UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

FACULTAD DE CIENCIAS

"ELABORACIÓN DE UN BIOESTIMULANTE A PARTIR DE PENCA DE TUNA, SUERO DE LECHE Y RESIDUOS HIDROBIOLÓGICOS MEDIANTE FERMENTACIÓN HOMOLÁCTICA"

Presentada por:

ZAYURI RIVERA ZEVALLOS

Tesis para Optar el Título Profesional de:

INGENIERA AMBIENTAL

Lima – Perú

2025

La UNALM es la titular de los derechos patrimoniales de la presente investigación (Art. 24. Reglamento de Propiedad Intelectual)

5% Similitud general

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

Filtrado desde el informe

- Bibliografía
- Texto citado
- Texto mencionado
- Coincidencias menores (menos de 12 palabras)

Juan Gabriel Juscamaita Morales

Fuentes principales

5%	Fuentes de Internet
1%	Publicaciones
3%	Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.° de alertas de integridad para revisión

No se han detectado manipulaciones de texto sospechosas.

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.

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA

FACULTAD DE CIENCIAS

“ELABORACIÓN DE UN BIOESTIMULANTE A PARTIR DE PENCA DE TUNA, SUERO DE LECHE Y RESIDUOS HIDROBIOLÓGICOS MEDIANTE FERMENTACIÓN HOMOLÁCTICA”

Presentada por:

ZAYURI RIVERA ZEVALLOS

Tesis para Optar el Título Profesional de:

INGENIERA AMBIENTAL

Sustentada y aprobada por el siguiente jurado:

Ph.D. Clara Gabina Figueroa Cornejo de Armas	Ing. Lawrence Enrique Quipuzco Ushñahua
PRESIDENTE	MIEMBRO
Dra. Fanny Mabel Carhuancho León	Biol. Juan Gabriel Juscamaita Morales
MIEMBRO	ASESOR

DEDICATORIA

Dedico este trabajo de investigación a mis padres, Juana y Miguel, cuyo amor y apoyo incondicional han sido mi mayor fortaleza durante toda mi etapa universitaria. Gracias por acompañarme siempre y por creer en mí.

AGRADECIMIENTOS

Expreso mi sincero agradecimiento al profesor Juan Juscamaita Morales por su constante apoyo durante la elaboración de esta investigación y por su siempre amable disposición para atender mis consultas.

Agradezco también de corazón a mis amigos, quienes me acompañaron y brindaron su apoyo durante el desarrollo de la investigación.

Finalmente, manifiesto mi más profundo agradecimiento a mis padres, cuyo apoyo incondicional fue fundamental para culminar con éxito este proyecto.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN viii

ABSTRACT ix

I. INTRODUCCIÓN 1

II. MARCO TEÓRICO 4

2.1. Marco legal 4

2.2. Tuna - *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller 5

2.2.1. Características morfológicas 6

2.2.1.1. Raíces 6

2.2.1.2. Tallo 7

2.2.1.3. Cladodios 7

2.2.1.4. Hojas 7

2.2.1.5. Flores 8

2.2.1.6. Fruto 8

2.2.2. Cultivo de tuna para crianza de cochinilla 8

2.3. Suero de leche 10

2.4. Residuos hidrobiológicos 11

2.5. Melaza de caña 12

2.6. Fermentación ácido-láctica 13

2.6.1. Bacterias ácido-lácticas (BAL) 15

2.6.1.1. BAL homolácticas 16

2.6.1.2. BAL heterolácticas 17

2.6.2. Uso de bacterias ácido-lácticas (BAL) 18

2.7. Consorcio microbiano 20

2.8. Bioestimulante 21

2.9. Análisis de fitotoxicidad 23

III. METODOLOGÍA 25
3.1. Lugar y periodo de ejecución 25
3.2. Materiales 25
3.2.1. Insumos 25
3.2.2. Materiales 25
3.2.3. Equipos de laboratorio 26
3.2.4. Reactivos 27
3.3. Metodología de la investigación 27
3.3.1. Determinación del tratamiento con mejor desempeño (escala laboratorio) 28
3.3.1.1. Preparación de la unidad experimental 28
3.3.1.2. Preparación de los tratamientos 29
3.3.1.3. Metodología para la determinación del pH 32
3.3.1.4. Metodología para la determinación de la acidez titulable 32
3.3.1.5. Selección del tratamiento con mejor desempeño 33
3.3.1.6. Análisis estadístico 34
3.3.2. Prueba piloto 34
3.3.2.1. Metodología para la determinación del pH 36
3.3.2.2. Metodología para la determinación de la acidez titulable 36
3.3.2.3. Análisis físico-químico 36
3.3.2.4. Análisis microbiológico 38
3.3.2.5. Análisis de fitotoxicidad 38
3.3.2.5.1. Preparación de diluciones 39
3.3.2.5.2. Desarrollo de la prueba 40
3.3.2.5.3. Medida de los puntos finales de evaluación de la fitotoxicidad 40
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 43
4.1. Determinación del tratamiento con mejor desempeño (escala laboratorio) 43
4.1.1. Caracterización inicial de los insumos 43

4.1.2. Evaluación del pH 44
4.1.3. Evaluación de la acidez láctica 48
4.1.4. Selección del tratamiento con mejor desempeño 50
4.2. Prueba piloto 52
4.2.1. Evaluación del pH y de la acidez láctica 52
4.2.2. Análisis físico-químico 54
4.2.2.1. Análisis de la unidad experimental 54
4.2.2.2. Análisis del bioestimulante 56
4.2.3. Análisis microbiológico 63
4.2.3.1. Análisis de la unidad experimental 63
4.2.3.2. Análisis del bioestimulante líquido 64
4.2.4. Análisis de fitotoxicidad del bioestimulante líquido 65
V. CONCLUSIONES 69
VI. RECOMENDACIONES 70
VII. BIBLIOGRAFÍA 71
VIII. ANEXOS 84

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Composición de la melaza de caña de azúcar 13
Tabla 2: Límites de concentración de patógenos en un bioestimulante microbiano 22
Tabla 3: Límites de concentración de patógenos en un bioestimulante no microbiano 23
Tabla 4: Concentraciones límites de los contaminantes en un bioestimulante 23
Tabla 5: Cantidad de insumos empleados en la escala laboratorio 29
Tabla 6: Niveles de GARLAC y melaza en los tratamientos 30
Tabla 7: Composición en masa de los tratamientos 31
Tabla 8: Criterios de selección del tratamiento con mejor desempeño 33
Tabla 9: Parámetros evaluados en el análisis físico-químico 37
Tabla 10: Parámetros evaluados en el análisis microbiológico 38
Tabla 11: Condiciones para la prueba de toxicidad aguda (*Lactuca sativa* L.) 39
Tabla 12: Concentración del bioestimulante para la prueba de fitotoxicidad 40
Tabla 13: Interpretación del índice de germinación (IG) 42
Tabla 14: pH de los insumos para la preparación de los 16 tratamientos 43
Tabla 15: Valores promedio de pH (escala laboratorio) 45
Tabla 16: Valores promedios de acidez láctica en porcentaje (escala laboratorio) 48
Tabla 17: Resultados de la aplicación de los criterios de selección 50
Tabla 18: pH y acidez láctica de la prueba piloto 53
Tabla 19: Análisis físico-químico de la Mezcla 1 (líquida) 55
Tabla 20: Análisis físico-químico del bioestimulante líquido 57
Tabla 21: Análisis físico-químico del bioestimulante sólido (pellets) 59
Tabla 22: Análisis comparativo del bioestimulante sólido y líquido 60
Tabla 23: Cumplimiento de parámetros según Estándares Internacionales 62
Tabla 24: Análisis microbiológico de la Mezcla 1 63
Tabla 25: Análisis microbiológico del bioestimulante líquido 64

Tabla 26: pH y CE de las diluciones del bioestimulante líquido 65

Tabla 27: Resultados del ensayo de fitotoxicidad (primer piloto)..... 66

Tabla 28: Resultados del ensayo de fitotoxicidad (segundo piloto)..... 67

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Poda de la planta de tuna en el cultivo de cochinilla (La Joya, Arequipa) 9

Figura 2: Fermentación homoláctica 17

Figura 3: Fermentación heteroláctica 18

Figura 4: Morfología de la semilla y la plántula de *Lactuca sativa* L. 24

Figura 5: Elaboración de la unidad experimental (escala laboratorio) 29

Figura 6: Procedimiento experimental (escala piloto) 35

Figura 7: Evolución del pH (promedio) por tratamiento 46

Figura 8: Evolución de la acidez láctica (promedio) por tratamiento 49

Figura 9: Evolución del promedio de pH y acidez láctica de la prueba piloto 54

Figura 10: pH y CE promedio de las diluciones del primer y segundo piloto 66

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Ficha técnica de GARLAC 85

Anexo 2: Evaluación diaria de pH (escala laboratorio) 87

Anexo 3: Evaluación diaria del consumo de mL de NaOH (escala laboratorio) 89

Anexo 4: Evaluación diaria del porcentaje de acidez láctica (escala laboratorio) 91

Anexo 5: Prueba estadística para el pH en el día cinco (escala laboratorio) 93

Anexo 6: Prueba estadística para la acidez láctica al día cinco (escala laboratorio) 96

Anexo 7: Balance de masa (prueba piloto) 99

Anexo 8: Registro diario de pH, consumo de NaOH y acidez láctica (prueba piloto) 101

Anexo 9: Análisis físico-químico (prueba piloto) 102

Anexo 10: Análisis microbiológico (prueba piloto) 108

Anexo 11: Resultados del ensayo de fitotoxicidad (bioestimulante líquido) 112

Anexo 12: Registro fotográfico 114

RESUMEN

Esta investigación tuvo como objetivo elaborar un bioestimulante a partir de penca de tuna (*Opuntia ficus-indica*), suero de leche y residuos hidrobiológicos mediante fermentación homoláctica. El estudio se estructuró en dos etapas. En la primera etapa, se evaluaron 16 tratamientos con diferentes concentraciones combinadas de GARLAC (biofertilizante líquido orgánico con microorganismos benéficos) y melaza (0 %, 5 %, 10 % y 15 % en masa respecto a la unidad experimental), utilizando un diseño completamente al azar (DCA), un análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de Tukey, con un nivel de confianza del 95 % ($p < 0.05$). El tratamiento T10 (10 % GARLAC y 10 % melaza) destacó por su bajo pH (3.51) y elevada acidez láctica (3.51 %) al quinto día de fermentación. La unidad experimental consistió en penca de tuna triturada con hidrolizado de pescado. En la segunda etapa, se replicaron dos pruebas piloto del T10, monitoreándose el pH y la acidez láctica durante cinco días. En el último día se registró un pH de 3.39 y 3.08 % de acidez láctica. Se realizó el análisis físico-químico de la materia orgánica de la unidad experimental, el bioestimulante líquido y el bioestimulante sólido (pellets) obtenidos en ambas réplicas en el Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y Fertilizantes. Asimismo, se realizó el análisis microbiológico de la unidad experimental y del bioestimulante líquido en el Laboratorio de Ecología Microbiana y Biotecnología. Finalmente, se evaluó la fitotoxicidad del bioestimulante líquido en semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L.), destacándose las diluciones 0.1 % y 0.01 % por su efecto positivo en el índice de germinación.

Palabras clave: Bioestimulante, bacterias ácido-lácticas (BAL), cladodio de *Opuntia ficus-indica*, valorización, fitotoxicidad.

ABSTRACT

This research aimed to produce a biostimulant from prickly pear cactus cladodes (*Opuntia ficus-indica*), whey, and fish by-products through homolactic fermentation. The study was conducted in two stages. In the first stage, 16 treatments were evaluated using different concentrations of GARLAC (an organic liquid biofertilizer composed of beneficial microorganisms) and sugarcane molasses (0%, 5%, 10%, and 15% by mass relative to the experimental unit) under a completely randomized design (CRD). Analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's test was applied at a 95% confidence level ($p < 0.05$). Treatment T10 (10% GARLAC and 10% molasses) achieved a low and stable pH (3.51) and high lactic acidity (3.51%) on the fifth day of fermentation. Each experimental unit consisted of shredded prickly pear cladodes mixed with fish hydrolysate. In the second stage, two pilot trials of treatment T10 were carried out, with pH and lactic acidity monitored over five days. On the final day, a pH of 3.39 and lactic acidity of 3.08% were recorded. Physicochemical analyses of the organic matter from the experimental unit, the liquid biostimulant, and the solid biostimulant (pellets) obtained from both replicates were conducted at the Laboratory of Soil, Plant, Water, and Fertilizer Analysis. In addition, microbiological analyses of the experimental unit and the liquid biostimulant were performed at the Laboratory of Microbial Ecology and Biotechnology. Finally, the phytotoxicity of the liquid biostimulant was assessed on lettuce seeds (*Lactuca sativa* L.), with the 0.1% and 0.01% dilutions showing the highest germination index values.

Keywords: Biostimulant, lactic acid bacteria (LAB), *Opuntia ficus-indica* cladode, valorization, phytotoxicity.

I. INTRODUCCIÓN

Para el año 2050, el crecimiento de la población mundial generará una demanda cada vez mayor de productos tanto alimentarios como no alimentarios, lo que hace urgente la adopción de prácticas agrícolas sostenibles para satisfacer la demanda de recursos (Calia et al., 2025). A esto se suma el impacto del cambio climático, que está intensificando fenómenos meteorológicos extremos y alterando los patrones de precipitación y temperatura en diversas regiones del planeta. Estas alteraciones intensifican el impacto de la sequía, el estrés térmico y la salinidad, que representan desafíos significativos para la agricultura mundial al reducir el rendimiento de cultivos y acelerar la degradación del suelo (Lau, 2025).

En este contexto, los bioestimulantes se presentan como productos innovadores con alto potencial para incrementar la productividad agrícola de forma sostenible (Calia et al., 2025). Estos compuestos favorecen la actividad fisiológica y metabólica de las plantas, ayudándolas a tolerar condiciones de estrés biótico y abiótico, y a la vez reducen la dependencia de insumos químicos tradicionales (Boutahiri et al., 2024; Carrillo, 2025). Se obtienen de diversas fuentes como microorganismos, extractos de plantas, algas, hidrolizados de proteínas animales o vegetales y sustancias húmicas, y han demostrado eficacia en múltiples cultivos, mejorando la composición química de las plantas, , lo que a su vez potencia sus propiedades nutricionales y su resistencia frente a condiciones adversas (Boutahiri et al., 2024).

Entre las fuentes innovadoras y sostenibles para la producción de bioestimulantes destacan los residuos agrícolas, que constituyen un recurso de gran potencial. En el Perú, durante las campañas de cosecha de cochinilla (*Dactylopius coccus* Costa), se generan grandes volúmenes de residuos de penca de tuna (*Opuntia ficus-indica*), producto de la poda, que suelen abandonarse cerca de los cultivos sin tratamiento alguno.

Esta práctica representa un problema ambiental en las zonas productoras, ya que los residuos de poda no deben dejarse cerca al cultivo, porque pueden seguir creciendo y servir como hospederos de parásitos y patógenos (Potgieter & D'Aquino, 2018). Aunque la penca de tuna se utiliza como forraje o la elaboración de fertilizantes orgánicos (Amaya Robles, 2009), su aprovechamiento en la cadena de producción de cochinilla sigue siendo limitado, lo que evidencia la necesidad de alternativas innovadoras para su valorización y manejo sostenible.

Además de la penca de tuna, otros subproductos como el suero de leche y los residuos hidrobiológicos requieren una gestión adecuada para su aprovechamiento. El suero de leche, subproducto de la fabricación de queso, genera entre 9 y 10 litros por cada kilogramo de queso producido (Padín González & Díaz Fernández, 2009). Según Correa Bernal (2021) y Huambo Abad (2025), tanto en Cajamarca como en Lambayeque, gran parte del suero de leche no aprovechado se descarga directamente al alcantarillado o a fuentes hídricas sin tratamiento previo, lo que genera un desbalance de nutrientes en los cuerpos de agua y afecta su calidad ambiental. Por su parte, los residuos hidrobiológicos incluyen partes del pescado como cabeza, piel, escamas y vísceras, que no se destinan al consumo humano y representan más del 50 % del peso total del pescado (Jiménez Gómez et al., 2022). En ciudades como Arequipa, estos residuos provienen principalmente de terminales pesqueros y puntos de venta mayoristas, donde suelen ser dispuestos de forma inadecuada en botaderos municipales o, en algunos casos, arrojados a canaletas de desagüe, generando malos olores y obstrucciones (Durand Ordiales, 2019; Ulloa Flores, 2022).

En este escenario, las bacterias ácido-lácticas (BAL), representan una opción viable para valorizar estos residuos mediante procesos de fermentación. Las BAL, microorganismos capaces de fermentar carbohidratos para producir ácido láctico, tienen aplicaciones consolidadas en la industria alimentaria, la agricultura y como probióticos (Ren et al., 2025). Destacan por su rápido crecimiento y elevada actividad metabólica, que incluye la síntesis de ácidos orgánicos, bacteriocinas y péptidos antimicrobianos (Garrote Achou et al., 2025). Las BAL se utilizan no solo para realzar el sabor y el valor nutricional de los alimentos fermentados y prolongar su vida útil, sino también para inhibir patógenos y microorganismos causantes de descomposición (Bintsis, 2018; Caballero Gómez et al., 2025; Garrote Achou et al., 2025).

