

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES
ESCUELA DE POSGRADO
MAESTRÍA EN CIENCIAS CON MENCIÓN EN GESTIÓN
AMBIENTAL



**Uso de biofertilizante elaborado con residuos de pescado en la
producción de biomasa de *Chlorella vulgaris***

TESIS
**Para optar el grado académico de Maestro en Ciencias con
mención en Gestión Ambiental**

Autor: Bach. José Eduar Saldivar Vallejos

Tumbes, 2026

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES
ESCUELA DE POSGRADO
MAESTRÍA EN CIENCIAS CON MENCIÓN EN GESTIÓN
AMBIENTAL



**Uso de biofertilizante elaborado con residuos de pescado en la
producción de biomasa de *Chlorella vulgaris***

Tesis aprobada en forma y estilo por:

Dr. Jalmer Fidel Campaña Olaya (presidente)
ORCID N° 0000-0002-0804-1208

Dr. Víctor Santos Guzmán Tripul (secretario)
ORCID N° 0000-0002-5304-0407

Mg. Paul Ricardo Noblecilla Retamozo (vocal)
ORCID N° 0000-0003-1901-7462

Tumbes, 2026

NIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES
ESCUELA DE POSGRADO
MAESTRÍA EN CIENCIAS CON MENCIÓN EN GESTIÓN
AMBIENTAL



**Uso de biofertilizante elaborado con residuos de pescado en la
producción de biomasa de *Chlorella vulgaris***

**Los suscritos declaramos que la tesis es original en su contenido
y forma:**

Bach. José Eduar Saldivar Vallejos (autor)
ORCID N° 0009-0003-5327-5374

Dr. David Edilberto Saldarriaga Yacila (asesor)
ORCID N° 0000-0002-4919-8607

Dra. María Victoria Lora Vargas (coasesora)
ORCID N° 0000-0003-2297-7667

Tumbes, 2026

COPIA DEL ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS



UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES
Licenciada
Resolución del Consejo Directivo N° 155-2019-SUNEDU/CD
ESCUELA DE POSGRADO
Tumbes – Perú

"Año de la Esperanza y el Fortalecimiento de la Democracia"

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

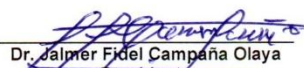
En Tumbes, a los ocho días del mes de setiembre del dos mil veintiséis, siendo las dieciséis horas y cero minutos en el aula N° 02 de la Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional de Tumbes, se reunieron los miembros del jurado calificador constituidos con la **RESOLUCIÓN No 043-2026/UNTUMBES-EPG-D**, del 27 de enero del dos mil veintiséis **presidido por el Dr. Jalmer Fidel Campaña Olaya** e integrado por el **Dr. Víctor Santos Guzmán Tripul** (secretario), el **Mtro. Paul Ricardo Noblecilla Retamozo** (Vocal) y la **Dra. Rosa Liliana Solís Castro Accesitaria**

Instalado el jurado, se procedió a la evaluación, deliberación y calificación del acto de la sustentación de la tesis titulada: **"Uso de biofertilizante elaborado con residuos de pescado en la producción de biomasa de *Chlorella vulgaris*"**, presentado por el maestrando: **José Eduar Saldivar Vallejos**, del programa de Maestría en Ciencias con mención en Gestión Ambiental.

Concluida la sustentación y absueltas las preguntas, por parte del sustentante y después de la correspondiente deliberación el jurado, conforme a lo normado en el artículo N° 111 del Reglamento de Tesis de la Universidad Nacional de Tumbes, declara al maestrando **APROBADO** por **UNANIMIDAD** con el calificativo de **MUY BUENO**.

Por lo anterior, el sustentante está apto para iniciar los trámites correspondientes y conducentes a la obtención del grado académico de **Maestro en Ciencias con mención en Gestión Ambiental**, en conformidad con lo normado en la Ley Universitaria N° 30220, el Estatuto, El Reglamento General, el Reglamento General de Grados Títulos y el Reglamento de Tesis de la Universidad Nacional de Tumbes.

Siendo las **17** horas y **30** minutos, del mismo día, se dio por concluida la ceremonia académica, procediendo a firmar el acta en presencia de público asistente.


Dr. Jalmer Fidel Campaña Olaya
Presidente
DNI N° 00236469
<https://orcid.org/0000-0002-0804-1208>


Dr. Víctor Santos Guzmán Tripul
Secretario
DNI N° 18090530
<https://orcid.org/0000-0002-5034-8238>


Mtro. Paul Ricardo Noblecilla Retamozo
Vocal
DNI N° 00371122
<https://orcid.org/0000-0003-1901-7462>


Dra. Rosa Liliana Solís Castro
Accesitaria
DNI N° 17628592
<https://orcid.org/0000-0002-1813-8644>

C.c.
Jurado de Tesis
Interesado
Archivo (Director EPG).

RESUMEN DE INFORME DE ORIGINALIDAD



Página 1 de 61 - Portada

Identificador de la entrega: trmold-3117-609519041

José Eduar Saldívar Vallejos

Uso de biofertilizante elaborado con residuos de pescado en la producción de biomasa de *Chlorella vulgaris*

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trmold-3117-609519041

Fecha de entrega

22 jul 2026, 11:26 GMT+0

Fecha de descarga

22 jul 2026, 11:31 GMT+0

Nombre del archivo

Uso de biofertilizante elaborado con residuos de pescado en la producción de biomasa de Chlorella...docx

Tamaño del archivo

6.2 MB

Dr. DAVID EDILBERTO SALDARRIAGA YACILA
ASESOR
ORCID N° 0000-0002-4919-8607

58 páginas

13.068 palabras

72.231 caracteres



Página 1 de 61 - Portada

Identificador de la entrega: trmold-3117-609519041

2% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para Ca...

Filtrado desde el informe

► Coincidencias menores (menos de 15 palabras)

Fuentes principales

- 2%  Fuentes de Internet
- 0%  Publicaciones
- 1%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)



Dr. DAVID EDILBERTO SALDARRIAGA YACILA
ASESOR
ORCID N° 0000-0002-4919-8607

Marcas de integridad

N.º de alertas de integridad para revisión

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

Fuentes principales

2% Fuentes de Internet

0% Publicaciones

1% Trabajos entregados (trabajos del estudiante)


Dr. DAVID EDILBERTO SALDARRIAGA YACILA
ASESOR
ORCID N° 0000-0002-4919-8607

Fuentes principales

Las fuentes con el mayor número de coincidencias dentro de la entrega. Las fuentes superpuestas no se mostrarán.

1	Internet	repositorio.unprg.edu.pe	<1%
2	Internet	dspace.uclv.edu.cu	<1%
3	Internet	repositorio.uns.edu.pe	<1%
4	Internet	www.coursehero.com	<1%
5	Internet	repositorio.imarpe.gob.pe	<1%
6	Internet	cybertesis.unmsm.edu.pe	<1%
7	Internet	www.iieta.org	<1%
8	Publicación	Toivo Kuokkanen, Pekka Vähöja, Ilkka Välimäki, Risto Lauhanen. "Suitability of t...	<1%
9	Internet	repositorio.unp.edu.pe	<1%

DEDICATORIA

Con amor y profunda gratitud dedico este trabajo de investigación a **Rosa Vallejos Díaz**, mi madre, por su amor incondicional, su fortaleza y su constante apoyo, que han sido el cimiento inquebrantable de mi formación personal y profesional.

A **Régulo Saldivar Ramos**, mi padre, por sus valiosas enseñanzas, su ejemplo de perseverancia y su confianza permanente en mis capacidades.

A mis hermanos: **María Reyna, María Marine, Luz Ayde, Leydi del Rocío, José Wilmer, Iván Paul y Jhan Franco**, por su compañía, aliento constante y apoyo a lo largo de este camino, haciendo posible superar cada desafío.

Y, de manera imperecedera, a la memoria de **mi hermana María**, cuya presencia permanece viva en mi corazón y cuya luz ha sido una fuente silenciosa de inspiración para seguir adelante, recordándome la importancia de no renunciar jamás a mis sueños.

AGRADECIMIENTOS

A **Dios**, por concederme la vida, la salud y la sabiduría necesarias para perseverar con firmeza en este proceso académico y culminar con éxito esta etapa de formación científica.

A **mi familia**, por su apoyo constante, paciencia y sacrificio, pilares fundamentales que sostuvieron el desarrollo y culminación de mis estudios de maestría.

A la **Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional de Tumbes**, mi **Alma Máter**, por brindarme la oportunidad de alcanzar mi formación especializada y contribuir significativamente a mi desarrollo profesional.

Al Dr. **David Edilberto Saldarriaga Yacila**, mi asesor de tesis, por su dirección metodológica, su valioso tiempo y sus orientaciones críticas para estructurar con rigurosidad este trabajo de investigación.

A la Dra. **María Victoria Lora Vargas**, mi coasesora de tesis, por su constante guía técnica, su apoyo en el seguimiento experimental y sus acertadas contribuciones al desarrollo de este proyecto.

Al profesor **Juan López**, por sus enseñanzas y el soporte académico brindado durante el planeamiento y ejecución de la investigación.

A la **Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo**, por abrirme las puertas de sus laboratorios y otorgarme las facilidades e infraestructura necesarias para llevar a cabo la fase experimental de este estudio.

A los docentes de la **Maestría en Ciencias con mención en Gestión Ambiental**, por compartir sus conocimientos, experiencia y rigurosidad académica, enriqueciendo mi visión científica.

Finalmente, a mis **compañeros de maestría**, por el intercambio de ideas, la colaboración intelectual y el compañerismo compartido a lo largo de este proceso de aprendizaje.

ÍNDICE

	Página
RESUMEN	xv
ABSTRACT	xvi
I. INTRODUCCIÓN	17
II. REVISIÓN DE LITERATURA	19
2.1. ANTECEDENTES	19
2.1.1. Uso de biofertilizante a partir de residuos de pescado	19
2.1.2. Nutrientes inorgánicos, mixtos y aguas residuales	21
2.2. BASES TEÓRICO CIENTÍFICAS	22
2.2.1. Biofertilizante a partir de residuos de pescado	22
2.2.2. Las microalgas	28
2.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS	31
III. MATERIALES Y MÉTODOS	33
3.1. LUGAR Y PERIODO DE EJECUCIÓN	33
3.1.1. Ubicación geográfica de la zona de estudio	33
3.2. TIPO Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN	34
3.2.1 Tipo de investigación	34
3.2.2 Diseño de Investigación	34
3.2.3 Flujograma de elaboración del biofertilizante y cultivo de <i>C. vulgaris</i>	35
3.3. POBLACIÓN, MUESTRA Y MUESTREO	35
3.4. MÉTODOS Y TÉCNICAS DE RECOLECCIÓN DE DATOS	37
3.4.1. Obtención y caracterización del biofertilizante	37
3.4.2. Preparación del medio de cultivo base (Guillard f)	39
3.4.3. Mantenimiento, adaptación y escalonamiento de la cepa	40
3.4.4. Diseño experimental y técnicas de suplementación	41
3.4.5. Método de producción de biomasa de <i>C. vulgaris</i>	43
3.5. PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN	49
3.5.1. Recolección de datos	49
3.5.2. Análisis estadístico y procesamiento de datos	50
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	51
4.1. CARACTERIZACIÓN QUÍMICA Y MICROBIOLÓGICA DEL BIOL	51

4.2.	DINÁMICA DEL CRECIMIENTO POBLACIONAL DE <i>C. vulgaris</i> Y SU CORRELACIÓN CON LA DENSIDAD ÓPTICA	51
4.3.	MODELAMIENTO CINÉTICO DEL CRECIMIENTO MEDIANTE GOMPERTZ	56
4.4.	CONTENIDO DE CLOROFILA Y PRODUCTIVIDAD	60
4.5.	ANÁLISIS DE CORRELACIÓN	62
V.	CONCLUSIONES	65
VI.	RECOMENDACIONES	66
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	67

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1 Metodologías biotecnológicas aplicadas en descartes y vertidos de la pesca para producir abonos de origen orgánico	25
Tabla 2 Configuración de grupos y unidades de prueba destinados al crecimiento de <i>C. vulgaris</i>	34
Tabla 3 Composición medio Guillard f	39
Tabla 4 Densidad celular diaria de <i>C. vulgaris</i> (10^6 cel·mL ⁻¹) por tratamiento y réplica	52
Tabla 5 Promedios de densidad celular (10^6 cel·mL ⁻¹) y desviación estándar de <i>C. vulgaris</i>	53
Tabla 6 Constantes y Parámetros Cinéticos del Modelo de Gompertz (μ , B, Tg, M, C, λ) en cultivo de <i>C. vulgaris</i>	57
Tabla 7 Concentración de Pigmentos: Clorofila a, b y Total (mg·L ⁻¹)	60
Tabla 8 Rendimiento Gravimétrico: Biomasa Final (g·L ⁻¹) y Productividad rx (g·L ⁻¹ ·d ⁻¹)	60

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1 <i>Derivados de la actividad pesquera y acuícola en modelos de economía circular</i>	23
Figura 2 <i>Materiales residuales obtenidos tras el procesamiento de la merluza</i>	24
Figura 3 <i>Ubicación geográfica del área de estudio y del laboratorio de experimentación en el departamento de Lambayeque, Perú</i>	33
Figura 4 <i>Configuración del sistema de cultivo experimental</i>	35
Figura 5 <i>Flujograma de elaboración de biofertilizante y producción de C. vulgaris</i>	35
Figura 6 <i>Etapas del proceso de obtención y maduración del biofertilizante</i>	37
Figura 7 <i>Evaluación microscópica y verificación de pureza celular de C. vulgaris en cámara de Neubauer</i>	40
Figura 8 <i>Escalonamiento y monitoreo de parámetros físicoquímicos en el cultivo de C. vulgaris</i>	41
Figura 9 <i>Secuencia de esterilización, montaje e inoculación del diseño experimental</i>	42
Figura 10 <i>Protocolo de seguimiento del cultivo de C. vulgaris</i>	44
Figura 11 <i>Monitoreo diario de parámetros físicoquímicos en los sistemas de cultivo de C. vulgaris</i>	45
Figura 12 <i>Procedimiento experimental para cuantificación de pigmentos en C. vulgaris</i>	46
Figura 13 <i>Procedimiento para la determinación de biomasa seca de C. vulgaris</i>	47
Figura 14 <i>Crecimiento poblacional de C. vulgaris sometida a diferentes relaciones de Nitrógeno – Fósforo (N - P) utilizando biol</i>	54
Figura 15 <i>Regresión lineal entre la Densidad Óptica (680 nm) y el Conteo Celular de la microalga en los diferentes tratamientos</i>	56
Figura 16 <i>Curvas cinéticas de crecimiento celular de C. vulgaris ajustadas al modelo de Gompertz</i>	59
Figura 17 <i>Análisis comparativo de Clorofila y Productividad Biotecnológica</i>	61
Figura 18 <i>Mapa de Calor de variables cinéticas, morfométricas y fisiológicas</i>	63

ÍNDICE DE ANEXOS

	Página
Anexo 1 <i>Gráfico de normalidad y prueba de igualdad de varianza del inicio de cultivo de C. vulgaris</i>	77
Anexo 2 <i>Resultados del análisis de Varianza para determinar las diferencias significativas entre las repeticiones de cada tratamiento para la densidad celular de C. vulgaris bajo diferentes regímenes nutricionales</i>	78
Anexo 3 <i>Análisis de varianza para determinar el efecto de los tratamientos, tiempo y su interacción de ambas variables sobre el crecimiento de C. vulgaris bajo diferentes regímenes nutricionales</i>	78
Anexo 4 <i>Densidad Óptica (Absorbancia) diaria de C. vulgaris por tratamiento y réplica</i>	78
Anexo 5 <i>Promedios de Densidad Óptica (Absorbancia) de C. vulgaris por tratamiento</i>	79
Anexo 6 <i>Lecturas espectrofotométricas y concentraciones de clorofila calculadas mediante ecuaciones de Ritchie</i>	79
Anexo 7 <i>Registro y determinación de biomasa seca neta de C. vulgaris</i>	80
Anexo 8 <i>Composición fisicoquímica y nutricional del Biol empleado como fuente orgánica</i>	81
Anexo 9 <i>Análisis microbiológicos de control de calidad e inocuidad del Biol</i>	82

RESUMEN

La investigación evaluó la influencia de un biofertilizante a base de residuos de pescado suplementado con tres relaciones de N:P en la producción de biomasa de *Chlorella vulgaris*. Se desarrolló el Diseño Experimental de estímulo creciente con un testigo (Guillard f), tres Tratamientos (biofertilizante: N:P 10:1, 15:1 y 20:1) y tres repeticiones de cada uno, sumando 12 unidades experimentales distribuidas Completamente al Azar (DCA). El seguimiento diario del crecimiento celular se realizó mediante conteos en cámara de Neubauer, corroborado mediante la lectura de Densidad Óptica 680 nm (DO_{680}). La densidad poblacional fue influenciada positivamente por el biol enriquecido en la relación N:P, siendo mejor la relación N:P 20:1 (T3) al Día 11 con $10,78 \times 10^6 \text{ cel} \cdot \text{mL}^{-1}$. Asimismo, al concluir el ensayo, el tratamiento N:P 20:1 superó a los demás tratamientos y al control en rendimiento gravimétrico de biomasa seca ($0,6560 \pm 0,0461 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) y clorofila total ($10,9274 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$). En consecuencia, el biol de pescado optimizado funciona como una alternativa biotecnológica eficiente para producir biomasa de esta microalga.

Palabras clave: *Chlorella vulgaris*, biol de pescado optimizado, densidad celular, Clorofila total, biomasa seca.

ABSTRACT

This study evaluated how a fish waste-based biofertilizer supplemented with three N:P ratios influences the biomass production of *Chlorella vulgaris*. An increasing stimulus experimental design was set up with a control group (Guillarfia) and three treatments (biofertilizer: 10:1, 15:1, and 20:1 N:P), using three replicates per condition for a total of 12 experimental units arranged in a completely Randomized Design (CRD). Daily cell growth was tracked via Neubauer chamber counts and supported by optical density readings at 680 nm (OD₆₈₀). Population density was positively shaped by the enriched biofertilizer, with the 20:1 N:P ratio (T3) yielding the best results on Day 11, reaching $10,78 \times 10^6$ cells · mL⁻¹. By end of the trial, the 20:1 N:P treatment outperformed both the other formulations and the control group in dry biomass gravimetric yield ($0,6560 \pm 0.0461$ g · L⁻¹) and total chlorophyll ($10,9274$ mg · L⁻¹). Ultimately, this optimized fish biofertilizer serves as an efficient biotechnological pathway for microalgal biomass production.

Keywords: *Chlorella vulgaris*, optimized fish biofertilizer, cell density, total chlorophyll, dry biomass.

I. INTRODUCCIÓN

La pesca y la acuicultura sostienen un rol crítico en la seguridad alimentaria mundial, tal como señalan los informes de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 2024). Bajo esta premisa, los subproductos derivados del pescado constituyen un potencial inexplorado para mejorar la seguridad alimentaria; sin embargo, en el contexto peruano, la generación de estos desechos orgánicos, que incluyen restos de tejidos, estructuras óseas y vísceras, representa hasta el 50% de la materia prima procesada; subproductos que, al ser dispuestos de forma negligente en el ecosistema, provocan alteraciones ambientales nocivas (Sánchez-Torres et al., 2008).

En este contexto, estos residuos pueden ser aprovechados y transformados en biofertilizantes para utilizarlos como alternativas económicamente viables enfocadas en el crecimiento de la microalga *Chlorella vulgaris*. De este modo, se van a consolidar como insumos de menor presupuesto que aportan los elementos necesarios para la producción de biomasa con inversiones más reducidas en comparación con los medios sintéticos tradicionales (Bernal et al., 2015; González-Delgado et al., 2017); de manera que, en la presente investigación, se evaluará su eficiencia específica frente al estándar analítico Guillard F/2.

El empleo de biofertilizantes derivados de restos ictiológicos constituye un aporte nutricional valioso para el desarrollo de microalgas, motivo por el cual, diversos especialistas han centrado su interés en esta línea de investigación; así, Sánchez-Torres et al. (2008), evaluaron el crecimiento de la microalga *nannochloropsis oculata* bajo siete variantes de nutrición (T1: Guillard F/2, T2: Yashima, T3-T6: variantes con distintos ensilajes hidrolizados y sin hidrolizar, y T7: harina de pescado). Encontraron que el formato de ensilaje de pescado sin hidrolizar (T6), destacó entre las pruebas, sin registrarse variaciones determinantes respecto a los niveles de rendimiento, en comparación con el medio Yashima ($1,65 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$).

