

# UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

## FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS, BIOQUÍMICAS Y BIOTECNOLÓGICAS

### PROGRAMA PROFESIONAL DE INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA



“ESTUDIO DEL PROCESO DE BIOSORCIÓN DEL ENDOCARPIO DE ACEITUNA  
“*Olea europea*” PARA LA REMOCIÓN DE PLOMO (II) Y CADMIO (II) DE  
SOLUCIONES ACUOSAS”

Tesis Presentada por las Bachilleres:

**Salazar Pinto, Betty Marilia**  
**Zea Linares, Giuliana Vanesa**

Para optar el Título Profesional de:

**Ingeniero Biotecnólogo**

Asesor: José Villanueva Salas, PhD

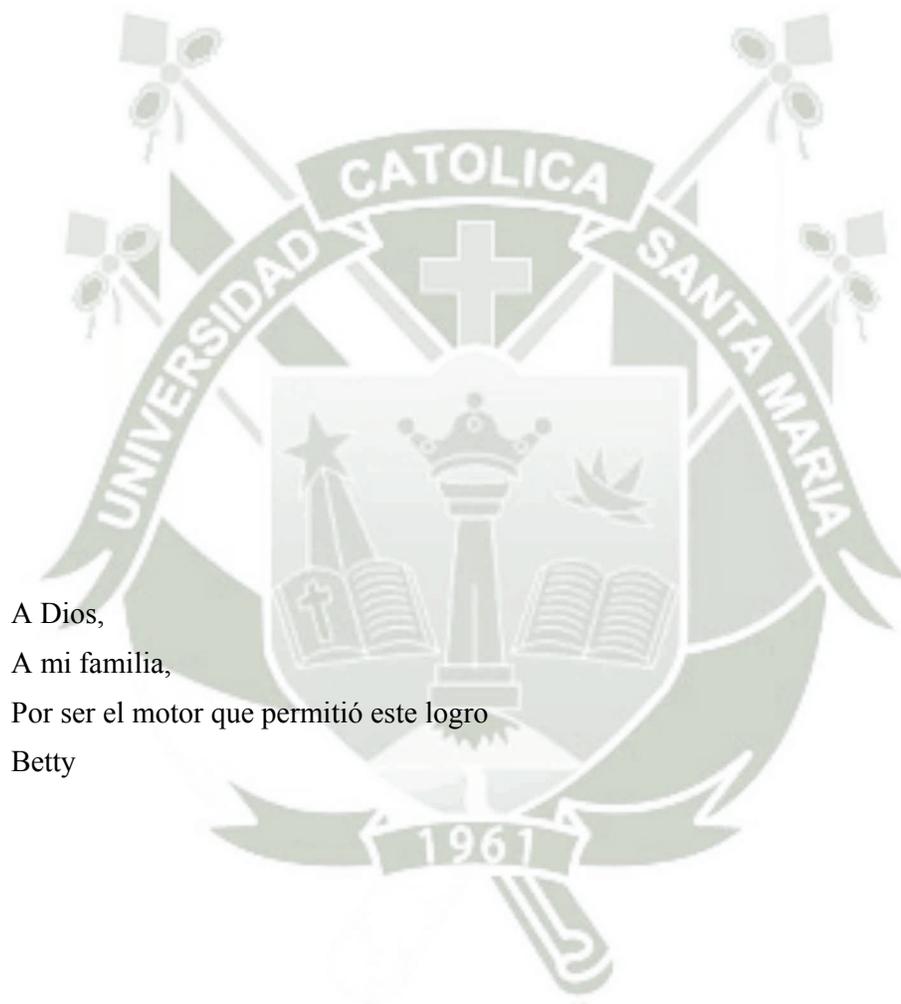
AREQUIPA – 2015

**DEDICATORIA:**

A Dios, por darme fe y constancia.

A toda mi familia, por su apoyo incondicional y su amor

Vanesa



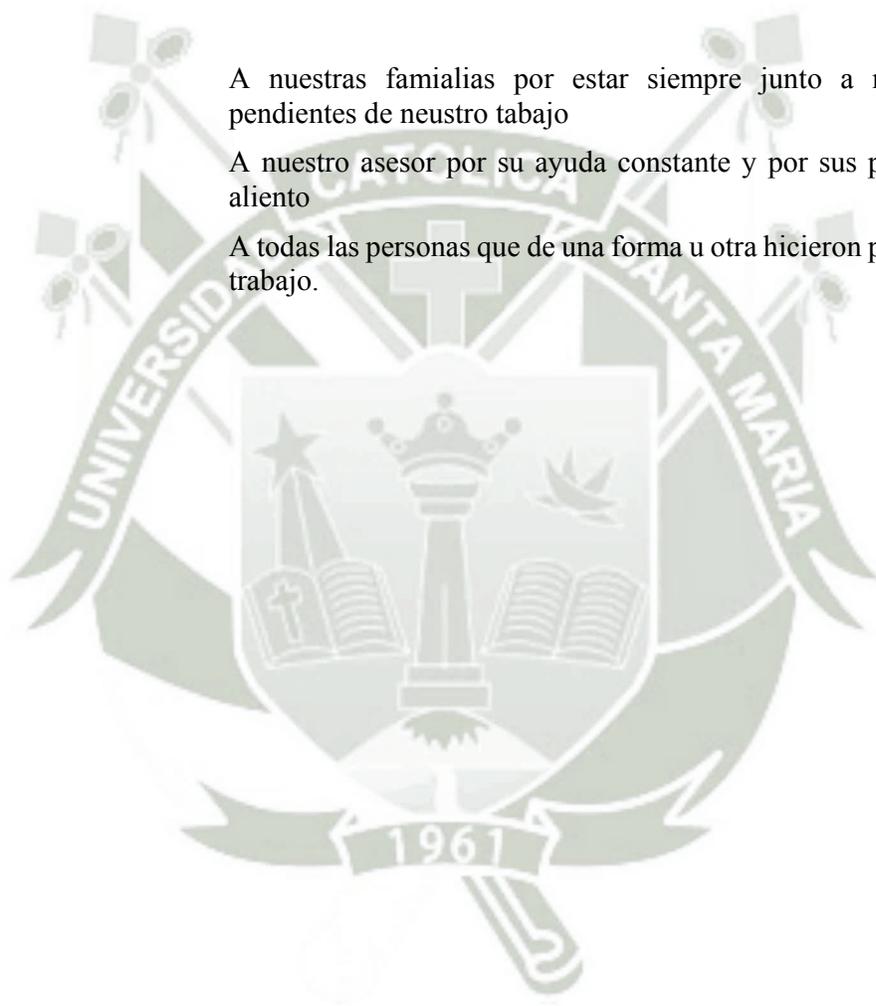
A Dios,  
A mi familia,  
Por ser el motor que permitió este logro  
Betty

**AGRADECIMIENTOS:**

A nuestras familias por estar siempre junto a nosotros y pendientes de nuestro trabajo

A nuestro asesor por su ayuda constante y por sus palabras de aliento

A todas las personas que de una forma u otra hicieron posible este trabajo.



## ÍNDICE

RESUMEN .....	1
ABSTRACT.....	3
INTRODUCCIÓN .....	5
HIPÓTESIS .....	8
OBJETIVOS .....	9
CAPÍTULO I .....	10
1    MARCO TEÓRICO .....	10
1.1. AGUA.....	10
1.1.1. Situación del agua en el Perú.....	10
1.2. METALES PESADOS .....	13
1.2.1. Cadmio.....	14
1.2.2. Plomo.....	16
1.3. BIOSORCIÓN.....	18
1.4. ACEITUNA.....	27
1.5. TÉCNICA ELECTROQUÍMICA: VOLTAMPEROMETRÍA.....	30
1.6. DISEÑO FACTORIAL .....	37
CAPÍTULO II .....	40
2    MATERIALES Y MÉTODOS.....	40
2.1. CAMPO DE INVESTIGACIÓN .....	40
2.1.1. Lugar de Experimentación.....	40
2.1.2. Unidades de Estudio .....	40
2.1.3. Estrategia de Recolección de Datos.....	40
2.2. MATERIALES .....	40
2.2.1. Reactivos Químicos .....	40

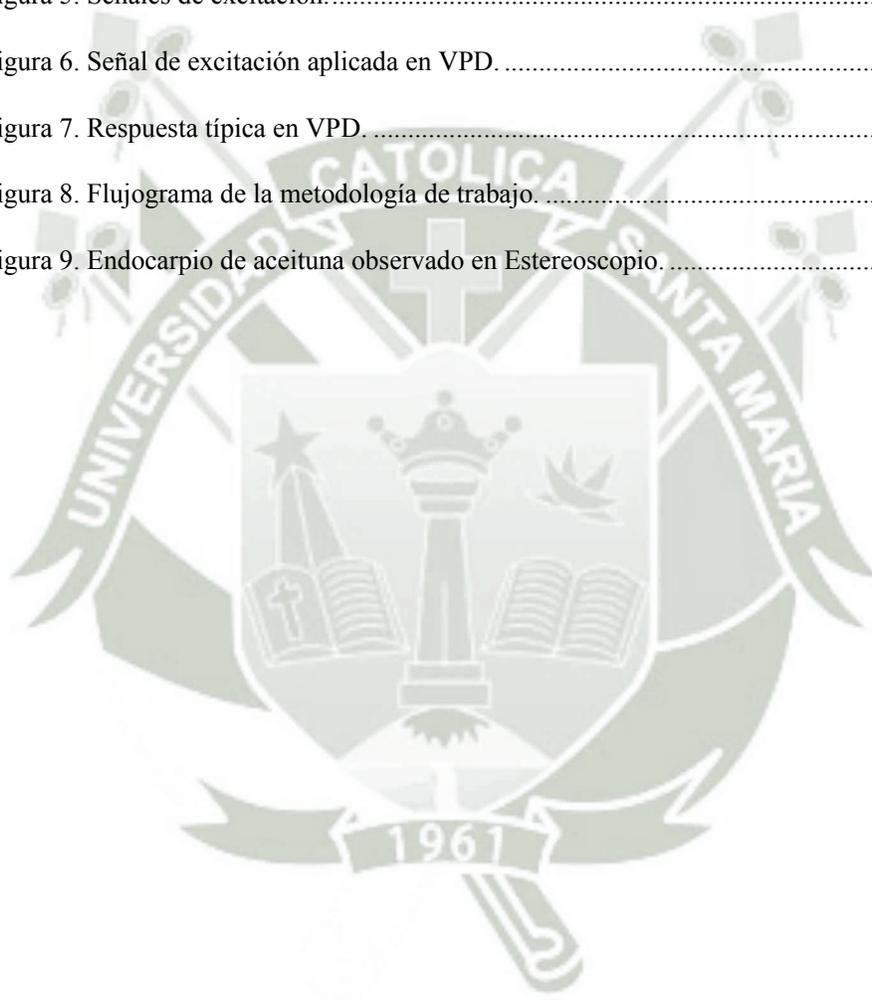
2.2.2. Instrumentación .....	41
2.2.3. Software.....	42
2.3. METODOLOGÍA.....	42
2.3.1. Procesamiento de la Muestra .....	44
2.3.2. Análisis Granulométrico.....	44
2.3.3. Pretratamiento de la Muestra .....	44
2.3.4. Preparación de Soluciones .....	45
2.3.5. Cinética de Biosorción.....	46
2.3.6. Ensayos de Biosorción.....	48
2.3.7. Análisis Voltamperométrico.....	48
2.3.8. Determinación de la Superficie Específica.....	49
2.3.9. Análisis Estadístico.....	50
CAPÍTULO III.....	55
3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	55
3.1. Procesamiento de la Muestra .....	55
3.2. Análisis Granulométrico.....	55
3.3. Pretratamiento de la Muestra .....	57
3.4. Preparación de Soluciones.....	57
3.5. Cinética de la biosorción .....	58
3.6. Ensayos de Biosorción.....	64
3.7. Análisis Voltamperométrico.....	65
3.8. Determinación de la Superficie Específica.....	70
3.9. Análisis Estadístico.....	71
CONCLUSIONES .....	98

RECOMENDACIONES.....	99
REFERENCIAS.....	100
ANEXOS .....	107



## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Toxicocinética del Cadmio.....	16
Figura 2. Metabolismo del Plomo.....	18
Figura 3. Microscopía electrónica del endocarpio de aceituna.....	29
Figura 4. Esquema del sistema de electrodos.....	32
Figura 5. Señales de excitación.....	33
Figura 6. Señal de excitación aplicada en VPD.....	34
Figura 7. Respuesta típica en VPD.....	34
Figura 8. Flujograma de la metodología de trabajo.....	43
Figura 9. Endocarpio de aceituna observado en Estereoscopio.....	56



## ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Gráfica Comparativa del proceso de biosorción para remover Cadmio (II) con 0,5 y 1 g de biosorbente. ....	60
Gráfica 2. Gráfica Comparativa del proceso de biosorción para remover Plomo (II) con 0,5 y 1 g de endocarpio de aceituna. ....	61
Gráfica 3. Gráfica del Porcentaje de Remoción de Cadmio (II) y Plomo (II) con buffer acetato 0,1 M. ....	64
Gráfica 4. Diagrama de pareto estandarizado para Cadmio (II). ....	73
Gráfica 5. Gráfica de efectos principales para Cadmio (II). ....	74
Gráfica 6. Gráfica de interacciones para Cadmio (II). ....	75
Gráfica 7. Diagrama de pareto estandarizado para Plomo (II). ....	76
Gráfica 8. Gráfica de efectos principales para Plomo (II). ....	78
Gráfica 9. Gráfica de interacciones para Plomo (II). ....	79
Gráfica 10. Diagrama de pareto estandarizado para modelo de segundo orden de Cadmio (II). ....	82
Gráfica 11. Gráfica mitad-normal para Cadmio (II). ....	84
Gráfica 12. Gráfica de efectos e interacciones para modelo de segundo orden de Cadmio (II). a) Gráfica de efectos principales, b) Gráfica de interacciones. ....	85
Gráfica 13. Gráficas de respuesta para modelo de segundo orden de Cadmio (II). a) Superficie de respuesta, b) Gráfica de contornos continuos, c) Gráfica de contornos por regiones. ....	87
Gráfica 14. Diagrama de pareto estandarizado para modelo de segundo orden de Plomo (II). ....	89
Gráfica 15. Gráfica mitad-normal para Plomo (II). ....	89
Gráfica 16. Gráfica de efectos e interacciones del modelo de segundo orden para Plomo (II). a) Gráfica de efectos principales, b) Gráfica de interacciones. ....	90
Gráfica 17. Gráficas de respuesta para modelo de segundo orden de Plomo (II). a) Superficie de respuesta, b) Gráfica de contornos continuos, c) Gráfica de contornos por regiones. ....	92
Gráfica 18. Gráfica de contornos superpuestos para Cadmio (II) y Plomo (II). ....	94

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Características químicas del endocarpio de aceituna.....	29
Tabla 2. Volumen de alícuota obtenido a intervalos de tiempo definido en el ensayo de Cinética de Biosorción.....	47
Tabla 3. Valores de las variables elegidas para la determinación del diseño factorial en el proceso de biosorción de Cadmio (II) y Plomo (II). .....	50
Tabla 4. Niveles de variables consideradas en el diseño factorial multinivel para el proceso de biosorción de Cadmio (II) y Plomo (II). .....	51
Tabla 5. Matriz de trabajo obtenida del diseño factorial multinivel, con todas las combinaciones posibles de los niveles de cada variable.....	52
Tabla 6. Niveles de variables consideradas en el diseño central compuesto (DCC) para la Optimización de Cadmio (II) y Plomo (II). .....	53
Tabla 7. Matriz de trabajo obtenida del diseño central compuesto con todas las combinaciones posibles de los niveles de cada variable.....	54
Tabla 8. Tamaño de partícula de las diferentes fracciones obtenidas en el análisis granulométrico.....	56
<b>Tabla 9. Cantidad adsorbida, porcentaje de remoción y capacidad de biosorción obtenidos en la cinética de biosorción para Cadmio (II) y Plomo (II) con 0,5 g de biosorbente utilizando buffer citrato 0,01 M.....</b>	<b>59</b>
<b>Tabla 10. Cantidad adsorbida, porcentaje de remoción y capacidad de biosorción obtenidos en la cinética de biosorción para Cadmio (II) y Plomo (II) con 1 g de biosorbente utilizando buffer citrato 0,01 M.....</b>	<b>59</b>
Tabla 11. Resultados y porcentaje de remoción obtenidos en la cinética de biosorción para Cadmio (II) y Plomo (II) con buffer citrato 0,1 M.....	62
Tabla 12. Resultados de la cinética de biosorción y porcentaje de remoción para Cadmio (II) y Plomo (II) con buffer acetato 0,1 M. ....	63
<b>Tabla 13. Resultados del análisis voltamperométrico para la biosorción de Cadmio (II) y Plomo (II) utilizando endocarpio de aceituna. ....</b>	<b>65</b>
Tabla 14. Resultados del análisis voltamperométrico para la biosorción de Cadmio (II) y Plomo (II) utilizando endocarpio de aceituna en base al pH utilizado.....	66
Tabla 15. Resultados del análisis voltamperométrico para la biosorción de Cadmio (II) y Plomo (II) utilizando endocarpio de aceituna en base a la Concentración Inicial utilizada. .	67

Tabla 16. Resultados del análisis voltamperométrico para la biosorción de Cadmio (II) y Plomo (II) utilizando endocarpio de aceituna en base al Pretratamiento utilizado. ....	68
Tabla 17. Resultados del análisis voltamperométrico para la biosorción de Cadmio (II) y Plomo (II) utilizando endocarpio de aceituna en base al tamaño de partícula utilizado. ....	69
<b>Tabla 18. Superficie específica de las fracciones de endocarpios pretratados. ....</b>	<b>70</b>
<b>Tabla 19. Nivel de significación en el modelo de primer orden para Cadmio (II). ....</b>	<b>72</b>
Tabla 20. Nivel de significación en el modelo de primer orden para Plomo (II). ....	76
Tabla 21. Resultados del análisis voltamperométrico para la optimización de la biosorción de Cadmio (II) y Plomo (II) utilizando endocarpio de aceituna utilizado la matriz de optimización. ....	80
Tabla 22. Resultados del análisis voltamperométrico para la optimización de la biosorción de Cadmio (II) y Plomo (II) utilizando endocarpio de aceituna en base al pH. ....	81
Tabla 23. Resultados del análisis voltamperométrico para la optimización de la biosorción de Cadmio (II) y Plomo (II) utilizando endocarpio de aceituna en base a la Concentración Inicial. ....	81
<b>Tabla 24. Nivel de significación para modelo de segundo orden de Cadmio (II). ....</b>	<b>82</b>
Tabla 25. Valores óptimos para la biosorción de Cadmio (II), por endocarpio de aceituna pretratado. ....	88
Tabla 26. Nivel de significación para el modelo de segundo orden de Plomo (II). ....	88
Tabla 27. Valores óptimos para la biosorción de Plomo (II) por endocarpio de aceituna pretratado. ....	93
Tabla 28. Valores óptimos para la biosorción para Cadmio (II) y Plomo (II), simultáneamente, sobre endocarpio de aceituna pretratado. ....	93
Tabla 29. Resultados de la cantidad máxima adsorbida para el sistema dual y sistemas independientes de Cadmio (II) y Plomo (II) utilizando endocarpio de aceituna pretratado. .	95
Tabla 30. Modelamiento teórico para Cadmio (II). ....	96
Tabla 31. Modelamiento teórico para Plomo (II) ....	97

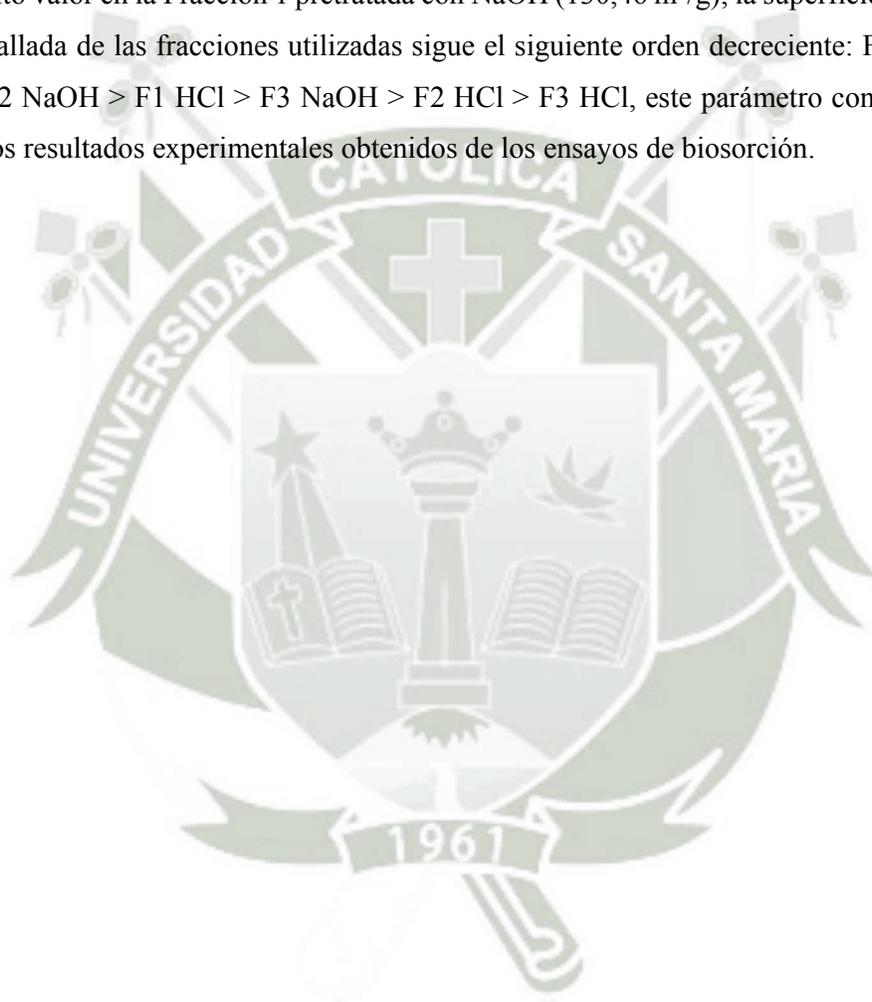
## ABREVIATURA

km <sup>3</sup>	: Kilómetros cúbicos.
MINAG	: Ministerio de Agricultura y Riego.
LMP	: Límites Máximos Permisibles.
MINEM	: Ministerio de Energía y Minas.
DS	: Decreto Supremo.
EIA	: Evaluación del Impacto Ambiental.
PAMA	: Programa de adecuación y Manejo Ambiental.
ECA	: Estándares de Calidad Ambiental.
OMS	: Organización Mundial de la Salud.
VMA	: Valores Máximos Admisibles.
g/cm <sup>3</sup>	: Gramos por centímetro cúbico.
m <sup>2</sup> /g	: Metros cuadrados por gramo.
-SH	: Grupos tiol.
SNC	: Sistema Nervioso Central.
BET	: Isoterma de adsorción de Brunauer, Emmet y Teller.
pKa	: Constante de Disociación ácida.
Cr	: Cromo.
Cd	: Cadmio.
Pb	: Plomo.
IUPAC	: Unión Internacional de Química Pura y Aplicada.
nm	: Nanómetros
Å	: Amstrong Medida de longitud.
AgCl	: Cloruro de Plata
mV	: milivoltios. Unidad de Voltaje.
ASV	: Voltamperometría de Redisolución Anódica.
CSV	: Voltamperometría de Redisolución Catódica.
MRS	: Metodología de Superficie de Respuesta.

## RESUMEN

En el presente trabajo de investigación se utilizó endocarpio de aceituna triturado, separado en distintas fracciones según su tamaño: Fracción 1 (75-150  $\mu\text{m}$ ), Fracción 2 (150-425  $\mu\text{m}$ ), Fracción 3 (425  $\mu\text{m}$ -1,8 mm) y su pretratamiento: NaOH y HCl con el fin de estudiar la biosorción de Cadmio (II) y Plomo (II) en soluciones acuosas con concentraciones iniciales conocidas (rango entre 31,70 y 88,30 ppm) a distintos pH (rango entre 3,20 y 6,10) y así, determinar los valores óptimos de las variables utilizadas bajo las cuales es probable que exista un mayor porcentaje de remoción tanto de Plomo (II) como de Cadmio (II). Primero se realizó ensayos de cinética para conocer el tiempo en el cual se alcanza el equilibrio, obteniéndose un tiempo de 40 min; en los primeros 10 min se logró una remoción de 50 % aproximadamente tanto para Cadmio (II) como para Plomo (II) y, a medida que transcurrió el ensayo se alcanzó un 60 y 80 % de remoción respectivamente; a partir de este tiempo (40 min) no se observó mayor biosorción. También se realizó un diseño factorial multinivel para la evaluación de los 4 factores o variables de interés (pH, concentración inicial, pretratamiento y tamaño de partícula) con el fin de fijar la zona donde se encuentren los mejores resultados y a partir de ésta se diseñó una matriz de optimización que permitió conocer los valores óptimos de los 4 factores evaluados en los cuales hay una mayor remoción tanto de Cadmio (II) como de Plomo (II); las concentraciones fueron determinadas mediante mediciones voltamperométricas. Luego, se realizó un análisis estadístico de los resultados obtenidos tanto de la matriz de diseño experimental como de la matriz de optimización mediante el software Statgraphics Centurion XV versión 15,2 que permitió conocer que la Fracción 1 y el pretratamiento de NaOH favorecieron una mayor biosorción; asimismo, se observó una mayor biosorción a mayor pH y mayor concentración inicial, obteniéndose un alto grado de remoción a pH 6,10 y 88,30 ppm (22,65 y 42,75 ppm de Cadmio (II) y Plomo (II)). Por otro lado, se realizó un ensayo para evaluar la competición entre Cadmio (II) y Plomo (II) utilizando los valores óptimos encontrados para cada una de las variables investigadas (concentración 88,30 ppm, Fracción 1, pretratamiento con NaOH, y pH 6,10) y se determinó que cuando sólo está presente uno de los iones metálicos (Cadmio (II) o

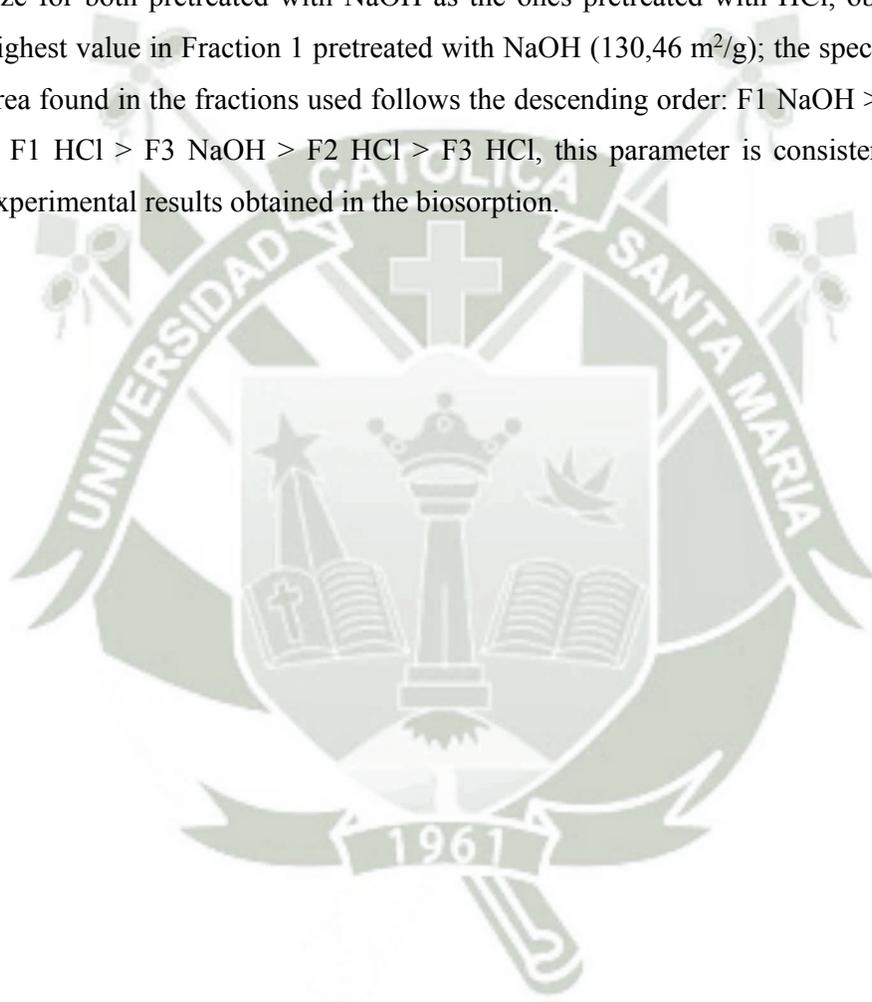
Plomo (II)) existe una mayor biosorción (42,75 y 65,25 ppm respectivamente), lo que permitió inferir que posiblemente haya competición pero ésta no inhiba la biosorción en el endocarpio de aceituna cuando ambos se encuentran presentes en la solución a tratar. Finalmente, se determinó la superficie específica mediante el método de azul de metileno en cada una de las fracciones utilizadas con su respectivo pretratamiento y se observó mayor superficie específica en las fracciones de menor tamaño de partícula tanto para las pretratadas con NaOH como las pretratadas con HCl, obteniendo el más alto valor en la Fracción 1 pretratada con NaOH (130,46 m<sup>2</sup>/g); la superficie específica hallada de las fracciones utilizadas sigue el siguiente orden decreciente: F1 NaOH > F2 NaOH > F1 HCl > F3 NaOH > F2 HCl > F3 HCl, este parámetro concuerda con los resultados experimentales obtenidos de los ensayos de biosorción.



## ABSTRACT

In the present investigation, olive stone separated into different size fractions: Fraction 1 (75-150  $\mu\text{m}$ ), Fraction 2 (150-425  $\mu\text{m}$ ), Fraction 3 (425  $\mu\text{m}$ -1,8 mm) and pretreatment NaOH and HCl was used in order to study the biosorption of Cadmium (II) and Lead (II) in aqueous solutions with different initial concentrations (range between 31,70 and 88,30 ppm) and pH (range 3,30 and 6,10) with the objective of finding the optimal values of the variables used under which there is probably a higher removal percentage of both Lead (II) and Cadmium (II). First kinetic assays were conducted to know the time at which equilibrium is reached, obtaining a 40-min time, in which the first 10 min there was a removal of approximately 50 % for both Cadmium (II) and Lead (II), as time went by during the test, 60 and 80 % removal was reached respectively; from this time (40 min) it was observed no greater biosorption. A multi-level factorial design was also performed to evaluate the 4 factors or variables of interest (pH, concentration, particle size and pre-treatment) in order to secure the area where the best results are found and from this, an optimization matrix was designed that allowed to know the optimal values of the 4 factors evaluated in which there is a greater removal of both Cadmium (II) and Lead (II); concentrations were determined by voltammetric measurements. Then, a statistical analysis of the results obtained with the experimental design matrix and optimization matrix was carried out with Statgraphics Centurion XV software (version 15, 2), these envisioned that Fraction 1 with a pre-treatment with NaOH allowed a greater biosorption; also, it was observed that at higher pH (6,10) and initial concentration (88,30 ppm), a greater removal was obtained reaching 22,65 and 42,75 ppm of Cadmium and Lead removed. Furthermore, when performing an assay to evaluate the competition between Cadmium (II) and Lead (II) using the optimal values of each of the investigated variables (concentration 88,30

ppm, pretreatment with NaOH, pH 6,10 and Fraction 1), it was determined that when just one of these metal ions are present (Cadmium (II) or Lead (II)) there is a greater biosorption (42,75 and 65,25 ppm respectively), which allowed to infer that there possibly is competition but this does not inhibit the biosorption whit olive stone when both are present in the solution to be treated. Finally, the specific surface area in each of the fractions used with their respective pretreatment was determined by methylene blue method, the highest specific surface was observed in fractions of smaller particle size for both pretreated with NaOH as the ones pretreated with HCl, obtaining the highest value in Fraction 1 pretreated with NaOH (130,46 m<sup>2</sup>/g); the specific surface area found in the fractions used follows the descending order: F1 NaOH > F2 NaOH > F1 HCl > F3 NaOH > F2 HCl > F3 HCl, this parameter is consistent with the experimental results obtained in the biosorption.



## INTRODUCCIÓN

La repentina introducción de compuestos químicos xenobióticos o la reubicación masiva de materiales naturales en diferentes compartimientos ambientales, con frecuencia puede abatir la capacidad de autolimpieza de los ecosistemas receptores y; por lo tanto, dar como resultado la acumulación de contaminantes a niveles problemáticos y hasta perjudiciales. Se hace necesario acelerar la eliminación de los contaminantes para remediar los problemas existentes y disminuir el impacto de incidentes futuros mediante el control del ingreso de contaminantes<sup>1</sup>.