Estas bacterias requieren medios de cultivo que contengan fuentes de carbono, nitrógeno, minerales, vitaminas y ácidos grasos para su óptimo desarrollo (Yeboah et al., 2023). La penca de tuna, constituye una fuente importante de carbono y minerales como calcio, fósforo, hierro y vitamina C (Godenzi Vargas, 2018). Por su parte, el hidrolizado de pescado aporta aminoácidos y péptidos esenciales como fuente de nitrógeno, cubriendo así los exigentes requerimientos nutricionales de las BAL. En cuanto a su clasificación, las BAL se dividen en homolácticas y heterolácticas, según el destino metabólico de la glucosa; las homolácticas presentan la ventaja de convertir hasta el 85 % de los carbohidratos en ácido láctico sin producir CO_2 (Parra Huertas, 2010).

De esta manera, el uso de penca de tuna, suero de leche y residuos de pescado como sustratos para las BAL homolácticas se perfila como una alternativa sostenible para la elaboración de bioestimulantes, al contribuir a la valorización de residuos y a la reducción de impactos ambientales.

El objetivo general de la presente investigación fue elaborar un bioestimulante a partir de penca de tuna (*Opuntia ficus-indica*), suero de leche y residuos hidrobiológicos mediante fermentación homoláctica. Los objetivos específicos planteados fueron:

- Evaluar el pH y la acidez láctica durante el proceso fermentativo.

- Caracterizar la materia orgánica, macroelementos, microelementos y elementos pesados del bioestimulante líquido y sólido obtenidos.

- Determinar el contenido microbiológico del bioestimulante líquido en cuanto a coliformes totales, coliformes fecales, *Escherichia coli*, recuento de mohos y levaduras, aerobios mesófilos y bacterias ácido-lácticas.

- Evaluar la fitotoxicidad del bioestimulante líquido en semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) de la variedad Duett.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Marco legal

La presente investigación, orientada a la elaboración de un bioestimulante a partir de penca de tuna, suero de leche y residuos hidrobiológicos, se sustenta en el marco normativo nacional que promueve la valorización de residuos orgánicos con el propósito de contribuir a la conservación ambiente. Una de las principales referencias legales es el Decreto Legislativo Nº 1278 - Ley de Gestión Integral de Residuos Sólidos, que impulsa los procesos de valorización material y energética de residuos sólidos como el compostaje o la producción de fertilizantes a partir de residuos, priorizando aquellas alternativas que reduzcan la disposición final. Esta disposición resulta relevante para el desarrollo del bioestimulante propuesto, al permitir la transformación de residuos orgánicos en insumos agrícolas, alineándose con la visión de economía circular y mitigación del cambio climático mediante la reducción de emisiones de gases de efecto invernadero (GEI).

En complemento, el Decreto Supremo N.º 014-2017-MINAM, que aprueba el reglamento de la citada ley, detalla medidas para una gestión responsable de los residuos sólidos, orientadas a minimizar su generación desde la fuente y fomentar su valorización. Bajo este marco, el uso de residuos en la elaboración de productos como el propuesto encuentra respaldo normativo, promoviendo así prácticas agrícolas más sostenibles.

De manera específica, el Decreto Supremo N.º 016-2012-AG - Reglamento de Manejo de los Residuos Sólidos del Sector Agrario, que regula el manejo de residuos sólidos del sector agrario, promueve el reaprovechamiento eficiente de los recursos obtenidos a partir de residuos sólidos no peligrosos generados en actividades agropecuarias y agroindustriales, fortaleciendo el enfoque de sostenibilidad productiva.

A su vez, el Decreto Supremo Nº 006-2024-MIDAGRI, que aprueba el Reglamento de Gestión Ambiental del Sector Agrario y de Riego, establece lineamientos para eliminar prácticas inadecuadas en el manejo de residuos, impulsar su valorización y avanzar hacia un modelo productivo circular. En ese sentido, la formulación de este bioestimulante representa una respuesta práctica a dicho enfoque, al utilizar recursos de origen vegetal, lácteo e hidrobiológico con el objetivo de reducir la generación de desechos y optimizar su aprovechamiento.

Finalmente, la Hoja de Ruta hacia una Economía Circular en el Sector Agrario y de Riego, aprobada mediante Decreto Supremo Nº 007-2025-MIDAGRI, refuerza esta perspectiva a través de cinco ejes estratégicos. En particular, el Eje 2: Impulso de modelos de negocios circulares, resulta especialmente pertinente, ya que su línea de acción 2.6 propone "promover la valorización y la transformación de los residuos sólidos obtenidos en las actividades agrarias para la generación de subproductos de valor agregado". En concordancia con lo establecido en dicha línea de acción, esta investigación contribuye a la valorización de residuos orgánicos de origen agrario, lácteo e hidrobiológico, convirtiéndolos en un insumo agrícola de alto valor.

2.2. Tuna - *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller

La tuna llegó a Europa hacia finales del siglo XV. Posteriormente, en 1753, Carolus Linnaeus la clasificó como *Cactus ficus-indica*. No obstante, en 1768, Philip Miller la reasignó al género *Opuntia* (Leuenberger, 1991, citado por Reyes-Agüero et al., 2005).

Sáenz (2006) expresa que la tuna es una cactácea originaria de las regiones tropicales y subtropicales de América. Actualmente, esta planta se encuentra en diversas condiciones agroclimáticas a lo largo del continente americano, tanto en forma silvestre como cultivada, y ha logrado expandirse a otros continentes.

México es reconocido como el centro de origen de la tuna, debido a que alberga una alta cantidad y variedad de especies, favorecidas por factores como un material genético de alta diversidad y una amplia gama de climas en los que se encuentra la planta. Por otra parte, diversos historiadores concuerdan en que la tuna posee dos centros de origen principales: la

Meseta Central de México y la zona occidental de los Andes de Perú y Bolivia (Sierra y Selva Exportadora, 2022a).

En el Perú, la tuna presenta mejor desarrollo en los valles interandinos que se encuentran entre los 1200 y 2800 metros de altitud, aunque también pueden prosperar entre 0 a 3000 metros de altitud. En la costa se cultiva bajo sistema de riego, mientras que en la sierra mayormente bajo secano. La tuna está adaptada para desarrollarse en zonas desérticas, con temperatura ambiente entre 14 y 26 °C y una humedad relativa entre 55 y 85 %. Se adapta a suelos con buen drenaje, debido a que no tolera el exceso de humedad en el suelo (Villagomez Izaguirre, 2000).

2.2.1. Características morfológicas

Según Adli et al. (2019), la tuna posee espinas que son hojas modificadas, mientras que sus tallos, formados por ramas aplanadas llamadas cladodios (también conocidas como pencas, paletas o palas), asumen funciones propias de las hojas, como la fotosíntesis y la transpiración. Esta adaptación le permite almacenar agua durante los periodos secos, favorecida por la menor cantidad de poros en comparación con las hojas y por la presencia de un recubrimiento ceroso.

Según Amaya Robles (2009), las plantaciones comerciales de tuna suelen tener una vida útil promedio de entre 5 y 7 años; sin embargo, con un buen manejo del cultivo, pueden mantenerse productivas por hasta 80 años, alcanzando un rendimiento de entre 80 y 90 toneladas de masa fresca por hectárea.

A continuación, se presente la descripción morfológica de la planta de tuna:

2.2.1.1. Raíces

La tuna posee raíces cortas que se desarrollan entre 10 y 30 cm de profundidad, lo que favorece su respuesta a las lluvias ligeras características de las regiones áridas y semiáridas (Lozano, 2011). Según Almanza-Merchán y Fischer (2005), su sistema radicular es pivotante, con un eje primario y numerosas raíces secundarias.

2.2.1.2. Tallo

La tuna es una cactácea arborescente que alcanza entre 3 y 5 metros de altura. Posee un tronco leñoso que puede medir entre 20 y 50 cm de diámetro. Su tallo está constituido por un tronco formado por pencas con corteza gruesa que han perdido el color verde, y por ramas aplanadas, conocidas botánicamente como cladodios, que presentan una cutícula gruesa (Amaya Robles, 2009).

Según Almanza-Merchán y Fischer (2005), el tallo de la tuna posee estomas que se abren durante la noche para captar dióxido de carbono (CO_2), un proceso característico del metabolismo ácido de las crasuláceas (CAM), adaptado a condiciones de aridez.

Amaya Robles (2009) también destaca que los tallos de la tuna se emplean como alimento para el ganado, particularmente durante periodos de sequía. Además, son utilizados en la creación de cercos vivos, y los residuos de la poda pueden aprovecharse para la elaboración de fertilizantes orgánicos.

2.2.1.3. Cladodios

Las denominadas pencas, de color verde y cubiertas por una cutícula lipídica que reduce la deshidratación, son estructuras modificadas encargadas de realizar la fotosíntesis. Estas presentan areolas con espinas y estomas que permanecen cerrados durante el día para minimizar la pérdida de agua. De acuerdo con Amaya Robles (2009), los cladodios poseen un alto contenido de agua, que puede representar hasta el 95 % de su peso. Según Godenzi Vargas (2018), las pencas son además ricas en minerales como calcio, fósforo y hierro, y destacan por su contenido de vitamina C.

2.2.1.4. Hojas

Las espinas de la tuna, en forma de garra y engrosadas en su base, se encuentran en los cladodios internos, desempeñando un papel defensivo durante el crecimiento de nuevas pencas. Conforme estas estructuras se desarrollan, las hojas iniciales desaparecen y son sustituidas por espinas (Amaya Robles, 2009).

2.2.1.5. Flores

Son sésiles, hermafroditas y solitarias, se localizan en la parte superior de la penca, puede tener pétalos de colores vivos como blanco, amarillo, rosa, naranja y rojo (Sáenz et al., 2006).

2.2.1.6. Fruto

El fruto de la tuna es una baya de pulpa carnosa, cuya forma y dimensiones son variables, pudiendo ser ovoides, redondos, elípticos o con extremos aplanados, entre otras. Los colores de los frutos varían, abarcando tonos rojos, naranjas, amarillos, verdes e incluso púrpuras (Sáenz et al., 2006).

2.2.2. Cultivo de tuna para crianza de cochinilla

Un uso destacado de la tuna es como planta hospedera para la cochinilla (*Dactylopius coccus* Costa), un insecto que se alimenta de su savia y del cual se extrae el carmín, un pigmento natural ampliamente utilizado en las industrias alimentaria, textil, farmacéutica y cosmética. La cochinilla, aunque considerada una plaga, puede ser beneficiosa o perjudicial dependiendo del objetivo productivo. Por ello, no se recomienda establecer plantaciones mixtas destinadas tanto a la producción de fruta como a la crianza de cochinilla (Amaya Robles, 2009). En la actualidad, Perú es el principal productor mundial de carmín, cubriendo aproximadamente el 80 % de la demanda de los países consumidores (Sierra y Selva Exportadora, 2022b).

Estos insectos se agrupan formando estructuras visibles como almohadillas blancas sobre las pencas. La recolección se realiza cuando las hembras alcanzan la madurez, y dependiendo del grado de infestación y el tipo de plantación, se pueden obtener entre dos y tres cosechas al año. Sin embargo, lo más recomendable es realizar dos cosechas anuales: la primera a los cuatro meses y medio, cuando la penca presenta infestación completa en ambos lados, y la segunda tres meses y medio después, la cual puede coincidir con la poda (Antezana Cerón, 2017).



Figura 1: Poda de la planta de tuna en el cultivo de cochinilla (La Joya, Arequipa)
FUENTE: Fotografía digital inédita proporcionada por el investigador Juan Juscamaita Morales (2024). Utilizada con autorización del autor.

En términos de rendimiento, Anculle Arenas et al. (2017) reportó un rendimiento de producción de cochinilla seca que varía entre 477 y 612 kg/ha para el distrito de La Joya en Arequipa. Aunque estos rendimientos no son bajos, podrían optimizarse mediante la aplicación de técnicas de cultivo más eficientes. Cabe destacar que en La Joya se puede producir y cultivar cochinilla todo el año debido a que su clima brinda las condiciones ideales (Sierra y Selva exportadora, 2022b).

Para la crianza de cochinilla, es fundamental contar con una alta proporción de pencas jóvenes, ya que aproximadamente el 90 % de estos insectos se localizan en las pencas subterminales (pencas nuevas). Por ello, la poda resulta esencial, especialmente en plantas de gran altura, no solo para promover la formación de nuevas pencas sino también para mantener una arquitectura adecuada de la planta. En las zonas costeras, se sugiere retirar los brotes florales para impedir que los frutos consuman nutrientes clave para el desarrollo de la planta (Alvarez, 2002).

Para asegurar una producción eficiente de cochinilla, es esencial que el suelo cuente con una buena disponibilidad de nutrientes. Para promover el desarrollo del tejido vegetativo, se recomienda suministrar una cantidad significativa de nitrógeno. Este fertilizante debe incorporarse al suelo entre los meses de setiembre y enero, distribuyendo su aplicación en tres etapas. En la primera aplicación de fertilizantes, que se realiza en setiembre, se

recomienda aplicar un tercio del nitrógeno total junto con la dosis completa de fósforo y potasio. El resto del nitrógeno debe distribuirse en dos partes iguales, aplicándose a los dos y cuatro meses después de la siembra (Alvarez, 2002).

Durante el segundo año tras la siembra definitiva, se recomienda aplicar un fertilizante con una relación de nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K) de 100-100-50. Para el tercer año en adelante, esta dosis debe incrementarse a una proporción de 150-100-50 con el fin de favorecer el crecimiento adecuado de la planta y mantener la producción de cochinilla (Alvarez, 2002).

2.3. Suero de leche

El suero de leche es el subproducto resultante del proceso de elaboración del queso, obtenido cuando la leche no se coagula por acción del cuajo (renina, una enzima digestiva presente en los rumiantes) o por efecto de la acidez (Guerrero-Haber et al., 2011 y Poveda E., 2013).

Poveda E. (2013) señala que el suero de leche es la fracción líquida que se separa del coágulo durante la producción de queso. Este líquido contiene tanto partículas suspendidas solubles como no solubles, incluyendo proteínas, lípidos, carbohidratos, vitaminas y minerales. Por su parte, la fracción sólida está compuesta principalmente por proteínas insolubles, grasas y algunos componentes solubles en agua.

Guerrero-Haber et al. (2011) argumenta que el suero de leche conserva una proporción significativa de los componentes originales de la leche, incluyendo lactosa, proteínas solubles como lactoalbúminas y lactoglobulinas, lípidos, vitaminas hidrosolubles y sales minerales como citratos, fosfatos, calcio, potasio. Por su parte, Aider et al. (2009) argumentan que cerca del 85 % de la leche usada en la producción de queso se convierte en suero, el cual conserva alrededor del 55 % de los nutrientes originales. Por su parte Poveda E. (2013) señala que el suero lácteo puede llegar a contener hasta el 90 % del calcio, potasio, fósforo, sodio y magnesio que se encuentra en la leche. Asimismo, aclara que la composición del suero puede variar dependiendo de factores como las características de la leche utilizada, el tipo de queso producido y la tecnología aplicada durante el procesamiento.

Según Poveda E. (2013), el suero lácteo se clasifica en dos tipos: el suero dulce, que proviene de la coagulación enzimática y contiene más lactosa, y el suero ácido, que se forma por acción de ácidos y presenta una mayor cantidad de proteínas. Según Spreer (1991), citado por Alava Viteri et al. (2014), cuando el suero se obtiene mediante coagulación enzimática, su potencial de hidrógeno (pH) puede ser superior a 6, por lo cual este tipo de suero es denominado suero dulce.

2.4. Residuos hidrobiológicos

Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 2018), el procesamiento del pescado genera una gran cantidad de residuos de materia prima que no se aprovechan. En muchos casos, estos residuos pueden representar entre el 30 % y el 70 % del peso fresco, entre las partes que se eliminan se encuentran las cabezas, huesos, espinas y vísceras. Por otra parte, el Instituto Tecnológico de la Producción (ITP, 2020) señala que los residuos pesqueros superan el 50 % del peso total del producto; entre 15 % a 20 % de recortes de músculo, 1% a 3% de piel y aletas, 9 % a 15 % de espinas, 9 % a 12 % de cabezas y 12 % a 18 % de vísceras.

Según Huss (1999), la composición química de los peces presenta variaciones tanto entre diferentes especies como dentro de una misma especie, y está influenciada por factores como la edad y el ambiente donde viven. El músculo de pescado presenta entre 16 a 21 % de proteínas, entre 0.2-25 % de lípidos, menos de 0.5 % de carbohidratos, entre 1.2 – 1.5 % de cenizas y entre 66-81 % de agua.

Rustad et al. (2011) mencionan que los subproductos de las operaciones de fileteado de pescado se han utilizado principalmente para la producción de productos a granel de bajo valor como ensilado, harina de pescado y carne picada, lo que resulta en una baja ganancia para la industria pesquera.

Además, los pescados son productos perecederos si no se procesan en un corto plazo tras su extracción. Según la FAO (2018), mediante el ensilado es posible preservar estos residuos para su aprovechamiento en la alimentación de animales menores. Asimismo, pueden utilizarse como fertilizante natural para cultivos.

2.5. Melaza de caña

La melaza de caña es un subproducto común del proceso de extracción de azúcar, se emplea ampliamente en la alimentación animal, especialmente como fuente energética para rumiantes debido a su composición nutricional (Palmonari et al., 2020).

La melaza es el residuo que queda tras la cristalización final del azúcar, del cual ya no es posible extraer más azúcar por métodos físicos (Fajardo Castillo & Sarmiento Forero, 2007). Vega-Baudrit et al. (2008) sostienen que su composición es variable y depende de factores como la variedad de caña, las condiciones climáticas, el tipo de suelo y el proceso industrial. Además, el pH de la melaza suele estar entre 5 y 6.1, con un contenido de sólidos disueltos (grados Brix) de entre 68 y 75 % (Castro, 1993, citado por Barrera Vaca, 2011).

