el prototipo y se verificó que éstas tienen en promedio 154,8 nm medido en DLS (ver figura 17) y que tienen forma esférica (ver figura 18b), el tamaño es casi tres veces mayor al reportado por Llumiquinga, (2018), esto debido probablemente al uso de agua de lluvia sin filtrar, o porque no se usaron estabilizantes que recubran a las NPs, evitando su crecimiento (Machado et al., 2017).

Las microfotografías (figura 18a y b) muestran homogeneidad en las NPs, en forma y tamaño con rugosidades en la superficie y presencia de canales porosos, confirmando lo observado en estudios anteriores (Kim et al., 2011; Machado et al., 2017; Su et al., 2015). Además, se observan residuos de la síntesis, que bien pueden ser contaminantes del agua utilizada, mezclados con algún exceso de reactivo.

**Figura 18.**

*Caracterización de nanomateriales sintetizadas en el prototipo de campo, a) imágenes SEM y b) imágenes TEM.*



### **Aplicación de nanopartículas en suelo y evaluación de inmovilización de Cd.**

La figura 19 muestra una foto satelital de la finca Santa Lucía y se marca el lugar aproximado donde se aplicó, como tratamiento para inmovilizar Cd en suelo, las NPs sintetizadas en el prototipo de campo.

**Figura 19.**

*Imagen satelital de la hacienda La Chocolatera, se marca el lugar aproximado de aplicación del tratamiento con NPs.*



El tratamiento se realizó a 4 árboles (Ar1, Ar2, Ar3, Ar4), se utilizó un sistema de inyección por goteo en los 40 pozos previamente marcados y perforados con una barra metálica de radio 1,25m alrededor de cada árbol. Las muestras de suelo fueron tomadas antes de la inyección de NPs y posterior al tratamiento (24h y 15 días después); y transportadas del lugar de aplicación al laboratorio para su posterior procesamiento (secado y triturado dependiendo del análisis a realizarse). Ya en el laboratorio se realizó la extracción secuencial del cadmio desde las diferentes fracciones del suelo y se obtuvieron 185 soluciones, incluidas las de la extracción del suelo estándar como control.

Se envió el lote de 185 muestras a la USFQ para lectura en ICP-OES, puesto que la técnica ha mostrado mayor sensibilidad en la lectura de metales traza en solución (Chávez, 2011), junto a las muestras se enviaron también blancos del reactivo, para cada fracción a fin de reducir el efecto matriz en las lecturas, ya que el objetivo de

este análisis, era realizar la cuantificación del metal Cd en el suelo de Puerto Quito, porque contiene bajos niveles del metal. Las lecturas se resumen en la tabla 10 y se observa una ligera diferencia entre el total medido anteriormente por efecto acumulativo de pérdidas en el proceso de extracción secuencial (Juang et al., 2012; Tessier & Campbell, 1979).

**Tabla 10.**

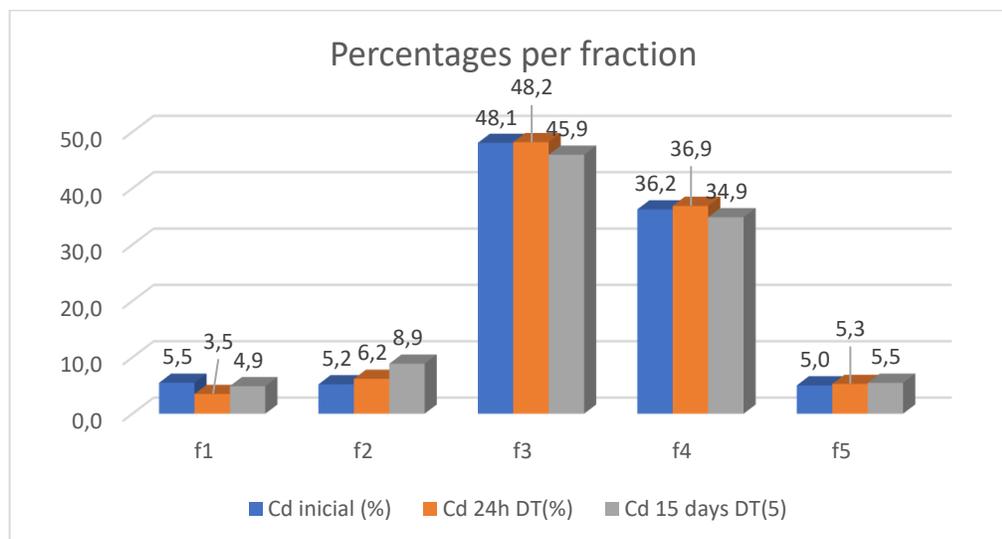
*Datos Promedio de Especiación Secuencial de Cd (mg/kg de suelo)*