El agua es vida y contar con agua de calidad es un derecho. La contaminación del agua por metales pesados es, en la actualidad, una preocupación de magnitud mundial por los daños medioambientales que puede provocar y, por representar un gran riesgo para la salud humana y el equilibrio de los ecosistemas. Los metales pesados presentan una alta toxicidad, incluso a bajas concentraciones, son bioacumulables y no biodegradables.

Estos afectan de dos maneras las funciones metabólicas<sup>2</sup>:

1. Se acumulan y afectan las funciones en órganos vitales y glándulas como el corazón, cerebro, riñones, etc.
2. Desplazan minerales nutricionales de su lugar de origen y dificultan de esta forma su función biológica.

Este problema surge como resultado de la actividad humana, sobre todo de la industria, agricultura y minería; siendo los recursos hídricos el destino de descarga de los efluentes y la vía más rápida para su propagación.

El desarrollo industrial genera continuamente residuos de todo tipo, y así como algunos pueden ser un problema, otros pueden ser la solución; por ejemplo, un plan de gestión de residuos en empresas agroindustriales debería tener como objetivo convertir estos residuos en recursos. Tal es el caso de la extracción de aceite de oliva con el endocarpio (hueso) de aceituna como residuo, que es abundante y económico.

La industria olivarera está creciendo en el Perú, sobre todo en el sur. El departamento con mayor producción y cultivo de aceitunas destinadas a mercados internacionales es Tacna, seguido de Arequipa (Yauca y Caravelí principalmente). La oferta nacional e internacional se concentra generalmente en la aceituna negra (*Olea europea*), de color morado intenso, conocida popularmente como “botija”, cuya calidad es superior a las europeas y de otros competidores del hemisferio sur, dado que el Perú es uno de los pocos países en el mundo en donde las aceitunas se pueden dejar madurar totalmente en el árbol, antes de ser cosechadas, obteniéndose una aceituna negra natural de delicioso sabor y jugosa pulpa.

El aceite de oliva se obtiene mediante los métodos de presión en discontinuo o por el de centrifugación en continuo, en los que se producen tres fases: aceite (20 %), un residuo sólido (30 %) y un licor acuoso (50 %). El residuo sólido (orujo), que está constituido por la pulpa y los huesos del fruto, aceite y agua, se utiliza para la extracción de aceite y, cuando está agotado (orujillo o endocarpio), como combustible. Otros usos del orujo y del endocarpio son la alimentación animal y la producción de abonos orgánicos, compost, carbones activos y furfural<sup>3</sup> principalmente.

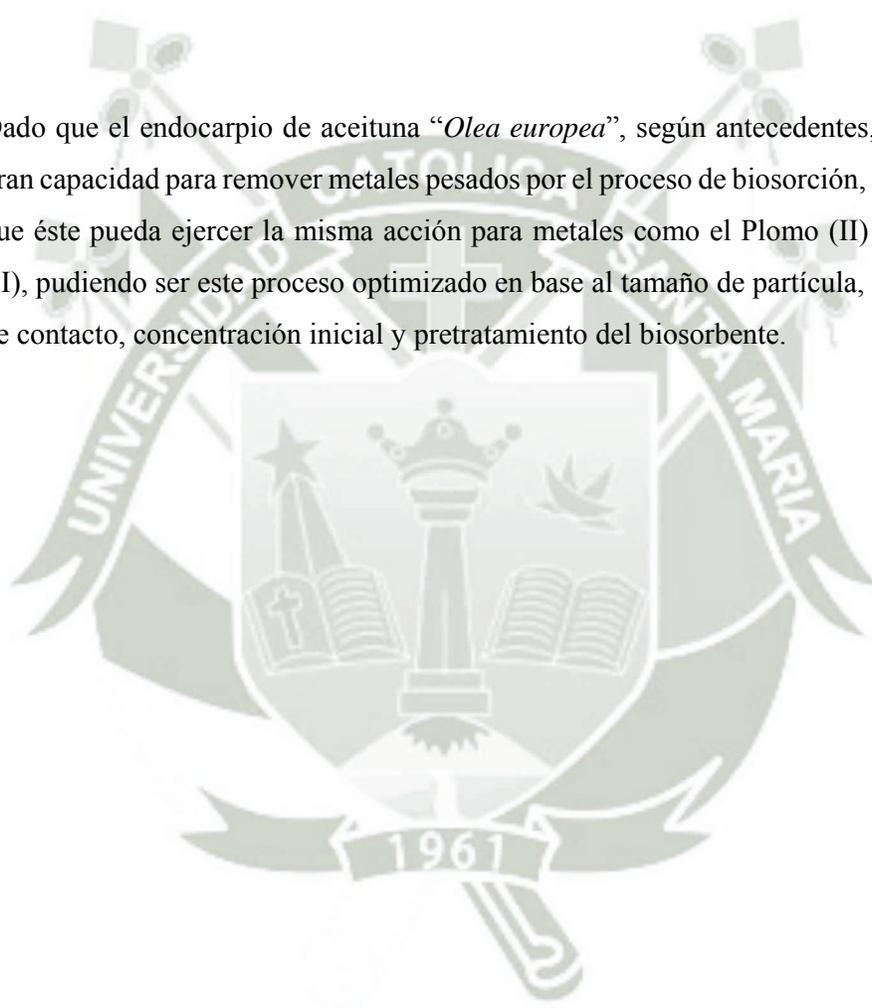
Estudios han demostrado que el endocarpio de aceituna posee una gran capacidad para retener iones metálicos, contenidos en una solución acuosa, en su superficie; lo que se conoce como biosorción. Éste es un proceso biológico de control ambiental, el cual consiste en la remoción de contaminantes basado en la propiedad de ciertos tipos de biomasa viva o inerte, a través de fenómenos físicos como adsorción, intercambio iónico o procesos metabólicos, por lo que puede ser un método preciso y selectivo, que requiere de pocos minutos de tratamiento; además, este proceso resulta ser altamente efectivo para la eliminación de especies metálicas<sup>4</sup>.

El objetivo principal de este trabajo es utilizar el proceso de biosorción mediante el uso del endocarpio de aceituna que es un residuo de bajo costo y fácil obtención para la remoción de Plomo (II) y Cadmio (II) de soluciones acuosas, como una alternativa de solución al problema de la contaminación del agua con metales pesados,



## HIPÓTESIS

Dado que el endocarpio de aceituna "*Olea europea*", según antecedentes, posee una gran capacidad para remover metales pesados por el proceso de biosorción, es probable que éste pueda ejercer la misma acción para metales como el Plomo (II) y Cadmio (II), pudiendo ser este proceso optimizado en base al tamaño de partícula, pH, tiempo de contacto, concentración inicial y pretratamiento del biosorbente.



## OBJETIVOS

### Objetivo General:

- Estudiar el proceso de biosorción del endocarpio de la aceituna “*Olea europea*” para la remoción de Plomo (II) y Cadmio (II) de soluciones acuosas.

### Objetivos Específicos:

- Establecer los valores óptimos de pH, tamaño de partícula y tiempo de contacto en soluciones preparadas con Cadmio (II) y Plomo (II) al ser tratadas con endocarpio de aceituna (*Olea europea*).
- Determinar la máxima cantidad adsorbida para ambos metales por diferencia entre la concentración final y la concentración inicial en soluciones acuosas.
- Proponer un modelamiento de la eficiencia del proceso y analizar los resultados en base a la Legislación Peruana contenida en los Decretos Supremos N° 002-2008-MINAM, N° 010-2010-MINAM y N° 261-69-AP, modificado por el N° 007-83-SA y N° 003-2003-SA.

## CAPÍTULO I

### 1 MARCO TEÓRICO

#### 1.1. AGUA

El agua es uno de los compuestos más abundantes en la naturaleza y uno de los bienes más importantes de todos seres vivos. Ésta cubre aproximadamente tres cuartas partes de la superficie terrestre. Además, sus propiedades únicas la hacen esencial para la vida y determinan su comportamiento químico en el ambiente.

A pesar de su aparente abundancia, aproximadamente 1460 millones de km<sup>3</sup>, varios factores limitan la cantidad de agua disponible para el consumo humano. Alrededor del 97,2 % de la provisión mundial de agua se encuentra en los océanos y el 2,8 % restante es agua dulce, pero más del 75 % de esta cantidad está encerrada en los bancos de hielo polares, en el suelo, en formaciones rocosas y en la atmósfera; lo cual deja menos del 25 % disponible como agua superficial y subterránea. Desgraciadamente, el acceso a más del 99 % de estas aguas no es fácil, y se depende del 0,6 % que está disponible (aproximadamente el 0,004 % de la cantidad total) para abastecerse de agua. Todo esto genera la necesidad de tener mayor cuidado en su aprovechamiento<sup>1</sup>.

##### 1.1.1. Situación del agua en el Perú

En el Perú, la protección de los recursos hídricos es regulada por la Ley General de Aguas (MINAG, 1969). Esta Norma faculta como autoridades competentes al Ministerio de Agricultura como ente encargado de la conservación e incremento de los recursos hídricos y al Ministerio de Salud en lo que respecta a la preservación de los mismos<sup>5</sup>.

El artículo 22 de la Ley de Aguas (MINAG, 1969), menciona que “...está prohibido verter o emitir cualquier residuo, sólido, líquido y gaseoso que pueda contaminar las aguas, causando daños o poniendo en peligro la salud humana o el normal desarrollo de la flora o fauna o comprometiendo su empleo en otros usos, siempre y cuando sean sometidos a tratamientos previos...”<sup>5</sup>.

En nuestra legislación, ya existe una normatividad (LMP) para los vertimientos en el sector Industria y Agricultura con respecto al agua. El primer sector que normó los LMP en los vertimientos fue el Ministerio de Energía y Minas (MINEM, 1993a). Además, el DS-016 (MINEM, 1996) obliga a presentar un EIA para operaciones nuevas o que amplíe su operación en más de 50 % y un PAMA para operaciones en marcha<sup>5</sup>. Los valores LMP de Cadmio (II) y Plomo (II), según las normativas existentes en la actualidad, se pueden observar en los Anexos I, II y III.

La Ley General del Ambiente (Ley 28611) (Congreso de la República, 2005) menciona cuatro aspectos importantes con relación al agua<sup>5</sup>:

- El Estado a través de las instituciones señaladas por la ley están a cargo de la protección de la calidad del recurso hídrico del país.
- Las empresas o entidades que realicen actividades extractivas, productivas, de comercialización u otras que generen aguas residuales o servidas, son responsables de su tratamiento, a fin de reducir sus niveles de contaminación hasta niveles compatibles con los LMP, los ECA y otros estándares de conformidad a las normas legales vigentes.
- El Estado peruano emite autorización de vertimientos para los residuos domésticos, industriales o de cualquier otra actividad, basándose en la capacidad de carga de los cuerpos receptores que no cause deterioro a la calidad de las aguas como cuerpo receptor, ni se efectúe su reutilización para otros fines.
- En cuanto no se establezcan en el país los LMP y los ECA para el control y protección ambiental, se harán referencia a los establecidos por instituciones

de derecho internacional como los de la Organización Mundial de la Salud (OMS).

El Límite Máximo Permissible (LMP) es la medida de la concentración o del grado de elementos, sustancias o parámetros físicos, químicos y biológicos, que caracterizan al efluente líquido de actividades minero-metalúrgicas, y que al ser excedida causa o puede causar daños a la salud, al bienestar humano y al ambiente. Su cumplimiento es exigible legalmente por el Ministerio del Ambiente y los organismos que conforman el sistema de gestión ambiental<sup>6</sup>. Es un instrumento de gestión ambiental destinado de manera directa e inmediata a controlar la contaminación y su impacto en los medios que sustentan la vida<sup>7</sup>.

Por otro lado, también es necesario regular las descargas de aguas residuales no domésticas en el sistema de alcantarillado sanitario, a fin de evitar el deterioro y asegurar el adecuado funcionamiento de los sistemas de alcantarillado sanitario y tratamientos de aguas residuales, garantizando la sostenibilidad del tratamiento de las aguas residuales, estableciendo y aprobando para este caso Valores Máximos Admisibles (VMA) en lugar de Límites Máximo Permisibles, pues estos últimos son parámetros de orden ambiental que se aplican a las descargas de efluentes en cuerpos receptores y tiene influencia en el ecosistema y el ambiente<sup>8</sup>. En el Anexo IV, se encuentran los VMA según normativa.

A nivel mundial los países en desarrollo dan tratamiento al 10 % del agua, esto significa que la inmensa mayoría del líquido se vierte a los cauces hídricos. Hay gran cantidad de procesos industriales en los cuales se utilizan metales pesados como materia prima, como: Plomo, Cadmio, Cobre, etc. Que no son aprovechados al máximo y que cuando son vertidos provocan altas pérdidas en el medio, e incluso al hombre<sup>9</sup>. Por tal motivo, entre los diversos contaminantes, los metales pesados se encuentran como unos de los más peligrosos y que más efectos medioambientales adversos ocasionan<sup>10</sup>.

## 1.2. METALES PESADOS

La denominación “metal pesado”, a pesar de ser controversial, por imprecisa, es empleada ampliamente en el ámbito científico. Los elementos comprendidos bajo esta denominación presentan como característica en común una elevada densidad. Según la definición más difundida, metal pesado es aquel elemento que tiene una densidad igual o superior a  $5 \text{ g/cm}^3$  cuando está en forma elemental, o cuyo número atómico es superior a 20 (excluyendo a los metales alcalinos y alcalino-térreos)<sup>11</sup>.

Dentro de los metales pesados se distinguen dos grupos<sup>11</sup>:

- **Oligoelementos o micronutrientes:**

Son aquellos requeridos en pequeñas cantidades, o cantidades traza, por plantas y animales, y son necesarios para que los organismos completen su ciclo vital. Pasado cierto umbral de concentración se vuelven tóxicos. Dentro de este grupo se encuentran: Arsénico, Boro, Cobalto, Cromo, Cobre, Molibdeno, Manganeso, Níquel, Selenio y Zinc.

- **Metales pesados sin función biológica conocida:**

Cuya presencia en determinadas cantidades en seres vivos lleva consigo disfunciones en el funcionamiento de sus organismos. Resultan altamente tóxicos y presentan la propiedad de acumularse en los organismos vivos. Ellos son, principalmente, Cadmio, Mercurio, Plomo, Antimonio y Bismuto.

Estos últimos afectan de dos maneras las funciones metabólicas<sup>12</sup>:

- Se acumulan y afectan las funciones en órganos vitales y glándulas como el corazón, cerebro, riñones, etc.
- Desplazan minerales nutricionales de su lugar de origen y dificultan de esta forma su función biológica.

Aun cuando se encuentren presentes en cantidades bajas e indetectables, la recalcitrancia y consiguiente persistencia de los metales pesados naturales como la

biomagnificación, conlleva a que su concentración pueda llegar a ser tan elevada que empieza a ser tóxica<sup>1</sup>.

Son contaminantes no biodegradables<sup>13</sup> y, el efecto tóxico que presentan no se debe solamente a sus características esenciales, sino también a las concentraciones y, lo más importante, al tipo de especie que forman en un medio concreto<sup>10</sup>.

### 1.2.1. Cadmio

Proviene del latín *cadmia* y del griego *kadmeia*, que significa “calamina”, nombre que recibía antiguamente el carbonato de Zinc. Fue descubierto en Alemania en 1817 por Friedrich Stromeyer como una impureza en el carbonato de Zinc<sup>14</sup>. Desde esa fecha rara vez se utilizó; hasta hace apenas unos 50 años que se le encontró aplicaciones metalúrgicas<sup>2</sup>.

Es un metal que no tiene función biológica esencial, pero que puede interferir con el desarrollo neurológico normal por diversos mecanismos. Se libera al medioambiente por la combustión de los combustibles fósiles, minería (procesamiento de metales más valiosos, como el Zinc y el Cobre)<sup>15</sup>, y fábricas de producción industrial, fangos de aguas residuales, fertilizantes con fosfatos, baterías de Níquel-Cadmio, pigmentos para elaborar tintes, uso en plásticos, entre otros. Se utiliza como pigmentos en 9 %; en galvanización y electrodeposición en 7 % y como estabilizador de plásticos en 1,2 %<sup>16</sup>. En el agua se encuentra con un estado de oxidación de +2. Es altamente tóxico y tiene efectos bien establecidos en los riñones, los huesos y los pulmones; se tiene menos evidencia de sus efectos neurotóxicos, teratogénicos o alteradores del sistema endocrino<sup>15</sup>.

El Cadmio ingresa al organismo mediante el tracto respiratorio y digestivo utilizando transportadores para metales divalentes esenciales; en sangre es transportado mediante Metalotioneinas (MTs) que son proteínas ricas en cisteínas de bajo peso molecular con una gran capacidad para unirse a metales pesados mediante sus grupos -SH; que al llegar al riñón son transportadas dentro de las células de los túbulos proximales donde se bioacumulan<sup>17</sup>; siendo el complejo formado por el Cadmio y las metalotioneínas más tóxico para los túbulos renales que únicamente el Cadmio.

Una de las razones por las cuales tiene tantos efectos negativos en la salud, es debido a la similitud química que presenta el Cadmio (II) y el Zinc (II); así, el Cadmio (II) puede reemplazar al Zinc (II) en algunas enzimas, alterando la estereoestructura de la enzima y dañando su actividad catalizadora produciendo diversas enfermedades como tensión arterial alta, daños en el riñón, destrucción de tejido testicular y destrucción de glóbulos rojos<sup>18</sup>.

Presenta 4 características que lo hacen considerar altamente tóxico<sup>19</sup>:

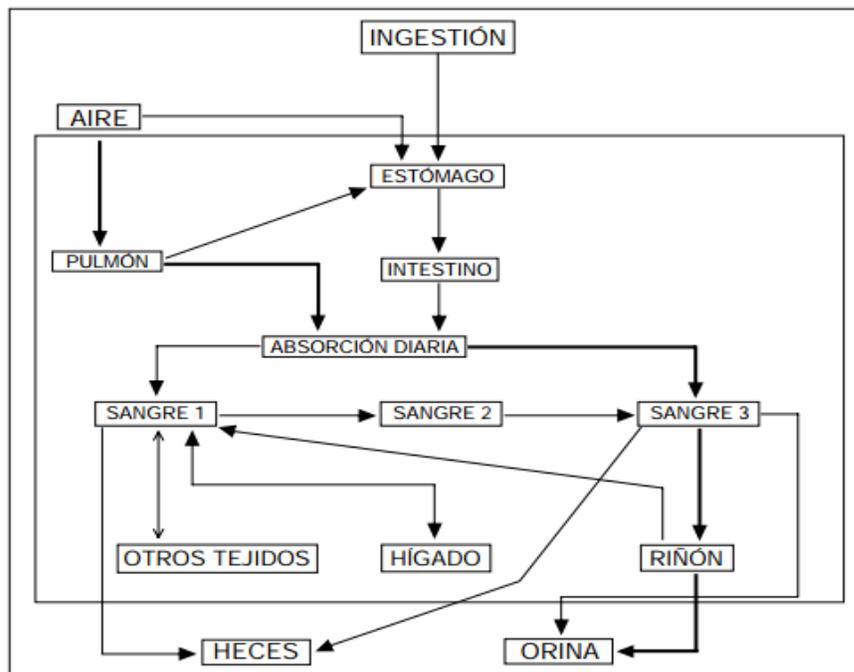
- 1) Efectos adversos para el hombre y medioambiente.
- 2) Produce bioacumulación.
- 3) Alta persistencia en el medioambiente.
- 4) Puede recorrer grandes distancias con el viento y en corrientes de agua.

La toxicidad del Cadmio depende de la concentración y el tiempo de exposición. Sin embargo, es importante resaltar que no existen reglas sobre el control de Cadmio en los artículos de uso diario y también el hecho de que ninguna organización internacional se pone de acuerdo en la cantidad de Cadmio exacta que provocaría daños a la salud a corto o largo plazo<sup>20</sup>.

En la Figura 1 se muestra la toxicocinética del Cadmio; la adsorción es relativamente lenta, de 14 días aproximadamente cuando la exposición es prolongada. La vía de ingreso se da mediante ingestión o inhalación, la fracción que pasa a la sangre sigue a través de 3 etapas:

- 1ra etapa: es un recambio rápido, no produce acumulación.
- 2da etapa: recambio medio, se acumula en pequeñas concentraciones en los glóbulos rojos.
- 3ra etapa: de recambio lento, donde una parte del Cadmio se une a las proteínas metalotioneínas y se deposita en los órganos blanco, principalmente riñón.

La vida media del Cadmio en el organismo total es de 30 a 40 años.



**Figura 1. Toxicocinética del Cadmio.**

Fuente: Toxicología del Cadmio. Conceptos actuales para evaluar exposición ambiental y ocupacional con indicadores biológicos. 2002.

### 1.2.2. Plomo

Es un metal pesado, ampliamente distribuido en la naturaleza, y su principal mineral es la galena. Es muy blando, denso y fusible. El Plomo forma muchas sales, óxidos y compuestos organometálicos. Industrialmente, sus compuestos más importantes son los óxidos de Plomo y el tetraetilo de Plomo. Éste además, forma aleaciones con muchos metales y, en general, se emplea de esta forma en la mayor parte de sus aplicaciones; todas las aleaciones formadas con Estaño, Cobre, Arsénico, Antimonio, Bismuto, Cadmio y Sodio tienen importancia industrial<sup>21</sup>.

Es un metal altamente tóxico que está presente de forma natural en la corteza terrestre y que se acumula en el organismo a nivel de diversos órganos, como el cerebro, hígado, riñones y huesos donde produce graves enfermedades. Las fuentes de contaminación

son diversas como explotación minera, metalurgia, uso de pinturas y combustibles con Plomo, entre otras<sup>22</sup>.

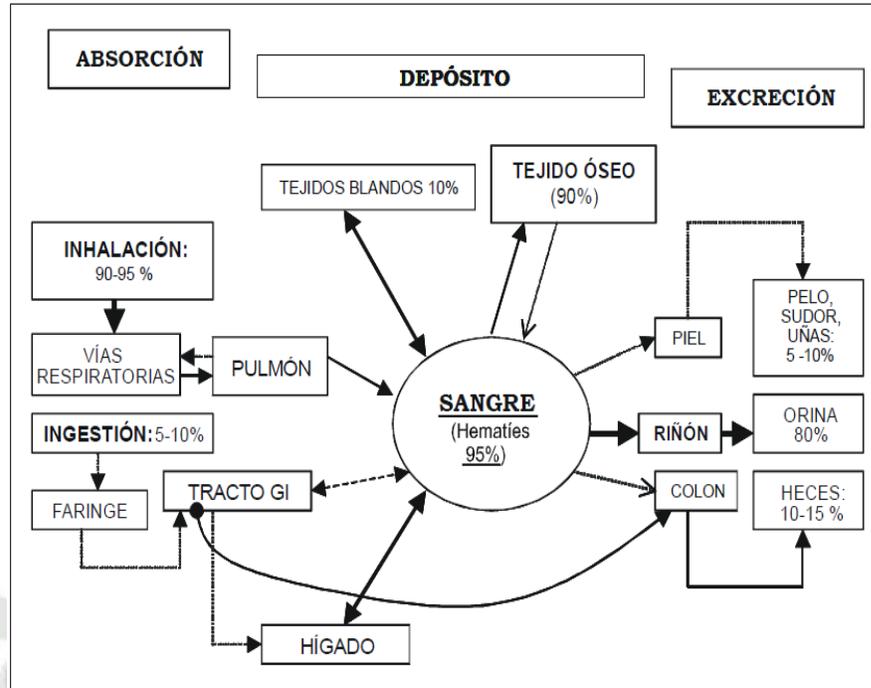
El Plomo actúa como agonista o antagonista del Calcio en el organismo y se relaciona con proteínas que contienen grupos sulfhidrilo, amina, fosfato y carboxilo<sup>23</sup>.

En bajas concentraciones, el Plomo altera al Calcio:

- Reemplazándolo y comportándose como un segundo mensajero intracelular, interfiriendo con la distribución de Calcio dentro de la célula.
- Activando la proteinasa C (enzima dependiente de Calcio) que interviene en distintos procesos intracelulares.
- Uniéndose a la calmodulina (proteína reguladora que normalmente se une al Calcio).
- Inhibiendo la bomba de Na-K-ATPasa, aumentando el calcio intracelular.

Estas alteraciones producen consecuencias en la neurotransmisión y el tono vascular. Además, en el desarrollo del SNC intrauterino, el Plomo influye sobre la estructura celular del cerebro y la química neuronal. Los efectos estructurales incluyen la alteración en la proliferación celular, en la diferenciación, formación de sinapsis y apoptosis celular<sup>21</sup>.

La toxicocinética del Plomo se describe en la Figura 2, éste puede ser inhalado y absorbido por el sistema respiratorio e ingerido o absorbido por el tracto gastrointestinal, a partir de allí el Plomo se distribuye en diferentes partes del organismo. Inicialmente éste circula en la sangre unido a los glóbulos rojos, distribuyéndose después en los tejidos blandos como hígado, riñón, médula ósea y sistema nervioso central donde producen diferentes enfermedades debido a su toxicidad; luego el Plomo (II) se propaga a los huesos donde no es tóxico pero éstos reflejan una exposición acumulativa<sup>24</sup>.



**Figura 2. Metabolismo del Plomo.**

Fuente: El cuadro clínico de la intoxicación ocupacional por Plomo. 2005.<sup>25</sup>

### 1.3. BIOSORCIÓN

El marco legal relativo a la cantidad de metales pesados permitidos en los vertidos de agua se encuentra, desde hace algunos años, en un continuo proceso de redefinición. Por ello, se hace necesario investigar el desarrollo de sistemas eficaces tanto desde el punto de vista ecológico como económico, en previsión de las necesidades futuras. Dentro de estos sistemas, la biosorción ha resultado ser una de las alternativas más atractivas ya que supone la revalorización de residuos vegetales que, en otro caso se incinerarían<sup>26</sup>.

La biosorción se plantea como una alternativa técnica y económicamente viable, tanto por su capacidad de depuración como por el moderado coste de operación que tiene y; así mismo, por ser considerada una tecnología “limpia” para la eliminación de metales pesados presentes en efluentes industriales<sup>27</sup>.

En general, es una técnica utilizada para remover metales pesados de soluciones acuosas por parte de una biomasa debido a la capacidad de acumular estos contaminantes mediante adsorción física, acomplejamiento e intercambio iónico<sup>28</sup>.

Este proceso de adsorción fisicoquímica donde los iones metálicos se unen a la superficie de la biomasa tiene 3 mecanismos de adsorción<sup>29</sup>:

- 1) Adsorción física por fuerzas electromagnéticas entre las moléculas del adsorbente y adsorbato, “Fuerzas de Van der Waals”; esto produce una condensación molecular donde el adsorbato permanece en la superficie o puede unirse irreversiblemente.
- 2) Adsorción química que produce liberación de calor y formación de una monocapa molecular del adsorbato; es mucho más fuerte que la adsorción química y por esto, puede llegar a ser irreversible.
- 3) Adsorción de Intercambio, producida por una atracción electrolítica entre iones de carga opuesta y en la mayoría de casos es reversible.

El proceso de biosorción involucra una fase sólida (biosorbente) y una fase líquida (solvente, que es normalmente el agua) que contiene las especies disueltas que van a ser adsorbidas (adsorbato, *e. g.* iones metálicos). Debido a la gran afinidad del biosorbente por las especies del adsorbato, este último es atraído hacia el sólido y enlazado por diferentes mecanismos. Este proceso continúa hasta que se establece un equilibrio entre el adsorbato disuelto y el adsorbato enlazado al sólido (a una concentración final o en el equilibrio). La calidad del biosorbente está dada por la cantidad del adsorbato que puede atraer y retener en forma inmovilizada<sup>1</sup>.

La remoción y recuperación de metales pesados en efluentes líquidos por el mecanismo de biosorción ha sido mencionado en varias publicaciones utilizando diferentes combinaciones de metales y biosorbentes. Sus ventajas, más evidentes en comparación con los métodos tradicionales, son<sup>30</sup>:

- Uso de materiales renovables que pueden ser producidos a bajo costo.
- Alta capacidad para acumular iones metálicos de manera eficaz y rápida.

- Capacidad de tratar grandes volúmenes de agua contaminada debido a la rapidez del proceso.
- Alta selectividad en relación a metales específicos.
- Capacidad de manipular varios metales pesados y mezclas de residuos.
- Gran reducción en el volumen de los residuos peligrosos producidos.
- Bajo capital invertido.
- Actúa bajo un amplio rango de condiciones fisicoquímicas incluyendo temperatura, pH y presencia de otros iones.

Mientras que los inconvenientes más importantes que pueden limitar su uso son la rápida saturación de la biomasa y que el secuestro de los metales por adsorción es sensible al pH.

### **1.3.1. Componentes del Proceso de Biosorción**

#### **1.3.1.1. Adsorbatos**

Pueden tener una naturaleza muy diversa, entre los que podemos citar materia orgánica, que cuando está en baja concentración se dificulta su eliminación por otro procedimiento, compuestos fenólicos, sustancias coloreadas y metales pesados<sup>31</sup>.

#### **1.3.1.2. Biosorbentes**

Son materiales naturales disponibles en grandes cantidades, o ciertos productos residuales de operaciones industriales o agrícolas, que pueden ser utilizados con el fin de capturar contaminantes, debido a su bajo costo. Algunos de los sólidos que han sido empleados son: cortezas y hojas de coníferas, cáscaras de arroz, nuez, cacahuete, cáscara de naranja, cáscara de plátano, cáscaras de toronja, algas, hongos, nopal, huesos de aceituna, etc.

Las paredes celulares de los materiales biosorbentes contienen polisacáridos, proteínas y lípidos y; por tanto, numerosos grupos funcionales capaces de enlazar metales pesados en la superficie de éstos. Entre los grupos funcionales presentes se puede

mencionar a los grupos amino, carboxilo, hidroxilo, fosfato y tiol que difieren en su afinidad y especificidad respecto a la susceptibilidad para unirse a los diferentes iones metálicos<sup>32</sup>. Por ejemplo, las algas marinas poseen en su superficie una alta cantidad de grupos funcionales como el carboxilo, hidroxilo, amina, imidazol, fosfato, sulfihidrido y sulfato, de los cuales es el carboxilo y sulfato los más activos durante la adsorción de metales<sup>33</sup>. Los grupos cargados negativamente como lo grupos carboxilo, hidroxilo y fosforilo presentes en los biosorbentes interaccionan mediante enlaces covalentes, interacciones redox, precipitación extracelular y fuerza de Van der Waals para adsorber cationes metálicos.

Los biosorbentes completamente *saturados* pueden concentrar metales pesados, en un orden que supera miles de veces el valor de su concentración en la fase líquida. La carga de la biomasa puede ser revertida con la finalidad de *desorber* los metales y varios estudios han demostrado que la elución con soluciones acuosas ácidas llega a ser altamente efectiva. La elución no reduce significativamente la capacidad de unión de la biomasa; así, se la puede emplear en varios ciclos consecutivos<sup>34</sup>.

En el uso de la biomasa inerte, ésta presenta una serie de ventajas entre las que se pueden citar:

- Independiente del crecimiento, ya que es una biomasa inerte por lo cual no necesita nutrientes.
- Resistente a la toxicidad.
- Proceso rápido y de mucha eficacia en la retirada de metales debido al comportamiento de la biomasa como intercambiador de iones.
- Recuperación posible y fácil de los metales.

#### 1.3.1.2.1. Técnicas de Modificación de Sorbentes<sup>35</sup>

Existen varios factores que pueden influenciar en la capacidad de adsorción de los biosorbentes como el área de superficie específica, distribución de tamaño de poro, volumen del poro y presencia de grupos funcionales en la superficie del biosorbente;

es por esto, que existen técnicas para la modificación de estas características con el fin de obtener mayores porcentajes de biosorción.

### A. Modificación de Características Químicas

#### a) Tratamiento Ácido

Ventajas	Desventajas
Aumenta los grupos funcionales ácidos en la superficie del carbón activado y aumenta las propiedades quelantes con los iones metálicos.	Puede disminuir el área de superficie BET y el volumen de poro.

#### b) Tratamiento Básico

Ventajas	Desventajas
Mejora la adsorción de compuestos orgánicos.	En algunos casos puede llegar a disminuir la adsorción de iones metálicos.

#### c) Impregnación de Material foráneo

Ventajas	Desventajas
Mejora la capacidad de oxidación catalítica intrínseca.	Puede disminuir el área de superficie BET y el volumen de poro.