La melaza se utiliza como sustrato en el cultivo de bacterias ácido-lácticas (BAL) debido a que contiene componentes esenciales que favorecen su crecimiento y permiten una rápida proliferación del microorganismo. Su uso representa una alternativa costo-beneficio viable en términos de producción y rentabilidad, ya que es un subproducto disponible y económico. La melaza contiene sales, sustancias no fermentables y melanoidinas, compuestos a base de nitrógeno que se forman cuando los azúcares reaccionan con aminoácidos presentes naturalmente en la caña de azúcar durante el calentamiento. Todo esto la convierte en un medio nutritivo adecuado para el desarrollo de estos microorganismos (Ossa et al., 2010).

Entre los principales componentes de la melaza se encuentran el agua y los carbohidratos como se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1: Composición de la melaza de caña de azúcar

Componente	Composición (%)
Agua	20
Sacarosa	35
Glucosa	7
Levulosa	9
Otras sustancias reductoras	3
Otros carbohidratos	4
Cenizas	12
Compuestos nitrogenados	4.5
Compuestos no nitrogenados	5
Ceras, esteroides y esterofosfolípidos	0.4

FUENTE: Vega-Baudrit et al. (2008)

2.6. Fermentación ácido-láctica

El ácido láctico es un metabolito con una larga historia en la industria alimentaria debido a su capacidad para conservar alimentos y extender su vida útil, además de aportar características sensoriales como sabor, olor y textura. Pasteur descubrió que no es un componente que se encuentra en la leche, sino que es producido por la fermentación que realizan ciertos microorganismos (Orozco Olivarez, 2011; Parra Huertas, 2010).

El ácido láctico tiene un impacto favorable en el valor promotor de la salud de los alimentos debido a la presencia de microorganismos probióticos y al aumento de nutrientes en el producto. También, pueden aumentar la seguridad microbiana. Durante un proceso de fermentación, el desarrollo de microflora indeseable y la formación de compuestos desfavorables es inhibido por los metabolitos de los microorganismos que participan en la fermentación (Zapaśnik, 2022).

El antagonismo bacteriano se reconoce desde hace más de un siglo, pero en los últimos años este fenómeno ha recibido mayor atención científica, especialmente con el uso de diversas cepas de bacterias ácido-lácticas (BAL). Algunas cepas de BAL han demostrado actividad antimicrobiana contra bacterias, levaduras y hongos filamentosos. Además, en los últimos años, numerosos autores han demostrado que las BAL tienen la capacidad de neutralizar las micotoxinas producidas por este último grupo, su actividad antimicrobiana se basa principalmente en la producción de metabolitos como ácido láctico, ácidos orgánicos, hidroperóxido y bacteriocinas (Zapaśnik, 2022). Parra Huertas (2010) indica que también producen polisacáridos, vitaminas y endulzantes.

Actualmente se puede producir ácido láctico mediante síntesis química o fermentación microbiana (Farooq et al., 2012). Los procesos de fermentación se pueden encontrar en diversos ecosistemas naturales, así como en entornos artificiales, como las fábricas industriales. En estos ecosistemas, diversos microorganismos fermentadores cooperan o compiten por el sustrato, lo que determina las rutas metabólicas y, en consecuencia, los productos finales (Ciani et al., 2008).

La fermentación se ha consolidado como el método preferido para la producción de ácido láctico de alta pureza en la industria, principalmente por sus ventajas sobre la síntesis química. Según Ghaffar et al. (2014), las tendencias recientes destacan que este enfoque biotecnológico resulta más favorable debido a las crecientes preocupaciones ambientales, lo que ha llevado a priorizar métodos sostenibles y menos contaminantes.

Por su parte, Orozco Olivarez (2011) destaca que la producción biotecnológica permite aprovechar sustratos orgánicos ricos en carbohidratos, como las melazas y el suero de leche, siendo este último uno de los productos más utilizados para la producción de ácido láctico. En este sentido, Ghaffar et al. (2014) también expresan que el uso de materias primas y subproductos agrícolas o agroindustriales, junto con su potencial para ser procesados de forma ecológica mediante fermentación, los convierte en opciones atractivas para producir compuestos de alto valor con diversas aplicaciones.

2.6.1. Bacterias ácido-lácticas (BAL)

Las BAL poseen una amplia diversidad de aplicaciones en la obtención de yogurt, encurtidos, ensilados, así como en la producción de cerveza y vino. Además, los probióticos pertenecientes a este grupo, ya sea en cultivos puros o combinados, al ser ingeridos en cantidades adecuadas por humanos o animales, ayudan a mejorar la salud (Ramírez Ramírez et al., 2011).

Las BAL comprenden aproximadamente 20 géneros que comparten características morfológicas, fisiológicas y metabólicas. Entre los principales se encuentran *Lactobacillus* (el género más numeroso), *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Bifidobacterium* (Parra Huertas, 2010). En términos generales, son cocos o bacilos Gram positivos, no móviles, no esporulados, anaerobios, aerotolerantes o microaerofílicos, carecen de catalasa y fermentan carbohidratos produciendo principalmente ácido láctico (Orozco Olivarez, 2011; Ramírez Ramírez et al., 2011).

Parra Huertas (2010) indica que la temperatura influye significativamente en el crecimiento de las BAL, y que la temperatura óptima depende tanto del tipo de microorganismo como del entorno en que se desarrollan. Según este criterio, las BAL se dividen en mesófilas y termófilas.

Ramírez Ramírez et al. (2011) indican que las BAL presentan tolerancia a un rango amplio de pH, que va desde 3.2 hasta 9.6, aunque su crecimiento óptimo suele darse entre un pH de 4 y 4.5. Asimismo, sostienen que la leche constituye un medio adecuado para su desarrollo, al igual que ciertos cereales, vegetales y carnes.

Yeboah et al. (2023) afirman que las BAL tienen requerimientos nutricionales exigentes, los cuales pueden variar entre especies e incluso cepas. El medio de cultivo de estos microorganismos suele estar compuesto por carbohidratos (fuente de carbono), proteínas como aminoácidos y péptidos (fuente de nitrógeno), minerales, vitaminas y ácidos grasos. Estos componentes cumplen la función de favorecer el crecimiento, desarrollo y las actividades metabólicas de los microorganismos. Parra Huertas (2010) señala que la mayoría de las BAL necesitan carbohidratos fermentables y alcoholes como fuentes de energía,

además de aminoácidos y vitaminas del complejo B, tales como riboflavina, tiamina, biotina, ácido nicotínico, ácido pantoténico y ácido fólico.

Los hidrolizados de proteína se utilizan habitualmente como medios de cultivo para BAL como fuentes de aminoácidos, péptidos, derivados de ácidos nucleicos, vitaminas y minerales. Los péptidos se convierten en aminoácidos libres y otras sustancias mediante la acción de enzimas proteasas o mediante proteólisis, lo que genera aminoácidos y péptidos. Algunos ejemplos de fuentes de nitrógeno son los extractos de carne, la leche, la proteína de suero y el suero de leche. Las BAL requieren pequeñas cantidades de Fe^{2+}, Mg^{2+}, Ca^{2+}, K^{+} y Na^{+}, que funcionan como factores estimulantes para el transporte de nutrientes y la actividad enzimática (Yeboah et al., 2023).

Normalmente, las actividades metabólicas de las BAL dan lugar a la formación y producción de numerosas sustancias valiosas y útiles, como ácidos orgánicos, compuestos antibióticos y enzimas especializadas que pueden descomponer moléculas orgánicas complejas en otras más simples y aprovechables (Yeboah et al., 2023).

Orozco Olivarez (2011) y Parra Huertas (2010) sostienen que Orla-Jensen fue el primero en clasificar a las BAL en el año 1919, dividiéndolas en dos grupos según el tipo de fermentación que realizan a partir de glucosa para obtener su producto final: 1) BAL homofermentativas u homolácticas, que transforman las hexosas principalmente en lactato, y 2) BAL heterofermentativas o heterolácticas, que degradan las hexosas generando una mezcla de productos como lactato, etanol, acetato y dióxido de carbono (CO_2), así como, en algunos casos, formiato o succinato.

2.6.1.1. BAL homolácticas

Las BAL homolácticas emplean la ruta Embden-Meyerhoff-Parnas (EMP) para transformar un mol de glucosa en dos moles de ácido láctico, como se muestra en la Figura 2. Mediante esta vía, pueden llegar a producir más de 85 % de ácido láctico a partir de la glucosa. Entre los géneros representativos de este grupo se encuentran *Lactococcus*, *Pediococcus, Enterococcus y Streptococcus.* Además, se incluye el género *Lactobacillus*, que se caracteriza por ser bacilos largos, que pueden encontrarse de forma aislada o en cadenas

cortas, con alta capacidad acidificante y una intensa actividad energética y caseolítica. Estos microorganismos cuentan con las enzimas aldolasa y hexosa isomerasa, pero no poseen fosfocetolasa. Asimismo, los *Streptococcus*, con morfología esférica en cadenas, se destacan por su rápida acidificación, aunque presentan baja actividad caseolítica (Parra Huertas, 2010 y Ramírez Ramírez et al., 2011).

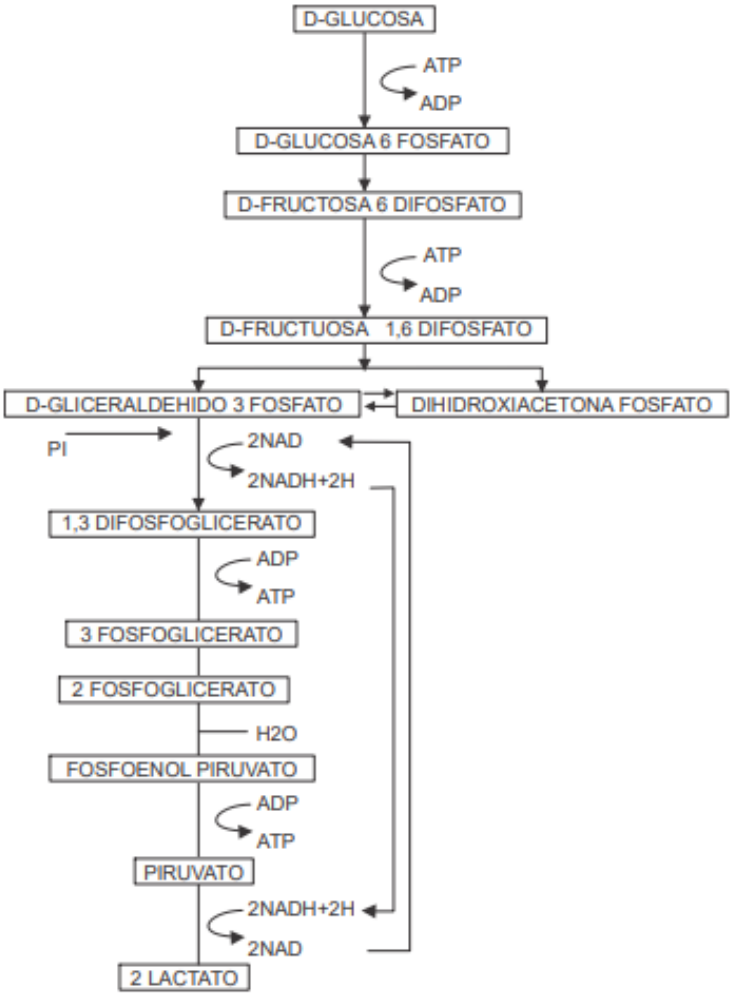


Figura 2: Fermentación homoláctica
FUENTE: Parra Huertas (2010)

2.6.1.2. BAL heterolácticas

Parra Huertas (2010) y Ramírez Ramírez et al. (2011) indican que las BAL heterolácticas producen aproximadamente 50 % de ácido láctico, ya que convierten un mol de glucosa en un mol de ácido láctico, un mol de etanol, un mol de dióxido de carbono (CO_2) y un mol de ATP, como se muestra en la Figura 3. Estas bacterias no utilizan la ruta de Embden-

Meyerhof-Parnas (EMP), debido a que carecen de las enzimas aldolasa y hexosa isomerasa. En cambio, emplean las rutas de la hexosa monofosfato o la vía de las pentosas, facilitadas por la enzima fosfocetolasa. En este grupo los principales representantes son bacterias de los géneros *Lactococcus, Lactobacillus, Enteroccus, Streptococcus, Leuconostoc y Pediococcus.*

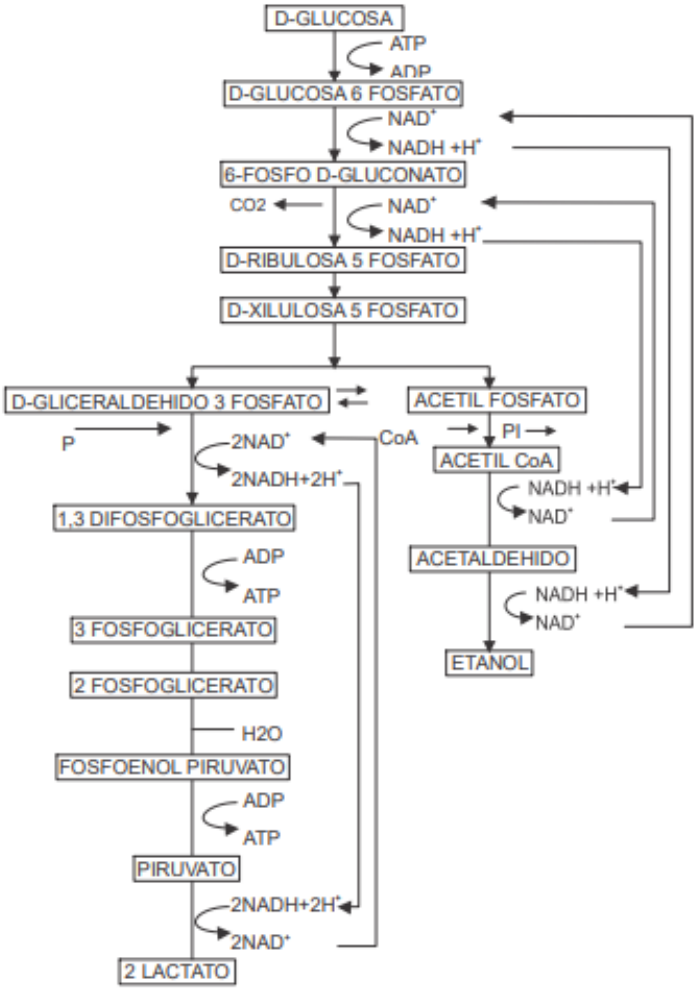


Figura 3: Fermentación heteroláctica
FUENTE: Parra Huertas (2010)

2.6.2. Uso de bacterias ácido-lácticas (BAL)

Las BAL incluyen entre sus principales géneros a *Lactobacillus, Lactococcus, Streptococcus, Pediococcus, Enterococcus, Leuconostoc* y *Carnobacterium*. Estas bacterias desempeñan un papel fundamental en la fermentación y conservación de alimentos y piensos, ya sea como parte de la microbiota natural o como cultivos iniciadores introducidos

bajo condiciones controladas. Su participación en estos procesos permite el desarrollo de productos con características sensoriales específicas y una mayor estabilidad microbiológica (De Angelis & Calasso, 2014).me

Las BAL son utilizadas como agentes bioconservantes en la industria alimentaria. En los últimos años, diversas cepas de BAL han sido reconocidas y aplicadas como probióticos, no solo por sus propiedades nutricionales y beneficios para la salud (De Angelis & Calasso, 2014). Además, contribuyen a prolongar la vida útil de los alimentos fermentados al inhibir el crecimiento de bacterias de descomposición y microorganismos patógenos, lo cual logran mediante la competencia por nutrientes disponibles y la producción de diversos compuestos antimicrobianos, como ácidos orgánicos (láctico y acético), CO_2, etanol, peróxido de hidrógeno (H_2O_2), metabolitos secundarios y múltiples bacteriocinas (De Angelis & Calasso, 2014; Teughels et al., 2011).

Las BAL producen metabolitos inhibidores de otros microorganismos, las bacteriocinas, polipéptidos sintetizados por bacterias que pueden tener un efecto bactericida o bacteriostático sobre otras bacterias (Bintsis, 2018; Ren et al., 2025). Por ello, desempeñan un papel importante en la fermentación de alimentos, ya que ayudan a prevenir su deterioro y la presencia de patógenos. Caballero Gómez et al. (2025) señalan que, en general, las cepas productoras de bacteriocina pertenecen en su mayoría a los géneros *Lactobacillus* y *Lactococcus*, y están clasificadas como generalmente reconocidas como seguras (GRAS). La bacteriocina más conocida es la nisina, que ha adquirido una amplia aplicación en la industria alimentaria y se utiliza como aditivo alimentario en al menos 50 países, especialmente en quesos procesados, productos lácteos y alimentos enlatados (Bintsis, 2018). Por otra parte, Caballero Gómez et al. (2025) y Daeschel (1993) mencionan que las bacteriocinas son activas contra especies Grampositivas y no inhiben a las bacterias Gramnegativas, levaduras ni mohos.

Según Bedón León y Quintana Latorre (2018) la propagación de las BAL mantiene un pH entre 3.5 y 4.5; además, la población bacteriana es susceptible a los cambios drásticos de pH, si se incrementa o disminuye se puede inhibir el proceso fermentativo. Por otra parte, según Ramírez Ramírez et al. (2011) el desarrollo de estas bacterias se da entre 4.5 y 6 de

pH, y detienen su actividad entre 3.2 y 3.8 de pH, aunque con un rendimiento de ácido láctico variado según sean homolácticas o heterolácticas.