<b>Fracciones</b>	<b>T<sub>0</sub></b>	<b>T<sub>24h</sub></b>	<b>T<sub>15 días</sub></b>
F1	0,0227	0,0143	0,0209
F2	0,0216	0,0252	0,0380
F3	0,1993	0,1968	0,1969
F4	0,1503	0,1505	0,1494
F5	0,0208	0,0215	0,0235
Total	0,4147	0,4083	0,4286

Para una mejor diferenciación en la concentración de Cd en cada fracción (F1, F2, F3, F4, F5) se presenta la figura 20, en la que se compara en porcentaje, la concentración de cadmio en cada fracción para los diferentes tiempos analizados. Y se observa que existe una reducción en la concentración de Cd de la F1 (intercambiable) del 37% a las 24h y a los 15 días esta reducción se reduce al 12%. También se observa un pequeño incremento en las fracciones 3, 4 y 5, resultado que coincide con lo observado por Llumiquinga, (2018) a escala de laboratorio.

**Figura 20.**

*Porcentajes de Cd por fracción de suelo a distintos tiempos de muestreo.*



En campo no se puede garantizar una distribución uniforme del tratamiento en la matriz suelo debido a la variabilidad de sus características físico-químicas (Xue et al., 2018), lo que explica la gran diferencia en la inmovilización de Cd a las 24h (37%) por NPsMC de Fe/FeS con respecto a lo reportado a escala de laboratorio donde se supera el 60% de retención para este metal (Llumiquinga Marcillo, 2018; Su et al., 2015; T. Wang et al., 2019). A los 15 días se reporta que la inmovilización se reduce al 12 % confirmando lo reportado en otros estudios, en los que se enuncia que la retención de Cd se reduce de 10 a 50% a los 30 días del tratamiento con nanopartículas de Fe/FeS y nZVI debido a diferentes factores ambientales o por interacciones naturales que pueden darse en el medio suelo (J. Wang et al., 2016; Xue et al., 2018).

La lixiviación del Cd desde las distintas fracciones del suelo está relacionada con su especiación química. En este estudio la lixiviación de Cd fue imperceptible, es decir las lecturas en el espectrómetro de adsorción atómica, Perkin Elmer AA800 con la técnica de flama estuvieron bajo el límite de detección para todos los líquidos lixiviantes

a excepción del agua a pH 2, lixiviante que extrajo la misma cantidad de Cd del suelo (0,17mg/Kg de suelo) antes y después del tratamiento, pues como menciona Lu et al., (2021), en condiciones ácidas se pueden romper las uniones entre el metal y la matriz de adherencia aumentando la solubilidad del mismo.

### **Análisis Estadístico de Datos de aplicación en Campo**

El análisis estadístico utilizó los datos mostrados en la tabla 11 y fue realizado con ayuda del programa OriginPro 2021b. Primero, con el fin de identificar la prueba paramétrica o no paramétrica a utilizar en el análisis se procedió a realizar pruebas de normalidad de los datos de concentración de Cd en suelo para cada fracción de digestión.