Además de los mencionados, existen otros como lavado del biosorbente utilizando detergentes, tratamiento con compuestos orgánicos e inorgánicos como soda cáustica, metanol y formaldehído.

## B. Modificación de Características Físicas

### a) Calor

Ventajas	Desventajas
Aumenta el área de superficie BET y el volumen de poro.	Disminuye moléculas de oxígeno de los grupos funcionales que se encuentran en la superficie.

Además del calor, existen otros tratamientos físicos como calentamiento/ebullición, congelación/descongelación, secado, liofilización, vacío, disrupción mecánica, etc.

## C. Modificación de Características Biológicas

### a) Biosorción

Ventajas	Desventajas
Prolonga el tiempo de vida del carbón activado con la rápida oxidación de la materia orgánica por las bacterias antes que el material pueda ocupar el sitio de adsorción.	El grueso biofilm que encapsula el carbón activado puede impedir la difusión de las especies adsorbentes.

### 1.3.2. Factores que afectan al proceso de biosorción

#### 1.3.2.1. pH

El valor de pH de la fase acuosa es el factor más importante tanto en la biosorción de cationes como de aniones, siendo el efecto distinto en ambos casos. Así, mientras que la biosorción de cationes suele estar favorecida para valores de pH superiores a 4,5, la biosorción de aniones prefiere un valor bajo de pH, entre 1,5 y 4.

Para el proceso de biosorción del endocarpio de la aceituna, estudios realizados utilizaron un pH aproximado de 5 tal es el caso de Blázquez, *et al.* (2013)<sup>57</sup> quien consiguió la mayor remoción de Plomo (II) usando un pH de 5 y un hueso de aceituna tratado con NaOH. Por otro lado, Calero *et al.* (2010)<sup>50</sup> realizó el proceso de biosorción de Plomo(II) en un rango de pH de 3 a 6 encontrando una mayor respuesta a pH 5.

En cuanto al Cadmio, Alslaibi T.M. *et al.* (2013)<sup>58</sup> alcanzó el mayor porcentaje de remoción (95,32 %) a un pH de 5, igualmente Fiol N. *et al.* (2008)<sup>63</sup> determinó una mayor biosorción a un rango de pH entre 5 y 6.

Existen tres vías de influencia del pH en la biosorción del metal<sup>37</sup>:

- El estado químico del sitio activo podría cambiar con el valor del pH. Cuando el grupo de unión del metal es débilmente ácido o básico, la disponibilidad del sitio libre depende del pH. El logaritmo de la constante de disociación del ácido conjugado (pKa) podría ser uno de los parámetros clave para la determinación del pH óptimo para ocupar los sitios activos.
- Valores extremos de pH, como los empleados para la regeneración (desorción) del biosorbente, podría dañar la estructura del material. En este sentido, la distorsión de las células, la pérdida significativa de peso y el descenso en la capacidad de adsorción, son algunos de los efectos observados por diversos investigadores.
- La especiación del metal en solución depende del pH, ya que los metales en soluciones acuosas se encuentran como iones hidrolizados a pH bajos, especialmente aniones de metales de alta carga y pequeño tamaño.

### 1.3.2.2. Composición fisicoquímica del biosorbente y adsorbato

Esta composición no solamente influye en la biosorción sino en el tipo de mecanismo de la misma; un biosorbente poroso ofrece más superficie y variedad de poros para adsorber varios tipos de adsorbatos. Sin embargo, si se trata de un biosorbente menos poroso y su superficie tiene grupos funcionales, en este caso las interacciones del biosorbente con el adsorbato no son de tipo físico ya que pueden dominar otros mecanismos como el intercambio iónico o la complejación<sup>31</sup>.

### 1.3.2.3. Presencia de otros iones

La presencia de otros iones en disolución hace que éstos puedan competir con el metal de interés por los sitios de unión, pudiendo disminuir la retención del mismo.

Generalmente, en la biosorción de cationes, los iones de metales ligeros se unen menos fuertemente que los iones de metales pesados.

Sin embargo, el estudio del intercambio de aniones establece que la selectividad del sólido podría aumentar por la concurrencia de mayores valencias, con el menor volumen equivalente y mayor polarizabilidad, e interaccionando más fuertemente con los grupos iónicos en la matriz y participando menos en la formación de complejos con el co-ión. La afinidad establecida es como sigue:  $\text{SO}_4^{-2} > \text{I}^- > \text{NO}_3^- > \text{CrO}_4^{-2} > \text{Br}^- > \text{SCN}^- > \text{Cl}^- > \text{F}^-$ .<sup>37</sup>

### 1.3.2.4. Concentración del biosorbente y adsorbato

Tanto la concentración del adsorbato como la cantidad del biosorbente influyen de manera directa en la eficacia de la biosorción. El aumento de concentración de metales en una solución a tratar aumenta la capacidad de adsorción debido al gradiente de concentración del metal.

Un aumento en la cantidad del biosorbente o la biomasa empleada para eliminar cualquier tipo de contaminante provoca un aumento en la eficacia de la eliminación, ya que el biosorbente ofrece más poros si es un material poroso o en general más superficie de contacto<sup>31</sup>.

### 1.3.2.5. Sitios de unión

En el estudio de las características de los sólidos biosorbentes se han podido identificar numerosos grupos químicos que podrían contribuir al proceso de retención de metales. Entre estos grupos se pueden citar los hidroxilo, carbonilo, carboxilo, sulfhidrilo, tioéter, sulfonato, amina, imina, amida, imidazol, fosfonato y fosfodiéster.

Para que un determinado grupo tenga importancia en la biosorción de cierto metal por una determinada biomasa, deben tenerse en cuenta los siguientes factores:

- Cantidad de sitios en el material biosorbente.
- Accesibilidad del sitio.
- Estado químico del sitio; es decir, disponibilidad.
- Afinidad entre el sitio y el metal; es decir, fuerza de unión.

En biosorción, la mayoría de los sitios de unión son ácidos. Muchos grupos son neutros cuando se protonan y se cargan negativamente cuando se desprotonan.

Cuando el pH de la solución sobrepasa su pKa los grupos se hacen mucho más disponibles para la atracción del catión<sup>37</sup>.

#### **1.3.2.6. Pretratamiento del biosorbente**

El pretratamiento del biosorbente es otro parámetro que en la mayoría de los casos tiene como objetivo mejorar y aumentar la capacidad de biosorción. El pretratamiento puede ser un lavado con agua, con ácidos o con bases, o de temperatura. Cuando el pretratamiento de la biomasa se realiza con agentes alcalinos aumenta su capacidad de biosorción con algunos metales<sup>31</sup>.

Según Calero *et al.* (2010)<sup>50</sup> se alcanzó la máxima capacidad de biosorción (3,58 mg/g) de Plomo (II) con el hueso tratado con NaOH, de la misma forma Blázquez, *et al.* (2013)<sup>57</sup> consiguió la mayor capacidad de biosorción (16, 247 mg/g) de Plomo (II) para el hueso tratado con NaOH utilizando 0,5 g de biosorbente, una solución total del sistema de 50 mL y a un pH de 5.

Otro factor que puede influir en el proceso de biosorción es el tamaño de partícula, Blázquez (2005)<sup>28</sup>, utilizó el hueso de aceituna como material biosorbente en la biosorción de Cadmio (II) empleando unos tamaños de partícula entre 0,4 y 0,3 mm, alcanzando una biosorción superior al 90 % e indicando que las interacciones dominantes generadas en el proceso son de tipo físico. Driss-Alami S. B *et al.* (2010)<sup>31</sup> obtuvo una mayor biosorción utilizando un tamaño de partícula menor a 1mm.

## 1.4. ACEITUNA

El olivo es un árbol resistente que llega a desarrollarse y a conseguir una completa maduración de sus frutos en alturas comprendidas entre los 600-700 m sobre el nivel del mar, aunque en algunas regiones puede superar los 1000 m de altura. La aceituna (*Olea europea*) es un fruto del árbol de olivo que consta de tres partes <sup>38</sup>:

### 1.4.1. Epicarpio

La parte superior y tejido protector, constituye del 1-3 % de la aceituna y contiene concentraciones variables de los principales pigmentos de ésta como: clorofila, carotenoides y antocianinas.

### 1.4.2. Mesocarpio

Llamada también pulpa representa, junto al epicarpio, la porción comestible de la aceituna y constituye del 70-80 % de toda la fruta. Es una reserva de todos los constituyentes de ésta, tales como: agua, aceite, ácido oxálico, succínico, málico y cítrico, ácidos grasos libres, azúcares como glucosa, fructosa entre otros componentes.

### 1.4.3. Endocarpio

Comúnmente denominado hueso de la aceituna, representa del 18-22 % del peso total. Dentro de éste, se encuentra la semilla o grano que contiene una alta cantidad de aceites (22-27 %).

Es uno de los residuos sólidos más importantes que genera la industria olivarera, tanto la de mesa como la de extracción de aceite, por lo que se han encontrado algunas vías de aprovechamiento debido a sus grandes volúmenes de generación. El endocarpio de aceituna triturado también se usa como biosorbente después de transformarlo a carbón activo aumentando su superficie específica. Éste después de carbonizado se activa y se somete a un proceso de tamizado y finalmente a un acondicionamiento, en forma de polvo o granular, con diversas aplicaciones en la industria alimentaria y como filtro para tratamiento de aguas de industrias químicas y farmacéuticas<sup>31</sup>.

#### 1.4.3.1. Caracterización del endocarpio de aceituna

Diferentes trabajos han realizado un estudio de la caracterización del endocarpio de aceituna, los parámetros estudiados fueron los siguientes:

##### 1.1. Componentes principales

Los componentes principales son celulosa con un (20,10 %), hemicelulosa (29,92 %) y lignina (38,87 %), según la caracterización hecha por Hernández V. *et al*<sup>39</sup> y son estos componentes los que tienen sitios activos que pueden fijar los metales<sup>40</sup>.

##### 1.2. Porosidad

Fue determinado mediante la isoterma BET, obteniéndose  $1,84 \times 10^{-3} \text{ cm}^3/\text{g}$  como cantidad total de poros y  $453,02 \text{ \AA}$  como el diámetro promedio de los poros. De acuerdo a la clasificación IUPAC para determinar el tamaño de poro, el encontrado en el endocarpio de aceituna se trata de un macroporo (diámetro mayor a 50 nm) en un 88 % de la totalidad y mesoporo (diámetro entre 2 y 50 nm)<sup>43</sup>.

##### 1.3. Área de Superficie

Este parámetro es importante, debido a que está relacionado proporcionalmente a la capacidad de biosorción del biosorbente; a mayor área de superficie, mayor capacidad de biosorción<sup>42</sup>. Esta medición se obtiene mediante la técnica de adsorción utilizando la isoterma BET. Martín-Lara *et al.* determinó el área de superficie tanto interna como externa en endocarpio de aceituna sin tratar obteniendo los siguientes datos:

- 0,163 m<sup>2</sup>/g Área de Superficie.
- 0,140 m<sup>2</sup>/g Superficie Interna.
- 0,022 m<sup>2</sup>/g Superficie Externa.

#### 1.4. Análisis Elemental

En anteriores trabajos se caracterizó un análisis elemental de CHNS<sup>40,41</sup> en ambos, los porcentajes obtenidos son similares. En la Tabla 1 están registrados los datos obtenidos por Blázquez *et al.*

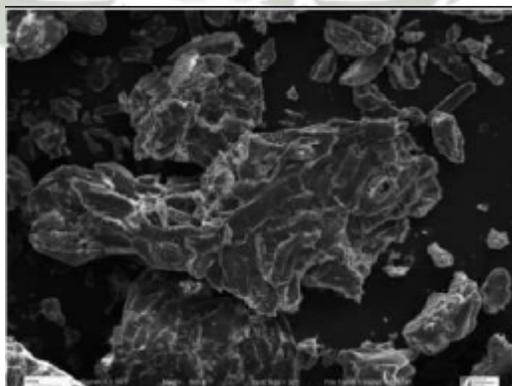
**Tabla 1. Características químicas del endocarpio de aceituna.**

<b>Agua , %</b>	5,43
<b>Compuestos Grasos, %</b>	Negligible
<b>Análisis Elemental, %</b>	
<b>C</b>	52,34
<b>H</b>	7,11
<b>N</b>	0,03
<b>S</b>	<0,1
<b>O</b>	40,47

Fuente: The effect of pH on the biosorption of Cr (III) and Cr (VI) with olive Stone. 2009.

#### 1.5. Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)

El análisis SEM permite observar el tamaño de partícula y la porosidad de la muestra, la Figura 3 permitió observar una estructura irregular, con ranuras lineales con poros, fibras y hundimientos a través de toda el área de superficie. Los tamaños de las partículas fueron de diferentes dimensiones.



**Figura 3. Microscopía electrónica del endocarpio de aceituna.**

Fuente: Development and Characterization of Biosorbents to Remove Heavy Metals from Aqueous Solutions by Chemical Treatment of Olive Stone. 2013.

## 1.5. TÉCNICA ELECTROQUÍMICA: VOLTAMPEROMETRÍA

Es un método analítico basado en las mediciones de corriente en una celda electroquímica, donde la señal analítica es la corriente que fluye a la celda electroquímica durante la reacción entre el analito y el electrodo de trabajo<sup>44</sup>. Basa su funcionamiento en la reducción y oxidación de las especies en disolución sobre el electrodo de trabajo<sup>26</sup>.

Históricamente, la voltametría o voltamperometría se desarrolló a partir del descubrimiento de la polarografía por el químico checoslovaco Jaroslav Heyrovsky en 1922. Más adelante, Matherson y Nichols desarrollaron los métodos de barrido rápido de potencial, técnicas (voltametría de barrido lineal y cíclica) que fueron descritas teóricamente por Randles y Sevcik; este avance constituye un paso importante en la evolución de estos métodos electroanalíticos<sup>45</sup>.

Su principio es la aplicación de un barrido de potencial que provoca la reducción de los iones metálicos en disolución en el electrodo de trabajo, donde se difunden. Si el electrodo de trabajo está basado en el uso de gotas de mercurio, la voltametría se conoce como polarografía.

### 1.5.1. Voltamperómetro

Equipo utilizado para el análisis voltamperométrico, compuesto por una celda electroquímica en la que se utiliza energía eléctrica para llevar a cabo una reacción no espontánea y un circuito externo.

### 1.5.1.1. Celda electroquímica

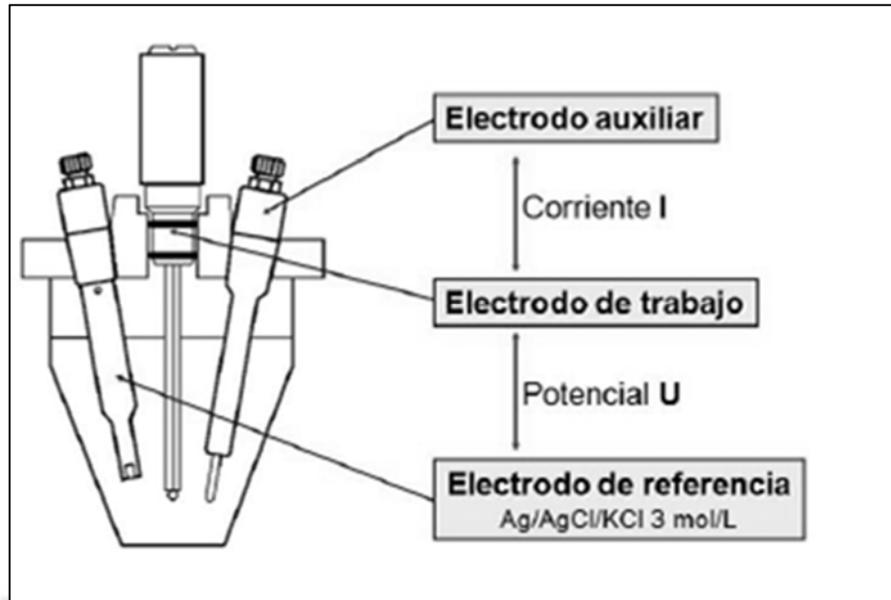
Es la celda de trabajo donde se lleva a cabo el proceso. La celda electroquímica consta de un electrolito de soporte y de un sistema de tres electrodos: electrodo de trabajo, electrodo de referencia y el contraelectrodo o electrodo auxiliar<sup>46</sup>.

- El electrodo de trabajo, mediante el electrodo auxiliar mide la intensidad y con el electrodo de referencia mide el potencial, tal y como se muestra en la Figura 4<sup>26</sup>.
- El electrodo de referencia proporciona un potencial estable que sirve de base para el barrido realizado por el electrodo de trabajo y así obtener voltogramas estables y reproducibles<sup>26</sup>. Consiste básicamente en un electrodo de plata sólida recubierto parcialmente por una capa de sal AgCl y sumergido en una disolución saturada de KCl 3M. Los más usados son el de calomel saturado (SCE) o de Ag/AgCl/KCl<sup>46</sup>.
- El electrodo auxiliar generalmente es de platino u otro material inerte<sup>46</sup>. Tiene como único objetivo permitir el paso de corriente eléctrica entre éste y el electrodo de trabajo con el fin de poder cuantificarlo<sup>26</sup>.

El electrodo de trabajo es el más importante del sistema ya que es el encargado de aplicar el potencial en forma de rampa y el que ha de conducir la corriente eléctrica.

Existen dos tipos, el Multi Mode Electrode (MME), que incluye todos los electrodos de mercurio líquido, y el Rotating Disc Electrode (RDE), que se emplea para aplicaciones muy específicas<sup>26</sup>. Está constituido de un material inerte, generalmente de mercurio, platino, aunque también se puede utilizar de oro o carbón vitrificado<sup>46</sup>.

El electrolito es una solución que se añade para evitar corrientes de migración debido al movimiento de las partículas cargadas en el campo eléctrico, y asegurar la conductividad<sup>46</sup>.



**Figura 4. Esquema del sistema de electrodos.**

Fuente: You Chen, Xialei. Estudio de la biosorción multimetálica con raspo de uva mediante técnicas voltamperométricas. Florido Pérez, Antonio. 2013.

#### 1.5.1.2. Circuito externo

Éste está conectado a un equipo que contiene un voltímetro capaz de establecer o medir una diferencia de potencial entre ambos electrodos. De esta forma, cuando se alcanza una diferencia de potencial suficiente, se provoca la reacción redox correspondiente (que no se produciría por sí sola, no es espontánea) sobre la especie química objeto de análisis.

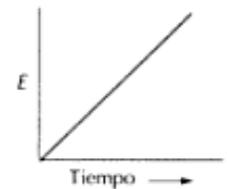
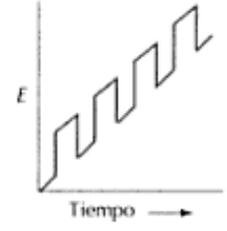
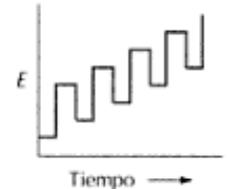
Esta reacción tiene lugar en la interfase electrodo-disolución. La reacción tiene como consecuencia el tránsito de electrones a través del circuito externo. Esto es, produce una corriente eléctrica que es registrada por un amperímetro presente en el equipo.

#### 1.5.2. Señales de Excitación

El voltaje del electrodo varía sistemáticamente mientras se mide la respuesta de la corriente y son las funciones voltaje-tiempo las llamadas “señales de excitación” que dan origen a una respuesta en forma de corriente que es en la que se basa el método.

Existen dos tipos de señales de excitación que se muestran en la Figura 5.

- a) Barrido lineal: es la señal clásica, donde hay un aumento lineal en función del tiempo de un potencial de corriente continua dentro de la celda; la corriente se genera y registra en función del tiempo.
- b) Señales de Excitación de tipo impulso: donde la corriente se mide en distintos momentos durante la vida de estos impulsos, que gráficamente se asemejan a una escalera.

Nombre	Forma de onda	Tipo de voltametría
(a) Barrido lineal		Polarografía, Voltametría hidrodinámica
(b) Pulso diferencial		Polarografía diferencial de impulsos
(c) Onda cuadrada		Voltametría de onda cuadrada

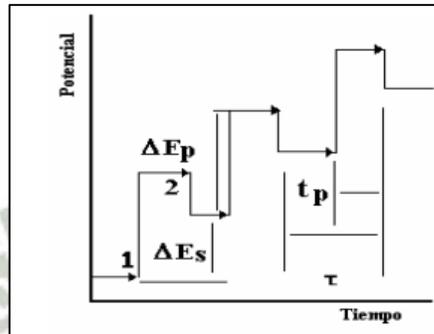
**Figura 5. Señales de excitación.**

Fuente: S Skoog D.A, West D.M, Holler F.J, Crouch S.R. Fundamentos de Química Analítica. 8va edición<sup>36</sup>

### 1.5.3. Tipos de Voltamperometría

#### 1.5.3.1. Voltamperometría de Pulso Diferencial (VPD)

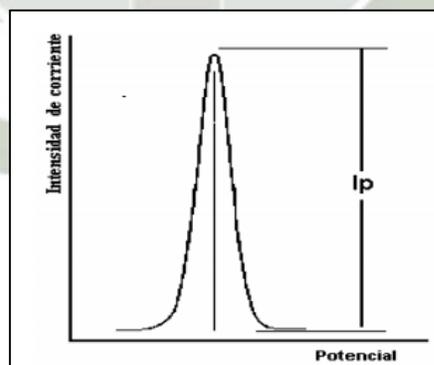
La onda en la señal de excitación consiste en una serie de pulsos en forma de escalera que se pueden observar en la Figura 6; así, el potencial aumenta gradualmente en intervalos de 10 y 100 mV y la amplitud del pulso se mantiene constante.



**Figura 6. Señal de excitación aplicada en VPD.**

Fuente: Ortiz R., Martínez Y., Hernández R. Técnicas Electroanalíticas Parte II. Voltamperometría. Universidad de los Andes. Mérida. 2006.

La corriente se mide antes y al final del pulso con el fin de graficar las diferencias de corrientes obtenidas en función del potencial aplicado. La intensidad de corriente máxima es proporcional a la concentración del analito; la Figura 7 representa una respuesta típica en la voltamperometría de Pulso diferencial.



**Figura 7. Respuesta típica en VPD.**

Fuente: Ortiz R., Martínez Y., Hernández R. Técnicas Electroanalíticas Parte II. Voltamperometría. Universidad de los Andes. Mérida. 2006.

### **1.5.3.2. Voltamperometría de Barrido Lineal (VBL)**

Se aplica al electrodo de trabajo un potencial de corriente que varía linealmente a través del tiempo. El incremento se da en forma de rampa. Fue dejada de lado por métodos voltamperométricos y polarográficos de impulsos debido a su lentitud, inconvenientes con el aparato y límites de detección no satisfactorios.

### **1.5.3.3. Voltamperometría Cíclica**

Mediante ésta podemos tener información cualitativa de los procesos de transferencia de electrones. También se puede estudiar el comportamiento reversible o irreversible de un par redox, así como determinar el número de electrones transferidos en una oxidación o reducción, y el mecanismo de la reacción<sup>46</sup>.

### **1.5.3.4. Voltamperometría de Redisolución**

Ésta se divide en Voltamperometría de Redisolución Anódica y de Redisolución Catódica. Éste grupo de técnicas electroquímicas es de las más eficientes para el análisis de trazas, siendo este método el más sensible de todos los métodos de análisis instrumental. También es superior a otras técnicas de análisis de trazas por la mayor exactitud de los resultados obtenidos debido a que la acumulación y la determinación se llevan a cabo en el mismo electrodo y no en dos procesos separados. De esta forma, se evitan errores sistemáticos por contaminación o evaporación que pueden afectar significativamente al resultado cuando se trabaja a tan bajas concentraciones<sup>26</sup>.

#### **1.5.3.4.1. Voltamperometría de Redisolución Anódica**

Es una técnica electroquímica bien establecida y utilizada generalmente para la determinación de metales, dado los bajos límites de detección que posee ( $\mu\text{g/L}$ ), los cuales se alcanzan gracias al proceso previo de preconcentración del analito sobre la superficie del electrodo de trabajo, que idealmente posee un área superficial reproducible y de gran afinidad por el metal a ser reducido. Por lo tanto el electrodo de trabajo más adecuado es el de gota colgante de mercurio. A causa de la elevada toxicidad del mercurio se han establecido políticas ambientales que procuran reducir el empleo de éste. La tendencia actual es tratar de mantener los principios básicos de

la polarografía, reemplazando el electrodo de gota colgante de mercurio por otros más amigables con el ambiente y de menor riesgo para la salud. Algunas de las opciones que se encuentran en la literatura, incluyen electrodos de otros metales, electrodos de carbón vítreo modificados con moléculas orgánicas e inorgánicas, electrodos de pasta de carbón y las diversas modificaciones que se puedan realizar sobre ellos<sup>47</sup>.

La corriente en una celda con un electrodo de gota de mercurio experimenta fluctuaciones periódicas que corresponden a la frecuencia de liberación de las gotas. Cuando la gota sale del capilar, la corriente disminuye hacia cero; luego, al aumentar el área de superficie de la nueva gota, se incrementa la corriente.

Las etapas que conforman la ASV son<sup>26</sup>:

- Acumulación: El analito se deposita en el electrodo de trabajo a potencial constante y con la muestra en constante agitación. Dado que la deposición siempre se lleva de manera incompleta, las condiciones de trabajo deben estar estrictamente controladas con el fin de obtener resultados reproducibles.
- Reposo: Durante éste se detiene la agitación produciendo una caída de la corriente catódica debida a la falta de convección. Este periodo sirve para que el analito disuelto se distribuya bien en la gota de mercurio y dura de 5 a 30 s.
- Determinación: Queda definido por la velocidad de barrido de potencial, que es la velocidad con la que el voltagrama está siendo registrado. La señal de medida que se obtiene es la corriente de pico que se relaciona con la concentración del metal acumulado. Aquí, la corriente de pico se transforma en la corriente anódica de disolución del electrodo de mercurio.

#### **1.5.3.4.2. Voltametría de Redisolución Catódica**

La CSV se emplea para la determinación de aniones tanto inorgánicos como orgánicos y se diferencia de la ASV no sólo por el procedimiento de determinación sino también en el proceso de acumulación<sup>26</sup>. Durante la etapa de acumulación, el analito se deposita anódicamente como una sal poco soluble de mercurio (I) o catódicamente como un compuesto intermetálico en la superficie del electrodo<sup>26</sup>.

## 1.6. DISEÑO FACTORIAL

Cuando se busca optimizar un proceso cualquiera, es necesario conocer que variables pueden o no influir significativamente en el sistema y de qué manera va a afectarlo, pero mucha de esta información no está del todo disponible y la experimentación, es la única vía para acceder a ésta. Sin embargo, el elevado coste de la ésta última y las limitaciones de tiempo obligan a ejecutar sólo los experimentos imprescindibles. Y el método tradicional de variar un factor-cada-vez no suele ser la mejor opción. Puede implicar más experimentos de los necesarios y, a pesar de ello, proporcionar sólo información parcial<sup>48</sup>.

El diseño estadístico de experimentos contempla una amplia variedad de modelos experimentales que son óptimos para generar la información que se busca. Por lo tanto, los diseños factoriales completos son la estrategia experimental óptima para estudiar simultáneamente el efecto de varios factores sobre la respuesta y sus interacciones<sup>48</sup>.

### 1.6.1. Experimentos factoriales

El término “experimento factorial” o “arreglo factorial” se refiere a la constitución de los tratamientos que se quieren comparar. Se puede definir a los experimentos factoriales como aquellos que envuelven combinaciones entre los niveles de dos o más factores, permitiendo observar como la respuesta se ve afectada por cada uno de los factores y en especial como responde a las interacciones entre dos o más de ellos<sup>55</sup>.

La necesidad de estudiar conjuntamente varios factores obedece principalmente a encontrar un modelo que describa el comportamiento general del fenómeno en estudio y a encontrar la combinación de niveles de los factores que optimizan esa respuesta<sup>53</sup>.

Si se investiga un factor por separado, el resultado puede ser diferente al estudio conjunto y es mucho más difícil describir el comportamiento general del proceso o encontrar el óptimo.

El experimento factorial se planifica con la principal intención de medir la interacción y evaluarla. La interacción puede ser de tres tipos: sinergismo, antagonismo y aditivo.

Las ventajas de los experimentos factoriales son:

- Economía en el material experimental al obtener información sobre varios factores sin aumentar el tamaño del experimento.
- Se amplía la base de la inferencia en relación a un factor, ya que se estudia en las diferentes condiciones representadas por los niveles de otros factores.
- Permite obtener una estimación de los efectos de la interacción, esto es, estudiar el grado y forma en la cual se modifica el efecto de un factor en presencia de los niveles de los otros factores<sup>54</sup>.

Efectos de los experimentos factoriales:

1. Efecto principal: es una medida del cambio en el promedio entre los niveles de un factor, promediado sobre los diferentes niveles del otro factor.
2. Efecto de interacción: es una medida de cambio que expresa el efecto adicional resultante de la influencia combinada de dos o más factores.
3. Efecto simple: es una medida de cambio en los promedios de los niveles de un factor, manteniendo constante uno de los niveles del otro factor.

Cabe mencionar también que los experimentos no se deben realizar en el orden indicado en la matriz de experimentos. El motivo es evitar que el efecto de un factor esté confundido con el de otro factor no intencionado y se introduzca sesgo en los valores de los efectos. Esta confusión se puede evitar realizando los experimentos en orden aleatorio<sup>49</sup>; y así obtener resultados confiables.

### **1.6.2. Metodología de superficies de respuesta**

El objetivo de la metodología de superficies de respuesta es optimizar una o más variables de interés, lo cual se logra al determinar sus mejores condiciones de operatividad. Para ello se utiliza un conjunto de técnicas estadísticas que nos permiten analizar y modelar la forma en que la variable de interés es influenciada por otras. Se

pueden distinguir tres aspectos claves en esta metodología: diseño, modelo y técnicas de optimización<sup>56</sup>.

Los objetivos que se persiguen al ajustar una superficie de respuesta son:

- i. Encontrar en una región una aproximación funcional que permita hacer predicciones.
- ii. Determinar los valores de las variables independientes que permitan optimizar la respuesta requerida en un proceso.

En la MSR es frecuente que se haga experimentación secuencial en la localización de puntos de operación óptima. Usualmente se inicia con un diseño de primer orden y en la cercanía del óptimo se usa un diseño de segundo orden, rara vez se utiliza un diseño de tercer orden; esto es por considerar que el óptimo será un máximo o un mínimo absoluto<sup>54</sup>. Asimismo, los diseños de segundo orden son aquellos que permiten estudiar los efectos de interacción y efectos cuadráticos, aparte de los efectos lineales. La selección de estos diseños depende de las características del problema, pero deben en general cumplir ciertos requerimientos como capacidad para realizar estimaciones eficientes de los coeficientes del modelo y medir tanto el error experimental como la posible presencia de falta de ajuste<sup>56</sup>.

## CAPÍTULO II

### 2. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 2.1. CAMPO DE INVESTIGACIÓN

##### 2.1.1. Lugar de Experimentación

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo durante los meses de julio a diciembre del 2014, en el laboratorio de Investigación H-202 y el laboratorio H-203 de la Universidad Católica de Santa María.

##### 2.1.2. Unidades de Estudio

En este trabajo se utilizó el endocarpio de la aceituna, que es un residuo de la industria olivarera, como biosorbente en la remoción de metales pesados como Cadmio (II) y Plomo (II) mediante el proceso de biosorción.

##### 2.1.3. Estrategia de Recolección de Datos

La muestra fue obtenida a partir de una recolección de material residual de una olivarera ubicada en Ilo, en el mes de junio. Todo el material biológico obtenido pertenece a una misma variedad de aceituna “botija” (*Olea europea*).

#### 2.2. MATERIALES

##### 2.2.1. Reactivos Químicos

- Agua ultrapura.
- Hidróxido de sodio 98,4 % (NaOH) P.A. de Merck.
- Ácido clorhídrico suprapuro 65 % (HCl) de Merck.
- Nitrato de Cadmio (II) 98,5 % [Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] P.A. de Diproquim.

- Nitrato de Plomo (II) 98,5 %  $[Pb(NO_3)_2]$  P.A de Diproquim.
- Ácido nítrico suprapuro 65 %  $(HNO_3)$  de Merck.
- Solución Stock de Cadmio, 1000 ppm de Merck.
- Solución Stock de Plomo, 1000 ppm de Merck.
- Cloruro de potasio 99,9 %  $(KCl)$  P.A. de Merck.
- Ácido cítrico 99,5 %  $(C_6H_8O_7)$  P.A. de Diproquim.
- Citrato de sodio dihidratado 99,5 %  $(Na_3C_3H_5O_7 \cdot 2H_2O)$  P.A. de Diproquim.
- Acetato de sodio trihidratado 99 %  $(CH_3COONa \cdot 3H_2O)$  P.A. de Diproquim.
- Ácido acético glacial 99,8 %  $(C_2H_4O_2)$  de Merck.