Oude Elferink et al. (2001) declaran que las BAL también se utilizan en el ensilado, una técnica destinada a conservar forrajes para la alimentación del ganado. Estas bacterias pueden encontrarse de forma nativa en el forraje o ser añadidas como cultivos iniciadores para inducir la fermentación láctica en estado sólido bajo condiciones anaeróbicas. Durante esta fermentación, los carbohidratos solubles se transforman en ácidos orgánicos, predominando el ácido láctico. Como resultado, el pH se reduce hasta niveles que inhiben el crecimiento de bacterias indeseables y permiten conservar la mayor parte del forraje.

Ramírez Ramírez et al. (2011) mencionan que también se utilizan BAL en el ensilaje de pescado, las BAL que se añaden emplean una fuente de carbohidratos soluble, como la melaza, para producir ácido láctico. Como resultado, se obtiene un suplemento proteico para animales que puede almacenarse a temperatura ambiente durante un período prolongado sin que se reduzca su valor nutricional.

2.7. Consorcio microbiano

Un consorcio microbiano es una comunidad de bacterias que, al unirse, combinan sus capacidades metabólicas para descomponer sustancias que no podrían procesar individualmente; es decir, aprovechan su asociación para superar su barrera energética (Arellano Realpe & Benítez Morales, 2017).

Según García et al. (2019) las asociaciones microbianas son frecuentes en los alimentos y bebidas fermentados tradicionales, lo que les confiere sus propiedades organolépticas, físicas y nutricionales características. En estos consorcios, las BAL suelen ser los principales iniciadores bacterianos, generalmente combinados con otras especies como bacterias del ácido propiónico, acético y levaduras. La capacidad de las BAL para producir diversos metabolitos influye en el establecimiento de asociaciones con otros microorganismos, que pueden ser positivas, negativas o neutras. En fermentaciones líquidas, controlar estas interacciones es un desafío debido a la rápida tasa de bioconversión y la liberación directa de los metabolitos en el medio.

En la presente investigación se utilizará un consorcio de microorganismos benéficos clasificados como GRAS, comercializado bajo el nombre de GARLAC, biofertilizante líquido orgánico 100 % natural y acidificante orgánico, que consiste en un concentrado microbiano líquido destinado al uso agropecuario. Según su ficha técnica (Anexo 1), este biofertilizante acelera la descomposición de la materia orgánica en el suelo. Cuando se aplica directamente al suelo agrícola, el conjunto de bacterias benéficas y sus metabolitos contribuye a regular el pH y mejora la solubilidad de nutrientes como el fósforo, el azufre y otros elementos esenciales, aumentando su disponibilidad para las plantas y favoreciendo una absorción más eficiente. Por su parte, la aplicación foliar actúa como bioestimulante, activando los procesos de crecimiento y desarrollo vegetal. GARLAC presenta un pH de entre 3.5 y 3.9, y está compuesto por ácidos orgánicos, aminoácidos libres, péptidos, factores de crecimiento, activadores del metabolismo vegetal, microorganismos aerobios viables y bacterias ácido-lácticas probióticas.

2.8. Bioestimulante

La definición y el concepto de los bioestimulantes de plantas continúa desarrollándose, en parte debido a la amplia variedad de compuestos que pueden incluirse en esta categoría (Calvo et al., 2014). Estos productos agrícolas pueden derivarse de múltiples fuentes, incluidas aquellas provenientes de materiales residuales o subproductos (Calia et al., 2025). Esta diversidad ha contribuido a que la definición actual sea poco precisa y a que, en el mercado, el término se utilice de forma amplia para describir una amplia gama de compuestos, desde extractos de origen vegetal hasta sustancias derivadas de animales (Saborío, 2022).

Aunque los bioestimulantes no se consideran nutrientes, pesticidas ni reguladores del crecimiento, pueden generar efectos positivos en distintas etapas del desarrollo vegetal, tales como la germinación, el crecimiento vegetativo, la floración, el cuajado y la formación de frutos, incluso cuando se aplican en pequeñas cantidades (Saborío, 2022).

Du Jardin (2015) señala que, aunque los bioestimulantes pueden contener compuestos con valor nutricional, no se clasifican como fertilizantes, ya que su función principal no es suministrar nutrientes directamente. En su lugar, favorecen la asimilación de nutrientes

mediante la movilización en la rizosfera o el desarrollo de nuevas vías de absorción, como la fijación del nitrógeno atmosférico en interacción con bacterias endosimbióticas.

De acuerdo con lo establecido en el Reglamento (UE) 2019/1009, un bioestimulante es un tipo de fertilizante cuyo propósito no es aportar nutrientes directamente, sino estimular los mecanismos de nutrición de las plantas, independientemente de su contenido nutricional. Su objetivo es mejorar uno o varios de los siguientes aspectos: a) eficiencia en el uso de nutrientes, b) tolerancia al estrés abiótico, c) características de calidad, o d) disponibilidad de nutrientes inmovilizados en el suelo o la rizosfera.

Este reglamento clasifica a los bioestimulantes en dos tipos: microbianos y no microbianos. El bioestimulante microbiano está conformado por uno o varios microorganismos (*Azotobacter* spp., hongos micorrícicos, *Rhizobium* spp. *y Azospirillum* spp.) (Ganugi et al., 2021). Además, estos productos no deben contener patógenos por encima de los límites establecidos en la Tabla 2 y Tabla 3.

Tabla 2: Límites de concentración de patógenos en un bioestimulante microbiano

Microorganismo, sus toxinas y metabolitos	Límite
Escherichia coli	Ausencia en 1 g o 1 mL
Salmonella spp., *Listeria monocytogenes*, *Vibrio* spp., *Shigella* spp. y *Staphylococcus aureus*	Ausencia en 25 g o 25 mL
Enterococos	10 UFC/g
Recuento anaeróbico de placas *	10^5 UFC/g o mL
Recuento de levaduras y mohos **	1 000 UFC/g o mL

Nota: * Aplica, salvo que el bioestimulante sea una bacteria aerobia. ** Aplica, salvo que el bioestimulante sea un hongo.
FUENTE: Reglamento (UE) 2019/1009

Tabla 3: Límites de concentración de patógenos en un bioestimulante no microbiano

Microorganismos sometidos a ensayo	Concentración (mg/kg de materia seca)
Salmonella spp.	Ausencia en 25 g o 25 mL
Escherichia coli o enterococos	1000 en 1 g o 1 mL

FUENTE: Reglamento (UE) 2019/1009

Asimismo, el Reglamento (UE) 2019/1009 establece que los bioestimulante deben cumplir con límites específicos de contaminantes para garantizar su seguridad. En el caso del caso del cobre (Cu) no debe superar los 600 mg/kg de materia seca, y el de zinc (Zn) no debe superar los 1500 mg/kg de materia seca. En la Tabla 4 se presentan los límites de concentración para contaminantes en productos bioestimulante.

Tabla 4: Concentraciones límites de los contaminantes en un bioestimulante

Contaminante	Concentración (mg/kg de materia seca)
Cadmio (Cd)	1.5
Cromo hexavalente (Cr VI)	2
Plomo (Pb)	120
Mercurio (Hg)	1
Níquel (Ni)	50
Arsénico inorgánico (As)	40

FUENTE: Reglamento (UE) 2019/1009

2.9. Análisis de fitotoxicidad

Esta prueba permite analizar los posibles efectos fitotóxicos de diversas sustancias, ya sean compuestos puros o mezclas complejas, sobre la germinación de semillas y el desarrollo inicial de las plántulas. Durante esta fase temprana de crecimiento ocurren múltiples procesos fisiológicos que pueden verse afectados por la presencia de agentes tóxicos (Sobrero & Ronco, 2008).

Según Sobrero y Ronco (2008), el uso de semillas de lechuga resulta adecuado para evaluar la influencia de bioestimulantes en esta etapa, ya que ofrecen información representativa tanto a nivel de germinación como en el desarrollo de plántulas. Este procedimiento incluye la medición de la elongación de la radícula y del hipocótilo (véase Figura 4), parámetros que permiten detectar efectos tóxicos incluso en concentraciones bajas de compuestos solubles, las cuales podrían no impedir la germinación, pero sí afectar el crecimiento de estas estructuras

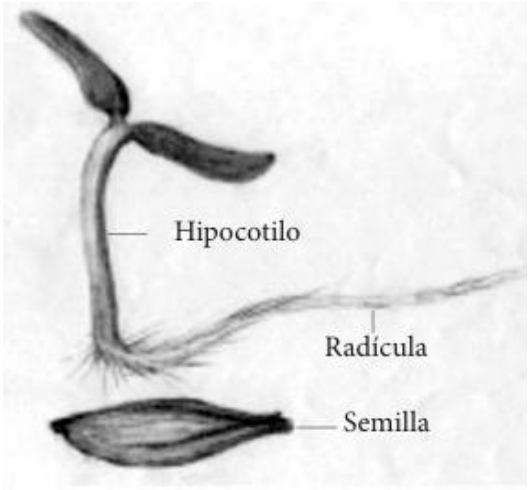


Figura 4: Morfología de la semilla y la plántula de *Lactuca sativa* L.
FUENTE: Sobrero y Ronco (2008)

III. METODOLOGÍA

3.1. Lugar y periodo de ejecución

La investigación planteada se desarrolló en el Laboratorio de Biotecnología Ambiental-Biorremediación "Luis Basto Acosta" de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Agraria La Molina entre los meses de enero y marzo del 2025.

3.2. Materiales

3.2.1. Insumos

- Penca de tuna procedente de la provincia de Huarochirí (Lima, Perú).
- Suero de leche, obtenido de la Agropecuaria Villa Asís S.R.L.
- Residuos hidrobiológicos, conformado exclusivamente por residuos de pescado colectados de mercados locales.
- Melaza de caña, obtenida de la empresa agropecuaria El Comedero S.R.L.
- Consorcio de microorganismos benéficos (GARLAC) producido por QOLLKA FER S.A.C.
- Semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) variedad Duett del Centro de Investigación de Hidroponía y Nutrición Mineral de la UNALM.

3.2.2. Materiales

- Agua destilada
- Alcohol 96°
- Bagueta de laboratorio
- Bandejas de metal

- Bolsas de plástico de 5L
- Bolsas plásticas (negras)
- Bureta de vidrio de 25 mL
- Caja térmica de Tecnopor
- Colador metálico
- Cuchillo
- Espátula con terminal en pala y cuchara
- Guantes de látex talla S
- Ligas de hule
- Malla antiáfida
- Marcador indeleble
- Matraces aforados de 100 mL
- Micropipeta 1000-5000 μL
- Papel filtro de rápida absorción
- Papel milimetrado
- Papel toalla
- Piceta
- Pinzas
- Placas de Petri esterilizadas de 10 cm de diámetro
- Portaobjetos y cubreobjetos
- Probeta de 50 mL
- Recipientes de plástico con tapa de 1 Kg
- Vasos precipitados de 50 mL y 100 mL

3.2.3. Equipos de laboratorio

- Agitador magnético ECOPLATE-PLUS TOPSCIEN
- Autoclave de 30 L de capacidad
- Balanza de precisión de 510 g YP5102
- Balanza electrónica de capacidad de 20 kg Henkel BST30
- Barra magnética
- Batidora de inmersión Thomas

- Biorreactor Modelo BPH76 (producto nacional) de 120 L de capacidad
- Conductímetro (HANNA INSTRUMENTS)
- Estufa de laboratorio Ovens
- Estufa de secado marca Memmert
- Licuadora de 1.5 L marca Thomas
- Máquina peletizadora de matriz plana modelo ZLSP 150B, fabricada por Anyang Gemco Energy Machinery Co., Ltd.
- Microscopio binocular biológico CX-31
- Paleta mezcladora de metal
- Potenciómetro Hanna instruments modelo HI1230
- Prensa hidráulica con manómetro 20 ton MQP120 FERTON
- Soporte universal
- Taladro Makita
- Termómetro de mercurio

3.2.4. Reactivos

- Hidróxido de sodio (NaOH) sólido
- Solución buffer de pH 7.01 Hanna instruments HI 7007
- Solución buffer de pH 4.01 Hanna instruments HI 7007

3.3. Metodología de la investigación

La presente investigación se estructuró en dos etapas. En la primera, se evaluaron 16 tratamientos con diferentes concentraciones combinadas de GARLAC (biofertilizante líquido orgánico con microorganismos benéficos) y melaza (0 %, 5 %, 10 % y 15 % en masa respecto a la unidad experimental), con el objetivo de identificar el tratamiento con mejor desempeño para la formulación del bioestimulante. La segunda etapa consistió en una prueba piloto, en la que se replicó el tratamiento seleccionado.

3.3.1. Determinación del tratamiento con mejor desempeño (escala laboratorio)

3.3.1.1. Preparación de la unidad experimental

El proceso de preparación de la unidad experimental comenzó con la hidrólisis de 4.2 kg de residuos hidrobiológicos (espinas, cabezas, vísceras y carne de pescado) y 10.5 kg de suero de leche, en una proporción 2:5 (masa). La reacción se llevó a cabo en un biorreactor a 70 ºC durante una hora, bajo agitación constante.

El hidrolizado se obtuvo mediante hidrólisis enzimática utilizando vísceras de pescado como fuente de enzimas endógenas para la ruptura de enlaces peptídicos, con el fin de liberar aminoácidos y péptidos de bajo peso molecular (Nuzhyna et al., 2024). Para garantizar la acción enzimática, se aseguró la incorporación de vísceras al biorreactor. Antes de iniciar el proceso, se tomó una muestra del suero de leche refrigerado del día anterior, registrándose un pH de 6.24.

Se recolectaron las fracciones líquida y sólida del producto hidrolizado obtenido en el biorreactor. Se obtuvieron 13.3 kg de la fase líquida (hidrolizado de pescado), la cual fue extraída a través del conducto de salida ubicado en la parte inferior del biorreactor. Asimismo, se recolectaron 0.61 kg de la fase sólida (huesos de pescado) desde la base del biorreactor con la ayuda de un cucharón de madera. Esta fracción no fue utilizada en la escala laboratorio de la investigación.

Para la obtención de la unidad experimental (Mezcla 1), la penca de tuna fue cortada previamente en trozos de entre 1 y 2 cm, y luego triturada junto con el hidrolizado de pescado (pH 6.4) en una proporción 1:1 (masa). En total, se emplearon 13.3. kg de penca de tuna y 13.3 kg de hidrolizado de pescado. La mezcla fue procesada inicialmente con una paleta mezcladora de metal acoplada a un taladro, y posteriormente se utilizó una batidora de inmersión para reducir aún más el tamaño de partícula de la penca. Como resultado, se obtuvieron 26 kg de la Mezcla 1.

Para los tratamientos a escala laboratorio se requirieron, en total, 24 kg de Mezcla 1 (compuesta por hidrolizado de pescado y penca de tuna). La producción se realizó con un

excedente intencional, para compensar posibles pérdidas durante el proceso de obtención de dicha mezcla. Para asegurar la obtención de 24 kg de Mezcla 1, la cantidad de insumos utilizados se presentan en la Tabla 5.

Tabla 5: Cantidad de insumos empleados en la escala laboratorio

Insumo	Masa (kg)
Residuos hidrobiológicos	4.2
Suero de leche	10.5
Penca de tuna	13.3

La Figura 5 muestra una descripción del procedimiento seguido para la elaboración de la unidad experimental (Mezcla 1) a escala laboratorio.

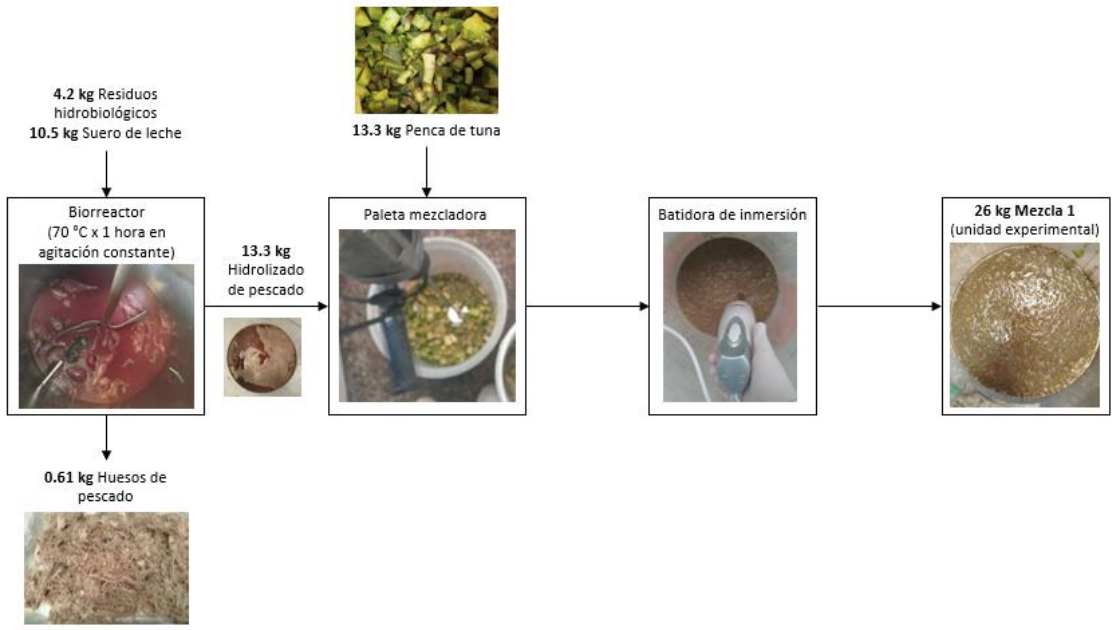


Figura 5: Elaboración de la unidad experimental (escala laboratorio)

3.3.1.2. Preparación de los tratamientos

Para determinar la proporción óptima de melaza de caña y GARLAC a añadir en la Mezcla 1 para la prueba piloto, se evaluaron 16 tratamientos, cada uno con tres repeticiones, según se detalla en la Tabla 6.