**Tabla 11.**

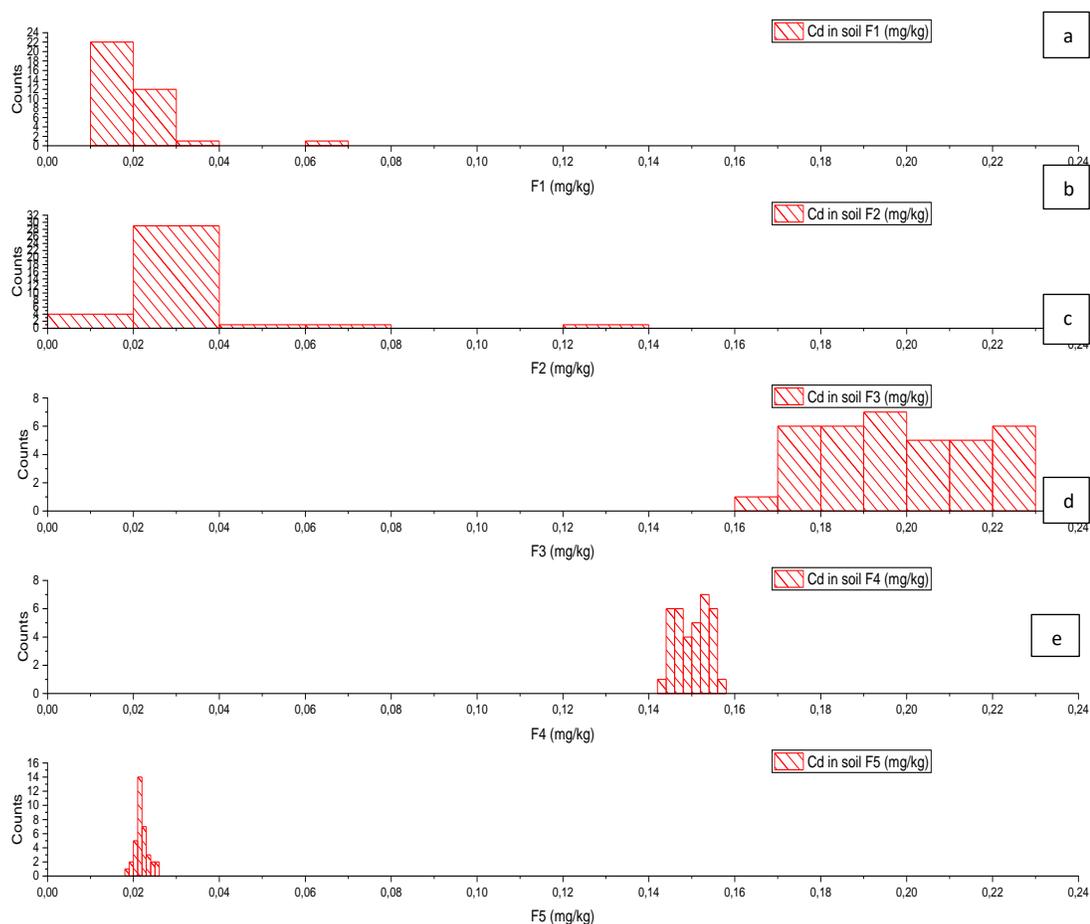
*Distribución de Cd en Suelo a Diferentes Tiempos de Aplicación de Tratamiento.*

	AR <sub>1</sub> BT	AR <sub>1</sub> 24h	Ar <sub>1</sub> 15D	AR <sub>2</sub> BT	AR <sub>2</sub> 24h	Ar <sub>2</sub> 15D	AR <sub>3</sub> BT	AR <sub>3</sub> 24h	Ar <sub>3</sub> 15D	AR <sub>4</sub> BT	AR <sub>4</sub> 24h	AR <sub>4</sub> 15D
F1	0,023	0,014	0,014	0,024	0,015	0,031	0,023	0,014	0,017	0,021	0,014	0,021
F2	0,017	0,024	0,025	0,024	0,026	0,057	0,023	0,028	0,031	0,023	0,023	0,039
F3	0,181	0,206	0,218	0,214	0,195	0,180	0,206	0,209	0,201	0,195	0,177	0,189
F4	0,149	0,150	0,153	0,154	0,151	0,150	0,148	0,154	0,146	0,150	0,148	0,149
F5	0,021	0,021	0,023	0,020	0,022	0,023	0,021	0,022	0,024	0,021	0,021	0,023

Se obtuvo con una significancia de 0,05 para las pruebas de Kolmogorov-Smirnov que no se cumple la normalidad para las fracciones 1 y 2, mientras que en la prueba de Shapiro-Wilk se obtuvo que la normalidad no se cumple en las fracciones 1, 2 y 3 (Anexo B), esto se puede evidenciar en los histogramas de cada fracción (ver figura 21).