Por otro lado, Zare (2018), evaluó la aplicación de un insumo orgánico generado mediante el aprovechamiento de restos de trucha arcoíris (FBRT), en el cultivo de *Tetraselmis suecica*, analizando diversos rangos de concentración entre 0,5 y 10 ml·L⁻¹, obteniendo como dosis óptima 3 ml FBRT·L⁻¹, la cual mostró un desempeño superior al de un fertilizante comercial (BAYFOLAN FORTE) y a un medio inorgánico (Yashima), alcanzando la mayor densidad celular registrada ($142,816 \times 10^4$ cel·ml⁻¹).

Asimismo, el aprovechamiento de los nutrientes presentes en los residuos orgánicos representa una alternativa eficiente para la producción de microalgas. El empleo de este biofertilizante no solo optimiza la obtención de biomasa, sino que mitiga el impacto ambiental negativo generado por la industria pesquera local. De este modo, bajo un enfoque de economía circular, se pretende aprovechar estos subproductos para contribuir a la seguridad alimentaria y la sostenibilidad ambiental, generando información base que permita mejorar la calidad de vida a través de biotecnologías de bajo costo.

Por las consideraciones expuestas, se ha ejecutado el presente trabajo de investigación cuyo objetivo general fue: determinar la influencia de un biofertilizante elaborado a partir de residuos orgánicos de pescado en la producción de biomasa de *C. vulgaris* en condiciones de laboratorio; formulándose el problema: ¿En qué medida el biofertilizante elaborado con residuos de pescado influye en la producción de biomasa de *C. vulgaris*?, siendo la hipótesis: el biofertilizante elaborado a partir de dichos residuos incrementará significativamente la producción de biomasa de la microalga en condiciones de laboratorio; hipótesis que ha sido contrastada con el Diseño Experimental de Estímulo Creciente.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. ANTECEDENTES

2.1.1. Uso de biofertilizante a partir de residuos de pescado.

Sánchez-Torres et al. (2008) evaluaron el desempeño de siete medios de cultivo en la producción de *Nannochloropsis oculata*, entre los que se incluyeron formulaciones tradicionales (Guillard F/2 y Yashima), tratamientos basados en ensilados de pescado en distintas condiciones (hidrolizado

s y no hidrolizados), combinaciones de ensilado no hidrolizado con medio Yashima, y harina de pescado como fuente nutritiva. Los resultados indicaron que el medio formulado con ensilado de pescado no hidrolizado presentó el mejor rendimiento, sin diferencias estadísticas significativas en la productividad respecto al medio Yashima, el cual alcanzó un valor de $1,65 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$. De igual forma, la capacidad productiva calculada mensualmente para dicha prueba alcanzó los $41,5 \text{ g} \cdot \text{mes}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$.

Complementando esta línea, Zare (2018) analizó la eficacia de un nutriente orgánico formulado a partir de descartes de trucha arcoíris (FBRT) para el cultivo de *Tetraselmis suecica*. Se ensayaron concentraciones entre $0,5$ y $10 \text{ mL FBRT} \cdot \text{L}^{-1}$, estableciendo que la dosificación ideal fue de $3 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$. Por el contrario, niveles por encima de $5 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$ generaron efectos adversos en el cultivo. Al contrastar esta densidad con un fertilizante de uso comercial (BAYFOLAN FORTE) y el medio Yashima, el FBRT obtuvo el máximo crecimiento celular ($142,816 \times 10^4 \text{ cel} \cdot \text{mL}^{-1}$), superando a los registros de Yashima ($65,95 \times 10^4 \text{ cel} \cdot \text{mL}^{-1}$) y de BAYFOLAN FORTE ($35,63 \times 10^4 \text{ cel} \cdot \text{mL}^{-1}$).

Asimismo, Shanthi, Premalata et al. (2021) emplearon derivados de la pesca bajo la modalidad de hidrolizado proteico (FPH), el cual sirvió como suministro de nitrógeno orgánico en sustitución del nitrato de sodio para la propagación de *Arthrospira platensis* (espirulina). En su investigación, testearon niveles de $0,1$ a 1

% (v/v), identificando que la tasa de 0,5 % favoreció el incremento de la biomasa seca, el rendimiento biológico, la síntesis de proteínas y la concentración de ficocianina en 34 %, 39 %, 15 % y 98 %, respectivamente, en contraste con el grupo control (medio Zarrouk). Estos hallazgos evidenciaron que los descartes pesqueros representan una opción viable de nitrógeno de origen orgánico para optimizar el cultivo de espirulina.

Por su parte, Abdulsamad y Varghese (2017) estudiaron los efectos del ensilado de pescado en el crecimiento de *Scenedesmus sp.* MB 23, así como la concentración de proteínas, carbohidratos y lípidos. La evidencia obtenida indicó que el nivel del 12% favoreció significativamente la tasa de crecimiento y el rendimiento biológico de *Scenedesmus sp.*, alcanzando una densidad celular ($2433,89 \times 10^4$ células·mL⁻¹), cantidad de clorofila-a ($2,766 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), tasa de crecimiento específica ($0,48 \text{ d}^{-1}$) y biomasa ($2,73 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$). Sin embargo, a una concentración del 9% del ensilado de pescado obtuvieron una mayor producción de proteínas ($123,87 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$), carbohidratos ($44,904 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$) y lípidos ($84,21 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$).

Finalmente, Vidya et al. (2021) analizaron el incremento poblacional, el rendimiento biológico y los metabolitos de *Haematococcus pluvialis*, *Chroococcus sp.*, *Dunaliella sp.*, *Chlorella sp.* y *Coelastrella saipanensis* cultivadas en aguas residuales lácteas y desechos de pescado usados como nutrientes. El cultivo suplementado con 50% de desechos lácteos incrementó significativamente el crecimiento, la biomasa, los carbohidratos y la cantidad de proteínas en *Chroococcus sp.*, *H. pluvialis*, *Chlorella sp.* y *C. saipanensis*, mientras que *Dunaliella sp.* mostró un crecimiento máximo con el 10%. Asimismo, el uso de desechos de pescado al 50% favoreció el crecimiento de *Chroococcus sp.*, *Chlorella sp.*, *C. saipanensis*, y al 25% en *H. pluvialis* y *Dunaliella sp.* mejorando la acumulación de bioconstituyentes.

La disponibilidad de nitrógeno en formas orgánicas simples, como aminoácidos libres y péptidos de cadena corta provenientes de hidrolizados, optimiza el balance energético celular frente a los nitratos convencionales. A nivel celular, dichas fracciones pre-digeridas ingresan directamente a las rutas metabólicas internas, evitando la ruta de reducción consecutiva de nitrato a amonio y reduciendo el consumo de ATP y NADPH. Este menor requerimiento de energía mitiga el estrés

en la microalga, agilizando la asimilación de carbono para canalizarlo hacia la síntesis de componentes estructurales y biomasa (Muñoz-Valencia et al., 2021).

2.1.2. Nutrientes inorgánicos, mixtos y aguas residuales.

González-Delgado et al. (2017) evaluaron el comportamiento mixotrófico de *C. vulgaris* modificando las concentraciones de nitrato de sodio, fosfato de potasio, acetato de sodio y carbonato de amonio. El planteamiento buscaba cuantificar tanto la acumulación de biomasa como la síntesis de proteínas bajo estas variables nutricionales. Mediante herramientas de estadística multivariada, se determinó que el uso de acetato estimuló un rendimiento de biomasa marcadamente mayor ($3,72 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ frente al obtenido con carbonato ($2,17 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$), identificando además un impacto directo por parte del nitrato y el fosfato en el proceso. En cuanto al contenido proteico, este alcanzó el 60% en el medio con acetato y se redujo al 34% al emplear carbonato, compartiendo en ambos escenarios una base de 2.94 mM de nitrato.

En una perspectiva de biorremediación, Khalatbari et al. (2024) investigaron la tecnología basada en microalgas para la reutilización de las aguas residuales del procesamiento del pescado (ARPP) y la recuperación de sus nutrientes para aprovecharlos en el cultivo de microalgas, para ello evaluaron el efecto de la filtración de las ARPP en el crecimiento de *Chlorella sorokiniana* y *Selenastrum sp.* en cultivo discontinuo, para ambas especies, la cantidad de biomasa y los niveles de eliminación de nutrientes fueron mayores en ARPP sin filtrar que en ARPP filtrado, asimismo, el desarrollo de *C. sorokiniana* fue superior que el de *Selenastrum sp.*, y posteriormente la *C. sorokiniana* se cultivó en modo semicontinuo, logrando un crecimiento más estable y una optimizada captación de elementos nutricionales en efluentes sin filtrar.

De igual manera, Benavides y Muelas (2023) estudiaron el desarrollo de biomasa microalgal de *C. vulgaris* empleando sustratos nutritivos de costo reducido. Inicialmente, la microalga fue adaptada al medio BG11, alcanzando una densidad de $1,26 \times 10^7 \text{ cel}\cdot\text{mL}^{-1}$, mientras que en el medio alternativo se obtuvieron $6,6 \times 10^6 \text{ cel}\cdot\text{mL}^{-1}$. Luego, se analizaron diversas proporciones de nitrógeno y fósforo (N:P de 10:1, 15:1 y 20:1), utilizando el estándar BG11 como testigo; los resultados arrojaron rendimientos de biomasa de 0,23 y 0,32 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, destacando la relación 20:1

como la mayor efectividad. En plena fase exponencial, dicha proporción también concentró el porcentaje de proteína más alto ($53,9 \pm 1,43\%$), superando de manera escalonada a las variantes de 15:1 y 10:1.

El paso hacia rutas metabólicas complejas obliga a *Chlorella* a reorganizar su proteoma celular. El cultivo bajo condiciones mixotróficas como ocurre al emplear hidrolizados exige que la célula combine con fluidez la fotofosforilación con la oxidación de compuestos externos (Pérez-García et al. 2011). Al fijar CO₂ y carbono orgánico en paralelo, la microalga atenúa los efectos de la fotorrespiración, logrando así una productividad que sobrepasa los límites de los esquemas puramente autótrofos (Richmond y Hu, 2013).

Wang, B., Wang, J. et al. (2018) observaron que la exposición a medios con una elevada carga orgánica extiende la fase de latencia antes de que inicie la citocinesis masiva en la población microalgal. A lo largo de esta etapa de acomodación, el flujo energético celular se redirige de forma prioritaria a inducir una hipertrofia temporal y al acopio de pigmentos, carbohidratos y proteínas estructurales. Semejante ajuste metabólico interno busca estructurar un bloque sólido de reservas energéticas y maquinaria enzimática, elementos indispensables para soportar las aceleradas tasas de división celular características de la posterior fase exponencial.

2.2. BASES TEÓRICO CIENTÍFICAS

2.2.1. Biofertilizante a partir de residuos de pescado

a) Subproductos orgánicos de la industria pesquera

El procesamiento inicial de la actividad pesquera y acuícola genera material residual, el cual se clasifica en: 1) coproductos, referidos a aquellos de grado alimentario y 2) subproductos, que por sus condiciones no resultan aptos para la ingesta humana (Aspevik et al., 2017). Por lo general, las categorías de residuos y desechos se emplean de manera indistinta para referirse a estos insumos (Ahuja et al., 2020), y cuando los derivados de los recursos hidrobiológicos (RHs) no se aprovechan en bienes con valor añadido, se catalogan como desperdicios (Irianto et al., 2014).

- **Subproductos sólidos**

Los derivados de la industria de conservas varían según la especie procesada; por ejemplo, en ejemplares como caballa, atún o sardina, es habitual la generación de restos de vísceras, tejido cefálico, estructuras óseas y aletas (Irianto et al., 2014). Según Arvanitoyannis y Kassaveti (2008), a partir de una tonelada de materia prima fresca o bajo congelación, se obtienen cerca de 250 kg de restos de cabeza y vísceras, sumado a un rango de 100 a 150 kg de espinazo. En el caso del pescado azul, el proceso de fileteado de 1000 kg de insumo genera entre 400 y 450 kg de material residual.

A modo de ilustración, en la Figura 1 se detallan los derivados de la actividad pesquera vinculados a modelos de economía circular (Florez-Mancilla et al., 2021). De igual manera, la Figura 2 ilustra los descartes provenientes del proceso de fileteado de la merluza, especificando sus proporciones de acuerdo con los informes técnico-biológicos de las especies de mayor interés comercial en el Perú, bajo los registros del ITP-IMARPE (1995).

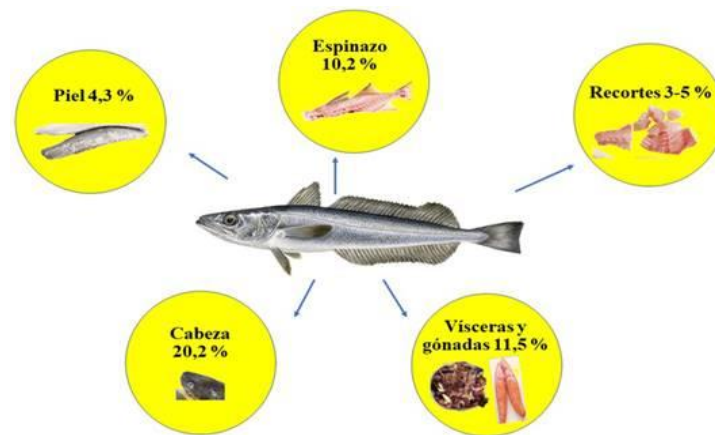
Figura 1

Derivados de la actividad pesquera y acuícola en modelos de economía circular



Figura 2

Materiales residuales obtenidos tras el procesamiento de la merluza



b) Elaboración de biofertilizantes mediante bioprocesos

El aprovechamiento de residuos pesqueros para la elaboración de biofertilizantes se fundamenta en el uso de bioprocesos que integran consorcios microbianos con alta capacidad metabólica, permitiendo la conversión eficiente de la materia orgánica en soluciones ricas en nutrientes (Dao y Kim, 2011). Bajo este enfoque de economía circular, los derivados del procesamiento de recursos hidrobiológicos se transforman en materia prima para la formulación de fertilizantes líquidos y sólidos, así como enmiendas tipo compost y digestatos, empleando diversas rutas biotecnológicas (Ahuja et al., 2020). Estas formulaciones líquidas de base ictiológica se caracterizan por una liberación gradual de macro y micronutrientes, cualidad que optimiza su aprovechamiento mediante aplicaciones foliares (Madende y Hayes, 2020).

La eficiencia de estos biofertilizantes radica en la naturaleza de su nitrógeno. Muñoz-Valencia et al. (2021) sostienen que la disponibilidad de nitrógeno en formas orgánicas simples como péptidos y aminoácidos libres presentes en el hidrolizado de pescado, reduce el costo energético de transporte y asimilación intracelular en comparación con los nitratos inorgánicos convencionales. Además, aminoácidos específicos abundantes en estos subproductos marinos (como la glicina y el glutamato) actúan como precursores directos en la ruta del 5-aminolevulinato, potenciando la síntesis acelerada de porfirinas y complejos clorofílicos en el cloroplasto (Shanthi, Ramasubburayan et al., 2021). En la Tabla 1 se detallan las

principales metodologías biotecnológicas ejecutadas sobre subproductos pesqueros.

Tabla 1

Metodologías biotecnológicas aplicadas en descartes y vertidos de la pesca para producir abonos de origen orgánico

Materia prima y actividad pesquera	Bioproceso	Descripción del método utilizado	Compuestos y sustancias de interés en los RP	Referencia
Efluentes provenientes del procesamiento de caballa	Biodegradación	Emplearon un biorreactor de 3/L operado por un ciclo de 74/h, con regulación de pH (6-8) y flujo de oxígeno para asegurar que el OD no descendiera de 1/ mg/L.	Aminoácidos y péptidos como bioestimulantes.	(Jung y Kim, 2016)
Residuos de pescado de los mercados	Fermentación	El material residual se combinó con melaza y agua; tras un periodo fermentativo de 10 días se obtuvo el BFL, alcanzando su estabilidad a las dos semanas posteriores.	N: 1%, P: 0,39% , K: 0,37%, C orgánico: 56,31%, Zn: 5,66 mg/kg, Mn: 2,81 mg/kg, Fe: 50,51 mg/kg y Cu: 0,61 mg/kg.	(Aranganathan y Radhika, 2016)
Residuos de pescado de los mercados	Fermentación	Se realizó una mezcla de 1kg de descartes con 1,5 kg de panela en polvo y 5 L de agua desionizada. El proceso de fermentación se extendió por 15 días a una temperatura constante de 25°C.	Lactobacillus sp. 1,38x10 ⁴ ufc/ml, aminoácidos totales 4,34 g/100g , N: 1,49%, P: 0,52%, K: 0,48%, Ca: 0,4%, Mg: 0,28% y ceniza: 5,83%.	(Thendral y Geetha, 2019)
Residuos de tilapia	Fermentación	Elaboración del BFL con fermentación <i>Bakasang</i> por 14 días.	El BFL presentó N: 0,052%, P: 0,063%, K: 0,505 mg/l, Mg: 4,38 mg/l, Ca: 13,54 mg/L, Fe: 0,064 mg/L, Cu: 0,01 mg/L0 Mn: 0,015 mg/L y Zn: 0,01 m/L de Zn.	(Tiwow et al., 2020)
Residuos del procesamiento de sardina	Fermentación	Combinación de restos de sardina (50%), (37,5%), melaza (12,5%), y <i>S. cerevisiae</i> , (1%), tiempo de fermentación fue 15 días.	N: 1,5%, P: 65,55 mg/100 g y K: 1,64%.	(Lakhal et al., 2020)

- **Fermentación**

La fermentación de residuos hidrobiológicos depende del tipo de microorganismo inoculado, la composición del sustrato, la fuente de carbohidratos, así como de la temperatura y el tiempo del proceso (Ahuja et al., 2020). Pueden emplearse microorganismos aeróbicos, anaeróbicos o facultativos, incluyendo bacterias, levaduras y hongos (Venugopal, 2021). En particular, las bacterias ácido-lácticas y levaduras son ampliamente utilizadas debido a su capacidad para desarrollarse en condiciones de bajo oxígeno, inhibir patógenos y reducir olores desagradables, sin afectar el valor nutricional del producto final (Florez-Jalixto et al., 2020; Lakhal et al., 2017).

La fermentación ácido-láctica constituye un método eficaz para estabilizar el ensilado de pescado, preservando sus nutrientes durante el almacenamiento mediante la acción de bacterias del género *Lactobacillus*, que generan un ambiente ácido favorable para la bioconservación (Córdova et al., 1990; Fagbenro y Bello-Olusoji, 1997). Estos ensilados se elaboran principalmente a partir de especies de bajo valor comercial o residuos de la industria pesquera, empleando fuentes de carbohidratos como melaza, glucosa o sacarosa para estimular la actividad microbiana (Vidotti et al., 2003)

Diversas cepas ácido-lácticas presentan la capacidad de degradar aminas biógenas mediante amino-oxidasas, reduciendo compuestos indeseables. No obstante, tiempos prolongados de almacenamiento o exposición a la luz solar pueden afectar la calidad del ensilado, favoreciendo la oxidación lipídica (Kompiang, 1981; FAO, 2003).

En comparación con los ensilados químicos, los ensilados biológicos presentan valores de pH superiores a 4,1, lo que facilita su uso directo en alimentación animal sin necesidad de neutralización previa, a diferencia de los ensilados químicos, cuyo pH suele ser cercano a 3 (Viana, 1993; Cira et al., 2002).

c) Ensilado de pescado

El ensilado de pescado es la preservación de los residuos de pescado a través de la adición de ácidos o fermentación microbiana, dando como resultado un producto

almacenable que no necesita refrigeración por períodos prolongados, Este método se da mediante la descomposición de las proteínas del pescado, generando una mezcla invariable y homogénea de aminoácidos, importante en la nutrición animal.

Toppe et al., (2018) define al ensilado de pescado como subproductos provenientes del pescado picado o entero picado no destinado para consumo humano, y la adición de un conservante para estabilizar la mezcla; en cambio Raeesi et al., (2023) menciona que el ensilado de pescado es un producto líquido que se elabora de pescado entero o partes del mismo, al que se han añadido ácidos, agentes microbianos o biocatalizadores para lograr una licuefacción mediante la actividad proteolítica propia de los tejidos del espécimen.