Tabla 6: Niveles de GARLAC y melaza en los tratamientos

GARLAC	Melaza			
	0 %	**5 %**	**10 %**	**15 %**
0 %	T0	T1	T2	T3
5 %	T4	T5	T6	T7
10 %	T8	T9	T10	T11
15 %	T12	T13	T14	T15

Previamente a la preparación de los 16 tratamientos y sus tres repeticiones, se midió el pH de la Mezcla 1, la melaza de caña y el GARLAC. Cada tratamiento se preparó en un recipiente de plástico con capacidad de 1 kg. La unidad experimental fue la misma en todos los tratamientos, se añadió 500 g de la Mezcla 1 en cada uno de los 48 envases. Posteriormente, estos fueron rotulados de forma aleatoria, indicando el número de tratamiento y la repetición correspondiente (1, 2 o 3).

A continuación, se agregó la melaza en la proporción correspondiente a cada tratamiento, seguida de la adición de GARLAC. La mezcla fue homogeneizada manualmente con una bagueta en cada recipiente. Lo composición en masa de cada tratamiento se presenta en la Tabla 7.

Tabla 7: Composición en masa de los tratamientos

Tratamientos	GARLAC (g)	Melaza (g)	Unidad experimental (g)	Masa final (g)
T0 (control)	0	0	500	500
T1	0	25	500	525
T2	0	50	500	550
T3	0	75	500	575
T4	25	0	500	525
T5	25	25	500	550
T6	25	50	500	575
T7	25	75	500	600
T8	50	0	500	550
T9	50	25	500	575
T10	50	50	500	600
T11	50	75	500	625
T12	75	0	500	575
T13	75	25	500	600
T14	75	50	500	625
T15	75	75	500	650

Nota: T = tratamiento

Antes de cerrar los recipientes y generar condiciones anaerobias a cada tratamiento mediante la cobertura de la superficie con una bolsa de plástico, se recolectó una muestra de cada uno para determinar la acidez titulable, y se midió el pH directamente en el recipiente. A continuación, se realizó un segundo rotulado en la tapa de cada envase para garantizar la correcta identificación de todos los tratamientos. Posteriormente, los recipientes fueron incubados a 40 ºC durante cinco días.

La elección de esta temperatura se fundamenta en el rango óptimo de crecimiento de los microorganismos mesófilos, los cuales se desarrollan adecuadamente entre 20 °C y 45 °C,

según lo descrito por Willey et al. (2023). Específicamente, los 40 °C se encuentran próximos al límite superior de este intervalo, lo que permite maximizar la actividad metabólica de las bacterias mesófilas sin comprometer su viabilidad.

Durante el periodo de evaluación, para la toma de muestras y mediciones diarias, los recipientes fueron retirados de la estufa por tratamiento. Inmediatamente después de la medición de pH y la recolección de muestra para análisis de acidez titulable, se devolvieron a la estufa asegurando mantener las condiciones anaerobias para todos los tratamientos.

3.3.1.3. Metodología para la determinación del pH

La medición del pH se realizó directamente en el recipiente de cada tratamiento utilizando un potenciómetro HI 1230, previamente calibrado con soluciones buffer de pH 4.01 y 7.01. Antes de cada medición, la mezcla fue homogeneizada manualmente con una bagueta, tras lo cual se insertó el electrodo en la muestra hasta que el valor de pH se estabilizara, momento en el cual se registró la lectura. Luego de cada medición, el electrodo fue enjuagado con agua destilada para evitar la contaminación entre muestras.

3.3.1.4. Metodología para la determinación de la acidez titulable

La metodología seleccionada para determinar la acidez titulable se basa en el Método Estandarizado 942.15 (Association of Official Analytical Chemistry 2007). Para lo cual se siguió el siguiente procedimiento:

- Pesar 4 g de muestra
- Diluir la muestra en 50 mL de agua destilada de pH 7.2 para la fase de laboratorio.
- Homogeneizar la muestra
- Titular con NaOH 0.1N hasta lograr obtener el pH en un rango de 8.1±0.2
- Los cálculos se basan en la siguiente fórmula:

$$\%\ Acidez\ titulable\ = \frac{G\ x\ N\ x\ f}{m} x\ 100$$

Donde:

- G: Gasto de NaOH (mL)
- N: Normalidad de NaOH
- m: Masa de la muestra (g)
- f: Factor apropiado para ácido láctico (0.09)

3.3.1.5. Selección del tratamiento con mejor desempeño

La Tabla 8 presenta los criterios propuestos para la selección del tratamiento con mejor desempeño, adaptados de Leiva Trujillo (2018) al contexto del presente estudio.

Tabla 8: Criterios de selección del tratamiento con mejor desempeño

Criterios	Se acepta	Se rechaza
pH	pH < 4 y estabilidad del valor durante los últimos días del ensayo	pH ≥ 4
Olor	Agradable	Desagradable
Presencia de hongos	Ausencia de hongos	Presencia de hongos
Análisis estadístico	ANOVA significativo al 95 % de confianza (lo que indica que al menos una de las medias de los tratamientos es diferente), seguido de una prueba de Tukey significativa al mismo nivel de confianza (lo que permite identificar específicamente qué tratamientos presentan efectos distintos entre sí).	ANOVA no significativo al 95 % de confianza.

FUENTE: Adaptado de Leiva Trujillo (2018)

Los criterios presentados en la Tabla 8 incluyen parámetros físicos, sensoriales y analíticos, evaluados principalmente al quinto día, excepto cuando el criterio especifica un momento distinto.”

El pH se evaluó como indicador del grado de acidificación del tratamiento, asociado con la estabilidad microbiológica de los tratamientos analizados. El olor ayudó a realizar una evaluación sensorial cualitativa para identificar la presencia de olores desagradables en los

distintos tratamientos. Evaluar la presencia de hongos (mohos y levaduras) mediante la observación de acumulaciones blanquecinas en la superficie de cada tratamiento sirvió para detectar contaminación fúngica. Asimismo, el análisis estadístico descriptivo proporcionó el sustento necesario para identificar diferencias significativas entre tratamientos. Para ello, se consideraron los datos obtenidos en el día cinco del proceso fermentativo, incluyendo todas las repeticiones de cada tratamiento.

La integración de estos criterios permitió una evaluación integral del desempeño de cada tratamiento, con el objetivo de identificar el tratamiento con mejor desempeño en términos de estabilidad, inocuidad y aceptabilidad.

3.3.1.6. Análisis estadístico

El análisis estadístico del pH y la acidez láctica (%) para el día cinco se realizó mediante un análisis de varianza (ANOVA) para un nivel de confianza de 95 %, bajo un diseño experimental completamente al azar (DCA) con arreglo factorial 4x4 y tres repeticiones por tratamiento. Antes de aplicar el ANOVA, se verificaron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas. La normalidad de los residuos fue evaluada mediante la prueba de Shapiro–Wilk modificada, y la homogeneidad de varianzas mediante la prueba de Levene. Una vez comprobado el cumplimiento de estos supuestos, se aplicó la prueba de comparaciones múltiples de Tukey ($p < 0,05$) para determinar diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos evaluados con distintas combinaciones de melaza y GARLAC. El análisis de los datos se realizó utilizando el software libre InfoStat.

3.3.2. Prueba piloto

Se realizaron dos pruebas a escala piloto, replicando el tratamiento que obtuvo los mejores resultados según los criterios establecidos en la Tabla 8.

La Figura 6 muestra el desarrollo completo de la prueba piloto, desde su inicio hasta la obtención de los productos finales.

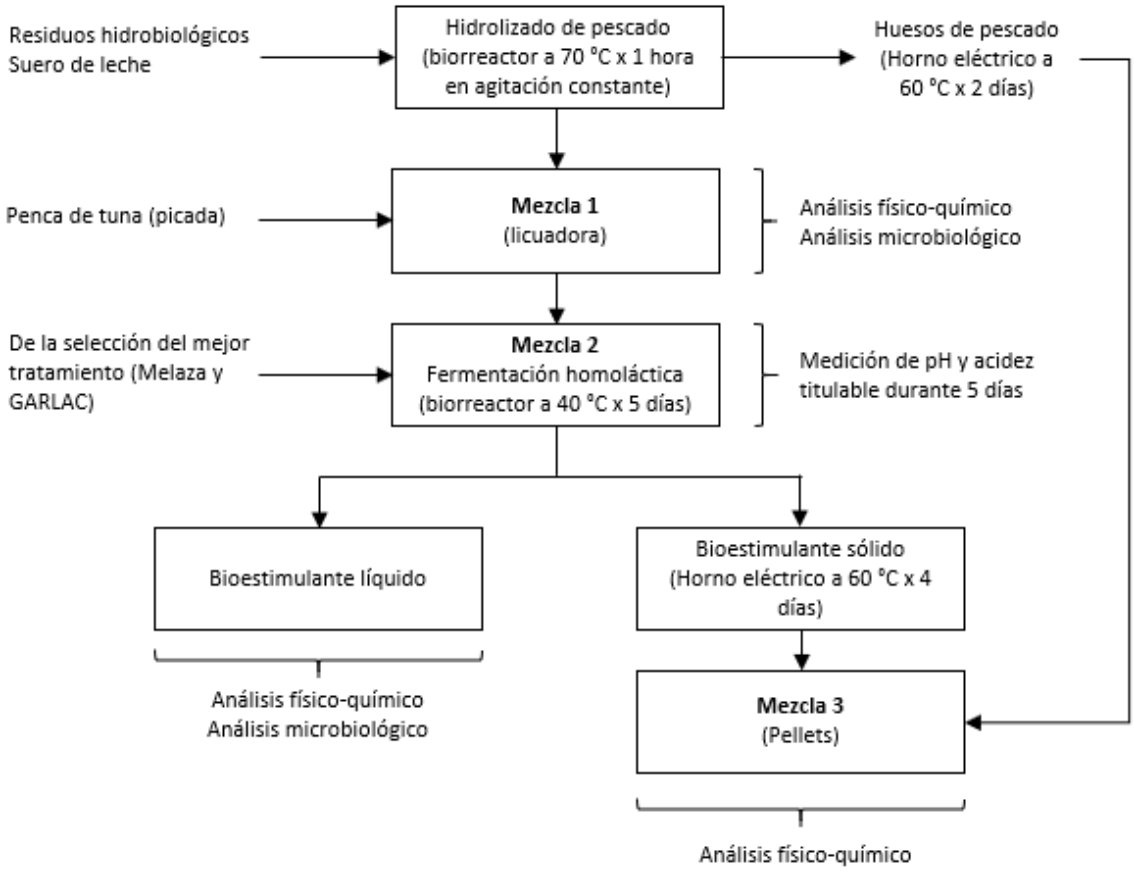


Figura 6: Procedimiento experimental (escala piloto)

En esta etapa, se replicó el tratamiento con mejor desempeño, añadiendo a la Mezcla 1 la proporción de melaza y consorcio microbiano GARLAC correspondiente al tratamiento con mejor desempeño seleccionado de los ensayos a escala laboratorio. La fermentación homoláctica se llevó a cabo en un biorreactor a 40 °C durante cinco días. Finalmente, la Mezcla 2 se cubrió con una bolsa de plástico adherida a su superficie para generar las condiciones anaerobias necesarias para el proceso.

De manera análoga al procedimiento realizado a escala laboratorio, en la prueba piloto se evaluaron el pH y la acidez titulable durante un periodo de cinco días, considerando como día cero el valor inicial registrado. Una vez completado el proceso de fermentación homoláctica, se procedió a la separación de las fracciones líquida y sólida del bioestimulante utilizando una prensa hidráulica y malla antiáfida.

En la escala piloto se obtendrán tres mezclas, siendo la Mezcla 3 el resultado de la incorporación de huesos de pescado al bioestimulante sólido seco, la cual fue transformada en pellets.

3.3.2.1. Metodología para la determinación del pH

La medición del pH se realizó diariamente durante cinco días, incluyendo el día cero, conforme a la metodología descrita en el apartado 3.3.1.3. En la prueba piloto, antes de la toma de muestras, se activó la paleta mezcladora del biorreactor con el fin de homogeneizar la Mezcla 2 y reducir la variabilidad entre muestras. Posteriormente, se extrajeron tres alícuotas de aproximadamente 200 mL cada una para la medición del pH.

3.3.2.2. Metodología para la determinación de la acidez titulable

Paralelamente a la medición del pH, se tomaron muestras para la determinación de la acidez titulable. Esta se evaluó diariamente durante cinco días, incluido el día cero, conforme a lo descrito en el apartado 3.3.1.4.

3.3.2.3. Análisis físico-químico

Se realizó el análisis físico-químico en el Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas, Agua y Fertilizantes (LASPAF) de la Facultad de Agronomía de la UNALM, a las siguientes muestras: Mezcla 1 (unidad experimental, compuesto de hidrolizado de pescado y penca de tuna), bioestimulante líquido y bioestimulante sólido (pellets). Los parámetros analizados para las muestras líquidas y sólidas se detallan en la Tabla 9..

Tabla 9: Parámetros evaluados en el análisis físico-químico

Análisis	Parámetro	Metodología empleada
Propiedades generales	pH (en solución)	Potenciometría
	pH_{es} (en extracto)*	
	CE (en solución)	Conductímetro
	CE_{es} (en extracto)*	
	Materia orgánica en solución (carbono orgánico total)	Calcinación de material orgánico
	Materia orgánica* (carbono orgánico)	Método Walkley y Black o del Dicromato de potasio.
Macroelementos	N (Nitrógeno total)	Método macro-Kjeldahl
		Método micro-Kjeldahl*
	P (fósforo total)	Amarillo del Vanadato Molibdato
		Método Olsen*
	K (potasio total), Ca (calcio total), Mg (magnesio total), Na (sodio total)	Espectrofotometría de absorción atómica (digestión nitroperclórica)
Microelementos	Cu (cobre total), Mn (manganeso total), Fe (hierro total) y Zn (zinc total)	Espectrofotometría de absorción atómica (digestión nitroperclórica)
	B (boro total)	Espectrofotometría UV visible (método de la curcumina)
Elementos pesados	Pb (plomo total), Cr (cromo total) y Cd (cadmio total)	Espectrofotometría de absorción atómica (digestión nitroperclórica)

Nota: El asterisco (*) indica que el análisis se realizó sobre la muestra sólida (pellets); CE corresponde a la Conductividad Eléctrica.

El propósito de realizar estos análisis es determinar la composición del bioestimulante elaborado y verificar que los niveles de elementos presentes no excedan los límites establecidos por los reglamentos internacionales de referencia para la concentración máxima

permitida de contaminantes. De esta manera, se asegura que el producto final sea inocuo tanto para las plantas como para el entorno donde se aplique.

3.3.2.4. Análisis microbiológico

El análisis microbiológico para la Mezcla 1 y el bioestimulante líquido se llevó a cabo en el Laboratorio de Ecología Microbiana y Biotecnología "Marino Tabusso". Los parámetros evaluados se presentan en la Tabla 10.

Tabla 10: Parámetros evaluados en el análisis microbiológico

Parámetro	Metodología
Enumeración de coliformes totales (NMP/mL)	International Commission on Microbiological Specifications for Foods. 1983. 2da Ed. Vol 1 Part II, (Trad. 1988) Reimp. 2000. Editorial Acribia.
Enumeración de coliformes fecales (NMP/mL)	
Enumeración *Escherichia coli* (NMP/mL)	
Recuento de mohos y levaduras (UFC/mL)	
Recuento de bacterias ácido-lácticas (UFC/mL)	
Recuento de aerobios mesófilos (UFC/mL)	

Nota: NMP = Número más probable; UFC = Unidades formadoras de colonias.

3.3.2.5. Análisis de fitotoxicidad

Para el análisis de fitotoxicidad se utilizaron semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) variedad Duett, siguiendo la metodología descrita por Sobrero y Ronco (2008). En la Tabla 11 se presentan las condiciones recomendadas para las pruebas de toxicidad aguda.

Tabla 11: Condiciones para la prueba de toxicidad aguda (*Lactuca sativa* L.)

Condición	Especificaciones
Tipo de ensayo	Estático
Temperatura	20 ±2 ºC
Calidad de luz	Oscuridad
Volumen de la solución de prueba	4 mL
Agua de dilución	Agua destilada
Número de semillas por réplica	20
Número de réplicas	3
Duración de la prueba	120 horas
Efecto medido	Inhibición en la elongación de la radícula. Inhibición en la germinación.
Aceptabilidad de resultados	Germinación > 90 % en el control
Resultado final	PGR, CRR y IG

FUENTE: Adaptado de Sobrero y Ronco (2008)

Se realizó una única modificación a las condiciones establecidas, con el fin de adaptar el método a las particularidades de la presente investigación. Esta consistió en desarrollar el ensayo a temperatura ambiente durante el mes de febrero (verano), razón por la cual se seleccionó la semilla de lechuga de la variedad Duett, recomendada por el Centro de Investigación de Hidroponía y Nutrición Mineral de la UNALM por su tolerancia a las altas temperaturas propias de esta estación.

3.3.2.5.1. Preparación de diluciones

Para encontrar la dilución óptima del bioestimulante líquido para la germinación de semillas y elongación de radículas, se realizaron las siguientes diluciones en agua destilada (0/100, 100/100, 10/100, 1/100, 0.1/100, 0.01/100), tal como se describe en la Tabla 12.

Tabla 12: Concentración del bioestimulante para la prueba de fitotoxicidad

Dilución	Concentración del bioestimulante
D0 (control, agua destilada)	0/100
D1 (puro)	100/100
D2	10/100
D3	1/100
D4	0.1/100
D5	0.01/100

Además, al finalizar la prueba se registraron el pH y la conductividad eléctrica de cada dilución, incluyendo el control D0 (0/100).