**Figura 21.**

Histogramas de la Concentración de Cadmio en Suelo para cada Fracción de Digestión



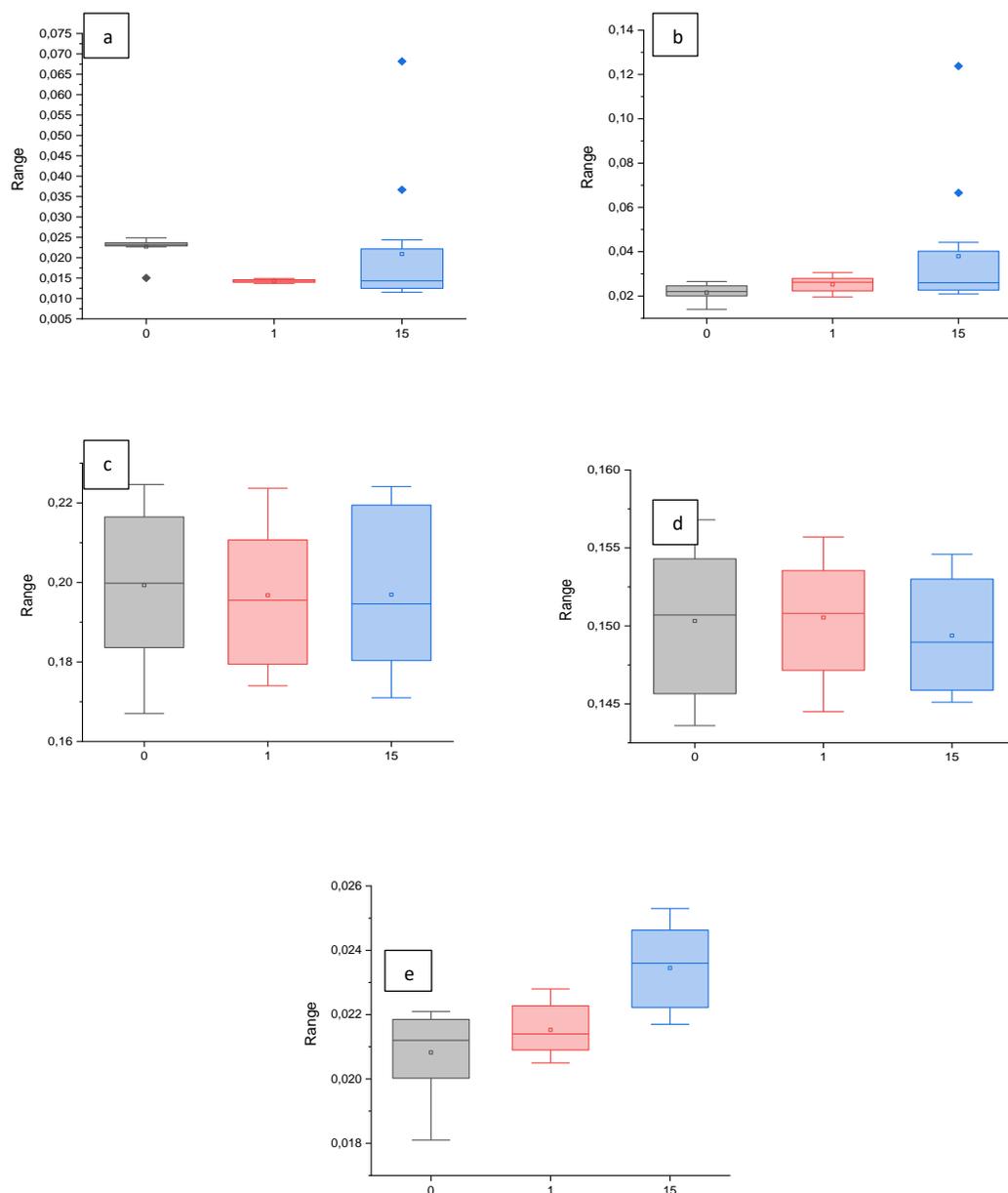
*Nota. a) Fracción 1 o intercambiable; b) fracción 2 o unida a carbonatos; c) fracción 3 o unida a óxidos de hierro y manganeso; d) fracción 4 o unida a materia orgánica; e) fracción 5 o residual.*

