



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE INGENIERÍA

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL

INFLUENCIA DEL pH Y LA CONCENTRACIÓN DE *Haloferax sp*
EN LA DQO Y DBO₅ DEL EFLUENTE RESIDUAL DE LA
EMPRESA EXALMAR S. A. C.

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERO AMBIENTAL**

AUTOR

ATOCHE GAMARRA, HILLARY YOMIRA

ASESOR

Ms. WALTER MORENO EUSTAQUIO

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN

Calidad y Gestión de los Recursos Naturales

TRUJILLO – PERU

(2018)

JURADO EVALUADOR

Dr. Jose Cruz Monzón
PRESIDENTE

Ms. Walter Moreno Eustaquio
SECRETARIO

Dr. Medardo Alberto Quezada Alvarez
VOCAL

DEDICATORIA

La vida está llena de retos, y uno de ellos es la universidad. Tras encontrarme en ella, entendí que no solo es un reto el culminarla, sino que es una base para enfrentarnos al mundo laboral, mi futuro; y tener presente que siempre tenemos que adquirir nuevos conocimientos.

La presente Tesis está dedicada a Dios, por permitirme llegar satisfactoriamente a este momento tan importante de mi vida y cumplir una de mis metas propuestas académicamente y no desistir en el camino.

A mis padres; Roberto Atoche Zavaleta y Elva Gamarra Linares; por brindarme la oportunidad de ser una profesional, por su apoyo incondicional y sus consejos. Ellos se han convertido en el motivo de seguir avanzando y no desistir de lo que había empezado.

A mi hermana Melanye y a mi familia en general, que es lo más valioso que Dios me dio; a ellos, gracias por sus palabras de aliento que no me permitieron decaer para seguir adelante, perseverar siempre; y poder cumplir con mis ideales.

Gracias a todas las personas que creyeron en mí.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por protegerme, no abandonarme, estar siempre a mi lado y el permitirme llegar a cumplir una meta más en mi vida.

Agradecer por su apoyo y colaboración brindada para la realización de la presente tesis al Ms. Walter Moreno Eustaquio.

Agradecer a mi profesor de Tesis, Dr. Alfredo Cruz Mozón por su visión crítica, por sus lecciones, que me ayudaron a constituirme profesionalmente.

Agradecer a mis padres por el apoyo y la confianza que depositaron en mí para lograr cumplir mis objetivos.

Agradecer a todas aquellas personas quienes me ayudaron directamente e indirectamente para la culminación de este presente Trabajo.

DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD

Yo, Hillary Yomira Atoche Gamarra, identificado con DNI N° 76215998, a efecto de cumplir con las disposiciones vigentes consideradas en el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo, Facultad de Ingeniería, Escuela de Ingeniería Ambiental, declaro bajo juramento que toda la documentación que acompaño es veraz y auténtica.

Asimismo, declaro también bajo juramento que todos los datos e información que se presenta en la presente tesis son auténticos y veraces.

En tal sentido asumo la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión tanto de los documentos como de información aportada por lo cual me someto a lo dispuesto en las normas académicas de la Universidad César Vallejo.

Trujillo, junio 29 del 2018

Hillary Yomira Atoche Gamarra
DNI 76215998

PRESENTACIÓN

Señores miembros del jurado.

En cumplimiento del reglamento de grados y títulos de la Universidad César Vallejo, presento ante ustedes la tesis titulada “Influencia del pH y la concentración de *Haloferax sp* en la DQO Y DBO5 del efluente residual de la empresa EXALMAR S. A. C.” Con el objetivo de ver cuál es el efecto que tiene los factores, como el pH y las concentraciones de *Haloferax sp.* sobre la disminución de la Demanda Química de Oxígeno (DQO) y la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO5), en cumplimiento del Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo para obtener el Título Profesional de Ingeniería Ambiental.

El Autor

ÍNDICE

RESUMEN	12
ABSTRACT	13
I. INTRODUCCIÓN	14
1.1. Realidad problemática	14
1.2. Trabajos previos.....	15
1.3. Teorías relacionadas al tema.....	20
1.3.1. Aguas residuales.....	20
1.3.2. Efluentes de industria pesquera.....	20
1.3.3. Características de los efluentes industriales pesqueras	21
1.3.4. Producción de aceite y harina de pescado	21
1.3.5. Halófilos	22
1.3.6. Usos de microorganismos halófitos	23
1.4. Formulación del problema.....	24
1.5. Justificación del estudio.....	24
1.6. Hipótesis	25
1.7. Objetivos.....	25
1.7.1. Objetivo general	25
1.7.2. Objetivos específicos.....	25
II. MÉTODO	26
2.1. Diseño de investigación	26
2.1.1. Pre-experimentos.....	26
2.1.2. Disposición de los factores y niveles de un diseño bifactorial.....	27
2.1.3. Tratamiento	27
2.2. Variables y operacionalización.....	28
2.2.1. Variables.....	28
2.2.2. Matriz de operacionalización de variables	29
2.3. Población y muestra.....	30
2.3.1. Población.....	30
2.3.2. Muestra.....	30
2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad.....	30
2.4.1. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	30



2.4.2.	Validez y confiabilidad de instrumentos.....	31
2.5.	Métodos de análisis de datos	31
2.5.1.	Muestreo de suelo salino del salar Chimbote-Perú para el aislamiento de <i>Haloferax sp.</i>	31
2.5.2.	Aislamiento y cultivo de la <i>Haloferax sp.</i>	32
2.5.6.	Análisis de datos.....	36
2.6.	Aspectos éticos	36
III.	RESULTADOS	37
IV.	DISCUSIÓN	44
V.	CONCLUSIÓN	49
VI.	RECOMENDACIÓN	50
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51
	ANEXOS.....	56

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Disposición de los factores y niveles	27
Tabla 2. Tratamiento de Diseño Bifactorial	27
Tabla 3. Clasificación de las variables	28
Tabla 4 Operacionalización de variables	29
Tabla 5. Métodos normalizados para el análisis de agua.	30
Tabla 6. Normas Metrológicas Peruanas.	31
Tabla 7. Promedio de los resultados de la DBO ₅ y DQO.	37
Tabla 8. Porcentaje de disminución de DBO ₅	38
Tabla 9. Porcentaje de disminución de DQO.	39
Tabla 10. Datos del crecimiento de las bacterias <i>Haloferax sp</i>	42
Tabla 11. Ficha Técnica del Pre- Tratamiento.	75
Tabla 12. Ficha Técnica de observación-post-tratamiento.	76
Tabla 13. Límites Máximos Permisibles de efluentes pesqueros	80
Tabla 14. Valores de los análisis realizados a los tratamientos de DBO ₅	81
Tabla 15. Datos de la disminución de DBO ₅ y DQO a un pH 7.	87
Tabla 16. Datos de la disminución de DBO ₅ y DQO a un pH 10.	88
Tabla 17. Datos de la disminución de DBO ₅ y DQO a un pH 12.	89
Tabla 18. Análisis por ANOVA entre los resultados de la DBO ₅	90
Tabla 19. Análisis de varianza.	90
Tabla 20. Análisis por ANOVA entre los resultados de la DQO.	91
Tabla 21. Análisis de varianza.	91

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Proceso de producción de harina de pescado	22
Figura 2 Esquema de grupo control.....	26
Figura 3 Esquema de grupo experimental.	26
Figura 4 Esquema de Pre-Tratamiento y Post-Tratamiento.	26
Figura 5. Ubicación geográfica del salar de Chimbote.	32
Figura 6. Diagrama de bloques del procedimiento experimental.....	34
Figura 7. Porcentaje de disminución de DBO5.	40
Figura 8. Porcentaje de disminución de DQO.....	41
Figura 9. Curva de crecimiento bacteriana por tres días a temperatura ambiente sin agitación.	43
Figura 10. Medidas del biorreactor.	57
Figura 11. Motor de rotación.....	58
Figura 12. Tapa del biorreactor con el motor pegado.	58
Figura 13. Modelo del convertidor de voltaje para el biorreactor de batch discontinuo.	59
Figura 14. Captación panorámica del salar de Chimbote.....	60
Figura 15. Zona líquida del salar de Chimbote.	60
Figura 16. Muestra 1, líquida del salitral de Chimbote.	61
Figura 17. Muestra 2, sólida del salitral de Chimbote.....	61
Figura 18. Muestra 4, obtenida del salitral de Chimbote.	62
Figura 19. Muestra 3, obtenida del salitral de Chimbote.	62
Figura 20. Observación en fresco de la muestra 1.....	63
Figura 21. Aislamiento de diferentes colonias en medios agar halófilo.....	64
Figura 22. PURIFICACIÓN. Agar halófilo inclinado.	64
Figura 23. PURIFICACIÓN. Agar halófilo inclinado (cara posterior de los frasquitos)...	65
Figura 24 Observación por inmersión de una coloración Gram del cultivo N1.....	65
Figura 25. Valores según la escala de McFarland	66
Figura 26. Vertimiento de 100 ml de solución de Na Cl a los tubos.....	66
Figura 27. Vertimiento de 5 a 6 ml de la solución salina al inóculo.	67
Figura 28. Desprendimiento de las Haloferax sp, del agar halófilo inclinado.	67
Figura 29. Vertimiento de las bacterias a los tubos para su posterior inoculación.....	68
Figura 30. Suspensión de biomasa del halófilo a 3×10^8 UFC/ml.	69
Figura 31. Esterilización de biorreactores por radiación UV.	70

Figura 32. Cogemos 10 ml de la muestra para que sea diluida.	71
Figura 33. Se evidencian 10 ml de la muestra del efluente pesquero.....	71
Figura 34. Vertimiento de la solución salina hasta los 250 ml, incluido los 10 ml de la muestra.	72
Figura 35. Suspensión de biomasa del halófilo a 3×10^8 UFC/ml.	72
Figura 43. Análisis de DBO ₅ a un pH 12, realizado después del tratamiento.	85
Figura 44. Análisis de DQO a un pH 12, realizado después del tratamiento.	86

RESUMEN

La presente investigación tuvo la finalidad de evaluar la influencia del pH y la concentración de *Haloferax sp* en la disminución de materia orgánica, a través de los parámetros DBO₅ y DQO del efluente de la planta de agua de cola de la empresa EXALMAR S.A.C. ubicada en el distrito de Rázuri- Malabrigo, para esto se diseñó y construyó tres reactores batch para los tratamientos experimentales, las variables que se manipularon fueron el pH con valores de 7, 10 y 12; y la concentración de bacterias *Haloferax sp*. con concentraciones de $3 \cdot 10^8$ UFC/ml, $6 \cdot 10^8$ UFC/ml y $9 \cdot 10^8$ UFC/ml. Se analizó los parámetros de DBO₅ y DQO en dicho efluente, antes y después del tratamiento en función de sus factores, pH y la concentración de bacterias *Haloferax sp*. En base a los resultados obtenidos de acuerdo a la finalidad de esta investigación, se comprobó que el agua residual del efluente de la planta de agua de cola, antes y después del tratamiento experimental, no cumple con los LMPs (DBO₅ y DQO), establecido según la Resolución Ministerial 178-2014- MINAM, sin embargo en la aplicación de la biorremediación a nivel experimental, los mejores resultados obtenidos en la disminución de DBO₅ fue de 52,66% y en DQO fue de 59,39%, con un tiempo de 72 horas y a un pH de 12.

Palabras claves: *Influencia, Concentración de bacterias, pH, Tiempo, DBO₅ y DQO.*

ABSTRACT

The present investigation had the purpose of evaluating the influence of the pH and the concentration of *Haloferax* sp in the decrease of organic matter, through the parameters BOD₅ and COD of the effluent of the tail water plant of the company EXALMAR S.A.C. located in the district of Rázuri- Malabrigo, for this purpose three batch reactors were designed and built for the experimental treatments, the variables that were manipulated were the pH with values of 7, 10 and 12; and the concentration of bacteria *Haloferax* sp. with concentrations of 3×10^8 UFC / ml, 6×10^8 CFU / ml and 9×10^8 CFU / ml. The parameters of BOD₅ and COD were analyzed in said effluent, before and after the treatment according to their factors, pH and the concentration of bacteria *Haloferax* sp. Based on the results obtained according to the purpose of this investigation, it was verified that the wastewater from the effluent of the tail water plant, before and after the experimental treatment, does not comply with the LMPs (BOD₅ and COD), established according to Ministerial Resolution 178-2014-MINAM, however in the application of bioremediation at experimental level, the best results obtained in the reduction of BOD₅ was 52.66% and in COD it was 59.39%, with a time of 72 hours and a pH of 12.

Key words: Influence, Bacterial concentration, pH, Time, BOD₅ and COD.

I. INTRODUCCIÓN

1.1. Realidad problemática

La moderna actividad industrial de producción de harina de pescado se ha posicionado a lo largo del litoral costero peruano, siendo así uno de los sectores de gran importancia para la generación de ingresos económicos del país, por lo que la explotación de los recursos pesqueros ha permitido al Perú ser reconocido como potencia mundial, sin embargo aún estamos precarios de políticas de gestión para un manejo adecuado de estos recursos, lo cual nos brinda un panorama lejos de alcanzar el desarrollo sostenible.

Hoy en día la producción de harina de pescado y el aceite de pescado constituyen la tercera actividad más importante del Perú, después de la minería y la agroindustria. Esta actividad es la más abundante ya que nuestro litoral peruano, cuenta con las características biológicas de la Corriente Peruana, donde existen en ciertas localidades el afloramiento de mayor intensidad como en Paita, Pimentel, Puerto Malabrigo, Chimbote y San Juan. (TALAVERA, 2013, p. 25)

El distrito de Puerto Malabrigo se está viendo perjudicada por la contaminación de su bahía, debido que en esa zona existen 8 plantas pesqueras, donde ciertos efluentes son vertidos al mar pasando los LMP, alterando así su flora y su fauna marina.

La industria pesquera tiene como principal materia prima la descarga de pescado; obteniendo como producto la harina de pescado que es fuente rica en proteínas de alta calidad, alto contenido energético y rica en vitaminas, minerales y aminoácidos, que es empleada en alimentos balanceados para animales. La materia prima está compuesta por tres fracciones principales: sólidos (materia seca libre de grasa), aceite y agua. (CARRANZA, 1999, p. 1)

Los problemas ambientales provocados por la operación de la industria, se halla en las fábricas de procesamiento debido a gran cantidad de agua residual que en ella se origina. Los efluentes líquidos de calderos o aguas de plantas evaporadoras de agua de cola (AC) se derivan al mar con temperaturas en promedio de 50° C, lo cual generaría trastornos locales y puntuales en el entorno del efluente. (CABRERA, 2002, p. 4)

Teniendo en cuenta la importancia económica, social de la industria; y con la problemática que cuentan respecto a las descargas de aguas residuales industriales pesqueras, en las que es muy difícil que sobrevivan microorganismos debido a la gran cantidad de sales que en ellas existen. Es así que actualmente se está aplicando la biotecnología, donde una de ellas es la adaptación de los microorganismos halófitas tomándolas como alternativa de

biorremediación, ya que estas son capaces de sobrevivir en condiciones de alta salinidad, mejora la degradación de materia orgánica y disminuir los efectos negativos en el ecosistema marino. (MEZA, 2014, p.1)

Las halófitas son aquellos microorganismos que se adaptan a ciertas concentraciones de NaCl para que se desarrollen y crezcan. Estas se pueden obtener mediante la aislación de los hábitats que presentan alta salinidad ubicados en cualquier lugar (la mayoría se encuentra en zonas calientes y secas, lagos salinos, suelo salados y alimentos salados). Es por ello que estas bacterias están alcanzando un gran interés en la degradación de residuos tóxicos, ya que a diferencia de los tratamientos microbiológicos convencionales que generan aguas residuales hipersalinas, éstas mejoran la calidad de los efluentes de la industria pesquera. (RAMÍREZ, et al, 2006, p. 57)

Debido a que esta realidad no es ajena en Malabrigo, el presente estudio determinó la eficacia del tratamiento aplicando microorganismos halófitos en las aguas residuales industriales pesqueras de Puerto Malabrigo.

1.2. Trabajos previos

VILLOTA, Tomas (2014, p. 5), en el trabajo titulado “Biorremediación de aguas residuales con alta salinidad mediante bacterias halófitas aisladas de perfiles costeros del Ecuador”, tuvo como objetivo diseñar un proceso para la biorremediación de aguas residuales con alta salinidad. Para ello se tomaron y georreferenciaron con los datos de cada punto de las muestras en la provincia de Manabí (localidades: Leónidas Plaza, San Vicente, Canoa y Pedemales) para posteriormente aislarlas mediante 2 técnicas de aislamiento de bacterias (aislamiento de bacterias en medios sólidos mediante estriado y aislamiento halófitos aplicando un diseño factorial fraccionado Plackett-Burman).

Dicho experimento fue realizado a escala de laboratorio, con agua residual sintética teniendo las condiciones de salinidad (NaCl del 2%) y carga orgánica de la industria pesquera. Una de las dificultades que se presentó fue falta de sedimentación al final del tratamiento por la presencia de alta salinidad, que fue resuelto con un tratamiento terciario (coagulantes y floculante químico). Teniendo como resultados positivos en cuanto al mejoramiento de la calidad del agua entre el agua residual sintética antes y después del tratamiento con una remoción de DQO a un aproximado de 80% utilizando este tipo de bacterias en un reactor secuencial.

CASTRO, Liliana; et al. (2011, p.33), en el trabajo publicado por la revista científica de la Universidad Autónoma de Coahuila titulado “Aislamiento y caracterización de microorganismos halófitos de los suelos salinos de Cuatrociénegas Coahuila, México”, tiene como objeto de estudio los microorganismos halófilos con potencial biotecnológico, ya que la región de Cuatro Ciénegas, Coahuila se caracteriza por poseer una amplia variabilidad genética de microorganismos endémicos y por su alto nivel de salinidad. Para esto se estudiaron 8 diferentes muestras de suelo del Valle de Cuatro Ciénegas, las cuales fueron caracterizadas por su contenido de cloruro de sodio, humedad, materia orgánica y características texturales. Para aislar estas las bacterias halófilas que se encuentran en la muestra se utilizaron los medios de cultivo con concentraciones altas de sales así como la determinación de las características bioquímicas, morfológica y potencial biotecnológico de las cepas aisladas; mediante los medios de cultivo caldo nutritivo modificado, agar nutritivo modificado y HALO que permitieron es aislamiento de las bacterias halófitas, sin mostrar crecimiento de levaduras u hongos. Como resultado del trabajo se puede decir que las bacterias halófilas proveen oportunidades en el campo de la biotecnología al constituir una fuente potencial de enzimas de interés industrial con destacables propiedades de bio-remediación.

GARCÍA, et al. (2009, p. 67), en el trabajo publicado por la revista CyTA – Journal of Food. Titulado el Impacto del agua de cola de la industria pesquera: tratamiento y usos (México). Este estudio se basa en el panorama producido por la industria pesquera de la contaminación que provocan dichos efluentes al ser descargados directamente al mar sin tratamiento previo alguno. En el cual toman en cuenta varios procesos para su tratamiento, abarcando métodos físicos, químicos y biológicos, aplicándolo en el tratamiento de agua de cola, así como la recuperación de los sólidos de la misma reincorporados a la misma. La investigación concluye el AC es el principal efluente de contaminante de las industrias pesqueras y tiene serias repercusiones en los ecosistemas marinos debido a las secuelas negativas de la contaminación, es por ello que los gobiernos han establecido normas centrando su atención en la disminución de la carga orgánica presentes en los efluentes.