3.3.2.5.2. Desarrollo de la prueba

Para la realización del procedimiento, el material (placas Petri) fue esterilizado en autoclave a 121 °C, 15 PSI durante 20 minutos. Para iniciar el ensayo, se colocó papel filtro dentro de cada placa Petri, el cual fue humedecido con 4 mL de las diluciones preparadas. Posteriormente, con la ayuda de una pinza se colocaron 20 semillas de lechuga distribuidas de manera uniforme en cada placa (seis diluciones, con tres repeticiones cada una). Las placas fueron cubiertas con sus respectivas tapas para evitar la pérdida de humedad y la contaminación por microorganismos presentes en el ambiente, y se rotularon con marcador indeleble para su correcta identificación.

Una vez preparadas todas las repeticiones, se almacenaron en un lugar oscuro (caja térmica de Tecnopor) a temperatura ambiente. Las mediciones diurnas mostraron que durante el ensayo la temperatura al interior de la caja alcanzaba valores de 30 °C.

3.3.2.5.3. Medida de los puntos finales de evaluación de la fitotoxicidad

Al finalizar las 120 horas de evaluación, se contabilizó el número de semillas germinadas en cada tratamiento y sus respectivas repeticiones. Asimismo, se midió la elongación de las

radículas utilizando una regla de metal y papel milimetrado, a fin de realizar los cálculos correspondientes para obtener el índice de germinación de cada dilución según la metodología utilizada por Varnero et al. (2007).

Porcentaje de Germinación Relativo (PGR):

$$PGR = \frac{Número\ de\ semillas\ germinadas\ en\ la\ muestra}{Número\ de\ semillas\ germinadas\ en\ el\ control} x\ 100$$

Crecimiento de Radícula Relativo (CRR):

$$CRR = \frac{Elongación\ de\ radículas\ en\ la\ muestra}{Elongación\ de\ radículas\ en\ el\ control} x\ 100$$

Índice de Germinación (IG):

$$IG = \frac{PGR\ x\ CRR}{100}$$

El índice de germinación (IG) es una variable útil que integra diferentes niveles de fitotoxicidad, por lo que cual es un indicador confiable para describir el potencial fitotóxico de un material orgánico (Varnero et al., 2007)

Los resultados que se obtienen de IG según Pentreath et al. (2015) y Huerta Muñoz et al. (2015) se clasifican en 3 categorías: severa, moderada y leve, las cuales se interpretan como se muestra en la Tabla 13.

Tabla 13: Interpretación del índice de germinación (IG)

Indicador	Interpretación
IG ≤ 50 %	Indicarían que hay una fuerte presencia de sustancias fitotóxicas (alta fitotoxicidad), presencia severa
50 < IG < 80 %	Se interpretaría como la presencia moderada (fitotoxicidad moderada)
IG ≥ 80 %	Indicaría que no hay sustancias fitotóxicas o están en muy baja concentración (no presenta fitotoxicidad), presencia leve.

FUENTE: Adaptado de Pentreath et al. (2015) y Huerta Muñoz et al. (2015)

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Determinación del tratamiento con mejor desempeño (escala laboratorio)

4.1.1. Caracterización inicial de los insumos

Durante el proceso de elaboración de la unidad experimental (Mezcla 1), se registraron los valores de pH de los insumos utilizados, los cuales se presentan en la Tabla 14.

Tabla 14: pH de los insumos para la preparación de los 16 tratamientos

Insumo	pH
Suero de leche	6.24
Hidrolizado de pescado	6.4
Mezcla 1 (unidad experimental)	5.5
Melaza de caña	4.88
GARLAC	3.64

Como se aprecia en la Tabla 14, para la elaboración de la unidad experimental se determinó el pH de los insumos que la componen. El pH del suero de leche fue de 6.24, por lo que puede clasificarse como suero dulce, según Spreer (1991) citado por Alava Viteri et al. (2014), ya que se supera un pH de 6. Por su parte, el pH del hidrolizado de pescado fue de 6.4, superior al del suero de leche utilizado. Este valor se asocia a la naturaleza de los residuos de pescado, dado que, según Salamanca Grosso et al. (2007), el pH del pescado fresco oscila entre 6.0 y 6.5, mientras que valores superiores a 7 pueden indicar el inicio de su descomposición.

No obstante, el pH del hidrolizado también pudo estar influenciado por el proceso de hidrólisis aplicado. En este estudio se empleó una hidrólisis térmica a 70 °C, utilizando las enzimas endógenas presentes en las vísceras del pescado. De acuerdo con Benítez et al. (2008), durante la hidrólisis proteica se liberan grupos funcionales como amino ($-NH_2$) y carboxilo (-COOH), los cuales modifican el equilibrio ácido-base del medio. Estas transformaciones dependen de factores como el tipo de enzimas, la temperatura del proceso, y el grado de hidrólisis alcanzado. Por lo tanto, es probable que el proceso haya contribuido al pH final del hidrolizado de pescado, generando un leve incremento respecto al pH del suero de leche.

También se midió el pH de la unidad experimental definido como Mezcla 1, registrándose un valor de 5.5. Cabe recordar que la Mezcla 1 se obtiene del a partir del hidrolizado de pescado (pH 6.4) y la penca de tuna. Acevedo Matamoros y Huaman Cunya (2021) reportan un pH promedio de 4.37 para el mucílago de penca de tuna, obtenido tras las etapas de limpieza, pelado, troceado, licuado y filtrado. Por lo tanto, el pH de la penca de tuna influyó en que la Mezcla 1 presentara una ligeramente acidez (pH 5.5).

El pH de la melaza fue de 4.88, Swam y Karalazos (1990), citados por Fajardo Castillo y Sarmiento Forero (2007), sostienen que el pH de la melaza de caña oscila entre 5.5 y 6.5, un valor de pH más bajo se atribuye a los ácidos alifáticos presentes.

El pH registrado del GARLAC fue de 3.64. Según la ficha técnica del producto, este parámetro puede encontrase entre 3.5 y 3.9 (Anexo 1), lo que se atribuye a su composición, que incluye bacterias ácido-lácticas probióticas, ácidos orgánicos y aminoácidos libres, entre otros.

4.1.2. Evaluación del pH

Luego de la preparación de los 16 tratamientos y sus tres repeticiones, se evaluó el pH desde el día cero (día de la preparación) hasta el día cinco (día de cosecha). La Tabla 15 presenta el pH promedio de las tres repeticiones para los 16 tratamientos evaluados. En el día cero, los valores oscilaron entre 4.70 y 5.56, dichos valores estaban en relación a la proporción de

melaza y GARLAC que contenían, se registraron valores más bajos de pH cuando el tratamiento tenía mayor porcentaje de melaza y GARLAC.

Tabla 15: Valores promedio de pH (escala laboratorio)

Tratamiento	Día 0	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
T0	5.56	5.07	4.41	3.92	3.87	3.82
T1	5.47	5.06	4.28	3.97	3.86	3.70
T2	5.44	5.14	4.17	3.92	3.73	3.75
T3	5.35	4.71	3.84	3.55	3.49	3.55
T4	5.15	4.92	4.30	3.89	3.79	3.83
T5	5.14	4.88	4.07	3.69	3.54	3.71
T6	5.14	4.89	4.09	3.69	3.54	3.60
T7	5.13	4.99	4.19	3.83	3.72	3.74
T8	4.92	4.87	4.09	3.95	3.80	3.86
T9	4.96	4.80	3.68	3.58	3.52	3.59
T10	4.95	4.80	3.81	3.53	3.51	3.51
T11	4.93	4.83	3.49	3.53	3.54	3.52
T12	4.62	4.80	4.08	3.93	3.86	3.78
T13	4.74	4.75	4.01	3.72	3.65	3.63
T14	4.70	4.64	3.85	3.55	3.51	3.54
T15	4.88	4.77	3.99	3.59	3.53	3.52

Todos los tratamientos mostraron un descenso de pH al comparar el día cero con el día cinco. Para el tercer día, el pH de los 16 tratamientos fue inferior a 4, cumpliendo así con el criterio de pH < 4 establecido en la Tabla 8 para la selección del tratamiento con mejor desempeño. Una vez cumplido este criterio, se procedió a identificar aquellos tratamientos que mantuvieron un pH estable durante los días posteriores del proceso fermentativo.

Para visualizar las tendencias de acidificación de los valores presentados en la Tabla 15, se elaboró la Figura 7, que muestra la evolución del pH de los 16 tratamientos durante los cinco días de evaluación.

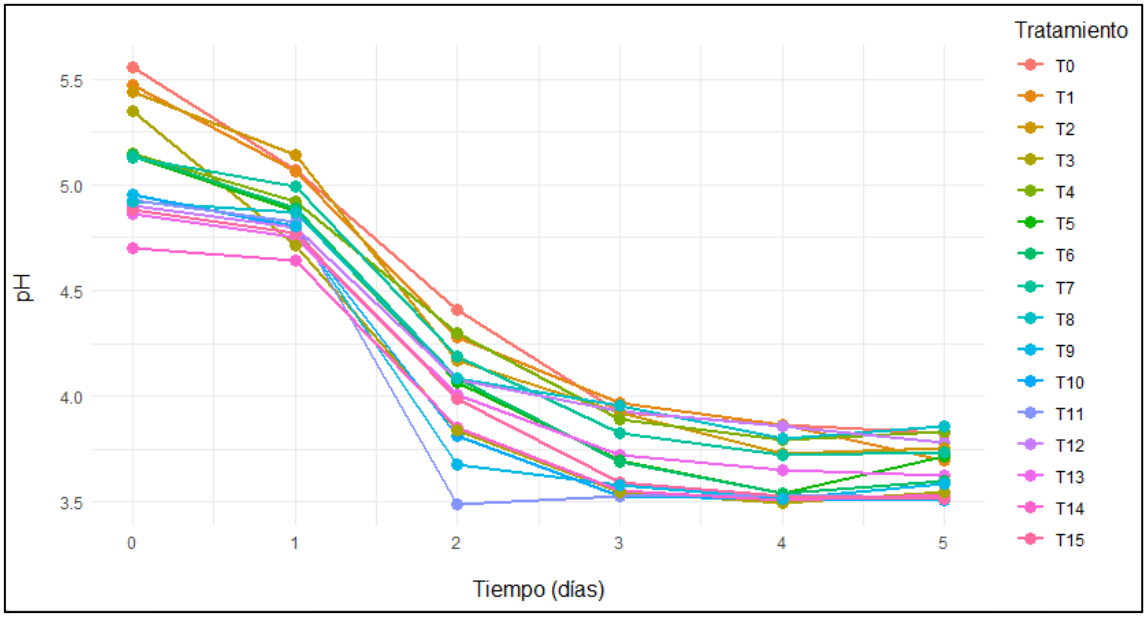


Figura 7: Evolución del pH (promedio) por tratamiento

Entre los tratamientos identificados como estables y con los pH más bajos, considerando los días 4 y 5, se encuentran el T10, T11, T14 y T15. El T10 fue el único tratamiento que mantuvo un pH de 3.51 en ambos días. Los otros tres mencionados presentaron ligeras variaciones entre el día 4 y el día 5; el T11 y el T15 mostraron un descenso de 3.54 a 3.52 y de 3.53 a 3.52, respectivamente; mientras que el T14 tiene un incremento de 3.51 a 3.52.

Es necesario mencionar el tratamiento T3, que contenía 15 % de melaza y 0 % de GARLAC. Este presentó un descenso notable de pH hasta el día 4, alcanzando un valor de 3.49, el más bajo registrado entre todos los tratamientos para ese día. Sin embargo, en el día 5 el pH aumentó a 3.55, lo que indica una pérdida de estabilidad. Este comportamiento sugiere una posible actividad microbiana interna que no logró mantener un proceso de fermentación constante. Dado que la estabilidad del pH es un criterio esencial para escalar el tratamiento de mejor desempeño a nivel productivo, el T3 no fue incluido en el grupo de tratamientos considerados estables.

Cabe destacar que, aunque T3 no contenía GARLAC, la presencia de penca de tuna podría haber aportado de forma natural un consorcio microbiano endógeno. El hidrolizado de pescado se elaboró a 70°C, lo que limitó el desarrollo bacteriano no deseado. Como plantea Ruero Silva (2006), la producción de tuna y cochinilla puede verse afectada por enfermedades causadas por bacterias fitopatógenas. Estas bacterias suelen vivir como parásitos en los tejidos vivos de las plantas, pero también pueden sobrevivir en el suelo como saprótrofos, alimentándose de materia orgánica en descomposición. Esta capacidad les permite permanecer activas incluso en ausencia de un huésped y podrían haberse activado al encontrar condiciones adecuadas en el medio fermentativo del T3.

Además, Ruero Silva (2006) señala que el cladodio de la tuna puede contaminarse con bacterias transportadas por insectos o por el agua, los cuales actúan como vectores desde el entorno. Por lo tanto, es razonable suponer que el T3 introdujo un consorcio microbiano de forma natural a través de uno de sus componentes, en este caso, la penca de tuna. Esta hipótesis también se ve reforzada por el comportamiento del tratamiento T1, que presentó un descenso constante de pH durante los días de evaluación, a pesar de no contener melaza ni consorcio microbiano añadido. Esta evidencia sugiere que la actividad biológica observada (disminución e inestabilidad del pH) podría deberse a microorganismos incorporados con la penca de tuna. Sin embargo, al no mantener una estabilidad prolongada, se concluye que este consorcio espontáneo no fue suficientemente eficiente para garantizar una fermentación controlada. Por ello, se descarta su viabilidad para aplicaciones a mayor escala, donde la estabilidad es un criterio fundamental.

Por otra parte, según Fadel et al. (2018), cuando la melaza es elaborada bajo condiciones deficientes en los ingenios azucareros y posteriormente transportada a las destilerías, puede presentar una elevada carga microbiana, destacando los géneros como *Lactobacillus* y *Bacillus*. En particular, *Lactobacillus* spp. representa un desafío para el control microbiológico debido a su capacidad de tolerar temperaturas elevadas y valores de pH bajos. Por lo tanto, la melaza puede actuar como una fuente adicional de bacterias que ingresan al biorreactor.

4.1.3. Evaluación de la acidez láctica

Se evaluó la acidez titulable con el fin de calcular el porcentaje de acidez láctica (%) de los 16 tratamientos y sus respectivas tres repeticiones, desde el día cero hasta el quinto día. La Tabla 16 presenta los valores promedio de acidez láctica (%) obtenidos para cada uno de los tratamientos evaluados.

Tabla 16: Valores promedios de acidez láctica en porcentaje (escala laboratorio)

Tratamiento	Día 0	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
T0	0.63	0.64	1.11	1.59	1.95	1.97
T1	0.47	0.71	1.27	1.75	2.18	2.47
T2	0.56	0.73	1.56	1.86	2.61	2.98
T3	0.65	0.84	2.00	3.01	3.77	3.53
T4	0.67	0.68	1.09	1.57	2.08	2.09
T5	0.76	0.75	1.52	2.42	2.60	2.60
T6	0.86	0.80	1.91	2.94	3.02	3.35
T7	0.78	0.73	1.56	2.26	2.51	2.87
T8	0.77	0.73	1.26	1.66	1.91	1.96
T9	0.87	0.77	2.10	2.51	2.68	2.81
T10	0.79	0.74	2.11	3.11	3.62	3.51
T11	0.80	0.76	2.60	3.14	3.39	3.47
T12	0.70	0.65	1.47	1.97	2.63	2.68
T13	0.76	0.79	1.61	2.30	2.86	3.28
T14	0.91	0.77	1.96	3.06	3.47	3.44
T15	1.00	0.80	1.94	2.99	3.70	3.81

Hetényi et al. (2011) señalan que la formación de ácido láctico reduce el pH, por lo que a mayor acidez láctica se espera un pH más bajo. Por ejemplo, en el día cero, el tratamiento T15 registró la mayor acidez láctica (1 %) y uno de los valores de pH más bajos de pH (4.88).

La Figura 8 muestra la evolución diaria de la acidez láctica (%) de los 16 tratamientos durante los cinco días de evaluación.

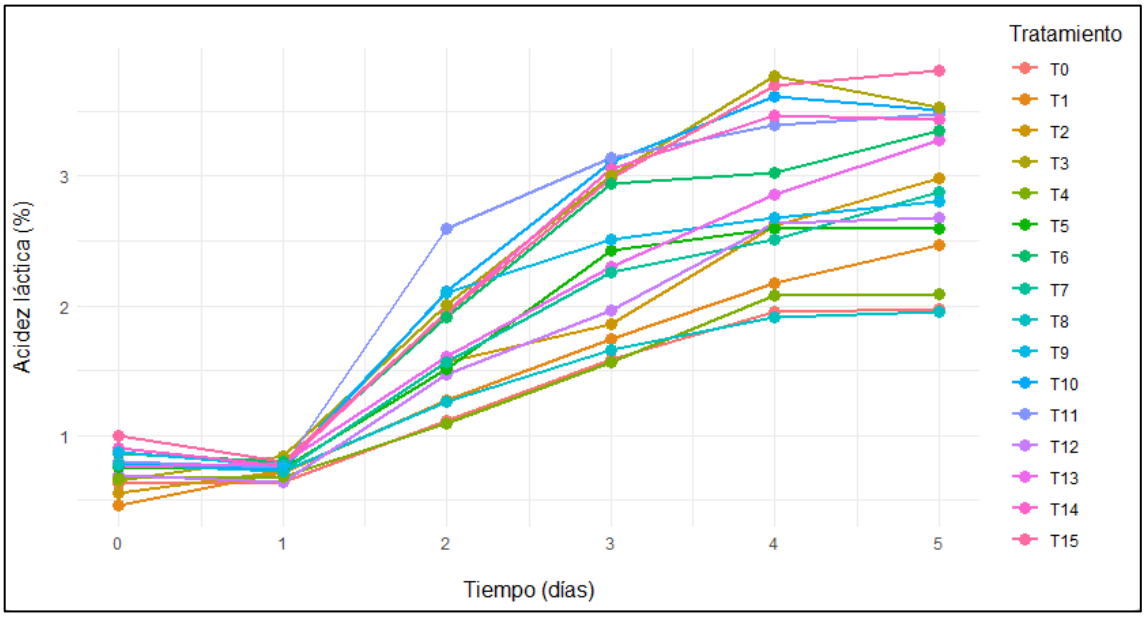


Figura 8: Evolución de la acidez láctica (promedio) por tratamiento

Según los observado en la Figura 8, hasta el primer día se evidenció un periodo de adaptación del consorcio microbiano al nuevo sustrato. Tanto el pH como la acidez láctica mostraron escasa variación entre el día cero y el día uno; sin embargo, a partir del día dos se registraron aumentos en el contenido de ácido láctico en todos los tratamientos.

