



DOI: <https://doi.org/10.70577/cieninter.v4i3.135>

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

Use of a fish waste-derived biofertilizer in the biomass production of *Chlorella vulgaris*

Bach. José Eduar Saldívar Vallejos¹

Universidad Nacional de Tumbes. Tumbes, Perú
j.saldivar.vallejos@posgradountumbes.edu.pe
<https://orcid.org/0009-0003-5327-5374>

Dr. David Edilberto Saldarriaga Yacila²

Universidad Nacional de Tumbes. Tumbes, Perú
dsaldarriagay@posgradountumbes.edu.pe
<https://orcid.org/0000-0002-4919-8607>

Dra. María Victoria Lora Vargas³

Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo. Lambayeque, Perú
mlora@unprg.edu.pe
<https://orcid.org/0000-0003-2297-7667>

Dr. Segundo Juan López Cubas⁴

Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo. Lambayeque, Perú
slopezcu@unprg.edu.pe
<https://orcid.org/0000-0002-1823-525X>

Cómo citar:

Saldívar Vallejos, J. E., Saldarriaga Yacila, D. E., Lora Vargas, M. V., & López Cubas, S. J. (2026). Uso de biofertilizante elaborado con residuos de pescado en la producción de biomasa de *Chlorella vulgaris*. *Ciencia Interdisciplinaria Internacional*, 4(3), 1248–1259.
<https://doi.org/10.70577/cieninter.v4i3.135>

Fecha de aceptación: 2026-06-12

Fecha de aceptación: 2026-08-31

Fecha de publicación: 2026-09-21



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 distribuidos 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 influence the biomass production of *Chlorella vulgaris*. An increasing stimulus experimental design was set up with a control group (Guillard f) 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 (OD_{680}). Population density was positively shaped by the enriched biol, with the 20:1 N:P ratio (T3) yielding the best results on Day 11, reaching $10,78 \times 10^6 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$. 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 ($0,6560 \pm 0,0461 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) and total chlorophyll ($10,9274 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$). Ultimately, this optimized fish biol serves as an efficient biotechnological pathway for microalgal biomass production.

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



INTRODUCCIÓN

La industria pesquera y acuícola genera un volumen considerable de subproductos: vísceras, tejido residual y estructuras óseas, que representan hasta el 50 % de la materia prima procesada. La disposición inadecuada de estos descartes causa un impacto ambiental significativo en los ecosistemas acuáticos (Sánchez-Torres et al., 2008). Sin embargo, su elevado contenido de nutrientes y materia orgánica permite su transformación en biofertilizantes de bajo costo para su aprovechamiento en procesos biotecnológicos.

En el cultivo de *Chlorella vulgaris*, el costo de los medios de cultivo sintéticos tradicionales, como el medio Guillard f/2, limita el escalamiento comercial para la obtención de biomasa. En este contexto, el empleo de efluentes y biofertilizantes orgánicos representa una alternativa económicamente viable que aporta los nutrientes requeridos reduciendo los costos de inversión (Bernal et al., 2015; González-Delgado et al., 2017). Al respecto, Sánchez-Torres et al. (2008) obtuvieron rendimientos de $1,65 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ en *Nannochloropsis oculata* mediante el uso de ensilaje de pescado sin hidrolizar. De forma similar, Zare (2018) logró una densidad de $142,82 \times 10^4 \text{ cel} \cdot \text{mL}^{-1}$ en *Tetraselmis suecica* al aplicar un biofertilizante a base de residuos de trucha. Asimismo, se ha demostrado que los hidrolizados de origen pesquero incrementan la biomasa seca y los pigmentos en especies como *Scenedesmus* sp. y *Arthrospira platensis* al sustituir las fuentes inorgánicas convencionales (Abdulsamad & Varghese, 2017; Shanthi et al., 2021).

Desde una perspectiva fisiológica, la disponibilidad de nitrógeno en forma de aminoácidos libres y péptidos de cadena corta en los hidrolizados pesqueros reduce el gasto energético celular. Estas fracciones orgánicas ingresan directamente a las rutas metabólicas internas, evitando la vía de reducción consecutiva de nitrato a amonio y disminuyendo el consumo de ATP y NADPH, lo que permite canalizar mayor energía hacia la síntesis de biomasa y pigmentos fotosintéticos (Muñoz-Valencia et al., 2021).