CASTILLO, et al (2011, p. 45), en el trabajo de investigación publicado por la revista de sistemas ambientales, sobre Aplicaciones biotecnológicas de microorganismos *Halofilas* (MÉXICO), tuvo como objetivo dar a conocer las aplicaciones industriales de los microorganismos halófitos, su uso biotecnológico se ve orientadas en diferentes campos.

Se realizaron estudios en las diferentes salinas entre ellas las salinas de Maras de la provincia de Urubamba, Cusco (Perú) las cuales son denominadas “Estanque múltiple”. Se han aislado bacterias halófilas, capaces de degradar compuestos orgánicos halogenados como tricloroetileno el cual se caracteriza por su persistencia y su toxicidad. Teniendo como conclusión que los microorganismos halófitos presentan un gran potencial de biorremediación, ya que pueden ser empleados como catalizadores en diversos procesos en donde se requieren condiciones extremas para poder recuperar eficientemente un ambiente contaminado.

ARIAS y MENDEZ. (2014, p. 115), en el trabajo publicado por la revista Tecnología y Ciencias del agua del Instituto Tecnológico de Mazatlán, México, titulado como Remoción de sólidos en aguas residuales de la industria de pescado empleando biopolímero, tuvo como objetivo evaluar la remoción de materia orgánica en la fase de pretratamiento de dichas aguas residuales; mediante pruebas de coagulación, floculación y sedimentación, utilizando polímeros orgánicos naturales e inocuos; quitosán como coagulante primario, y alginato de sodio y ácido tánico como ayudantes de coagulación aniónico. Teniendo como resultado que en la mezcla de 300 mg/l de quitosán con 20 mg/l de alginato de sodio la remoción del 91.84% de sólidos suspendidos totales (SST) y 90.83% de sólidos suspendidos volátiles (SSV); y con la mezcla de 200 mg/l de quitosán con 20 mg/l de ácido tánico se obtuvieron remociones del 97.78% de SST y 97.79% de SSV. Llegando a la conclusión que la remoción de (precipitado sedimentado) con biopolímeros no es tóxico y por lo tanto lo pueden llevar a escala industrial para poder reducir el impacto ambiental que ocasiona la descarga con alta carga orgánica.

PIZARRO, et al. (2007, p. 47), en el trabajo publicado por la Revista Peruana Química de Ingeniería Química. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima Perú. Vol 10 N° 2. 2007, titulado como “Efecto de la adición de microorganismos en el tratamiento de efluentes líquidos de la industria de harina de pescado”, tuvo como objetivo diferenciar el tratamiento químico respecto del microbiológico en el agua de bombeo en la desestabilización de la uniformidad de la mezcla en la industria de harina de pescado. Mediante la adición de microorganismos (*Lactobacillus acidophilus* y el *Lactobacillus bulgaricus*) y en presencia de sulfato férrico se logra desestabilizar el sistema, ya que el sulfato férrico brinda el medio ácido para la reproducción de los microorganismos así mismo aporta también cargas positivas al sistema. Teniendo como resultados que en el

medio ácido y la presencia de un floculante, como el sulfato férrico, son insuficientes para que el sistema buscado sea el más adecuado para lograr la separación de los componentes, al desestabilizarse la mezcla estudiada, sin embargo al añadir microorganismos en presencia de sulfato férrico, se logró no solo desestabilizar el sistema, sino que la solución acuosa “drene” hacia la parte inferior en un tiempo respectivamente corto, dejando flotar al material sólido en forma más consolidada y libre de agua. Demostrando que la DBO se reduce a un 47% respecto a la muestra cruda, así mismo el contenido de sólidos se ven afectados por el ingreso de floculante el cuál incrementa su concentración, y a su vez supera en un 3% al tratamiento con sulfato ferroso.

GONZALES, Teresa (2005, p. 4), en el trabajo titulado como diagnóstico ambiental y propuesta de sistema de gestión ambiental municipal para el Puerto Malabrigo-Distrito de Razuri-Provincia de Ascope-Departamento de la Libertad, 2005; tuvo como objetivo evaluar los temas relacionados a la problemática ambiental en la jurisdicción de la municipalidad de Puerto Malabrigo y obtener información base para proponer un Sistema de Gestión Ambiental Municipal. Esta investigación toma como referencia la norma ISO 14001. Dicha metodología consistió en la Evaluación ecológica, Identificación de las especies, poblaciones y comunidades faunales y vegetales así como el sondeo rápido mediante visitas in situ y entrevista directas (encuestas) a las familias de Puerto Malabrigo y turistas. En el cual se identificó que existen 10 fábricas productoras de harina y conserva del pescado, haciendo referencia a los efluente de la planta de agua de cola de estas industrias el cual dice que cuando opera a su máxima carga (1000 TM de pescado por día) se estaría perdiendo 6 M3 por día de agua de cola. Teniendo como resultado el Diagnóstico de Gestión Ambiental Municipal, donde indica que es ineficiente en materia ambiental, ya que hay una escasa participación ciudadana y sobre todo la falta de un manejo técnico de la planificación de aspectos ambientales y resaltando los problemas ambientales negativos se centran principalmente en el medio acuático y en los ecosistemas de humedales.

VÁSQUEZ, Ántero (2003, p. 8), en el trabajo de titulado como impacto de la industria pesquera sobre el sistema marino litoral de Puerto Malabrigo; Mayo – Diciembre del 2003, tuvo como objetivo principal Identificar los impactos de la industria pesquera sobre el sistema marino litoral de Puerto Malabrigo así como reportar los indicadores de impacto ambiental en el sistema marino litoral de Puerto Malabrigo. La metodología que utilizaron fue obtener las muestras de agua superficiales con un balde y las del fondo con botellas

Niskin de 2.5 Lts, y las muestras de sedimentos se obtuvieron con una draga Van Veen con 0.05 m², tomándose 4 estaciones de muestreo, desde una embarcación para su posterior traslado al laboratorio y análisis. Teniendo como resultado que las concentraciones de sólidos suspendidos totales fue menor en la estación 4 en la mayoría de los muestreos, y mayor en las estaciones de muestreos 1, 2 y 3 habiendo variado desde 17.98 ppm a nivel del fondo, en el mes de setiembre hasta 49.15 ppm a nivel de la superficie en noviembre, en los demás casos de concentraciones fueron superiores a 19.76 ppm, concentraciones menores se determinaron en la época de veda. Así como la presencia de mayores concentraciones de aceites y grasas se determinaron a nivel de superficie en las cuatro estaciones de muestreo con un valor mínimo en mayo en la estación 1 (0.45 ppm) y máximo (1.30 ppm) en noviembre en las estaciones de muestreo 2 y 3.

PAREDES, Víctor (2005, p. 2), en el trabajo titulado como impactos ambientales y económicos generados por la planta de tratamiento de agua de cola de las fábricas de harina y aceite de pescado del Perú en el ambiente: Años 1950-2002, tuvo como objetivo determinar los impactos positivos y negativos generados por las acciones de vertimiento de agua de Cola, utilizaron la guía para la elaboración de estudios de impacto ambiental para la Industria de harina y aceite de pescado de la Dirección Nacional de Medio Ambiente de Pesquería y la normativa vigente de la actividad pesquera relacionada con la protección ambiental, características Físico- Químico del agua de mar peruano y Formato de laboratorios de las empresas pesqueras. Llegando a la conclusión que el ambiente marino de las bahías del litoral peruano en el periodo 1950-2002, como producto de la actividad pesquera, se han convertido en receptáculos de desechos industriales deteriorando el medio ambiente y constituyendo un riesgo a la salud humana, aun cuando existen regulaciones y leyes ambientales vigentes en la actualidad.

VARAS, Lupo (2016, p. 7), en el trabajo de investigación titulado como impacto de la emisión de efluentes líquidos en la industria pesquera en el mar de Puerto Malabrigo, distrito de Rázuri, Ascope – 2015. Propuesta de mitigación de impacto ambiental, tuvo como objetivo determinar el impacto de los efluentes líquidos de la industria pesquera en el mar de puerto Malabrigo y la comparación durante periodos de veda y sin veda, mediante la evaluación de los siguientes parámetros: OD, DBO5, SST, aceites y grasas, nitratos, fosfatos, temperatura, ph y sulfuros. Para ello se identificaron o se establecieron 6 estaciones de muestreo, tanto a nivel superficial como de fondo distribuidas. Cuya unidad

muestral consistió en 800 MI del efluente líquido y 800 MI de agua de mar (Cuerpo, marino receptor) tomada en cada estación; con un total de 24 muestras (12 en periodos de producción y 12 en periodo de veda) que fueron tomadas según el Protocolo para Monitoreo de Efluentes y Cuerpo Marino (Ministerio de Pesquería R.M. 003-2002) utilizando el método APHA. Teniendo como resultados que el OD es mayores en tiempo de veda (Octubre - Noviembre) que en periodo de producción, en cuanto al DBO a nivel de superficie disminuyo en un 94.04 % y al nivel del fondo disminuyo en 93.26%, en el parámetro de Nitrato son mayores en veda (Noviembre) que en periodo de producción pesquera (junio-julio), en cuyos meses este parámetro cumplió con los ECAs, en el parámetro de Fosfato alcanzó un promedio de 0.545 mg/L en mes de Junio superando el ECA. En los parámetros sólidos suspendidos totales y aceites y grasas, en SST se alcanzó su valor promedio máximo de 33.51 mg/L en el mes de Junio, lo mismo ocurrió con el valor promedio de aceites y grasas cuyo valor es máximo en el mes de junio (1.33 mg/L).

1.3. Teorías relacionadas al tema

1.3.1. Aguas residuales

Son aquellas aguas que en sus características originales han sido modificadas por actividades humanas y que por su calidad requieren de un tratamiento previo, antes de reusarse, verterse a un cuerpo natural de agua o ser descargadas a un sistema de alcantarillado. (OEFA, 2014, p.2):

Se clasifican de la siguiente manera (OEFA, 2014, p.2):

- Aguas residuales domésticas.
- Aguas residuales municipales.
- Aguas residuales industriales.

1.3.2. Efluentes de industria pesquera

Los efluentes provenientes de esta industria, causan desequilibrio en las propiedades físicas, químicas y biológicas en el sedimento de agua de mar, cuyas se ven afectadas por el: (García, *et al*, 2008, p.70)

- Cambio de salinidad.
- Disminución de DQO.
- Aumento de DBO₅.
- Aumento de nutrientes (fósforo y nitrógeno).
- Alta carga de sulfuros y amonio.

- Incremento de la temperatura, con riesgo a eutrofización.

1.3.3. Características de los efluentes industriales pesqueras

Las características físicas y químicas comunes del agua residual industrial, son las siguientes (D'Alessandri, 2012, p. 9):

- **Propiedades Físicas:** olor, color y sólidos totales, temperatura, densidad.
- **Constituyentes químicos:** Aceite y grasas, agentes tensoactivos, compuestos orgánicos volátiles, inorgánicos, alcalinidad, cloruros, metales pesados, nitratos, nitritos, pH, fosfatos y sulfuros.

Según Nuñez, 2014, p.10, se clasifica en:

- ✓ **La materia orgánica**

Deriva generalmente de sólidos y líquidos del reino animal, vegetal y las actividades humanas relacionadas con la síntesis de organismos.

- ✓ **Materia inorgánica**

Importante en las aguas residuales para la determinación y control de la calidad de agua. Tenemos: fósforo, el nitrógeno, los sulfatos y cloruros.

- ✓ **Gases**

Se encuentran: oxígeno, nitrógeno, dióxido de carbono, sulfuro de hidrógeno, el amoníaco y el metano.

1.3.4. Producción de aceite y harina de pescado

La harina de pescado se define como el producto que se obtienen secando y moliendo entero o partes de él, de varias especies, al que se le extrae la grasa como fuere necesario. (NUÑES, 2014, p. 3)

En la producción de harina de pescado obtenidos por las empresas pesqueras del Perú, pueden ser de 3 tipos: FAQ (Harina Estándar), STEAM y PRIME. (SÁNCHEZ, 2011, p. 2)

En el caso de la obtención de la harina de calidad FAQ, son harinas obtenidas mediante el uso de línea de secado directo, la calidad de harina STEAM y PRIME, son obtenidas con líneas de secado a vapor. (SÁNCHEZ, 2011, p. 2)

a. Proceso de elaboración

Este proceso de elaboración de la harina de pescado consiste en la separación de los tres componentes principales de materia prima: agua, aceites y sólidos, lo más completamente posible, con el fin de obtener un producto estable, concentrado de proteínas y con niveles de agua que no permitan el desarrollo microbiano; para lo cual utilizan el método más conocido para la elaboración como *Prensado Húmedo* (NUÑEZ, 2014, p. 4).

Donde los principales procesos son:

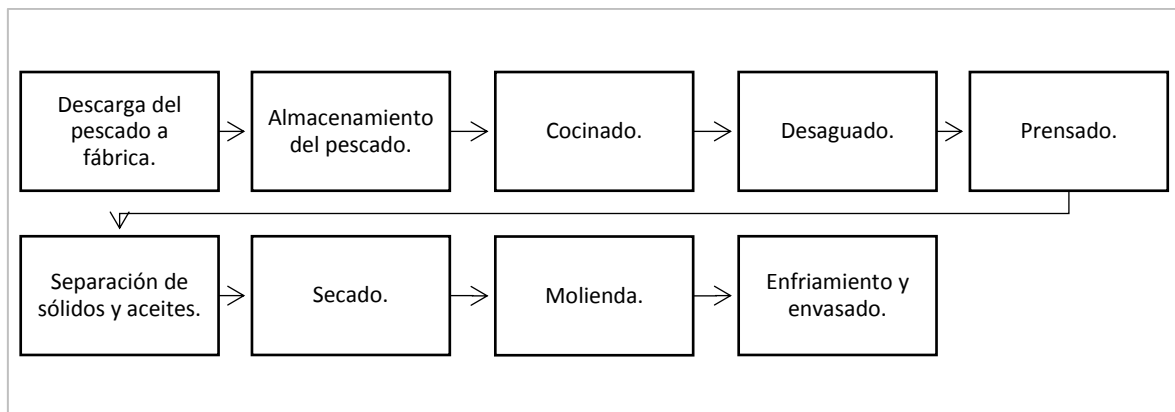


Figura 1 Proceso de producción de harina de pescado
 FUENTE: Elaboración propia

Teniendo como principales efluentes: Agua de bombeo, sanguaza y agua de cola.
 Según Nuñez (2014, p. 8)

1.3.5. Halófilos

Son microorganismos pertenecientes a la familia *Halobacteriaceae* abundan en las salinas y lagos hipersalinos, aquellos ambientes bajo los cuales muy pocos seres vivos pueden crecer. (CASTILLO et al., 2011, p. 46)

La clasificación de los microorganismos halófilos, se debe a las condiciones salinas para su crecimiento: las halófilas ligeras muestran crecimiento óptimo dentro de la concentración de NaCl que oscila entre 0.2 y 0.85 M (2-5%); los halófilos moderados, crecen entre 0.85 y 3.4 M (5-20%) de NaCl; y los halófilos extremos crecen de 3.4 a 5.1 M (20-30%). (GONZÁLES Y HERNÁNDEZ, 2002, p. 4).

Desde el punto de vista morfológico; los halófilos son cocos (0.2- 2.0 μ m) que aparecen de manera individual, en pareja, tétrada o racimo y los bacilos (0.3 *1.0-15.0 μ m) que

adoptan formas rectangulares, triangulares irregulares, y discos. (GONZÁLES Y HERNÁNDEZ, 2002, p. 4).

1.3.5.1. *Haloferax sp*

Es una arquea Gram (-), aeróbia, halófila moderada (si se le compara con especies del género *Halobacterium* y *Halococcus*), que habita en medios neutros. Las células son bacilos (0,5 x 2 μm) móviles que producen vacuolas de gas. (MARTINES, 2003, p. 9).

1.3.5.2. Halófitas para la biorremediación

Existen diversos estudios para aislar y usar microorganismos especializados, como las bacterias halófilas en el caso de salinidad, para así poder obtener resultados favorables en la remediación de dichos ambientes.

Estos microorganismos se caracterizan por vivir en ambiente hipersalino acuático (> 3.5 % de sales totales). Estas sales presentes en la planta de tratamiento debido a que inhiben y reducen la presencia de materia orgánica y causan problemas en la sedimentación en la fase de tratamiento, limitando la vida de los microorganismos que cumplen con las funciones de degradación de los contaminantes. (MEZA, 2014, p. 7)

1.3.6. Usos de microorganismos halófitos

Las bacterias halófitas y sus enzimas son usadas para diferentes sectores industriales como producción de enzimas, producción de polímeros, biorremediación, entre otras. (CASTILLO Et al., 2011, p. 47)

1.3.6.1. Producción de enzimas

Se produce una serie de enzimas hidrolítica extracelulares como: amilasas, proteasas, lipasas, nucleasas, y esterases; estas tienen propiedades catalíticas y potencial de aplicación industrial en la formulación de detergentes, biodegradación de residuos tóxicos y contaminantes industriales, etc. (CASTILLO et al., 2011, p. 48)

1.3.6.2. Producción de biopolímeros

Los microorganismos halófilos, tiene la capacidad de reproducir biopolímeros de diferentes clases entre los cuales tenemos: exopolisacáridos, biosurfactantes, liposomas, lectinas y bioplástico. Uno de los más resaltantes son los exopolisacáridos, que es un biopolímero producido extracelularmente por bacterias

halófitas teniendo aplicaciones en la industria alimentaria, farmacéutica y en proceso de biodegradación. (CASTILLO et al., 2011, p. 47)

Las cepas bacterianas han demostrado ser una alternativa para la degradación de residuos tóxicos especialmente en ambientes hipersalinos.

Otras cepas también han demostrado gran eficacia al tratar metales pesados (cadmio, cobre, zinc, cromo y mercurio). (CASTILLO et al., 2011, p. 50)

1.4. Formulación del problema

¿Cómo influye el pH y la concentración de *Halóferax sp* en la DQO y DBO5 del efluente residual de la empresa EXALMAR SAC?

1.5. Justificación del estudio

Actualmente existe una angustia a nivel global en alza por los aspectos relacionados a la calidad de vida, medio ambiente y sistema ecológico. Es por ello que la preservación del ambiente marino y la remediación de los efluentes de la industria pesquera tienen gran importancia, es así que el presente trabajo de investigación busca que los ecosistemas marinos no se vean afectados por el grado de contaminación que existe en los efluentes de las industrias pesqueras. Para poder llegar a lo expuesto, pasa por orientar a la investigación presente y futura al desarrollo de técnicas innovadoras, eficaces, sostenibles, fiables y fáciles de manejar, que sobre todo sean socialmente aceptadas por las empresas pesqueras, y que permitan la armonía entre el ecosistema marino y la comunidad.

En la presente investigación se propuso la aplicación de las *Halóferax sp* para disminuir el contenido de materia orgánica presente en los efluentes de las aguas residuales de industrias pesqueras, como alternativa orientada a mejorar la calidad del agua del efluente pesquero.

En esta investigación el principal beneficiado es el ecosistema marino, ya que no se verá afectado su ecosistema de manera significativa, así mismo la comunidad tendrá la certeza de acudir a los balnearios sin ninguna preocupación y a la vez poder consumir las especies marinas con total confianza, por último y no menos importante las empresas pesqueras que apliquen esta biotecnología, tendrán más posibilidades de que la empresa obtenga una certificación ambiental como reconocimiento a las buenas prácticas ambientales establecidas en la empresa.