Se realizaron pruebas paramétricas (ANOVA de un factor) para las fracciones 3,4 y 5 y no paramétricas (Kruskal-Wallis) para las fracciones 1 y 2 (anexo C al G), con las que se identificó que existe una diferencia significativa entre el estado original y después del tratamiento ( $\alpha=0,05$ ); por lo que se realizó la prueba de Tukey (para las pruebas paramétricas) y el test de Dunn (para pruebas no paramétricas) para comparar las medias

en cada periodo de tiempo con una significancia de 0,05. En la fracción 1 se observó que existe una significativa disminución del Cd posterior al tratamiento con nanopartículas, la misma que se mantiene a los 15 días posteriores al tratamiento; mientras que en la fracción 2, 3 y 4 se denota que no existe ningún cambio en el contenido de Cd posterior al tratamiento con nanopartículas; finalmente se observó que en la fracción cinco, el Cd aumenta significativamente posterior al tratamiento con nanopartículas (Ver Figura 22). Estos resultados confirman el comportamiento del Cd en suelo modulado por la dosificación de NPsMC de Fe/FeS explicado por Guha et al., (2020), quienes explican que la modulación del transporte e inmovilización de Cd por nanopartículas de hierro provoca, como se define en este estudio, el movimiento del metal desde la F1 o fácilmente intercambiable hacia la fracción cinco o residual. El leve aumento en la concentración de Cd en F1 a los 15 días pudo deberse a diferentes factores como la oxidación de las nanopartículas, o por liberación del Cd acumulado en hojarasca del cacao (Huauya-Rojas et al., 2012)

**Figura 22.**

*Comparación de las Medias del Contenido de Cd después del Tratamiento en cada Fracción*



**Nota.** a) Fracción 1 o intercambiable; b) fracción 2 o unida a carbonatos; c) fracción 3 o unida a óxidos de hierro y manganeso; d) fracción 4 o unida a materia orgánica; e) fracción 5 o residual.

#### **Capítulo 4: Conclusiones y Recomendaciones**

La caracterización del suelo de estudio mostró que este tiene las características fisicoquímicas necesarias para el cultivo de cacao y baja presencia de metales pesados, cumpliendo con los límites permisibles establecidos en el Libro VI Anexo 2 del TULSMA. En base a las características fisicoquímicas obtenidas en este estudio, se verifica una baja disponibilidad del Cd, por lo que se concluye que la interacción planta-suelo sólido influye en la presencia de Cd en almendras.

Las nanopartículas sintetizadas en el prototipo de campo en base al protocolo estandarizado por Llumiquinga, (2018), escalando para un volumen de 250 L. fueron nanopartículas multicomponente magnéticas de 150nm de diámetro, esféricas y de coloración negra.

Existe un evidente incremento en el contenido de cadmio en la fracción 5 o residual por la inmovilización del metal en la fracción 1 o fracción intercambiable luego de 24h del tratamiento, mientras los resultados a los 15 días no son determinantes. A este tiempo se muestra una inmovilización del cadmio remanente en la fracción 1. Esto puede estar asociado a factores que causan contaminación en los suelos tratados, la posible oxidación de los nanomateriales dando un compuesto adicional a la matriz y causante de mayor ruido o incluso la lixiviación de Cd desde el suelo por las lluvias, al no tener un control sobre el área tratada no se puede determinar la razón del incremento en las lecturas.

La inmovilización de Cd no fue muy evidente, aunque estadísticamente mostró un porcentaje de inmovilización, por lo que se recomienda realizar aplicaciones en suelos con mayor contaminación para una mejor observación de la inmovilización del metal pesado.

Se recomienda mejorar el proceso analítico en la medición del cadmio en las muestras, para eliminar el ruido en los resultados que provocan una defectuosa interpretación de la concentración de los metales como el Cd.