Para el día cinco, los valores más altos de acidez láctica (%) se observaron en los tratamientos T15 (3.81 %), T3 (3.53 %), T10 (3.51 %), T11 (3.47 %) y T14 (3.44 %). Cabe resaltar que estos tratamientos, con excepción del T3, coincidieron que aquellos que mantuvieron un pH estable entre los días 4 y 5.

Algunos tratamientos, como el T3, T10 y T14, presentaron una disminución en la acidez láctica entre el cuarto y quinto día. Oude Elferink et al. (2001) indican que durante el proceso fermentativo pueden proliferar microorganismos no deseables si el ácido producido es degradado. Por ejemplo, las levaduras, en condiciones anaerobias, fermentan azúcares para producir etanol y CO_2, lo cual puede afectar negativamente las características sensoriales del producto. En condiciones aerobias estas producen CO_2 y H_2O. Asimismo, los mohos pueden desarrollarse si no se mantienen condiciones anaerobias, y algunos de ellos son capaces de

producir micotoxinas. Además, las enterobacterias presentes en el sustrato compiten con las BAL, y pueden degradar proteínas, generando compuestos potencialmente tóxicos.

No obstante, en los tratamientos mencionados previamente no se observó la formación de una capa de levaduras en la superficie, lo que sugiere que la disminución de ácido láctico podría atribuirse a la acción de bacterias heterolácticas, como *Lactobacillus buchneri*, capaces de metabolizar ácido láctico a ácido acético y CO_2 (Muck, 2010).

4.1.4. Selección del tratamiento con mejor desempeño

En la Tabla 17 se presentan los tratamientos que cumplen con los criterios establecidos en la Tabla 8 para la selección del tratamiento con mejor desempeño. Los criterios establecidos incluyen los parámetros de pH, olor, presencia de hongos, costo de producción y el análisis estadístico.

Tabla 17: Resultados de la aplicación de los criterios de selección

Criterio	Se acepta	Tratamientos que cumple
pH	pH < 4 y estabilidad del valor durante el ensayo	pH < 4: Todos para el día cinco Estable: T10
Olor	Agradable	Todos (para el día cinco)
Presencia de hongos	Ausencia	T2, T10, T11, T12, T14 y T15 (ausencia de una capa blanca de levaduras en las 3 repeticiones)
Análisis estadístico	ANOVA significativo (α=0,05) Tratamiento(s) adecuado(s) según la Prueba de Tukey (bajo pH y alto porcentaje de acidez láctica)	ANOVA significativo para pH y acidez láctica Prueba de Tukey: Bajo pH: T10, T15, T11, T14, T3, T9, T6 y T13 (Anexo 5) Alto porcentaje de acidez láctica: T15, T3, T10, T11 y T14 (Anexo 6)

Todos los tratamientos cumplieron con el criterio de pH < 4, ya que se registraron valores menores a este umbral en el quinto día de evaluación. No obstante, el tratamiento T10 fue el único que mantuvo un pH estable durante los días cuatro y cinco.

Respecto al criterio de olor, se considera que todos los tratamientos lo cumplieron. Para su evaluación, se comparó el olor de cada tratamiento en el quinto día de evaluación con el olor inicial de la unidad experimental (día cero). Al finalizar el proceso fermentativo, los tratamientos que no contenían GARLAC y/o melaza presentaron una disminución del olor desagradable proveniente del hidrolizado de pescado el día cero. Por su parte, en los tratamientos que sí contenían estos insumos, el olor fue más agradable en comparación con los tratamientos T0, T1, T2 y T3. Esta mejora en el olor se atribuye a la presencia de metabolitos secundarios bioactivos producidos por las BAL según lo reportado por Salvatore et al. (2025).

Por otra parte, en cuanto al criterio de presencia de hongos, los resultados dependen en gran medida de los cuidados aplicados durante los cinco días de evaluación de los tratamientos, en lo referente al mantenimiento de condiciones anaerobias en cada tratamiento. Solo se consideraron los tratamientos que no presentaron la capa superficial blanca de levaduras en ninguna de sus tres repeticiones. La capa de hongos (levaduras) tendía a aparecer en las esquinas del recipiente, especialmente donde no se aseguró un contacto total entre la bolsa y la superficie del tratamiento. Por esta razón, este criterio no se considera determinante para la selección del tratamiento con mejor desempeño a escala de laboratorio, ya que en muchos casos la presencia de levaduras se limitó a una sola repetición.

Respecto al criterio basado en el análisis estadístico, se evaluaron por separado el parámetro de pH y acidez láctica (%). Los resultados correspondientes a un nivel de confianza del 95 % ($p < 0.05$) se presentan en el Anexo 5 y Anexo 6, respectivamente. El análisis de varianza (ANOVA) evidenció que existen diferencias significativas entre los tratamientos evaluados, mientras que la prueba de Tukey permitió identificar cuáles presentaban dichas diferencias. En este caso, se estableció como criterio deseable un pH bajo y un alto porcentaje de acidez láctica. Los tratamientos que cumplieron con ambos criterios fueron T10, T15, T11, T14 y T3.

Según lo presentado en la Tabla 17, los tratamientos que cumplieron con todos los criterios propuestos fueron el T10, T15, T14, T3. Sin embargo, para seleccionar el tratamiento a replicar, también se consideró la estabilidad del pH durante el periodo de evaluación. De acuerdo a la información presentada en la Tabla 15 y Tabla 16, los tratamientos que mantuvieron un pH estable, sin presentar incrementos fueron el T10 y T15.

Finalmente, al considerar el costo de producción, atribuido principalmente a los insumos melaza y GARLAC, se seleccionó el tratamiento T10 (10 % de melaza y 10 % de GARLAC respecto a la masa de la unidad experimental) para ser replicado en la prueba piloto, ya que presenta menor costo en comparación con el T15, que contenía 15 % de melaza y 15 % de GARLAC.

4.2. Prueba piloto

Se realizaron dos pruebas piloto del tratamiento T10, seleccionado como óptimo. La masa y el pH de los insumos utilizados para la obtención de la Mezcla 1, así como el balance de masa correspondiente a cada piloto se presentan en el Anexo 7.

Asimismo, en ambas réplicas se midió el pH y se calculó la acidez láctica durante los cinco días de evaluación del proceso fermentativo. Además, se caracterizaron los parámetros de materia orgánica y microbiológicos de la unidad experimental como de los bioestimulantes obtenidos. Finalmente, se realizó el ensayo de fitotoxicidad para el bioestimulante líquido.

4.2.1. Evaluación del pH y de la acidez láctica

En la Tabla 18 se presentan los valores registrados de pH y la acidez láctica (%) correspondiente a las dos pruebas piloto, así como el promedio de ambas.

Como se puede observar en la Tabla 18, los valores promedio de pH obtenidos en los días 3, 4 y 5 se mantuvieron estables, con un valor de 3.39, comportamiento similar al observado en la escala de laboratorio, donde se registró un pH constante de 3.51 en los días 4 y 5. El valor más bajo de pH registrado en la prueba piloto podría atribuirse a que, en esta etapa, la Mezcla 1 se encontraba más triturada y no contenía trozos grandes de penca de tuna, los

cuales en ensayos anteriores dificultaban la acción homogénea de las BAL en toda la muestra.

Tabla 18: pH y acidez láctica de la prueba piloto

Día	Piloto 1		Piloto 2		Promedio	
	pH	Acidez láctica (%)	pH	Acidez láctica (%)	pH	Acidez láctica (%)
0	4.89	1.20	4.86	1.01	4.87	1.11
1	4.13	1.68	3.90	2.06	4.02	1.87
2	3.51	2.73	3.60	2.78	3.55	2.76
3	3.35	3.30	3.44	3.16	3.39	3.23
4	3.35	3.30	3.43	3.29	3.39	3.29
5	3.35	3.14	3.43	3.02	3.39	3.08

En la Figura 9 se presenta la evolución del pH y la acidez láctica (%) promedio de las dos réplicas realizadas a escala piloto. Se observa que el pH inicial (día cero) fue de 4.87 y para el día 2 descendió hasta 3.55, mostrando un descenso rápido en comparación con el tratamiento T10 a la escala laboratorio, en el cual el pH inicial fue de 4.95 y el día 2 fue de 3.81.

Asimismo, se evidencia la relación inversa entre la acidez láctica (%) y el pH, al incrementarse la producción de ácido láctico, el pH disminuye. Se obtuvo un incremento de acidez láctica hasta el día 4, alcanzando un 3.29 %; sin embargo, para el día 5 se registró un descenso del 0.21 %. Este descenso podría atribuirse a la actividad de microorganismos presentes en el biorreactor, como las bacterias heterolácticas capaces de metabolizar ácido láctico a ácido acético y CO_2 (Muck, 2010).

.

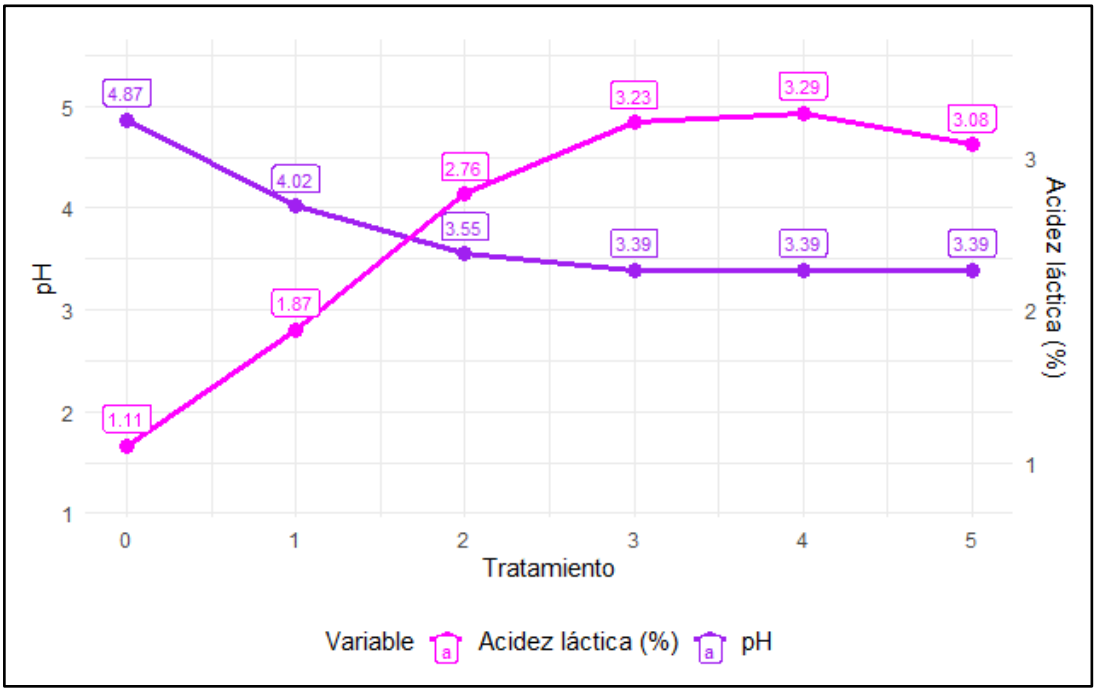


Figura 9: Evolución del promedio de pH y acidez láctica de la prueba piloto

4.2.2. Análisis físico-químico

4.2.2.1. Análisis de la unidad experimental

En la Tabla 19 se presentan los resultados de los informes emitidos por el Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas, Agua y Fertilizantes (LASPAF) correspondientes a las muestras de la unidad experimental (Mezcla 1) obtenidas en cada prueba piloto.

La variabilidad de los parámetros analizados en las dos pruebas piloto puede atribuirse a diversos factores, tales como la procedencia de los insumos, diferencias en las pencas utilizadas, la composición del suero de leche y de los residuos de pescado empleados. Estos factores influyen en la composición y características finales de la muestra, generando diferencias en la composición de cada unidad experimental.

Tabla 19: Análisis físico-químico de la Mezcla 1 (líquida)

Análisis	Parámetro	Unidad	Piloto 1	Piloto 2	Promedio
Propiedades generales	pH	Unidad de pH	4.81	4.96	4.89
	C.E.	dS/m	13.71	10.64	12.18
	Sólidos Totales	g/L	86.34	97.69	92.02
	M.O. en Solución	g/L	72.60	86.97	79.79
Macroelementos	N Total	mg/L	4247.49	4526.93	4387.21
	P Total	mg/L	537.45	344.27	440.86
	K Total	mg/L	2825.00	3100.00	2962.50
	Ca Total	mg/L	2585.00	2285.00	2435.00
	Mg Total	mg/L	390.00	395.00	392.50
	Na Total	mg/L	485.00	200.00	342.50
Microelementos	Cu Total	mg/L	1.36	1.40	1.38
	Mn Total	mg/L	3.06	2.05	2.56
	Fe Total	mg/L	30.42	42.40	36.41
	Zn Total	mg/L	8.32	14.90	11.61
	B Total	mg/L	3.43	5.29	4.36
Elementos pesados	Pb Total	mg/L	0.45	0.96	0.70
	Cr Total	mg/L	N.D.	0.53	0.26
	Cd Total	mg/L	0.28	0.24	0.26

Hernández-Urbiola et al. (2010) señalan que la composición mineral de los cladodios de la tuna depende de diversos factores como la etapa de madurez, el pH, la composición y textura del suelo, disponibilidad de agua, prácticas de cultivo, entre otros. Además, mencionan que el contenido mineral tiende a incrementarse con la edad del cladodio, siendo el calcio (Ca), potasio (K), fósforo (P), magnesio (Mg) y sodio (Na) los elementos predominantes, mientras que el hierro (Fe), zinc (Zn) y manganeso (Mn) se encuentran en proporciones menores. Por

su parte, Medico Beviá (2021) indica que en los cladodios los minerales presentes en mayor concentración son K > Ca > Mg > Na, seguidos en menor medida por Fe > Mn > Zn.

Por otro lado, Poveda E. (2013) afirma que el suero lácteo puede contener hasta el 90 % del Ca, K, P, Na y Mg presentes en la leche. En este sentido, el hidrolizado de pescado, elaborado con suero lácteo y residuos de pescado, aporta Ca, P, Mg y Na, y se caracteriza por un alto contenido de K, mineral que se encuentra en mayor proporción en la parte comestible del pescado. Además, la carne de pescado es una fuente importante de Fe y cobre (Cu) (Huss, 1999; Njinkoue et al., 2016). Por lo tanto, la combinación de cladodios de tuna con el hidrolizado de pescado explica los valores elevados de Ca y K observados en el análisis, debido a la contribución significativa de ambos insumos al contenido mineral.

Asimismo, la Mezcla 1 presenta un valor elevado de nitrógeno (N), atribuible principalmente al pescado. Según Huss (1999), el nitrógeno en el pescado se encuentra principalmente en sus proteínas, las cuales contienen todos los aminoácidos esenciales y poseen un valor biológico muy alto, comparable al de la leche, los huevos y la carne de mamíferos.

4.2.2.2. Análisis del bioestimulante

En la Tabla 20 se presentan los resultados de los informes emitidos por el Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y Fertilizantes, correspondientes a las muestras de bioestimulante líquido obtenidas en ambas pruebas piloto.

Tabla 20: Análisis físico-químico del bioestimulante líquido

Análisis	Parámetro	Unidad	Piloto 1	Piloto 2	Promedio
Propiedades generales	pH	Unidad de pH	3.32	3.44	3.38
	C.E.	dS/m	19.44	20.47	19.96
	Sólidos Totales	g/L	72.91	86.93	79.92
	M.O. en Solución	g/L	61.37	73.09	67.23
Macroelementos	N total	mg/L	4596.79	2990.01	3793.40
	P total	mg/L	318.43	320.88	319.65
	K total	mg/L	4300.00	905.00	2602.50
	Ca total	mg/L	840.00	74.70	457.35
	Mg total	mg/L	525.00	108.00	316.50
	Na total	mg/L	535.00	125.00	330.00
Microelementos	Cu total	mg/L	2.75	0.06	1.41
	Mn total	mg/L	2.00	0.33	1.17
	Fe total	mg/L	32.05	3.08	17.57
	Zn total	mg/L	5.75	0.22	2.99
	B total	mg/L	1.87	22.41	12.14
Elementos pesados	Pb total	mg/L	0.35	0.06	0.20
	Cr total	mg/L	0.32	N.D.	0.16
	Cd total	mg/L	0.14	0.02	0.08

Comparando los valores obtenidos para cada parámetro, se observa que algunos componentes del bioestimulante líquido presentan descensos en comparación con lo registrado para la unidad experimental (Tabla 19). Esta reducción podría deberse al requerimiento de nutrientes del consorcio microbiano, incluidos mohos y levaduras, que se desarrollaron durante el proceso de fermentación homoláctica. Según Teusink y Molenaar

(2017), las BAL prosperan en entornos ricos en azúcares y proteínas, y también requieren grasas, vitaminas y nucleótidos para su crecimiento.