Finalmente se abordó la aplicación de las bacterias halófitas para disminuir la materia orgánica presente en los efluentes de las aguas residuales industriales pesqueros en Malabrigo; así como la comparación de los resultados obtenidos con los LMP de acuerdo a la *Resolución Ministerial N° 178-2014 –MINAM*. Dicha experiencia piloto, representa una novedad que ayudará a revisar y adaptar el protocolo del aislamiento y cultivo de diferentes bacterias que tengan esas características de remediadoras y lo puedan aplicar a otro tipo de efluentes que hagan vulnerables a los ecosistemas tanto marino, terrestre como aéreo.

1.6. Hipótesis

El incremento del pH y la concentración de *Haloferax sp* influirá en la disminución la DQO y DBO₅ del efluente residual de la empresa EXALMAR SAC.

1.7. Objetivos

1.7.1. Objetivo general

- Demostrar la influencia del pH y la concentración de *Haloferax sp* en la DQO Y DBO₅ del efluente residual de la empresa EXALMAR SAC.

1.7.2. Objetivos específicos

- Identificar y cultivar las bacterias *Haloferax sp* a partir de las muestras del salar de la ciudad de Chimbote.
- Identificar las características físico-químicas (DQO y DBO₅) del efluente del agua residual pesquera en “EXALMAR SAC”.
- Analizar la concentración de DBO₅ y DQO en los efluentes de las aguas residuales pesqueros en EXALMAR SAC. cuando son expuestos a diferentes condiciones de pH y concentración de *Haloferax sp*.
- Aplicar los análisis estadísticos a los resultados utilizando el ANOVA.

II. MÉTODO

2.1. Diseño de investigación

Según Hernández, *et al* (2010, p. 121). La presente investigación es de tipo diseño experimental ya que se analizará si una o más variables independientes afectan a una o más variables dependiente, siendo experimental puro, ya que intervienen factores en la degradación de materia orgánica por lo que se evaluará la identificación de la mejor intervención en cuanto al tratamiento por *Haloferax sp.*

Esquema:

- Grupo control

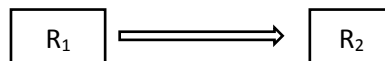


Figura 2 Esquema de grupo control.

- Grupo experimental

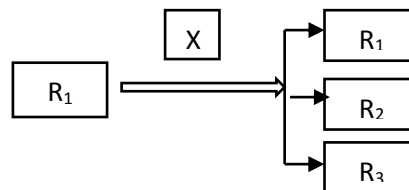


Figura 3 Esquema de grupo experimental.

2.1.1. Pre-experimentos

A. Diseño de preprueba – postprueba con un solo grupo

Según Hernández., *et al* (2010, p. 140). Donde a un grupo se le aplica una prueba previa al estímulo, después se le administra el tratamiento y finalmente se le aplica una prueba posterior al tratamiento. Este diseño de investigación tiene una ventaja, ya que hay un punto de referencia inicial donde se tiene la certeza de ver qué nivel tenía el grupo en las variables dependientes antes del estímulo, es decir que hay un seguimiento a los grupos.

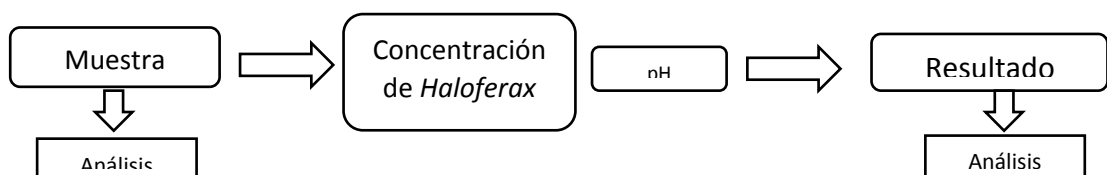


Figura 4 Esquema de Pre-Tratamiento y Post-Tratamiento.

2.1.2. Disposición de los factores y niveles de un diseño bifactorial.

Tabla 1. Disposición de los factores y niveles

FACTOR		NIVELES		
		1	2	3
A:	Concentración de <i>Haloferax sp.</i> (UFC/ml)	$3 \cdot 10^8$	$6 \cdot 10^8$	$9 \cdot 10^8$
B:	Ph	7	10	12

FUENTE: Elaboración Propia

2.1.3. Tratamiento

Según Hernández., *et al* (2010, p. 144). En la presente investigación se trabaja con un diseño bi-factorial ya que la investigación consta de 2 variables independientes con un variable dependiente.

Tabla 2. Tratamiento de Diseño Bifactorial

CONCENTRACIÓN DE <i>Haloferax sp.</i>	pH			UNIDAD DE ANÁLISIS	TIEMPO (h)
	B1	B2	B3		
A1	Y ₁₁₁	Y ₁₂₁	Y ₁₃₁	250 ml	72
	Y ₁₁₂	Y ₁₂₂	Y ₁₃₂		
	Y ₁₁₃	Y ₁₂₃	Y ₁₃₃		
A2	Y ₂₁₁	Y ₂₂₁	Y ₂₃₁	250 ml	72
	Y ₂₁₂	Y ₂₂₂	Y ₂₃₂		
	Y ₂₁₃	Y ₂₂₃	Y ₂₃₃		
A3	Y ₃₁₁	Y ₃₂₁	Y ₃₃₁	250 ml	72
	Y ₃₁₂	Y ₃₂₂	Y ₃₃₂		
	Y ₃₁₃	Y ₃₂₃	Y ₃₃₃		

FUENTE: Elaboración propia.

Donde:

A: Concentración de *Haloferax sp.*
A₁: $3 \cdot 10^8$ UFC/ml

A₂: $6 \cdot 10^8$ UFC/ml

A₃: $9 \cdot 10^8$ UFC/ml

B: pH

B₁: 7 pH

B₂: 10 pH

B₃: 12 pH

El total de número de pruebas que se va a realizar depende del número total de pruebas.

$$N^{\circ} \text{ total de pruebas} = (9 \text{ tratamiento}) * (3 \text{ réplicas} + 1 \text{ control} + 1 \text{ Prueba preliminar})$$

$$N^{\circ} \text{ total de pruebas} = 45$$

Cuyo arreglo factorial es A * B, descritas anteriormente. Teniendo como constantes de análisis a la unidad de análisis (250 ml) y el tiempo (72h).

2.2. Variables y operacionalización

2.2.1. Variables

Según Hernández, *et al* (2010, p. 125), tenemos la siguiente clasificación:

Tabla 3. Clasificación de las variables

Variables	Por naturaleza	Por su medición
VARIABLES INDEPENDIENTES		
pH	Cuantitativa, Continua	Razón
Concentración de <i>Haloferax sp</i>	Cuantitativa, Continua	Razón
VARIABLE DEPENDIENTE		
DBO5	Cuantitativa, Continua	Razón
DQO	Cuantitativa, Continua	Razón

FUENTE: Elaboración Propia.

2.2.2. Matriz de operacionalización de variables

Tabla 4 Operacionalización de variables

Variables	Dimensiones	Definición Conceptual	Definición Operacional	Indicador	Escala de medición
pH	Física	Medida de acidez o alcalinidad de una solución.	Se evaluarán 3 tipos de pH (7, 10 y 12)	Unidad de pH.	Cuantitativa de razón
Concentración de Haloferax Sp	Química	De dominio Archaea Halofilica, de la familia de <i>Halobacteriaceae</i> se encuentra donde la concentración de sal es alta. (Martines, 2003, p. 9)	Se evaluarán 3 diferentes concentraciones: 1.5*10 ⁸ UFC/ml 3*10 ⁸ UFC/ml 4.5*10 ⁸ UFC/ml	UFC/mL	Cuantitativa de razón
Degradación de materia orgánica en efluente pesquero	DQO	Medida directa del oxígeno consumido por los microorganismos a partir de un medio enriquecido con oxígeno.(León, 2009, p. 29)	$DQO(mg \frac{O_2}{L}) = \frac{(A - B) * N * 8 * 1000}{ml \text{ de muestra}}$	mg/L	Cuantitativa de razón
	DBO ₅	Cantidad de un oxidante específico que reacciona con una muestra bajo condiciones controladas. (León, 2009, p. 26)	$DBO_{(5 \text{ días})} = \frac{OD_1 - OD_2}{P} \text{ mgO}_2/\text{L}$ P= Fracción de muestra analizada	mg/L	Cuantitativa de razón

2.3. Población y muestra

2.3.1. Población

Volumen de los efluentes de la etapa de agua de cola del proceso de producción de harina de pescado de la empresa pesquera EXALMAR. SAC.

2.3.2. Muestra

La muestra estará conformada por 5 litros del efluente obtenido del efluente de la planta de agua de cola de la empresa pesquera EXALMAR S.A.C. ubicada en el distrito de Rázuri, será muestreado según el “Protocolo para monitoreo de los efluentes de los establecimientos industriales pesqueros de consumo humano directo e indirecto.”; durante el periodo de abril-julio del 2018.

2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad.

2.4.1. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.

La recolección de datos se utilizó instrumento de medición y fichas de recolección, también se utilizaron los métodos estandarizados para evaluar el análisis del agua residual, conforme se describen en la tabla 5, que son los métodos utilizados en el análisis.

Tabla 5. Métodos normalizados para el análisis de agua.

PARÁMETRO	NORMA
DBO₅	<i>SMEWW-APHA-AWWA-WEF, “O” Part 5210 B, 22nd Ed. 2016,</i> (Incluye muestreo).
	<i>Biochemical Oxygen Demand (BOD). 5-Day BOD Test.</i>
DQO	<i>SMEWW-APHA-AWWA-WEF Part 5220 D, 22nd Ed. 2016,</i> (Incluye muestreo).
	<i>Chemical Oxygen Demand (COD). Closed Reflux, Colorimetric Method</i>

Fuente: Elaboración Propia

2.4.2. Validez y confiabilidad de instrumentos.

Según Hernández., *et al* (2010, p. 144), la validez generalmente se refiere al grado en que el instrumento realmente mide la variable que pretende medir, en este caso la ficha técnica que se usara en la investigación evaluada por un grupo de juicio de expertos. De modo que los correspondientes análisis se realizarán en un laboratorio acreditado por INACAL bajo la Ley N° 30224, donde tiene como objetivo la normalización, acreditación y metrología, con el fin de contribuir al desarrollo del país, esta institución se encarga también de dar las normas técnicas peruanas, en esta investigación se trabajó con algunas normas.

Tabla 6. Normas Metrológicas Peruanas.

Código	Español
Norma PNTN 360.501:2016	Calidad de agua. Determinación de la Demanda Química de Oxígeno.
NTP-IEC 61439-3: 2016	Calidad de agua. Determinación de la Demanda Bioquímica de Oxígeno.

Fuente: Elaboración propia.

2.5. Métodos de análisis de datos

2.5.1. Muestreo de suelo salino del salar Chimbote-Perú para el aislamiento de *Haloferox sp.*

Se obtuvo las muestras de suelo y agua de un salar ubicado a las costas de Chimbote – Perú.

Estas muestras fueron obtenidas de manera estéril.

2.5.1.1. Procedimiento

- En primer lugar, se ubicó la zona de muestreo en el salar de Chimbote-Perú, se registró las coordenadas de ubicación, la temperatura y el pH del área.
- Se determinó 4 puntos de muestreo a lo largo del área total. Se tomó 100 gramos de suelo salino a una profundidad de 10 cm y 500 ml de agua que se encontraba alrededor del suelo salino.

- Para la recolección de muestras fueron necesario los frascos de plástico estériles y en bolsas de ziploc estériles. Se almacenó las muestras en un cooler, bajo refrigeración con hielo y se transportó a laboratorio.

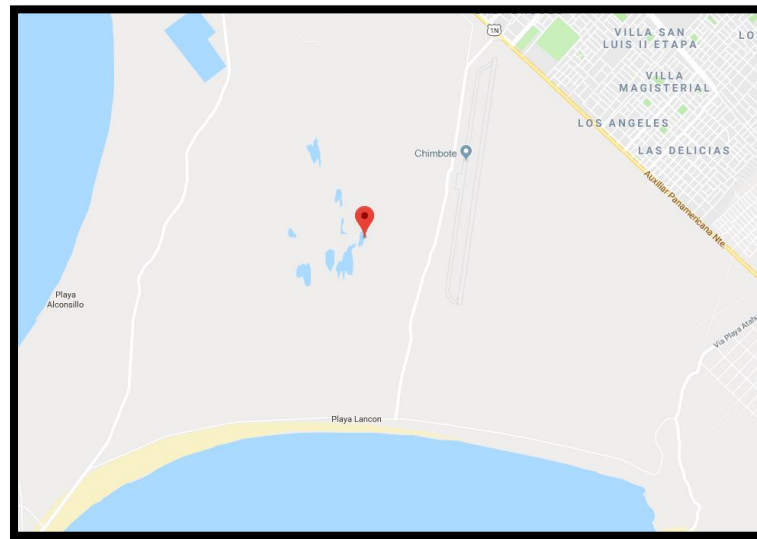


Figura 5. Ubicación geográfica del salar de Chimbote.
Fuente: Google Maps.

2.5.2. Aislamiento y cultivo de la *Haloferax sp.*

- Método

Se preparó 300 ml de agar halófilo, compuesto por: 10 g/L de extracto de levadura, 5 g/L de peptona, 1 g/l de glucosa, 10 % de NaCl y 1,5 g/L de agar agar. Se autoclavó a 121°C por 15 min (Cao y col., 2013). Se dejó enfriar hasta 40 °C y se vertió en placas Petri estériles. A partir de las muestras del suelo salino y líquido del salar Nuevo Chimbote, se diluyó al décimo hasta la segunda vez con una solución salina al 10 %. Posteriormente se sembró por estría en placas Petri con agar halófilo. Se incubó a temperatura ambiente por 4 días. Las colonias bacterianas crecidas de las placas, se purificó en frasquitos con agar halófilo inclinado. Se incubó a temperatura ambiente por 4 días. Se almacenó a 4°C hasta su uso nuevamente (McGenity, 2014; DasSarma y Arora, 2002).

- Aislamiento en medio sólido mediante estriado.

Para el aislamiento del microorganismo se llevará a cabo mediante dos metodologías.

- Primero se realizó una siembra directa, donde se toma la muestra del salitral de Chimbote en los cultivos, para la obtención de un gran crecimiento de cepas en el medio de cultivo.
 - En la segunda parte del aislamiento se lleva a cabo por la técnica de estriado para la obtención de un cultivo puro. A la vez se tomó una cepa de la siembra directa con un asa esterilizada y se colocó en un medio nuevo, y así obtener cepas bacterianas puras.
 - Este aislamiento sirve para determinar por conteo de cepas bacterianas los medios más aptos para el crecimiento de las *Haloferax sp.*
- **Proceso de aislamiento de *Haloferax sp.***
- Formulación de medio según las variables de la fórmula (Sólido y líquido).
 - Esterilización de medio de cultivo.
 - Distribución de los medios sólidos en placas Petri y mantener los líquidos en los frascos.
 - Colocar la muestra de agua en cada medio.
 - Incubar por 48 horas.
 - Realizar el conteo de las cajas y observar el crecimiento en los frascos.

2.5.3. Recolección de la muestra de estudio.

Para la recolección, conservación y preservación de la muestra, esta se obtuvo de la columna barométrica de la planta evaporadora de agua de cola, de la empresa EXALMAR S.A.C.- Puerto Malabrigo, durante el período de pesca; donde se recolectó en envases de plásticos de 500 ml para que posteriormente sean analizados y sean aplicados al tratamiento, en primer lugar las muestras fueron almacenadas y conservadas de acuerdo a la norma, los recipientes que se utilizaron fueron etiquetados, esterilizados y enjuagados como específica el “Protocolo de Monitoreo de Efluentes de los Establecimientos Industriales Pesqueros de Consumo Humano Directo e Indirecto” aprobado con R.M. N° 061-2016-PRODUCE, el cuál debe cumplir los Límites Máximos Permisibles establecidos en la Resolución Ministerial N° 178-2014- MINAM.

2.5.4. Descripción de la experimentación

El proceso de biorremediación se desarrolló en base a la secuencia mostrada en la figura 4. Esta secuencia contiene cuatro etapas para el desarrollo de la investigación. Que se procede a describir.

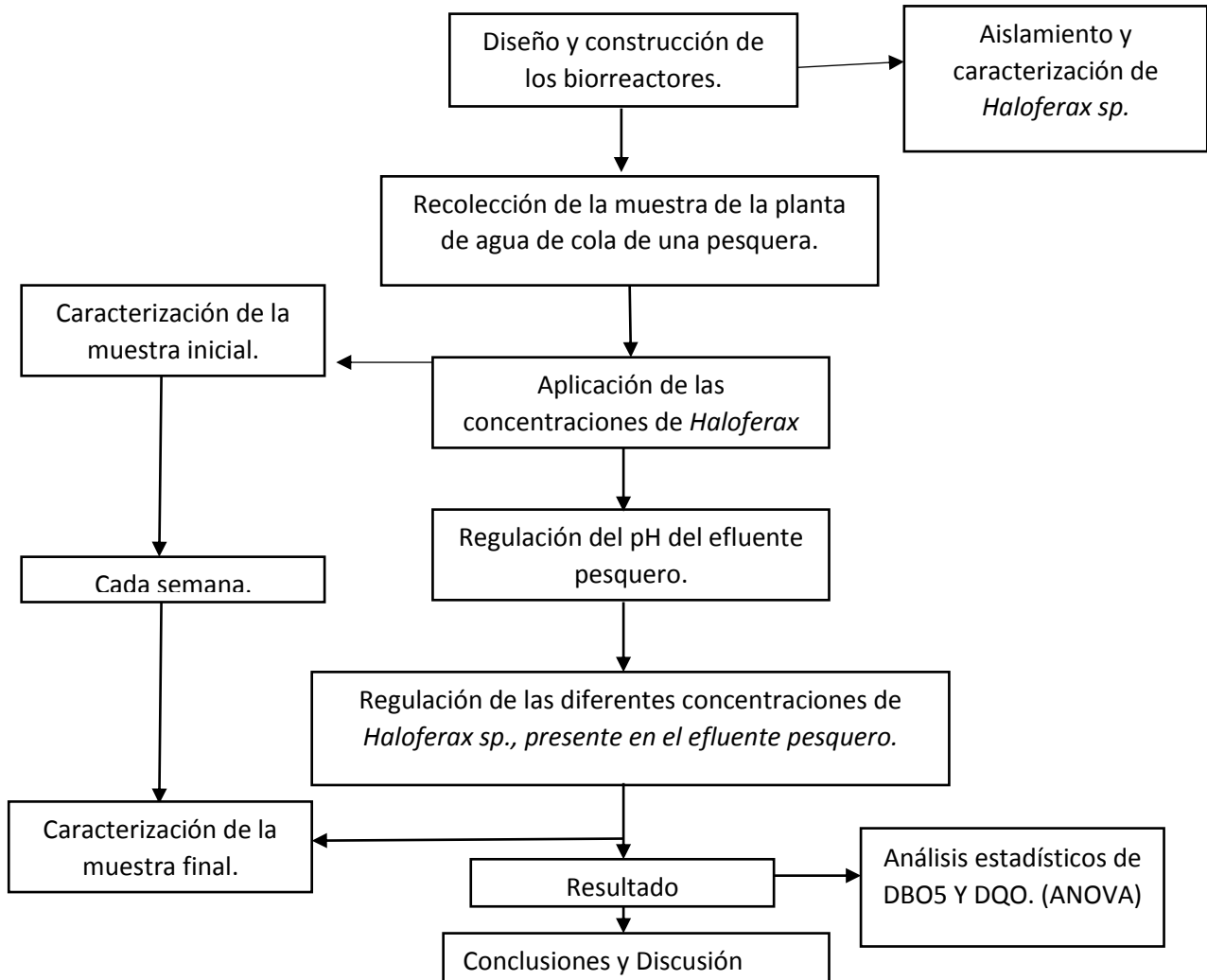


Figura 6. Diagrama de bloques del procedimiento experimental.

