

REVISTA CIENTÍFICA ION-CQ Vol. 1 No. 2 Año (2024)

ISSN: 3028-8967





Determinación de metales pesados en los cultivos de cacao (theobroma cacao)

Determination of heavy metals in the cocoa crops (theobroma cacao)

Cabrera Casillas Daniel Oswaldo 1, Arévalo Illescas Doris Aracely2, Brian Escalante Vanessa Jazmin3

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo determinar la presencia de metales pesados en los cultivos de cacao (*Theobroma* cacao) en el pueblo la Esmeralda del Cantón Montalvo, utilizando el método de (ICP-MS). Los metales pesados son elementos químicos tóxicos que pueden acumularse en el suelo y ser absorbidos por las plantas. Para llevar a cabo el estudio, se recolectaron muestras de diferentes plantaciones en la zona, estas muestras se sometieron a un proceso de preparación y digestión para el análisis mediante el método de ICP-MS. Los resultados del análisis revelaron la presencia de varios metales pesados en los cultivos de cacao, dichos valores obtenidos se expresan en miligramos por kilogramo (mg/kg) de muestra: Cadmio (Cd): 0.3788 mg/kg, Plomo (Pb): <0.066 mg/kg, Arsénico (As): <0.250 mg/kg, Níquel (Ni): 1.1702 mg/kg, el níquel fue identificado con una concentración significativamente alta en los cultivos de cacao, mientras que los niveles de plomo, cadmio y arsénico se encontraron por debajo de los límites de detección establecidos por el método de ICP-MS utilizado.

Palabras clave: Metales Pesados, Cacao, Theobroma Cacao, ICP-MS.

ABSTRACT

The objective of this research was to determine the presence of heavy metals in cocoa crops (Theobroma cacao) in the town of La Esmeralda in the Canton of Montalvo, using the (ICP-MS) method. Heavy metals are toxic chemical elements that can accumulate in the soil and be absorbed by plants. To carry out the study, samples were collected from different plantations in the area. These samples were subjected to a preparation and digestion process for analysis using the ICP-MS method. The results of the analysis revealed the presence of several heavy metals in the cocoa crops, these values obtained are expressed in milligrams per kilogram (mg/kg) of sample: Cadmium (Cd): 0.3788 mg/kg, Lead (Pb): < 0.066 mg/kg, Arsenic (As): <0.250 mg/kg, Nickel (Ni): 1.1702 mg/kg, nickel was identified with a significantly high concentration in cocoa crops, while lead levels, cadmium and arsenic were found below the detection limits established by the ICP-MS method used

Keywords: Heavy Metals, Cocoa, Theobroma Cacao, ICP-MS

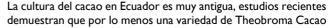
Received: Marzo 25/3/2024 **Accepted:** Marzo 25/3/2024

Diploma Superior en Gestión de Desarrollo de los Servicios de Salud; Magister en Gerencia de Servicios de Salud, Docente de la Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Guayaquil, Ecuador. Correo electrónico: daniel.cabrerac@ug.edu.ec Código Orcid: 0000-0001-9195-2549

Estudiante de la Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Guayaquil, Ecuador. Correo electrónico: doris.arevaloi@ug.edu.ec 2

Estudiante de la Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Guayaquil, Ecuador. Correo electrónico: vanessa.briane@ug.edu.ec 3







tiene su punto de origen en la Alta Amazonía y que ha sido utilizada en la región por más de 5,000 años. Ecuador se posiciona como el país más competitivo de América Latina en este campo, seguido de lejos por Venezuela, Panamá y México, que son países que poco a poco han incrementado su participación en el mercado mundial del cacao fino en grano (1).

El cacao absorbe ciertos metales pesados que se encuentran en el suelo y los almacena en diferentes partes de la planta y cantidades significativas en las semillas grasosas, su acumulación es una problemática para la salud humana, entre los metales de consideración se menciona el cadmio, plomo, níquel y arsénico, estos elementos potencialmente tóxicos están presentes en bajas concentraciones en el medio ambiente. La presencia de trazas de estos elementos proviene de fuentes naturales como el suelo y las erupciones volcánicas, y artificiales por el uso de fertilizantes y pesticidas en la industria agrícola, cuando existe elevada concentración la planta provocan un fenómeno llamado fitotoxicidad vegetal (2.3).