A pesar de estos beneficios, se requiere precisar la relación nitrógeno-fósforo (N:P) óptima al utilizar estos insumos, ya que un desequilibrio estequiométrico puede limitar el crecimiento o causar

colapso celular. Estudios en *C. vulgaris* sugieren que proporciones estequiométricas cercanas a N:P 20:1 estimulan las tasas de duplicación y prolongan la estabilidad poblacional antes del declive (Klausmeier et al., 2004; Benavides & Muelas, 2023). Por ello, el objetivo del presente estudio fue evaluar la influencia de un biofertilizante elaborado a partir de residuos de pescado, suplementado con tres relaciones N:P (10:1, 15:1 y 20:1), sobre la cinética de crecimiento, la producción de biomasa seca y la concentración de clorofila total de *C. vulgaris*, en comparación con el medio estándar Guillard f/2 (doble dosis).

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio y condiciones de cultivo

El estudio se realizó en la Unidad de Planctología del Laboratorio de Biología Pesquera de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo (UNPRG), Lambayeque, Perú ($6^{\circ}42'26'' \text{ S}$, $79^{\circ}54'29'' \text{ O}$). Los cultivos se mantuvieron a $28 \pm 3^{\circ} \text{ C}$ con un fotoperiodo de 12:12 h (luz/oscuridad) mediante iluminación fluorescente continua de 40 W (2880 lux, medidos con luxómetro BENETECH GM1010) y aireación continua (1 vvm, $\sim 500 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$).

Diseño experimental

Se empleó el Diseño Experimental de Estímulo Creciente con un Control (T0), tres Tratamientos (T1, T2 y T3) y tres repeticiones de cada uno, que dieron lugar a 12 unidades experimentales que fueron dispuestas completamente al azar (DCA):

- **T0 (Control):** Medio sintético Guillard f con relación N:P 24:1 (Guillard y Ryther, 1962).
- **T1:** Biofertilizante orgánico suplementado ajustado a N:P 10:1.
- **T2:** Biofertilizante orgánico suplementado ajustado a N:P 15:1.
- **T3:** Biofertilizante orgánico suplementado ajustado a N:P 20:1.

Las formulaciones de los tratamientos T1, T2 y T3 tomaron como referencia la relación estequiométrica de Redfield (1958). Cada unidad experimental consistió en un fotobiorreactor de columna de burbujeo con 1 L de volumen operativo (Figura 1).

Figura 1

Configuración del sistema de cultivo experimental



Obtención del biofertilizante y preparación del inóculo

El biofertilizante se obtuvo por digestión anaerobia de 6 kg de materia prima orgánica proveniente de abastos locales, inoculada con 50 mL de Microorganismos Eficaces (EM) y 1 kg de melaza durante 60 días. El producto estabilizado se filtró y esterilizó. La caracterización físico-química del biol (N, P₂O₅, Ca, Mg, pH y conductividad) se realizó en un laboratorio acreditado (Laboratorio Agrícola CYSAC E.I.R.L.), y la inocuidad microbiológica se verificó según The Compost Foundation (2002).

La cepa de *C. vulgaris* se verificó por microscopía óptica (Nikon ECLIPSE E200) y se escaló desde 90 mL en medio Guillard f hasta 3 L. En cada fotobiorreactor se colocó 200 mL de inóculo con $8,5 \times 10^6$ cel·mL⁻¹ para iniciar con una densidad de $1,7 \times 10^6$ cel·mL⁻¹ de *C. vulgaris*.

Parámetros de monitoreo y análisis analítico

Durante 13 días se tomaron alícuotas diarias de 4 mL para los siguientes análisis:

Densidad celular y densidad óptica

La concentración celular (N, cel·mL⁻¹) se determinó mediante conteo en cámara de Neubauer (0,1 mm de profundidad). La densidad óptica se midió a 680 nm (DO₆₈₀) en un espectrofotómetro Thermo Scientific™ Orion™ AquaMate 8100, utilizando blancos del propio medio para descontar la turbidez del biol.

Pigmentos fotosintéticos

En el pico de la fase exponencial, alícuotas de 5 mL se centrifugaron a 4000 rpm por 10. El pellet se resuspendió en acetona al 90% e incubó en oscuridad a 4 °C por 24 h. Luego de clarificar por centrifugación, las concentraciones de clorofila a (Chl a) y b (Chl b) en mg·L⁻¹ se calcularon según Ritchie (2006):

- $Chl_a = 11.85 \cdot [A_{664} - A_{750}] - 1.54 \cdot [A_{647} - A_{750}]$
- $Chl_b = 21.03 \cdot [A_{647} - A_{750}] - 5.43 \cdot [A_{664} - A_{750}]$

Biomasa seca y productividad

La biomasa se cosechó por centrifugación (4000 rpm, 10 min), se secó a 60 °C por 24 h y se deshidrató a 100 °C por 10 min. El peso seco (X_f, g·L⁻¹) se midió por gravimetría. La productividad volumétrica (r_x, g·L⁻¹·d⁻¹) se calculó como $r_x = X_f / t$, donde t es el tiempo de cultivo (Arredondo-Vega y Voltolina, 2007).