Fuente: Elaboración propia.

1ra Etapa: El diseño y la construcción de los biorreactores. (ANEXO 1)

Se procedió a la construcción de los biorreactores para el tratamiento de agua residual pesquero, para ello se elaboró un biorreactor tipo batch discontinuo, esta contuvo una fuente de energía, regulador de voltaje (1.5v a 12V), agitador de una hélice, 2 bufflers, filtro de gases, motor, 4 frascos de 500 ml, posteriormente se procedió a la realización de la prueba preliminar para determinar la eficiencia del equipo.

2da. Etapa: Recolección de muestra.

La recolección de la muestra se obtuvo del efluente la columna barométrica de la planta evaporadora de agua de cola, de la empresa EXALMAR S.A.C.- Puerto Malabrigo, según el Protocolo de Monitoreo de Efluentes de los Establecimientos Industriales Pesqueros de Consumo Humano Directo e Indirecto” aprobado con R.M. N° 061-2016-PRODUCE, donde los recipientes fueron etiquetadas para que luego sean evaluadas.

3ra Etapa: Caracterización fisicoquímicas del agua residual.

El agua residual que fue obtenida de la planta de agua de cola, se efectuó una caracterización fisicoquímica, esta caracterización inicial nos permitió ver en que niveles de DBO5 y DQO presenta, de acuerdo a los Límites Máximos Permisibles establecidos en el Decreto Supremo N° 010-2008-PRODUCE. Luego se procedió a efectuar un análisis de caracterización final después de aplicar el tratamiento de la biorremediación donde se evaluó los dos parámetros de estudio de DBO5 Y DQO.

4ta Etapa: Aplicación del tratamiento de biorremediación con *Haloferax sp.*

Se procedió a la aplicación del tratamiento de biorremediación, en donde se sometió la muestra de agua residual, para remover la carga de contaminantes. Se evaluó la biorremediación a diferentes niveles de pH y concentraciones de *Haloferax sp.* Estas se analizaron en los parámetros de DBO5 por el método respirométrico y el DQO por digestión colimétrica. Luego de la aplicación se procedió con las pruebas estadísticas, donde se evaluó el mejor tratamiento que fueron obtenidos de los 9 tratamientos, donde se utilizaron las pruebas de ANOVA y Tukey.

2.5.5. Procedimiento de biorremediación de efluente pesquero usando una cepa halófila

Estandarización del inóculo

En primero lugar, para determinar una concentración de 3×10^8 UFC del inóculo, se cosechó la biomasa de las placas en un tubo con un asa bacteriológica en una solución estéril de 15% NaCl. Se llevó a una turbidez al tubo número 1 de la escala de Mac Farland y se corroboró con una medición equivalente de absorbancia de 0,150 en el espectrofotómetro (McGenity, 2014) (**ANEXO 3**)

Esterilización de los biorreactores.

Los biorreactores se desarmaron y se enjuagó con hipoclorito de sodio al 2% por 30 min, posteriormente se enjuagó con agua destilada estéril 3 veces, y seguido se enjuagó con alcohol al 70 %. Por último, se colocaron a radiación UV en la cabina de bioseguridad por 30 min. Se ensambló dentro de la cabina de bioseguridad y se guardó en una caja estéril para su posterior uso.

Proceso de biorremediación.

Se vertió 10 ml de efluente pesquero en los biorreactores y se diluyeron con 190 ml de solución salina al 15 % NaCl esteril. Se reguló a pH 7 con NaOH 0,1 M y/o 0,1 N HCL. Se inoculó 50 ml del halófilo suspendida en una solución de 15 % NaCl estandarizado a 3×10^8 UFC/ml. Se procedió a funcionar los biorreactores a condiciones ambientales por 3 días. (Bonfá y col., 2011)

2.5.6. Análisis de datos

Se realizó un análisis estadístico de varianza (ANOVA), para verificar si los resultados tienen diferencias significativas.

2.6. Aspectos éticos

En el presente proyecto de investigación se presenta y se avala con resultados y datos fiables ya que serán procedentes de un laboratorio que cuenta con la certificación que avala los resultados, haciendo que la información de la presente investigación de estudio sea auténtica y veraz.

III. RESULTADOS

 Tabla 7. Promedio de los resultados de la DBO₅ y DQO.

UFC/ml	pH 7		pH 10		pH12	
	DBO5 (mg/L O ₂)	DQO (mg/L O ₂)	DBO5 (mg/L O ₂)	DQO (mg/L O ₂)	DBO5 (mg/L O ₂)	DQO (mg/L O ₂)
0	18563	41353,33	19375,6667	46922,6667	21017	42368
3x10 ⁸	18753	40733,3333	15121,6667	31365,3333	18751,6667	28298
6x10 ⁸	13952,3333	29284,6667	10077,3333	20472,6667	9694,33333	15506
9x10 ⁸	11552	27800	9260,66667	19828,3333	7950,66667	19814,3333

FUENTE: Elaboración propia.

Interpretación:

En la tabla 7, se puede apreciar los promedios de remoción de DBO₅ y DQO, a diferentes concentraciones de bacterias *Haloferax sp.* a distintos niveles de pH. En donde podemos observar que a un pH 12 y a una concentración de 6x10⁸ UFC/ ml, teniendo como concentración inicial 21017 mg/L O₂ en DBO₅ y 42368 mg/L O₂ en DQO, obteniendo como resultados una remoción de 9694,33 mg/L O₂ en DBO₅ y 15506 mg/L O₂ en DQO.

Tabla 8. Porcentaje de disminución de DBO₅.

% de disminución de DBO ₅			
UFC/ml	pH 7	pH 10	pH 12
3x10⁸	5,28	26,16	27,29
6x10⁸	18,77	46,78	52,63
9x10⁸	39,09	50,52	52,66

FUENTE: Elaboración propia.

Interpretación:

En la tabla 8, se puede apreciar en porcentaje (%) de remoción de DBO₅ y DQO, a diferentes concentraciones de bacterias *Haloferox sp.* a distintos niveles de pH. En donde podemos observar que a un pH 12 y a una concentración de 6x10⁸ UFC/ ml, teniendo como resultado un 52,63% en cuanto a DBO₅.

Tabla 9. Porcentaje de disminución de DQO.

% de biodegradación en DQO			
UFC/ml	pH 7	pH 10	pH 12
3×10^8	7,63	42,1367868	40,8251605
6×10^8	14,3222157	49,7997483	49,148985
9×10^8	37,8549585	56,6877821	59,3902006

FUENTE: Elaboración propia.

Interpretación:

En la tabla 9, se puede apreciar en porcentaje (%) de remoción de DQO, a diferentes concentraciones de bacterias *Haloferax sp.* a distintos niveles de pH. En donde podemos observar que a un pH 12 y a una concentración de 9×10^8 UFC/ ml, teniendo como resultado un 59,39% en cuanto a DQO.

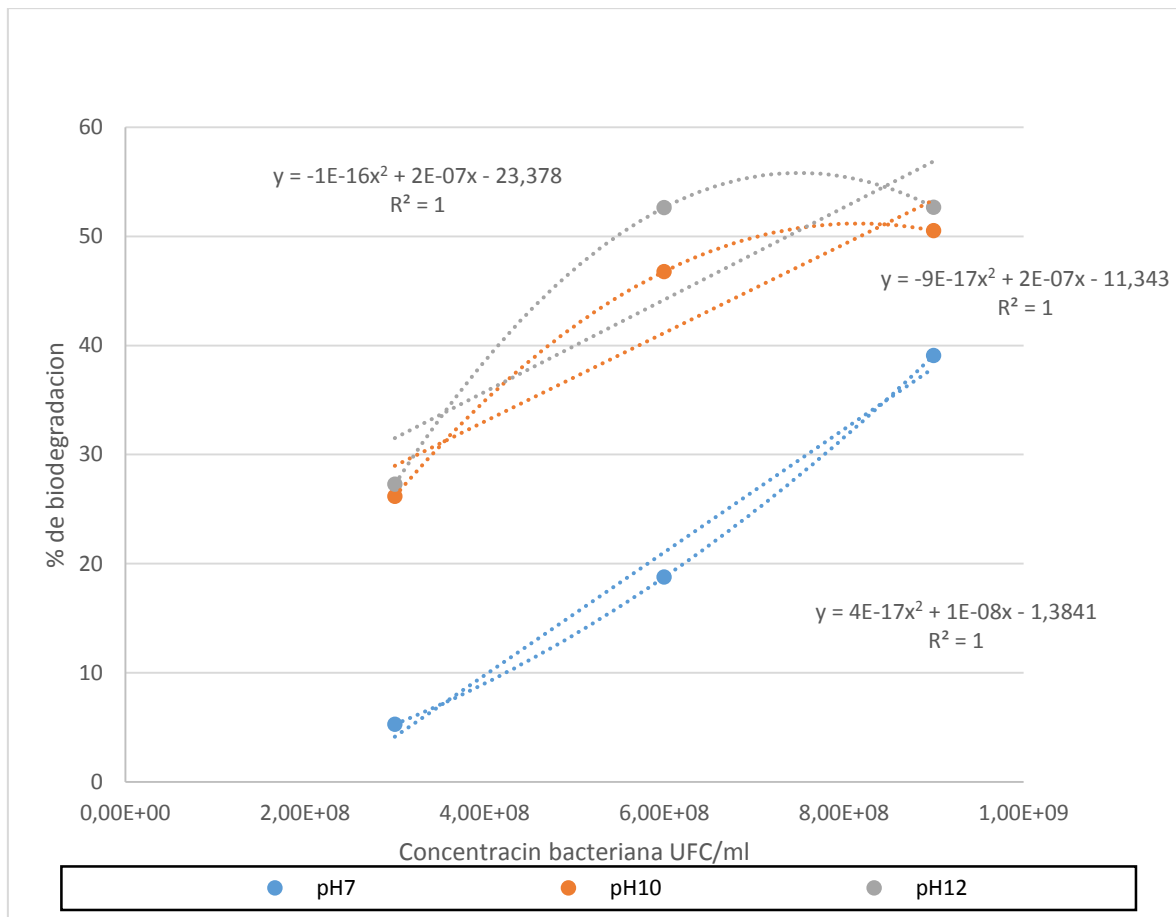


Figura 7. Porcentaje de disminución de DBO5.

Interpretación:

En la figura 7, se puede apreciar en porcentaje (%) de remoción de DBO_5 , a diferentes concentraciones de bacterias *Haloferax sp.* a distintos niveles de pH. En donde podemos observar que a un pH 12 alcanza mayor porcentaje de degradación de materia orgánica a comparación de los otros 2 niveles de pH, donde también observamos que esta curva tiende a disminuir el porcentaje de degradación a 9×10^8 UFC/ ml, donde se puede decir que cuando más concentración de bacterias estas comienzan a estresarse.

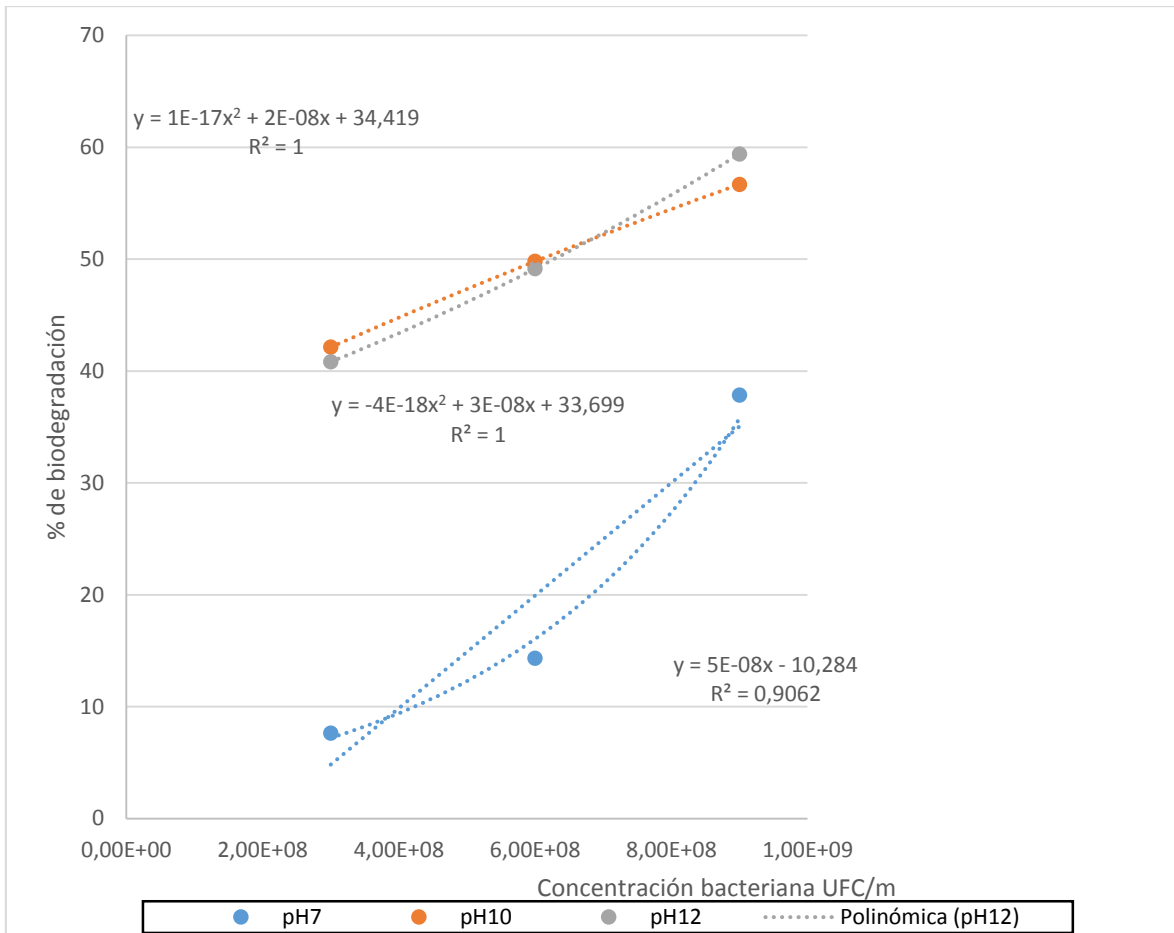


Figura 8. Porcentaje de disminución de DQO.

Interpretación:

En la figura 8, se puede apreciar los resultados en porcentajes (%) de remoción de DQO, a diferentes concentraciones de bacterias *Haloferax sp.* a distintos niveles de pH. En donde podemos observar que a un pH 12 alcanza mayor porcentaje de disminución de DQO a diferencia de los otros niveles de pH.

Tabla 10. Datos del crecimiento de las bacterias *Haloferax sp.*

Tiempo (h)	UFC/ml	Abs
0	3,10E+08	0,15
8	3,80E+08	0,172
16	4,00E+08	0,196
24	3,90E+08	0,175
32	4,90E+08	0,2
40	5,50E+08	0,317
48	7,10E+08	0,689
56	8,70E+08	0,802
64	1,00E+09	0,856
72	1,10E+09	0,854

Interpretación:

En la tabla 10, se puede apreciar los resultados en absorbancia del crecimiento de las bacterias *Haloferax sp.*; este se realizó durante 3 días y se tomó registro del crecimiento de las bacterias cada 8 horas en las condiciones adecuadas para su crecimiento.

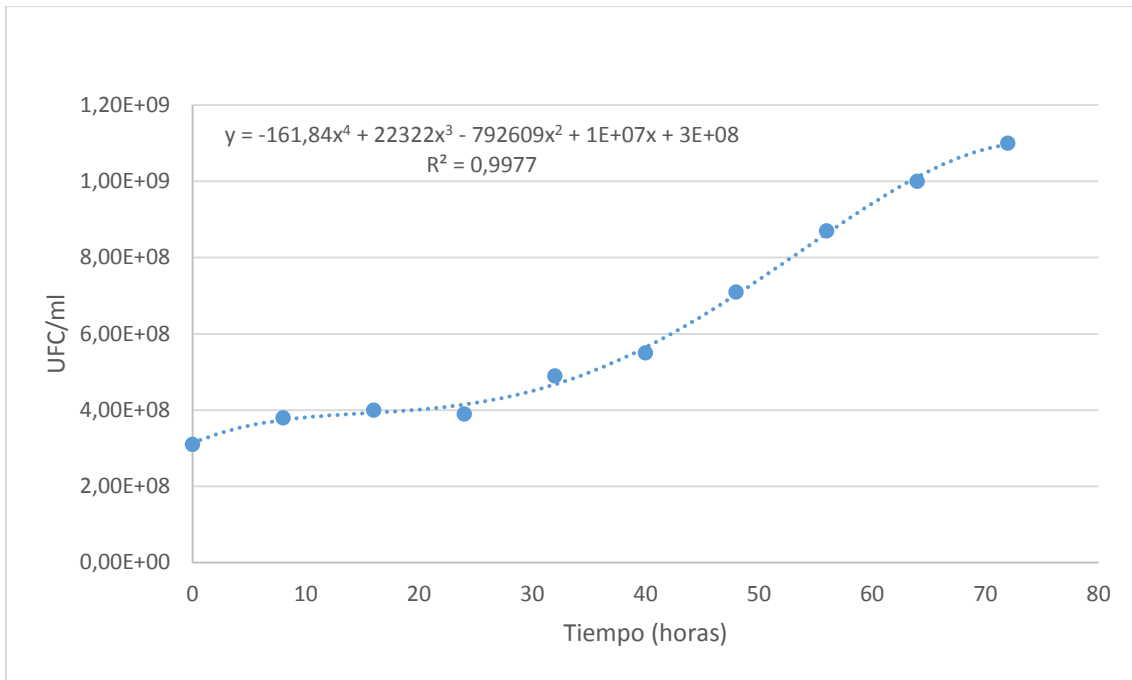


Figura 9. Curva de crecimiento bacteriana por tres días a temperatura ambiente sin agitación.
Fuente: Elaboración propia.

Interpretación:

En la figura 9, se puede apreciar que la curva obtenida de los resultados del crecimiento por día de las bacterias *Haloferax sp.*; este se realizó durante 3 días y se tomó registro del crecimiento de las bacterias cada 8 horas en las condiciones adecuadas para su crecimiento.