Según datos de la Organización Mundial de Salud (2022), la exposición al plomo causó 494, 550 muertes, la absorción en seres vivos es grave, debido a que provoca retraso del desarrollo mental e intelectual de los niños con una concentración aproximada de 3,5 µg/dl, distribuyéndose por el organismo hasta llegar al cerebro, hígado, riñones, etc. Este metal se encuentra de forma natural en la corteza terrestre, sin embrago en la actualidad procede gran parte del reciclaje (4). En este sentido, en algunos estudios realizados en países de Latinoamérica y África se han detectado altos niveles de plomo en el chocolate en polvo, sin embargo, se desconocen los niveles de estos metales en el chocolate en polvo de venta en Ecuador (5).

El Cadmio (Cd) es un elemento natural propio de la corteza terrestre, su exposición a niveles bajos a través del aire, agua, alimentos produce daño principalmente en los riñones, además de daño en los pulmones y fragilidad en los huesos, además de ser un posible cancerígeno (6). Este metal se acumula en los granos, se ha llegado a evidenciar tanto en la almendra como en el producto terminado (7), de acuerdo a estudios científicos la Contam concluyó que la exposición alimentaria tenía un elevado consumo en cadmio, por lo que en el año 2014 la Comisión Europea estableció la concentración máxima permitida, vigente desde 2019 (8).

Níquel (Ni) es un metal liberado en el ambiente por lo general en gran proporción, que absorbe las partículas del suelo, llegando a captarse por las plantas y llegar a los alimentos (9) la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (ESFA), detectó que, ante la exposición alimentaria por Níquel, los individuos pueden desarrollar reacciones cutáneas eritematosas, vesiculares y descamativas, además puede absorberse por vía respiratoria, atraviesa la barrera placentaria. Se atribuye a los plaguicidas utilizados en las plantaciones de cacao la contaminación del producto (10).

El arsénico de acuerdo a la Organización Mundial de la Salud es un elemento natural distribuido en la naturaleza (aire, agua y tierra), su forma inorgánica es tóxica a través del agua, cultivos y alimentos, además tiene alta movilidad en el suelo (11). Su intoxicación es rápida en el intestino, tiene efectos en la aparición y desarrollo de tumores malignos en la piel, lesiones cutáneas como queratosis (12).

Materiales y métodos

El estudio es de nivel exploratorio, bibliográfico, experimental con enfoque cuantitativo.

Materiales y equipos

Espectrofotómetro de plasma acoplado inductivo (ICP), balanza analítica triturador, estufa, centrífuga, horno digestor, material volumétrico. Asimismo, los reactivos específicos a utilizar: ácido nítrico (HNO3); peróxido de hidrogeno al 30% (H2O2); ácido sulfúrico (H2SO4); agua destilada (H2O); ácido clorhídrico (HCI).

Preparación de muestra

La muestra 500g de mazorcas frescas de cacao (Theobroma cacao), se recolecta y guarda en fundas ziploc y un envase de plástico, la misma debe refrigerarse para su almacenamiento por 24 horas y transportar para su análisis.





Figura I. Traslado y almacenamiento de la muestra al laboratorio

Método de digestión adaptado en bloque de digestión

Se pesa aproximadamente 2g en un tubo de capacidad de 50ml, adicionar 5ml en agua tipo 1, 4ml de HNO3 concentrado esperar 10 minutos y esperar; repetir el paso anterior una segunda vez; colocar 2ml de H2O2 al 30% (dividir en porciones de 0,5ml), esperar de 5 a 10 minutos por cada porción, y una hora hasta que reaccione totalmente la muestra; posterior agregar 10 ml HNO3 concentrado dejar reposar, llevar al bloque digestor 60°c +- 5°c calentar a reflujo por una hora, evaporar a 90°c hasta obtener 10 y 25 ml; enfriar, filtrar en matraz de 2ml, realizar una dilución mínima de 2x (5/10) para medir en el ICP.

Determinación de Metales pesados

Plomo, Cadmio, Níquel, arsénico mediante el método de espectrometría de masas con plasma de acoplamiento inductivo; este método combina un plasma de acoplamiento inductivo (ICP) con un espectrómetro de masas para la identificación y cuantificación de metales pesados (13).