- **Tipos de ensilado de pescado:**

Según Luján (2024), menciona que existen tres tipos de ensilado de pescado:

Ensilado ácido: se consigue a través de la incorporación de sustancias ácidas que disminuyen el nivel de pH, limitando así la proliferación de microorganismos.

Ensilado biológico: se basa en la fermentación natural mediante bacterias productoras de ácido láctico, lo que requiere un control cuidadoso de las condiciones para optimizar el proceso.

Ensilado enzimático: utiliza enzimas proteolíticas para acelerar la degradación proteica y puede combinarse con métodos ácidos o biológicos, obteniendo productos altamente nutritivos.

- **Pasos para producir ensilado**

Para producir ensilado de pescado, Luján (2024) hace mención los pasos siguientes:

Recolección de residuos de pescado: se inicia con la recolección de subproductos pesqueros como vísceras, cabezas, piel y espinas, los cuales provienen principalmente de plantas procesadoras donde se generan grandes volúmenes de residuos.

Molido del pescado: los residuos recolectados se trituran hasta obtener partículas pequeñas, lo que permite una fermentación más homogénea y evita retrasos en el proceso causados por fragmentos de mayor tamaño.

Adición de ácidos o agentes fermentadores: Según el tipo de ensilado, se incorporan ácidos orgánicos o bacterias fermentadoras al material molido; en el ensilado ácido se emplea comúnmente ácido fórmico para reducir el pH, mientras que en el ensilado biológico se adicionan bacterias ácido-lácticas que inician un proceso fermentativo gradual.

Mezcla y almacenamiento: el material se mezcla cuidadosamente para asegurar una distribución uniforme de los aditivos y luego se deposita en recipientes herméticos, evitando la entrada de oxígeno que podría afectar el proceso fermentativo.

Fermentación y conservación: la fermentación se desarrolla durante un periodo de días o semanas, dependiendo del método utilizado, durante el cual las proteínas se degradan en aminoácidos y péptidos, generando un producto líquido rico en nutrientes.

Producto final: al finalizar el proceso, el ensilado de pescado se encuentra listo para su uso y puede almacenarse durante varios meses a temperatura ambiente o por un periodo mayor bajo refrigeración.

d) Aplicaciones

Florez – Jalixto et al. (2020), recomiendan algunas aplicaciones de los fertilizantes orgánicos (FO) de la industria pesquera, para hidroponía, riego tecnificado, fertilización del agua de los estanques acuícolas de tierra para la producción primaria (fitoplancton), y además como una solución frente a los medios convencionales utilizados en la obtención de biomasa de rotíferos y microalgas.

2.2.2. Las microalgas

Estos microorganismos se distribuyen en diversos ecosistemas acuáticos, abarcando desde entornos oceánicos hasta cuerpos de agua continental. A día de hoy, se ha documentado un catálogo taxonómico que supera las 25,000

variedades, las cuales capturan el dióxido de carbono ambiental como recurso de carbono para sus procesos fotosintéticos. Como detallan Barsanti y Gualtieri (2014), la maquinaria molecular de estos microorganismos posee una alta plasticidad para modular sus complejos antena y optimizar la captura fotónica en función de la disponibilidad de nutrientes en el medio. Dichos microorganismos destacan por sus cortos tiempos de generación en entornos favorables. Por otra parte, poseen la capacidad de desarrollarse mediante tres variantes metabólicas principales: autótrofa, heterótrofa y mixótrofa (Acién Fernández et al., 2018).

Bajo un régimen autótrofo, las microalgas fijan CO₂ como fuente de carbono y aprovechan la luz solar como vector energético, ya sea en sistemas abiertos o en fotobiorreactores. Este proceso demanda un aporte riguroso de macroelementos y trazas de metales esenciales, los cuales actúan a modo de cofactores enzimáticos dentro de los fotosistemas (Barsanti y Gualtieri, 2014). Por el contrario, la vía heterótrofa utiliza carbono orgánico (tales como glucosa o glicerol) para sostener su metabolismo. En el caso de las estirpes mixotróficas, se observa un comportamiento secuencial: abren el ciclo con una fase heterótrofa ante la abundancia de materia orgánica y migran hacia la ruta autótrofa conforme disminuye dicho sustrato y se activa la fotosíntesis (López, 2022).

Acién Fernández et al. (2012) comprobaron que el aumento de la densidad celular en reactores cerrados con alta carga de nutrientes desencadena un proceso crítico de atenuación lumínica mutua o autosombreado. A medida que la población se densifica, el estrato celular externo retiene la mayor parte del flujo fotónico incidente, levantando un bloqueo óptico que restringe el paso de la luz hacia las zonas profundas del bioreactor. Semejante gradiente de iluminación deprime la eficiencia fotosintética de las células confinadas en las regiones oscuras; esto induce una pronta saturación y estabiliza el rendimiento de la biomasa gravimétrica, aun cuando los recuentos celulares continúen mostrando un comportamiento asintótico.

En consonancia con tales dinámicas de consumo, Klausmeier et al. (2004) determinaron mediante modelamiento matemático que la estequiometría de nutrientes en el fitoplancton dista de ser un factor fijo, fluctuando más bien según el estado de desarrollo del cultivo. Bajo esta línea, en las etapas de aclimatación y

división celular acelerada, las microalgas reorientan sus recursos moleculares hacia la síntesis de proteínas estructurales y ARN. Al establecer un entorno con un balance estequiométrico óptimo próximo a una relación N:P de 20:1, las tasas de duplicación se elevan y la estabilidad poblacional se prolonga antes de entrar en la fase de declive, previniendo el colapso prematuro del sistema.

Más allá de las rutas metabólicas, estos microorganismos exhiben una notable plasticidad fenotípica adaptativa. Lüring (2021) señala que las modificaciones en la morfología celular y la propensión a agruparse en el género *Chlorella* pueden responder a la complejidad fisicoquímica de los componentes orgánicos del medio. Desde la óptica de la ingeniería de bioprocesos, dicha respuesta de agregación resulta altamente ventajosa en cultivos suplementados con hidrolizados de pescado; en estos entornos, los péptidos y polímeros orgánicos actúan como agentes floculantes naturales que deprimen el potencial Zeta de la suspensión celular. Esto promueve la autofloculación, facilitando la cosecha y recortando drásticamente el gasto energético asociado a la recuperación de biomasa (Khalatbari et al., 2024).

- **Importancia de las microalgas**

El rol de los bosques en la captura de carbono y la regulación del clima global es un hecho ampliamente reconocido; sin embargo, suele pasarse por alto que cerca del 70% de la superficie terrestre corresponde a ecosistemas acuáticos, escenarios que albergan comunidades biológicas cruciales para la estabilidad de la biosfera. En este ámbito, los océanos y masas de agua continentales alojan a las microalgas, cuya participación suele quedar en segundo plano debido a su naturaleza microscópica y menor visibilidad frente a la vegetación terrestre (Buch, 2020).

Estos microorganismos, que guardan claras diferencias con las macroalgas, se encuentran ampliamente distribuidos en hábitats marinos y continentales, donde operan como productores primarios clave. Mediante la fotosíntesis, capturan el flujo fotónico para transformar compuestos inorgánicos como el anhídrido carbónico, el agua y las sales minerales en metabolitos primarios de alto valor, además de sintetizar diversas fracciones carbonadas esenciales para su persistencia biológica. Apoyadas en sus elevadas tasas de renovación y eficiencia metabólica, las

microalgas sostienen gran parte de las redes tróficas acuáticas y aportan cerca del 50% de la producción primaria a escala global (López, 2022).

Ritchie (2006) planteó ecuaciones empíricas de base espectrofotométrica destinadas a cuantificar simultáneamente las clorofilas a, b, c y carotenoides totales en microalgas utilizando solventes orgánicos (tales como metanol, acetona y etanol). El trabajo demostró que la selección de longitudes de onda específicas según los picos de absorbancia mitiga el solapamiento óptico y las distorsiones causadas por la dispersión lumínica de las células. Dicho enfoque metodológico se transformó en un estándar para los bioprocesos microalgales, proveyendo una herramienta analítica matemática confiable para evaluar el estado fisiológico y la biogénesis del aparato fotosintético frente a diferentes regímenes nutricionales.

Por otro lado, validar los métodos indirectos de cuantificación, como la densidad óptica (DO), resulta indispensable al trabajar con matrices complejas. En este sentido, Oliveira et al. (2020) comprobaron la factibilidad de trazar una correlación lineal óptima entre la absorbancia y el conteo celular directo en cultivos que emplean efluentes pesqueros, condicionado siempre al uso de un blanco espectrofotométrico adecuado. Este nivel de rigor metodológico coincide con las observaciones de Ruangsomboon (2012) y López-Parra (2011), quienes defienden que dicha correlación constituye el único recurso para constatar con objetividad que las variaciones cinéticas obedecen a una división celular real y no a las interferencias físicas provocadas por los componentes en suspensión dentro del sustrato.

2.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BASICOS

Biofertilizantes a base de residuo de pescado:

“El biofertilizante de pescado, conocido como hidrolizado de pescado, resulta de la descomposición controlada de proteínas de pescado, dando lugar a péptidos y aminoácidos de tamaño reducido, generalmente entre 2 y 20 unidades. Este proceso se realiza mediante acciones químicas o enzimáticas en condiciones precisamente controladas” (Jara-Gallozo y Zacarías Polinario, 2024).

Microalgas:

“Organismos microscópicos unicelulares, capaces de convertir la energía solar en energía química por medio de la fotosíntesis. Contienen numerosos compuestos bioactivos que pueden ser aprovechados para uso comercial” (Oscanoa et al., 2020).

C. vulgaris:

C. vulgaris es un alga verde unicelular de agua dulce; las células se presentan aisladas, aunque eventualmente pueden formar agregados; tiene forma esférica y un tamaño que oscila entre 2 y 6 μm . Cada célula posee un pirenoide y un cloroplasto parietal único en forma de copa, con abertura irregular, que ocupa gran parte del volumen celular (Silva-Benavides et al., 2008)

III. MATERIALES Y MÉTODOS

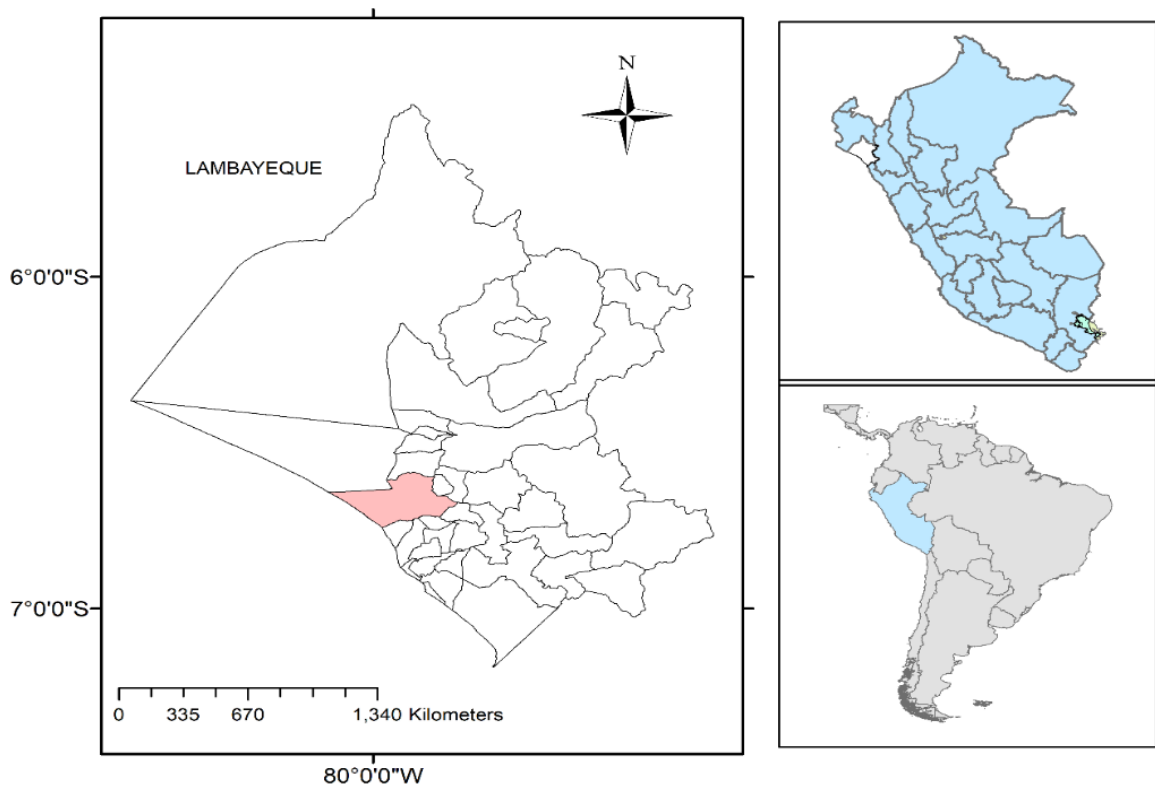
3.1. LUGAR Y PERIODO DE EJECUCIÓN

3.1.1. Ubicación geográfica de la zona de estudio

La fase práctica de esta investigación se desarrolló en las instalaciones de la Unidad de Planctología del Laboratorio de Biología Pesquera de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, ubicada en el distrito Lambayeque, provincia Lambayeque y departamento Lambayeque – Perú, con ubicación geográfica a 6°42'26" latitud Sur y 79°54'29" longitud Oeste (Figura 3)

Figura 3

Ubicación geográfica del área de estudio y del laboratorio de experimentación en el departamento de Lambayeque, Perú



3.2. TIPO Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

3.2.1. Tipo de investigación

De acuerdo al fin que persigue: aplicada, porque se aplicó el conocimiento del uso de los biofertilizantes en la calidad de sustrato nutritivo para el desarrollo de biomasa de *C. vulgaris*.

De acuerdo al enfoque: cuantitativa – explicativa – experimental, debido a que se va a manipular la variable independiente (biofertilizante) suplementado con nitrato y fosfato. Además, se va a controlar todos los parámetros físicos y químicos del cultivo.

3.2.2. Diseño de investigación

Con la finalidad de ejecutar el estudio, se implementó el Diseño Experimental de Estímulo Creciente con un Testigo (Guillard f), tres Tratamientos (biofertilizante suplementado con tres relaciones de N:P) y tres repeticiones de cada uno, distribuyendo las unidades experimentales en un modelo Completamente al Azar (DCA), sumando un total de 12 unidades experimentales (biorreactores de 1L cada uno), tal como se describe en la Tabla 2 y Figura 4.

Tabla 2

Configuración de grupos y unidades de prueba destinados al crecimiento de *C. vulgaris*

Tratamiento	Descripción del Medio de Cultivo	Relación N:P	Repeticiones	Total Unidades
T0 (Control)	Medio sintético Guillard f	24:1	3	3
T1	Biofertilizante de pescado suplementado	10:1	3	3
T2	Biofertilizante de pescado suplementado	15:1	3	3
T3	Biofertilizante de pescado suplementado	20:1	3	3

Nota. El régimen T0 sirve como testigo positivo (Guillard y Ryther, 1962). La formulación de los grupos T1, T2 y T3 toma como referencia la proporción estequiométrica de N:P propuesta por Redfield (1958).

Figura 4

Configuración del sistema de cultivo experimental



3.2.3. Flujograma de elaboración de biofertilizante y cultivo de *C. vulgaris*

A continuación, se presenta el flujograma del procedimiento (Figura 5):

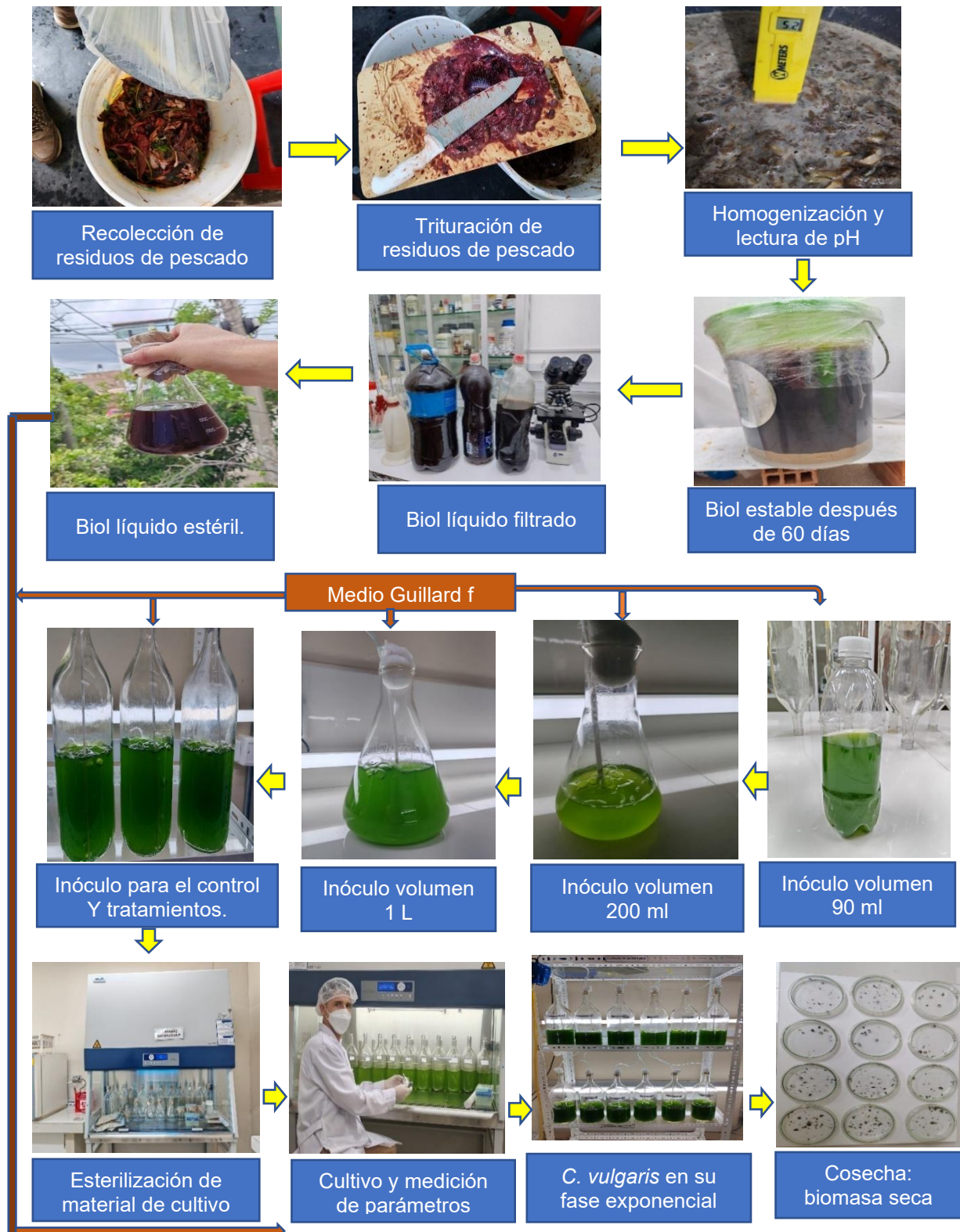
3.3. POBLACIÓN, MUESTRA Y MUESTREO

La población de *C. vulgaris* estuvo constituida por un cultivo microalgal de 3 litros del Laboratorio de Pesquería de la Facultad de Ciencias Biológicas. La muestra estuvo constituida por 2.4 litros de inóculo con una concentración de $8,5 \times 10^6$ cel·mL⁻¹ de *C. vulgaris*, la cual fue distribuida en las 12 unidades experimentales de un litro, en una densidad inicial de $1,7 \times 10^6$ cel·mL⁻¹ y a las cuales se les aplicó los tratamientos establecidos en el diseño experimental.

Para el proceso de muestreo se realizó la recolección de volúmenes de 4 mL, tomados de forma cotidiana de cada biorreactor durante un periodo de 13 días. Estas muestras sirvieron para efectuar tanto la cuantificación de células mediante cámara de Neubauer como para el registro de la absorbancia a través de espectrofotometría. Adicionalmente, se tomó una muestra única de 5 mL al finalizar la fase exponencial para la determinación de pigmentos (clorofila a y b).

Figura 5

Flujograma de elaboración de biofertilizante y producción de *C. vulgaris*



3.4. MÉTODOS Y TÉCNICAS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

3.4.1. Obtención y caracterización del biofertilizante

a) Proceso de elaboración del biofertilizante: Para la obtención del biofertilizante orgánico, la materia prima compuesta por 6 kg de residuos de pescado (vísceras) provenientes del mercado de abastos de Lambayeque, previamente recolectada, fue sometida a una reducción de tamaño mediante trituración mecánica para incrementar el área superficial de contacto. Posteriormente, la biomasa se inoculó con 50 mL de microorganismos eficaces (EM) y 1 kg de melaza como fuente de carbono, iniciando un proceso de fermentación anaerobia en biodigestores.