IV. DISCUSIÓN

La salinidad afecta los procesos de biodegradación de varias maneras, en primer lugar, las altas concentraciones de sal pueden causar una pérdida de actividad microbiana en las unidades convencionales de lodo activado, debido a la deshidratación o desintegración celular por diferencias osmóticas a través de las membranas celulares, por ello un tratamiento convencional no podría ser efectivo (Castillo-Carvajal, Sanz-Martín, & Barragán-Huerta, 2014). Esto motivó a la investigación en buscar adaptar la biomasa a alta salinidad o utilizar microorganismos halotolerantes o halófilos. En segundo lugar, un alto contenido de sal puede disminuir la solubilidad del compuesto orgánico en agua provocando una baja disponibilidad de los compuestos orgánicos (Flores, Zavaleta, Zambrano, Cervantes, & Izaguirre, 2010). En tercer lugar, la alta salinidad disminuye el contenido de oxígeno disuelto en agua, lo que limita la acción de las enzimas oxigenasas y, por lo tanto, la tasa de biodegradación aeróbica; esto es importante dado que los efluentes pesqueros están compuestos por una alta salinidad de agua de mar lo que trae consigo los dichos factores anteriores (F Kargi, 2002).

En el presente trabajo se realizaron tratamientos de biorremediación del agua residual pesquero a diferentes condiciones de pH y a diferentes concentraciones de bacterias halófilos. Estas condiciones se compararon con la Resolución Ministerial N° 178-2014-MINAM, LMP para Efluentes de la Industria Pesquera de Consumo Humano Directo. (Anexo 9). En la tabla 7 y en la tabla 8, se muestran los resultados de los análisis de todos los tratamientos de DBO₅ y DQO. Las muestras analizadas del efluente del agua de cola, podemos apreciar que los valores sobrepasan los LMP establecidos en la Resolución Ministerial N° 178-2014-MINAM (DBO₅ y DQO), LMP para Efluentes de la Industria Pesquera de Consumo Humano Directo, demostrando que no están dentro de los valores de estándares de calidad ambiental del efluente.

En la tabla 14 y tabla 15, en donde se evidencia los resultados obtenidos en el tratamiento, el cual nos permite apreciar que existe una disminución de DBO₅ en cuanto a todos los tratamientos, donde la mayor disminución está en un 52.63% a un pH 12 y a una concentración de 6×10^8 UFC/ ml, así mismo obteniendo una menor remoción de materia orgánica a un 5.28% de pH 7 y a una concentración de

3×10^8 UFC/ ml en cuanto a DBO₅; mientras **Villotas (2014, p. 70)** en su investigación, en donde se empleó las muestras de aguas salinas sintética a una concentración de 2% de NaCl y el uso de las bacterias halófilas aerobias, teniendo como uno de los porcentajes más significativos de remoción de DQO de un 83.18% de reducción de este parámetro. Así mismo en el trabajo de **Arias y Mendes (2014, p. 115)**; tuvo como conclusión que la remoción con biopolímeros no es tóxico y por lo tanto se puede llevar a escala industrial; en lo cual coincide con las expectativas del presente trabajo, ya que si lo llevamos a una escala industrial en una empresa pesquera, reduciríamos el impacto ambiental que tienen estos efluentes pesqueros que muchos de estos son vertidos con un tratamiento precario al mar.

En el presente trabajo vemos que la mayor remoción en cuanto a DBO₅, está dada por una condición a pH 12 (condición alcalina), que nos da a entender que estos microorganismos aplicados son más efectivos en estas condiciones y que si se hacen estudios a posteriori en cuanto a un mayor pH y quizá a la misma concentración se pueda obtener resultados más eficientes. En cuanto a la mayor remoción generada por esta condición de pH 12 y a una concentración de 6×10^8 UFC/ ml vemos que hay una mayor remoción a diferencia de los otros tratamientos con una remoción de 52.63% en cuanto a DBO₅, lo cual coincide con el objeto de trabajo de **Pizarro, et al. (2007, p. 47)**, en donde se aplica microorganismos como *Lactobacillus acidophilus* y el *Lactobacillus bulgaricus*; que si bien es cierto no son halófilas, pero estas presentan al igual que las estudiadas en el presente trabajo tienen potencial en cuanto a la reducción de DBO₅ en efluentes pesqueros, donde tuvieron como resultado que el DBO₅ se reduce a un 47% en muestra cruda; y que con los resultados obtenidos en la presente investigación con las bacterias halófilas aplicadas al efluente de agua de cola vemos que estas bacterias que se adaptan a medios salinos se obtienen mayor porcentaje de disminución de DBO₅.

Ensayo del tratamiento de biorremediación del agua residual a pH 7 y a una concentración de 6×10^8 UFC, se evaluaron las condiciones del agua residual provenientes del efluente de la planta de agua de cola, el cual se describen en la Tabla 9. Estas condiciones se compararon con Resolución Ministerial N° 178-2014-MINAM, LMP para Efluentes de la Industria Pesquera de Consumo Humano

Directo. (Anexo 9); así mismo, se tomó un parámetro más que no se encuentra dentro de los parámetros establecidos en la Resolución Ministerial N° 178-2014-MINAM.

En la tabla se muestran los resultados de los análisis de DBO5 y DQO de la primera corrida, con un pH de 7 y 6×10^8 UFC / ml. De los datos obtenidos de la tabla 9, en cuanto al DBO5, las muestras analizadas del efluente del agua de cola, podemos apreciar que los valores sobrepasan los LMP establecidos en la Resolución Ministerial N° 178-2014-MINAM, LMP para Efluentes de la Industria Pesquera de Consumo Humano Directo, demostrando que no están dentro de los valores de estándar de calidad del efluente.

Las aguas residuales de las industrias de procesamiento de pescado, se caracterizan por un alto contenido de materia orgánica, expresada como demanda química de oxígeno (DQO) y demanda bioquímica de oxígeno (DBO₅). Los valores de DQO observados en este tipo de aguas residuales en la presente investigación se encontró entre 40 000 y 47 000 mg/l, éstos resultaron mucho mayores que en las investigaciones de Abou-Elela (2010) que fluctuaba entre los valores de 3 400 mg/l y 8 160 mg/l. Aun así, estos valores son mucho más altos que los valores de DQO de las aguas residuales municipales no tratadas con un valor de 500 mg/l. Consiguientemente, se ha logrado tener una biodegradación de DQO al 59 % en un pH 9 en agitación por 3 días, sin embargo, aún es una eficiencia baja. Estos problemas podrían superarse mediante el uso de cultivos puros y consorcios aislados de ambientes hipersalinos; más del 95% de la DQO del agua residual de procesamiento de industrias pesqueras puede eliminarse mediante la bioaugmentación con *Halobacter halobium*; esto demuestra en como la eficacia de la eliminación de DQO disminuye al aumentar la DQO de la alimentación, la velocidad de carga DQO y la concentración de sal; a diferencia de la presenta investigación que solo se realizó en biorreactores de Bath discontinuo (Oren, 2002). Además, Kapdan registró una bacteria tolerante a la sal anaeróbica, *H. lacusrosei*, se usó como cultivo microbiano dominante en el proceso, el porcentaje de eliminación de DQO alcanzó hasta el 94% para la concentración inicial de DQO de 1 900 mg/l, a las 19 h de tiempo de retención hidráulica y 3 % de concentración de sal (Fikret Kargi & Dinçer, 1998).

En relación a la DBO_5 se obtuvo un 53% a un pH 12 con una concentración celular de 6×10^8 UFC/ml, similar también a una concentración celular 9×10^8 UFC/ml; a diferencia de los otros valores obtenidos en los diferentes pH de 7 y pH 10; esto se demuestra en la estadística de varianzas de grupos al obtener un valor de “p” 0,000432431 siendo menor al intervalo de confianza $p < 0,05$, lo que implica que existen diferencias significativas solo entre los valores de pH. De la misma forma, en función de las concentraciones celulares se obtuvo un mayor porcentaje de DBO_5 en el pH 9 a una concentración 9×10^8 UFC/ml; esto se demuestra en la estadística de varianzas de grupos al obtener un valor de “p” de $8,95525E-08$ siendo menor al intervalo de confianza $p < 0,05$, lo que implica que existen diferencias significativas solo entre las concentraciones celulares bacteriana. Además, por análisis de varianzas también se infiere que los factores de concentración celular bacteriana y el valor de pH afecta mucho los resultados de DBO resultando que a mayor pH y concentración celular implica un mayor aumento en el porcentaje de biodegradación en DBO_5 (Castillo, et al., 2014).

En el presente trabajo se aplicó las bacterias *Haloferax sp.* Las cuales fueron aisladas del salar de Chimbote, las cuales fueron aisladas en medio sólido mediante estriado para la obtención de cultivo puro y poder llevarlo al tratamiento, que se obtuvo por resultado que si hay un potencial biotecnológico. Esta metodología aplicada en el trabajo es similar a la metodología aplicada en el trabajo del autor de Castro; et al. (2011, p.33), en las cuales se estudiaron 8 muestras diferentes del suelo del Valle de Cuatro Ciénegas, se utilizaron los medios de cultivo con concentraciones altas de sales así como la determinación de las características bioquímicas y potencial biotecnológico; así mismo el trabajo de Castillo, et al (2011, p. 45); que también realizó diversos estudios de aplicación biotecnológica, aisladas de diferentes salinas entre ellos la salina de Maras de la provincia de Urubamba, Cusco (Perú), en este caso se aplicaron microorganismos halófilos capaces de degradar compuestos halogenados y que pueden ser empleados como catalizadores en procesos que requieran condiciones extremas para poder recuperar eficientemente un ambiente contaminado; que coincide con lo obtenido en el trabajo presente en cuanto al potencial biotecnológico.

Según el estudio realizado por Garcia et al. (2009, p. 67); nos da conocer a cerca del panorama producido por la industria pesquera en cuanto la contaminación que produce dichos efluentes al ser descargado sin tratamiento previo alguno, lo cual coincide con lo obtenido en el presente trabajo ya que debido a lo visto anteriormente en los resultados obtenidos estos sobrepasan los LMP establecidos en la Resolución Ministerial N° 178-2014- MINAM; y que debido a esto, el ecosistema marino se ve alterado en cuanto a su ciclo de vida de la hidrobiológica de dicho lugar y que puede generar a los consumidores problemas a la salud.

Como resultados obtenidos en la caracterización y en los tratamientos vemos que estos sobrepasan los LMP establecidos en la Resolución Ministerial N° 178-2014-MINAM, lo cual coinciden con el estudio de Piza (2005, p. 4); realizados en Malabrigo -Distrito de Razuri-Provincia de Ascope-Departamento de la Libertad, 2005; quien tuvo como resultado que las 10 fábricas pesqueras instaladas, haciendo referencia los efluente de la planta de agua de cola ocasionan un gran impacto en el ecosistema marino; al igual que el trabajo de Vásquez (2003, p. 8), donde obtienen como resultados de los trabajos realizados en el litoral de Puerto Malabrigo, en época de producción (setiembre a noviembre) existe una mayor concentración de DBO₅ de 49.15 ppm a nivel de la superficie, lo cual coincide con los resultados del presente estudio, ya que estos resultados sobrepasan los LMP establecidos en la Resolución Ministerial N° 178-2014-MINAM (DBO₅ y DQO).

Según lo establecido en la R.M. N° 178-2014- MINAM, en el cual menciona que el valor del límite máximo permisible (LMP) para DBO₅ es 50 mg/L O₂, mientras que en el tratamiento del efluente se llegó a una remoción de 9260,67 mg/L O₂ de una concentración inicial de 19375,67 mg/L O₂ siendo muy alto este valor para cumplir con los límites máximos permisibles establecidos en la resolución correspondiente

V. CONCLUSIÓN

- La concentración de las bacterias *Haloferax sp* y las diferentes niveles de pH tienen un efecto positivo en cuanto a la disminución de DBO₅ y DQO en el efluente pesquero de la empresa EXALMAR S.A.C., a través de una aireación constante durante 72 horas, a temperatura ambiente.
- El efecto de las concentraciones de las bacterias *Haloferax sp* y el pH influenciaron en la remoción de materia orgánica (DBO₅ y DQO) en el efluente pesquero de la planta de agua de cola de la empresa pesquera EXALMAR S.A.C., en el cual se determinó que a una concentración de 9×10^8 y a un pH 10, se logró un remoción de 52,63% en cuanto al DBO₅, una disminución de DQO en un 56,68%; el cual se mantuvo en aireación constante durante 72 horas; los cuales dichos resultados sobrepasan los LMP establecidos por la Resolución Ministerial N° 178-2014- MINAM.
- Al analizar el efecto del pH en la remoción de DBO₅ y DQO del efluente pesquero de la planta de agua de cola en la empresa EXALMAR S.A.C, se puede apreciar que a un pH 12 a una concentración de 3×10^8 se obtuvo una remoción en DBO₅ y DQO de 27,29% y 42,13%; a 6×10^8 una remoción de 52,63% y 49,8%, y a 9×10^8 de remoción de 52,66% y 59,39% respectivamente.

VI. RECOMENDACIÓN

- Se recomienda para el estudio de la remoción de materia orgánica (DBO₅ y DQO), para dicho tratamiento del efluente de la planta de agua de cola de la empresa pesquera, el emplear o adicionar variables como el tiempo de agitación de las bacterias, la temperatura, más niveles de pH, y otro tipo de bacterias que se adapten a las condiciones del efluente pesquero en este caso alcalino teniendo en cuenta el cumplimiento de los parámetros establecidos por la R.M 178-2014-MINAM.
- Se debe realizar diversos estudios tanto con los efluentes de la planta de agua de cola, como un tratamiento físico en el agua de bombeo, y aplicar la biotecnología a la planta de tratamiento de aguas residuales pesqueros.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARCE, L. Urbanizaciones sostenibles: Descentralización del tratamiento de aguas residuales residenciales. Tesis (Optar el título de Ingeniero Civil) Lima: Pontificia Universidad Católica Del Perú, Facultad de Ciencias e Ingeniería, 2013. 90 pp.

ARIAS, María y MÉNDEZ, Evaristo. Remoción de sólidos en aguas residuales de la industria harinera de pescado empleando biopolímeros. *Revista Tecnología y ciencias del agua*. [En línea]. Vol 10. Núm 3. 2014. [Fecha de consulta: 14 de setiembre del 2017]. Disponible en http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-24222014000300008

ISSN 2007-2422

BELLIDO, Alberto. Costo pesquero (Parte I) Caso: Fabricación de harina y aceite de pescado. *Actualidad Empresarial* [En línea]. N° 2. Octubre 2001. [Fecha de consulta: 17 de setiembre del 2017]. Disponible en: http://aempresarial.com/servicios/revista/2_7_EEDTQZUAYILTCQWIGGWBFYWCXZIKRVKWZNQNKQLSCFVSBEYHB.pdf

CABRERA, Carlos. Estudio de la contaminación de las aguas costeras en la bahía de Chancay: Propuesta de recuperación. Tesis (Optar grado académico de magister en Geografía) Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Geología, Minas, Metalurgia y Ciencias Geográficas; 2002. 177 pp.

CABRERA, Carlos. Compatibilidad ambiental de la industria de harina de pescado en Paracas-Pisco. *Revista del Instituto de Investigación (RIIGEO). FIGMMG-UNMSM*. [En línea]. Vol. 2, N°03. 1999. [Fecha de consulta: 13 de setiembre del 2017]. Disponible en: <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/iigeo/issue/archive>



CASTILLO, Laura. Aplicaciones biotecnológicas de microorganismos halófilos. *Revista Sistema Ambientales*. [En línea]. Vol. 4, N° 2, 2011, p. 45-54. [Fecha de consulta: 13 de setiembre del 2017]. Disponible en: <https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:O2QS6i9yUZUJ:https://documentslide.org/aplicaciones-biotecnologicas-de-microorganismos-halofilos+&cd=2&hl=es&ct=clnk&gl=pe>

CASTRO, Liliana; *et al.* Aislamiento y caracterización de microorganismos halófilos de suelos salinos de cuatro Ciénegas Coahuila, México. *Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila* [en línea]. Vol. 3, N° 5. 2011. [Fecha de consulta: 08 de Setiembre del 2017]. Disponible en: <http://www.posgradoeinvestigacion.uadec.mx/Documentos/AQM/AQM5/aislamiento.pdf>
ISSN: 1682-3087

CSIRKE, Jorge. El Jurel *Trachurus Murphy* en el Perú. *Revista Peruana de Biología* [En línea]. Vol. 20, Núm. 1, 2013. [Fecha de consulta: 10 de Setiembre del 2017]. Disponible en: <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/rpb/article/view/2613/2286>

D' ALESSANDRI, Mariana. Caracterización y tratamiento de agua residual proveniente de las plantas de producción. Tesis (Para optar el título de Ingeniero Químico) Sartenejas, Venezuela: Universidad Simón Bolívar, 2012. 98 pp.

GARCIA, C.O; *et al.* Impacto del agua de cola de la industria pesquera: tratamiento y usos. *CyTA- Journal of Food*. [En línea]. Vol. 7, N° 1, May 2009, p 67-77. [Fecha de consulta: 15 de setiembre del 2017]. Disponible en: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/11358120902850412>
ISSN: 1947-6337

GONZALES, Rosa. Diagnóstico ambiental y propuesta de sistema de gestión municipal para el Puerto Malabrigo- Distrito de Razuri-Provincia de Ascope- Departamento La Libertad, 2005. Tesis (Para optar el grado académico de maestro en ciencias con mención en Gestión Ambiental) Trujillo, Perú: Universidad Nacional de Trujillo, 2012. 95 pp.

GONZÁLES, Carlos y HERNÁNDEZ, Antonio. Estrategias de adaptación los microorganismos halófilos y *Debaryomyces hansenii* (Levadura halófila). *Revista Latinoamericana de Microbiología* [en línea]. Vol. 44, No. 3-4. 2002

HERNÁNDEZ, Roberto; *et al.* Metodología de la investigación. 5^{ta} ed. México: McGRAW-HILL, 2010. 656 pp. ISBN: 978-607-15-0291.

MARTÍNEZ, Rosa. Fisiología de la asimilación de nitrógeno en “*Haloferax mediterranei*”. Purificación y caracterización de Nitrato y Nitrito reductasas asimilativas. Tesis (Tesis de doctorado) San Vicente del Raspeig, España: Universidad de Alicante, 2003. 181 pp. [Fecha de consulta: 09 de abril del 2017]. Disponible en: http://www.medigraphic.com/pdfs/lamico/mi-2002/mi02-3_4g.pdf

NÚÑEZ, Claudia. Recuperación de sólidos del agua de cola por coagulación-floculación y cuantificación de histamina. Tesis (Tesis de Grado) Lima: Universidad Nacional Agraria La Molina, 2014.

OEFA, Fiscalización ambiental en aguas residuales [en línea]. Lima: abril de 2014 [fecha de consulta: 12 de setiembre de 2017]. Disponible en: https://www.oefa.gob.pe/?wpfb_dl=7827

ISSN: 700

PIZARRO, Raúl; *et al.* Efecto de la adición de microorganismos en el tratamiento de efluentes líquidos de la industria de harina de pescado. *Revista Peruana De Química e Ingeniería Química* [en línea]. Vol. 10, Núm. 2. 2007. [Fecha de consulta: 13 de setiembre del 2017]. Disponible en: <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/quim/article/view/4226>.