Norma Técnica Ecuatoriana INEN 621:2010 Tercera revisión, para establecer límites permitidos en alimentos.

Norma del contenido máximo de determinados contaminantes en los productos Alimenticios Normativa Internacional Europea, Diario oficial de la Unión Europea Reglamento 1881/2006.

Cabe indicar que los análisis se realizaron al inicio de la plantación y al final de la misma, se excluyeron las pepas de cacao que presentaron mohos, hongos y coloración negra.

Resultados

En las plantaciones de cacao el uso de pesticidas y fertilizantes contribuyen a la presencia de metales pesados, los cuales tienen efectos negativos y representan un riesgo para la salud, estos se acumulan en tejidos, órganos y posteriormente transferirse a los granos de cacao, como se observa en la tabla I descripción del fruto del cacao descrito en el Manual Técnico de Cultivo de Cacao Buenas Prácticas para Latinoamérica (14).

Tabla I. Descripción morfológica el fruto del Cacao

Muestra Descripción

Fruto alargado, atenuado en la base, pericarpio moderadamente grueso, mesocarpio leñoso y delgado, semillas ovaladas o elípticas, cotiledones amarillos o blancosamarillentos

Fuente: Autores

Se encuentran clasificados los metales pesados como Hg, Cd, Pb en elementos no esenciales para las funciones metabólicas e incluidas en la lista de las 20 sustancias peligrosas por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos y la Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades, y el Ni, aunque un componente de la ureasa, tóxico a niveles excesivos (15).

Los granos de cacao son el elemento fundamental para la industria del chocolate en los que los contaminantes alimentarios deben ser analizados, por lo que, en un estudio de validación y determinación de metales pesados en granos de cacao, cacao en polvo, chocolate se encontró que los niveles de acumulación estaban fuera de toxicidad a excepción del Cadmio (16).

Tabla 2. Resultado de análisis de metales pesados Inicio de la plantación

Norma	Requisito	Paráme- tro	Valor permi-	Resultado
		Cadmio	tido 0,5mg/kg	0,3788 mg/kg
NTE INEN 621:2010 Tercera revisión	Esta norma establece los requisi- tos que de-	Plomo	15 mg/kg	< 0,066 mg/kg
	ben cumplir los chocola- tes	Arsénico	I mg/kg	< 0,250 mg/kg
		Níquel	I mg/kg	1,1702 mg/kg

Fuente: Autores

Se realizó el análisis de la cuantificación de metales pesados en dos ubicaciones del lugar de muestreo por lo que en primera instancia se observa en la tabla anterior los resultados del inicio de la plantación de cacao la cual lindera junto a la carretera, mediante ICP en lo que se demuestra que los analitos a investigar Cd, Pb y As se encuentran dentro de los límites permitidos, sin embargo, el Ni

se obtuvo una mayor cantidad de concentración 1,1702 mg/kg superando el rango de Img/kg, según el estudio realizado por Mohamed y otros en el año 2020, determinaron valores aceptables de Pb, As lejos de una concentración tóxica en materia prima, productos intermedios y finales (16), no obstante en un estudio anterior se encontraron cantidades altas de Pb y Cd en cacao en polvo a diferencia de los granos de cacao (17). También en una publicación sobre la presencia de metales pesados en productos derivados del cacao, se obtuvo que, de 11 muestras analizadas, 2 de ellas (18,2%) superaron los limites permisibles hasta 15 veces más para concentraciones para Pb, mientras que los 9 restantes se mantuvieron en los rangos permitidos (18).