Cinética de crecimiento y análisis estadístico

La cinética celular se ajustó al modelo sigmoidal de Gompertz modificado (Zwietering et al., 1990):

$$N = N_0 + C \cdot \exp(-\exp(-B \cdot (t - M)))$$

Donde N₀ es la densidad inicial, C la asíntota de crecimiento, B la tasa relativa de crecimiento y M el tiempo del punto de inflexión. Se derivaron la tasa específica de crecimiento ($\mu = B \cdot C / e$), la fase lag ($\lambda = M - 1/B$), el tiempo de generación ($T_g = \ln(2)/\mu$) y la máxima densidad potencial (MDP = N₀ + C).



La normalidad y homocedasticidad de los datos se comprobaron previamente ($p > 0,05$). Las diferencias entre tratamientos se evaluaron mediante ANOVA de un factor ($p < 0,05$) y pruebas de comparación de medias en Minitab. El ajuste no lineal de Gompertz se realizó en Statistica 8.2 y las representaciones gráficas en GraphPad Prism.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Dinámica del crecimiento poblacional de *C. vulgaris* y validación por densidad óptica

Al inicio del ensayo (Día 0), las densidades celulares en todos los tratamientos mostraron una distribución normal y varianzas homogéneas ($p > 0,05$), partiendo de condiciones equivalentes ($1,64 - 1,84 \times 10^6 \text{ cél}\cdot\text{mL}^{-1}$). La densidad celular diaria de *C. vulgaris* para cada réplica y los promedios por tratamiento se presentan en las Tablas 1 y 2, respectivamente.

El análisis de varianza (ANOVA) indicó que las diferencias entre repeticiones dentro de un mismo tratamiento no fueron estadísticamente significativas ($p > 0,05$). Sin embargo, la densidad celular varió de forma altamente significativa por efecto de la relación N:P ($p < 0,001$), los días de cultivo ($p < 0,001$) y la interacción de ambos factores ($p < 0,001$).

Entre los días 2 y 4, el control sintético (T0) presentó un crecimiento superior frente a las formulaciones de biofertilizante. Durante los días 5 y 6, las densidades celulares se equipararon entre todos los grupos. En los días 7 y 8, el T0 volvió a distanciar su densidad poblacional. No obstante, esta tendencia se invirtió a partir del día 10: durante los días 11, 12 y 13, las formulaciones suplementadas con biol superaron al control. El tratamiento T3 (N:P 20:1) consolidó la máxima densidad celular en el día 11, alcanzando un pico de $10,78 \times 10^6 \text{ cél}\cdot\text{mL}^{-1}$ (Figura 1).

Tabla 1

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

Tiempo	T0 (Control)			T1			T2			T3		
Días	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
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 2

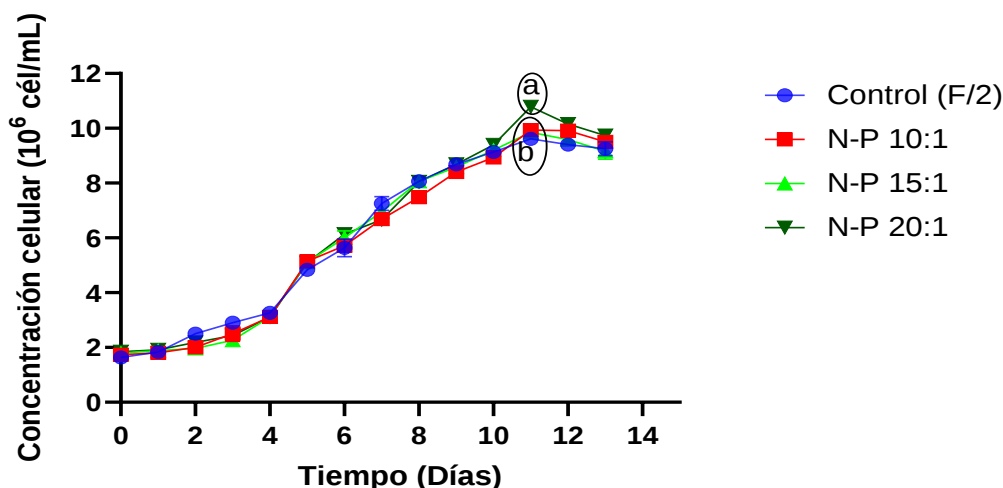
Promedios de densidad celular ($10^6 \text{ cel}\cdot\text{mL}^{-1}$) y desviación estándar de C. vulgaris