El sistema se mantuvo en una fase de estabilización y maduración durante un periodo de 60 días (Figura 6). Durante esta fase de producción, se llevaron a cabo evaluaciones fisicoquímicas al inicio del periodo fermentativo y, posteriormente, cada 72 horas con el objetivo de analizar la progresión del sistema (biodigestor), garantizando la adecuada mineralización de los nutrientes y la estabilidad fisicoquímica del biol. Finalmente, el producto fue clarificado mediante filtrado y sometido a un proceso de esterilización para asegurar la inocuidad del medio previo a su aplicación en el cultivo de *C. vulgaris*.

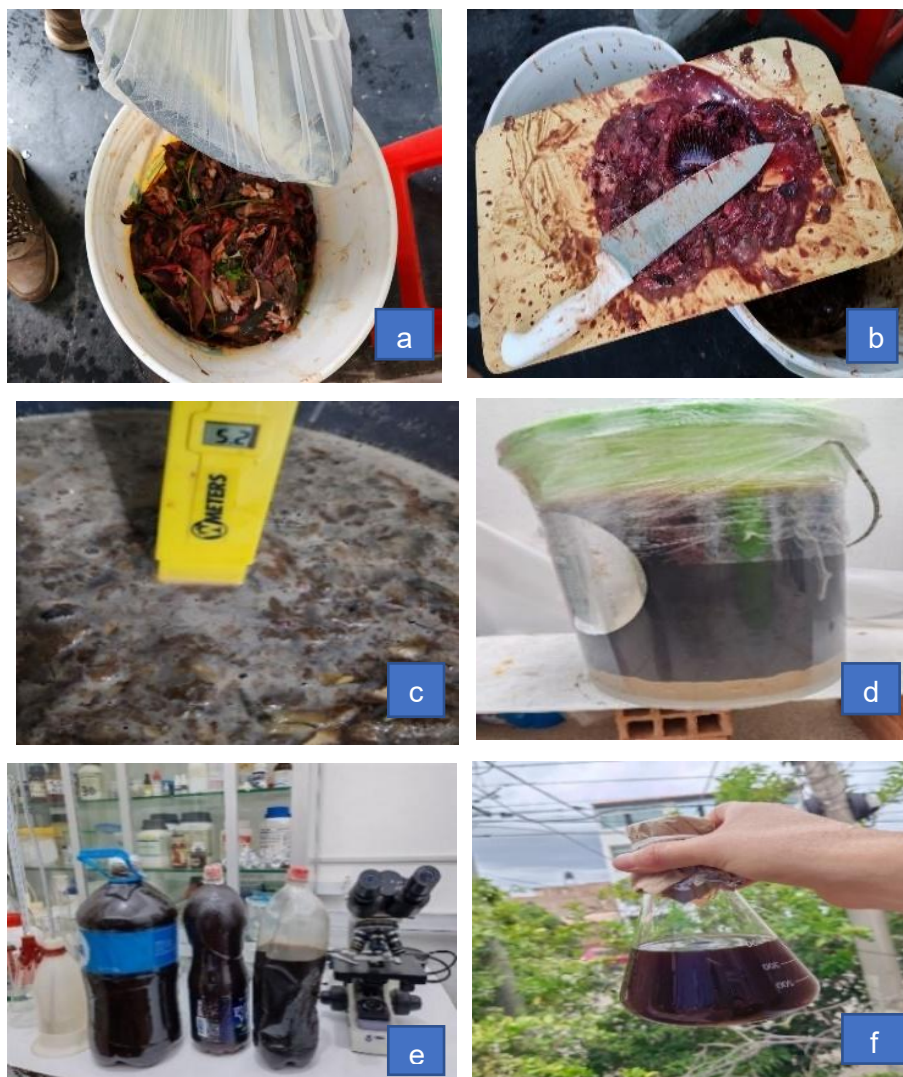
b) Técnica del análisis del biofertilizante

Análisis organoléptico: Se evaluaron las propiedades sensoriales del producto final, verificando la presencia de un olor suave característico a pescado, sin evidencia de procesos de putrefacción o aromas fétidos, lo cual indica una estabilización adecuada de la materia orgánica.

Análisis fisicoquímico del biofertilizante: La caracterización química del biofertilizante orgánico se llevó a cabo en el Laboratorio Agrícola CYSAC E.I.R.L. (Lambayeque, Perú). El análisis comprendió la determinación de Nitrógeno total (N) y Fósforo (P_2O_5), Calcio (Ca) y Magnesio (Mg). Asimismo, se determinaron parámetros fisicoquímicos clave como el pH y la Conductividad Eléctrica (CE). Los certificados de análisis correspondientes, que avalan la composición nutricional del biol, se adjuntan en el Anexo 8."

Figura 6

Etapas del proceso de obtención y maduración del biofertilizante



Nota. Secuencia cronológica del proceso de elaboración del biofertilizante: a) Acopio de materia prima orgánica. b) Trituración mecánica de los residuos. c) Monitoreo de parámetros fisicoquímicos (pH). d) Fase de fermentación anaerobia y estabilización (60 días). e) Clarificación mediante filtrado. f) Biofertilizante esterilizado listo para la inoculación.

Análisis microbiológico: Con la finalidad de garantizar la inocuidad biológica del biofertilizante y asegurar que el proceso de maduración anaerobia fue efectivo, se realizó un análisis microbiológico en el Laboratorio de microbiología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNPRG, empleando la metodología estandarizada para abonos orgánicos (The Compost Foundation, 2002). El análisis incluyó la determinación de Coliformes totales y termotolerantes, *Escherichia coli*, *Salmonella sp.*, *Clostridium* sulfitos reductores, así como el recuento de Mohos, Levaduras y Bacterias Ácido-Lácticas (BAL). El informe detallado se adjunta en el Anexo 9.

3.4.2. Preparación del medio de cultivo base (Guillard f)

Antes del escalamiento y la suplementación, se preparó el medio estándar Guillard f. La composición específica de las soluciones stock y las concentraciones finales empleadas se detallan en la Tabla 3.

Tabla 3

Composición medio Guillard f

Componente		Solución stock (g·L⁻¹)	ml.L⁻¹ Medio de cultivo
1	NaNO ₃	75,0	2,0 mL
2	NaH ₂ PO ₄ ·H ₂ O	5,0	2,0 mL
3	F/2 Solución de metales		2,0 mL
4	F/2 Solución de Vitamina		2,0 mL
5	Tris	250,0 g·L ⁻¹ +147,5 ml	2,0 mL
Preparación soluciones metales traza		Solución stock	Cantidad a usar
1	FeCl ₃ ·6H ₂ O	3,5	1,0 mL
2	Na ₂ SiO ₃ ·9H ₂ O	4,36	1,0 mL
3	CuSO ₄ ·5H ₂ O	9,8	1,0 mL
4	Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	6,3	1,0 mL
5	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	22,0	1,0 mL
6	CoCl ₂ ·6H ₂ O	10,0	1,0 mL
7	MnCl ₂ ·4H ₂ O	180,0	1,0 mL
Solución de vitaminas		Solución stock	Cantidad a usar
1	Cianocobalamina (B12)	1,0	1,0 mL
2	Biotina	0,1	1,0 mL
3	Tiamina HCl	0,2	

Nota. Composición del medio f adaptada de Guillard y Ryther (1962).

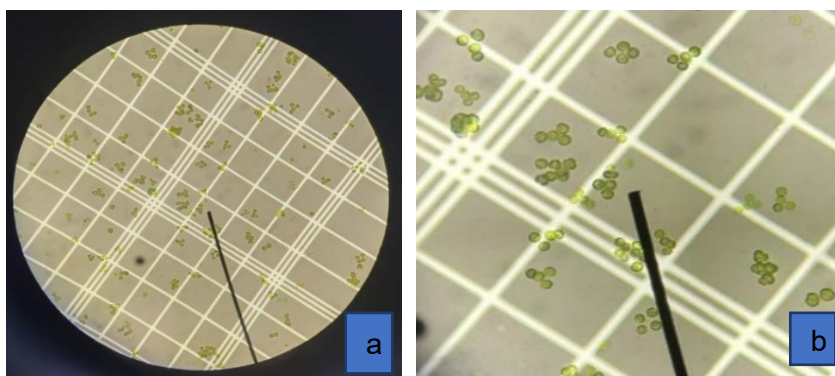
El tratamiento térmico de los sustratos nutritivos se efectuó en autoclave, manteniendo condiciones de 121 °C por un lapso de 20 min.

3.4.3. Mantenimiento, adaptación y escalonamiento de la cepa.

- a) **Verificación de la pureza:** La cepa de *C. vulgaris* utilizada en el estudio fue suministrada por la UNPRG (Sede Lambayeque). Se adquirió 90 mL de inóculo, distribuidos en dos tubos Falcon de 50 mL. Previamente al cultivo, se realizó una observación microscópica mediante la toma de volúmenes de 20 μL de cada tubo, la cual se analizó en un equipo de microscopía de luz (Nikon ECLIPSE E200) con el propósito de verificar las características morfológicas y la pigmentación celular.

Figura 7

Evaluación microscópica y verificación de pureza celular de C. vulgaris en cámara de Neubauer



Nota. Células viables observadas previo al proceso de inoculación en los fotobiorreactores. (a) Vista general de la biomasa en cámara de Neubauer (100x); (b) Acercamiento (400x) donde se observa la morfología esferoidal y la integridad de los cloroplastos, confirmando la ausencia de protozoarios.

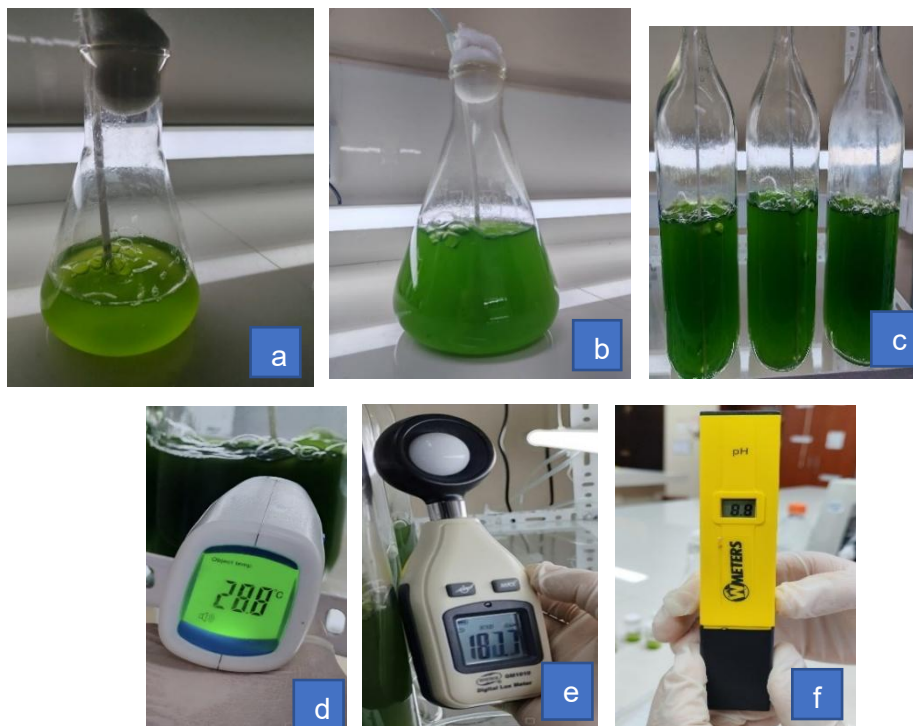
- b) **Adaptación y escalonamiento:** La inoculación inicial se realizó en un matraz Erlenmeyer de 200 mL con medio Guillard f (Figura 8a). Posteriormente, se escaló a un volumen de 1 L (Figura 8b), hasta alcanzar finalmente un volumen total de 3 L de cultivo (Figura 8c). Este volumen final se utilizó como inóculo estandarizado para el control y los tratamientos del diseño experimental, asegurando una concentración celular inicial de aproximadamente $1,7 \times 10^6 \text{ cel} \cdot \text{mL}^{-1}$ en cada unidad experimental.

Durante este proceso, la cepa se mantuvo bajo condiciones controladas de aireación continua (1 vvm) y fotoperiodo de 12 h luz / 12 h oscuridad a 2880 lux, condiciones corroboradas con luxometría (Figura 8d). La medición de los parámetros fisicoquímicos se realizó diariamente, manteniendo la temperatura en

28 $\pm$ 3 °C y el pH dentro de un rango de 8,0 a 9,0, para estos registros se emplearon un termómetro digital y un pHmetro marca WMETRS (Figura 8e y 8f).

Figura 8

Escalonamiento y monitoreo de parámetros físicoquímicos en el cultivo de *C. vulgaris*



Nota. Secuencia del proceso experimental: a) Inóculo inicial en fase de adaptación; (b) Escalamiento intermedio de biomasa; (c) Volumen final de inóculo estandarizado (3 L) para el diseño experimental; (d) Registro de la temperatura de cultivo (28,8 °C); (e) Verificación de la intensidad lumínica (2880 lux); (f) Monitoreo del pH (8,8) con equipo WMETRS.

3.4.4. Diseño experimental y técnica de suplementación

El ensayo se condujo utilizando 12 unidades experimentales consistentes en fotobiorreactores (FBR) de columna de burbujeo fabricados en vidrio, con una capacidad nominal de 2 L y un volumen de operación de 1 L. El protocolo de montaje inició con la esterilización integral del material de vidrio y componentes mediante calor seco (Figura 9a y 9b). Posteriormente, el material fue trasladado a una cabina de flujo laminar, previamente acondicionada con alcohol al 70% y radiación ultravioleta (UV) durante 20 minutos, para asegurar la asepsia del área de trabajo (Figura 9c).

Bajo estas condiciones de asepsia, se procedió con la preparación de los medios y la técnica de suplementación (Figura 9d). El biofertilizante orgánico fue dosificado y complementado con nitrógeno y fósforo para establecer las

relaciones estequiométricas de 10:1, 15:1 y 20:1 (N:P), fundamentadas en los criterios de optimización nutricional de Redfield (1958). Como grupo control, se empleó el medio estándar Guillard f (preparado a doble dosis de f/2), el cual posee una relación estequiométrica de 24:1 (N:P), sirviendo como el referente comparativo para evaluar la eficiencia de la fuente orgánica.

Una vez estabilizados los medios, se realizó la inoculación definitiva de las cepas (Figura 9e y 9f), utilizando biomasa previamente estandarizada hasta alcanzar una densidad celular inicial de $1,7 \times 10^6 \text{ cel} \cdot \text{mL}^{-1}$. Finalmente, los sistemas se instalaron en el estante de cultivo bajo condiciones controladas de luz y aireación constante (Figura 9g), asegurando un espacio de cabeza (headspace) óptimo para la transferencia de masa gaseosa durante el periodo experimental.

Figura 9

Secuencia de esterilización, montaje e inoculación del diseño experimental





Nota. Fases del montaje en el laboratorio: (a) y (b) Esterilización de los fotobiorreactores y materiales mediante calor seco; (c) Esterilización del área de trabajo con luz UV; (d) Preparación de medios de cultivo y suplementación; (e) y (f) Proceso de inoculación aséptica de las 12 unidades experimentales; (g) Fotobiorreactores instalados con sistema de iluminación y aireación continua.

3.4.5. Método de producción de biomasa de *C. vulgaris*

a) Determinación de la densidad celular y densidad óptica de *C. vulgaris*.

El crecimiento celular en los cultivos líquidos fue monitoreado mediante conteo directo utilizando una cámara de Neubauer (Profundidad 0.1mm). Para ello, se extrajeron 1 mL de cada tratamiento, previa homogeneización del cultivo, del cual se tomó una alícuota de 20 μL para su análisis microscópico (Figura 10a y 10b). La concentración celular se expresó en $\text{cel}\cdot\text{mL}^{-1}$ de acuerdo con la ecuación 1 propuesta por Ma'mun et al. (2022).

$$\text{EC. 1 Concentración (cel/ml)} = \left(\frac{\text{número de células} \times \text{inverso de la dilución}}{\text{área} \times \text{profundidad} \times \text{volumen}} \right) \times \left(\frac{\text{mm}^3}{0.001\text{ml}} \right)$$

Por otro lado, el seguimiento de la densidad óptica se efectuó mediante lecturas de absorbancia a 680 nm, utilizando un espectrofotómetro Thermo Scientific™ Orion™ AquaMate 8100. A fin de neutralizar las interferencias ópticas provocadas por la turbidez del biol, el ajuste a cero (blanco) se realizó empleando medio Guillard puro para el control y las respectivas diluciones de biol en cada tratamiento; de este modo, se garantizó que los valores registrados respondieran únicamente al incremento real de la biomasa microalgal (Figura 10c y 10d). Los cultivos mantuvieron esta dinámica a lo largo de unos 13 días.

Figura 10

Protocolo de seguimiento del cultivo de *C. vulgaris*



Nota. Metodología de monitoreo de los parámetros de crecimiento: (a) Fase de registro de datos y recuento directo de la población microalgal; (b) Fotomicrografía donde se observa la densidad celular (c) Procedimiento de preparación de muestras y llenado de celdas para espectrofotometría; (d) Lectura de Densidad Óptica (DO) a 680 nm, previa calibración del equipo con el blanco correspondiente (Medio Guillard o Biol) para la corrección de turbidez.

b) Evaluación de los parámetros ambientales del cultivo de *C. vulgaris*

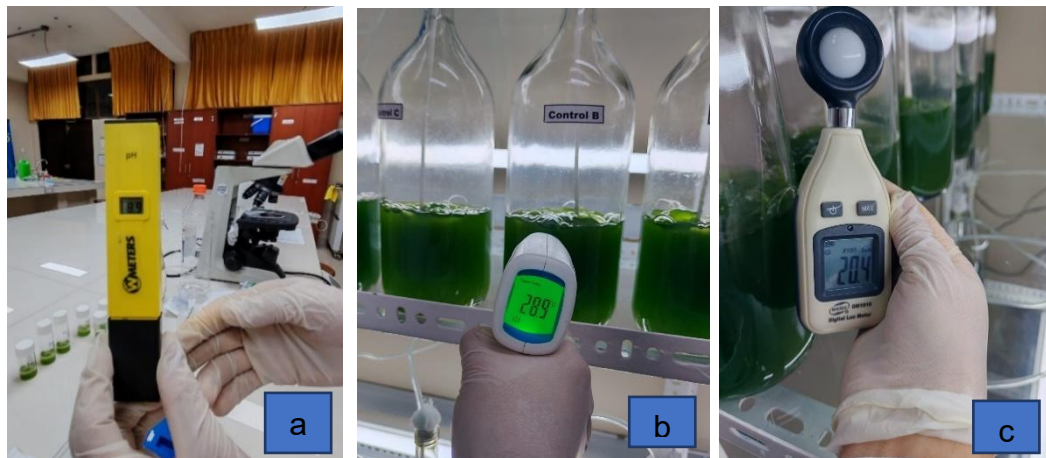
Se registraron diariamente el pH y la temperatura de los tratamientos y el control, haciendo uso de un pH-metro digital marca WMETRS (rango de pH: 0.0 – 14.0), el cual se calibró periódicamente con soluciones buffer estándar (Figura 11a y 11b).

La aireación se mantuvo de forma continua mediante bombas de aire tipo acuario (SOBO Aquarium SB-648A), distribuida a cada fotobiorreactor a través de mangueras de silicona de grado alimentario, proporcionando un caudal aproximado de $500 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$.

La iluminación permaneció constante y se suministró mediante dos lámparas fluorescentes de luz blanca de 40 W, ubicadas a una distancia de 10 cm de los cultivos microalgales. La lectura de la intensidad luminosa se realizó con un luxómetro marca BENETECH, modelo GM1010 (Figura 11c).