### 2.2.2. Instrumentación

- Purificador de agua EASYpure°II, Marca Barnstead.
- Bomba de vacío, Marca Merck Millipore.
- Estufa, Marca Memmert.
- pHmetro, Marca MetrOhm.
- Stirring Hot plate, Marca Thermo Scientific.
- Balanza Analítica, Marca: OHAUS, Modelo: PA214.
- Equipo de Jarras.
- Estación Voltamperométrica, Marca MetrOhm, Modelo: VA 747 Computrace.
- Espectrofotómetro Cary 60 UV-VIS, Marca Agilent Technologies.
- Tamices A.S.T.M de N° 16, 40, 100 y 200.
- Micropipeta, Marca Gilson de 2 a 20  $\mu L$ .
- Micropipeta, Marca Eppendorf de 20 a 200  $\mu L$  y de 100 a 1000  $\mu L$ .

- Porta filtros Swinnex, Marca Millipore.
- Jeringas desechables de Tuberculina, Marca Segurimaxx.
- Licuadora, Marca Oster.
- Material de laboratorio.

### **2.2.3. Software**

- Statgraphics Centurion XV versión 15.2 (StatPoint Inc., Warrenton, Virginia, EEUU).
- Microsoft Office Excel Professional Plus 2010 (Microsoft Corporation, Redmon, Whashington, EEUU).

## **2.3. METODOLOGÍA**

La metodología del presente trabajo constó de 10 etapas a realizar tal y como se muestra en la Figura 8. La determinación del Diseño experimental para comenzar a realizar los ensayos de biosorción se desarrolló después de efectuar la cinética de biosorción y con ésta, encontrar el tiempo de contacto ideal que sería aplicado a los ensayos a realizar según el diseño experimental.

Entonces, para el diseño experimental se tomó en cuenta cuatro variables que fueron: pH, tamaño de partícula, concentración inicial y pretratamiento del endocarpio. Una vez desarrollada la matriz correspondiente se procedió a realizar los ensayos de biosorción por tal motivo, en el flujograma (Figura 8) se muestra que la etapa de determinación de diseño experimental se encuentra entre la cinética de biosorción y los ensayos de biosorción (aunque no sigue la misma secuencia), pero en base a ésta se desarrolla más adelante el análisis estadístico.

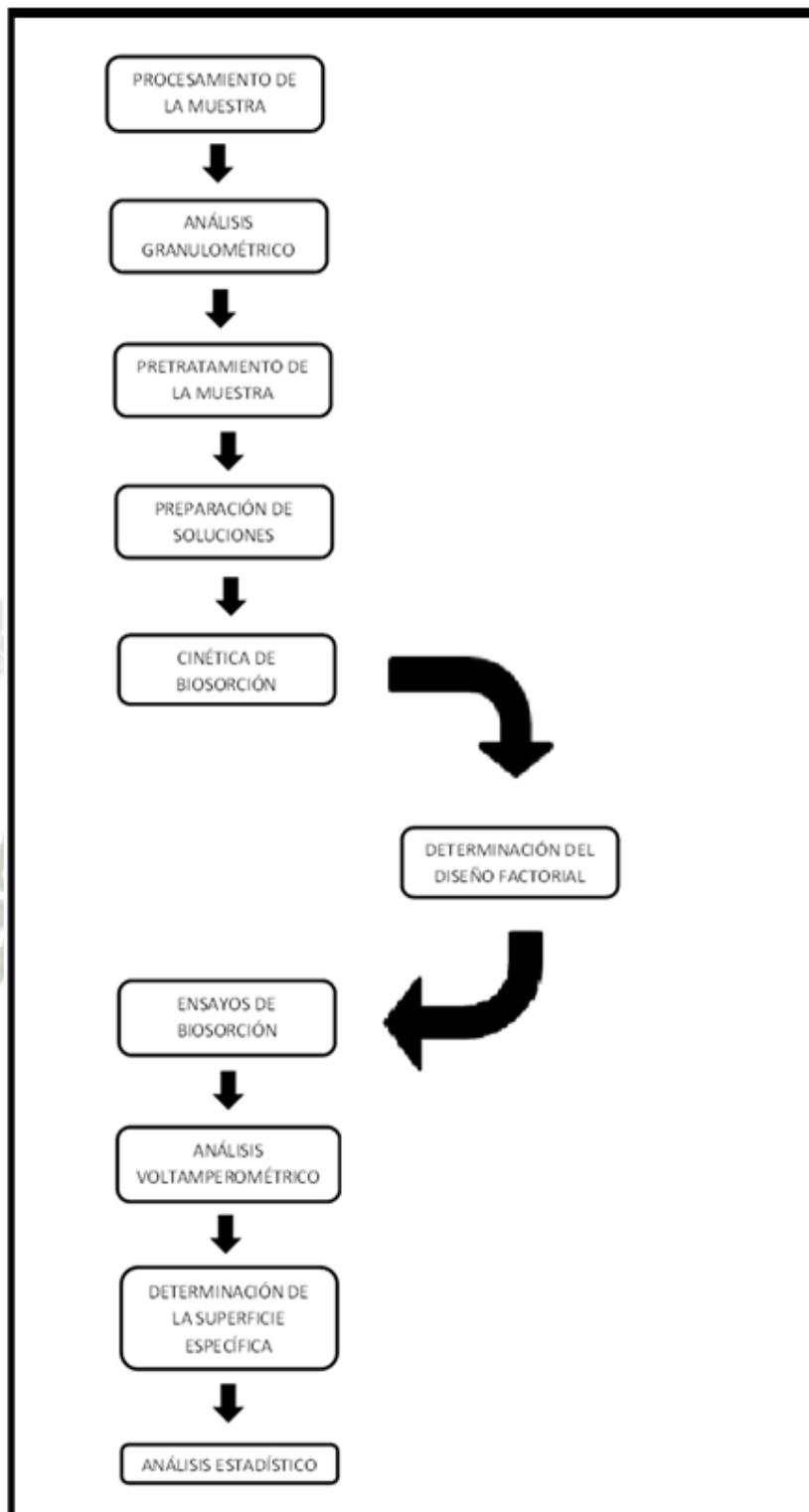


Figura 8. Flujograma de la metodología de trabajo.

### 2.3.1. Procesamiento de la Muestra

Inicialmente, el endocarpio de aceituna se lavó con agua fría y luego se hizo hervir durante 90 min para eliminar la materia orgánica soluble en agua y grasas presente; después se secó al aire libre y se trituró utilizando una licuadora eliminando previamente la semilla que se encuentra en el interior del endocarpio.

### 2.3.2. Análisis Granulométrico

Una vez triturado el material biosorbente, se separó por tamaños utilizando tamices A.S.T.M. de N° 16, 40, 100 y 200.

Con todas las fracciones ya separadas de la muestra según el tamaño de partícula obtenido en la trituración, se eligió las fracciones a utilizar según el diseño experimental.

### 2.3.3. Pretratamiento de la Muestra

Cada fracción obtenida del endocarpio de aceituna, se trató con HCl y NaOH para determinar el tratamiento que mejore el proceso de biosorción.

#### – Tratamiento Ácido

Se añadió 100 mL de una solución de HCl 0.1 N por cada gramo de biosorbente a tratar<sup>50</sup>, se dejó en contacto durante 24 h y después se filtró al vacío y se lavó con agua destilada hasta que el agua de lavado tenga un pH neutro. Finalmente se secó en estufa a 60 °C, temperatura recomendada ya que a temperaturas superiores se podría producir la degradación de las muestras<sup>37</sup>, durante 90 min.

#### – Tratamiento Básico

Se agregó 100 mL de una solución de NaOH 0.1 N por cada gramo de biosorbente a tratar, dejándose durante 24 h y después se filtró al vacío y se lavó con agua destilada hasta obtener un pH neutro en el agua de lavado. Finalmente se secó en estufa a 60 °C durante 90 min.

### 2.3.4. Preparación de Soluciones

#### ➤ **Buffer citrato 0,01 M**

- Solución de ácido cítrico 0,01 M: Se pesó 1,0505 g de ácido cítrico se llevó a una fiola de 500 mL y se enrasó con agua destilada.
- Solución de citrato de sodio 0,01 M: Se pesó 1,4705 g de citrato de sodio y se enrasó con agua destilada en una fiola de 500 mL.

Para obtener el buffer a un determinado pH, se midió éste con un pHmetro y se utilizó las proporciones del protocolo obtenido de Sigma<sup>52</sup> para el volumen deseado. Se preparó buffer citrato de pH 3,5; 4,5 y 5,5.

#### ➤ **Buffer citrato 0,1 M**

- Solución de ácido cítrico 0,1 M: Se pesó 10,505 g de ácido cítrico se llevó a una fiola de 500 mL y se enrasó con agua destilada.
- Solución de citrato de sodio 0,1 M: Se pesó 14,705 g de citrato de sodio y se enrasó con agua destilada en una fiola de 500 mL.

Para obtener el buffer a un determinado pH, se utilizó un pHmetro para controlar el pH y las proporciones del protocolo obtenido de Sigma<sup>52</sup> para el volumen deseado. Se preparó buffer citrato de pH 3,5; 4,5 y 5,5.

#### ➤ **Buffer acetato 0,1 M**

- Solución de acetato de sodio trihidratado 0,1 M: Se pesó 6,805 g de acetato de sodio trihidratado y se enrasó con agua destilada hasta 500 mL en una fiola.
- Solución de ácido acético 0,1 M: Se tomó 2,9 mL de ácido acético glacial (17,48 M) y se enrasó con agua destilada en una fiola de 500 mL.

En agitación constante y utilizando el pHmetro para controlar y obtener el pH requerido (3,2; 3,7; 4,7; 5,7 y 6,2) se agregó las proporciones de cada solución según protocolo de Sigma<sup>24</sup> y se enrasó el buffer en una fiola de 1000 mL.

➤ **Buffer acetato 0,1 M pH 4,6 para el análisis voltamperométrico.**

En un beaker de 1000 mL, agregó 900 mL de agua ultrapura y 5,72 mL de ácido acético glacial. En agitación y medición con el pHmetro constante, se añadió gota a gota una solución de NaOH concentrada hasta el pH deseado y se enrasó con agua ultrapura en una fiola de 1000 mL.

➤ **Solución Stock de Cadmio 40000 ppm**

Se disolvió 1,10 g de nitrato de Cadmio (II) en una solución  $\text{HNO}_3$  0,5 M y se enrasó en una fiola de 10 mL.

➤ **Solución Stock de Plomo 40000 ppm**

Se disolvió 0,64 g de nitrato de Plomo (II) en una solución de  $\text{HNO}_3$  0,5 M y se enrasó en una fiola de 10 mL.

➤ **Solución estándar de 0,5 ppm de Cadmio y 0,5 ppm de Plomo para la lectura voltamperométrica**

En una fiola de 10 mL, se añadió 5  $\mu\text{L}$  de solución patrón de Cadmio (II) de 1000 ppm y 5  $\mu\text{L}$  de solución patrón de Plomo (II) de 1000 ppm; y finalmente se enrasó con agua ultrapura.

### 2.3.5. Cinética de Biosorción

➤ **Determinación del porcentaje de remoción de Cadmio (II) y Plomo (II) con 0,5 g de biosorbente y buffer citrato 0,01 M**

El sistema de trabajo tuvo un volumen final de 50 mL. Para tener menor error en la medición, se utilizó una fiola de 50 mL a la que se agregó 25 mL de buffer citrato 0,01 M pH 4,5; 50  $\mu\text{L}$  de Solución Stock 40000 ppm de Cadmio (II) y 50  $\mu\text{L}$  de Solución Stock 40000 ppm de Plomo (II) y se enrasó con agua destilada para obtener una concentración de 40 ppm de ambos metales. Esta solución se trasvasó a un beaker de 100 mL y se tomó una alícuota de 100  $\mu\text{L}$  para medir la concentración inicial (Tiempo cero); luego se añadió 0,5 g de endocarpio de aceituna Fracción 2 tratado con NaOH

y se mantuvo en constante agitación durante 60 min utilizando un equipo de jarras. De este sistema se tomó alícuotas como se describe en la Tabla 3.

**Tabla 2. Volumen de alícuota obtenido a intervalos de tiempo definido en el ensayo de Cinética de Biosorción.**

	<b>Alícuota, μL</b>	<b>Tiempo, min</b>
<b>1</b>	100	0
<b>2</b>	100	3
<b>3</b>	100	6
<b>4</b>	100	10
<b>5</b>	100	20
<b>6</b>	100	30
<b>7</b>	500	40
<b>8</b>	500	50
<b>9</b>	500	60

- **Comparación del porcentaje de remoción de Cadmio (II) y Plomo (II) con 0,5 y 1 g de biosorbente y buffer citrato 0,01 M**

Tuvo como finalidad observar la diferencia en el porcentaje de remoción si se utilizaba 0,5 g ó 1 g de biosorbente. Para tal caso, en este ensayo se procedió a preparar el sistema tal y como en el anterior, pero con la única diferencia que esta vez la solución estuvo en contacto con 1 g de endocarpio.

- **Determinación de la cinética de biosorción de Cadmio (II) y Plomo (II) utilizando buffer acetato 0,1 M**

El procedimiento de la cinética fue similar a los anteriores. El sistema constó de 25 mL de buffer acetato 0,1 M pH 4,7; 50 μL de Solución Stock 40000 ppm de cada metal para un volumen final de 50 mL. La cantidad de endocarpio que se utilizó fue 0,5 g Se tomó las alícuotas en los tiempos ya determinados.

Los tres ensayos de cinética de adsorción se realizaron por triplicado, un experimento por día.

### **2.3.6. Ensayos de Biosorción**

Utilizando la matriz del Anexo V, obtenida a partir del diseño experimental, se realizó los ensayos de biosorción de la misma forma que en la cinética; el sistema constó de 25 mL de buffer al pH deseado; 50,75 ó 100  $\mu\text{L}$  de solución Stock de Plomo (II) y Cadmio (II) (el volumen de las soluciones Stock 40000 ppm de Cadmio (II) y Plomo (II) dependió de la concentración de cada tratamiento a realizar) y se enrasó con agua destilada a un volumen final de 50 mL Para los ensayos se tomó una alícuota de 100  $\mu\text{L}$  previa a la adición del endocarpio de aceituna para determinar la concentración inicial (tiempo cero) y 500  $\mu\text{L}$  a los 90 min de iniciado el experimento; luego se añadió los 0,5 g del endocarpio de aceituna a la solución con metales pesados y se mantuvo en agitación constante (200 rpm),

### **2.3.7. Análisis Voltamperométrico**

Se utilizó las alícuotas obtenidas a partir de los ensayos y se diluyeron éstas (100 ó 500  $\mu\text{L}$ ) en una fiola de 10 mL con agua destilada para obtener la muestra a leer en el voltamperómetro. Para realizar las lecturas en la estación voltamperométrica, se agregó a la celda electroquímica lo siguiente:

- 5 mL de Agua Ultrapura.
- 5 mL de buffer acetato 0,1 M a pH 4,6.
- 100  $\mu\text{L}$  de la muestra diluida en fiola de 10 mL

A continuación, se procedió a la determinación de la concentración de Cadmio (II) y Plomo (II) por voltamperometría de pulso diferencial mediante el método de Adición Estándar por lo que se utilizó la solución estándar de 0,5 ppm de Cadmio (II) y 0,5 ppm Plomo (II) antes descrita, la cual se añadió 100  $\mu\text{L}$  cuando el equipo lo demandó (dos veces) durante la lectura.

Los parámetros utilizados para la determinación fueron:

- Tiempo de Purga: 300 s.
- Potencial de Deposición: -1.2 V.
- Tiempo de Deposición: 60 s.
- Tiempo de Equilibrio: 10 s.
- Inicio de Potencial: - 0,8 V.
- Fin de Potencial: - 0.25 V.

### 2.3.8. Determinación de la Superficie Específica

La superficie específica del endocarpio de la aceituna (Fracciones: 1, 2 y 3) tratadas tanto con NaOH como HCl se determinó mediante el método del Azul de metileno<sup>53</sup> y la isoterma de adsorción BET.

Se preparó una solución Stock de azul de Metileno de 1000 ppm, a partir de la cual se elaboraron soluciones a distintas concentraciones (10, 20,30 y 50 ppm); de éstas, se tomó 100 mL de cada una y se añadió 100 mg de endocarpio de aceituna de la misma fracción en cada una estas soluciones, después se dejó en contacto durante 6 h y finalmente se leyó en el espectrofotómetro por triplicado a una longitud de onda de 630 nm para obtener la absorbancia y a partir de éstas se halló la superficie específica mediante la ecuación (EC.1) utilizando la isoterma de adsorción BET.

$$S = X_m \cdot N_o \cdot a$$

(EC.1)

Dónde:

- No: Número de avogadro
- a: Superficie cubierta por una molécula adsorbida.
- $X_m$ : Cantidad de adsorbato necesaria para formar una monocapa sobre un gramo de adsorbente, se obtiene a partir del intercepto y pendiente que resulta de la gráfica  $C/X(C_o-C)$  versus  $C/C_o$ .

De la misma forma, utilizando la solución Stock de Azul de Metileno de 100 ppm, se preparó cinco soluciones a diferentes concentraciones (10, 20, 30,40 y 50 ppm) en fioles de 10 mL y se enrasaron con agua destilada para graficar la curva de calibración en el espectrofotómetro.

### 2.3.9. Análisis Estadístico

#### ➤ Diseño Experimental

Se inició fijando las variables según los objetivos propuestos para optimizar el proceso; encontrando sus valores óptimos que permitan obtener la mejor respuesta del sistema (mayor porcentaje de remoción). Para determinar el tipo de diseño, se procedió a darles valores, como se muestra en la Tabla 4.

**Tabla 3. Valores de las variables elegidas para la determinación del diseño factorial en el proceso de biosorción de Cadmio (II) y Plomo (II).**

VARIABLES	VALORES
Concentración inicial, ppm	40
	60
	80
Tamaño de partícula	Fracción 1
	Fracción 2
	Fracción 3
pH	3,7
	4,7
	5,7
Pretratamiento	Ácido (HCl)
	Base (NaOH)

En ésta se observó que no todas las variables fueron numéricas, sino que también hubo variables cualitativas. Por lo tanto, no se pudo utilizar el diseño factorial  $2^k$  y se usó un diseño multinivel.

➤ **Caracterización de la biosorción de Cadmio (II) y Plomo (II)**

La caracterización del proceso de la biosorción de Cadmio (II) y Plomo (II) sobre endocarpio de aceituna pretratado con hidróxido de sodio (NaOH) y con Ácido clorhídrico (HCl) se realizó empleando diseños factoriales, para ello en una etapa inicial de cribado se evaluaron cuatro factores (Tabla 4) de interés dos continuos (numéricos) y dos categóricos (cualitativos): pH, concentración inicial, y pretratamiento, tamaño de partícula respectivamente, desarrollándose un factorial multinivel (Tabla 5) dónde se establece un valor máximo (1) y otro mínimo (-1) para el caso de los factores numéricos, llamados variables cuando forman parte del diseño factorial, y para los factores cualitativos se toman en cuenta todas las posibilidades como se puede apreciar.

**Tabla 4. Niveles de variables consideradas en el diseño factorial multinivel para el proceso de biosorción de Cadmio (II) y Plomo (II).**

Variables		Niveles		
		-1	0	1
<b>X1</b>	pH	3,7	4,7	5,7
<b>X2</b>	Concentración, ppm	40	60	80
<b>X3</b>	Pretratamiento	HCl	-	NaOH
<b>X4</b>	Tamaño de partícula	Frac1	Frac2	Frac3

Luego, se determinó el número de ensayos utilizando el factorial  $2^k$  para las variables numéricas y multiplicando la cantidad de las cualitativas (todas las combinaciones posibles), pero como se optó por trabajar con un diseño factorial para evitar realizar un gran número de ensayos (todas las combinaciones posibles y cada una por triplicado), finalmente se agregó puntos centrales (0) por duplicado al resultado del factorial  $2^k$ . El número de ensayos fue 36 tal y como se muestra en la Tabla 6.

**Tabla 5. Matriz de trabajo obtenida del diseño factorial multinivel, con todas las combinaciones posibles de los niveles de cada variable.**

Ensayos	VARIABLES			
	pH	Concentración	Pretratamiento	Tamaño de partícula
1	3,7	40	HCl	Frac-1
2	5,7	40	HCl	Frac-1
3	3,7	80	HCl	Frac-1
4	5,7	80	HCl	Frac-1
5	4,7	60	HCl	Frac-1
6	4,7	60	HCl	Frac-1
7	3,7	40	NaOH	Frac-1
8	5,7	40	NaOH	Frac-1
9	3,7	80	NaOH	Frac-1
10	5,7	80	NaOH	Frac-1
11	4,7	60	NaOH	Frac-1
12	4,7	60	NaOH	Frac-1
13	3,7	40	HCl	Frac-2
14	5,7	40	HCl	Frac-2
15	3,7	80	HCl	Frac-2
16	5,7	80	HCl	Frac-2
17	4,7	60	HCl	Frac-2
18	4,7	60	HCl	Frac-2
19	3,7	40	NaOH	Frac-2
20	5,7	40	NaOH	Frac-2
21	3,7	80	NaOH	Frac-2
22	5,7	80	NaOH	Frac-2
23	4,7	60	NaOH	Frac-2
24	4,7	60	NaOH	Frac-2
25	3,7	40	HCl	Frac-3
26	5,7	40	HCl	Frac-3
27	3,7	80	HCl	Frac-3
28	5,7	80	HCl	Frac-3
29	4,7	60	HCl	Frac-3
30	4,7	60	HCl	Frac-3
31	3,7	40	NaOH	Frac-3
32	5,7	40	NaOH	Frac-3
33	3,7	80	NaOH	Frac-3
34	5,7	80	NaOH	Frac-3
35	4,7	60	NaOH	Frac-3
36	4,7	60	NaOH	Frac-3

El cálculo del número de ensayos se realizó reemplazando los valores fijados para las variables ya definidas en la EC.2.

$$N^{\circ} \text{ ensayos} = (2^k + a) \cdot b \cdot c$$

(EC.2)

Dónde:

k: Número de variables numéricas (2).

a: Cantidad de puntos centrales por factorial (2).

b y c: Cantidad de niveles para cada una de las variables cualitativas (2 y 3).

➤ **Optimización de la biosorción de Cadmio (II) y Plomo (II) sobre endocarpio de aceituna pretratado.**

Delimitada la región de interés se procedió a la optimización simple de la biosorción de Cadmio (II) y Plomo (II), así como también la optimización dual para ambos metales. Para ello se elaboró una matriz de trabajo basada en un diseño central compuesto (DCC) tal y como se muestra en la Tabla 7 y 8. Los datos fueron procesados estadísticamente mediante la metodología de superficie de respuesta (MSR).

**Tabla 6. Niveles de variables consideradas en el diseño central compuesto (DCC) para la Optimización de Cadmio (II) y Plomo (II).**

Variables		Niveles	
		-1	1
<b>X1</b>	pH	3,7	5,7
<b>X2</b>	Concentración, ppm	40	80

Al descartar las variables cualitativas se elaboró la matriz del DCC tomando en cuenta los valores máximos (1) y mínimos (-1) para las variables numéricas. Después, se añadió igualmente los puntos centrales (0) además de los axiales (valores por encima del máximo y valores por debajo del mínimo) para extender aún más la zona de trabajo y analizar las posibles tendencias; estos axiales se calculan con factores ya determinados (-1,4 y 1,4) tanto para el pH (3,3 y 6,1) como la concentración inicial (31,7 y 88,3), como se observa en la Tabla 8.

**Tabla 7. Matriz de trabajo obtenida del diseño central compuesto con todas las combinaciones posibles de los niveles de cada variable.**

Ensayo	Variables codificadas		Variables reales	
	pH	Concentración	pH	Concentración, ppm
1	-1	-1	3,7	40
2	1	-1	5,7	40
3	-1	1	3,7	80
4	1	1	5,7	80
5	0	0	4,7	60
6	0	0	4,7	60
7	-1,4	0	3,3	60
8	1,4	0	6,1	60
9	0	-1,4	4,7	31,7
10	0	1,4	4,7	88,3
11	0	0	4,7	60
12	0	0	4,7	60

➤ **Competición entre Cadmio (II) y Plomo (II)**

Debido a la notable diferencia entre la cantidad de Cadmio (II) y la de Plomo (II) adsorbida, se planteó la interrogante del motivo por el cual esto estuvo ocurriendo llevándonos a deducir que probablemente existía un tipo de competición entre ambos iones metálicos. Por lo tanto, se procedió a realizar experimentos donde se analizó la biosorción de Cadmio (II) y Plomo (II) en sistemas separados con las condiciones óptimas y fijadas para el sistema pero con la variación de que en cada beaker con 50 mL de solución se agregó un solo metal.

➤ **Modelamiento teórico para la técnica de biosorción para la remoción de Cadmio (II) y Plomo (II)**

Se utilizó las ecuaciones de optimización de Cadmio (II) y Plomo (II) que permitió encontrar las probables concentraciones a las que se podría llegar si se usa un determinado pH y una determinada concentración inicial.

## CAPÍTULO III

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1. Procesamiento de la Muestra

La muestra fue recolectada y procesada antes de su utilización. Debido a que ésta presentó restos de la pulpa (materia orgánica y grasa) de aceituna se le introdujo en agua y se hizo hervir durante 1 hora y luego se lavó con agua potable. Para eliminar compuestos grasos sólo se utilizó agua hirviendo pudiendo utilizar solventes orgánicos pero se decidió no usarlos porque podían modificar la superficie del material biosorbente y por tanto también la capacidad de biosorción de éste. Sin embargo, Calero *et al.*<sup>50</sup> determinó que el hexano no produce efectos en el hueso de aceituna que puedan alterar su superficie con el aumento o disminución de los grupos activos, que son quienes interaccionan y captan los iones metálicos. No obstante, otro impedimento del uso de estos fue el costo en su aplicación a gran escala, debido a que sólo en laboratorio ya es elevado.

Posteriormente las muestras fueron secadas al aire libre para facilitar su trituración y la consiguiente eliminación de la semilla. La trituración se realizó mediante métodos mecánicos y luego se utilizó una licuadora para obtener partículas de menor tamaño.

#### 3.2. Análisis Granulométrico

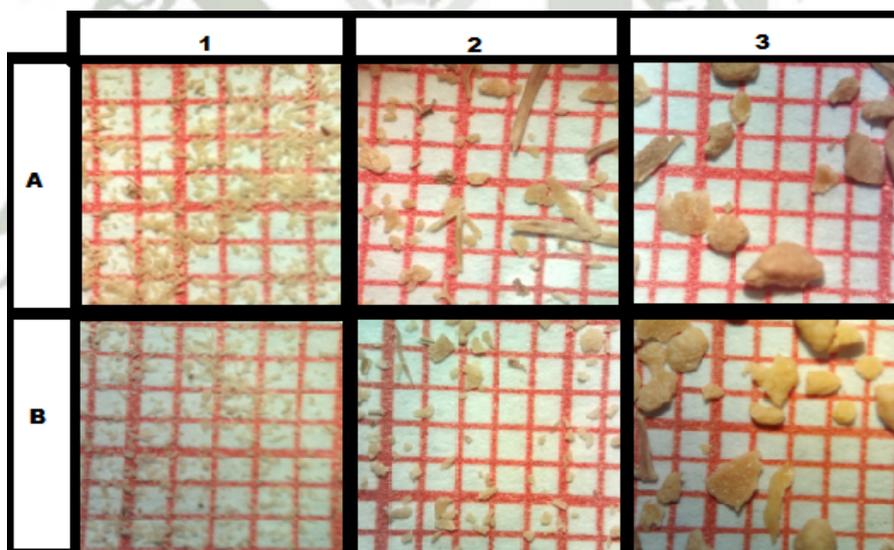
La muestra se separó por diferencia de tamaño utilizando cuatro diferentes tamices A.S.T.M. de N° 16, 40, 100 y 200 (ordenados de mayor a menor tamaño de malla), cuyo rango de valores ( $\mu\text{m}$  y  $\text{mm}$ ) para cada uno de estos tamices se puede apreciar en la Tabla 9.

Luego las muestras fueron debidamente almacenadas (a temperatura ambiente) según las fracciones obtenidas después del tamizado en bolsas con cierre hermético (Ziploc), previamente rotuladas hasta su utilización.

**Tabla 8. Tamaño de partícula de las diferentes fracciones obtenidas en el análisis granulométrico.**

FRACCIONES	TAMAÑO DE PARTÍCULA	
	UNIDAD	VALOR
0	$\mu\text{m}$	< 75
1	$\mu\text{m}$	75-150
2	$\mu\text{m}$	150-425
3	$\mu\text{m}$	425-1,8
4	mm	> 1,8

Las fracciones 1, 2 y 3 pretratadas con NaOH y HCl, fueron observadas al estereoscopio y la estructura que éstas presentaron se muestra en la figura 9:



**Figura 9. Endocarpio de aceituna observado en Estereoscopio.**

Donde, A: Tratamiento con NaOH; B: Tratamiento con HCl; 1: Fracción 1, 2: fracción 2, 3: Fracción 3.

### 3.3. Pretratamiento de la Muestra

Con el endocarpio ya triturado y separado en diferentes fracciones como muestra la Tabla 9, se realizó el pretratamiento con ácido (HCl) y base (NaOH) de las fracciones a utilizar en el presente trabajo (Fracción 1, 2 y 3) basándonos en la metodología de Calero *et al.*<sup>50</sup> que trató al hueso de aceituna también con NaOH y HCl entre otros, para evaluar el efecto de diferentes tratamientos químicos del hueso de aceituna en la capacidad de biosorción de éste. Cada una de éstas tuvo un peso aproximado de 20 g tomando en cuenta esto, se utilizó 10 g para el tratamiento básico y 10 g para el tratamiento ácido.

En un frasco de plástico se añadió 1000 mL de una solución de NaOH 0,1 M y se agregó 10 g de la Fracción 1, en otro frasco conteniendo 1000 mL de HCl 0,1 M se añadió los 10 g restantes de Fracción 1. Ambos frascos se dejaron en reposo durante 24 horas a temperatura ambiente. El proceso anteriormente descrito para la Fracción 1 se repitió para las Fracciones 2 y 3.

Pasadas las 24 horas, se filtró al vacío las fracciones pretratadas para eliminar la solución de ácido o base con que estuvieron en contacto y se lavó con agua destilada hasta que el agua de los lavados alcanzó un pH neutro, según Calero *et al.*<sup>50</sup>.

El endocarpio obtenido en papel filtro fue llevado a una estufa para su secado (a 60 °C de temperatura por 90 min). Finalmente, cada muestra seca fue colocada en una nueva bolsa Ziploc rotulada hasta su uso.

### 3.4. Preparación de Soluciones

Cada solución fue preparada con agua destilada y agua ultrapura según la metodología ya descrita, con materiales de laboratorio debidamente lavados y secos. El material de vidrio que se usó fue el más indicado para evitar errores en las mediciones de volumen, de igual manera los instrumentos. El pH de las soluciones se midió con un pHmetro. Posteriormente, todas las soluciones preparadas se almacenaron en diferentes frascos de plástico que fueron debidamente rotulados.

### 3.5. Cinética de la biosorción

El pH es un parámetro muy importante en la biosorción; los estudios realizados previamente indican que a un pH ácido inferior a 5 la biosorción disminuye debido a un aumento en la competición de los iones metálicos de Cadmio (II) y Plomo (II) con los protones ( $H^+$ ) por los sitios activos en la superficie del biosorbente; sin embargo a pH alcalino por encima de 9 se produce una precipitación de los iones metálicos en forma de hidróxidos<sup>51</sup>. Debido a que este parámetro se tiene como una variable dentro del diseño experimental, se utilizó un buffer que permitió mantener constantes los valores de pH deseados durante todo el proceso de biosorción; por esto, se eligió el buffer acetato (rango: 3,7-5,7) y buffer citrato (rango: 3-6,2) por tener rangos de pH entre los deseados para poder realizar el experimento.

➤ **Determinación del porcentaje de remoción de Cadmio (II) y Plomo (II) con 0,5 g de biosorbente y buffer citrato 0,01 M**

Inicialmente, se eligió el buffer citrato por tener un mayor rango de pH. Una vez determinado el valor de pH a utilizar en la cinética (valor central 4,5), se procedió a desarrollar los experimentos trabajando con 0,5 g de biosorbente. Se obtuvo los resultados que se muestran en la Tabla 10 luego de realizar el análisis voltamperométrico.