ISSN: 1609-7599

RAMIREZ, Ninfa; *et al.* Microorganismos extremófilos. Actinomicetos halófilos en México. *Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal*. [En línea]. Vol. 37. N° 3, julio-setiembre 2006. [Fecha de consulta: 15 de setiembre de 2017]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/579/57937307.pdf>

ISSN: 1870-0195

SOLÍS, Germán. El IMARPE y el número especial Ecología, pesquería y conservación del jurel (*Trachurus Murphyi*) en el Perú. *Revista Peruana de Biología*. [En línea]. Vol. 20, N° 1, Setiembre 2013. [Fecha de consulta: 15 de setiembre del 2017]. Disponible en: <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/rpb/article/view/2612/2285>

ISSN: 1561.0837

VARAS, Lupo. Impacto de la emisión de efluentes líquidos de la industria pesquera en el mar de puerto Malabrigo, distrito de Rázuri, Ascope – 2015. Propuesta de mitigación de impacto ambiental. Tesis (Para optar el grado académico de doctor en ciencias ambientales). Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo, 2016. 67 pp.

VÁQUEZ, Ántero. Impacto de la industria pesquera sobre el sistema marino litoral de Puerto Malabrigo; Mayo-Diciembre del 2003. Tesis (Para optar el grado de doctor en medio ambiente) Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo, Escuela de Post Grado, 2005. 98 pp.

VILLOTAS, Tomas. Biorremediación de aguas residuales con alta salinidad mediante bacterias halófilas aisladas de perfiles costeros de Ecuador. Tesis (Título de Ingeniero Ambiental en Prevención y Remediación). Ecuador: Universidad De Las Américas. Laureate International Universities, 2014. 95 pp. Disponible en: <http://dspace.udla.edu.ec/handle/33000/2274>

Cao, J., Ma, H. Y., Li, H. Y., Wang, K. R., Ruan, K., & Bai, L. H. (2013). *Halomonas socia* sp. nov., isolated from high salt culture of *Dunaliella salina*. *Extremophiles*, 17(4), 663–668.

Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s00792-013-0549-1>

McGENITY, T. J. (2014). The immortal, halophilic superhero: *Halobacterium salinarum* a long-lived poly-extremophile. *Microbiology Today*, 41(1), 24–27.

DasSARMA, S., & ARORA, P. (2002). Halophiles. *Encyclopedia of Life Sciences*, (July). Disponible en: <https://doi.org/10.1038/npg.els.0000394>

BONFÁ, M. R. L., GROSSMAN, M. J., MELLADO, E., & DURRANT, L. R. (2011). Biodegradation of aromatic hydrocarbons by Haloarchaea and their use for the reduction of the chemical oxygen demand of hypersaline petroleum produced water. *Chemosphere*, 84(11), 1671–1676. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.05.005>

McGENITY, T. J. (2014). The immortal, halophilic superhero: *Halobacterium salinarum* a long-lived poly-extremophile. *Microbiology Today*, 41(1), 24–27.

ANEXOS

ANEXO N°1: Construcción de biorreactores.

Materiales y equipo

- 4 motor de rotación
- 4 convertidores
- de voltaje de 1,5 v – 12 V de 500 mA.
- 4 agitadores de una hélice
- Silicona
- Pistola de silicona
- Soldador
- 1 cautín
- Cable de estaño
- Pegamento Soldimix
- 4 frascos de vidrio.
- Barras de vidrio para baffles.

Procedimiento.

Para un biorreactor de un frasco de 250 ml, primero se pegó con silicona los baffles dentro en las laterales del frasco. Posteriormente se soldó el cable del regulador de voltaje con el motor de rotación con estaño. Se realizó un agujero de 8 mm en la tapa central del frasco donde se pegó con el pegamento soldimix el motor de rotación. Se ensambló el agitador al motor de rotación. Se realizó un orificio de 5 mm en la tapa adyacente a 2 cm del motor, colocándose un filtro de 2 um para los gases y entrada de oxígeno. Posteriormente se probó con agua de grifo respectiva para su verificación de funcionamiento. (Tscheschke y col., 2015)

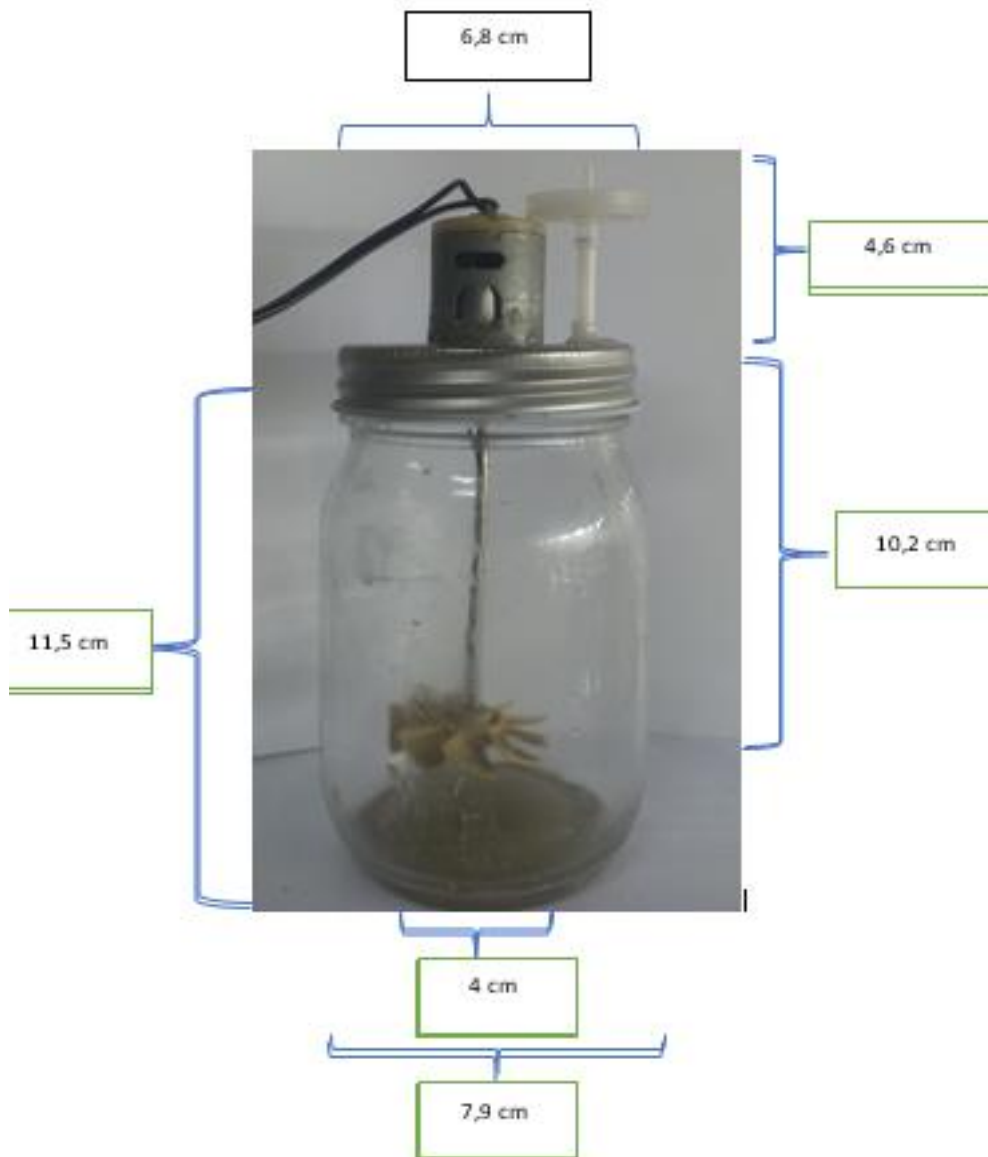


Figura 10. Medidas del biorreactor.
FUENTE: Propia

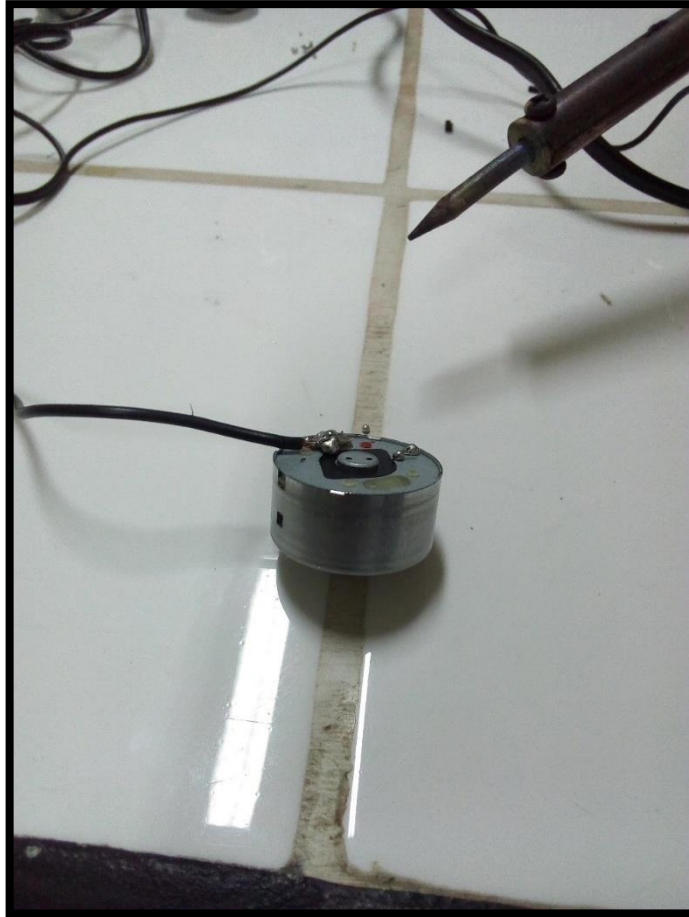


Figura 11. Motor de rotación.
FUENTE: Propia



Figura 12. Tapa del biorreactor con el motor pegado.
FUENTE: Propia



Figura 13. Modelo del convertidor de voltaje para el biorreactor de batch discontinuo.
FUENTE: Propia

ANEXO N° 2. Muestreo de suelo salino en un salar de Chimbote – Perú



Figura 14. Captación panorámica del salar de Chimbote.
FUENTE: Propia



Figura 15. Zona líquida del salar de Chimbote.
FUENTE: Propia

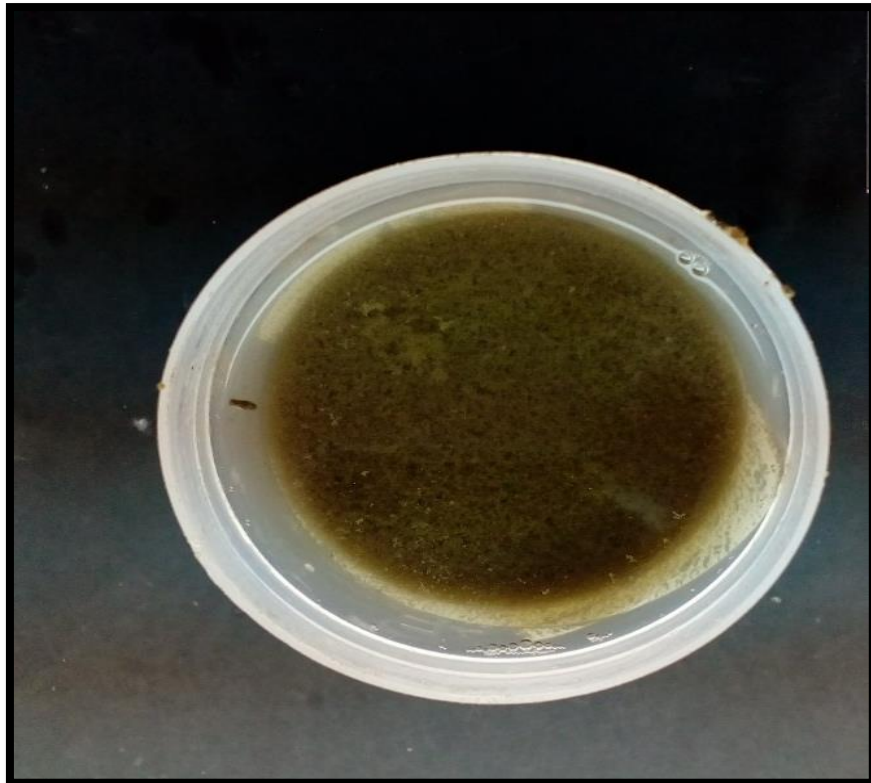


Figura 16. Muestra 1, líquida del salitral de Chimbote.
FUENTE: Propia-

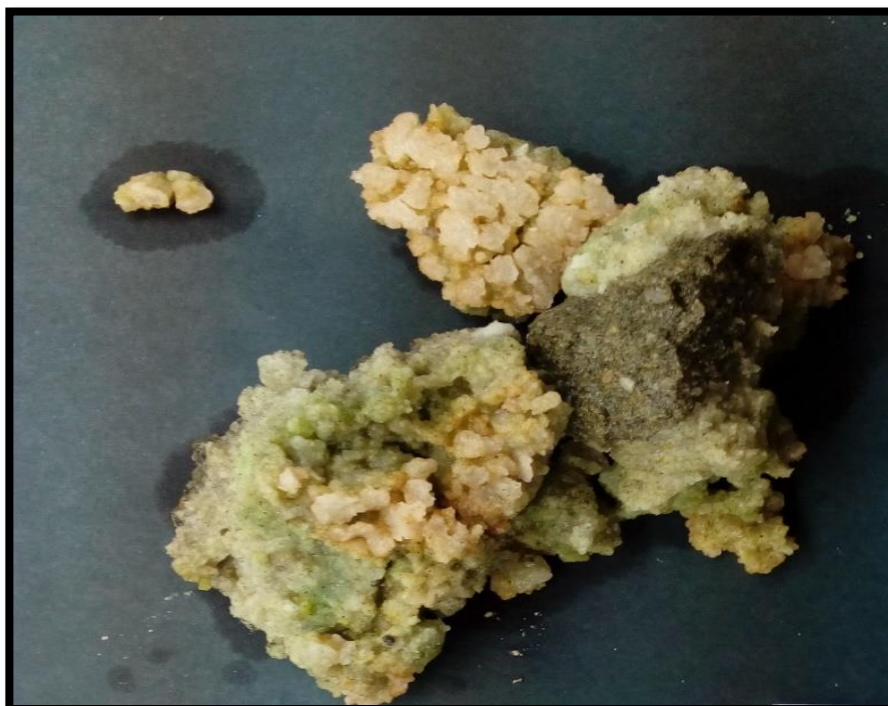


Figura 17. Muestra 2, sólida del salitral de Chimbote.
FUENTE: Propia



Figura 19. Muestra 3, obtenida del salitral de Chimbote.
FUENTE: Propia



Figura 18. Muestra 4, obtenida del salitral de Chimbote.
FUENTE: Propia

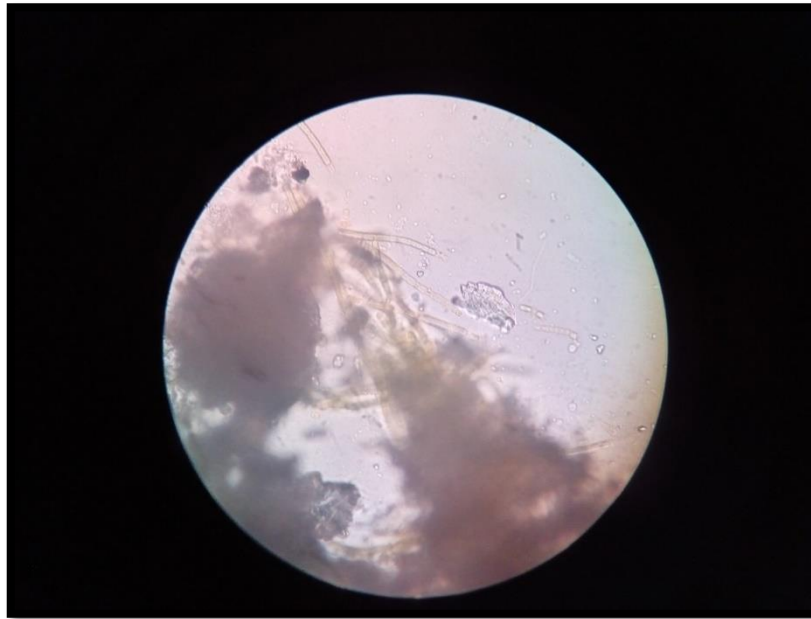


Figura 20. Observación en fresco de la muestra 1..
FUENTE: Propia.

Tabla 13. Parámetros físico-químicos y ubicación de la zona de muestreo.

Parámetros	
pH	8
Temperatura	23 °C
Coordenadas	9°09'22.6"S 78°32'04.1"W

Fuente: Propia.

ANEXO N° 3. Aislamiento y purificación de las colonias *Haloferax sp.*



Figura 21. Aislamiento de diferentes colonias en medios agar halófilo.
FUENTE: Propia



Figura 22. PURIFICACIÓN. Agar halófilo inclinado.
FUENTE. Propia

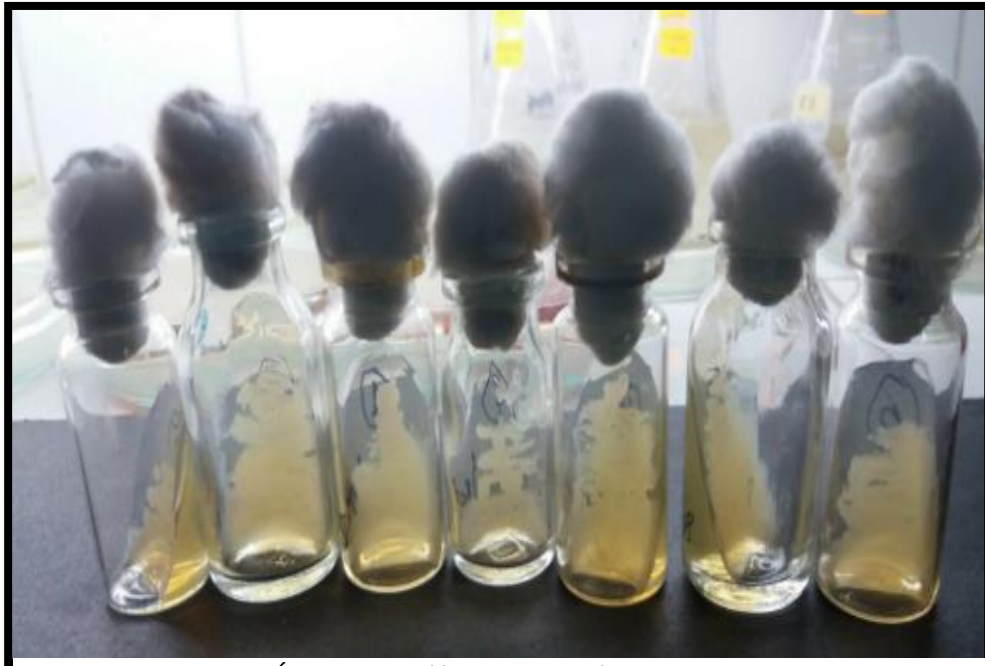


Figura 23. PURIFICACIÓN. Agar halófilo inclinado (cara posterior de los frasquitos).

FUENTE: Propia

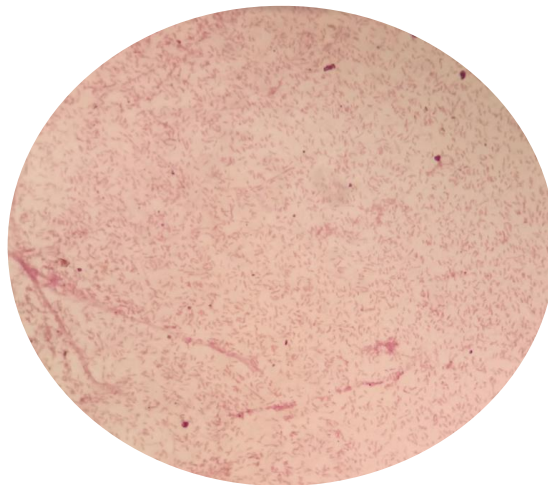


Figura 24 Observación por inmersión de una coloración Gram del cultivo N1.