Figura 11

Monitoreo diario de parámetros fisicoquímicos en los sistemas de cultivo de *C. vulgaris*



Nota. Registro de condiciones operacionales del diseño experimental: (a) Medición de pH mediante equipo digital; (b) Registro de temperatura en los fotobiorreactores; (c) Determinación de la intensidad lumínica con luxómetro digital.

c) Determinación de pigmentos (Clorofila a y b)

Al finalizar la fase exponencial máxima, se realizó una cuantificación de pigmentos para evaluar la eficiencia metabólica de los tratamientos. Para ello, se extrajeron una alícuota de 5 mL de cada unidad experimental, la cual fue centrifugada a 4000 rpm por 10 minutos (Figura 12a y 12b). El pellet resultante fue resuspendido en acetona al 90 % y mantenido en condiciones de oscuridad y refrigeración por 24 h para asegurar la extracción total de los pigmentos (Figura 12c).

Después de este periodo, las alícuotas se centrifugaron nuevamente para clarificar el extracto (Figura 12d). Posteriormente, se realizaron las lecturas de absorbancia en un espectrofotómetro a 664 nm (pico de clorofila a) y 647 nm (pico de clorofila b) (Figura 12e y 12f). Asimismo, se efectuó una lectura a 750 nm para la corrección de la turbidez del extracto. Para la calibración del equipo (blanco), se utilizó acetona al 90 % pura. La concentración final de pigmentos ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) se calculó mediante las ecuaciones de Ritchie (2006) para clorofitas:

$$\begin{aligned}\text{Chl}_a &= 11.85 \cdot [A_{664} - A_{750}] - 1.54 \cdot [A_{647} - A_{750}] \\ \text{Chl}_b &= 21.03 \cdot [A_{647} - A_{750}] - 5.43 \cdot [A_{664} - A_{750}]\end{aligned}$$

Figura 12

Procedimiento experimental para cuantificación de pigmentos en *C. vulgaris*



Nota. Protocolo analítico de extracción de clorofila (a) y (b) Obtención del pellet celular mediante centrifugación (4000 rpm); (c) Resuspensión y extracción de pigmentos en acetona al 90% (d) Fase operativa de centrifugación de las alícuotas de 5 mL; (e) Lectura de Absorbancia (Abs) a 664 y 647 nm; (f) Cubetas (celdas) con extracto de clorofila.

d) Cosecha y determinación de biomasa seca

La obtención de la biomasa microalgal se realizó con una centrífuga Orto Alresa, modelo Unicen 21, operando a 4000 rpm durante 10 minutos para asegurar la sedimentación completa de las células (Figura 13a). El material recuperado se sometió a un proceso de secado en estufa a 60 °C por un periodo de 24 horas, seguido de un choque térmico final a 100 °C durante 10 minutos para garantizar la eliminación total de la humedad intersticial (Figura 13b y 13c).

La cuantificación de la biomasa neta se llevó a cabo en una balanza analítica previamente calibrada, restando el peso de la placa vacía al peso de la placa con biomasa seca (Figura 13d y 13e). Este procedimiento fue realizado por duplicado para las 12 unidades experimentales (Figura 13f), permitiendo calcular la concentración final (X_f) expresada en gramos por litro ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) para cada tratamiento.

Figura 13

Procedimiento para la determinación de biomasa seca de C. vulgaris



Nota. Protocolo analítico para la cuantificación de peso seco (a) Centrifugación para la concentración de biomasa; (b) y (c) Proceso de deshidratación en estufa; (d) Pesaje de placa base; (e) Pesaje de biomasa seca final; (f) Placas con muestras representativas de los tratamientos.

e) Productividad volumétrica.

La productividad volumétrica de biomasa (r_x) se expresó a través del rendimiento de biomasa anhidra generado por cada unidad de espacio y tiempo ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$), calculada mediante la relación adaptada de Arredondo-Vega y Voltolina (2007):

$$r_x = \frac{X_f}{t} \quad \text{EC. 2}$$

Donde:

X_f : es la concentración de biomasa seca final (g/L) obtenida al momento de la cosecha.

t : es el tiempo total del periodo de cultivo (días).

Se optó por esta relación considerando que el inóculo inicial fue estandarizado para todos los tratamientos, lo que permite una comparación directa y equitativa de la

eficiencia de acumulación de biomasa entre los mismos bajo el efecto del biofertilizante.

f) Cálculos cinéticos y Modelamiento de Gompertz

Para describir la ontogenia de *C. vulgaris* y determinar la plasticidad adaptativa de la cepa frente a los diferentes tratamientos, se aplicó el modelo matemático de Gompertz modificado (Zwietering et al., 1990). Esta función sigmoideal permite ajustar los datos de crecimiento para obtener parámetros cinéticos críticos mediante la siguiente expresión:

$$N=N_0+C*\exp(-\exp(-B*(t-M))) \quad \text{EC.3}$$

Donde las constantes de ajuste se definen como:

N: Densidad celular o biomasa estimada en un tiempo t.

N₀: Densidad celular inicial al inicio del ensayo.

C: Constante de asíntota que representa el crecimiento máximo alcanzado sobre el valor inicial.

B: Tasa relativa de crecimiento (día⁻¹), que define la velocidad de transición hacia la fase exponencial.

M: Tiempo del punto de inflexión, que corresponde al momento de máxima velocidad de división celular.

A partir de estas constantes de ajuste (B, C y M), se determinaron los parámetros biológicos derivados mediante las siguientes ecuaciones:

Tasa de crecimiento específica (μ , día⁻¹): Representa la velocidad de división celular en el punto de inflexión.

$$\mu = \frac{B.C}{e} \quad \text{EC. 4}$$

Fase de latencia (λ o LPD): Tiempo de adaptación celular antes del inicio de la fase logarítmica.

$$\lambda = M - \frac{1}{B} \quad \text{EC.5}$$

Tiempo de generación (T_g): Tiempo requerido para que la población celular se duplique.

$$T_g = \frac{\text{Log}(2) \cdot e}{B \cdot C} \quad \text{EC.6}$$

Número de generaciones (n): Calculado como la relación entre la duración de la fase de crecimiento (DFF) y el tiempo de generación (T_g)

$$n = \frac{DFF}{T_g} \quad \text{EC.7}$$

Adicionalmente, se determinó el **máximo crecimiento potencial (MDP)**: Capacidad de carga máxima del sistema, obtenida mediante la suma de la densidad inicial y la asíntota de crecimiento

$$MDP = N_0 + C \quad \text{EC.8}$$

3.5. PROCEDIMIENTOS Y ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN

3.5.1. Recolección de datos

La recolección de la información se realizó de forma sistemática durante los 13 días de experimentación. Se registraron cronológicamente los datos correspondientes a la densidad celular, densidad óptica (DO), concentración de pigmentos (clorofila a y b) y los parámetros fisicoquímicos del cultivo, siguiendo estrictamente los protocolos y ecuaciones de control detallados en los apartados anteriores.

Al concluir el periodo de cultivo, se determinó la biomasa seca mediante el método gravimétrico previamente descrito. Los valores de concentración final (X_f) resultantes se utilizaron como insumo operativo para determinar la productividad volumétrica diaria (r_x) y evaluar los rendimientos finales de cada tratamiento. Todas las mediciones se realizaron por triplicado para asegurar la representatividad estadística y minimizar el error experimental.

3.5.2. Análisis estadístico y procesamiento de datos

Para establecer la validez de los resultados, los datos se sometieron a pruebas de normalidad y homocedasticidad. Se aplicó un Análisis de Varianza (ANOVA) de un factor (Ostle, 1994; Sokal y Rohlf, 1979) para determinar diferencias significativas entre los tratamientos. El procesamiento y modelado de la información se realizó mediante el uso integrado de las siguientes herramientas tales como Minitab (para el ANOVA); Statistica 8.2 (para el modelamiento del crecimiento mediante la ecuación de Gompertz (EC.2)) y GraphPad Prism (para el análisis cinético y la generación de la representación gráfica de alta resolución).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. CARACTERIZACIÓN QUÍMICA Y MICROBIOLOGICA DEL BIOL

La caracterización química del biol determinó un perfil nutricional óptimo para la suplementación de cultivos microalgales, registrando concentraciones de nitrógeno total (N) de 1.38 %, fósforo total (P_2O_5) de 0.86 % y potasio total (K_2O) de 1.82 %, complementados por un aporte de calcio total (CaO) de 0.86 % y magnesio total (MgO) de 0.45 %. En el ámbito fisicoquímico, la medición directa del potencial de hidrógeno (pH) reportó un valor de 3.96, mientras que la conductividad eléctrica (CE) alcanzó los $19.97 \text{ dS} \cdot \text{mL}^{-1}$. La caracterización química se encuentra detallada en el Anexo 8.

En el aspecto sanitario, los ensayos microbiológicos demostraron que el producto se encuentra dentro de los rangos permitidos por los Estándares Nacionales de Calidad ambiental para Agua (D. S. N.° 002-2008-MINAN) y cumple con los criterios de inocuidad reportados por bioinsumos orgánicos (Gómez-Brandón et al., 2024; Ingram & Millner, 2007). En el detalle, se registró una carga de coliformes totales de $5,2 \times 10^2 \text{ UFC} \cdot \text{mL}^{-1}$, coliformes termotolerantes de $3,5 \times 10^1 \text{ UFC} \cdot \text{mL}^{-1}$ y *Echerichia coli* de $2 \text{ UFC} \cdot \text{mL}^{-1}$, con ausencia total de *salmonella sp.* en 25 mL y un recuento de $4,0 \times 10^1 \text{ UFC} \cdot \text{mL}^{-1}$ de *clostridium* sulfitos reductores. Los resultados cuantitativos del análisis se detallan en el Anexo 9.

4.2. DINÁMICA DEL CRECIMIENTO POBLACIONAL DE *C. vulgaris* Y SU CORRELACIÓN CON LA DENSIDAD ÓPTICA

Al iniciar el experimento, los conteos de células en todos los tratamientos mostraron una distribución normal y varianzas homogéneas ($p > 0,05$), lo que demostró que todas las unidades experimentales empezaron con densidades similares (Anexo 1).

El crecimiento poblacional diario en las tres repeticiones trabajadas para cada tratamiento, tuvieron pequeñas variaciones en el número de células (Tabla 4); sin embargo, el análisis de varianza reveló que estas diferencias entre repeticiones de

un mismo tratamiento no fueron estadísticamente significativas ($p > 0,05$) (Anexo 2). Debido a esto, se procedió a promediar las tres repeticiones de cada tratamiento para evaluar los resultados (Tabla 5), donde se apreció que el Día 1 las densidades fueron muy similares en todos los grupos. No obstante, durante los Días 2, 3 y 4, el Control (T0) mostró una superioridad frente a todas las formulaciones de biol suplementado, respectivamente. En los Días 5 y 6, el crecimiento se emparejó notablemente en todos los tratamientos. Sin embargo, los Días 7 y 8, el T0 volvió a distanciarse de manera clara, superando nuevamente a las relaciones N-P basadas en el biol; tendencia cambió a partir del Día 10, observándose que en los Días 11, 12 y 13, los tratamientos con biol lograron superar al control, siendo el T3 (N-P 20:1) el que consolidó el crecimiento más alto de la investigación, alcanzando su pico máximo en el Día 11 con $10,78 \times 10^6 \text{ cél}\cdot\text{mL}^{-1}$.

El análisis de varianza (Anexo 3) confirmó que los valores de densidad celular difirieron de forma significativa por el tipo de relación N-P utilizada ($p < 0,000$; $p < 0,05$) por los días de cultivo ($p < 0,000$; $p < 0,05$) y también por la combinación de ambos factores ($p < 0,000$; $p < 0,05$). Gráficamente (Figura 14), se corrobora que el crecimiento tiene un comportamiento oscilatorio, donde el T0 tomó el liderazgo en dos etapas tempranas (Días 2-4 y Días 7-8), pero fue ampliamente superado en la fase final del cultivo por las relaciones optimizadas de biofertilizante, especialmente por la relación N-P 20:1 (T3).

Tabla 4

Densidad celular diaria de C. vulgaris ($10^6 \text{ cel}\cdot\text{mL}^{-1}$) por tratamiento y réplica

Tiempo Días	T0 (Control)			T1			T2			T3		
	C1	C2	C3	T1A	T1B	T1AC	T2A	T2B	T2C	T3A	T3B	T3C
0	1,66	1,50	1,75	1,65	1,75	1,80	1,85	1,83	1,71	1,86	1,83	1,84
1	1,90	1,70	1,90	1,75	1,85	1,80	1,95	1,95	1,75	1,95	1,90	1,90
2	2,55	2,45	2,50	2,00	1,95	2,05	1,90	2,00	2,00	2,10	2,20	2,25
3	2,85	3,00	2,85	2,18	2,73	2,60	2,30	2,30	2,20	2,45	2,40	2,45
4	3,40	3,10	3,30	3,10	3,00	3,25	3,00	3,10	3,25	3,20	3,00	3,15
5	4,75	4,85	4,90	5,10	5,15	5,20	5,05	5,10	5,20	5,00	5,20	5,10
6	5,40	6,00	5,50	5,50	5,90	5,75	6,25	6,00	5,75	6,60	6,10	6,30
7	7,50	7,25	7,00	6,75	6,50	6,80	6,90	7,00	6,95	6,50	6,75	6,75
8	8,10	8,10	8,00	7,40	7,50	7,55	8,20	8,00	8,00	8,00	8,05	8,10
9	8,75	8,50	8,80	8,25	8,45	8,50	8,50	8,75	8,50	8,50	8,75	8,80
10	9,00	9,25	9,15	8,95	9,00	8,85	9,00	9,25	9,35	9,35	9,45	9,40
11	9,45	9,70	9,70	9,80	9,95	10,05	9,90	9,85	9,80	10,75	10,75	10,85

Tiempo Días	T0 (Control)			T1			T2			T3		
	C1	C2	C3	T1A	T1B	T1AC	T2A	T2B	T2C	T3A	T3B	T3C
12	9,30	9,40	9,50	10,00	9,75	10,00	9,75	9,50	9,50	10,10	10,25	10,10
13	9,00	9,25	9,50	9,45	9,50	9,55	9,00	9,50	9,00	9,65	9,75	9,80

Tabla 5

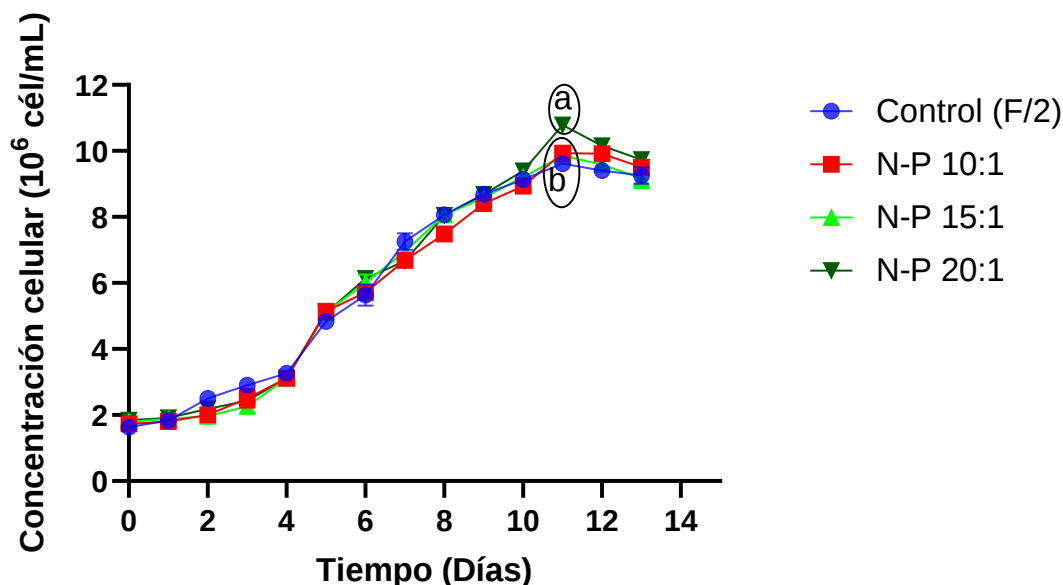
Promedios de densidad celular ($10^6 \text{ cel} \cdot \text{mL}^{-1}$) y desviación estándar de *C. vulgaris*

Días	T0 (Control)	T1	T2	T3
0	1,64	1,73	1,80	1,84
1	1,83	1,80	1,88	1,92
2	2,50	2,00	1,97	2,18
3	2,90	2,50	2,27	2,43
4	3,27	3,12	3,12	3,12
5	4,83	5,15	5,12	5,10
6	5,63	5,72	6,00	6,13
7	7,25	6,68	6,95	6,67
8	8,07	7,48	8,07	8,05
9	8,68	8,40	8,58	8,68
10	9,13	8,93	9,20	9,40
11	9,62	9,93	9,85	10,78
12	9,40	9,92	9,58	10,15
13	9,25	9,50	9,17	9,73

Con los resultados obtenidos, se confirma la hipótesis en el sentido que el biofertilizante elaborado a partir de residuos ícticos incrementará significativamente la producción de biomasa de la microalga en condiciones de laboratorio, pues se ha observado, que, al finalizar el experimento, sus densidades poblacionales superaron al control, sobre todo el Tratamiento 3 (relación N-P 20:1) que alcanzó la máxima densidad poblacional, lo cual coincide con Benavides y Muelas (2023), quienes al evaluar proporciones de nutrientes en *C. vulgaris*, determinaron que la relación 20:1 es la de mayor efectividad biológica frente a las de 15:1 y 10:1.

Figura 14

Crecimiento poblacional de *C. vulgaris* sometida a diferentes relaciones de Nitrógeno – Fósforo (N - P) utilizando biol



Nota. Los puntos representan los valores promedio de la densidad celular ($10^6 \text{ células} \cdot \text{mL}^{-1}$) y las barras verticales indican la desviación estándar ($n = 3$). Círculos (óvalos) con letras distintas en el Día 11 denotan diferencias estadísticas significativas según la prueba de comparación múltiple de Tukey ($p < 0.05$). El tratamiento N-P 20:1 (T3) se agrupó de forma aislada en el grupo superior (a), mientras que las formulaciones N-P 10:1 (T1), N-P 15:1 (T2) y el Control (T0) mostraron un comportamiento estadísticamente homogéneo (b).

El retraso inicial de los tratamientos con biol ante el control inorgánico responde a la fase de adaptación y reprogramación metabólica celular propia de medios orgánicos; según explican Perez-Garcia et al. (2011) y Richmond y Hu (2013), al consumir al mismo tiempo el carbono orgánico del biol y el CO_2 del aire, la célula aprovecha mejor la energía y no la desperdicia en procesos ineficientes como la fotorrespiración; esto permite que, una vez adaptada, el cultivo crezca mucho más rápido que si estuviera en un medio puramente inorgánico.

La viabilidad del uso de descartes de pescado como fuente nitrogenada también ha sido ratificada por Zare (2018), quien usando nutrientes a base de descartes de trucha arcoíris logró un crecimiento celular máximo ($142,82 \times 10^4 \text{ células} \cdot \text{mL}^{-1}$) que duplicó al fertilizante comercial Bayfolan y al medio inorgánico (Yashima), y por Abdulsamad y Varghese (2017), quienes obtuvieron densidades de $2433,89 \times 10^4 \text{ células} \cdot \text{mL}^{-1}$ en clorofitas tratadas con ensilados de pescado. Biológicamente, este

comportamiento se debe a que el biofertilizante aporta nitrógeno en formas orgánicas simples (como péptidos y aminoácidos libres). Al estar "pre-digeridas", la célula las absorbe directamente sin gastar la energía que normalmente requiere para procesar los nitratos químicos convencionales (Muñoz-Valencia et al., 2021). Además, el biol contiene aminoácidos específicos como la glicina y el glutamato, que sirven como materia prima directa para que la microalga fabrique su propia clorofila de manera más rápida, acelerando la fotosíntesis y la división celular (Shanthi, Ramasubburayan et al., 2021).