Según las condiciones tomadas en cuenta para la cinética de biosorción, se alcanzó un máximo porcentaje de remoción de 64,8 % y una máxima capacidad de biosorción de 1,7 mg/g para el Cadmio (II); sin embargo, para la biosorción de Plomo (II) estos valores fueron 48,1 % y 1,6 mg/g respectivamente. Por lo tanto, en cuanto a capacidad de biosorción del endocarpio pretratado con NaOH tanto para Cadmio (II) como para Plomo (II) es casi similar. Cabe mencionar que con este buffer el pH variaba en 0,5 unidades durante el proceso pero cuando se decidió preparar la solución stock de nitrato de Cadmio y nitrato de Plomo con  $HNO_3$  0,5 % (concentración de las soluciones patrón de Cadmio (II) y Plomo (II) para las lecturas voltamperométricas) la variación fue aún mayor de 1,5 unidades aproximadamente.

**Tabla 9. Cantidad adsorbida, porcentaje de remoción y capacidad de biosorción obtenidos en la cinética de biosorción para Cadmio (II) y Plomo (II) con 0,5 g de biosorbente utilizando buffer citrato 0,01 M.**

Tiempo, min.	Concentración Inicial, ppm.		Porcentaje de remoción, %		Capacidad de Biosorción, mg/g	
	Cd (II)	Pb (II)	Cd (II)	Pb (II)	Cd (II)	Pb (II)
0	26,9	33,7	0	0	0	0
10	11,1	21,8	59,0	35,5	1,6	1,2
20	10,7	20,8	60,3	38,5	1,6	1,3
30	9,5	17,5	64,8	48,2	1,7	1,6
50	11,1	19,4	59,1	42,6	1,6	1,4
70	11,2	19,1	58,3	43,5	1,6	1,5
90	11,5	18,8	57,3	44,2	1,5	1,5

- **Comparación del porcentaje de remoción de Cadmio (II) y Plomo (II) con 0,5 y 1 g de biosorbente y buffer citrato 0,01 M.**

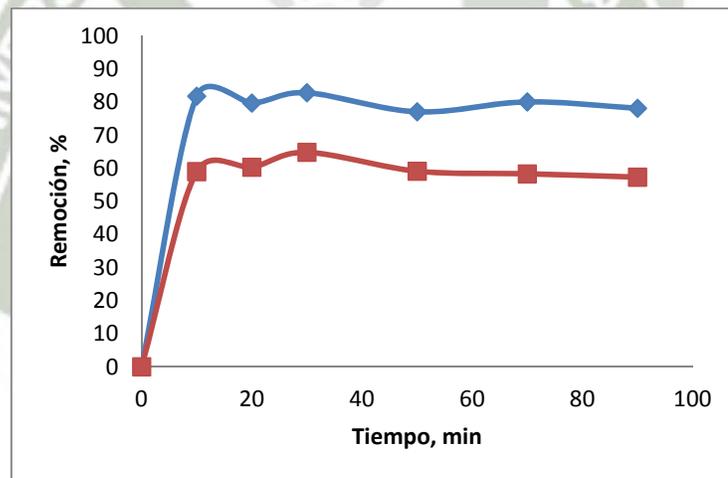
Las lecturas en el voltamperómetro de los experimentos donde se utilizó 1 g de biosorbente, mostraron los resultados resumidos en la Tabla 11.

**Tabla 10. Cantidad adsorbida, porcentaje de remoción y capacidad de biosorción obtenidos en la cinética de biosorción para Cadmio (II) y Plomo (II) con 1 g de biosorbente utilizando buffer citrato 0,01 M.**

Tiempo, min.	Concentración Inicial, ppm.		Porcentaje de remoción, %		Capacidad de Biosorción, mg/g	
	Cd (II)	Pb (II)	Cd (II)	Pb (II)	Cd (II)	Pb (II)
0	38,1	44,6	0	0	0	0
10	6,9	17,9	81,8	59,8	3,1	2,7
20	7,7	17,2	79,7	61,4	3,0	2,7
30	6,5	13,8	82,8	68,9	3,2	3,1
50	8,7	15,3	77,1	65,6	2,9	2,9
70	7,6	14,6	80,1	67,3	3,0	3,0
90	8,3	15,6	78,1	65,1	3,0	2,9

El máximo porcentaje de remoción para Cadmio (II) que se logró fue de 82,8 % y para el Plomo (II) se alcanzó un 68,9 % lo que indicó que cuando se trabaja con un buffer citrato, la biosorción fue mayor para Cadmio (II) que para el Plomo (II) mostrando una diferencia de 13,9 % entre ambos. Resultados similares encontró Hidalgo *et al.* (2010)<sup>4</sup>, cuando observó que la capacidad máxima del aserrín de pino para adsorber Cadmio (II) fue mayor a la presentada para el Plomo (II) y; Prasad *et al.* (2000)<sup>60</sup> al utilizar la planta *Quercus ilex* para la biosorción de metales tóxicos logró también una mayor biosorción de Cadmio (II) en comparación con la de Plomo (II).

A simple vista podemos decir que la remoción de los metales pesados utilizados en el sistema, cuando se usó 1 g de endocarpio, es mayor. Sin embargo, la prioridad de este trabajo fue optimizar el proceso reduciendo factores que puedan generar mayor inversión. Los resultados obtenidos cuando se utilizó 0,5 g y 1 g de endocarpio de aceituna se pueden observar en la Gráfica 1 y 2.

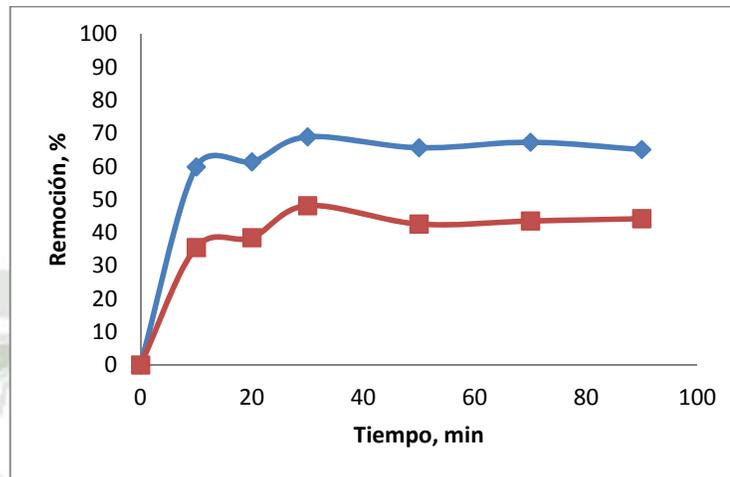


**Gráfica 1. Gráfica Comparativa del proceso de biosorción para remover Cadmio (II) con 0,5 y 1 g de biosorbente.**

Dónde, —●— : 1 g endocarpio de aceituna y —■— : 0,5 g endocarpio de aceituna.

El proceso de biosorción que trabajó con 1 g de biosorbente alcanzó un porcentaje máximo de remoción para el Cadmio (II) de 82,8 % y para el Plomo (II) de 68,9 %; y cuando se usó 0,5 g logró un porcentaje máximo de remoción para el Cadmio (II) de 64,8 % y para el Plomo (II) de 48,2 %. Por lo tanto, al utilizar 1 g de biosorbente se

consiguió un 18,0 % más de remoción de Cadmio (II) que al usar sólo 0,5 g; y para el caso del Plomo (II), esa diferencia fue de 20,8 % de remoción.



**Gráfica 2. Gráfica Comparativa del proceso de biosorción para remover Plomo (II) con 0,5 g y 1 g de endocarpio de aceituna.**

Donde  : 1 g endocarpio de aceituna y  : 0,5 g endocarpio de aceituna.

➤ **Determinación de la cinética de biosorción de Cadmio (II) y Plomo (II) utilizando buffer acetato 0,1 M.**

Inicialmente, se eligió el buffer citrato por tener un rango de mayor amplitud pero un factor importante en el proceso fue mantener un pH constante durante todo el experimento. Debido a esto, se concentró el buffer citrato de 0,01 M a 0,1 M para evitar cualquier tipo de variación, sobre todo porque la solución stock de Cadmio (II) y Plomo (II) se preparó en  $\text{HNO}_3$  0,5 M y éste tendía a disminuir el pH de la solución ya que la concentración del ácido era más elevada que la concentración del buffer (0,01 M). Se realizó los experimentos según la matriz del diseño experimental (Anexo V) de forma aleatoria.

Al analizar los resultados obtenidos en la Tabla 12, se observó cantidades mínimas de biosorción; en el caso del Cadmio (II) arrojó en uno de los tratamientos un mínimo de 2,0 ppm y un máximo de 48,5 ppm de Cadmio (II) removidos o adsorbidos por el endocarpio de aceituna y para el caso del Plomo (II) se obtuvo una cantidad mínima de biosorción de 8,9 ppm y una máxima de 41,7 ppm. A partir de éstos se dedujo

que en el sistema probablemente tanto el Cadmio (II) como el Plomo (II) estarían reaccionando con los componentes del buffer citrato lo que posiblemente originó que el proceso de biosorción se realice inadecuadamente impidiendo que se alcance un elevado porcentaje de remoción.

**Tabla 11. Resultados y porcentaje de remoción obtenidos en la cinética de biosorción para Cadmio (II) y Plomo (II) con buffer citrato 0,1 M.**

Ensayo	Concentración inicial, ppm		Concentración final, ppm		Cantidad adsorbida, ppm	
	Cd (II)	Pb (II)	Cd (II)	Pb (II)	Cd (II)	Pb (II)
1	34,3	58,5	32,3	34,2	2,0	24,2
5	70,9	66,3	64,1	48,3	6,8	18,0
11	73,3	64,9	24,8	49,4	48,5	15,4
16	52,8	75,1	50,2	58,1	2,6	17,0
20	46,9	46,6	51,3	37,7	4,3	8,9
28	77,2	103,6	55,0	61,8	22,2	41,7

Por esto se optó por utilizar el buffer acetato 0,1 M y fue necesario realizar los ensayos de Cinética de biosorción por triplicado obteniendo los resultados de la Tabla 13. El máximo porcentaje de remoción que se obtuvo para Cadmio (II) y Plomo (II) fue 58,5 % y 83,5 % respectivamente.

Hidalgo *et al.* (2010)<sup>4</sup>, determinó la misma relación para la biosorción de Cadmio (II) y Plomo (II), observando que la capacidad de biosorción de Plomo (II) fue superior a la de Cadmio (II) usando alginato de calcio comparada frente a los resultados que obtuvo con el aserrín de pino; sin embargo, un año más tarde éste<sup>57</sup> utilizando también aserrín de pino, alcanzó valores máximos para la capacidad de biosorción para Cadmio (II) de 6,3 mg/g y para el Plomo (II), 10,8, lo que indicó una mayor preferencia por el Plomo (II). Así mismo, Bohli *et al.* (2013)<sup>67</sup>, obtuvo una mayor biosorción de Plomo (II) que de Cadmio (II), cabe resaltar que éste utilizó carbón activado de hueso de la aceituna como biosorbente.

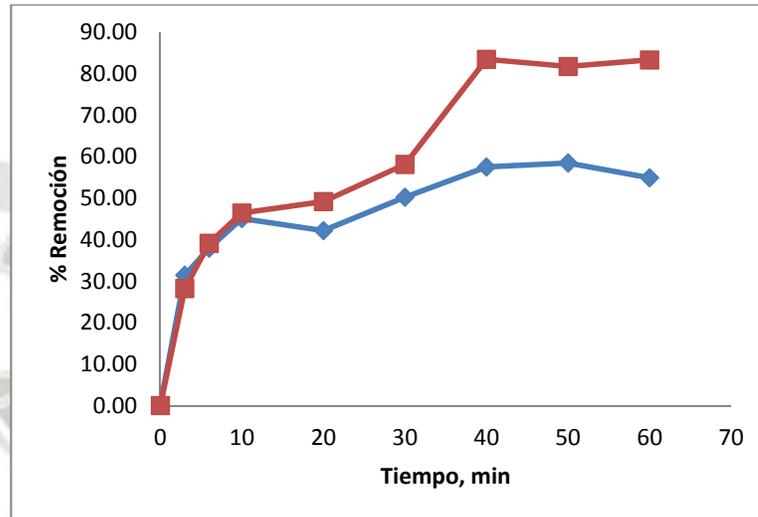
En este tipo de procesos importante encontrar el tiempo de contacto necesario para alcanzar el equilibrio; en la Gráficas 9 y 10 se puede observar que se produjo una remoción tanto de Cadmio (II) como de Plomo (II) de casi 50 % los primeros 10 min del experimento, luego en el caso del Cadmio (II) mejora un poco con el tiempo hasta alcanzar un porcentaje de casi 60 % cuando llega al equilibrio; en el caso del Plomo (II) se alcanza un 80 % de remoción después de 40 min, a partir de este tiempo se observa que se mantiene el porcentaje de remoción por lo que se puede decir que el tiempo de equilibrio se alcanza a partir de los 40 min. Igualmente, Hidalgo *et al.* (2011)<sup>59</sup> tomó un tiempo de contacto de 40 min a partir de los cuales indicó no existir mayor modificación en la biosorción. Por el contrario, Hidalgo *et al.* (2010)<sup>4</sup> y Alsiaibi T.M. *et al.* (2013)<sup>58</sup> determinaron un tiempo de contacto de 5 min utilizando alginato de calcio para la biosorción de Plomo (II) y Cadmio (I), y 7 min usando carbón activado de hueso de aceituna par la biosorción de Cadmio (II)

**Tabla 12. Resultados de la cinética de biosorción y porcentaje de remoción para Cadmio (II) y Plomo (II) con buffer acetato 0,1 M.**

Tiempo, min	Concentración, ppm		Porcentaje de remoción, %	
	Cd (II)	Pb (II)	Cd (II)	Pb (II)
0	38,0	36,6	0	0
3	26,1	26,2	31,4	28,2
6	23,6	22,3	38,0	39,1
10	20,9	19,6	45,1	46,4
20	22,0	18,6	42,2	49,2
30	18,9	15,3	50,2	58,2
40	16,1	6,0	57,5	83,5
50	15,8	6,7	58,5	81,8
60	17,1	6,1	54,9	83,3

Donde, min: minuto; ppm: parte por millón (mg/L).

La rápida respuesta por parte de ambos iones metálicos que alcanzan un porcentaje de remoción de 50 % en los primeros 10 min (Gráfica 3), indica que estos iones se unen preferentemente a los sitios activos en la superficie del endocarpio de aceituna y que hay poca difusión dentro de la partícula biosorbente.



**Gráfica 3. Gráfica del Porcentaje de Remoción de Cadmio (II) y Plomo (II) con buffer acetato 0,1 M.**

Dónde,  : Cadmio  : Plomo

### 3.6. Ensayos de Biosorción

Una vez determinado el tiempo en el que se alcanza el equilibrio, se procedió a realizar los tratamientos siguiendo la matriz de diseño experimental multinivel de manera aleatoria y obteniendo los resultados contenidos en la Tabla 14.

Se apreció entre los resultados obtenidos una tendencia similar a la que se observó en la cinética de biosorción en cuanto al mayor porcentaje de remoción del Plomo (II) comparado con el Cadmio (II).

En las Tablas 15, 16, 17 y 18 se ordenaron los resultados obtenidos para la remoción de Cadmio (II) y Plomo (II) de acuerdo a las variables utilizadas en nuestro proceso, pudiendo comparar los resultados obtenidos con respecto a los niveles usados para cada una de éstas.

**Tabla 13. Resultados del análisis voltamperométrico para la biosorción de Cadmio (II) y Plomo (II) utilizando endocarpio de aceituna.**

Ensayo	VARIABLES				RESPUESTAS	
	pH	Concentración inicial, ppm	Pretratamiento	Tamaño de partícula	Cadmio (II) adsorbido, ppm	Plomo (II) adsorbido, ppm
1	3,7	40	HCl	Frac-1	1,82	22,66
2	5,7	40	HCl	Frac-1	13,35	24,31
3	3,7	80	HCl	Frac-1	14,55	36,03
4	5,7	80	HCl	Frac-1	36,59	36,47
5	4,7	60	HCl	Frac-1	14,16	22,5
6	4,7	60	HCl	Frac-1	15,39	37,24
7	3,7	40	NaoH	Frac-1	11,7	42,03
8	5,7	40	NaoH	Frac-1	17,65	41,82
9	3,7	80	NaoH	Frac-1	29,53	61,2
10	5,7	80	NaoH	Frac-1	32,22	59,47
11	4,7	60	NaoH	Frac-1	21,98	44,87
12	4,7	60	NaoH	Frac-1	20,36	47,79
13	3,7	40	HCl	Frac-2	-0,24	19,67
14	5,7	40	HCl	Frac-2	9,97	16,64
15	3,7	80	HCl	Frac-2	0,71	17,42
16	5,7	80	HCl	Frac-2	16,61	20,83
17	4,7	60	HCl	Frac-2	21,17	22,74
18	4,7	60	HCl	Frac-2	19,66	36,3
19	3,7	40	NaoH	Frac-2	18,26	45,54
20	5,7	40	NaoH	Frac-2	24,34	41,06
21	3,7	80	NaoH	Frac-2	18,89	49,98
22	5,7	80	NaoH	Frac-2	29,89	43,62
23	4,7	60	NaoH	Frac-2	25,14	49,37
24	4,7	60	NaoH	Frac-2	29,24	46,96
25	3,7	40	HCl	Frac-3	1,13	27,74
26	5,7	40	HCl	Frac-3	4,67	17,4
27	3,7	80	HCl	Frac-3	1,89	10,28
28	5,7	80	HCl	Frac-3	14,96	4,06
29	4,7	60	HCl	Frac-3	14,25	23,42
30	4,7	60	HCl	Frac-3	6,33	19,08
31	3,7	40	NaoH	Frac-3	13,08	34,36
32	5,7	40	NaoH	Frac-3	19,24	19,35
33	3,7	80	NaoH	Frac-3	14,66	29,41
34	5,7	80	NaoH	Frac-3	24,4	11,94
35	4,7	60	NaoH	Frac-3	18,82	36,28
36	4,7	60	NaoH	Frac-3	19,88	41,81

**Tabla 14. Resultados del análisis voltamperométrico para la biosorción de Cadmio (II) y Plomo (II) utilizando endocarpio de aceituna en base al pH utilizado.**

Ensayo	VARIABLES				RESPUESTAS	
	pH	Concentración inicial, ppm	Pretratamiento	Tamaño de partícula	Cadmio (II) adsorbido, ppm	Plomo (II) adsorbido, ppm
1	3,7	40	HCl	Frac-1	1,82	22,66
3	3,7	80	HCl	Frac-1	14,55	36,03
7	3,7	40	NaoH	Frac-1	11,7	42,03
9	3,7	80	NaoH	Frac-1	29,53	61,2
13	3,7	40	HCl	Frac-2	-0,24	19,67
15	3,7	80	HCl	Frac-2	0,71	17,42
19	3,7	40	NaoH	Frac-2	18,26	45,54
21	3,7	80	NaoH	Frac-2	18,89	49,98
25	3,7	40	HCl	Frac-3	1,13	27,74
27	3,7	80	HCl	Frac-3	1,89	10,28
31	3,7	40	NaoH	Frac-3	13,08	34,36
33	3,7	80	NaoH	Frac-3	14,66	29,41
5	4,7	60	HCl	Frac-1	14,16	22,5
11	4,7	60	NaoH	Frac-1	21,98	44,87
17	4,7	60	HCl	Frac-2	21,17	22,74
23	4,7	60	NaoH	Frac-2	25,14	49,37
29	4,7	60	HCl	Frac-3	14,25	23,42
35	4,7	60	NaoH	Frac-3	18,82	36,28
2	5,7	40	HCl	Frac-1	13,35	24,31
4	5,7	80	HCl	Frac-1	36,59	36,47
8	5,7	40	NaoH	Frac-1	17,65	41,82
10	5,7	80	NaoH	Frac-1	32,22	59,47
14	5,7	40	HCl	Frac-2	9,97	16,64
16	5,7	80	HCl	Frac-2	16,61	20,83
20	5,7	40	NaoH	Frac-2	24,34	41,06
22	5,7	80	NaoH	Frac-2	29,89	43,62
26	5,7	40	HCl	Frac-3	4,67	17,4
28	5,7	80	HCl	Frac-3	14,96	4,06
32	5,7	40	NaoH	Frac-3	19,24	19,35
34	5,7	80	NaoH	Frac-3	24,4	11,94

**Tabla 15. Resultados del análisis voltamperométrico para la biosorción de Cadmio (II) y Plomo (II) utilizando endocarpio de aceituna en base a la Concentración Inicial utilizada.**

Ensayo	VARIABLES				RESPUESTAS	
	Concentración inicial, ppm	pH	Pretratamiento	Tamaño de partícula	Cadmio (II) adsorbido, ppm	Plomo (II) adsorbido, ppm
1	40	3,7	HCl	Frac-1	1,82	22,66
2	40	5,7	HCl	Frac-1	13,35	24,31
7	40	3,7	NaoH	Frac-1	11,7	42,03
8	40	5,7	NaoH	Frac-1	17,65	41,82
13	40	3,7	HCl	Frac-2	-0,24	19,67
14	40	5,7	HCl	Frac-2	9,97	16,64
19	40	3,7	NaoH	Frac-2	18,26	45,54
20	40	5,7	NaoH	Frac-2	24,34	41,06
25	40	3,7	HCl	Frac-3	1,13	27,74
26	40	5,7	HCl	Frac-3	4,67	17,4
31	40	3,7	NaoH	Frac-3	13,08	34,36
32	40	5,7	NaoH	Frac-3	19,24	19,35
5	60	4,7	HCl	Frac-1	14,16	22,5
11	60	4,7	NaoH	Frac-1	21,98	44,87
17	60	4,7	HCl	Frac-2	21,17	22,74
23	60	4,7	NaoH	Frac-2	25,14	49,37
29	60	4,7	HCl	Frac-3	14,25	23,42
35	60	4,7	NaoH	Frac-3	18,82	36,28
3	80	3,7	HCl	Frac-1	14,55	36,03
4	80	5,7	HCl	Frac-1	36,59	36,47
9	80	3,7	NaoH	Frac-1	29,53	61,2
10	80	5,7	NaoH	Frac-1	32,22	59,47
15	80	3,7	HCl	Frac-2	0,71	17,42
16	80	5,7	HCl	Frac-2	16,61	20,83
21	80	3,7	NaoH	Frac-2	18,89	49,98
22	80	5,7	NaoH	Frac-2	29,89	43,62
27	80	3,7	HCl	Frac-3	1,89	10,28
28	80	5,7	HCl	Frac-3	14,96	4,06
33	80	3,7	NaoH	Frac-3	14,66	29,41
34	80	5,7	NaoH	Frac-3	24,4	11,94

**Tabla 16. Resultados del análisis voltamperométrico para la biosorción de Cadmio (II) y Plomo (II) utilizando endocarpio de aceituna en base al Pretratamiento utilizado.**

Ensayo	VARIABLES				RESPUESTAS	
	Pretratamiento	pH	Concentración inicial, ppm	Tamaño de partícula	Cadmio (II) adsorbido, ppm	Plomo (II) adsorbido, ppm
1	HCl	3,7	40	Frac-1	1,82	22,66
2	HCl	5,7	40	Frac-1	13,35	24,31
3	HCl	3,7	80	Frac-1	14,55	36,03
4	HCl	5,7	80	Frac-1	36,59	36,47
5	HCl	4,7	60	Frac-1	14,16	22,5
13	HCl	3,7	40	Frac-2	-0,24	19,67
14	HCl	5,7	40	Frac-2	9,97	16,64
15	HCl	3,7	80	Frac-2	0,71	17,42
16	HCl	5,7	80	Frac-2	16,61	20,83
17	HCl	4,7	60	Frac-2	21,17	22,74
25	HCl	3,7	40	Frac-3	1,13	27,74
26	HCl	5,7	40	Frac-3	4,67	17,4
27	HCl	3,7	80	Frac-3	1,89	10,28
28	HCl	5,7	80	Frac-3	14,96	4,06
29	HCl	4,7	60	Frac-3	14,25	23,42
7	NaoH	3,7	40	Frac-1	11,7	42,03
8	NaoH	5,7	40	Frac-1	17,65	41,82
9	NaoH	3,7	80	Frac-1	29,53	61,2
10	NaoH	5,7	80	Frac-1	32,22	59,47
11	NaoH	4,7	60	Frac-1	21,98	44,87
19	NaoH	3,7	40	Frac-2	18,26	45,54
20	NaoH	5,7	40	Frac-2	24,34	41,06
21	NaoH	3,7	80	Frac-2	18,89	49,98
22	NaoH	5,7	80	Frac-2	29,89	43,62
23	NaoH	4,7	60	Frac-2	25,14	49,37
31	NaoH	3,7	40	Frac-3	13,08	34,36
32	NaoH	5,7	40	Frac-3	19,24	19,35
33	NaoH	3,7	80	Frac-3	14,66	29,41
34	NaoH	5,7	80	Frac-3	24,4	11,94
35	NaoH	4,7	60	Frac-3	18,82	36,28

**Tabla 17. Resultados del análisis voltamperométrico para la biosorción de Cadmio (II) y Plomo (II) utilizando endocarpio de aceituna en base al tamaño de partícula utilizado.**

Ensayo	VARIABLES				RESPUESTAS	
	Tamaño de partícula	pH	Concentración inicial, ppm	Pretratamiento	Cadmio (II) adsorbido, ppm	Plomo (II) adsorbido, ppm
1	Frac-1	3,7	40	HCl	1,82	22,66
2	Frac-1	5,7	40	HCl	13,35	24,31
3	Frac-1	3,7	80	HCl	14,55	36,03
4	Frac-1	5,7	80	HCl	36,59	36,47
5	Frac-1	4,7	60	HCl	14,16	22,5
7	Frac-1	3,7	40	NaoH	11,7	42,03
8	Frac-1	5,7	40	NaoH	17,65	41,82
9	Frac-1	3,7	80	NaoH	29,53	61,2
10	Frac-1	5,7	80	NaoH	32,22	59,47
11	Frac-1	4,7	60	NaoH	21,98	44,87
13	Frac-2	3,7	40	HCl	-0,24	19,67
14	Frac-2	5,7	40	HCl	9,97	16,64
15	Frac-2	3,7	80	HCl	0,71	17,42
16	Frac-2	5,7	80	HCl	16,61	20,83
17	Frac-2	4,7	60	HCl	21,17	22,74
19	Frac-2	3,7	40	NaoH	18,26	45,54
20	Frac-2	5,7	40	NaoH	24,34	41,06
21	Frac-2	3,7	80	NaoH	18,89	49,98
22	Frac-2	5,7	80	NaoH	29,89	43,62
23	Frac-2	4,7	60	NaoH	25,14	49,37
25	Frac-3	3,7	40	HCl	1,13	27,74
26	Frac-3	5,7	40	HCl	4,67	17,4
27	Frac-3	3,7	80	HCl	1,89	10,28
28	Frac-3	5,7	80	HCl	14,96	4,06
29	Frac-3	4,7	60	HCl	14,25	23,42
31	Frac-3	3,7	40	NaoH	13,08	34,36
32	Frac-3	5,7	40	NaoH	19,24	19,35
33	Frac-3	3,7	80	NaoH	14,66	29,41
34	Frac-3	5,7	80	NaoH	24,4	11,94
35	Frac-3	4,7	60	NaoH	18,82	36,28

### 3.7. Análisis Voltamperométrico

La introducción de las muestras en el voltamperómetro se realizó con micropipetas Eppendorf (20- 200  $\mu\text{L}$ , 100-1000  $\mu\text{L}$ ) y tips para evitar errores en el volumen debido a que el equipo detecta hasta concentraciones en ppb (partes por billón).

Los resultados que presentó el voltagrama fueron posteriormente recalculados en hojas de Excel para facilitar el cálculo, debido a que se utilizó diluciones de las muestras, convertir a las unidades en las que se deseaba, encontrar las cantidades adsorbidas de cada metal, hallar el porcentaje de remoción y la capacidad de biosorción del endocarpio para remover Cadmio (II) y Plomo (II).

### 3.8. Determinación de la Superficie Específica

Los resultados de la superficie específica de cada fracción utilizada en el experimento se muestran en la Tabla 19, ésta muestra una mayor superficie específica a menor tamaño de partícula tanto en el pretratamiento con NaOH como en el de HCl; por otro lado se determinó una mayor superficie específica por parte de las fracciones pretratadas con NaOH en comparación con las fracciones pretratadas con HCl. Los datos obtenidos coinciden con resultados de la biosorción, ya que a mayor superficie específica mayor capacidad de biosorción.

**Tabla 18. Superficie específica de las fracciones de endocarpios pretratados.**

	<b>Superficie Específica, <math>\text{m}^2/\text{g}</math></b>
<b>F1 NaOH</b>	130,5
<b>F2 NaOH</b>	27,1
<b>F3 NaOH</b>	23,4
<b>F1 HCl</b>	24,9
<b>F2 HCl</b>	17,1
<b>F3 HCl</b>	4,7

Dónde, F1: fracción 1, F2: fracción 2, F3: fracción 3.

Por lo tanto, el área de superficie específica de la fracción 1 con la que se obtuvo los mejores resultados fue de  $130,5 \text{ m}^2/\text{g}$ . Sin embargo, Kula *et al.* (2008)<sup>61</sup>, demostró que los carbones activados contienen gran área de superficie sobre todo tras la activación química del hueso de aceituna con  $\text{ZnCl}_2$  (agente activador), encontrando que el área de superficie específica para el carbón activado fue  $790,3 \text{ m}^2/\text{g}$ . Por otro lado, Martínez *et al.* (2013)<sup>62</sup>, determinó el área superficial del liofolizado de raíces de *Eichhornia crassipes* y *Typha latifolia* ( $3,0$  y  $3,1 \text{ m}^2/\text{g}$  respectivamente) para evaluar su capacidad de adsorber Zinc (II) y Cadmio (II), encontrando que estos valores fueron aún mayores que otros biosorbentes encontrados en la literatura.

### 3.9. Análisis Estadístico

La matriz experimental desarrollada (Tabla 6) contempló los niveles previamente señalados para cada una de las variables; con los valores experimentales de las respuestas (cantidades adsorbidas), se analizó los resultados obtenidos para cada metal, permitiendo identificar los factores e interacciones significativos para el sistema así como la región de interés en la cual se realizó la optimización respectiva.

En cuanto a la biosorción de Cadmio (II), se realizó un análisis (Anexo VI) identificando que los factores principales: pH, concentración inicial, pretratamiento y tamaño de partícula fueron significativos en el sistema estudiado, así como también las interacciones concentración-tamaño de partícula (BD) y pH-pretratamiento (AC) tal y como se muestra en la Tabla 20 y Gráfica 4. Se identificó además un valor de R-cuadrado de  $83,2 \%$  y un R-cuadrado ajustado de  $72 \%$ , con un error estándar de  $2,7$ . Con respecto al R-cuadrado, nos hemos fijado en el R-cuadrado ajustado porque éste aumenta a medida que el sistema sea más específico, en cambio el R-cuadrado se incrementa a razón del aumento del número de variables en el sistema.

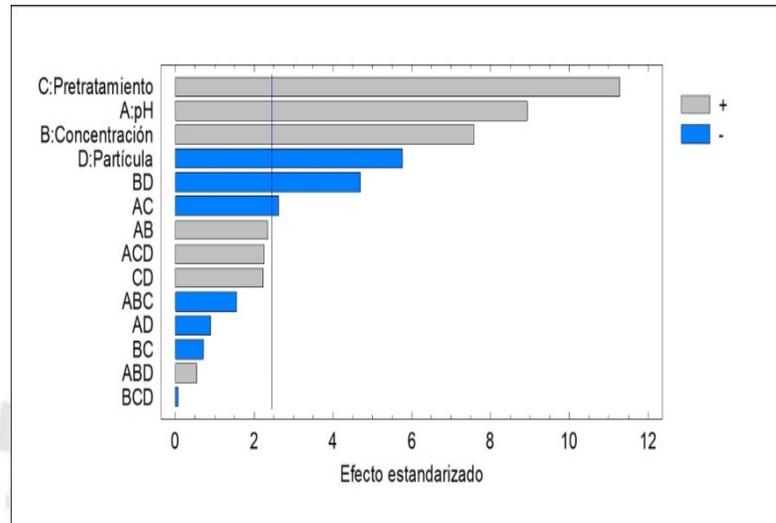
La variable que más influyó en el proceso de biosorción fue el pretratamiento coincidiendo el trabajo de Martín-Lara *et al.* (2013)<sup>42</sup> donde obtuvo una mayor biosorción de Plomo (II) utilizando endocarpio de aceituna como biosorbente cuando se le realiza un tratamiento básico o ácido en comparación con el endocarpio de aceituna sin tratar.