La inyección de nanopartículas en suelo por goteo no fue eficiente, ya que éstas se aglomeran y obstruyen el flujo en un corto periodo de tiempo, por lo que se recomienda que la inyección de NPs se pruebe por aspersión.

### Bibliografía

Argüello, D., Chávez, E., Laurysen, 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>

Bajguz, A., & Hayat, S. (2009). Effects of brassinosteroids on the plant responses to environmental stresses. In *Plant Physiology and Biochemistry* (Vol. 47, Issue 1, pp. 1–8). <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2008.10.002>

Borja, J., Heredia, S., & Sáez, M. (2020). Los nanomateriales y sus aplicaciones en la remediación ambiental. *Polo Del Conocimiento*, 5, 338–370. <https://doi.org/10.23857/pc.v5i7.1517>

Buurman, P., Velthors, E. J., & van Lagen, B. (1997). Manual for Soil and Water Analysis. *Backhuys Publishers, Leiden, The Netherlands*. <https://www.researchgate.net/publication/40145472>

Castebianco, J. A. (2018). Review / Reseña bibliográfica HEAVY METALS REMEDIATION WITH POTENTIAL APPLICATION IN COCOA CULTIVATION. *LA GRANJA: Journal of Life Sciences*, 27(1), 20–33. <https://doi.org/10.17163/lgr.n27.2018.02>

Chávez Carrillo, F. E. (2011). *Determinación multielemental de macro y micronutrientes catiónicos en suelos por espectroscopía de emisión por acoplamiento de plasma inductivo y detección óptica ICP-OES.*

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>

Cristaldi, A., Conti, G. O., Jho, E. H., Zuccarello, P., Grasso, A., Copat, C., & Ferrante, M. (2017). Phytoremediation of contaminated soils by heavy metals and PAHs. A brief review. In *Environmental Technology and Innovation* (Vol. 8, pp. 309–326). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2017.08.002>

Duffus, J. H. (2003). “Heavy metals”—A meaningless term? IUPAC Technical Report. *Pure and Applied Chemistry*, 74, 793–807. <https://doi.org/https://doi.org/10.1351/pac200375091357>

Flores Delgadillo, L., & Martínez Alcalá, J. R. (2010). *Manual de Procedimientos Analíticos UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.*

Graterón, A. F. (2020). *Caracterización fisicoquímica y mineralógica de un suelo de uso agrícola ubicado en el campus El Limonal de la Universidad Santo Tomás, Piedecuesta.*

Guha, T., Barman, S., Mukherjee, A., & Kundu, R. (2020). Nano-scale zero valent iron modulates Fe/Cd transporters and immobilizes soil Cd for production of Cd free rice. *Chemosphere*, 260. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127533>

Ho, Y. S., & Mckay, G. (2002). Application of Kinetic Models to the Sorption of Copper(II) on to Peat. *Adsorption Science & Technology*, 20, 797–815.

Huauya-Rojas, Á. M., Mansilla-Minaya, G. L., Florida-Rofner, N., & Neira-Trujillo, M. G. (2012). Presencia de metales pesados en cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.) orgánico. *Acta Agronómica*, 61, 339–344. <https://doi.org/10.11.12>

INEC. (2021). *Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua 2020 Contenido*. [www.ecuadorencifras.gob.ec](http://www.ecuadorencifras.gob.ec) Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua 2020

Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), E. E. T. P. P. de M. de S. y Aguas. (2020). *Informe anual 2020*.

Jaramillo Chamba, R. A. (2018). *Determinación de los niveles de cadmio en diferentes profundidades del suelo y su relación con las características físico-químicas, en el cultivo de cacao en la provincia de Guayas –Ecuador*. <http://repositorio.espe.edu.ec/handle/21000/15014>

Jaramillo, D. (2002). *INTRODUCCIÓN A LA CIENCIA DEL SUELO*.