Tabla 3. Resultado de análisis metales pesados final de la plantación

Norma	Requisito	Paráme- tro	Valor permi- tido	Resultado
		Cadmio	0,5mg/kg	0,2026 mg/kg
NTE INEN 621:2010 Tercera revisión	Esta norma establece los requisi- tos que de- ben cumplir los choco- lates	Plomo	15 mg/kg	< 0,066 mg/kg
		Arsénico	l mg/kg	< 0,250 mg/kg
		Níquel	l mg/kg	1,4740 mg/kg

Fuente: Autores

En los resultados de la tabla 3. al final de la plantación la cual lindera con un riachuelo y a su vez con fincas bananeras, se observa una disminución en las concentraciones de Cadmio 0,2026 mg/kg, y un aumento de Níquel en cantidad de 1,4740 mg/kg, superando los límites permitidos, de acuerdo a un estudio por Hassan 2019, al prevalecer niveles altos los efectos tóxicos para la plantación es reducción de fertilidad, además de las consecuencias a nivel de salud principalmente generación de polimorfismos y metilación del ADN (19). En otra investigación realizada en muestras de granos de cacao de plantación cacaotera del sector San Jacinto del cantón Montalvo, Los Ríos, en las que se estudiaron cinco parcelas, se obtuvo que 2 parcelas mostraron mayor cantidad 22,84mg/kg y 25,27 mg/kg, fuera del rango (19 mg/kg) para suelos del cultivo descritos según USDA y el Gobierno de China, debido a que su acumulación depende de una alta solubilidad y movilidad en los suelos (20).

Discusión

La cromatografía de masas con Plasma de Acoplamiento Inductivo es un método con alta sensibilidad y precisión (13), utilizada de manera amplia para la detección de iones de metales pesados de manera cuantitativa mediante un espectrómetro de masas, se basa en el acoplamiento de un método para generar iones (plasma acoplado inductivamente) y un método para separar y detectar los iones (espectrómetro de masas) (16).

El plomo investigado en nuestro estudio con una concentración por debajo de los limites aceptados < 0,066 mg/kg, en el inicio y fin de la plantación se debe a la baja movilidad y se acumulan en las raíces, en algunas ocasiones no penetran la endodermis de la raíz (21). En un estudio realizado en la provincia de los Ríos coinciden estos resultados sin existir diferencias evidentes, a pesar de que los agricultores cacaoteros utilicen de manera amplia el arseniato de plomo como pesticida (20).

En cambio, el arsénico con niveles < 0,250 mg/kg en nuestra investigación, se compara con un estudio realizado por Kayode y otros 2021, en el que su concentración puede variar de acuerdo a la situación geográfica, debido a su poca solubilidad y que las plantas lo absorben mediante la gradiente de concentración entre el suelo y la raíz, no obstante, los resultados se encuentran en los límites permitidos referentes a la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 621:2010 Tercera revisión, para establecer límites en alimentos (1mg/kg), (22)

El metal cadmio posee concentraciones de 0,3788 mg/kg al inicio y 0,2026 mg/kg al final de la plantación de estudio, ambas concentraciones aceptables, según la NTE INEN-CODEX 193:2013 ya que específica un límite de 0.5 mg/Kg, de acuerdo con Oumenskou en el año 2018 (23), sus concentraciones cambian por su facilidad de movilidad en el suelo, ser soluble en agua, pH ácido, aunque puede llegar a ser tóxico, en nuestra investigación, se mantuvo dentro de sus límites, en otra investigación realizada por Vanderschueren 2021, en cambio se demuestra su acumulación y alto contenido en los granos de cacao debido a su comportamiento químico y almacenamiento en la planta (24).

El níquel dentro de nuestro estudio fue considerado el metal más relevante, debido a sus altas cantidades encontradas en los diferentes análisis tanto al inicio de la plantación con un 1,1702 mg/kg y 1,4740mg/kg la final de la plantación, fuera de los rangos aceptados; en diferentes estudios se menciona que el Ni ²⁺, es la forma de encontrase en el suelo y que se atribuye el aumento de su concentración al pH, solubilidad y movilidad en los suelos, además que al unirse a la materia orgánica forman complejos móviles perjudiciales para la misma (25),