**Tabla 19. Nivel de significación en el modelo de primer orden para Cadmio (II).**

Fuente	Valor-P
A: pH	0,0001
B: Concentración	0,0003
C: Pretratamiento	0
D: Partícula	0,0012
AB	0,0573
AC	0,0392
AD	0,4027
BC	0,5078
BD	0,0033
CD	0,0684
ABC	0,1715
ABD	0,6061
ACD	0,0656
BCD	0,9475
Falta de ajuste	0,0416

El diagrama de Pareto (Gráfica 4) permite observar en qué medida afectó cada variable al sistema de biosorción con el que se trabajó. La influencia de éstas al ordenarlas de forma decreciente inició con el pretratamiento del biosorbente seguido del pH, a continuación la concentración inicial, luego el tamaño de partícula y finalmente el sinergismo entre la concentración inicial y el tamaño de partícula.

Resultados similares al tamaño de partícula encontró Saikaew *et al.* (2009)<sup>69</sup>, al indicar que los diferentes tamaños de partículas de cáscara de maíz usados como biosorbente tuvieron un mínimo efecto en la remoción de iones de Cadmio (II).

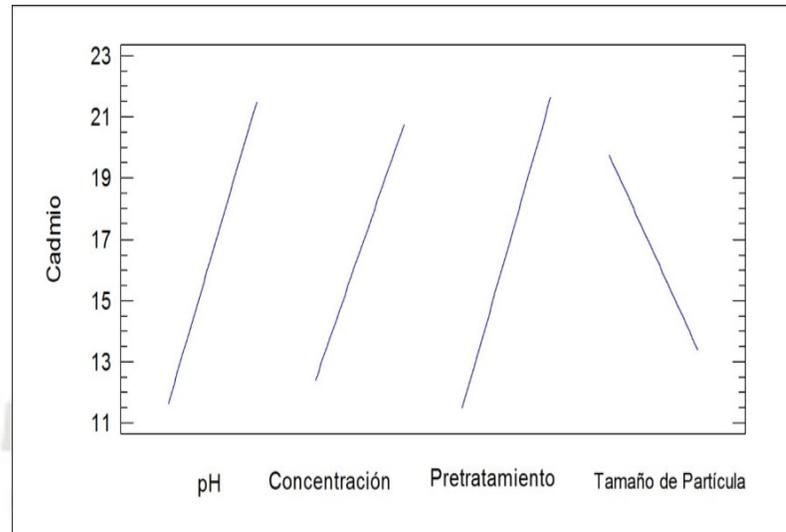


**Gráfica 4. Diagrama de Pareto estandarizado para Cadmio (II).**

Por su parte la Gráfica de efectos principales (Gráfica 5), evidenció la fuerte influencia de las cuatro variables sobre el sistema, identificándose una tendencia positiva para pH, concentración inicial y pretratamiento, es decir que se obtendrá mayor biosorción al aumentar el pH, al incrementar la concentración inicial, al utilizar un pretratamiento alcalino y al disminuir el tamaño de partícula; en este caso a un pH de 5,7, concentración inicial de 80 ppm y con el pretratamiento alcalino (NaOH).

Caso contrario la tendencia negativa del tamaño de partícula indicó que la mayor biosorción del metal (Cadmio (II)) se lleva a cabo a fracciones de menor tamaño de partícula, en nuestro caso, las comprendidas entre 75 y 150  $\mu\text{m}$ . Tales condiciones se comprobaron al analizar los resultados que arrojó el análisis voltamperométrico del ensayo número 10.

En cuanto al tamaño de partícula, Blázquez (2005)<sup>28</sup>, utilizó el hueso de aceituna como material biosorbente en la biosorción de Cadmio (II) empleando unos tamaños de partícula entre 0,4 y 0,3 mm, alcanzando una biosorción superior al 90 % e indicando que las interacciones dominantes generadas en el proceso son de tipo físico.

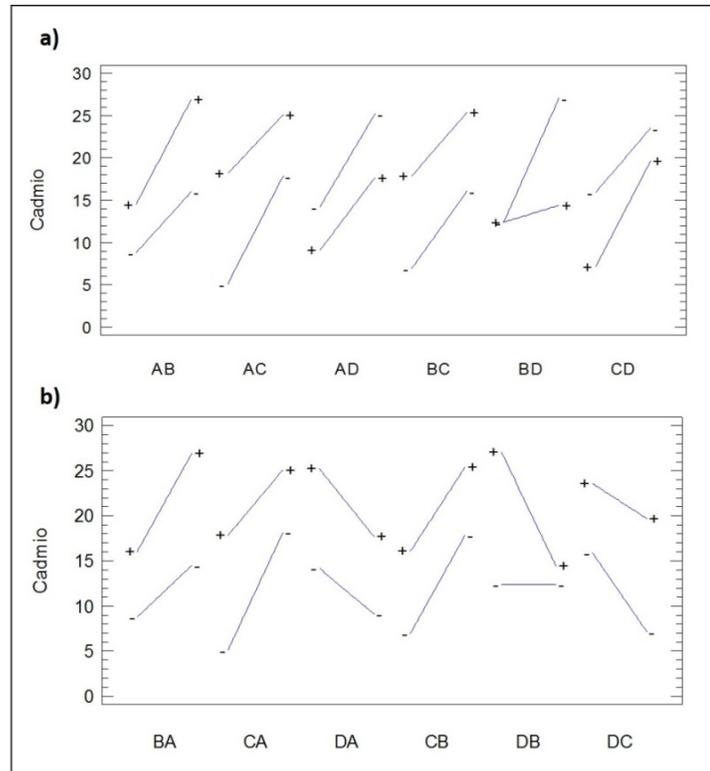


**Gráfica 5. Gráfica de efectos principales para Cadmio (II).**

Por otro lado, la Gráfica de interacciones para Cadmio (II) (Gráfica 6) mostró las interacciones que hay entre las variables utilizadas en el experimento; la interacción concentración-tamaño de partícula (BD) fue significativa, de la cual se infiere que si se trabaja a un tamaño de partícula de  $425 \mu\text{m}$  -1,8 mm (Fracción3) y se varía la concentración desde 40 a 80 ppm se obtiene una biosorción mayor, aumentando desde aproximadamente 12 a 14 ppm, pero si el sistema se desarrolla con la fracción de menor tamaño de partícula  $75\text{-}150 \mu\text{m}$  (Fracción1) y la concentración aumenta de 40 a 80 ppm la biosorción aumenta mucho más variando desde aproximadamente 12 a 27 ppm.

Caso contrario si fijamos la concentración en 40 ppm y pasamos de la Fracción 1 ( $75\text{-}150 \mu\text{m}$ ) a Fracción 3 ( $425 \mu\text{m}$  -1,8 mm), no se observa mayor cambio en la biosorción permaneciendo ésta en 12 ppm aproximadamente, asimismo se identifica el cambio significativo cuando se mantiene el sistema en una concentración de 80 ppm y se utiliza la Fracción 1, la biosorción aumenta en 13 ppm en comparación con la Fracción 3.

Por ello se infiere que es mejor trabajar a concentraciones elevadas (80 ppm) y menores tamaños de partículas ( $75\text{-}150 \mu\text{m}$ ), pues favorecen la biosorción.



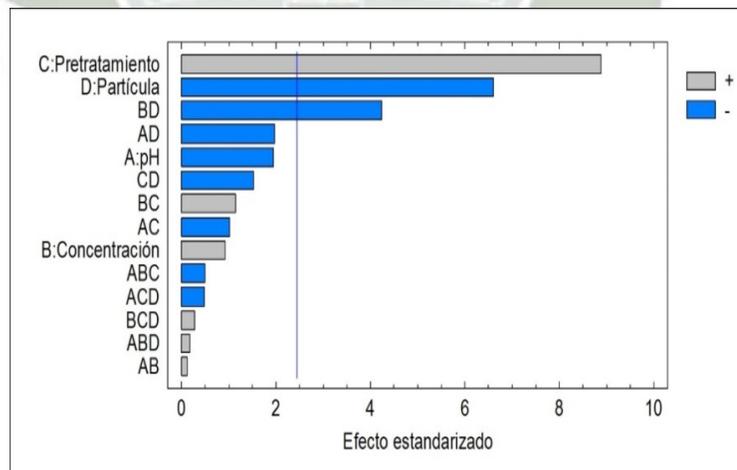
**Gráfica 6. Gráfica de interacciones para Cadmio (II).**

En el caso de la interacción pH-pretratamiento (AC) se observó que cuando se trabajó con endocarpio pretratado con HCl y se aumentó el pH de 3,7 a 5,7, la biosorción se incrementó de 5 a 18 ppm; sin embargo, al utilizar el endocarpio pretratado con NaOH, la biosorción pudo mejorar hasta alcanzar 25 ppm de Cadmio (II) adsorbido. Por otro lado, cuando se usó un pH 3,7 y el endocarpio pretratado con NaOH, se logró una biosorción máxima de 18 ppm; en cambio, al utilizar un pH 5,7 y el endocarpio pretratado con NaOH, la biosorción máxima alcanzada fue de 25 ppm.

Para la biosorción del Plomo (II) se efectuó el mismo análisis (Anexo VII) que para el Cadmio, identificando que los factores principales: pretratamiento y tamaño de partícula fueron significativos en el sistema estudiado, así como también la interacción concentración-tamaño de partícula (BD) tal y como se muestra en la Tabla 21 y Gráfica 7. Además, se identificó un valor de R cuadrado de 85,4% y un R-cuadrado ajustado de 75,6 %, con un error estándar de 6,2.

**Tabla 20. Nivel de significación en el modelo de primer orden para Plomo (II).**

Fuente	Valor-P
A:pH	0,0996
B:Concentración	0,3918
C:Pretratamiento	<b>0,0001</b>
D:Partícula	<b>0,0006</b>
AB	0,9126
AC	0,3461
AD	0,0956
BC	0,2974
BD	<b>0,0055</b>
CD	0,1757
ABC	0,6357
ABD	0,8658
ACD	0,6499
BCD	0,7836
Falta de ajuste	0,3686



**Gráfica 7. Diagrama de Pareto estandarizado para Plomo (II).**

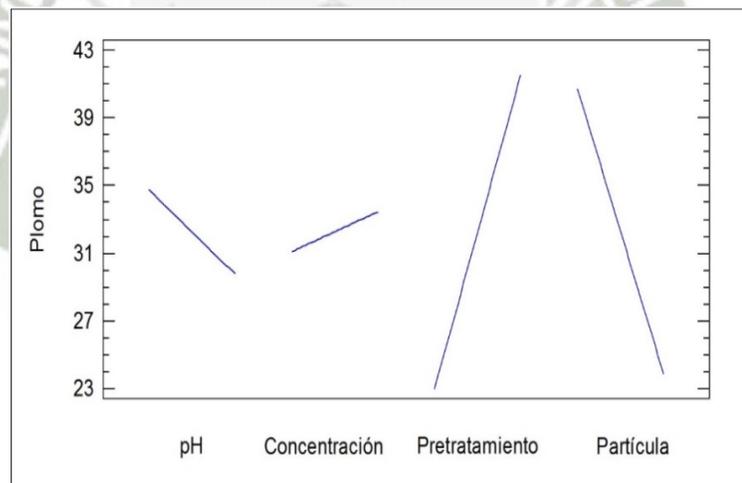
La variable que más influyó en el proceso fue el pretratamiento seguido del tamaño de partícula. Igualmente, Tapia P. *et al.* (2011)<sup>67</sup> determinó que el proceso de activación química (pretratamiento) incrementó en un 35 % la capacidad de biosorción de metales pesados por parte de las algas y en un 50 % la de los orujos, obteniéndose hipotéticamente los mejores resultados con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  que alcanzó eliminaciones superiores al 96 % con las algas y mayores al 55 % con los orujos y; Calero *et al.* (2010)<sup>50</sup> alcanzó la máxima capacidad de biosorción (3,58 mg/g) de Plomo (II) con el hueso tratado con NaOH. Además, Muñoz-Carpio J. C. *et al.* (2007)<sup>66</sup>, indicó que usando diferentes concentraciones de Plomo (II) se observó un rendimiento de remoción de Plomo (II) del 95 %, lo cual demostró la eficacia de usar un biosorbente pretratado.

La Gráfica de efectos principales mostrada en la Gráfica 8, evidenció una fuerte influencia de sólo dos variables sobre el sistema, identificándose una tendencia positiva para el pretratamiento, lo que significa que alcanzará una mayor absorción con el endocarpio pretratado con NaOH; así mismo, Blázquez, *et al.* (2013)<sup>57</sup> consiguió la mayor capacidad de biosorción (16, 247 mg/g) de Plomo (II) para el hueso tratado con NaOH utilizando 0,5 g de biosorbente, una solución total del sistema de 50 mL y a un pH de 5. Por el contrario, la tendencia negativa del tamaño de partícula indicó que la mayor adsorción del metal se llevó a cabo en la Fracción 1 (75 y 150  $\mu\text{m}$ ), efecto que se pudo observar de la misma forma en Cadmio. El mismo resultado obtuvo Muñoz-Carpio J. C. *et al.* (2007)<sup>66</sup> cuando concluyó que a menor tamaño de la partícula aumentaría la capacidad de biosorción y hay mayor capacidad de formar enlaces con el biosorbente. para el proceso de biosorción de Plomo (II).

También se observó una débil influencia del pH y concentración inicial, encontrándose una tendencia positiva para la concentración inicial lo que indica que al utilizar concentraciones elevadas se incrementa la biosorción pero no en gran proporción. Tenorio-Rivas G (2006)<sup>37</sup> obtuvo los mismos resultados cuando analizó la biosorción de Cromo (VI) utilizando hueso de aceituna y evidenció que la capacidad de retención de Cromo (VI) de éste y la capacidad de reducción, aumentó sensiblemente con el incremento de la concentración inicial, pasando de un valor de 1,61 mg/g y 0,99 mg/g respectivamente para una concentración inicial de 10 ppm a valores de 3,20 mg/g y

2,52 mg/g para 25 ppm. Igualmente, Hernáinz F. et al. (2009)<sup>27</sup>, acotó que el porcentaje retenido hasta alcanzar la saturación de la columna fue significativamente mayor cuando la concentración inicial de Plomo (II) es de 10 mg/L, a partir de la cual permaneció prácticamente constante. Sin embargo, la capacidad de biosorción del hueso de aceituna aumentó ligeramente al elevarse la concentración inicial de Plomo (II), hasta alcanzar un valor máximo de 2,02 mg/g para una concentración de Plomo (II) de 100 mg/L.

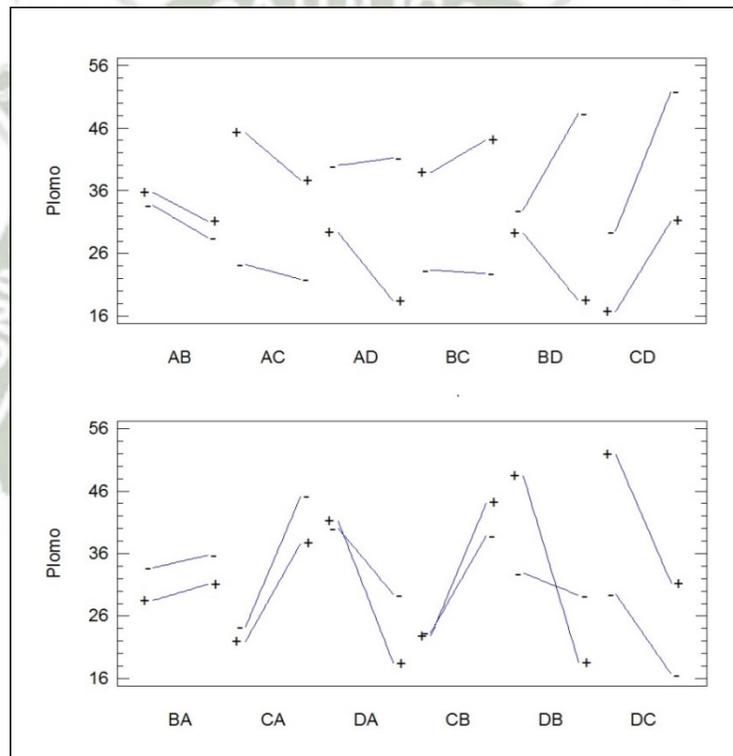
Por el contrario, el pH presentó una tendencia negativa que permite deducir que a menor valor de pH (3,7) la biosorción mejora pero no significativamente. Asimismo, Fiol N. et al.(2008)<sup>63</sup>, determinó que la remoción de metales se incrementa con el aumento del pH inicial de la solución y que a pH ácidos (1,5-2,5) la biosorción fue prácticamente cero pero se alcanzó porcentajes elevados de 85 % a pH entre 4 y 7 concluyendo que la biosorción de metales es dependiente del pH y que la máxima biosorción es probable que ocurra a pH inicial entre 5,5 y 6,0.



**Gráfica 8. Gráfica de efectos principales para Plomo (II).**

De la misma forma la Gráfica de interacciones para Plomo (II) (Gráfica 9) permitió evaluar la interacción concentración-tamaño de partícula (BD) que mostró mayor influencia, la cual indica que cuando se utiliza un tamaño de partícula mayor (Fracción 3, 425  $\mu\text{m}$  -1,8 mm) y se varía de la concentración desde 40 a 80 ppm se observa una disminución en la biosorción (de 30 a 18 ppm), pero si el sistema se desarrolla con el

menor tamaño de partícula (Fracción1, 75-150  $\mu\text{m}$ ) y la concentración va desde 40 a 80 ppm, la biosorción se incrementa en 14 ppm alcanzando un valor máximo de 48 ppm. Por el contrario, si se fija la concentración inicial en el menor valor (40 ppm) y pasamos de un tamaño de partícula Fracción 1 (75-150  $\mu\text{m}$ ) a Fracción 3 (425  $\mu\text{m}$  -1,8 mm), no hubo mucha variación en la biosorción; pero si se fija la mayor concentración (80 ppm) y de igual manera se pasa del tamaño de partícula de la Fracción 3 a la Fracción1, la biosorción aumenta significativamente y se obtiene un valor máximo de aproximadamente 46 ppm. Lo que permite deducir que la biosorción se ve favorecida cuando se trabaja con el tamaño de partícula de la Fracción 1 y con una concentración elevada (80 ppm).



**Gráfica 9. Gráfica de interacciones para Plomo (II).**

La interacción que también afecta el sistema pero en menor proporción es pH-tamaño de partícula (AD). En este caso cuando se trabajó con el mayor tamaño de partícula (Fracción 3: 425  $\mu\text{m}$  -1,8 mm) y se utilizó el menor pH (3,7) la biosorción se incrementó, alcanzando como máximo 30 ppm; pero al trabajar con el menor tamaño

de partícula (Fracción 1) y pasar de un pH 3,7 a 5,7 la variación en la biosorción fue prácticamente nula. Por otro lado, si se utiliza tanto el mayor o menor valor de pH (5,7 ó 3,7) y se trabaja con el menor tamaño de partícula (Fracción 1, 75-150  $\mu\text{m}$ ) ambos mejoraron la biosorción, alcanzando una concentración máxima de aproximadamente 40 ppm de Plomo (II) adsorbido.

➤ **Optimización del proceso**

Basándonos en los datos obtenidos a partir de los experimentos desarrollados, se determinó la zona donde se encontraron los mejores resultados de la biosorción; conociendo que el pretratamiento donde se obtuvo mejores resultados fue con NaOH y el tamaño de partícula de la Fracción 1, se pudo eliminar las variables cualitativas y se realizaron los experimentos de acuerdo a la matriz de optimización obtenida (Tabla 8) y se obtuvieron los resultados que se encuentran en la Tabla 22.

**Tabla 21. Resultados del análisis voltamperométrico para la optimización de la biosorción de Cadmio (II) y Plomo (II) utilizando endocarpio de aceituna utilizado la matriz de optimización.**

Ensayo	VARIABLES				RESPUESTAS	
	pH	Concentración	pH	Concentración, ppm	Cadmio (II) adsorbido, ppm	Plomo (II) adsorbido, ppm
1	-1	-1	3,7	40	9,2	28,92
2	1	-1	5,7	40	18,7	38,03
3	-1	1	3,7	80	23,2	49,04
4	1	1	5,7	80	29,9	54,13
5	0	0	4,7	60	18,8	51,32
6	0	0	4,7	60	18,6	48,52
7	-1,4	0	3,3	60	18,9	49,56
8	1,4	0	6,1	60	25,0	44,63
9	0	-1,4	4,7	31,7	17,9	38,02
10	0	1,4	4,7	88,3	19,6	59,71
11	0	0	4,7	60	27,3	50,92
12	0	0	4,7	60	20,2	36,37

En las Tablas 23 y 24 se ordenan los resultados obtenidos en la optimización del proceso de biosorción para Cadmio (II) y Plomo (II) de acuerdo a los niveles de cada variables.

**Tabla 22. Resultados del análisis voltamperométrico para la optimización de la biosorción de Cadmio (II) y Plomo (II) utilizando endocarpio de aceituna en base al pH.**

Ensayo	VARIABLES		RESPUESTAS	
	pH	Concentración, ppm	Cadmio (II) adsorbido, ppm	Plomo (II) adsorbido, ppm
9	31,7	4,7	17,9	38,02
1	40	3,7	9,2	28,92
2	40	5,7	18,7	38,03
7	60	3,3	18,9	49,56
5	60	4,7	18,8	51,32
8	60	6,1	25,0	44,63
3	80	3,7	23,2	49,04
4	80	5,7	29,9	54,13
10	88,3	4,7	19,6	59,71

**Tabla 23. Resultados del análisis voltamperométrico para la optimización de la biosorción de Cadmio (II) y Plomo (II) utilizando endocarpio de aceituna en base a la Concentración Inicial.**

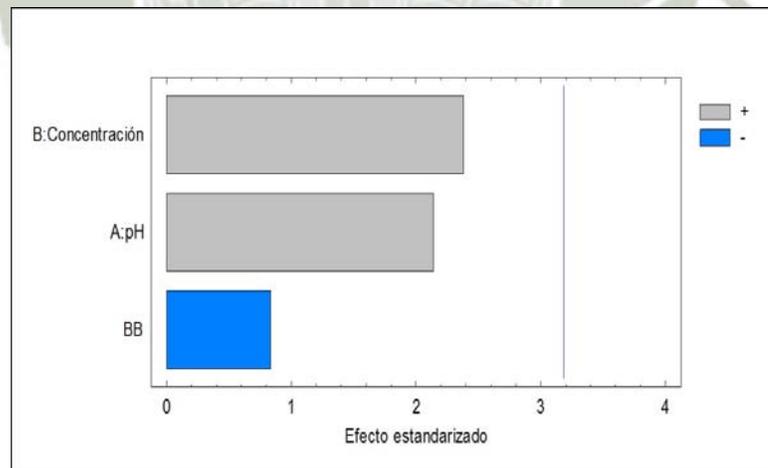
Ensayo	VARIABLES		RESPUESTAS	
	Concentración, ppm	pH	Cadmio (II) adsorbido, ppm	Plomo (II) adsorbido, ppm
9	31,7	4,7	17,9	38,02
1	40	3,7	9,2	28,92
2	40	5,7	18,7	38,03
7	60	3,3	18,9	49,56
5	60	4,7	18,8	51,32
8	60	6,1	25,0	44,63
3	80	3,7	23,2	49,04
4	80	5,7	29,9	54,13
10	88,3	4,7	19,6	59,71

➤ **Optimización para Cadmio (II)**

El análisis de varianza (Anexo VIII) de la matriz de optimización para la biosorción de Cadmio (II) permitió determinar qué factores (pH y concentración inicial) afectaron significativamente al sistema en estudio, así como la interacción concentración inicial-concentración inicial (BB) como se puede observar en la Tabla 25 y Gráfica 10. Se descartó las interacciones pH-pH (AA) y pH-concentración inicial (AB) debido a que no eran realmente significativos; obteniendo un valor R cuadrado de 59,39 % y un R-cuadrado ajustado de 44,16 %, con un error estándar de 4,1, así mismo el test estadístico de Durbin-Watson con un valor-p mayor a 0,05 (valor-p = 0,9) indicó la no correlación serial de los residuos (matriz bien realizada, efectuada aleatoriamente).

**Tabla 24. Nivel de significación para modelo de segundo orden de Cadmio (II).**

Fuente	Valor-P
A:pH	0,1223
B:Concentración	0,0977
BB	0,4638
Falta de ajuste	0,5756



**Gráfica 10. Diagrama de Pareto estandarizado para modelo de segundo orden de Cadmio (II).**

Como se aprecia ninguna variable ni su interacción afecta significativamente al sistema porque todos los valores-P son mucho mayores que 0,05.

No obstante, es muy probable que la concentración inicial pueda afectar al proceso en mayor medida que el resto, seguida del pH y por último la interacción concentración inicial-concentración inicial (BB).

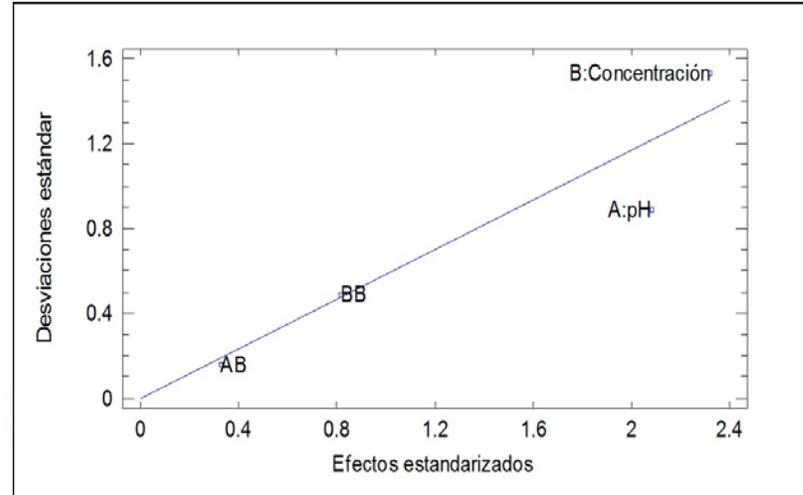
La Gráfica mitad-normal que se muestra en la Gráfica 11, permite conocer los efectos significativos y confirmó la gran influencia en el sistema del pH y la concentración inicial; a diferencia de las interacciones de concentración inicial- concentración inicial (BB) y pH- concentración inicial (AB).

Ordóñez-Vinueza J. y Moreno-Farfán R. (2013)<sup>9</sup>, según el método de biosorción utilizando los tallos de rosas alcanzaron una capacidad de remoción máxima del 41 % para Cadmio (II) a un pH de 7,1, indicando que el factor del pH influyó directamente en la variabilidad del rendimiento, resultando ser el que define la capacidad de remoción del biosorbente.

Asimismo, Leyva-Ramos *et al.* (2005)<sup>68</sup>, Evidenció que el pH de la solución juega un papel importante en la biosorción de Cadmio (II) con maíz, notando que el Cadmio (II) no se adsorbe a pH por debajo de 2 y que la capacidad de biosorción incrementa drásticamente a pH entre 3-6 porque los sitios carboxílicos se disocian a pH entre 3-6 determinando que la máxima biosorción de Cadmio (II) se alcanzó a pH entre 6-8.

Del mismo modo, Kula *et al.*(2008)<sup>61</sup> en su trabajo de biosorción de Cadmio (II) con hueso de aceituna tratada con  $ZnCl_2$  observó que la remoción de iones metálicos de soluciones acuosas por biosorción fue altamente dependiente del pH de la solución.

Sin embargo, Aziza. *et al.* (2009)<sup>64</sup>, concluyó su evaluación del hueso de aceituna químicamente modificado para la remoción de metales pesados de soluciones acuosas, indicando que el proceso de biosorción es independiente del pH.

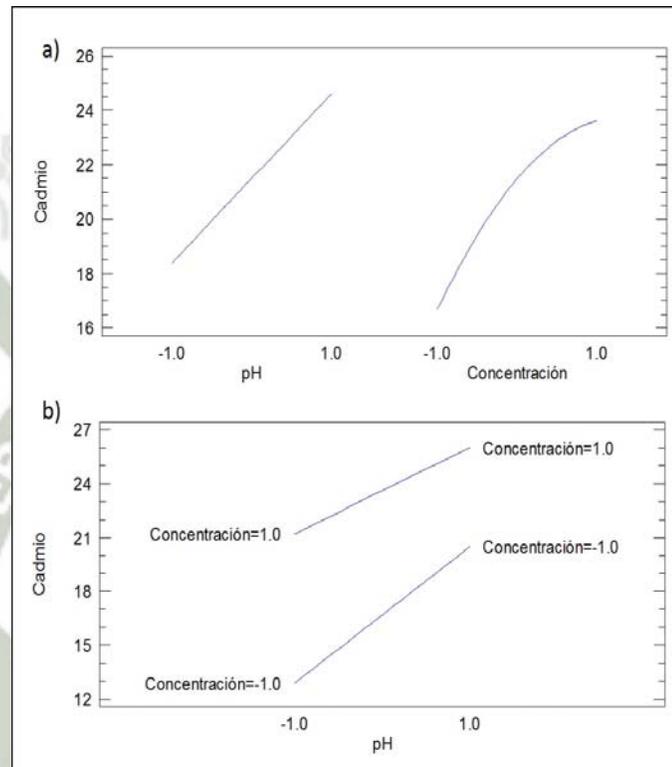


**Gráfica 11. Gráfica mitad-normal para Cadmio (II).**

Por otro lado la Gráfica 12, en la Gráfica de efectos principales se observó la tendencia lineal del pH lo que nos indicó que a medida que se incrementó éste, de igual manera lo hizo la biosorción y es probable que si se toman valores aún más elevados a los utilizados en este trabajo, el proceso de biosorción puede ser todavía más eficiente; en cuanto a la concentración, presentó un efecto cuadrático, lo que permitió inferir que al aumentar la concentración inicial la biosorción se ve favorecida pero llega a un punto donde es probable que se alcance una fase estacionaria, por esto, aunque se utilicen concentraciones muy por encima de 80 ppm la cantidad adsorbida de Cadmio (II) no aumentará. Para el caso de la Gráfica de interacciones, trabajando a concentraciones iniciales, ya sea de 40 u 80 ppm, al incrementar el valor de pH desde el menor (3,7) al mayor (5,7) la biosorción aumentó; sin embargo, cuando se utilizó una concentración de 80 ppm se logró adsorber 26 ppm y cuando se trabajó con una concentración de 40 ppm la máxima cantidad adsorbida que se alcanzó fue de 21 ppm.

Saleh-Saif M. M., et al. (2012)<sup>70</sup>, investigó la capacidad de las proteínas de la semilla de *Strychnos potatorum* para unirse a los iones de Cadmio (II) en una solución acuosa, revelando la presencia de algunas proteínas coagulantes e indicó que la biosorción de Cadmio (II) dependió principalmente del pH y concentración inicial del metal. Por otro lado, cuando Hidalgo (2010)<sup>4</sup> trabajó con aserrín, la remoción Cadmio (II) aumentó rápidamente con el incremento del pH encontrando que la máxima adsorción fue a un

pH 8, pero atribuyó el rápido incremento a la formación de diferentes especies de óxido con el aumento en el pH lo que podía originar la disminución de la concentración de iones Cadmio (II) y; además, los valores bajos de pH incrementan los iones hidrógeno los que pueden competir con los iones de Cadmio (II) por los sitios de adsorción (se refleja en la mínima adsorción a valores de pH bajos).



**Gráfica 12. Gráfica de efectos e interacciones para modelo de segundo orden de Cadmio (II). a) Gráfica de efectos principales, b) Gráfica de interacciones.**

El proceso de biosorción para Cadmio (II) reveló un comportamiento en particular que está definido por la ecuación cuadrática (EC.2).

$$\text{Cadmio (II) adsorbido} = 21,5 + 3,1A + 3,5B - 1,3B^2 \quad (\text{EC.2}).$$

Dónde, A representa el pH del sistema, B indica la concentración inicial y B<sup>2</sup> es la interacción concentración inicial- concentración inicial (BB).

A partir de esta ecuación se trazó las gráficas de respuesta como se aprecia en la Gráfica 13a. La gráfica de superficie de respuesta muestra todos los puntos contenidos en el espacio definido por la matriz experimental de optimización; ésta confirmó la tendencia de los dos factores en cuestión para este sistema: pH y concentración inicial, que se observó en la Gráfica 12.