Juang, K. W., Ho, P. C., & Yu, C. H. (2012). Short-term effects of compost amendment on the fractionation of cadmium in soil and cadmium accumulation in rice plants. *Environmental Science and Pollution Research*, 19(5), 1696–1708. <https://doi.org/10.1007/s11356-011-0684-0>

Kim, E. J., Kim, J. H., Azad, A. M., & Chang, Y. S. (2011). Facile synthesis and characterization of Fe/FeS nanoparticles for environmental applications. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 3(5), 1457–1462. <https://doi.org/10.1021/am200016v>

Liu, L., Li, W., Song, W., & Guo, M. (2018). Remediation techniques for heavy metal-contaminated soils: Principles and applicability. In *Science of the Total Environment* (Vol. 633, pp. 206–219). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.161>

Lizcano Gamboa, J. A. (2020). *Análisis teórico de las técnicas mixtas de nanobiorremediación en la recuperación de suelos contaminados con metales pesados.*

<https://repository.unad.edu.co/handle/10596/38436>

Llumiquinga Marcillo, E. M. (2018). *Estudio de la inmovilización de metales pesados presentes en suelos de Portovelo, mediante la aplicación de nanopartículas multicomponente (NPsMC), a nivel de laboratorio.*

Lu, W., Liu, Y., Ye, H., Lin, D., Li, G., Zhao, Y., Deng, T., Li, H., & Wang, R. (2021). Adsorption and desorption characteristics of cadmium on different contaminated paddy soil types: Kinetics, isotherms, and the effects of soil properties. *Sustainability (Switzerland)*, 13(13). <https://doi.org/10.3390/su13137052>

Machado, S., Pacheco, J. G., Nouws, H. P. A., Albergaria, J. T., & Delerue-Matos, C. (2017). Green zero-valent iron nanoparticles for the degradation of amoxicillin. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 14(5), 1109–1118. <https://doi.org/10.1007/s13762-016-1197-7>

Mite, F., & Durango, W. (2010). Avances del monitoreo de presencia de cadmio en almendras de cacao, suelos y aguas en Ecuador. *XII Congreso Ecuatoriano de La Ciencia Del Suelo*. <https://www.researchgate.net/publication/304346639>

Mulligan, C. N., Yong, R. N., & Gibbs, B. F. (2001). Remediation technologies for metal-contaminated soils and groundwater: an evaluation. In *Engineering Geology* (Vol. 60). [www.elsevier.nl/locate/enggeo](http://www.elsevier.nl/locate/enggeo)

Nelino Florida, R. (2021). Review on Maximum limits of cadmium in cocoa (*Theobroma cacao* L.). *La Granja: Ciencias de La Vida*, 34(2), 117–130.

<https://doi.org/10.17163/lgr.n34.2021.08>

Ortiz Bernad, I., Sanz García, J., Dorado Valiño, M., & Villar Fernández, S. (2007). *Técnicas de recuperación de suelos contaminados.*

Prieto Méndez, J., Ramírez González, C., Gutiérrez Román, A., & García Prieto, F. (2009). PLANT CONTAMINATION AND PHYTOTOXICITY DUE TO HEAVY METALS FROM SOIL AND WATER. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 10(1), 29–44. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=93911243003>

Rassim Mahmood, K. (2015). *Soil Mechanics*.

Reyes, Y., Vergara, I., Torres, O., Díaz Lagos, M., & González Jimenez, E. E. (2016). Contaminación por metales pesados: Implicaciones en salud, ambiente y seguridad alimentaria. *Ingeniería Investigación y Desarrollo: I2+D, ISSN-e 2422-4324, ISSN 1900-771X, Vol. 16, N.º. 2, 2016 (Ejemplar Dedicado a: Julio-Diciembre 2016), Págs. 66-77, 16(2), 66–77.*

<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6096110&info=resumen&idioma=ENG>

Rodríguez Eugenio, N., McLaughlin, M., & Pennock, D. (2019). *LA CONTAMINACIÓN DEL SUELO: UNA REALIDAD OCULTA.*

Sánchez Barrón, G. (2016). *Ecotoxicología del cadmio: riesgo para la salud de la utilización de suelos ricos en cadmio.*

Sánchez, N. (2018). Modelos cinéticos de adsorción de Cadmio en suelos de Venezuela. *Ingeniería Industrial. Actualidad y Nuevas Tendencias*, 6, 63–72.