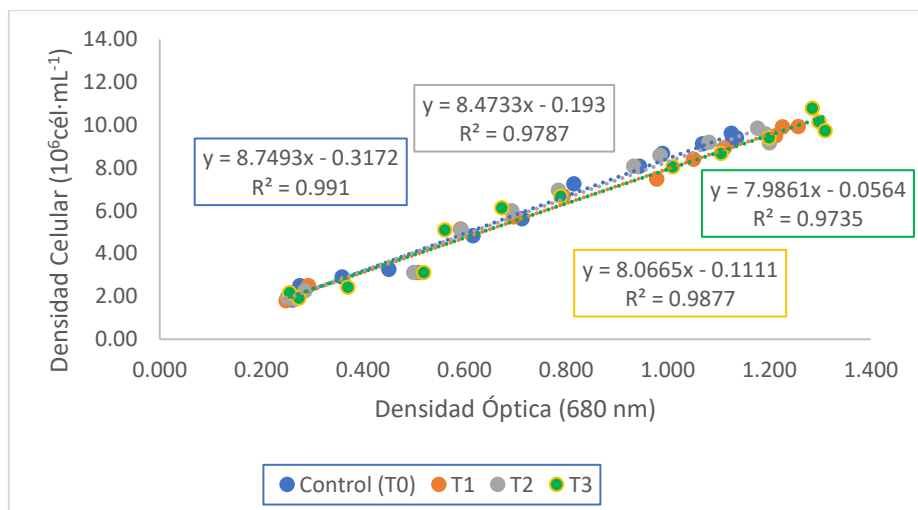
Asimismo, la ligera unión o grumos celulares que se observó en los días de mayor crecimiento con el biol se debe a una respuesta natural de *Chlorella* al estar en un medio orgánico (Lürling, 2021). Según explican Khalatbari et al. (2024), las proteínas y compuestos propios de este tipo de biofertilizantes funcionan como floculantes naturales que neutralizan las cargas eléctricas superficiales de las microalgas; esto hace que dejen de repelerse y comiencen a agruparse por sí solas, lo cual es muy ventajoso en el cultivo porque facilita que las células se asienten en el fondo, reduciendo notablemente los costos de energía al momento de cosechar la biomasa.

Con el fin de comprobar que el crecimiento de *C. vulgaris* se debió estrictamente a la multiplicación celular y no a la turbidez propia del biol o a variaciones en el tamaño de las células, se realizó un análisis de regresión lineal. Para ello, en el laboratorio se evaluó primero la densidad mediante conteo directo en cámara de Neubauer e, inmediatamente, se midió la densidad óptica a 680 nm (DO_{680}), utilizando como blanco el medio estéril de cada tratamiento para corregir interferencias por coloración residual. La correlación de ambas variables (Figura 15), reveló una asociación positiva y con alta significancia estadística ($p < 0,05$) en la totalidad de los grupos analizados. Dicha tendencia se ajustó al modelo lineal $Y = aX + b$, donde Y expresa la concentración celular recuento microscópico y X equivale a los valores de absorbancia registrados. Respecto a los coeficientes de determinación (R^2), estos mostraron un ajuste sólido en todos los escenarios, oscilando entre 0,973 y 0,991; dentro del del cual el grupo Control (T0) exhibió el valor más alto ($R^2 = 0,991$). Estos hallazgos confirman la fiabilidad de la densidad óptica para estimar la carga celular verdadera, validando que el aumento en la

absorbancia responde estrictamente a la división celular y no a la influencia de los componentes orgánicos del biofertilizante.

Figura 15

Regresión lineal entre la Densidad Óptica (680 nm) y el Conteo Celular de la microalga en los diferentes tratamientos



Este comportamiento coincide con lo reportado por Oliveira et al. (2020), quienes al cultivar *C. vulgaris* con efluentes de la industria pesquera lograron una correlación lineal óptima entre la DO y el conteo directo, demostrando que un adecuado blanco espectrofotométrico elimina la interferencia de los residuos de pescado; asimismo, respalda lo planteado por Ruangsomboon (2012) en matrices orgánicas y por López-Parra (2011), quien sostiene que este análisis verifica que la variación cinética responde a una verdadera multiplicación de la población y no a factores externos, demostrando así que *C. vulgaris* asimiló eficientemente los nutrientes del biofertilizante para aumentar su población celular.

4.3. MODELAMIENTO CINÉTICO DEL CRECIMIENTO MEDIANTE GOMPERTZ

Los parámetros del modelo matemático de Gompertz modificado, se presentan en la Tabla 6; distinguiéndose los mejores valores cinéticos para el tratamiento N-P 15:1 (T2), el cual exhibió la mayor tasa relativa de crecimiento ($B = 0,590$) y la máxima tasa de crecimiento específica ($\mu = 0,158 \text{ día}^{-1}$), seguido por el tratamiento T3 ($B = 0,483$ y $\mu = 0,134 \cdot \text{día}^{-1}$). Por su parte, la constante de asíntota o capacidad de carga (C) se mantuvo en niveles óptimos para los regímenes orgánicos, alcanzando su punto más alto en el tratamiento T1 ($C = 0,760$), seguido en orden

descendente por el T3 y T2, en comparación con el tratamiento inorgánico T0 ($C = 0,789$). La constante de correlación (R) osciló entre 0,996 y 0,998 para todas las formulaciones, lo que demuestra la excelente "bondad de ajuste" y confiabilidad del modelamiento matemático respecto a los datos reales obtenidos.

Tabla 6

Constantes y Parámetros Cinéticos del Modelo de Gompertz (μ , B , T_g , M , C , λ) en cultivo de *C. vulgaris*

Tratamientos	C (log)	B (días ⁻¹)	M (días)	R	μ (días ⁻¹)	λ (días)	n	T _g (días)	DFE (días)	MDP 10 ⁶ cél·mL ⁻¹
Control (f)	0,789	0,398	3,499	0,996	0,116	0,989	1,928	2,604	5,020	10,23
N-P 10:1	0,760	0,473	3,934	0,997	0,132	1,820	1,857	2,276	4,228	9,95
N-P 15:1	0,727	0,590	4,047	0,998	0,158	2,353	1,776	1,908	3,389	9,57
N-P 20:1	0,753	0,483	4,097	0,996	0,134	2,029	1,841	2,247	4,137	10,42

Nota: Lectura de constantes y parámetros cinéticos del modelo de Gompertz: C: Constante asíntota (capacidad de carga); B: Tasa relativa de crecimiento; M: tiempo del punto de inflexión; R²: Coeficiente de determinación; μ : Tasa de crecimiento específica; λ : Tiempo de adaptación (fase lag); n: Número de generaciones; T_g: Tiempo de generación; DFE: Duración de la fase de crecimiento; MDP: Máxima densidad poblacional experimental (día 11).

El modelamiento gráfico del crecimiento (Figura 16) evidenció claramente las fases de desarrollo de *C. vulgaris*. Al realizar el análisis comparativo, se aprecia que el tiempo de adaptación o fase de latencia (λ) fue de apenas 0,989 días para el Control (Figura 16a), mostrando un despegue casi inmediato; sin embargo, en los tratamientos nutridos con el biofertilizante suplementado con N y P, la fase lag se prolongó notoriamente, correspondiendo la mayor duración al tratamiento T2 con 2,353 días (Figura 16c), seguido de T3 con 2,029 días (Figura 16d) y T1 con 1,820 días (Figura 16b). En el plano de la aclimatación celular, dicha prolongación de la fase lag refleja el ajuste metabólico requerido para asimilar carbono orgánico. Al migrar de un entorno puramente inorgánico hacia una matriz orgánica compleja, la población detiene temporalmente la división celular activa a fin de canalizar sus recursos energéticos iniciales hacia la reconfiguración de las rutas metabólicas y la síntesis de permeasas o proteínas transportadoras específicas (Muñoz-Valencia et al., 2021; Pérez-García et al., 2011; Richmond y Hu, 2013).

Respecto a la fase exponencial, la marcada inclinación ascendente en la curva del tratamiento T2 (Figura 16c) expone visualmente una mayor velocidad de

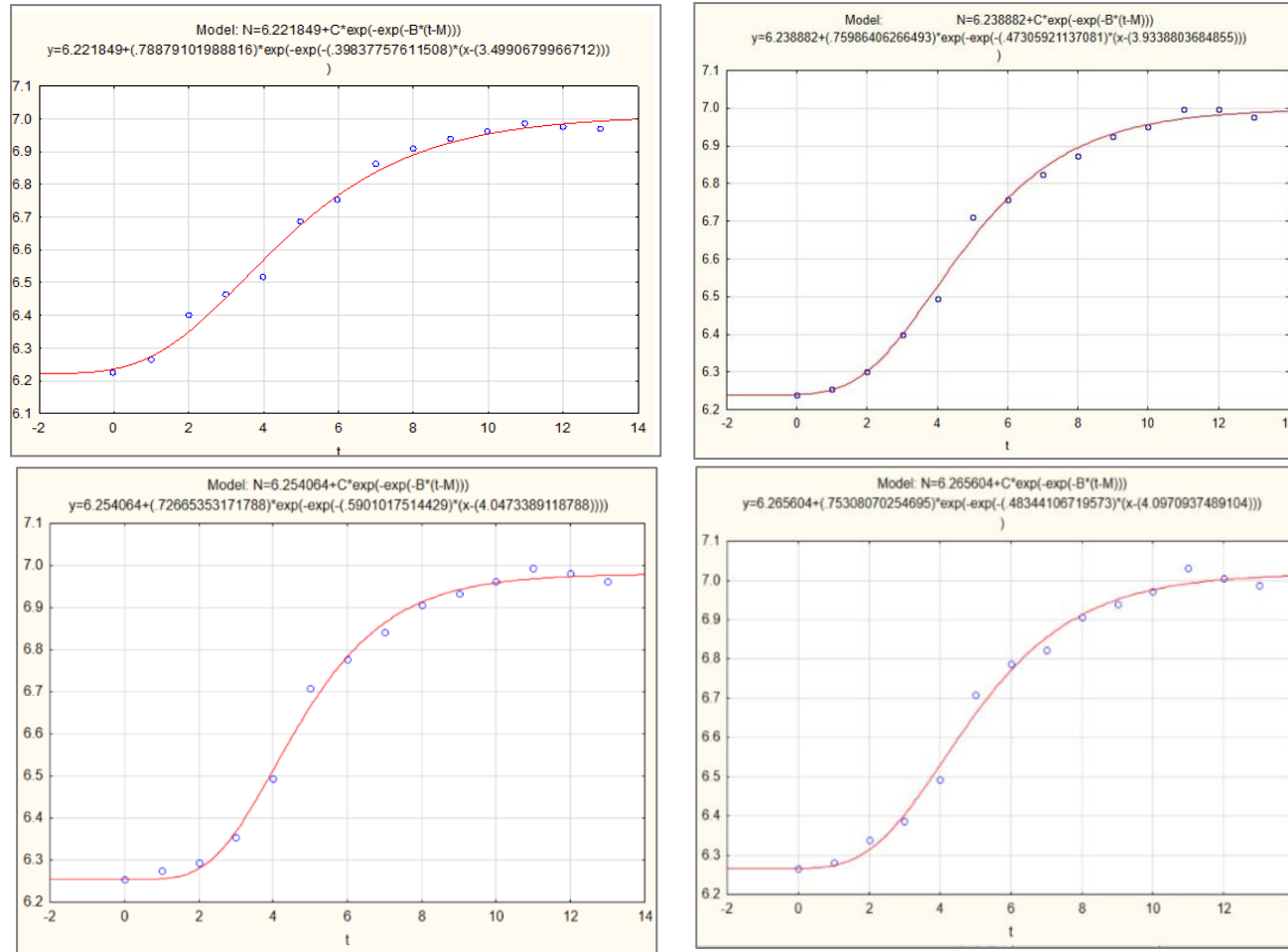
crecimiento; esta formulación acortó el tiempo de generación (T_g) a apenas 1,908 días, alcanzando la máxima tasa específica de crecimiento ($\mu = 0,158 \text{ días}^{-1}$) y logrando un total de 1,776 generaciones (n). En línea con el planteamiento de Muñoz-Valencia et al. (2021), la abundancia de nitrógeno orgánico pre-digerido disponible como compuestos nitrogenados asimilables dentro del biofertilizante aminora el desgaste energético celular que normalmente exige el transporte y la reducción de nutrientes inorgánicos tradicionales, dinamizando la canalización de carbono hacia la producción de biomasa.

Por su parte, el tratamiento T3 demoró más en registrar su velocidad máxima de crecimiento, desplazando su curva hacia la derecha hasta situar el punto de inflexión (M) a los 4,097 días (Figura 16d). Este desfase responde a que la población destinó las jornadas iniciales a adecuarse al sustrato orgánico; lejos de activar una división acelerada, las células enfocaron los recursos energéticos de partida en inducir hipertrofia celular y acumular clorofila y proteínas. Autores como Wang, B., Wang, J. et al. (2018) y Lüring (2021) explican que este comportamiento es normal en microalgas cultivadas con nutrientes orgánicos complejos, ya que la población celular prefiere prepararse internamente antes de iniciar la fase de división masiva (citocinesis).

Aparentemente, existiría una contradicción entre la mayor producción de biomasa algal señalada para el Tratamiento 3 y los parámetros cinéticos indicados por el Modelo de Gompertz que le asigna menor velocidad de crecimiento y mayor tiempo de generación, lo cual tendría su explicación en que mientras el modelo antes indicado solo analiza la fase exponencial del crecimiento, en la estimación de la biomasa se tiene en cuenta todo el proceso productivo.

Figura 16

Curvas cinéticas de crecimiento celular de *C. vulgaris* ajustadas al modelo de Gompertz



Nota: Diferentes

P 20:1 (T3). Los círculos representan los valores experimentales observados de la concentración celular (10^6 cél·mL⁻¹) y la línea continua roja corresponde al ajuste matemático estimado por el software ($R^2 \geq 0.996$)

Como resultado, la Máxima Densidad Poblacional medida al día 11 demostró que los tratamientos con el biofertilizante lograron un crecimiento muy similar al fertilizante químico convencional ($T_0 = 7,010$; $T_1 = 6,998$; $T_2 = 6,981$; $T_3 = 7.018$). Este hallazgo coincide con lo planteado por autores como Zare (2018) y Shanthi, Ramasubburayan et al. (2021), quienes advierten que usar dosis altas de fertilizantes orgánicos puede ser tóxico para las microalgas. Sin embargo, en este estudio, al balancear correctamente la relación de Nitrógeno y Fósforo (N-P) añadidos mediante el biol, se evitó que se acumularan compuestos dañinos o amoníaco libre que pudieran afectar al cultivo. Esta seguridad se confirma con los reportes de los Anexos 8 y 9, correspondientes a los análisis químicos y microbiológicos, los cuales demuestran que *C. vulgaris* pudo crecer en un ambiente limpio y absorber los nutrientes del biol paulatinamente, manteniendo el cultivo sano a largo plazo.

4.4. CONTENIDO DE CLOROFILA Y PRODUCTIVIDAD

Al concluir el periodo experimental en el día 13, se determinó la clorofila y la biomasa final para calcular la productividad volumétrica de cada tratamiento. En la Tabla 7 se detalla la concentración de clorofila a, b y clorofila total, mientras que en la Tabla 8 se muestran los valores correspondientes al rendimiento de biomasa seca y la productividad volumétrica (r_x). Asimismo, el comportamiento comparativo de estas variables se ilustra gráficamente en la Figura 17. (Las lecturas espectrofotométricas para el cálculo de clorofila y la determinación de la biomasa seca neta se encuentran detalladas en los Anexos 6 y 7).

Tabla 7

Concentración de Pigmentos: Clorofila a, b y Total ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)

Tratamiento	Clorofila-a ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	Clorofila-b ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	Clorofila Total ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)
Control (T_0)	$7,4603 \pm 4,4087$	$1,4458 \pm 1,2114$	$8,9061 \pm 5,6109$
T1	$5,7638 \pm 1,4872$	$0,6853 \pm 0,2935$	$6,4491 \pm 1,7632$
T2	$6,4672 \pm 1,4215$	$0,9320 \pm 0,2716$	$7,3993 \pm 1,6851$
T3	$9,2531 \pm 3,5882$	$1,6744 \pm 0,9665$	$10,9274 \pm 4,5473$

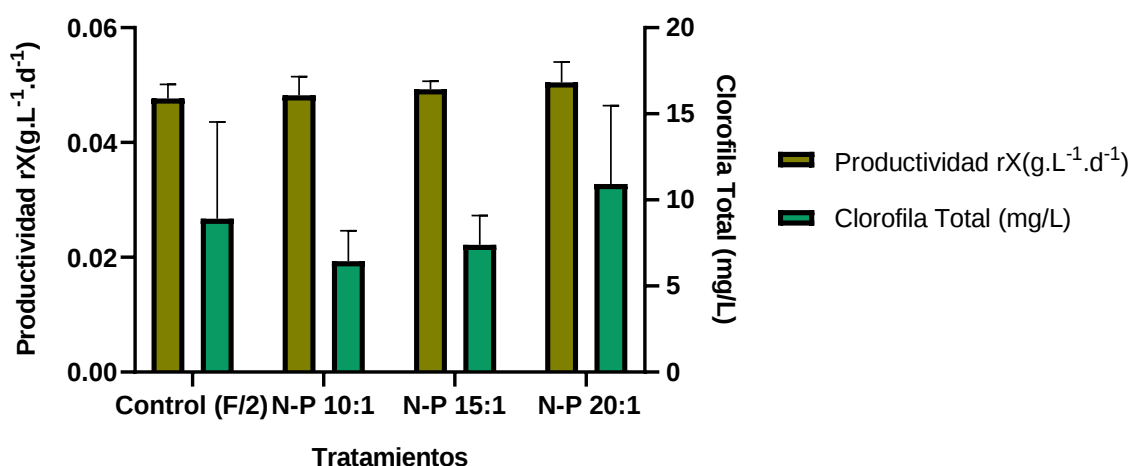
TABLA 8

Rendimiento Gravimétrico: Biomasa Final ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) y Productividad r_x ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)

Tratamiento	Biomasa Final X_f ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	Productividad r_x ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)
Control (T0)	$0,6193 \pm 0,0319$	$0.0387 \pm 0,0020$
T1	$0,6267 \pm 0,0427$	$0.0392 \pm 0,0027$
T2	$0,6407 \pm 0,0186$	$0.0400 \pm 0,0012$
T3	$0,6560 \pm 0,0461$	$0.0410 \pm 0,0029$

Figura 17

Análisis comparativo de Clorofila y Productividad Biotecnológica



Nota. Efecto de las diferentes relaciones N-P del biol sobre la productividad volumétrica r_x ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$) y la concentración de clorofila total ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) en *C. vulgaris*. Las barras representan la media $\pm$ desviación estándar ($n=3$).

El tratamiento T3 alcanzó la máxima concentración de clorofila total con $10,9274 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Este resultado, superior al control (T0), sugiere que la proporción de nitrógeno optimizada ayudó a que la microalga aproveche mejor los componentes orgánicos del biol (como el glutamato), mejorando directamente la estructura de su aparato fotosintético (Shanthi, Premalata et al., 2021). Este incremento en los pigmentos se respalda con los cálculos de las ecuaciones de Ritchie (Anexo 6). Esta alta disponibilidad de nutrientes se fundamenta en el perfil químico del biofertilizante, cuyos valores de macronutrientes se detallan en el Anexo 8.

La acumulación de pigmentos fotosintéticos bajo el régimen T3 coincide con lo observado por Abdulsamad y Varghese (2017), quienes reportaron que los biofertilizantes a base de pescado estimulan directamente la producción de clorofila en microalgas. Esta optimización en la síntesis de clorofila para *C. vulgaris* explica la biomasa final promedio alcanzada en el tratamiento T3 ($0,6560 \pm 0,0461 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) y su respectiva productividad volumétrica de $0,0410 \pm 0,0029 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$, valores que superaron al control (T0) y a los demás tratamientos (Tabla 8). Estos datos se encuentran detallados de forma minuciosa en el Anexo 7. Si bien estos resultados concuerdan con los autores citados, en relación a que el biol de pescado aporta macro y micronutrientes complejos que estimulan el crecimiento celular en clorófitas, los hallazgos de la presente investigación difieren significativamente en la estrategia de dosificación; ya que mientras ellos aplicaron porcentajes volumétricos fijos (al 9% y 12%) en cultivos de *S. quadricauda* donde el suministro de nutrientes depende estrictamente de la dilución, en esta investigación se demuestra que regular con exactitud la relación estequiométrica N:P optimiza el acoplamiento nutricional de la célula (Klausmeier et al., 2004), lo que permite asimilar los nutrientes del biol de pescado de forma gradual y segura, sosteniendo una alta productividad.