Días	T0 (Control)	T1	T2	T3
0	$1,64 \pm 0,13$	$1,73 \pm 0,08$	$1,80 \pm 0,08$	$1,84 \pm 0,02$
1	$1,83 \pm 0,12$	$1,80 \pm 0,05$	$1,88 \pm 0,12$	$1,92 \pm 0,03$
2	$2,50 \pm 0,05$	$2,00 \pm 0,05$	$1,97 \pm 0,06$	$2,18 \pm 0,08$

Días	T0 (Control)	T1	T2	T3
3	2,90 ± 0,09	2,50 ± 0,29	2,27 ± 0,06	2,43 ± 0,03
4	3,27 ± 0,15	3,12 ± 0,13	3,12 ± 0,13	3,12 ± 0,10
5	4,83 ± 0,08	5,15 ± 0,05	5,12 ± 0,08	5,10 ± 0,10
6	5,63 ± 0,32	5,72 ± 0,20	6,00 ± 0,25	6,13 ± 0,25
7	7,25 ± 0,25	6,68 ± 0,16	6,95 ± 0,05	6,67 ± 0,14
8	8,07 ± 0,06	7,48 ± 0,08	8,07 ± 0,12	8,05 ± 0,05
9	8,68 ± 0,16	8,40 ± 0,13	8,58 ± 0,14	8,68 ± 0,16
10	9,13 ± 0,13	8,93 ± 0,08	9,20 ± 0,18	9,40 ± 0,05
11	9,62 ± 0,14	9,93 ± 0,13	9,85 ± 0,05	10,78 ± 0,06
12	9,40 ± 0,10	9,92 ± 0,14	9,58 ± 0,14	10,15 ± 0,09
13	9,25 ± 0,25	9,50 ± 0,05	9,17 ± 0,29	9,73 ± 0,08

Figura 1

Flujo cuantitativo de selección documental



Nota. Los puntos representan los valores promedio de la densidad celular ($10^6 \text{ cél} \cdot \text{mL}^{-1}$) 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 en las formulaciones suplementadas con biol responde a la etapa de reprogramación metabólica propia de la transición a un medio orgánico (Pérez-García et al., 2011; Richmond y Hu, 2013). Al asimilar carbono orgánico y CO_2 (metabolismo mixotrófico), la célula optimiza la eficiencia energética al suprimir vías disipativas como la fotorrespiración, alcanzando rendimientos superiores en la fase estacionaria (Pérez-García et al., 2011). La mayor respuesta observada en la proporción N:P 20:1 se alinea con lo determinado por Benavides y Muelas (2023), quienes reportaron dicha relación estequiométrica como la de mayor eficiencia biológica para *C. vulgaris*.

En el aspecto nutricional, la disponibilidad de nitrógeno en forma de péptidos y aminoácidos libres reduce el gasto bioenergético necesario para la reducción de nitratos inorgánicos (Muñoz-Valencia et al., 2021). Aminoácidos como la glicina y el glutamato presentes en el biofertilizante sirven como precursores directos en la síntesis de porfirinas para la formación de clorofila (Shanthi et al., 2021). La formación eventual de agregados celulares responde a macromoléculas orgánicas del biofertilizante que actúan como biofloculantes neutralizadores de carga superficial (Lüring, 2021; Khalatbari et al., 2024).