FUENTE: Propia.

ANEXO N°4 Escala de McFarland

ESCALA MCFARLAND

Nº	BaCl ₂ 0,048M ml	H ₂ SO ₄ 0,36M ml	Vf ml	Nº Células
0,5	0,05	9,95	10	1,5 · 10 ⁸
1	0,1	9,9	10	3 · 10 ⁸
2	0,2	9,8	10	6 · 10 ⁸
3	0,3	9,7	10	9 · 10 ⁸
4	0,4	9,6	10	12 · 10 ⁸
5	0,5	9,5	10	15 · 10 ⁸
6	0,6	9,4	10	18 · 10 ⁸
7	0,7	9,3	10	21 · 10 ⁸
8	0,8	9,2	10	24 · 10 ⁸
9	0,9	9,1	10	27 · 10 ⁸
10	1	9	10	30 · 10 ⁸

Figura 25. Valores según la escala de McFarland

ANEXO N° 4. INOCULO DE HALOFERAX SP

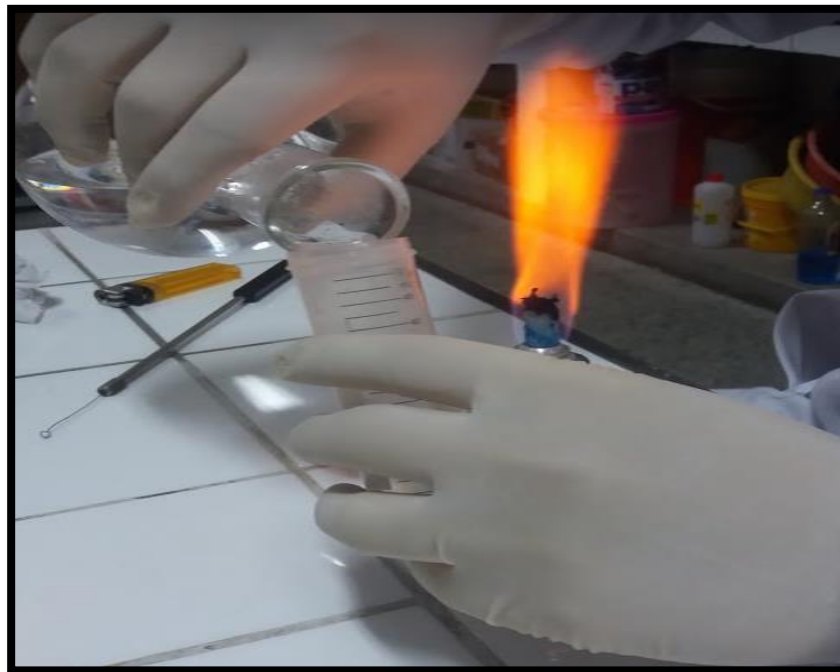


Figura 26. Vertimiento de 100 ml de solución de Na Cl a los tubos.
FUENTE: Propia



Figura 27. Vertimiento de 5 a 6 ml de la solución salina al inóculo.
FUENTE: Propia



Figura 28. Desprendimiento de las *Haloferax* sp, del agar halófilo inclinado.
FUENTE: Propia



Figura 29. Con ayuda del asa esterilizada desprendemos los microorganismos.
FUENTE: Propia



Figura 29. Vertimiento de las bacterias a los tubos para su posterior inoculación.
FUENTE: Propia

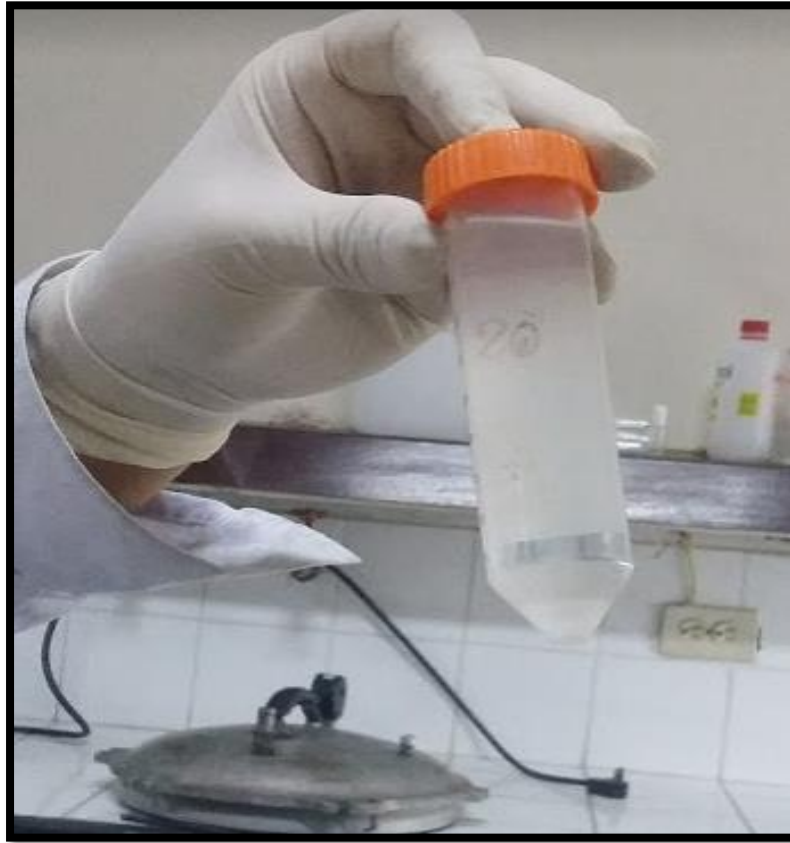


Figura 30. Suspensión de biomasa del halófilo a 3×10^8 UFC/ml.
FUENTE: Propia

ANEXO N°5. Biorremediación de efluente pesquero usando una cepa *Halófila*.

Materiales y equipos.

Materiales

- Solución salina de 15 % NaCl
- Cultivo halófilo joven sembrado en placas
- Tubos de soluciones estándares de la escala de Mac farland
- Asa bacteriológica, mechero y encendedor.
- 4 biorreactores de 500 ml.
- Equipo de bioseguridad (guantes, mascarilla, etc)

Equipos

- Cabina de bioseguridad
- Espectrofotómetro
- pH metro



Figura 31. Esterilización de biorreactores por radiación UV.
FUENTE: Propia

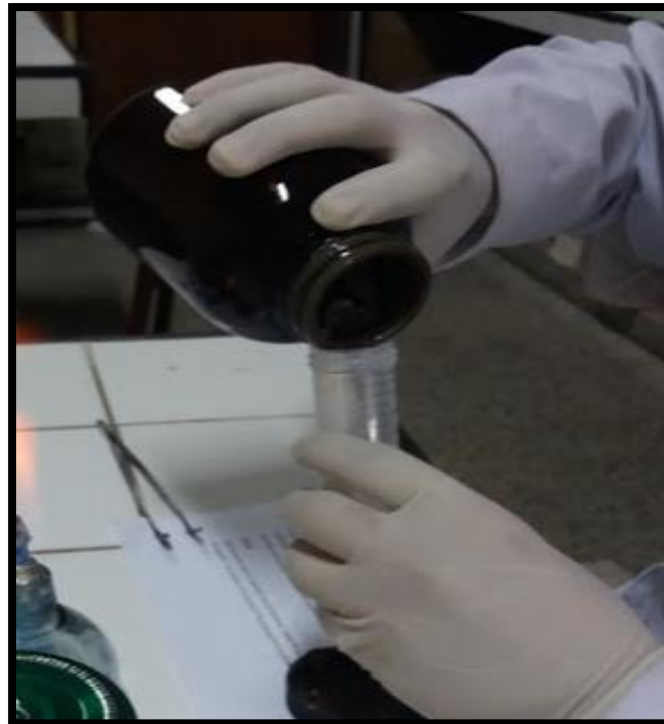


Figura 32. Cogemos 10 ml de la muestra para que sea diluida.
FUENTE: Propia



Figura 33. Se evidencian 10 ml de la muestra del efluente pesquero.
Fuente: Elaboración propia.



Figura 34. Vertimiento de la solución salina hasta los 250 ml, incluido los 10 ml de la muestra.
FUENTE: Propia



Figura 35. Suspensión de biomasa del halófilo a 3×10^8 UFC/ml.
FUENTE: Propia



Figura 36. Estandarización del inóculo por espectrofotometría en absorbancias.
FUENTE: Propia



Figura 37. Proceso de biorremediación del efluente pesquero a 3×10^8 UFC/ml de halófilo y a pH 7.
FUENTE: Propia

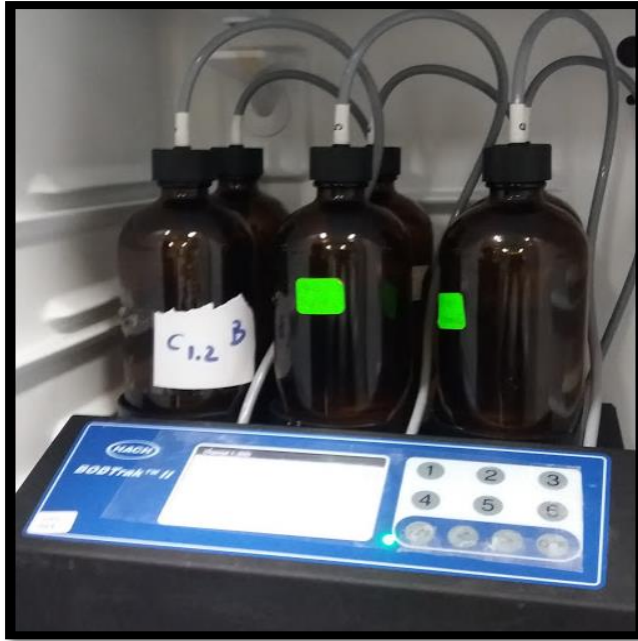


Figura 38. Análisis de DBO5 por el método
Respirométrico.
FUENTE: Propia

ANEXO N°6:

Tabla 11. Ficha Técnica del Pre- Tratamiento.

CÓDIGO: 01-PRT

TITULO DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN			
Influencia del pH y la concentración de <i>Haloferax sp.</i> en la DQO y DBO5 del efluente residual de la empresa EXALMAR SAC.			
INVESTIGADOR	ATOCHE GAMARRA, Hillary Yomira		
INSTRUCCIÓN	Llenar correctamente los datos requeridos.		
DATOS GENERALES			
Facultad de Ingeniería	Escuela de Ingeniería Ambiental		Universidad Cesar Vallejo- Trujillo
Departamento	Provincia		Distrito
La Libertad	Trujillo		Víctor Larco Herrera
DATOS DE LA MUESTRA			
Muestreo	Según el Protocolo Nacional para el Monitoreo de la calidad de los recursos hídricos superficiales de la Autoridad Nacional del Agua.		
Procedencia	Efluente de la planta de agua de cola de la empresa EXALMAR SAC.		
Fecha de obtención de la muestra			
Fecha en la que se dejó en el laboratorio			
Condiciones de mantenimiento			
ANÁLISIS QUÍMICOS			
DBO5	Método BODTrak		
DQO	Método Reflujo Cerrado. 5220D		
PRE-TEST			
Código de la muestra	DBO5	DQO	Nivel de Ph
RESPONSABLE	FIRMA	VERIFICADO POR	FIRMA
ATOCHE GAMARRA, Hillary			

Fuente: Elaboración propia

ANEXO 7:
CÓDIGO: 01-PO

Tabla 12. Ficha Técnica de observación-post-tratamiento.

TÍTULO DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN				
Influencia del pH y la concentración de <i>Haloferax sp.</i> en la DQO y DBO5 del efluente residual de la empresa EXALMAR SAC.				
INVESTIGADOR		ATOCHÉ GAMARRA, Hillary Yomira		
INSTRUCCIÓN		Llenar correctamente los datos requeridos.		
DATOS GENERALES				
Facultad de Ingeniería		Escuela de Ingeniería Ambiental		Universidad Cesar Vallejo-Trujillo
Departamento		Provincia		Distrito
La Libertad		Trujillo		Víctor Larco Herrera
DATOS DE LA MUESTRA				
Muestreo		Según el Protocolo Nacional para el Monitoreo de la calidad de los recursos hídricos superficiales de la Autoridad Nacional del Agua.		
Procedencia		Efluente de la planta de agua de cola de la empresa EXALMAR SAC.		
Fecha de obtención de la muestra				
Fecha en la que se dejó en el laboratorio				
Condiciones de mantenimiento				
ANÁLISIS QUÍMICOS				
DBO5		Método BODTrak		
DQO		Método Reflujo Cerrado. 5220D		
TRATAMIENTO POST TEST				
Concentración: $1 \cdot 10^4$ UFC/ML			Código de la muestra:	
pH	DBO5	DQO	Volumen	Observaciones
7				
10				

12				
Promedio				
Concentración: $1 \cdot 10^5$ UFC/MI			Código de la muestra:	
pH	DBO5	DQO	Volumen	Observaciones
7				
10				
12				
Promedio				
Concentración: $1 \cdot 10^6$ UFC/MI			Código de la muestra:	
pH	DBO5	DQO	Volumen	Observaciones
7				
10				
12				
Promedio				
RESPONSABLE		FIRMA	VERIFICADO POR	FIRMA
ATOCHÉ GAMARRA, Hillary Yomira				

Fuente: Elaboración propia

ANEXO 8: MATERIALES Y PROCEDIMIENTO

1. MATERIAL

- **Material biológico.**
- **Compuestos utilizados como nutrientes y sales para los medios de cultivo tanto sólido como líquido**
 - Sulfato de magnesio heptahidratado ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$).
 - Extracto de levadura.
 - Peptona.
 - Cloruro de Calcio ($CaCl_2$).
 - Cloruro de Amonio (NH_4Cl)
 - Sal ($NaCl$)
- **Material de laboratorio**
- **Materiales para el DQO**
 - Balones aforados clase A de 50 mL.
 - Erlenmeyers de 125 mL.
 - Pipetas aforadas clase A, de 2, 2.5, 5, 6, 10, 20 y 25 mL.
 - Pipetas graduadas de 5 y 10 mL.
 - Probeta de vidrio de 50 mL.
 - Transferpipeta de 10 mL.
 - Pipeta Pasteur.
 - Microespátula.
 - Micropipeta de 1000 μL .
 - Tubos de digestión, de vidrio borosilicato, de 6 x 100 mm, con tapa rosca con empaque de Teflón y que soporten temperaturas hasta de 200° C.
 - Tubos de digestión, de vidrio borosilicato, de 25 x 150 mm, con tapa rosca con empaque de Teflón y que soporten temperaturas hasta de 200° C.
- **Materiales para el DBO5**
 - Frasco Winker o botellas de para incubación (250 – 300 ml)
 - Almohadilla buffer

- Botella ámbar
- pastillas de hidróxido de potasio
- Probeta 95 ml
- **Equipo para DBO5**
- Incubadora de aire

2. Procedimiento

- **Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO₅): Método BODTrak**
 1. Para la determinación del DBO, toma la muestra en un frasco de vidrio de color oscuro.
 2. Mantiene la muestra adentro de un rango de ± 2 °C de la temperatura de incubación (20 ° C)
 3. Adiciona las muestras a cada botella del equipo BODTRAK para el análisis. El volumen de muestra es de 95 Ml.
 4. Paso 4: Coloca la barra de movimiento magnética a cada botella de la muestra.
 5. Adiciona el contenido de la pastilla de Buffer Nutriente en cada botella de muestra.
 6. Utiliza el embudo para adicionar el contenido de la pastilla de Hidróxido de Potasio.
 7. Coloca las botellas en la plataforma del equipo BODTRACK.
 8. Conecta tubos identificados según el panel de control para cada botella
 9. Verifica que cada botella se encuentre con una hermeticidad apropiada para la prueba.
 10. Coloca el instrumento en la incubadora a $20\text{ °C} \pm 1\text{°C}$.
 11. Verificar los magnetos se encuentren rotando en cada botella para garantizar la homogenización.
 12. Antes de iniciar la lectura, verifica que el rango de lectura del equipo se encuentre en 700 mg/L durante 5 días de lectura.
 13. Para iniciar la lectura, mantiene presionado en botón “ON” durante unos segundos hasta que aparezca en la pantalla “DLY

ANEXO 9: Resolución Ministerial N° 178-2014-MINAM, LMP para Efluentes de la Industria Pesquera de Consumo Humano Directo

Tabla 13. Límites Máximos Permisibles de efluentes pesqueros

PARÁMETROS / CONTAMINANTE	UNIDAD	CONCENTRACIÓN EN EL EFLUENTE A DESCARGAR	
		Dentro Zona de Protección Ambiental Litoral	Fuera de Zona Protección Ambiental Litoral
Aceites y Grasas (A y G)	(mg/l)	10	200
Sólidos Suspendidos Totales (SST)	(mg/l)	40	350
pH	(mg/l)	6 – 9	6 - 9
Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO ₅)	(mg/l)	50	500
Demanda Química de Oxígeno	(mg/l)	60	600
Coliformes Termotolerantes	NMP/100 ml	10000

FUENTE: RM-N°-178-2014-MINAM

Tabla 14. Valores de los análisis realizados a los tratamientos de DBO₅

DBO ₅			
pH 7	C1	C2	C3
1	21185	16397	11400
2	19000	12673	12806
3	16074	12787	10450
pH 10	C1	C2	C3
1	15420	9456	20145
2	13495	10789	21493
3	16450	9987	19780
pH 12	C1	C2	C3
1	19756	9034	7893
2	17564	10893	8046
3	18935	9156	7913

Fuente: Elaboración propia.

Interpretación:

Según los análisis de *DBO₅* de los tratamientos realizados a pH 7, pH 10 y pH 12; y a las concentraciones de $3 \cdot 10^8$ UFC/ml, $6 \cdot 10^8$ UFC/ml y $9 \cdot 10^8$ UFC/ml; podemos apreciar que estos valores son elevados respecto a lo que pide en la Resolución Ministerial N° 178-2014-MINAM (*DBO₅* y *DQO*), el mínimo valor que se obtuvo en el tratamiento de un pH 12 y a una concentración de $9 \cdot 10^8$ UFC/ml es de 7893 mg/l O₂, siendo en el reglamento de 500 mg/l.

Tabla 15. Valores de los análisis realizados a los tratamientos de DQO.

DQO			
pH 7	C1	C2	C3
	45000	33122	28450
	41800	27880	25470
pH 10	C1	C2	C3
	35400	26852	29480
	29452	20145	21065
pH 12	C1	C2	C3
	34520	21493	18964
	30124	19780	19456
pH 12	C1	C2	C3
	27841	15349	20561
	28567	14387	19804
	28486	16782	19078

Fuente: Elaboración propia.