4.5. ANÁLISIS DE CORRELACIÓN

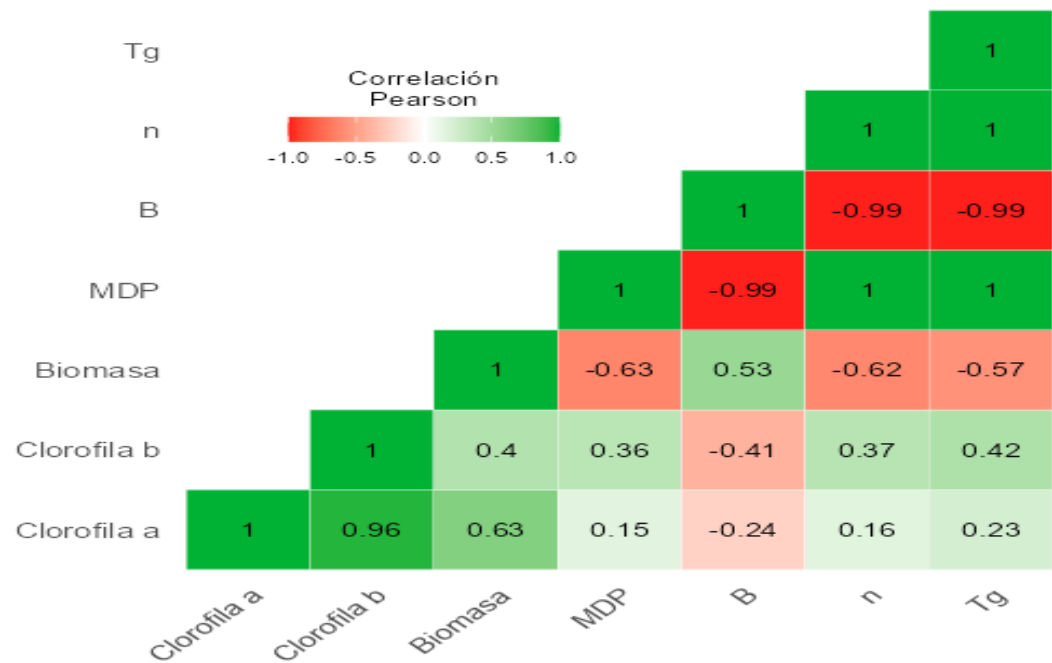
El análisis de correlación, realizado en el software Minitab, demostró que la cantidad de pigmentos, la velocidad de crecimiento según el modelo de Gompertz y el peso de la biomasa de *C. vulgaris*, están estrechamente relacionados entre sí (Figura 18). Esto comprueba que, al balancear los nutrientes del biofertilizante, no solo se acelera la división celular, sino que también se mejora la fotosíntesis y el rendimiento final del cultivo.

En cuanto a la Clorofila a, esta variable presentó una relación positiva muy fuerte con la Clorofila b ($r = 0,96$) y una relación positiva moderada con la Biomasa final ($r = 0,63$). Esto demuestra que los nutrientes del biol de pescado fueron asimilados de forma saludable por la microalga sin causarle estrés por exceso de luz, ayudando en cambio a desarrollar mejor las antenas que captan la energía lumínica en la célula. El valor de $r = 0,63$ confirma directamente que, a mayor cantidad de

clorofila, la microalga fija más carbono mediante la fotosíntesis y, por lo tanto, produce más biomasa, lo que coincide con lo reportado por Shanthi, Premalata et al. (2021) para hidrolizados pesqueros.

Figura 18

Mapa de Calor de variables cinéticas, morfométricas y fisiológicas



Nota. Coeficientes de correlación de Pearson (r) calculados para las variables analizadas en el cultivo de *C. vulgaris*. Tg: tiempo de generación, n: número de generaciones, B: tasa relativa de crecimiento, MDP: máxima densidad poblacional.

Respecto a la Biomasa, el peso seco final mostró una relación positiva con la tasa relativa de crecimiento (B, $r = 0,53$), pero tuvo una relación negativa moderada con la Máxima Densidad Poblacional (MDP, $r = -0,63$), el número de generaciones (n, $r = -0,62$) y el tiempo de generación (Tg, $r = -0,57$). Esto significa que la acumulación de peso responde bien a la velocidad inicial con la que crece el cultivo (B); sin embargo, a medida que el fotobiorreactor se llena de células (MDP) y aumentan las generaciones, el peso tiende a estabilizarse debido al autosombreado, donde las mismas microalgas se tapan la luz entre sí conforme la densidad aumenta. Dicha tendencia se alinea con las observaciones de Ación et al. (2012), quienes sostienen

que la rápida densificación celular dentro de sistemas cerrados levanta un bloqueo óptico que frena la penetración de la luz; este fenómeno disminuye el rendimiento fotosintético a nivel individual de las células, lo que termina por estancar el acopio neto de biomasa gravimétrica.

Finalmente, se detectó una correlación inversa perfecta entre la tasa relativa de crecimiento (B) y el Tiempo de generación (T_g , $r = -0,99$) y el Número de generaciones (n , $r = -0,99$). Por otro lado, la MDP tuvo una relación positiva perfecta con el número de generaciones (n , $r = 1,00$) y el Tiempo de generación (T_g , $r = 1,00$). Este comportamiento demuestra que el modelo matemático de Gompertz modificado calza de forma exacta en la presente investigación. Estos resultados nos indican que cuando se usa una dosis equilibrada, como la relación estequiométrica N-P 20:1 (T3), las células se dividen mucho más rápido y duplican su población en menos tiempo (T_g). Además, se confirma que una liberación gradual y segura de los nutrientes del biol permite que el cultivo se mantenga estable por más tiempo, logre dar más generaciones totales y alcance densidades finales muy altas sin que el cultivo colapse prematuramente (Klausmeier et al., 2004; Wang, L. et al., 2018).

V. CONCLUSIONES

1. El biofertilizante elaborado a partir de residuos de pescado influye positivamente en el crecimiento poblacional y la acumulación de biomasa de *C. vulgaris*, siendo mejor en el balance nutricional de la relación óptima N-P 20:1.
2. La producción de clorofila total y la productividad de *C. vulgaris* fue influenciada positivamente por el biofertilizante, presentándose mejor en la relación N-P 20:1.
3. La cantidad de clorofila, la velocidad del crecimiento y la biomasa de *C. vulgaris*, guardaron una estrecha correlación.
4. La caracterización fisicoquímica del biofertilizante obtenido a partir de residuos de pescado demostró que posee una alta concentración de macronutrientes y raciones nitrogenadas orgánicas pre-digeridas, compuestos que actúan como inductores metabólicos para el crecimiento de *C. vulgaris*.
5. El biofertilizante optimizado en relación N-P 20:1 superó al medio convencional Guillard f, tanto en el rendimiento gravimétrico de biomasa seca como en la concentración final de clorofila.

VI. RECOMENDACIÓN

1. Experimentar el cultivo de *C. vulgaris* utilizando el biofertilizante de residuos de pescado utilizando relaciones estequiométricas de N-P superiores a 20:1.
2. Desarrollar investigaciones complementarias que determinen el perfil analítico detallado de los aminoácidos del biol de pescado y evalúen su efecto directo sobre la estimulación y rendimiento de los pigmentos fotosintéticos.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acién Fernández, F. G., Fernández Sevilla, J. M., & Molina Grima, E. (2012). Photobioreactors for the production of microalgae. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 11(2), 133-151. <https://doi.org/10.1007/s11157-012-9273-2>
- Acién Fernández, F. G., Fernández-Sevilla, J. M., y Molina Grima. E. (2018). Contribución de las microalgas al desarrollo de la bioeconomía. *Mediterráneo Económico*, 31, 309-332.
- Ahuja, I., Dauksas, E., Remme, J. F., Richardsen, R., & Loes, A. K. (2020). Fish and fish waste-based fertilizers in organic farming - With status in Norway: A review. *Waste Management*, 115, 95-112. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0956053X20303913>
- Arredondo-Vega, B. O., & Voltolina, D. (2007). Métodos y herramientas analíticas en la evaluación de la biomasa microalgal. *Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR)*.
- Arvanitoyannis, I. S., & Kassaveti, A. (2008). Fish industry waste: treatments, environmental impacts, current and potential uses. *International Journal of Food Science & Technology*, 43(4), 726-745.
- Aspevik, T., Oterhals, Å., Rønning, S. B., Altintzoglou, T., Wubshet, S. G., Aasen, I. M., y Eilertsen, K. E. (2017). Valorization of proteins from co- and by-products from the fish and meat industry. En C. S. K. Lin (Ed.), *Chemistry and chemical technologies in waste valorization* (pp. 123–150). Springer.
- Aranganathan, L., y Radhika Rajasree, S. R. (2016). Bioconversion of marine trash fish (MTF) to organic liquid fertilizer for effective solid waste management and its efficacy on tomato growth. *Management of Environmental Quality: An International Journal*, 27(1), 93–103. <https://doi.org/10.1108/MEQ-05-2015-0074>

- Abdulsamad, J. K., y Varghese, S. A. (2017). Effects of fish silage on growth and biochemical characteristics of freshwater microalga *Scenedesmus* sp. MB 23. *Agriculture and Natural Resources*, 51, 235–242. <https://doi.org/10.1016/j.anres.2017.10.002>
- Barsanti, L., & Gualtieri, P. (2014). *Algae: anatomy, biochemistry, and biotechnology* (2nd ed.). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/b1654>
- Benavides Escobar, E. J., & Muelas Calambas, J. A. (2023). *Evaluación de la producción de biomasa de Chlorella vulgaris en cultivos a escala laboratorio empleando nutrientes de bajo costo* [Tesis de licenciatura, Universidad del Cauca]. Repositorio Institucional Universidad del Cauca. <https://repositorio.unicauca.edu.co/xxxx>
- Bernal López, C., Rodríguez de Stouvenel, A., & López Galán, J. E. (2015). Extracción de proteínas de *Chlorella vulgaris* y *Nannochloropsis gaditana* asistido por ultrasonido [Tesis de maestría, Universidad del Valle]. Repositorio Institucional Universidad del Valle. <https://hdl.handle.net/10893/15537>
- Buch, T. (2020). *Desarrollo y ecopolítica: los grandes debates de la tecnología, el ambiente y la sociedad*. Lenguaje Claro Editora.
- Cira, L. A., Huerta, S., Hall, G. M., & Shirai, K. (2002). Pilot-scale lactic acid fermentation of shrimp wastes for chitin recovery. *Process Biochemistry*, 37(12), 1359–1366. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(02\)00008-0](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(02)00008-0)
- Córdova, E., Mármol, C., Miranda, L., Navarrete, J. A., y Reyes, G. (1990). *Ensilado biológico de pescado*. Curso regional sobre tecnología de productos pesqueros, FAO/Programa de Cooperación Gubernamental, Caracas, Venezuela.
- Dao, V. T., & Kim, J. K. (2011). Scaled-up bioconversion of fish waste to liquid fertilizer using a 5 L ribbon-type reactor. *Journal of Environmental Management*, 92(10), 2441-2446. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2011.05.003>

- Fagbenro, O. A., & Bello-Olusoji, O. A. (1997). *Preparation, nutrient composition and digestibility of fermented shrimp head silage*. *Food Chemistry* 60(4), 489–493. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(96\)00314-7](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(96)00314-7)
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2024). *The state of world fisheries and aquaculture 2024: Blue transformation in action*. FAO. <https://doi.org/10.4060/cd0683en>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2003). *Animal feed resources information system*. FAO. <http://www.fao.org>
- Florez-Jalixto, M. A., Roldán Acero, D. J., & Juscamaita Morales, J. G. (2020). *Evaluación de fitotoxicidad y caracterización de un fertilizante líquido elaborado mediante fermentación láctica utilizando subproductos del procesamiento de trucha (Oncorhynchus mykiss)*. *Ecología Aplicada*, 19(2), 121–129. <https://doi.org/10.21704/rea.v19i2.1563>
- Florez-Mancilla, J., Ramos, E., Ramos-Gómez, J., & Carhuancho, A. (2021). Modelo de economía circular para el aprovechamiento de residuos hidrobiológicos en el Perú. *Revista de Investigación Científica Avanzada*, 5(2), 114–128.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2010). *Visión general del sector pesquero nacional*. [https://www2.congreso.gob.pe/sicr/cendocbib/con4_uibd.nsf/FC7C63421A9270EC05257B4400756498/\\$FILE/16_VISION_GENERAL_DEL_SECTOR_PESQUERO_NACIONAL_PERU.pdf](https://www2.congreso.gob.pe/sicr/cendocbib/con4_uibd.nsf/FC7C63421A9270EC05257B4400756498/$FILE/16_VISION_GENERAL_DEL_SECTOR_PESQUERO_NACIONAL_PERU.pdf)
- Gómez-Brandón, M., Probst, M., & Insam, H. (2024). Microbiological quality control during composting and its application in agriculture. *Sustainability*, 17(9), 4169.
- Gonzales, D., & Marín, M. (2005). Obtención de ensilados biológicos a partir de los desechos del procesamiento de sardinas. *Revista Científica, FCV-LUZ*, 15(6), 560–567. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=95915611>

- González-Delgado, A. D., Barajas-Solano, A. F., & Ardila-Álvarez, A. M. (2017). Producción de biomasa y proteínas de *Chlorella vulgaris* Beyerinck (Chlorellales: Chlorellaceae) a través del diseño de medios de cultivo selectivos. *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 18(3), 451–461. https://doi.org/10.21930/rcta.vol18_num3_art:742
- Gómez, M. D., González, J. R., Pérez, C. G., & Vargas-Machuca, J. A. (2020). Fitorremediación de aguas residuales urbanas de pequeños municipios con microalgas. *Revista Científica Ecociencia*, 7(2), 1–27.
- Guillard, R. R., & Ryther, J. H. (1962). Studies of marine planktonic diatoms: I. *Cyclotella nana* Hustedt, and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran. *Canadian Journal of Microbiology*, 8(2), 229-239. <https://doi.org/10.1139/m62-029>
- Ingram, D. T., & Millner, P. D. (2007). Factors affecting compost tea as a potential source of *Escherichia coli* and *Salmonella* on fresh produce. *Journal of Food Protection*, 70(4), 828–834.
- Instituto Tecnológico Pesquero del Perú & Instituto del Mar del Perú. (1995). *Compendio biológico-tecnológico de las principales especies hidrobiológicas del Perú* (146 p.). Lima, Perú. <https://hdl.handle.net/20.500.12958/1387>
- Irianto, H. E., Dewi, A. S., & Giyatmi, A. (2014). Prospective utilization of fishery by-products in Indonesia. En S. K. Kim (Ed.), *Seafood processing by-products*. Springer.
- Jara-Gallozo, P. L., & Zacarías-Polinario, D. N., (2024). *Evaluación de biofertilizante a base de residuos de pescado en el rendimiento de chía (Salvia hispánica L.* [Tesis de licenciatura, Universidad Nacional del Santa]. Repositorio Institucional DIGITAN. <https://hdl.handle.net/20.500.14278/4717>
- Jung, H. Y., & Kim, J. K. (2016). Eco-friendly waste management of mackerel wastewater and enhancement of its reutilization value. *International*

Biodeterioration & Biodegradation, 111, 1–13.
<https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2016.04.002>

Khalatbari, S., Sotaniemi, V. H., Suokas, M., Taipale, S., y Leiviskä, T. (2024). Microalgae technology for polishing chemically treated fish processing wastewater. *Groundwater for Sustainable Development*, 24, 101074.
<https://doi.org/10.1016/j.gsd.2023.101074>

Klausmeier, C. A., Litchman, E., Daufresne, T., & Levin, S. A. (2004). Phytoplankton stoichiometry: Lability and stability of the Redfield ratio. *Nature*, 429(6988), 171-174. <https://doi.org/10.1038/nature02454>

Kompiang, I. P. (1981). Fish silage: Its prospect and future in Indonesia. *Indonesian Agricultural Research and Development Journal*, 3, 9–120.

Lakhal, D., Bahlaouan, B., Boutaleb, N., Bennani, M., & El Antri, S. (2020). Agricultural valorization by biotransformation of fish wastes combined with grape marc and molasses. *Mediterranean Journal of Chemistry*, 10(7), 723–733. <https://doi.org/10.13171/mjc10702008071447nb>

Lakha, D., Boutaleb, N., Bahlaouan, B., Taiek, T., & Fathi, A. (2017). Mixture experimental design in the development of a biofertilizer from fish waste, molasses and scum. *International Journal of Engineering Research & Technology*, 6(6), 588–594. <https://www.ijert.org/research/mixture-experimental-design-in-the-development-of-a-bio-fertilizer-from-fish-waste-molasses-and-scum-IJERTV6IS060242.pdf>

López Arias, S. N. (2022). *Determinación de la calidad y densidad celular de Tetraselmis sp. para su uso bajo dos condiciones de laboratorio* [Tesis de licenciatura, Universidad Estatal Península de Santa Elena]. Repositorio Institucional UPSE. <https://repositorio.upse.edu.ec/handle/46000/8848>

López-Parra, M. (2011). Evaluación de métodos indirectos para la cuantificación de biomasa microalgal en sistemas de cultivo con matrices orgánicas complejas [Tesis de Maestría, Universidad Nacional Autónoma de México]. Repositorio Institucional UNAM.

- Luján, M. (2024). *El ensilado de pescado: tipos, preparación y su uso en la acuicultura*. Aquahoy. <https://aquahoy.com/ensilado-de-pescado-tipos-preparacion-usos-acuicultura/>
- Lürling, M. (2021). *Phenotypic plasticity in freshwater phytoplankton*. Aquatic Ecology. <https://doi.org/10.1007/s10452-020-09820-7>
- Madende, M., & Hayes, M. (2020). Fish by-product use as biostimulants: An overview of the current state of the art, including relevant legislation and regulations within the EU and USA. *Molecules*, 25(5), 1122. <https://doi.org/10.3390/molecules25051122>
- Ma'mun, S., Wahyudi, A., & Raghdanesa, A. S. (2022). *Growth rate measurements of Chlorella vulgaris in a photobioreactor by Neubauer-improved counting chamber and densitometer*. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 963(1), Article 012015. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/963/1/012015>
- Ministerio del Ambiente. (2008). *Decreto Supremo N.º 002-2008-MINAM: Aprueban Estándares Nacionales de Calidad Ambiental para Agua*. El Peruano.
- Muñoz-Valencia, J., Ayala-Aponte, A. A., & Valenzuela-Real, F. (2021). Use of fish waste hydrolysates as an alternative nutrient source for the culture of *Chlorella vulgaris*. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 44(8), 1645-1655. <https://doi.org/10.1007/s00449-021-02548-w>
- Muñoz-Valencia, J. L., Portillo-Pérez, G., & Ceballos, R. (2021). Mechanisms of organic nitrogen assimilation and metabolic shifts in mixotrophic microalgae cultures using organic hydrolysates. *Bioresource Technology*, 324, 124-135.
- Oliveira, C. Y. B., Gálvez, A. O., & Seiffert, W. Q. (2020). Use of fishery effluents as a nutrient source for *Chlorella vulgaris* cultivation: Optimization of optical density and cell counting correlations. *Journal of Applied Phycology*, 32(4), 2115-2124. <https://doi.org/10.1007/s10811-020-02102-1>

- Ostle, B. (1994). *Estadística aplicada: técnicas de la estadística moderna, cuándo y dónde aplicarla*. Limusa.
- Olsen, R. L., Toppe, J., & Karunasagar, I. (2014). Challenges and realistic opportunities in the use of by-products from processing of fish and shellfish. *Trends in Food Science and Technology*, 36(2), 144–151. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2014.01.007>
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2022). *Utilización y elaboración de la producción pesquera y acuícola*. <https://openknowledge.fao.org/server/api/core/bitstreams/ae439370-d5a7-4552-9968-46ab8dd13b58/content/sofia/2022/utilization-processing-fisheries-production.html>
- Oscanoa, A., Cervantes, M., & Febrero, P. (2020). *Manual para la producción de biomasa microalgal en condiciones de invernadero*. Informe del Instituto del Mar del Perú, 47(3), 332–356.
- Perez-Garcia, O., Escalante, F. M. E., de-Bashan, L. E., & Bashan, Y. (2011). Heterotrophic cultures of microalgae: Metabolism and potential products. *Water Research*, 45(1), 11-36. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.12.010>
- Raeesi, R., Shabanpour, B., & Pourashouri, P. (2023). *Use of fish waste to silage preparation and its application in animal nutrition*. *Online Journal of Animal and Feed Research*, 13(2), 79–88. <https://doi.org/10.51227/ojafr.2023.13>
- Redfield, A. C. (1958). The biological control of chemical factors in the environment. *American Scientist*, 46(3), 205–221.
- Ritchie, R. J. (2006). Consistent sets of spectrophotometric chlorophyll equations for acetone, methanol and ethanol solvents. *Photosynthesis Research*, 89(1), 27-41. <https://doi.org/10.1007/s11120-006-9065-9>