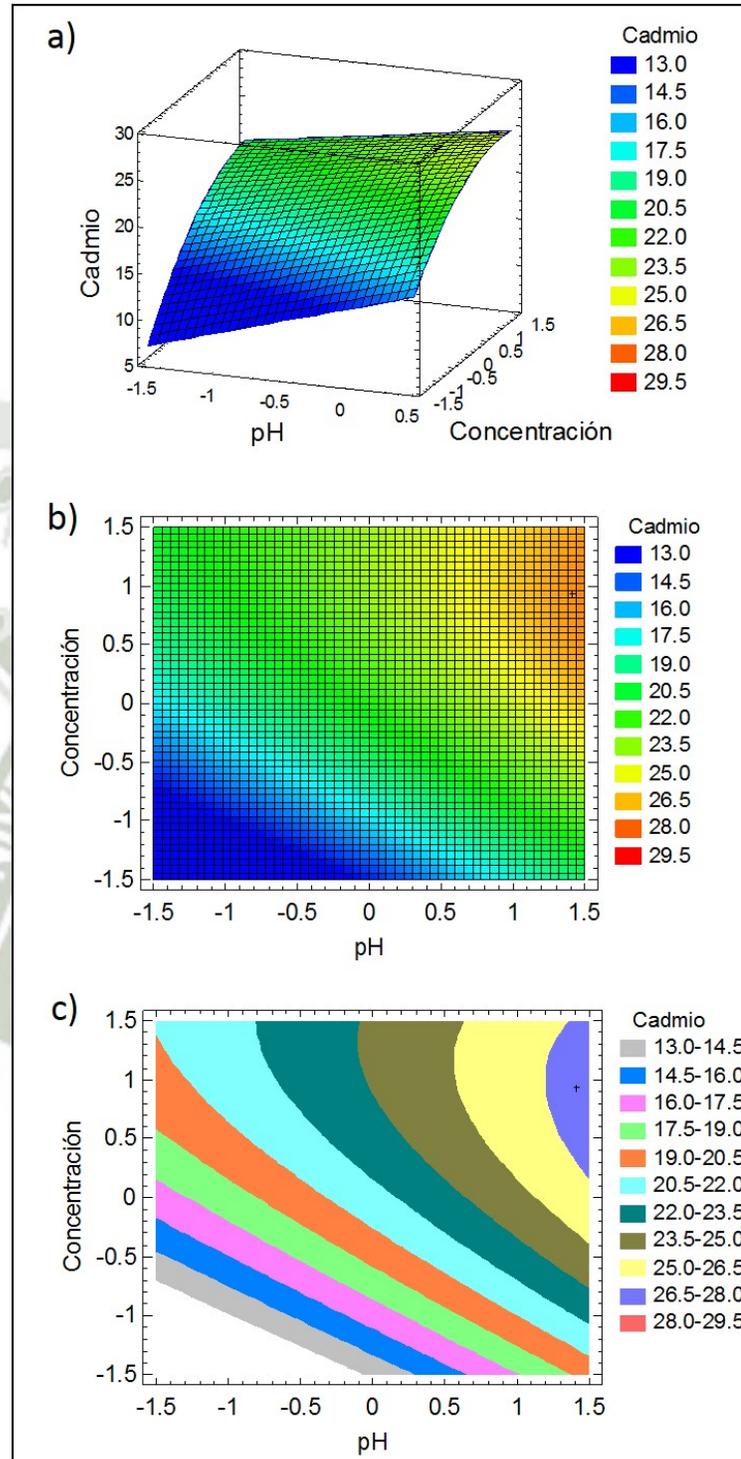
El pH tuvo una tendencia lineal donde pudo alcanzar una biosorción máxima de hasta 25 ppm de Cadmio (II) adsorbido; y la concentración inicial tuvo una disposición cuadrática que reflejó una curvatura característica de este tipo de superficie cuya cantidad de Cadmio (II) adsorbido puede variar de 7 a 29,5 ppm.

La Gráfica tanto de contornos continuos (Gráfica 13b) como de contornos por regiones (Gráfica 13c), es una vista de la parte superior de la gráfica anteriormente mencionada.

Éstas permiten encontrar las cantidades de Cadmio (II) que puede adsorberse al variar los valores de pH y las concentraciones iniciales con sólo interpolar y relacionando los colores.

El análisis final basado en la gráfica de superficie de respuesta y la ecuación obtenida a partir de la optimización del proceso, determinó que el valor óptimo (máximo adsorbido) que se puede obtener en este sistema para el Cadmio (II) fue de 28,1 ppm. Este valor se obtendría optimizando las variables utilizadas en el trabajo (pH y concentración inicial) que se muestran en la Tabla 26.

Torab-Mostaedi, M. et al. (2010)<sup>71</sup> trabajó también en un medio alcalino, lo cual cargó negativamente la superficie de la perlita y alcanzó la máxima biosorción para los iones de Cadmio (II) a un pH óptimo de 6,0 limitando valores aún más altos porque a valores elevados de pH, podría presentar una precipitación de los metales disminuyendo la capacidad adsorbente debido a una acumulación de iones metálicos.



**Gráfica 13. Gráficas de respuesta para modelo de segundo orden de Cadmio (II). a) Superficie de respuesta, b) Gráfica de contornos continuos, c) Gráfica de contornos por regiones.**

**Tabla 25. Valores óptimos para la biosorción de Cadmio (II), por endocarpio de aceituna pretratado.**

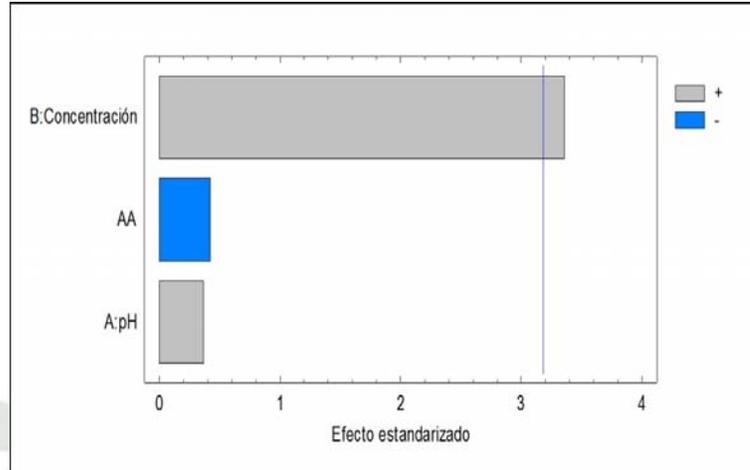
Factor	Óptimo Codificado	Óptimo Real
pH	1,4	6,1
Concentración, ppm	1,3	85,90

➤ **Optimización para Plomo (II)**

De igual manera se realizó un análisis de varianza para determinar qué factores (pH, concentración inicial y sus respectivas interacciones) afectaron significativamente el comportamiento del Plomo (II) en el sistema como se puede observar en la Tabla 27 y Gráfica 14. Se eliminó las interacciones pH- concentración inicial (AB) y concentración inicial- concentración inicial (BB) con la finalidad de encontrar un R-cuadrado ajustado que describa mejor el proceso y descartando aquellos factores que no juegan ningún papel importante en el mismo. El único factor que influyó significativamente según este análisis fue la concentración inicial. También se encontró un valor de 67,8 % para el R- cuadrado, y 55,7 % para el R- cuadrado ajustado, un error estándar de 7,1 y, un valor-p mayor a 0,05 para el test estadístico de Durbin- Watson ( $p=0,3$ ) lo que demostró la no correlación serial de los residuos.

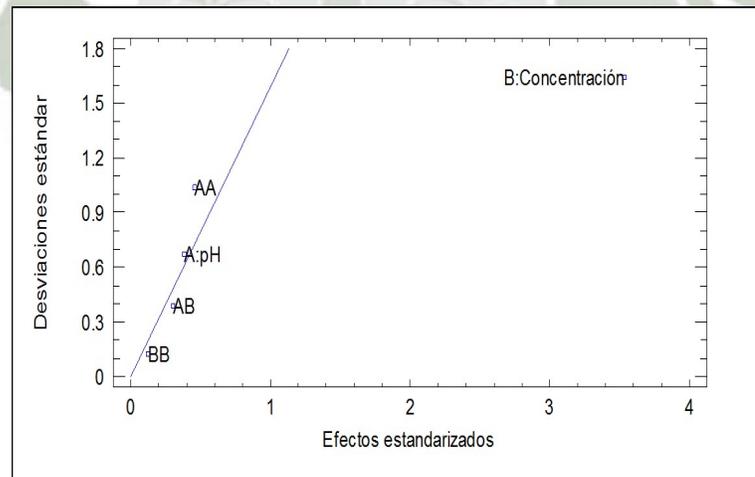
**Tabla 26. Nivel de significación para el modelo de segundo orden de Plomo (II).**

Fuente	Valor-P
A:pH	0,7411
B:Concentración	0,0439
AA	0,7039
Falta de ajuste	0,7681



**Gráfica 14. Diagrama de Pareto estandarizado para modelo de segundo orden de Plomo (II).**

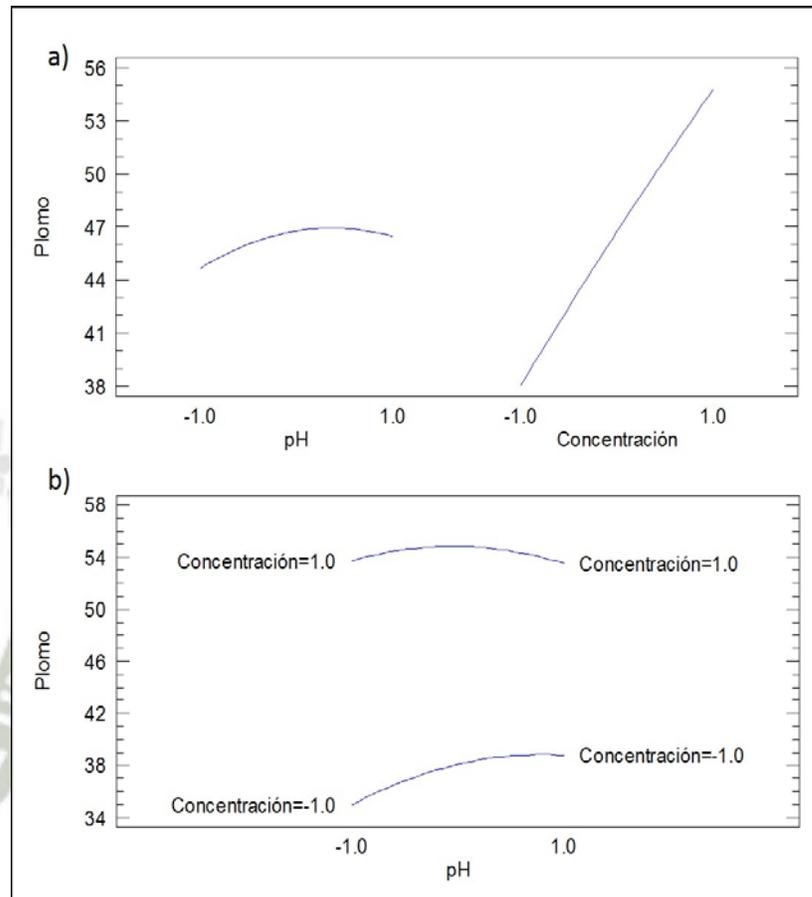
La fuerte influencia de la concentración inicial en el sistema identificada en el ANOVA (Anexo VIII) se confirma con la Gráfica mitad-normal para Plomo (II) (Gráfica 15) que permitió visualizar a la concentración inicial muy alejada de la línea de tendencia ideal del proceso, lo que permitió inferir que ésta afecta en mayor grado al sistema en el proceso de biosorción.



**Gráfica 15. Gráfica mitad-normal para Plomo (II).**

Por otro lado, la Gráfica de los efectos principales (Gráfica 16a) reveló que el pH tuvo una tendencia cuadrática pero sin notables variaciones (no es significativa); por el

contrario, la concentración inicial mostró una tendencia lineal positiva lo que indica que si se varía ésta de 40 a 80 ppm la biosorción se incrementa (es probable que a concentraciones aún más elevadas a las utilizadas la remoción será aún mayor).



**Gráfica 16. Gráfica de efectos e interacciones del modelo de segundo orden para Plomo (II). a) Gráfica de efectos principales, b) Gráfica de interacciones.**

Para el caso de la Gráfica de interacciones (Gráfica 16b) la influencia del pH en la biosorción es mínima, ya que cuando se utilizó la menor concentración (40 ppm) se alcanzó una biosorción máxima de 39 ppm aproximadamente a un pH de 5,7; en cambio, cuando se realiza el proceso de biosorción a un pH de 3,7 la remoción es de 35 ppm; esto demuestra un pequeño cambio favorable en la remoción de Plomo cuando aumenta el pH.

Por otra parte, cuando se usó la mayor concentración (80 ppm) se logró una biosorción de hasta 55 ppm tanto a un pH 3,7 como a 5,7. Por lo tanto, se pudo deducir que la variación de la concentración inicial si es significativa, ya que al variar de una concentración de 40 ppm a 80 ppm, se alcanzó una biosorción de hasta 55 ppm aproximadamente.

Una vez analizadas las gráficas anteriormente mostradas se tuvo un panorama más claro de la proporción en la que cada factor e interacciones, de ser el caso, afectan al sistema convirtiéndolos en factores manipulables para lograr la optimización; es así como se determinó la ecuación que satisface el proceso (EC.3).

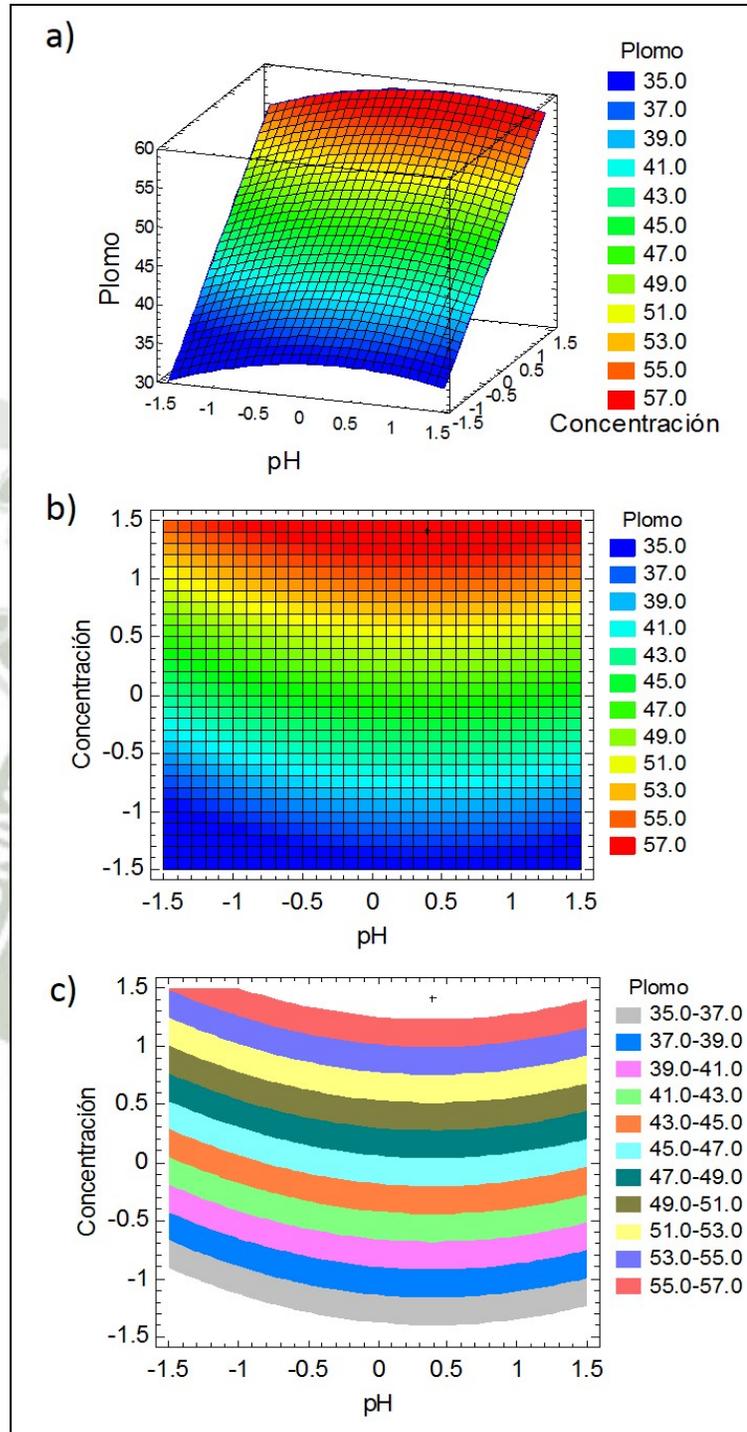
$$\text{Plomo (II) adsorbido} = 46,5 + 0,9A + 8,4B - 1,1A^2 \quad (\text{EC.3}).$$

Donde, A representa el pH del sistema, B indica la concentración inicial y  $A^2$  es la interacción pH- pH (AA).

Las gráficas de respuestas para Plomo (II) se muestran en la Gráfica 17. La Gráfica 17a) evidenció lo anteriormente inferido, la tendencia del pH fue cuadrática y lineal para la concentración inicial. Su observación pudo inferir que para el Plomo (II) se puede alcanzar una adsorción máxima de hasta 57 ppm aproximadamente al mayor pH estudiado experimentalmente (pH 6,1).

Las Gráficas de contornos continuos y de contornos por regiones (Gráfica 17b y 17c respectivamente) al ser vistas de la parte superior de la Gráfica de superficie de respuesta, facilitaron identificar la relación entre los valores de pH, las concentraciones iniciales contenidas en el rango de la optimización y las posibles cantidades adsorbidas de Plomo (II) ya que cada color representa un rango de concentraciones.

Cardona-Gutiérrez *et al.* (2013)<sup>32</sup> determinó los valores óptimos para la biosorción de Plomo (II) un pH 5, tamaño de partícula de 0,4 mm, una concentración inicial de 80 ppm y con 0,5 g de cáscara de naranja para evaluar su poder biosorbente en la eliminación de Plomo (II) y Zinc (II).



**Gráfica 17. Gráficas de respuesta para modelo de segundo orden de Plomo (II). a) Superficie de respuesta, b) Gráfica de contornos continuos, c) Gráfica de contornos por regiones.**

Gracias a la ecuación cuadrática (EC.3) y a la Gráfica de superficie de respuesta (Gráfica 17) se determinó mediante del programa estadístico utilizado en este trabajo encontrando que el valor de pH y concentración inicial en los cuales se podría adsorber la máxima cantidad de Plomo (II) en el sistema fue de 58,5 ppm. Dichos valores se muestran en la Tabla 28.

**Tabla 27. Valores óptimos para la biosorción de Plomo (II) por endocarpio de aceituna pretratado.**

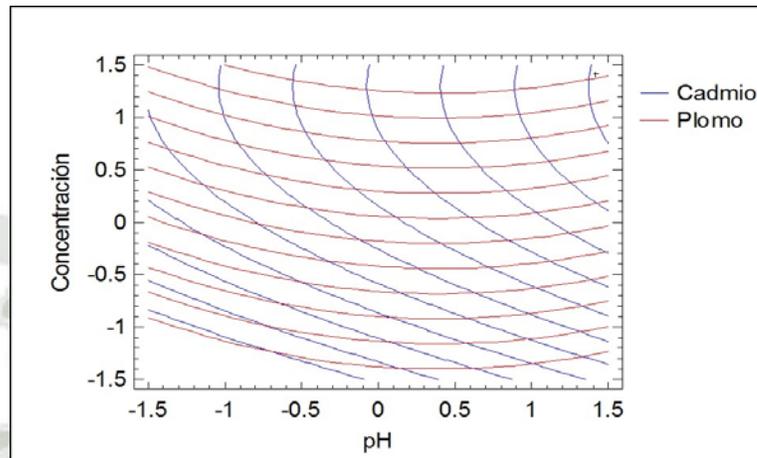
Factor	Óptimo Codificado	Optimo Real
pH	0,4	5,1
Concentración inicial, ppm	1,4	88,30

Si bien se analizó cada metal por separado para encontrar las condiciones óptimas de cada uno en este sistema en particular, fue necesario buscar dichos valores para cuando éstos se encuentren simultáneamente en un sistema, como es el caso, por esta razón se superpuso las Gráficas de contornos de regiones de cada uno tal y como se observa en la Gráfica 18. Después, conociendo la relación pH- concentración, se ubicó un punto que satisfaga tal relación identificando así los valores óptimos de pH y concentración inicial para obtener la mayor biosorción de ambos (Tabla 29).

**Tabla 28. Valores óptimos para la biosorción para Cadmio (II) y Plomo (II), simultáneamente, sobre endocarpio de aceituna pretratado.**

Factor	Óptimo Codificado	Optimo Real	Cantidad máxima adsorbida, ppm	
			Cadmio (II)	Plomo (II)
pH	1,4	6,1	27,2	54,8
Concentración inicial, ppm	1,4	88,3		

De igual manera, Hidalgo *et al.* (2011)<sup>59</sup> alcanzó valores máximos para la capacidad de biosorción para Cadmio (II) de 6,31 mg/g y para el Plomo (II), 10,84 mg/g a un pH cercano a 6.



**Gráfica 18. Gráfica de contornos superpuestos para Cadmio (II) y Plomo (II).**

Con las condiciones óptimas encontradas de pH, concentración inicial y cantidad máxima adsorbida de Cadmio (II) y Plomo (II) simultáneamente, luego de realizar los experimentos de optimización, se realizó un último ensayo para corroborar que realmente se obtendrá los resultados esperados y se observó que éstos son semejantes a los valores óptimos encontrados por el programa de análisis estadístico tal y como se muestran en la Tabla 30.

➤ **Competición entre Cadmio (II) y Plomo (II).**

Los resultados que se encontraron (Tabla 30) evidenciaron lo que se esperaba; para el caso del Cadmio (II), aproximadamente se duplicó la cantidad adsorbida de 22,7 a 41,6 ppm cuando solo está presente el Cadmio (II) en la muestra a analizar; en cuanto al Plomo (II), la biosorción aumentó también en 22,5 ppm alcanzando una cantidad máxima adsorbida de 65,3 ppm. Estos resultados indicaron que sí es probable que exista una competición entre ambos iones metálicos, no obstante, se pudo inferir también que no existe inhibición en el proceso por parte de alguno de ellos, debido a

que permitió la biosorción para ambos aunque con diferentes porcentajes de remoción favoreciendo principalmente al proceso de biosorción del Plomo (II).

Calero *et al.* (2010)<sup>50</sup>, trabajó con hueso tratado con HCl, NaOH, hexano y agua destilada y obtuvo la mayor biosorción de Plomo (II) con hueso tratado con NaOH relacionándola con el aumento en la concentración de grupos activos en la superficie del biosorbente, en especial el grupo carboxilo.

Otra explicación podría ser la dada por Leyva- Ramos *et al.* (2005)<sup>68</sup>, quien afirmó que la biosorción de Cadmio (II) por maíz natural y modificado con tratamiento ácido, ocurre por intercambio de protones  $H^+$  liberados por los grupos carboxilos de la superficie de la biomasa, con los iones de Cadmio (II).

Además, Bustamante E. (2011)<sup>65</sup>, relacionó el comportamiento de la capacidad de biosorción respecto al pH de la solución con las interacciones entre los cationes de Plomo (II) que probablemente se encuentran en la solución y los grupos carboxílicos de los residuos de café, explicando que cuando la superficie del residuo del café está cargada negativamente a pH elevados y el Plomo (II) en solución acuosa se encontraría en forma catiónica como  $Pb^{+2}$ , el catión  $Pb^{+2}$  sería atraído favoreciendo la biosorción del Plomo (II) en la superficie del residuo de café.

**Tabla 29. Resultados de la cantidad máxima adsorbida para el sistema dual y sistemas independientes de Cadmio (II) y Plomo (II) utilizando endocarpio de aceituna pretratado.**

Ensayo	Sistema	Cadmio (II) adsorbido, ppm	Plomo (II) adsorbido, ppm
1	Cadmio (II) y Plomo (II)	22,7	42, 8
2	Cadmio (II)	41, 6	-
3	Plomo (II)	-	65,3

➤ **Modelamiento teórico para la técnica de biosorción para la remoción de Cadmio (II) y Plomo (II)**

En la Tabla 31, se describe el modelamiento teórico de Cadmio (II), se pudo ver que a medida que aumenta el pH también lo hace la biosorción pero se tiene la limitante que a partir de un pH por encima de 7 comienza a producirse precipitación. Utilizando el pH óptimo (6,1) se observó que a una concentración inicial de 8 ppm se remueve 7,8ppm obteniéndose una concentración final por debajo de los LMP, esto nos hace deducir que a concentraciones menores a 8 ppm el proceso de biosorción logra disminuir el Cadmio(II) presente en soluciones acuosas hasta por debajo de los LMP.

**Tabla 30. Modelamiento teórico para Cadmio (II).**

VARIABLES CODIFICADAS		VARIABLES REALES		PREDICCIÓN	
pH	Concentración inicial	pH	Concentración inicial, ppm	Cadmio Adsorbido, ppm	Concentración final, ppm
1,3	-1,2	6	36	19,5	16,5
	-1,4		32	18,1	13,9
	-1,6		28	16,6	11,4
	-1,8		24	15,0	9,0
	-2		20	13,3	6,7
	-2,2		16	11,5	4,5
	-2,4		12	9,5	2,5
	-2,6		8	7,5	0,5
1,4	-2,8	6,1	4	5,4	-1,4
	-1,2		36	19,8	16,2
	-1,4		32	18,4	13,6
	-1,6		28	16,9	11,1
	-1,8		24	15,3	8,7
	-2		20	13,6	6,4
	-2,2		16	11,8	4,2
	-2,4		12	9,8	2,2
1,5	-2,6	6,2	8	7,8	0,2
	-2,8		4	5,7	-1,7
	-1,2		36	20,1	15,9
	-1,4		32	18,7	13,3
	-1,6		28	17,2	10,8
	-1,8		24	15,6	8,4
	-2		20	13,9	6,1
	-2,2		16	12,1	3,9
1,5	-2,4	6,2	12	10,2	1,8
	-2,6		8	8,1	-0,1
	-2,8		4	6,0	-2,0
	-2,8		4	6,0	-2,0

Por otro lado, en la Tabla 32, se observa el modelamiento teórico de Plomo (II); al utilizar el pH óptimo hallado para el Plomo (5,9), se puede ver que es bastante eficiente, ya que cuando la concentración inicial es de 36 ppm se obtiene una adsorción teórica de 36,7 ppm en la solución acuosa siendo ésta por encima de la concentración inicial ya que éstas son estimaciones teóricas por lo que es importante realizar los ensayos experimentalmente y poder comprobar que tanto se ajustan a los resultados obtenidos con las ecuaciones de optimización utilizadas para el modelamiento.

**Tabla 31. Modelamiento teórico para Plomo (II)**

VARIABLES CODIFICADAS		VARIABLES REALES		PREDICCIÓN	
pH	Concentración inicial	pH	Concentración inicial, ppm	Plomo Adsorbido, ppm	Concentración final, ppm
0,3	-1,2	5	36	36,7	-0,7
	-1,4		32	35,0	-3,0
	-1,6		28	33,3	-5,3
	-1,8		24	31,6	-7,6
	-2		20	30,0	-10,0
	-2,2		16	28,3	-12,3
	-2,4		12	26,6	-14,6
	-2,6		8	25,0	-17,0
0,4	-2,8	5,1	4	23,3	-19,3
	-1,2		36	36,7	-0,7
	-1,4		32	35,0	-3,0
	-1,6		28	33,3	-5,3
	-1,8		24	31,7	-7,7
	-2		20	30,0	-10,0
	-2,2		16	28,3	-12,3
	-2,4		12	26,6	-14,6
0,5	-2,6	5,2	8	25,0	-17,0
	-2,8		4	23,3	-19,3
	-1,2		36	36,7	-0,7
	-1,4		32	35,0	-3,0
	-1,6		28	33,3	-5,3
	-1,8		24	31,6	-7,6
	-2		20	30,0	-10,0
	-2,2		16	28,3	-12,3
-2,4	12	26,6	-14,6		
-2,6	8	25,0	-17,0		
-2,8	4	23,3	-19,3		

## CONCLUSIONES

1. Se logró estudiar el proceso de biosorción del endocarpio de aceituna "*Olea europea*" para remover de soluciones acuosas tanto Cadmio (II) como Plomo (II), determinando que el factor que afecta en mayor proporción al proceso de biosorción fue el pretratamiento.
2. Se estableció los valores óptimos para el proceso de biosorción; de Cadmio (II) y Plomo (II); el valor óptimo de pH fue 6,1; el tamaño de partícula fue la Fracción 1 (75-150  $\mu\text{m}$ ) y el tiempo de contacto determinado a partir de la cinética de biosorción se obtuvo a partir de los 40 min donde se alcanzó el equilibrio.
3. Se determinó que la mayor cantidad adsorbida de Cadmio (II) y Plomo (II) con los valores de las variables optimizados fue de 28,1 y 58,5 ppm respectivamente.
4. Se propuso el modelamiento teórico del proceso de biosorción para Cadmio (II) y Plomo (II) de manera independiente, encontrando que a concentraciones iniciales menores a las utilizadas en este trabajo es probables que se reduzcan hasta por debajo de los Límites Máximos Permisibles (0,5 ppm para ambos).

## RECOMENDACIONES

- Ejecutar el estudio de biosorción tomando como variables la agitación.
- Evaluar el proceso de biosorción en un mayor volumen y comparar el tiempo de contacto necesario con el establecido en este trabajo.
- Llevar a escala de piloto el proceso realizado con el fin de conocer si éste es viable y determinar los costos de aplicación a una escala industrial.
- Realizar el proceso de biosorción utilizando concentraciones iniciales cercanas a las presentes habitualmente en agua contaminada.

## REFERENCIAS

1. Cañizares-Villanueva R. O. Biosorción de metales pesados mediante el uso de biomasa microbiana. *Revista Latinoamericana de Microbiología*. 2000; 42: 131-143.
2. Klaassen C. Metales pesados y sus antagonistas. En: Brunton L, Lazo J, Parker K, editores. *Goodman & Gilman, Las bases farmacológicas de la terapéutica*. 11ª ed. Nueva York: McGaw Hill, 2008; 1766-1768.
3. Cabrera F. Características y tratamiento de las aguas residuales industriales por sectores: molturado de aceituna para la obtención de aceite de oliva virgen. Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla, CSIC. Apartado 1052, 41080 Sevilla.
4. Hidalgo-Vazquez A. R. Biosorción de Plomo (II) y Cadmio (II) mediante el aprovechamiento de residuos de madera (aserrín de pino) y extractos de algas marinas (alginato de calcio). 2010.
5. Juárez, Henry. Contaminación del Río Rimac por metales pesados y efecto en la agricultura en el Cono este de Lima Metropolitana. 2012.
6. Decreto Supremo N° 010-2010-MINAM. Aprueban Límites Máximos Permisibles para la descarga de efluentes líquidos de Actividades Minero-Metalúrgicas.
7. De la Puente Brunke, Lorenzo. El rol de los Límites Máximos Permisibles en la Regulación Ambiental y su Aplicación en el Perú. *Revista Peruana de Derecho de la Empresa*. 2007, 65: 19-47.
8. Decreto Supremo N° 021-2009-Vivienda. República del Perú.