[https://www.redalyc.org/journal/2150/215058535005/html/#redalyc\\_215058535005\\_ref](https://www.redalyc.org/journal/2150/215058535005/html/#redalyc_215058535005_ref)

5

Sánchez, N., Subero, N., & Rivero, C. (2011). Determination of the adsorption of cadmium by adsorption isotherms in agricultural soils venezuelans. *Acta Agronómica*, 190–197. [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-28122011000200011&lng=en&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-28122011000200011&lng=en&tlng=es).

sen Gupta, S., & Bhattacharyya, K. G. (2011). Kinetics of adsorption of metal ions on inorganic materials: A review. In *Advances in Colloid and Interface Science* (Vol. 162, Issues 1–2, pp. 39–58). <https://doi.org/10.1016/j.cis.2010.12.004>

Sharma, S., Tiwari, S., Hasan, A., Saxena, V., & Pandey, L. M. (2018). Recent advances in conventional and contemporary methods for remediation of heavy metal-contaminated soils. *3 Biotech*, *8*(4), 216. <https://doi.org/10.1007/S13205-018-1237-8>

Simonin, J. P. (2016). On the comparison of pseudo-first order and pseudo-second order rate laws in the modeling of adsorption kinetics. *Chemical Engineering Journal*, *300*, 254–263. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.04.079>

Soto, C., Gutiérrez, S., Rey-León, A., & González-Rojas, E. (2010). *Biotransformación de metales pesados presentes en lodos ribereños de los ríos Bogotá y Tunjuelo*. <http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar/Actualizaciones/metales/metales>.

Su, Y., Adeleye, A. S., Keller, A. A., Huang, Y., Dai, C., Zhou, X., & Zhang, Y. (2015). Magnetic sulfide-modified nanoscale zerovalent iron (S-nZVI) for dissolved metal ion removal. *Water Research*, *74*, 47–57. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.02.004>

Tessier, A., & Campbell, P. G. (1979). Tessier, A., & Campbell, P. G. Sequential extraction procedures for the speciation of particulate trace metals. *Analytical Chemistry*, *55*, 844–851.

TULSMA. (2017). *TEXTO UNIFICADO DE LEGISLACION SECUNDARIA DE MEDIO AMBIENTE*. [www.lexis.com.ec](http://www.lexis.com.ec)

Unión Europea-UE. (2014). Regulation No. 488/2014. They modify EC Regulation No 1881/2006 regarding the maximum content of cadmium in food products. *Inf. Téc. Official Journal of the European Union*.

USDA. (1999). *Guía para la Evaluación de la Calidad y Salud del Suelo*.

van Vliet, J. A., Slingerland, M., & Giller, K. E. (2015). *Mineral Nutrition of Cocoa A Review*. <https://www.researchgate.net/publication/283398075>

Vasarevičius, S., Danila, V., & Januševičius, T. (2020). Immobilisation of Cadmium, Copper, Lead, and Nickel in Soil Using Nano Zerovalent Iron Particles: Ageing Effect on Heavy Metal Retention. *Water, Air, and Soil Pollution*, 231(10). <https://doi.org/10.1007/s11270-020-04864-9>

Wang, J., Fang, Z., Cheng, W., Yan, X., Tsang, P. E., & Zhao, D. (2016). Higher concentrations of nanoscale zero-valent iron (nZVI) in soil induced rice chlorosis due to inhibited active iron transportation. *Environmental Pollution*, 210, 338–345. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.01.028>

Wang, T., Liu, Y., Wang, J., Wang, X., Liu, B., & Wang, Y. (2019). In-situ remediation of hexavalent chromium contaminated groundwater and saturated soil using stabilized iron sulfide nanoparticles. *Journal of Environmental Management*, 231, 679–686. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.10.085>

Wessel, M. (1971). *Fertilizer requirements of cacao (Theobroma cacao L.) in South-Western Nigeria*. <https://www.researchgate.net/publication/319290306>

Xue, W., Huang, D., Zeng, G., Wan, J., Cheng, M., Zhang, C., Hu, C., & Li, J. (2018). Performance and toxicity assessment of nanoscale zero valent iron particles in the remediation of contaminated soil: A review. In *Chemosphere* (Vol. 210, pp. 1145–1156). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.07.118>

## Anexos