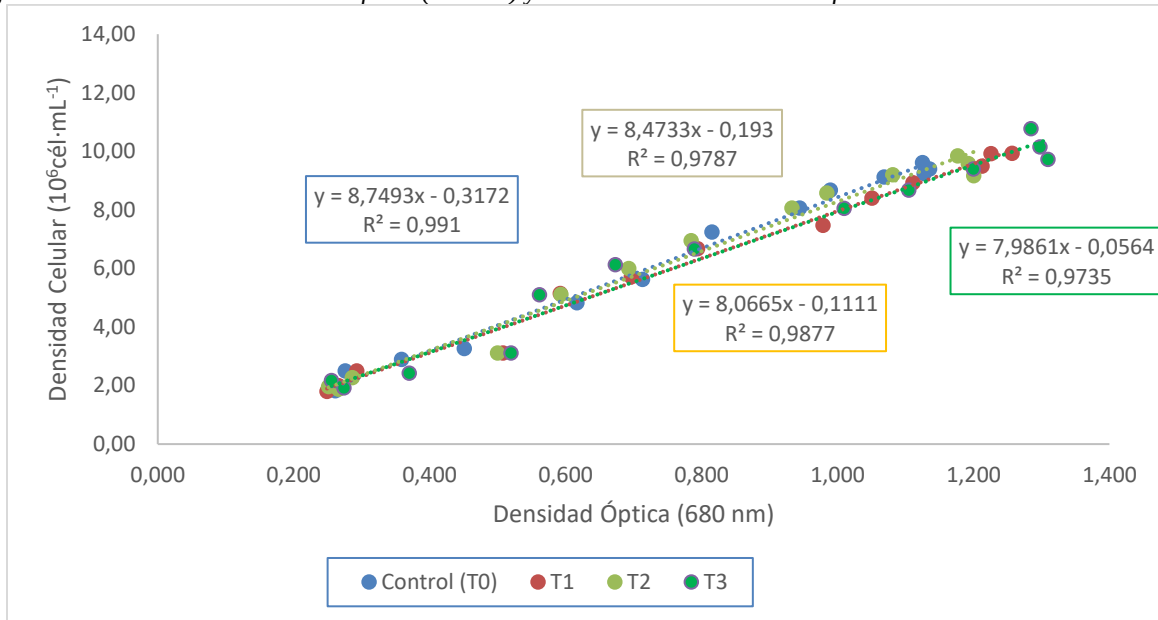
Para validar la confiabilidad de la densidad

óptica (DO_{680}) frente al conteo microscópico directo en cámara de Neubauer, se efectuó un análisis de regresión lineal con corrección de blanco espectrofotométrico, encontrándose una asociación positiva y altamente significativa ($p < 0,05$) en todos los tratamientos según el modelo $Y = aX + b$ (Figura 2), con coeficientes de determinación (R^2) que

oscilaron entre 0,973 y 0,991; resultados que ratificaron que la lectura de absorbancia reflejó fielmente la multiplicación celular sin interferencia por coloración residual, de acuerdo con López-Parra (2011), Ruangsomboon (2012) y Oliveira et al. (2020).

Figura 2

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



Modelamiento cinético del crecimiento mediante el modelo de Gompertz

Los parámetros cinéticos derivados del ajuste al modelo de Gompertz modificado, se resumen en la Tabla 3. La tasa relativa de crecimiento (B) y la tasa específica (μ) alcanzaron sus valores máximos en el

tratamiento T2 (N:P 15:1; $B = 0,590 \text{ d}^{-1}$; $\mu = 0,158 \text{ d}^{-1}$, seguido por T3 (N:P 20:1; $B = 0,483 \text{ d}^{-1}$; $\mu = 0,134 \text{ d}^{-1}$. La capacidad de carga (C) registró su mayor valor en T1 ($C = 0,760$) dentro de los medios orgánicos, frente a T0 ($C = 0,789$). Coeficientes de determinación elevados ($R^2 \geq 0,996$) demostraron una alta precisión en el ajuste cinético (Figura 3).