9. Ordoñez J., Moreno R. Estudio del aprovechamiento de residuos orgánicos de cultivos de flores (tallos de rosa) como biosorbente de Cadmio (II) para el tratamiento de aguas residuales. Universidad Politécnica Salesiana sede Cuenca. 2013.
10. Alomá-Vicente I., Blázquez-García G, Calero-de-Hoces M., Martín-Lara M., Rodríguez-Rico I., Ronda-Gálvez A. Panorama general en torno a la contaminación del agua por níquel. La biosorción como tecnología de tratamiento. Revista Cubana de Química. 2013. 25(3): 266-280.
11. Yagnentkovsky, Nadia. Aplicación de técnicas de biorremediación para el tratamiento de residuos industriales con alto contenido de metales pesados. Universidad Nacional de la Plata. 2011.
12. Singh R, Gautam N, Mishra A, Gupta R. Heavy Metals and living systems: An overview. Indian J Pharmacol. 2011, 43(3): 246-253.
13. Arias, Juan; Marciales, Clara. Análisis de Cadmio (II) y Plomo (II) en aguas superficiales por potenciometría de *stripping* Revista Colombiana de Química. 2003, 32(2): 113-131.
14. Ramírez A. Toxicología del Cadmio. Conceptos actuales para evaluar exposición ambiental u ocupacional con indicadores biológicos. Fac de Med Univ Nac Mayor de Sn Marcos 2002; 63:51-64.
15. Mead M. Confusión por el Cadmio. ¿Los consumidores necesitan protección? Noticias de salud ambiental. Salud Pública Mex 2011; 53:178-185. [Publicado originalmente en Environ Health Perspect 2010;118:A528-A534.]
16. U.S. Geological Survey, Mineral Commodity Summaries [Internet]. Washington: United States Government Printing Office; 2008 [Modificado en enero de 2008; consultado en septiembre de 2011].
17. Tellez-Plaza M, Jones M.R, Dominguez-Lucas A, Guallar E, Navas-Acien A. Cadmium Exposure and Clinical Cardiovascular Disease: a Systematic Review. 2013,15(10)
18. Manahan Stanley E. Introducción a la Química Ambiental. 1ra Ed. Barcelona: Editorial Reverté; 2007

19. Ramirez A. Toxicología del Cadmio, Conceptos actuales para evaluar exposición ambiental y ocupacional con indicadores biológicos. *An Fac Med Lima*.2002,63(1):51-64.
20. Pérez-García PE, Azcona-Cruz MI. Los efectos del Cadmio (II) en la salud. *Rev Esp Méd Quir* 2012;17(3):199-205.
21. Ortega-García J. A., Ferris-Tortajada J., Cánovas-Conesa A., García-Castell J. Neurotóxicos medioambientales (y II). Metales: efectos adversos en el sistema nervioso fetal y posnatal. *Acta Pediatr Esp*. 2005; 63: 182-192.
22. Organización Mundial de la Salud. Intoxicación por Plomo (II) y salud. Octubre de 2014. <http://www.who.int/es/>
23. Poma P. Lead effects on humans. *An Fac Med*.2008,69(2):120-126
24. Valdivia M. Intoxicación por Plomo (II). *Rev. Soc.Med.Inter*.2005,18(1):22-27
25. Ramírez A. El cuadro clínico de la intoxicación ocupacional por Plomo (II). *AN Fac Med Lima*.2005,66 (1)57-70.
26. You Chen, Xialei. Estudio de la biosorción multimetálica con raspo de uva mediante técnicas voltamperométricas. Florido Pérez, Antonio. 2013.
27. Hernáinz-Bermúdez-de-Castro F., Blázquez-García G, Calero-de-Hoces M., Martín-Lara M., Leyva-Díaz J. C. Biosorción de Plomo (II) con hueso de aceituna en columna de lecho fijo. 2009. 543: 365-371.
28. Blázquez G, Hernáinz F, Calero M, Ruiz-Núñez L.F. Removal of Cadmium ion with olive stones: the effect of some parameters. *Process Biochemistry*.2005, 40: 2649-2654.
29. Martinez-García G, Bachmann Th, Williams C.J, Burgoyone A,Edyvean R.GJ. Olive oil waste as a biosorbent for heavy Metals. *Chem and Proc Eng* .2005
30. Reyes-Toriz E., Cerino-Córdova F., Suárez-Herrera M. Remoción de metales pesados con carbón activado como soporte de biomasa. *Ingenierías*. 2006; 9(31): 59-64.
31. Driss-Alami S. B. Aprovechamiento de hueso de aceituna. Biosorción de iones metálicos. Universidad de Ganada. España. 2010.

32. Cardona-Gutiérrez A., Cabañas-Vargas D., Zepeda-Pedreguera A. Evaluación del poder biosorbente de cáscara de naranja para la eliminación de metales pesados, Pb (II) y Zn (II). *Ingeniería*. 2013; 17(1): 1-9.
33. Akunwa N.K, Muhammad M.N, Akunna J.C. Treatment of metal-contaminated wastewater: A Comparison of low-cost biosorbents. *Environ Manage*.2014,146:517-523.
34. Sala L., García S., González J. C., Fracaroli M., Bellú S., Mangiameli F., Blanes P., Mogetta M., Andreu V. Biosorción para la eliminación de metales pesados en aguas de desecho. *An. Quí*.2010; 106(2): 114-120.
35. Gautam R.K, Mudhoo A, Lofrano G, CHattopadhyaya M.C. Biomass-derive biosorbents for metal ions sequestration: Adsorbent Modification and activation methods and adsorbent regeneration.*J.Environ.Chem.Eng*2014,1-21.
36. Skoog D.A, West D.M, Holler F.J, Crouch S.R. *Fundamentos de Química Analítica*. 8va edición.
37. Tenorio-Rivas G *Caracterización de la biosorción de cromo con hueso de aceituna*. Universidad de Granada. España. 2006.
38. Bianchi G *Lipids and phenols in table olives*. *Eur. J. Lipid Sci. Technol*.2003, 105 : 229-242.
39. *Techno-economic and environment assessment of an olive stone based biorefinery*. *Resour Conserv Recy*.2014,92:145-150.
40. Moubarik A, Nabil G *Valorization of olive stone and sugar cane bagasse by-products as biosorbents for the removal of cadmium from aqueous solution*. *Food Res. Int*.2014
41. Blázquez G, Hernáinz F, Calero M, Ruiz-Núñez L.F. The effect of pH on the biosorption of Cr (III) and Cr (VI) with olive Stone. *Chem Eng J*. 2009,148:473-479.
42. Martín-Lara M.A, Blázquez G, Ronda A, Pérez A, Calero M. *Development and Characterization of Biosorbents To remove Heavy Metals from Aqueous Solutions by Chemical Treatment of Olive Stone*. *Ind Eng Chem Res*.2013,52:10809-10819.

43. Martínez Nieto L, Driss Alami S.B, Hodaifa G, Rodriguez S, Giménes J.A, Ochando J. Adsorption of iron on crude olive stones. *Ind Crop Prod.*2010,32:467-471.
44. Buzica D, Gerboles M, Borowiak A, Trincherini P, Passarella R, Pedroni V. Comparison of voltammetry and inductively coupled plasma-mass spectrometry for the determination of heavy metals in PM<sub>10</sub> airborne particulate matter. *Atmos Environ.*2006,40:4703-4710.
45. Ortiz R., Martínez Y., Hernández R. Técnicas Electroanalíticas Parte II. Voltamperometría. Universidad de los Andes. Mérida. 2006.
46. Flores, Elena. Voltametría Cíclica: La Espectroscopía Electroquímica. Parte I. *Revista de Química.* 1995, 9(2): 165-72.
47. Sánchez, J. C. Metodologías analíticas para la determinación de metales tóxicos en muestras de interés ambiental. Universidad Nacional de Colombia. 2010.
48. Ferré, Joan. El Diseño Factorial Completo 2<sup>2</sup>. Universidad Rovira i Virgili. Tarragona.
49. Ferré, Joan. El Diseño Factorial Completo 2<sup>k</sup>. Universidad Rovira i Virgili. Tarragona.
50. Calero M., Hernáinz F., Blázquez G, Martín-Lara M. A., Tenorio G Efectos de diferentes tratamientos químicos en las características sorbentes de residuos derivados de la industria oliverera. Universidad de Ganada. España. 2010.
51. Blázquez G, Hernáinz F, Calero M, Ruiz-Núñez L.F. Removal of Cadmium ions with olive stones: the effect of some parameters. *Process Biochem.* 2005, 40:2649-2654.
52. Sigmaaldrich.com. Buffer Reference Center.
53. Box, G H. Statistics for experimenters: An introduction to designs, data analysis and model building New York: Wiley. 1978.
54. Montgomery, D. Diseño y análisis de experimentos (Segunda Edición ed.). (R. Piña, Trad.) Limusa Wiley. 2004.
55. Rodrigues, M., & Lemma, A. Planejamento de Experimentos & Otimização de Processos. Campinas, SP: Cárita. 2009.

56. Siqueiros, A. Aplicación de la metodología de superficies de respuesta para el mejoramiento de la calidad del aceite de soya. Tesis, Universidad de Sonora, División de ciencias exactas y naturales departamento de matemáticas, Ermosillo, Sonora. 2004.
57. Blázquez G, Calero M., Ronda A., Tenorio G, Martín-Lara M.A. Study of kinetics in the biosorption of lead onto native and chemically treated olive Stone. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. 2013.
58. Alslaibi T. M., Abustan I., Ahmad M. A., Foul. A. A. Cadmium removal from aqueous solution using microwaved olive stone activated carbon. *Journal of Environmental Chemical Engineering* 2013. 1, 589- 599.
59. Hidalgo-Vázquez A.R., Alfaro-Cuevas-Villanueva R., Márquez-Benavides L. and Cortés-Martínez R., Cadmium and Lead Removal from Aqueous Solutions Using Pine Sawdust as Biosorbent. *Journal of Applied Sciences in Environmental Sanitation*, 2011. 6 (4): 447-462.
60. Prasad, M. y Freitas, H. Removal of toxic metals from solution by leaf, stem and root phytomass of *Quercus ilex* L. (holly oak). *Environmental Pollution*. 2000, 110, 277-282.
61. Kula, I., Ugurlu M., Karaoglu H., Celik A. Adsorption of Cadmio (II) ions from aqueous solutions using activated carbon prepared from olive stone by  $ZnCl_2$  activation. *Bioresource Technology*. 2008. 99, 492–501.
62. Martínez, C., Torres, L. M., García de la Cruz, R. F. Evaluación de la cinética de adsorción de  $Zn^{2+}$  y  $Cd^{2+}$  a partir de soluciones unitarias y binarias por raíces de *eichhornia crassipes* y *typha latifolia*. *Avances en Ciencias e Ingeniería*. 2013, 4(2),1-14.
63. Fiol N., Villaescusa I., Martínez M., Miralles N., Poch J., Serarols J. Sorption of Pb(II), Ni(II), Cu(II) and Cd(II) from aqueous solution by olive stone waste. *Separation and Purification Technology*. 2006, 50, 132–140.
64. Aziza A., Oualia M. S., Elandaloussia E. H., De-Menorval L. C., Lindheimerb M. Chemically modified olive stone: A low-cost sorbent for heavy metals and basic dyes removal from aqueous solutions. *Journal of Hazardous Materials*. 2009. 163, 441–447.

65. Bustamante E. Adsorción de metales pesados en residuos de café modificados químicamente. Facultad de ciencias químicas. Universidad autónoma de nuevo león. 2011.
66. Muñoz-Carpio J. C. Biosorción de Plomo (II) por cáscara de naranja "*citrus cinensis*" pretratada. Universidad Nacional Mayor De San Marcos. 2007.
67. Bohli T, Villaescusa I, Ouderni A. Comparative Study of Bivalent Cationic Metals Adsorption Pb (II) Cd (II) Ni (II) and Cu (II) on Olive Stones Chemically Activated Carbon. 2013, 4: 2-17.
68. Leyva-Ramos, R., Bernal-Jacome, L. A. y Acosta-Rodríguez, I. Adsorption of cadmium (II) from aqueous solution on natural and oxidize corncob. Separation and Purification Technology. 2005, 45, 41-49.
69. Saikaew W., Kaewsarn P. Cadmium ion removal using biosorbents derived from fruit peel wastes. Songklanakarin J. Sci. Technol. 2009. 31 (5), 547-554.
70. Saleh-Saif M. M., Siva-Kumar N. and Prasad M.N.V. Biosorption of Cadmium by *Strychnos potatorum* Seed Proteins: Adsorption Kinetics, Proteins Nanoparticles for Enhancing Cd Removal and Relevance to Waste Water Treatment. Libyan Agriculture Research Center Journal International. 2012. 3 (6): 269-278.
71. Torab-Mostaedi M., Ghassabzadeh H., Ghannadi-Maragheh M., Ahmadi S. J. and Taheri H. Removal Of Cadmium And Nickel From Aqueous Solution Using Expanded Perlite. Brazilian Journal of Chemical Engineering. 2010. 27 (2), 299 – 308.

## ANEXOS

### ANEXO I

#### DECRETO SUPREMO N° 002-2008-MINAM

Aprueban los Estándares Nacionales de Calidad Ambiental para Agua.

ESTÁNDARES NACIONALES DE CALIDAD AMBIENTAL PARA AGUA.

CATEGORÍA 1: POBLACIONAL Y RECREACIONAL.

PARÁMETRO	UNIDAD	Aguas superficiales destinadas a la producción de agua potable.			Aguas superficiales destinadas para recreación.	
		A1	A2	A3	B1	B2
		Aguas que pueden ser potabilizadas con desinfección.	Aguas que pueden ser potabilizadas con tratamiento convencional.	Aguas que pueden ser potabilizadas con tratamiento avanzado.	Contacto Primario	Contacto Secundario
		Valor	Valor	Valor	Valor	Valor
<b>Inorgánicos</b>						
Cadmio (II)	mg/L	0,003	0,003	0,01	**	
Plomo (II)	mg/L	0,01	0,05	0,01	**	

\*\* Se entiende que para esta subcategoría, el parámetro no es relevante, salvo casos específicos que la Autoridad competente determine.

CATEGORÍA 2: ACTIVIDADES MARINO COSTERAS.

PARÁMETRO	UNIDADES	AGUA DE MAR		
		Sub Categoría 1	Sub Categoría 2	Sub Categoría 3
		Extracción y cultivo de Moluscos Bivalvos (C1)	Extracción y cultivo de otras especies hidrobiológicas (C2)	Otras Actividades (C3)
<b>INORGÁNICOS</b>				
Cadmio (II) total	mg/L	0,0093	0,0093	0,0093
Plomo (II) total	mg/L	0,0081	0,0081	0,0081

CATEGORÍA 3: RIEGO DE VEGETALES Y BEBIDAS DE ANIMALES.

PARÁMETROS PARA RIEGO DE VEGETALES DE TALLO BAJO Y TALLO ALTO		
PARÁMETROS	UNIDAD	VALOR
<b>INORGÁNICOS</b>		
Cadmio (II)	mg/L	0,005
Plomo (II)	mg/L	0,05

PARÁMETROS PARA BEBIDAS DE ANIMALES		
PARÁMETROS	UNIDAD	VALOR
<b>INORGÁNICOS</b>		
Cadmio (II)	mg/L	0,01
Plomo (II)	mg/L	0,05

CATEGORÍA 4: CONSERVACIÓN DEL AMBIENTE ACUÁTICO.

PARÁMETROS	UNIDADES	LAGUNAS Y LAGOS	RÍOS		ECOSISTEMAS MARINO COSTEROS	
			COSTA Y SIERRA	SELVA	ESTUARIOS	MARINOS
<b>INORGÁNICOS</b>						
Cadmio (II)	mg/L	0,004	0,004	0,004	0,005	0,005
Plomo (II)	mg/L	0,001	0,001	0,001	0,0081	0,0081



**ANEXO II**

**DECRETO SUPREMO N° 010-2010-MINAM**

**Aprueban Límites Máximos Permisibles para la descarga de efluentes líquidos de Actividades Minero- Metalúrgicas.**

LÍMITES MÁXIMOS PERMISIBLES PARA LA DESCARGA DE EFLUENTES LÍQUIDOS DE ACTIVIDADES MINERO- METALÚRGICAS.

<b>Parámetro</b>	<b>Unidad</b>	<b>Límite en cualquier momento</b>	<b>Límite para el Promedio anual</b>
Cadmio Total	mg/L	0,05	0,04
Plomo Total	mg/L	0,2	0,16

- Los valores indicados en la columna “Límite en cualquier momento” son aplicables a cualquier muestra colectada por el Titular Minero, el Ente Fiscalizador o la Autoridad Competente, siempre que el muestreo y análisis hayan sido realizados de conformidad con el Protocolo de Monitoreo de Aguas y Efluentes del Ministerio de Energía y Minas; en este Protocolo se establecerán entre otros aspectos, los niveles de precisión, exactitud y límites de detección del método utilizado.
- Los valores indicados en la columna “Promedio anual” se aplican al promedio aritmético de todas las muestras colectadas durante el último año calendario previo a la fecha de referencia, incluyendo las muestras recolectadas por el Titular Minero y por el Ente Fiscalizador siempre que éstas hayan sido recolectadas y analizadas de conformidad con el Protocolo de Monitoreo de Aguas y Efluentes del Ministerio de Energía y Minas.

### ANEXO III

#### DECRETO SUPREMO N° 261-69-AP, MODIFICADO POR EL DECRETO SUPREMO N° 007-83-SA Y DECRETO SUPREMO N° 003-2003-SA

#### ESTÁNDARES DE CALIDAD AMBIENTAL- AGUAS.

#### USOS

- I. Aguas de abastecimiento doméstico con simple desinfección.
- II. Aguas de abastecimiento doméstico con tratamiento equivalente a procesos combinados de mezcla y coagulación, sedimentación, filtración y cloración, aprobados por el Ministerio de Salud.
- III. Aguas para riego de vegetales de consumo crudo y bebida de animales.
- IV. Aguas de zonas recreativas de contacto primario (baños y similares).
- V. Aguas de zonas de pesca de mariscos bivalvos.
- VI. Aguas de zonas de preservación de fauna acuática y pesca recreativa o comercial.

Parámetro	Unidad	I	II	III	IV	V	VI
Cadmio total <sup>(4)</sup>	mg/L	0,01	0,01	0,05		0,0002	0,004
Plomo total <sup>(4)</sup>	mg/L	0,05	0,05	0,1		0,01	0,03

(4) aunque la norma no lo especifica, se asume que se refiere al metal total.

**ANEXO IV**

**DECRETO SUPREMO N° 021-2009-VIVIENDA**

**Aprobación de Valores Máximos Admisibles (VMA) para el sector saneamiento.**

**Valores Máximos Admisibles.**

<b>PARÁMETRO</b>	<b>UNIDAD</b>	<b>EXPRESIÓN</b>	<b>VMA PARA DESCARGAS</b>
			<b>AL SISTEMA DE ALCANTARILLADO</b>
Cadmio (II)	mg/L	Cd	0,2
Plomo (II)	mg/L	Pb	0,5

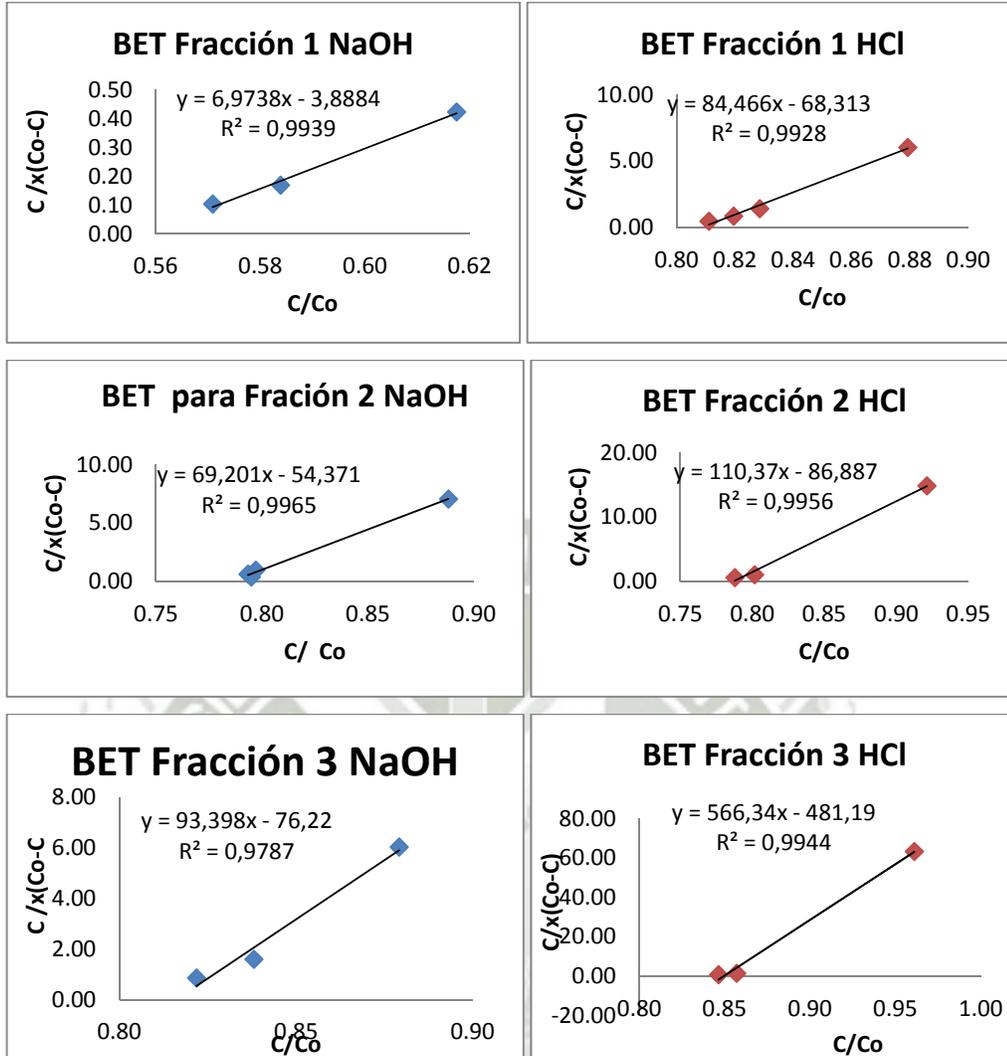
ANEXO V

Cálculo de la superficie específica

	Ao	A	Co	C	X	C/Co	$\frac{C}{X(Co - C)}$
			(mg/L)	(mg/L)			
<b>F1 NaOH</b>	0,2	0,1	10	6,2	3,8	0,6	0,4
	0,4	0,2	20	11,7	8,3	0,6	0,2
	0,6	0,3	30	17,1	12,9	0,6	0,1
	0,9	0,5	50	28,6	21,4	0,6	0,1
<b>F2 NaOH</b>	0,2	0,2	10	8,9	1,1	0,9	7,1
	0,4	0,3	20	15,9	4,1	0,8	1,0
	0,6	0,5	30	23,8	6,2	0,8	0,6
	0,9	0,7	50	39,8	10,2	0,8	0,4
<b>F3 NaOH</b>	0,3	0,2	10	8,9	1,1	0,9	7,4
	0,4	0,3	20	16,8	3,2	0,8	1,6
	0,6	0,5	30	24,6	5,4	0,8	0,9
	0,9	0,7	50	40,5	9,5	0,8	0,4
<b>F1 HCl</b>	0,2	0,2	10	8,8	1,2	0,9	6,0
	0,4	0,3	20	16,6	3,4	0,8	1,4
	0,6	0,5	30	24,6	5,4	0,8	0,8
	0,9	0,7	50	40,6	9,4	0,8	0,4
<b>F2 HCl</b>	0,2	0,2	10	9,2	0,8	0,9	14,8
	0,4	0,3	20	16,0	4,0	0,8	1,0
	0,6	0,5	30	23,6	6,4	0,8	0,6
	0,9	0,7	50	40,1	9,9	0,8	0,4
<b>F3 HCl</b>	0,2	0,2	10	9,6	0,4	1,0	63,4
	0,4	0,4	20	17,8	2,2	0,9	3,6
	0,6	0,5	30	25,7	4,3	0,9	1,4
	0,9	0,7	50	42,3	7,7	0,8	0,7

Dónde: Ao: absorbancia inicial, A: absorbancia final, Co: Concentración inicial de la solución, C: Concentración final de la solución o de equilibrio, X: (Co-Cf),

El valor de Xm para cada fracción se obtiene a partir del intercepto y pendiente que resulta de la gráfica C/X (Co-C) versus C/Co mediante la ecuación:  $Xm = \frac{1}{(m+b)}$



Y reemplazando en:

$$S = X_m \times N_o \times a$$

$$N_o = 6,002 \times 10^{23} \times \text{mol}^{-1} \times \frac{1 \text{ mol}}{373,9 \text{ g}} = 1,61006 \times 10^{21} \text{ g}^{-1}$$

$$a = 25 \text{ \AA}^2 \times \frac{1 \times 10^{-20} \text{ m}^2}{\text{ \AA}^2} = 25 \times 10 \text{ m}^2$$

Se obtiene la superficie específica en  $\text{m}^2/\text{g}$

ANEXO VI

Análisis de Varianza para Cadmio (II).

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A: pH	579,282	1	579,282	79,83	0,0001
B: Concentración	416,084	1	416,084	57,34	0,0003
C: Pretratamiento	923,248	1	923,248	127,23	0
D: Partícula	240,603	1	240,603	33,16	0,0012
AB	39,9642	1	39,9642	5,51	0,0573
AC	50,0837	1	50,0837	6,9	0,0392
AD	5,8806	1	5,8806	0,81	0,4027
BC	3,596	1	3,596	0,5	0,5078
BD	159,896	1	159,896	22,04	0,0033
CD	35,6972	1	35,6972	4,92	0,0684
ABC	17,4933	1	17,4933	2,41	0,1715
ABD	2,1462	1	2,1462	0,3	0,6061
ACD	36,663	1	36,663	5,05	0,0656
BCD	0,0342	1	0,0342	0	0,9475
Falta de ajuste	464,215	15	30,9477	4,26	0,0416
Error puro	43,5387	6	7,2564		
Total (corr.)	3018,43	35			

Dónde, corr es correlación.

**ANEXO VII**

**Análisis de varianza para Plomo (II).**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:pH	146,768	1	146,768	3,79	0,0996
B:Concentración	32,9707	1	32,9707	0,85	0,3918
C:Pretratamiento	3063,07	1	3063,07	79,07	<b>0,0001</b>
D:Partícula	1687,73	1	1687,73	43,56	<b>0,0006</b>
AB	0,5075	1	0,5075	0,01	0,9126
AC	40,482	1	40,482	1,04	0,3461
AD	151,229	1	151,229	3,9	0,0956
BC	50,431	1	50,431	1,3	0,2974
BD	695,773	1	695,773	17,96	<b>0,0055</b>
CD	91,26	1	91,26	2,36	0,1757
ABC	9,6393	1	9,6393	0,25	0,6357
ABD	1,2045	1	1,2045	0,03	0,8658
ACD	8,8358	1	8,8358	0,23	0,6499
BCD	3,1952	1	3,1952	0,08	0,7836
Falta de ajuste	793,698	15	52,9132	1,37	0,3686
Error puro	232,446	6	38,741		
Total (corr.)	7009,24	35			

Dónde, corr es correlación.

## ANEXO VIII

### Optimización para Cadmio (II) y Plomo (II)

#### Análisis de varianza para modelo de segundo orden de Cadmio (II).

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:pH	77,393	1	77,393	4,56	0,1223
B:Concentración	95,9527	1	95,9527	5,66	0,0977
BB	11,8904	1	11,8904	0,7	0,4638
Falta de ajuste	75,7815	5	15,1563	0,89	0,5756
Error puro	50,8675	3	16,9558		
Total (corr.)	311,885	11			

Dónde, corr. es correlación.

#### Análisis de varianza para el modelo de segundo orden de Plomo (II).

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:pH	6,5306	1	6,5306	0,13	0,7411
B:Concentración	559,356	1	559,356	11,25	<b>0,0439</b>
AA	8,6949	1	8,6949	0,17	0,7039
Falta de ajuste	123,981	5	24,7962	0,5	0,7681
Error puro	149,147	3	49,7156		
Total (corr.)	847,709	11			

## ANEXO IX

### CIU

#### CLASIFICACIÓN INDUSTRIAL INTERNACIONAL UNIFORME DE TODAS LAS ACTIVIDADES ECONÓMICAS

Es una clasificación de actividades cuyo alcance abarca a todas las actividades económicas, las cuales se refieren tradicionalmente a las actividades productivas, es decir, aquellas que producen bienes y servicios, tal como se reconoce en el Sistema de Cuentas Nacionales (SCN) y en la Clasificación Central de Productos (CPC).

El propósito principal de la CIU es ofrecer un conjunto de categorías de actividades productivas que se pueda utilizar cuando se diferencian las estadísticas de acuerdo con esas actividades. Como lo que se pretende con muchas estadísticas es estudiar el comportamiento de las entidades económicas, es preciso que los datos necesarios para dichas estadísticas se recopilen respecto de los distintos agentes de la economía.

Los principales criterios empleados para definir las divisiones y grupos de la CIU se refieren a las características de las actividades de las unidades de producción que tienen un carácter estratégico para determinar el grado de analogía de la estructura de las unidades y ciertas relaciones dentro de una economía. Los principales aspectos de las actividades consideradas fueron:

- a) las características de los bienes producidos y de los servicios prestados;
- b) los usos a que se destinan esos bienes y servicios; y
- c) los insumos, el proceso y la tecnología de producción.

	Actividades en cuestión	Secciones	Actividades económicas
1	Industria Olivarera. Extracción de aceite de Oliva	Sección C	Industrias manufactureras
2	Minería	Sección B	Explotación de minas y canteras.

## 1. Extracción de aceite de Oliva

### **División: 10 - Elaboración de productos alimenticios**

Esta división comprende la elaboración de los productos de la agricultura, la ganadería, la silvicultura y la pesca para convertirlos en alimentos y bebidas para consumo humano o animal, e incluye la producción de varios productos intermedios que no son directamente productos alimenticios. La actividad genera en muchos casos productos asociados de mayor o menor valor (por ejemplo, cueros procedentes de los mataderos, o tortas procedentes de la elaboración de aceite).

La división se organiza por actividades que se realizan con los distintos tipos de productos: carne, pescado, fruta, legumbres y hortalizas, grasas y aceites, productos lácteos, productos de molinería, alimentos preparados para animales y otros productos alimenticios y bebidas. La producción puede realizarse por cuenta propia o para terceras partes, como la matanza por encargo.

Algunas actividades se consideran actividades de la industria manufacturera (por ejemplo, las que realizan las panaderías, pastelerías y tiendas de carnes preparadas que venden artículos de producción propia) aunque se vendan al por menor los productos en el propio establecimiento del productor. Sin embargo, cuando la elaboración es mínima y no da lugar a una transformación real, la unidad se clasifica en la sección G (Comercio al por mayor y al por menor).

La producción de alimentos preparados para animales a partir de desperdicios o subproductos de los mataderos; la elaboración de desperdicios de alimentos y bebidas para convertirlos en materias primas secundarias; y la eliminación de desperdicios de alimentos y bebidas.

### **Grupo: 104 - Elaboración de aceites y grasas de origen vegetal y animal**

Véase la clase 1040.

### **Clase: 1040 - Elaboración de aceites y grasas de origen vegetal y animal**

Esta clase comprende la elaboración de aceites y grasas crudos y refinados a partir de productos vegetales o animales, excepto la extracción y refinación de manteca de cerdo y otras grasas comestibles de origen animal.

Esta clase comprende las siguientes actividades:

- Elaboración de aceites vegetales crudos: aceite de oliva, aceite de soja, aceite de palma, aceite de girasol, aceite de colza o de mostaza, aceite de linaza, etcétera.
- Elaboración de harina y sémola sin desengrasar de semillas, nueces y almendras oleaginosas.
- Elaboración de aceites vegetales refinados: aceite de oliva, aceite de soja, etcétera.
- Elaboración de aceites vegetales: oxidación por corriente de aire, cocción, deshidratación, hidrogenación, etcétera.

- Elaboración de margarina.
- Elaboración de mezclas de aceites de oliva y otros alimentos similares para untar.
- Elaboración de grasas mixtas para cocinar.

Se incluyen también las siguientes actividades: elaboración de aceites y grasas de origen animal no comestibles; extracción de aceites de pescado y de mamíferos marinos; y producción de borra de algodón, tortas y otros productos residuales de la elaboración de aceite.

*No se incluyen las siguientes actividades:*

- *Extracción y refinación de manteca de cerdo y otras grasas comestibles de origen animal.*
- *Molienda en húmedo de maíz.*
- *Producción de aceites esenciales.*
- *Tratamiento de aceites y grasas mediante procesos químicos.*

## 2. Minería local

### **División: 07 - Extracción de minerales metalíferos**

Esta división comprende la extracción de minerales metalíferos en minas subterráneas o a cielo abierto, la explotación minera de los fondos marinos, etcétera.

Se incluyen también las operaciones de preparación y beneficio de minerales, como las de trituración, desmenuzamiento, lavado, secado, aglomeración, calcinado, lixiviación, separación gravimétrica o flotación.

*No se incluyen las actividades manufactureras, como el tostado de pirita de hierro, la producción de óxido de aluminio ni la explotación de altos hornos.*

### **Grupo: 072 - Extracción de minerales metalíferos no ferrosos**

Este grupo comprende la extracción de minerales metalíferos no ferrosos.

### **Clase: 0729 - Extracción de otros minerales metalíferos no ferrosos**

Esta clase comprende la extracción y preparación de minerales estimados principalmente por su contenido de metales no ferrosos:

- Aluminio (bauxita), cobre, plomo, zinc, estaño, manganeso, cromo, níquel, cobalto, molibdeno, tántalo, vanadio, etcétera.
- Metales preciosos: oro, plata, platino.

*No se incluyen las siguientes actividades:*

- *Extracción y preparación de minerales de uranio y torio.*
- *Producción de óxido de aluminio y matas de níquel o de cobre.*

Fuente: INEI. Dirección Nacional de Cuentas Nacionales. 2010.