Referencias

- Zarrillo, S., Gaikwad, N., Lanaud, C. et al. El uso y la domesticación de Theobroma cacao durante el medio Holoceno en la Amazonía superior. Nat Ecol Evol [Internet]. 2018 [citado 24 marzo 2024]; 22: 1879-1888. Disponible en: https://doi.org/10.1038/s41559-018-0697-x
- Ordoñez-Araque. R, Lopez-Cortez, A., Casa-López, F., Landines-Vera E., y Fuentes, E. "Análisis de cadmio, plomo, níquel y arsénico en plantas de cacao y derivados: Industria Alimentaria", CienciAmérica [Internet]. 2020 [citado 24 marzo 2024]; 9(4): 107–114, Dec. 2020, doi: 10.33210/ca.v9i4.351.
- Zeeshan N., Nasir A. A., Haider F. U., Naveed K., Naseer S., Murtaza G. Evaluación del riesgo de la deposición de metales traza y crecimiento de Abelmochus esculentus L. en suelos industrialmente contaminados deFaisalabad, Pakistán. Pak. J. Agri. Sci [Internet]. 2021[citado 24 marzo 2024]; 58: 881-889. DOI: 10.21162/PAKJAS/21.409
- OMS. (2022, agosto). Intoxicación por plomo y salud. https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/lead-poisoning-and-health
- Abt, E., Fong Sam, J., Gray, P., & Robin, L. P. Cadmium and lead in cocoa powder and chocolate products in the US Market. Food Additives and Contaminants: Part B Surveillance [Internet]. 2018 [citado 25 marzo

- 2024];11(2);92–102. Disponible en: https://doi.org/10.1080/19393210.2017.1420700
- Colón-Ortiz, AJ. Estudio de metales pesados en el Lago de llopango. Ciencia, Cultura y Sociedad [Internet] 2017 [citado 25 marzo 2024]; 4(1). Disponible en: https://camjol.info/index.php/CCS/article/view/6020
- García L, Angulo-Castro F, eat all. Estudios globales sobre el cadmio en relación con Theobroma cacao: Un análisis bibliométrico desde Scopus (1996-2020). Scientia Agropecuaria [Internet]. 2021 [citado 05 abril 2024]; 12 (4). Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pi d=\$2077-99172021000400611
- Comisión Europea. Reglamento (UE) No 488/2014 [internet] 2014 [citado 06 abril 2024]. Diponible en: https://eurlex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/PDF/?uri=CE-LEX:32014R0488&qid=1712847972204
- Olivares-Arias V, Valverde-Som L, Quiros-Rodríguez V, García-Romero R, Muñoz N, Navarro-Alarcón M, Cabrera-Vique C. Níquel en alimentos y factores influyentes en sus niveles, ingesta, biodisponibilidad y toxicidad: una revisión. CyTA Journal of Food [Internet]. 2015 [citado 06 abril 2024]; 13(1); 87-101. Disponible en: https://doi.org/10.1080/19476337.2014.917383
- 10. González-Muñoz MJ, Berrada-Ramdani H, Daschner A, Gil-Izquierdo A, Pichardo-Sánchez S. Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre el riesgo asociado a la presencia de níquel en alimentos para población sensibilizada a este metal [Internet]. 2021 [citado 06 abril 2024]; 35. Disponible en: https://www.aesan.gob.es/AECO-SAN/docs/documentos/seguridad_alimentaria/evaluacion_riesgos/informes_comite/NIQUEL_ALIMENTOS.PDF
- Tierra, W, Otero XL., Ruales J, Maldonado–Alvarado P. Cadmio y arsénico en chocolate y arroz de Quito, Guayaquil y Cuenca –Ecuador. Bionatura [Internet]. 2018 [citado 10 abril 2024]; 1 (1). Disponible en: https://www.revistabionatura.com/files/CS-2018.01.01.12---Revista-bionatura.pdf
- Organización Mundial de la Salud. Arsénico [Internet]
 2022 [citado 10 abril 2024]. Disponible en: https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/arsenic
- 13. Balaram V, Rahaman W, Roy P. Avances recientes en las aplicaciones MC-ICP-MS en la Tierra y ciencias ambientales: Desafíos y soluciones. Geosistemas y Geoambiental [internet] 2022 [citado 10 abril 2024];1(2). Disponible en: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2772883821000194?via%3Dihub
- 14. Arévalo-Sánchez MA, González-León D, Maroto-Arce S, Delgado-López T, Montoya-Rodríguez P. Manual técnico del cultivo de cacao: prácticas latinoamericanas. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura [internet] 2017 [citado 10 abril 2024]. Disponible en: file:///C:/Users/Lenovo/Downloads/BVE17089191e.pdf
- Rai PK, Lee SS, Zhang M, Tsang YF, Kim KH. Heavy metals in food crops: Health risks, fate, mechanisms, and management. Environment International [Internet] 2019 [citado 12 abril 2024]; 125; 365-385. Disponible en: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0160412018327971
- 16. Mohamed R, Zainudin BH, Yaakob AS. Method validation and determination of heavy metals in cocoa beans and