Tabla 3

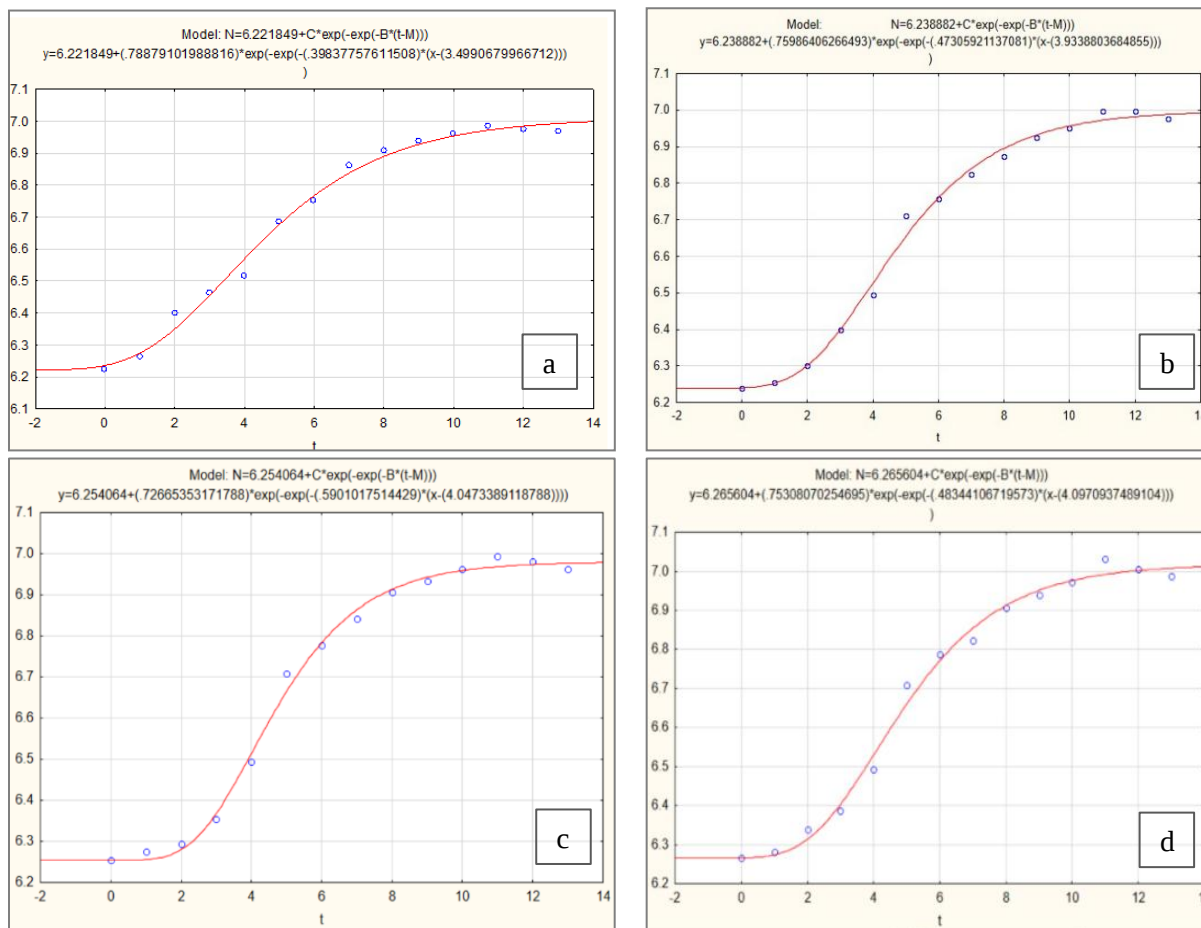
*Constantes y Parámetros Cinéticos del Modelo de Gompertz (μ , B , T_g , M , C , λ) en cultivo de *C. vulgaris**

Tratamientos	C (log)	B (días ⁻¹)	M (días)	R ²	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).

Figura 3

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



Nota: Diferentes relaciones estequiométricas N-P evaluadas: a) Control (T0), b) N-P 10:1 (T1), c) N-P 15:1 (T2) y d) N-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 ($R^2 \geq 0.996$).

La fase de latencia (λ) fue menor en el control inorgánico ($\lambda = 0,989$ días), mientras que en los medios suplementados con biol varió entre 1,820 días (T1) y 2,353 días (T2). Esta diferencia refleja la inducción de transportadores específicos y el reajuste enzimático necesario para asimilar el sustrato orgánico (Pérez-García et al., 2011; Muñoz-Valencia et al., 2021).

En el tratamiento T3, el tiempo del punto de inflexión ($M = 4,097$ días) indica que las células destinaron las etapas iniciales a la acumulación de reservas e hipertrofia celular previo a la división masiva (Wang et al., 2018; Lürling, 2021). Aunque T2 presentó una mayor velocidad en la fase exponencial

pura, la biomasa total acumulada favoreció a T3 debido a la extensión sostenida de su etapa productiva. El balance estequiométrico N:P previno fenómenos de inhibición por amonio o toxicidad orgánica (Zare, 2018; Shanthi et al., 2021).

Contenido de pigmentos fotosintéticos y productividad de biomasa

Al finalizar el experimento (Día 13), el tratamiento T3 (N:P 20:1) presentó las concentraciones más elevadas de clorofila a ($9,2531 \pm 3,5882$ mg·L⁻¹) y clorofila total ($10,9274 \pm 4,5473$ mg·L⁻¹), superando los valores del control T0 ($8,9061 \pm 5,6109$ mg·L⁻¹) (Tabla 4, Figura 4).