Interpretación:

Según los análisis de DQO de los tratamientos realizados a pH 7, pH 10 y pH 12; y a las concentraciones de $3 \cdot 10^8$ UFC/ml, $6 \cdot 10^8$ UFC/ml y $9 \cdot 10^8$ UFC/ml; podemos apreciar que estos valores son elevados respecto a lo que pide en la Resolución Ministerial N° 178-2014-MINAM (DBO₅ y DQO), el mínimo valor que se obtuvo en el tratamiento a un pH 12 y a una concentración de $6 \cdot 10^8$ UFC/ml es de 16782 mg/l O₂, siendo lo expuesto en el reglamento de 600 mg/l.

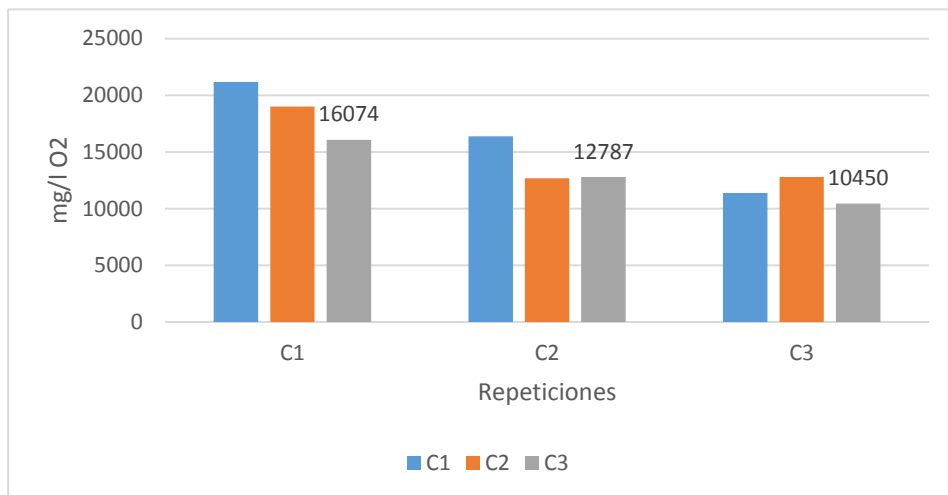


Figura 39. Análisis de DBO₅ a un pH 7, realizado después del tratamiento.
Fuente: Elaboración propia

Interpretación:

En la figura 39, podemos apreciar que a un pH 7 en una concentración de $9 \cdot 10^8$ UFC/ml a un periodo de 72 horas, es donde obtenemos el valor más bajo en cuanto a DBO₅ con 10450 mg/l O₂.

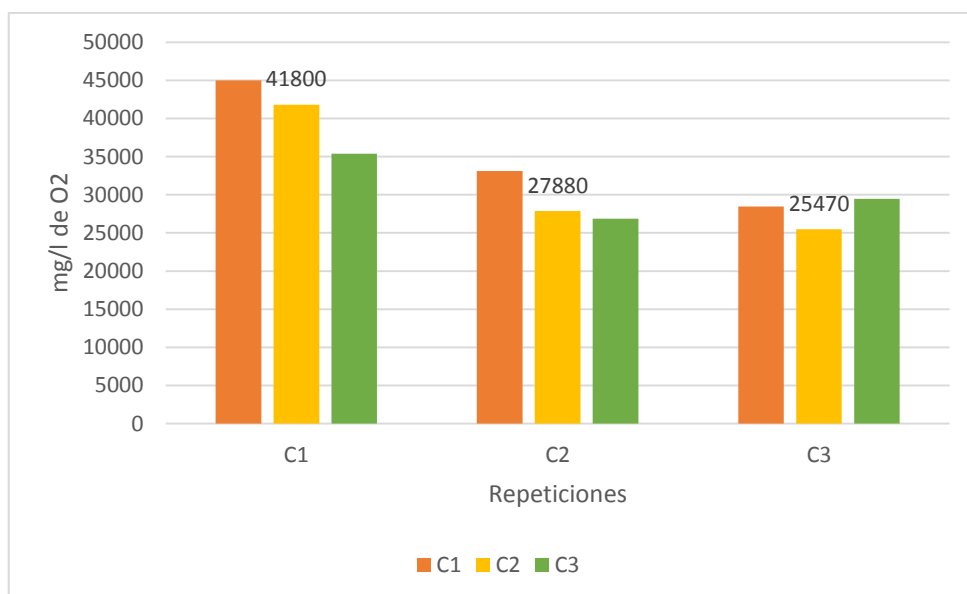


Figura 40. Análisis de DQO a un pH 7, realizado después del tratamiento.
Fuente: Elaboración propia.

Interpretación:

En la figura 40, podemos apreciar que a un pH 7 en una concentración de $6 \cdot 10^8$ UFC/ml a un periodo de 72 horas, es donde obtenemos el valor más bajo en cuanto a DQO con 25470 mg/l O_2 .

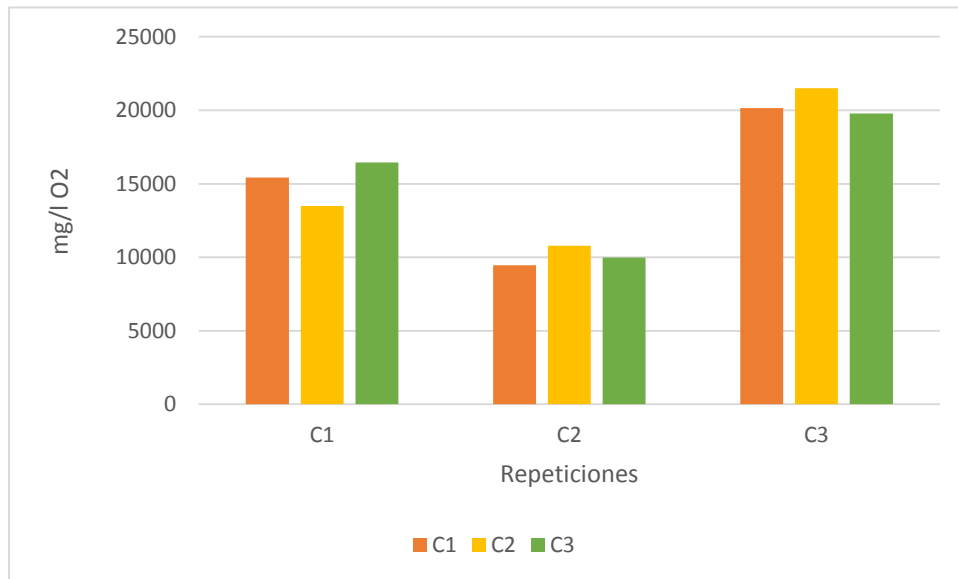


Figura 41. Análisis de DBO₅ a un pH 10, realizado después del tratamiento.
 Fuente: Elaboración propia.

Interpretación:

En la figura 41, podemos apreciar que el DBO₅ a un pH 10 en una concentración de $6 \cdot 10^8$ UFC/ml a un periodo de 72 horas, es donde obtenemos el valor más bajo en cuanto a DQO con 25470 mg/l O_2 .

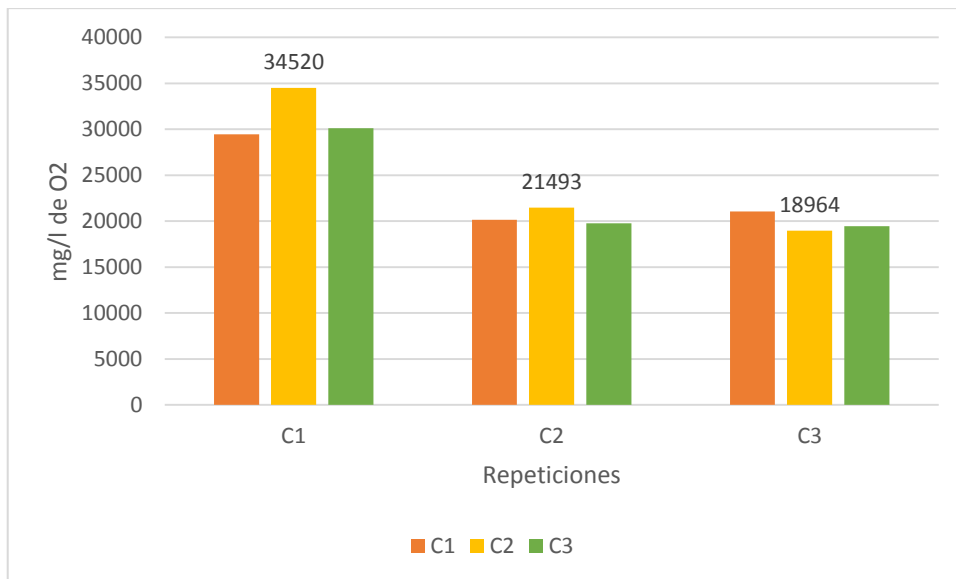


Figura 42. Análisis de DQO a un pH 10, realizado después del tratamiento.
Fuente: Elaboración propia.

Interpretación:

En la figura 42, podemos apreciar que el DQO a un pH 10 en una concentración de $6 \cdot 10^8$ UFC/ml a un periodo de 72 horas, es donde obtenemos el valor más bajo en cuanto a DQO con 18964 mg/l O₂.

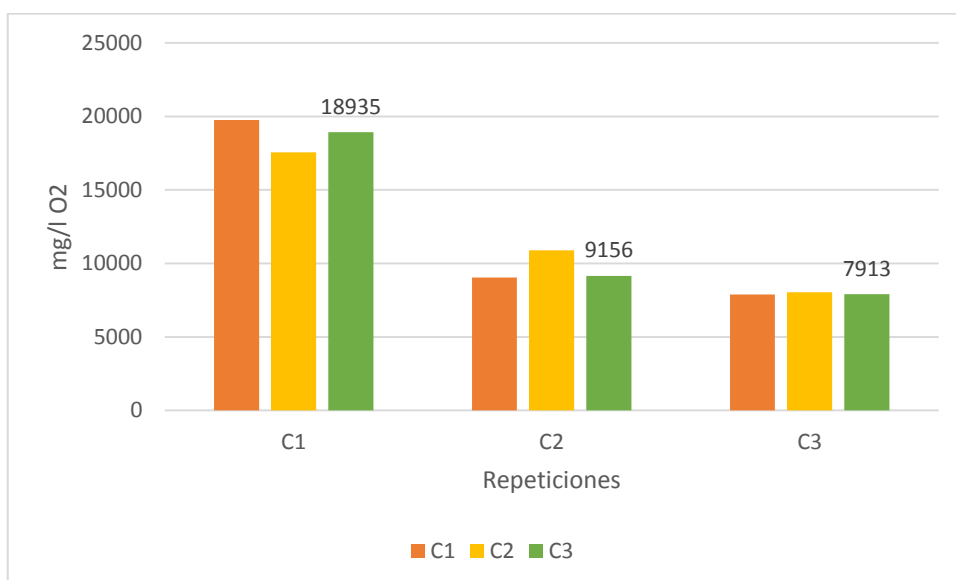


Figura 363. Análisis de DBO₅ a un pH 12, realizado después del tratamiento.
Fuente: Elaboración propia.

Interpretación:

En la figura 43, podemos apreciar que el DBO₅ a un pH 12 en una concentración de $6 \cdot 10^8$ UFC/ml a un periodo de 72 horas, es donde obtenemos el valor más bajo en cuanto a DBO₅ con 7913 mg/l O₂.

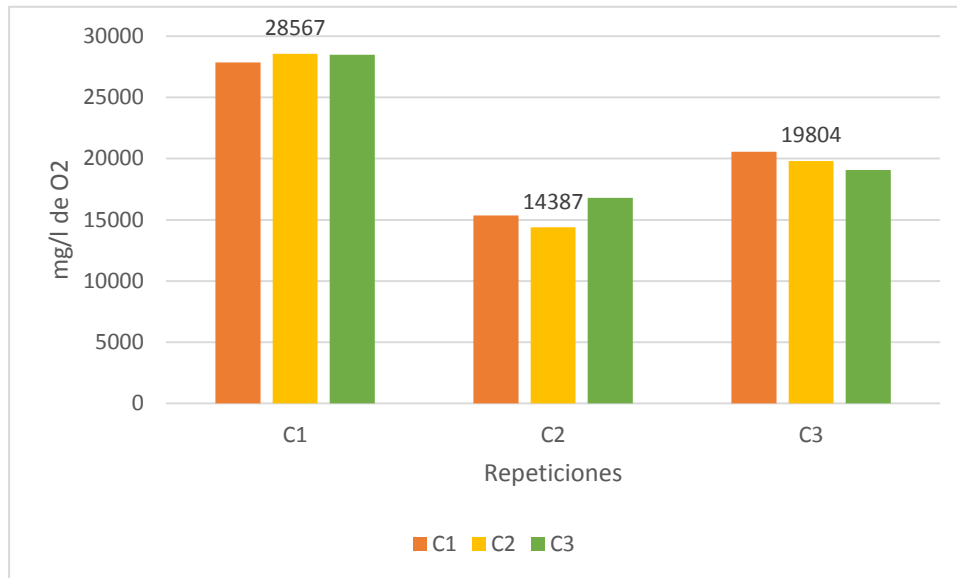


Figura 374. Análisis de DQO a un pH 12, realizado después del tratamiento.
 Fuente: Elaboración propia.

Interpretación:

En la figura 44, podemos apreciar que el DQO a un pH 12 en una concentración de $6 \cdot 10^8$ UFC/ml a un periodo de 72 horas, es donde obtenemos el valor más bajo en cuanto a DQO con 14387 mg/l O₂.

Anexo 10. Tablas de la disminución de las concentraciones de la demanda bioquímica de oxígeno y demanda química de oxígeno de la biorremediación de los efluentes pesqueros por *Haloferax sp*

Tabla 15. Datos de la disminución de DBO5 y DQO a un pH 7.

	Repeticiones	DBO5	DQO	Control DBO5	Control DQO
C1	1	21185	45000	19798	44100
	2	19000	41800		
	3	16074	35400		
	Promedio	18753	40733,3333		
	Porcentaje	94,7216891	92,3658352		
	Degradación	5,27831094	7,63416478		
		Repeticiones	DBO5	DQO	Control DBO5
C2	1	16397	33122	17176	34180
	2	12673	27880		
	3	12787	26852		
	Promedio	13952,3333	29284,6667		
	Porcentaje	81,2315634	85,6777843		
	Degradación	18,7684366	14,3222157		
		Repeticiones	DBO5	DQO	Control DBO5
C3	1	11400	28450	18715	45780
	2	12806	25470		
	3	10450	29480		
	Promedio	11552	27800		
	Porcentaje	60,9137056	62,1450415		
	Degradación	39,0862944	37,8549585		

Fuente: Estadístico.

Tabla 16. Datos de la disminución de DBO5 y DQO a un pH 10.

C1	Repeticiones	DBO5	DQO	Control DBO5	Control DQO
	1	15420	29452	20478	54206
	2	13495	34520		
	3	16450	30124		
	Promedio	15121,6667	31365,3333		
	Porcentaje	73,8434743	57,8632132		
	Degradación	26,1565257	42,1367868		
C2	Repeticiones	DBO5	DQO	Control DBO5	Control DQO
	1	9456	20145	18934	40782
	2	10789	21493		
	3	9987	19780		
	Promedio	10077,3333	20472,6667		
	Porcentaje	53,223478	50,2002517		
	Degradación	46,776522	49,7997483		
C3	Repeticiones	DBO5	DQO	Control DBO5	Control DQO
	1	9782	21065	18715	45780
	2	8946	18964		
	3	9054	19456		
	Promedio	9260,66667	19828,3333		
	Porcentaje	49,4825897	43,3122179		
	Degradación	50,5174103	56,6877821		

Fuente: Estadístico.

Tabla 17. Datos de la disminución de DBO5 y DQO a un pH 12.

	Repeticiones	DBO5	DQO	Control DBO5	Control DQO
C1	1	19756	27841	25789	47821
	2	17564	28567		
	3	18935	28486		
	Promedio	18751,6667	28298		
	Porcentaje	72,7118797	59,1748395		
	Degradación	27,2881203	40,8251605		
		Repeticiones	DBO5	DQO	Control DBO5
C2	1	9034	15349	20467	30493
	2	10893	14387		
	3	9156	16782		
	Promedio	9694,33333	15506		
	Porcentaje	47,3656781	50,851015		
	Degradación	52,6343219	49,148985		
		Repeticiones	DBO5	DQO	Control DBO5
C3	1	7893	20561	16795	48792
	2	8046	19804		
	3	7913	19078		
	Promedio	7950,66667	19814,3333		
	Porcentaje	47,339486	40,6097994		
	Degradación	52,660514	59,3902006		

Fuente: Estadístico.

Anexo 11: Análisis estadístico de los datos.

 Tabla 18. Análisis por ANOVA entre los resultados de la DBO₅.

RESUMEN	C1	C2	C3	Total
<i>pH7</i>				
Cuenta	3	3	3	9
Suma	56259	41857	34656	132772
Promedio	18753	13952,3333	11552	14752,44444
Varianza	6576337	4485545,33	1405012	13199523,78
<i>pH10</i>				
Cuenta	3	3	3	9
Suma	45365	30232	61418	137015
Promedio	15121,6667	10077,3333	20472,6667	15223,88889
Varianza	2249758,33	450342,333	814116,333	21146236,11
<i>pH12</i>				
Cuenta	3	3	3	9
Suma	56255	29083	23852	109190
Promedio	18751,6667	9694,33333	7950,66667	12132,22222
Varianza	1226424,33	1081322,33	6916,33333	25795823,44
<i>Total</i>				
Cuenta	9	9	9	
Suma	157879	101172	119926	
Promedio	17542,1111	11241,3333	13325,1111	
Varianza	5808565,36	5665912,25	31725058,6	

 Fuente:
 Estadístico.

 Tabla 19. Análisis de
 varianza.

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Muestra	49938681,4	2	24969340,7	12,28283986	0,000432431	3,55455715
Columnas	185475058	2	92737529,1	45,61915485	8,95525E-08	3,55455715
Interacción Dentro del grupo	259066060	4	64766514,9	31,85974115	6,05394E-08	2,92774417
Total	36591548,7	18	2032863,81			
	531071348	26				

Fuente: Estadístico.

Tabla 20. Análisis por ANOVA entre los resultados de la DQO.

RESUMEN	C1	C2	C3	Total
<i>pH7</i>				
Cuenta	3	3	3	9
Suma	122200	87854	83400	293454
Promedio	40733,3333	29284,6667	27800	32606
Varianza	23893333,3	11308041,3	4336900	47452983
<i>pH10</i>				
Cuenta	3	3	3	9
Suma	94096	61418	59485	214999
Promedio	31365,3333	20472,6667	19828,3333	23888,77778
Varianza	7576837,33	814116,333	1207524,33	33920584,69
<i>Ph12</i>				
Cuenta	3	3	3	9
Suma	84894	46518	59443	190855
Promedio	28298	15506	19814,3333	21206,11111
Varianza	158277	1452493	549902,333	32311368,11
<i>Total</i>				
Cuenta	9	9	9	
Suma	301190	195790	202328	
Promedio	33465,5556	21754,4444	22480,8889	
Varianza	39382796	39915009,8	17438398,9	

Fuente: Estadístico

Tabla 21. Análisis de varianza

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
pH	639432391	2	319716196	56,09337623	1,8465E-08	3,55455715
UFC/ml	775022240	2	387511120	67,98781969	4,0774E-09	3,55455715
Interacción Dentro del grupo	31862396,1	4	7965599,04	1,397543665	0,27466017	2,92774417
	102594850	18	5699713,89			
Total	1548911878	26				

Fuente: Estadístico