- cocoa products by microwave assisted digestion technique with inductively coupled plasma mass spectrometry. Food Chemistry [internet] 2020 [citado 14 abril 2024]; 303. Disponible en: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125392
- Yanus RL, Sela H, Borojovich EJC, Zakon Y, Saphier M, Nikolski A, Gutflais E, Lorber A, Karpas Z. Trace elements in cocoa solids and chocolate: An ICPMS study. Talanta []internet] 2014 [citado 14 abril 2024]; 119; 1-4. Disponible en: https://doi.org/10.1016/j.talanta.2013.10.048
- 18. Matos-Moya V, García de la Rosa RD, Valdés-González AC, Fernández-Triana I, Hernández-Acuña M. Sobre la presencia de metales pesados en productos derivados del cacao. Revista Cubana de Alimentación y Nutrición [internet] 2022 [citado 16 abril 2024]; 32(1); 128-138. Disponible en: file:///C:/Users/Lenovo/Downloads/1349-3125-1-SM.pdf
- 19. Hassan, M, Chattha, M, Khan, I, Chattha, MB, Aamer, M, Nawaz, M, Ali A, Khan, MA, Khan TA. Nickel toxicity in plants: reasons, toxic effects, tolerance mechanisms, and remediation possibilities-a review. Environmental Science and Pollution Research International[internet] 2019 [citado 16 abril 2024]; 26(13); 12673–12688. Disponible en: https://doi.org/10.1007/S11356-019-04892-x
- Aguirre-Forero SE., Piraneque-Gambasica NV, Vásquez-Polo JR. Heavy metals content in soils and cocoa tissues in Magdalena department Colombia: emphasis in cadmium. Entramado [internet] 2022 [citado 16 abril 2024]; 16(2); 98-310. Disponible en: https://doi.org/10.18041/1900-3803/entramado.2.6753
- 21. Reis GS, De Almeida AA, De Almeida NM, De Castro AV, Mangabeira, PA, Pirovani, CP. Molecular, Biochemical

- and Ultrastructural Changes Induced by Pb Toxicity in Seedlings of Theobroma cacao L. PloS One [internet] 2015 [citado 16 abril 2024]; 10(7). Disponible en: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0129696
- Kayode, OT, Aizebeokhai AP, Odukoya, AM. Arsenic in agricultural soils and implications for sustainable agricultura. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science[internet] 2021 [citado 16 abril 2024]; 655(1): 1755– 1315. Disponible en: https://doi.org/10.1088/1755-1315/655/1/012081
- 23. Oumenskou, H, Baghdadi, M, Barakat, A, Aquit, M, Ennaji, W, Karroum, LA, Aadraoui, M. Assessment of the heavy metal contamination using GIS-based approach and pollution indices in agricultural soils from Beni Amir irrigated perimeter, Tadla plain, Morocco. Arabian Journal of Geosciences [internet] 2018 [citado 16 abril 2024];11(22); 1–18. Disponible en: https://doi.org/10.1007/S12517-018-4021-5
- 24. Vanderschueren R, Argüello D, Blommaert H, Montalvo D, Barraza F, Maurice L, Schreck E, Schulin R, Lewis C, Vazquez JL, Umaharan P, Chavez E, Sarret G, Smolders E. Mitigating the level of cadmium in cacao products.: Reviewing the transfer of cadmium from soil to chocolate bar. Science of the Total Environment. [internet] 2021 [citado 16 abril 2024];781. Disponible en: https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146779
- 25. Kumar O. Singh SK, Singh AP, Yadav SN, Latare AM. Effect of soil application of nickel on growth, micronutrient concentration and uptake in barley (Hordeum vulgare L.) grown in Inceptisols of Varanasi. Journal of Plant Nutrition. [internet] 2017 [citado 16 abril 2024]; 41(1);50–66. Disponible en: https://doi.org/10.1080/01904167.2017.1381724

5