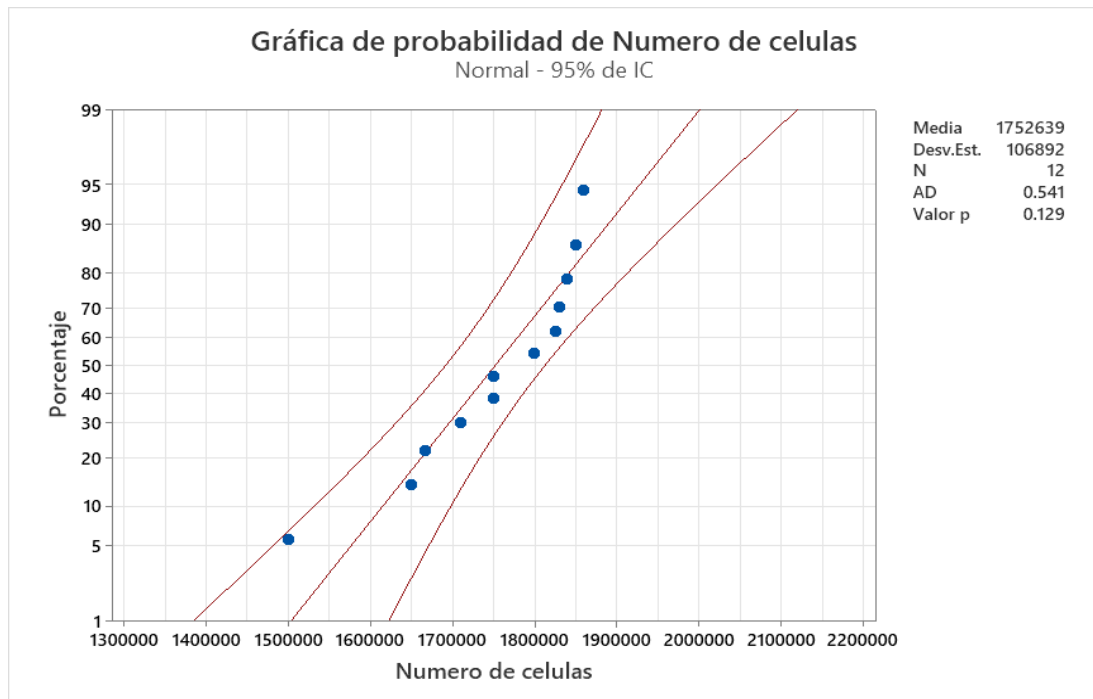
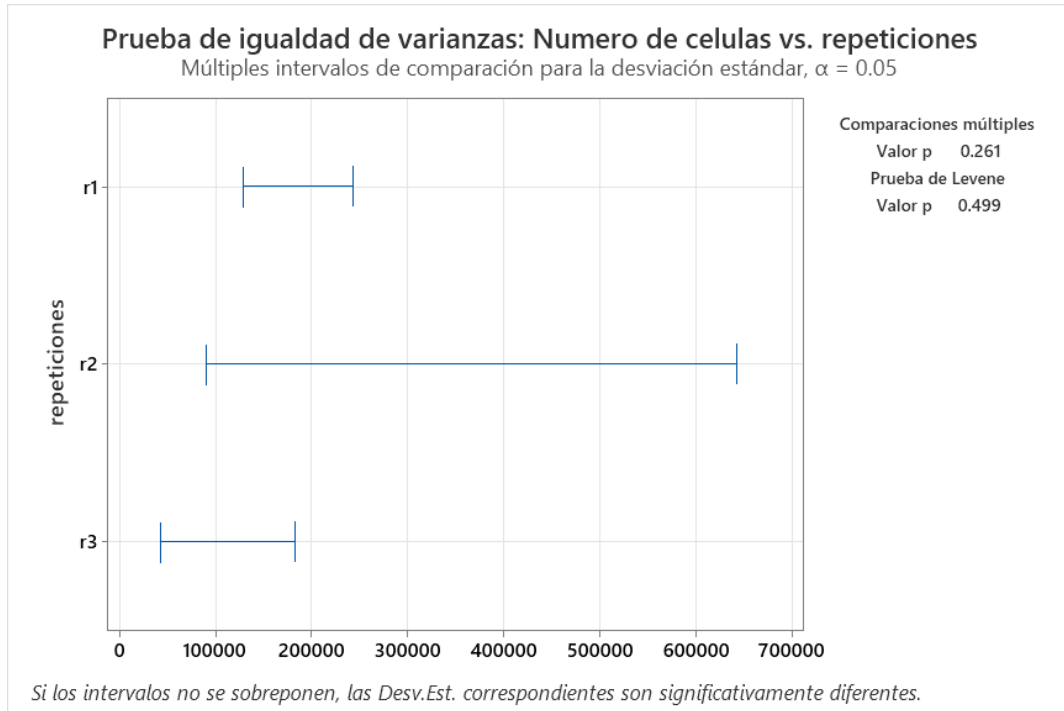
- Richmond, A., & Hu, Q. (2013). *Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology*. Wiley-Blackwell.
<https://doi.org/10.1002/9781118567166>
- Ruangsomboon, S. (2012). Effect of light, nutrient, and temperature on growth, total lipid, and fatty acid profile of *Scenedesmus dimorphus* for biofuel production. *Bioresource Technology*, 104, 323-330.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.10.062>
- The Compost Foundation. (2002). *Test methods for the examination of composting and compost (TMECC)*. The Composting Council Research and Education Foundation.
- Sánchez-Torres, H., Juscamaita-Morales, J., Vargas-Cárdenas, J., & Oliveros-Ramos, R. (2008). Producción de la microalga *Nannochloropsis oculata* (Droop) Hibberd en medios enriquecidos con ensilado biológico de pescado. *Ecología Aplicada*, 7(1–2), 149–158.
- Shanthi, G., Premalata, M., & Anantharaman, M. (2021). Potential utilization of fish waste for the sustainable production of microalgae rich in renewable protein and phycocyanin: *Arthrospira platensis/Spirulina*. *Journal of Cleaner Production*, 294, 126106.
<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.126106>
- Shanthi, G., Ramasubburayan, R., & Santhoshkumar, S. (2021). Agro-industrial and fish processing waste valorization for cost-effective biomass production of microalgae. *Cleaner Engineering and Technology*, 5, 100291.
<https://doi.org/10.1016/j.clet.2021.100291>
- Silva-Benavides, A. M., Sili, C., & Torzillo, G. (2008). Cyanoprocaryota y microalgas (Chlorophyceae y Bacillariophyceae) bentónicas dominantes en ríos de Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, 56(3), 1121–1135.
- Sokal, R. R., & Rohlf, F. J. (1979). *Biometría: Principios y métodos estadísticos en la investigación biológica*. H. Blume Ediciones.

- Thendral, B., & Geetha, A. (2019). Physicochemical characterization of traditionally fermented liquid manure from fish waste (Gunapaselam). *Indian Journal of Traditional Knowledge*, 18(4), 830–836.
- Tiwow, V. M. A., Abram, P. H., & Simatupang, E. A. (2020). The application of liquid and solid organic fertilizer from tilapia fish waste for conservation of Central Sulawesi superior jackfruit plant from Tulo and Beka. *Journal of Physics: Conference Series*, 1567(2), 022027. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1567/2/022027>
- Toppe, J., Olsen, R., Peñarubia, O. R., & James, D. (2018). *Producción y utilización del ensilado de pescado: Manual sobre cómo convertir los desperdicios del pescado en ganancias y en un ingrediente valioso de la ración o como fertilizante*. FAO.
- Venugopal, V. (2021). Valorization of seafood processing discards: Bioconversion and biorefinery approaches. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5, 611835. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.611835>
- Viana, M. T., Nova, C., & Solana-Sansores, A. (1993). Acid fish silage: Effect of preheating and addition of phosphoric and citric acid on the biochemical quality. *Ciencias del Mar*, 19(4), 415–433. <https://doi.org/10.7773/cm.v19i4.947>
- Vidya, D., Nayana, K., Sreelakshmi, M., Keerthi, K. V., Mohan, K. S., Sudhakar, M. P., & Arunkumar, K. (2021). A sustainable cultivation of microalgae using dairy and fish wastes for enhanced biomass and bioproduct production. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 13, 6859–6873. <https://doi.org/10.1007/s13399-021-01817-y>
- Vidotti, R. M., Carneiro, D., Macedo-Viegas, E., & Carneiro, D. J. (2003). Amino acid composition of processed fish silage using different raw materials. *Animal Feed Science and Technology*, 105, 199–204. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(03\)00056-7](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(03)00056-7)

- Wang, L., Mudalige, A., & Salim, M. (2018). Utilization of fish processing waste as a nutrient source for microalgal biomass production. *Bioresource Technology*, 268, 45-52. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.07.118>
- Wang, B., Wang, J., Zhang, W., & Meldrum, D. R. (2018). Application of the modified Gompertz model to describe the lag phase and cellular hypertrophy of green microalgae in organic media. *Biochemical Engineering Journal*, 132, 112-121.
- Zare Vergara, J. L. (2018). *Uso de ensilado a base de residuos de trucha arcoíris (Oncorhynchus mykiss) como fertilizante orgánico para la producción de la microalga marina Tetraselmis suecica* [Tesis de licenciatura, Universidad Nacional Agraria La Molina]. Repositorio Institucional UNALM. <https://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/20.500.12996/3706>
- Zwietering, M. H., Jongenburger, I., Rombouts, F. M., & van 't Riet, K. (1990). Modeling of the bacterial growth curve. *Applied and Environmental Microbiology*, 56(6), 1875-1881. <https://doi.org/10.1128/aem.56.6.1875-1881.1990>

ANEXOS

Anexo 1 Gráfico de normalidad y prueba de igualdad de varianza del inicio de cultivo de *C. vulgaris*



Nota: El número de células iniciales de *D. salina* en las repeticiones de los diferentes tratamientos, presentaron una distribución normal ($p > 0.05$) y homogeneidad de varianzas ($p > 0.05$) (Anexo 1), mostrando homogeneidad inicial de los valores.

Anexo 2 Resultados del análisis de Varianza para determinar las diferencias significativas entre las repeticiones de cada tratamiento para la densidad celular de *C. vulgaris* bajo diferentes regímenes nutricionales

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Repeticiones	2	1,36611E+11	68305288462	0.01	0,992
Error	153	1,38774E+15	9,07019E+12		
Total	155	1.38788E+15			

Anexo 3 Análisis de varianza para determinar el efecto de los tratamientos, tiempo y su interacción de ambas variables sobre el crecimiento de *C. vulgaris* bajo diferentes regímenes nutricionales

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Tratamiento	3	1,34551E+12	4,48504E+11	23,37	0,000
Días	12	1,37806E+15	1,14839E+14	5982,83	0,000
Tratamiento*Días	36	6,46949E+12	1,79708E+11	9,36	0,000
Error	104	1,99625E+12	19194711538		
Total	155	1,38788E+15			

Anexo 4 Densidad Óptica (Absorbancia) diaria de *C. vulgaris* por tratamiento y réplica

Tiempo	Control (T0)			N-P 10:1 (T1)			N-P 15:1 (T2)			N-P 20:1 (T3)		
Días	C1	C2	C3	T1A	T1B	T1AC	T2A	T2B	T3C	T3A	T3B	T3C
0	0,192	0,185	0,187	0,191	0,195	0,199	0,198	0,194	0,190	0,194	0,189	0,203
1	0,268	0,267	0,249	0,244	0,237	0,266	0,280	0,253	0,266	0,274	0,278	0,270
2	0,271	0,266	0,291	0,257	0,268	0,274	0,258	0,241	0,255	0,248	0,260	0,259
3	0,373	0,325	0,379	0,287	0,292	0,300	0,290	0,290	0,279	0,374	0,368	0,369
4	0,455	0,434	0,465	0,480	0,532	0,513	0,499	0,505	0,496	0,520	0,518	0,522
5	0,620	0,630	0,600	0,590	0,595	0,592	0,591	0,597	0,592	0,560	0,565	0,560
6	0,720	0,720	0,700	0,690	0,700	0,700	0,690	0,690	0,700	0,670	0,680	0,670
7	0,821	0,810	0,815	0,790	0,795	0,798	0,790	0,780	0,785	0,789	0,790	0,790
8	0,916	1,044	0,873	0,946	1,041	0,949	0,900	0,950	0,950	1,010	1,008	1,012
9	0,942	1,096	0,931	1,032	1,144	0,977	0,998	0,990	0,966	1,105	1,100	1,110
10	1,098	1,145	0,964	1,081	1,202	1,051	1,098	1,069	1,077	1,200	1,205	1,195
11	1,099	1,195	1,082	1,255	1,262	1,254	1,182	1,171	1,178	1,285	1,280	1,290
12	1,085	1,200	1,122	1,234	1,235	1,209	1,232	1,224	1,122	1,298	1,300	1,296
13	1,098	1,220	1,065	1,206	1,222	1,210	1,238	1,239	1,125	1,310	1,305	1,315

Anexo 5 Promedios de Densidad Óptica (Absorbancia) de *C. vulgaris* por tratamiento

Días	Control (T0)	N-P 10:1 (T1)	N-P 15:1 (T2)	N-P 20:1 (T3)
0	0,188	0,195	0,194	0,195
1	0,261	0,249	0,266	0,274
2	0,276	0,266	0,251	0,256
3	0,359	0,293	0,286	0,370
4	0,451	0,508	0,500	0,520
5	0,617	0,592	0,593	0,562
6	0,713	0,697	0,693	0,673
7	0,815	0,794	0,785	0,790
8	0,944	0,979	0,933	1,010
9	0,990	1,051	0,985	1,105
10	1,069	1,111	1,081	1,200
11	1,125	1,257	1,177	1,285
12	1,136	1,226	1,193	1,298
13	1,128	1,213	1,201	1,310

Anexo 6 Lecturas espectrofotométricas y concentraciones de clorofila calculadas mediante ecuaciones de Ritchie

Tratamiento	Rep.	Abs 664 nm (Chl-a)	Abs 647 nm (Chl-b)	Abs 750 nm (Turbidez)	Chl-a (mg·L ⁻¹)	Chl-b (mg·L ⁻¹)	Chl Total (mg·L ⁻¹)
Control (T0)	C1	0,702	0,247	0,000	7,93832	1,38255	9,32087
	C2	0,249	0,077	0,000	2,83207	0,26724	3,09931
	C3	1,031	0,394	0,000	11,61059	2,68749	14,29808
N-P 10:1 (T1)	T1A	0,619	0,200	0,001	7,01684	0,82923	7,84607
	T1B	0,546	0,185	0,003	6,15427	0,87897	7,03324
	T1C	0,364	0,112	0,002	4,12030	0,34764	4,46794
N-P 15:1 (T2)	T2A	0,471	0,165	0,010	5,22415	0,75642	5,98057
	T2B	0,712	0,246	0,004	8,01712	1,24482	9,26194
	T2C	0,545	0,180	0,002	6,16043	0,79485	6,95528
N-P 20:1 (T3)	T3A	0,496	0,162	0,006	5,56626	0,61998	6,18624
	T3B	1,130	0,413	0,002	12,73386	2,51829	15,25215
	T3C	0,840	0,308	0,002	9,45906	1,88484	11,34390

Anexo 7 Registro y determinación de biomasa seca neta de *C. vulgaris*

Tratamiento	Rep.	Peso Placa Vacía	Peso Placa + Biomasa (g)	Biomasa neta (g) (Volumen 50ml)	X _f (g·L ⁻¹)
Control (T0)	C1	38,8890	38,9218	0,0328	0,6560
	C2	38,6141	38,6443	0,0302	0,6040
	C3	38,6847	38,7146	0,0299	0,5980
N-P 10:1 (T1)	T1A	36,9057	36,9358	0,0301	0,6020
	T1B	38,8324	38,8662	0,0338	0,6760
	T1C	39,6480	39,6781	0,0301	0,6020
N-P 10:1 (T2)	T2A	37,3179	37,3495	0,0316	0,6320
	T2B	37,4916	37,5247	0,0331	0,6620
	T2C	36,6672	36,6986	0,0314	0,6280
N-P 10:1 (T1)	T3A	38,1270	38,1590	0,0320	0,6400
	T3B	38,9746	39,0100	0,0354	0,7080
	T3C	38,5917	38,6227	0,0310	0,6200

Anexo 8 Composición fisicoquímica y nutricional del Biol empleado como fuente orgánica



LABORATORIO AGRÍCOLA
Análisis de suelos y aguas
CYSAG EIRL
RUC: 20561187488

INFORME DE LABORATORIO CYSAG N° 048-2026

Métodos de análisis: Según DS N° 013-2010 AG

Solicitud de análisis N° : 048-2026
Solicitante : EDUAR SALDIVAR
Procedencia de la Muestra : LAMBAYEQUE
Tipo de análisis : Análisis nutricional

Cultivo / Proyecto :
Fundo, Predio, Coordenadas, Área. :
Fecha de recepción de muestras. : 23-02-2026
Fecha de reporte de resultados. : 02-03-2026

MUESTRA DE BIOL **Resultados de análisis**

Parametro	Unidad	Resultado
pH (medición directa)	--	3.96
CE (medición directa)	ds/m	19.97
Nitrogeno total (N)	%	1.38
Fósforo total (P ₂ O ₅)	%	0.86
Potasio total (K ₂ O)	%	1.82
Calcio total (CaO)	%	0.86
Magnesio total (MgO)	%	0.45


ING. ADRON ROSO PASACHE CHAPOÑAN
REG. CIP N° 132471
RESPONSABLE DE LABORATORIO
CYSAG
Laboratorio Agrícola

Anexo 9 Análisis microbiológicos de control de calidad e inocuidad del Biol



UNIVERSIDAD NACIONAL "PEDRO RUIZ GALLO"
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
LABORATORIO DE PARASITOLOGÍA CLÍNICA



INFORME DEL ENSAYO

I. DATOS GENERALES

- ☐ Nombre del Solicitante : Blgo. José Eduar Saldivar Vallejos
- ☐ Tipo de Análisis : MICROBIOLOGICO

II. DATOS DE LA MUESTRA

- ☐ Producto : BIOL
- ☐ Muestra : 01 frasco de 250 ml de agua
(Muestra colectada por el solicitante).
- ☐ Fecha de Muestreo : 12 de marzo del 2026

III. ANÁLISIS REALIZADOS:

- ☐ Determinación de Coliformes Totales
- ☐ Determinación de Coliformes Termotolerantes
- ☐ Determinación de *Escherichia coli*
- ☐ Determinación de *Salmonella* sp.
- ☐ Determinación de *Clostridium* sulfitos reductores reductores
- ☐ Recuento de mohos y levaduras
- ☐ Bacterias ácidas lácticas (BAL)

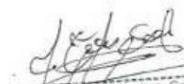
IV. DOCUMENTOS NORMATIVOS

- ☐ Estándares Nacionales de Calidad Ambiental para Agua – Anexo 1 – Categoría 4: Conservación del Ambiente acuático – D.S.002-2008-MINAN.
- ☐ Ingram, D. T., & Millner, P. D. (2007). Factors affecting compost tea as a potential source of *Escherichia coli* and *Salmonella* on fresh produce. *Journal of Food Protection*, 70(4), 828–834.

- The Compost Foundation. (2002). *Test Methods for the Examination of Composting and Compost (TMECC)*. The Composting Council Research and Education Foundation.
- Gómez-Brandón, M., Probst, M., & Insam, H. (2024). Microbiological quality control during composting and its application in agriculture. *Sustainability*, 17(9), 4169.

V. RESULTADOS

Parámetro	Unidad	Valor referencial	Resultado	Interpretación
Coliformes totales	UFC/mL	$\leq 1 \times 10^3$	5.2×10^2	Dentro del límite permitido
Coliformes termotolerantes	UFC/mL	$\leq 1 \times 10^2$	3.5×10^1	Cumple criterio de inocuidad
<i>Escherichia coli</i>	UFC/mL	≤ 10	2	Nivel bajo, aceptable
<i>Salmonella</i> sp.	Presencia/25 mL	Ausencia	Ausencia	Apto microbiológicamente
Clostridium sulfitos reductores	UFC/mL	$\leq 1 \times 10^2$	4.0×10^1	Dentro de rango aceptable
Mohos y levaduras	UFC/mL	$1 \times 10^3 - 1 \times 10^4$	2.8×10^4	Normal en fermentación
Bacterias ácido lácticas (BAL)	UFC/mL	$1 \times 10^4 - 1 \times 10^5$	6.5×10^4	Óptima actividad fermentativa


 FRANCISCO A. CARRASCO Solano
 MICROBIOLOGO PARASITOLOGO
 ...AGENTE UNPRG - PCCES...
 C.B.P. 9545