Tabla 4

Concentración de Pigmentos: Clorofila a, b y Total (mg·L⁻¹)

Tratamiento	Clorofila-a (mg·L ⁻¹)	Clorofila-b (mg·L ⁻¹)	Clorofila Total (mg·L ⁻¹)
Control (T0)	7,4603 ± 4,4087	1,4458 ± 1,2114	8,9061 ± 5,6109
T1	5,7638 ± 1,4872	0,6853 ± 0,2935	6,4491 ± 1,7632
T2	6,4672 ± 1,4215	0,9320 ± 0,2716	7,3993 ± 1,6851
T3	9,2531 ± 3,5882	1,6744 ± 0,9665	10,9274 ± 4,5473

El incremento en el contenido de clorofila concuerda con lo reportado por Abdulsamad y Varghese (2017), confirmando que el aporte de oligoelementos y nitrógeno orgánico promueve la síntesis de pigmentos. La optimización del complejo

fotosintético en T3 se tradujo en una mayor producción de biomasa seca final (0,6560 ± 0,0461 g·L⁻¹) y una productividad de 0,0410 ± 0,0029 g·L⁻¹·d⁻¹ (Tabla 5).

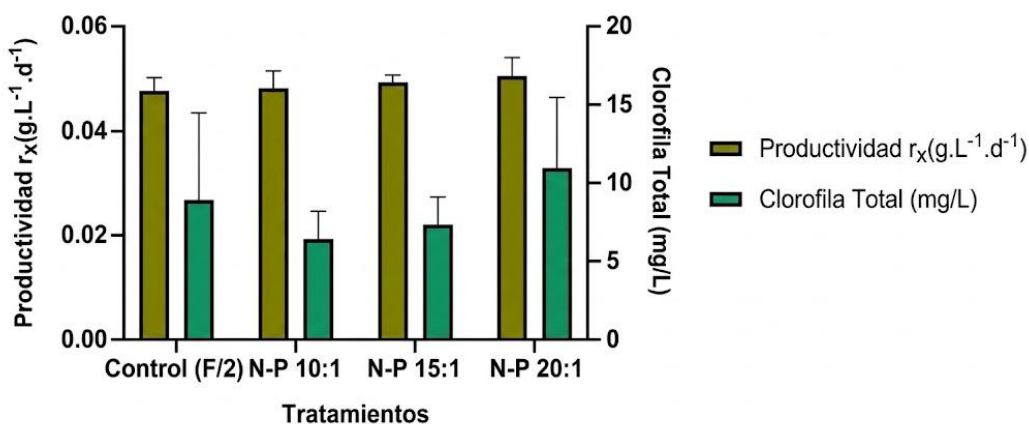
Tabla 5

Rendimiento Gravimétrico: Biomasa Final (g·L⁻¹) y Productividad r_x (g·L⁻¹·d⁻¹)

Tratamiento	Biomasa Final X _r (g·L ⁻¹)	Productividad r _x (g·L ⁻¹ ·d ⁻¹)
Control (T0)	0,6193 ± 0,0319	0.0387 ± 0,0020
T1	0,6267 ± 0,0427	0.0392 ± 0,0027
T2	0,6407 ± 0,0186	0.0400 ± 0,0012
T3	0,6560 ± 0,0461	0.0410 ± 0,0029

Figura 4

Análisis comparativo de clorofila total y productividad de biomasa



Nota. Efecto de las diferentes relaciones N-P del biol sobre la productividad volumétrica r_x (g·L⁻¹·d⁻¹) y la concentración de clorofila total (mg·L⁻¹) en *C. vulgaris*. Las barras representan la media ± desviación estándar (n=3).

A diferencia de dosis volumétricas fijas que corren el riesgo de generar saturación nutricional, la regulación estequiométrica N:P ajusta la asimilación bajo el modelo de Redfield, garantizando el consumo progresivo de nutrientes (Klausmeier et al., 2004).

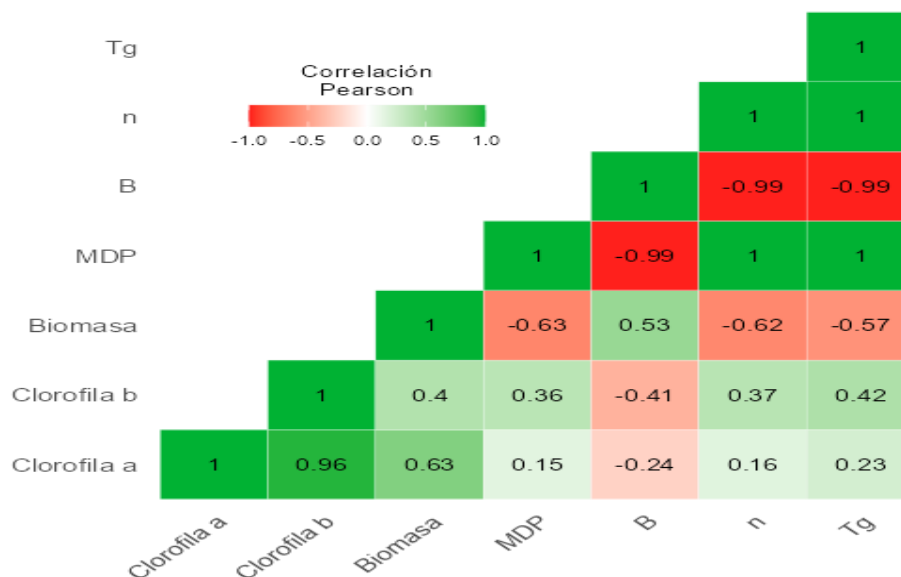
Análisis de correlación de variables

El análisis de correlación de Pearson

evidenció asociaciones significativas entre las variables fisiológicas, cinéticas y gravimétricas (Figura 5). La clorofila a mostró una correlación positiva muy fuerte con la clorofila b (r = 0,96) y una relación positiva moderada con la biomasa final (r = 0,63). Esto confirma que la síntesis de pigmentos promovió la fijación de carbono y el rendimiento de biomasa (Shanthi et al., 2021).

Figura 5

Mapa de calor de correlaciones de Pearson entre 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.

Por su parte, la biomasa seca final presentó una relación positiva con la tasa relativa de crecimiento (B, $r = 0,53$), pero mostró correlaciones negativas con la máxima densidad poblacional ($r = -0,63$), el número de generaciones (n , $r = -0,62$) y el tiempo de duplicación (Tg, $r = -0,57$). Esta respuesta se atribuye al efecto de autosombreado: a densidades elevadas, la atenuación de luz limita la fotosíntesis individual, estabilizando el rendimiento de biomasa por unidad de volumen (Acién et al., 2012).

Se identificó una correlación inversa casi perfecta entre la tasa relativa de crecimiento (B) y el tiempo de duplicación (Tg, $r = -0,99$), así como una relación directa exacta entre la máxima densidad poblacional y el número de generaciones ($r = 1,00$). Esta coherencia estadística respalda la validez del modelo de Gompertz modificado para describir la cinética de *C. vulgaris* bajo suplementación orgánica (Klausmeier et al., 2004; Wang et al., 2018).

Caracterización química y microbiológica del biofertilizante

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 (P₂O₅) de 0.86 % y potasio total (K₂O) 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 dS·mL⁻¹.

Los ensayos microbiológicos confirmaron que el bioinsumo cumple con los criterios de inocuidad y límites de calidad para insumos orgánicos y estándares ambientales (Gómez-Brandón et al., 2024; Ingram & Millner, 2007). Se registró una carga de coliformes totales de $5,2 \times 10^2$ UFC · mL⁻¹, coliformes termotolerantes de $3,5 \times 10^1$ UFC · mL⁻¹ y *Echerichia coli* de 2 UFC · mL⁻¹, con ausencia total de *salmonella sp.* en 25 mL y un recuento de $4,0 \times 10^1$ UFC · mL⁻¹ de *clostridium* sulfitos reductores.

CONCLUSIONES

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.



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.

La cantidad de clorofila, la velocidad del crecimiento y la biomasa de *C. vulgaris*, guardaron una estrecha correlación.

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* y desde el punto vista microbiológico, cumple con los criterios de inocuidad y límites de calidad para insumos orgánicos y estándares ambientales.

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.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acién, F. G., Fernández, 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>
- 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)*.
- 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>
- Benavides, E. J., & Muelas, 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, C., Rodríguez, A., & López, 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>
- Gómez-Brandón, M., Probst, M., & Insam, H. (2024). Microbiological quality control during composting and its application in agriculture. *Sustainability*, 17(9), 4169.
- 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
- 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.
- 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>
- 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.
- Lüring, M. (2021). *Phenotypic plasticity in freshwater phytoplankton*. *Aquatic Ecology*.



- <https://doi.org/10.1007/s10452-020-09820-7>.
- 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>
- 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>
- 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>
- 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, 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/20500.12996/3706>
- 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>