Además, es importante señalar que esta variabilidad también podría estar asociada con las diferencias entre las muestras analizadas, derivadas de la consistencia viscosa del bioestimulante, la cual dificulta una mezcla homogénea en el biorreactor.

En la Tabla 21 se presentan los resultados del análisis de materia orgánica del bioestimulante sólido (pellets). La muestra enviada al laboratorio estuvo compuesta por el sólido seco obtenido del proceso fermentativo y los huesos de pescado, los cuales ingresaron a la peletizadora sin una trituración previa, razón por la cual pueden observarse diferencias en los parámetros para ambos pilotos.

Cabe destacar que esta situación no representa una limitación significativa en la elaboración del bioestimulante sólido; sin embargo, la trituración y mezcla de los componentes antes de su ingreso a la peletizadora garantizarían un producto final más uniforme y facilitaría su incorporación al suelo. Además, los sólidos no se integraron en proporciones definidas, lo que también pudo influir en la variabilidad de los resultados.

Tabla 21: Análisis físico-químico del bioestimulante sólido (pellets)

Análisis	Parámetro	Unidad	Piloto 1	Piloto 2	Promedio
Propiedades generales	pH	Unidad de pH	4.13	4.26	4.20
	C.E.	dS/m	18.74	17.28	18.01
	M.O.	%	73.39	68.31	70.85
Macroelementos	N	%	2.97	2.77	2.87
	P_2O_5	%	3.60	3.06	3.33
	K_2O	%	2.50	2.21	2.36
	CaO	%	6.98	6.97	6.97
	MgO	%	0.58	0.52	0.55
	Hd	%	7.31	4.74	6.03
	Na	%	0.30	0.27	0.28
Microelementos	Cu	ppm	6.83	6.50	6.66
	Mn	ppm	25.20	26.25	25.73
	Fe	ppm	493.90	717.50	605.70
	Zn	ppm	70.75	91.25	81.00
	B	ppm	22.15	56.08	39.12
Elementos pesados	Pb	Ppm	8.60	12.00	10.30
	Cr	Ppm	5.53	6.86	6.20
	Cd	Ppm	2.08	1.68	1.88

Para facilitar la comparación entre los parámetros del bioestimulante líquido y sólido, se presenta la Tabla 22. Dado que los resultados del bioestimulante sólido se expresaron en términos de óxidos (CaO, P_2O_5, K_2O y MgO), se procedió a su conversión a la forma elemental correspondiente (Ca, P, K y Mg) mediante factores de conversión establecidos en el Reglamento (UE) 2019/1009. Del mismo modo, los valores del bioestimulante líquido fueron transformados a unidades masa/masa (% y ppm), tomando en cuenta su contenido de sólidos totales, con el fin de comparar los parámetros de ambos bioestimulantes sobre una

base común. Por otro lado, los parámetros referentes a metales pesados (Pb, Cd y Cr) se presentan en la Tabla 23.

Tabla 22: Análisis comparativo del bioestimulante sólido y líquido

Análisis	Parámetro	Unidad	Bioestimulante líquido	Bioestimulante sólido
Propiedades generales	pH	Unidad de pH	3.38	4.195
	C.E.	dS/m	19.96	18.01
	M.O.	%	84.12	70.85
Macroelementos	N Total	%	4.75	2.87
	P Total	%	0.40	1.45
	K Total	%	3.26	1.96
	Ca Total	%	0.57	4.99
	Mg Total	%	0.40	0.33
	Na Total	%	0.41	0.28
Microelementos	Cu Total	ppm	17.60	6.66
	Mn Total	ppm	14.59	25.73
	Fe Total	ppm	219.78	605.70
	Zn Total	ppm	37.35	81.00
	B Total	ppm	151.90	39.12

Malde et al. (2010) expresan que las espinas de pescado presentan un alto contenido de calcio (Ca) y que, junto con el fósforo (P), ambos elementos representan aproximadamente el 2 % del peso seco del pescado entero (equivalente a 20 g/kg). Asimismo, Nedjimi (2021) señala que la *Opuntia ficus-indica* tiene una alta capacidad de acumulación de potasio (K), fósforo (P), hierro (Fe) y manganeso (Mn) en sus cladodios. Por su parte, Njinkoue et al. (2016) indican que las espinas también son ricas en magnesio (Mg) y sodio (Na), lo cual respalda los resultados obtenidos para el bioestimulante sólido, cuyo contenido de Ca fue de 4.99 %.

En el caso del bioestimulante líquido, se determinó un contenido de Ca de 0.57 %, lo cual podría atribuirse a la presencia de mucílago de penca de tuna en la formulación, ya que, según Hernández-Urbiola et al. (2010), esta materia prima aporta una cantidad considerable de Ca, lo que justificaría dicho resultado.

De acuerdo con Njinkoue et al. (2016), los huesos presentan mayores concentraciones de zinc (Zn), cobre (Cu), manganeso (Mn) y hierro (Fe) en comparación con la parte comestible del pescado, siendo el Zn y el Fe los minerales más abundantes en ambos componentes. Esta información se ve reflejada en la Tabla 22, donde se observa una mayor concentración de microelementos como Fe, Mn y Zn en el bioestimulante sólido, lo cual refleja el aporte mineral de los huesos de pescado.

Por otro lado, Tolkou et al. (2023) describen que la liberación de metales pesados en ecosistemas acuáticos, ya sea de origen natural o antropogénico, puede contaminar los cuerpos de agua. La bioacumulación de estos metales en los peces representa un riesgo tanto para la salud humana como para la fauna acuática. Se estima que cerca del 50 % del cadmio (Cd) presente en ambientes marinos proviene de desechos industriales y fertilizantes. En general, la secuencia de acumulación tóxica observada en los peces es: arsénico (As) > cromo (Cr) > plomo (Pb) > cadmio (Cd) > mercurio (Hg).

En la Tabla 23 se presentan los parámetros de interés, los cuales deben ser considerados en la evaluación de bioestimulantes. Para este propósito, se tomaron como referencia dos normativas: el Reglamento (UE) 2019/1009 de la Unión Europea y la Resolución N.º 270/022 del gobierno de Uruguay.

Tabla 23: Cumplimiento de parámetros según Estándares Internacionales

Contaminante	Concentración (mg/kg de materia seca)		BL (ppm)	BS (ppm)
	Reglamento (UE) 2019/1009	Resolución N° 270/022 DGSA		
Cadmio (Cd)	1.5	2	0.98	1.88
Cromo hexavalente (Cr VI)	2	2	2.00	6.20
Plomo (Pb)	120	100	2.52	10.30
Cobre (Cu)	600	600	17.60	6.66
Zinc (Zn)	1500	1500	37.35	81.00

Nota: BL: Bioestimulante líquido y BS: Bioestimulante sólido. Para fines comparativos se realizó el cálculo de la concentración de contaminantes de la Mezcla 1 y el bioestimulante líquido utilizando el parámetro de Sólidos Totales reportado en el Análisis físico-químico de la Mezcla 1 y el bioestimulante líquido. El valor reportado para cromo hexavalente (Cr VI) corresponde al valor total de cromo obtenido en el análisis de elementos pesados. Este valor fue utilizado únicamente con fines ilustrativos, ya que no se dispone del dato específico de Cr VI. Por lo tanto, debe considerarse como una estimación referencial y no como una medición directa del cromo en su estado hexavalente.

Se observa que las concentraciones de zinc (Zn), cobre (Cu) y plomo (Pb) en los bioestimulantes obtenidos se encuentran por debajo de los límites máximos establecidos. No obstante, en el caso del bioestimulante sólido, las concentraciones de cadmio (Cd) y cromo (Cr) superan los valores límites establecidos en el Reglamento (UE) 2019/1009. En cuanto al bioestimulante líquido, si bien ningún contaminante excede los límites normativos, el contenido de cromo se encuentra muy próximo al valor máximo permitido; sin embargo, debe considerarse que dicho elemento no se encuentra en su forma hexavalente.

La superación de los límites normativos en determinados contaminantes sugiere que el uso del bioestimulante sólido debe ser evaluado cuidadosamente antes de su aplicación agrícolas. Asimismo, resulta necesario identificar el componente específico de la mezcla responsable de la alta concentración de metales pesados, con el objetivo de determinar la viabilidad del producto. En caso de determinarse que no es apto para uso agrícola, deberá considerarse la disposición final adecuada del producto.

4.2.3. Análisis microbiológico

4.2.3.1. Análisis de la unidad experimental

La Tabla 24 muestra los resultados del análisis microbiológico correspondiente a la muestra de la unidad experimental (Mezcla 1, hidrolizado de pescado y penca de tuna) realizado en el Laboratorio de Ecología Microbiana y Biotecnología "Marino Tabusso".

Tabla 24: Análisis microbiológico de la Mezcla 1

Análisis Microbiológico	Piloto 1	Piloto 2	Promedio
Enumeración de coliformes totales (NMP/g)	< 3	11×10^3	$\approx 5.5 \times 10^3$
Enumeración de coliformes fecales (NMP/g)	< 3	46×10^2	$\approx 23 \times 10^2$
Enumeración de *Escherichia coli* (NMP/g)	< 3	28×10	$\approx 14 \times 10$
Recuento de Mohos y levaduras (UFC/g)	73×10^2	19×10^5	9.5365×10^5
Recuento de aerobios mesófilos (UFC/g)	25×10^5	63×10^7	31.625×10^7
Recuento de bacterias ácido-lácticas (UFC/g)	77.5×10^4	80×10^5	43.875×10^5

Nota. El símbolo ≈ representa valores aproximados.

En ambos pilotos se observaron diferencias significativas en los parámetros microbiológicos evaluados. En el primer piloto no se detectó la presencia de coliformes totales, fecales y *Escherichia coli*, con lo cual se descarta la presencia de patógenos en la Mezcla 1. Sin embargo, en el segundo piloto se evidenció la presencia estos grupos microbianos, lo que sugiere dichos microorganismos pueden ser aporte de la penca de tuna, la cual no fue sometida a un proceso de lavado previo a su trituración. Es poco probable que el hidrolizado de pescado sea la fuente de estos patógenos, dado que Cota-Espericueta y Ponce-Corral (2008) mencionan que los coliformes fecales no sobreviven a temperaturas superiores a 50 °C, y el proceso de hidrolizado se llevó a cabo en el biorreactor a 70 °C.

Asimismo, el segundo piloto presentó valores más elevados de aerobios mesófilos, bacterias ácido-lácticas y mohos y levaduras, lo que podría estar relacionado con la carga microbiana incorporada a través de los insumos utilizados, como la penca de tuna.

4.2.3.2. Análisis del bioestimulante líquido

La Tabla 25 presenta los resultados del análisis microbiológico del bioestimulante líquido obtenido en el primer y segundo piloto.

Tabla 25: Análisis microbiológico del bioestimulante líquido

Análisis Microbiológico	Piloto 1	Piloto 2	Promedio
Enumeración de coliformes totales (NMP/g)	< 3	< 3	< 3
Enumeración de coliformes fecales (NMP/g)	< 3	< 3	< 3
Enumeración de *Escherichia coli* (NMP/g)	< 3	< 3	< 3
Recuento de Mohos y levaduras (UFC/g)	46×10^2	57×10^4	28.73×10^4
Recuento de aerobios mesófilos (UFC/g)	14×10^4	35×10^4	24.5×10^4
Recuento de bacterias ácido-lácticas (UFC/g)	11×10^5	28×10^5	19.5×10^5

La actividad antimicrobiana de las BAL se atribuye a los diversos compuestos como ácidos orgánicos (láctico y acético), CO_2, etanol, peróxido de hidrógeno, metabolitos secundarios y múltiples bacteriocinas (De Angelis & Calasso, 2014; Teughels et al., 2011; Zapaśnik, 2022). Esta capacidad se evidencia al comparar el contenido microbiano de la Mezcla 1 con el de los bioestimulantes líquidos obtenidos en ambas pruebas piloto, lo cual demuestra un efecto de antagonismo bacteriano ejercido por las BAL sobre coliformes totales, fecales y *Escherichia coli*.

Asimismo, al analizar los resultados obtenidos y compararlos con los límites establecidos para patógenos en bioestimulantes microbianos (ver Tabla 2), se observa que se cumple con el parámetro de ausencia de *Escherichia coli*. No obstante, el recuento de mohos y levaduras supera el límite permitido de 1000 UFC/g, incumplimiento que fue más evidente en el segundo piloto. Esta desviación podría deberse a una posible deficiencia en el control de las condiciones anaerobias durante el proceso de fermentación, lo que habría favorecido la proliferación de estos microorganismos, especialmente en el segundo piloto.

4.2.4. Análisis de fitotoxicidad del bioestimulante líquido

En la Tabla 26 se presentan los parámetros iniciales de las diluciones para el ensayo de fitotoxicidad del bioestimulante líquido obtenido en el primer y segundo piloto.

Tabla 26: pH y CE de las diluciones del bioestimulante líquido

Dilución	Concentración (v/v)	Piloto 1		Piloto 2	
		pH	CE (mS/cm)	pH	CE (mS/cm)
D0 (control)	0/100	7.14	0.02	7.23	0.01
D1 (puro)	100/100	3.38	18.08	3.54	18.98
D2	10/100	3.59	3.39	3.67	3.54
D3	1/100	3.9	0.39	3.89	0.4
D4	0.1/100	4.73	0.09	4.72	0.06
D5	0.01/100	6.42	0.04	6.44	0.02

El pH del bioestimulante puro (D1) para el primer piloto fue de 3.38, valor superior al registrado el quinto día de la prueba piloto (3.35). Un comportamiento similar se observó en el segundo piloto, donde el pH aumentó de 3.43 a 3.54. Este incremento podría explicarse porque las muestras D1 correspondían únicamente al bioestimulante líquido, mientras que la Mezcla 2 evaluada en la Tabla 18 contenía sólidos que dificultaban lograr una homogeneidad total en el biorreactor.

Se midió el pH de las cinco diluciones propuestas (D1 a D5) y del control (agua destilada). Las diluciones realizadas presentan variaciones en pH como en conductividad eléctrica (CE). La Figura 10 presenta los valores promedios de pH y CE de ambos pilotos, donde se aprecia que a mayor dilución la conductividad eléctrica disminuye. Las conductividades eléctricas fueron inferiores a 1 mS/Cm en D3, D4 y D5. El pH promedio de las diluciones varió entre 3.46 y 7.19, mientras que la CE promedio varió entre 0.01 y 18.53 mS/cm.

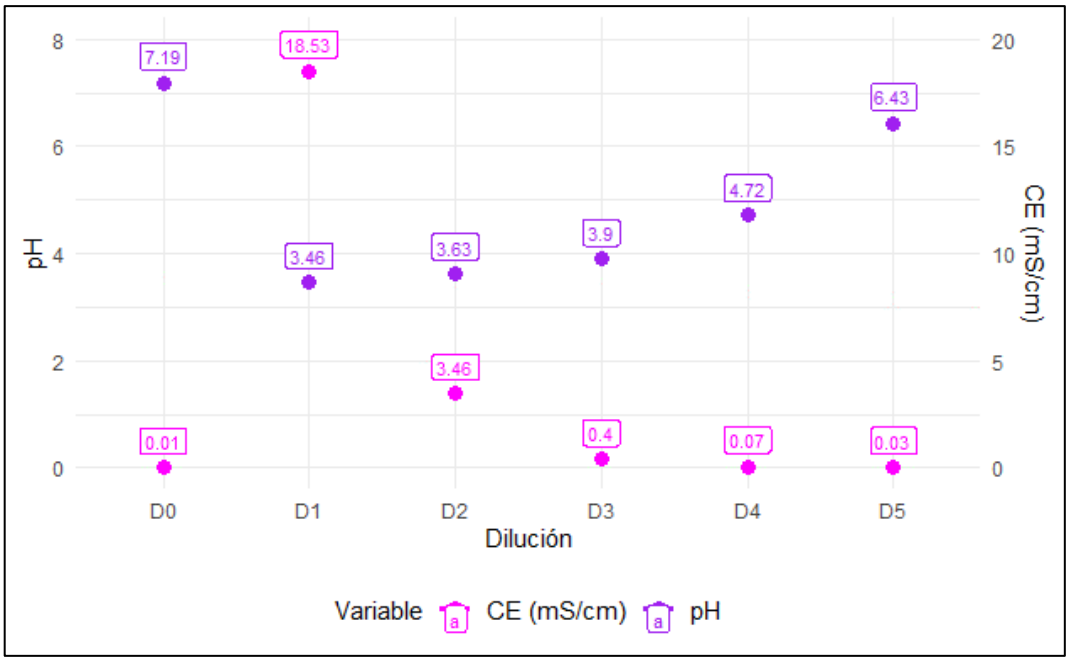


Figura 10: pH y CE promedio de las diluciones del primer y segundo piloto

En la Tabla 27 y Tabla 28 se presentan los resultados del primer y segundo piloto, respectivamente. En ambos casos, se observa que las semillas de lechuga no germinaron en las diluciones que contenían el bioestimulante puro (D1) y la dilución 10/100 (D2).

Tabla 27: Resultados del ensayo de fitotoxicidad (primer piloto)

Dilución	Número de semillas germinadas	Elongación de radículas (promedio en mm)	PGR (%)	CRR (%)	IG (%)
D0 (control)	20	39.58	100	100	100
D1 (puro)	0	0.00	0	0	0
D2	0	0.00	0	0	0
D3	20	28.68	100	72	72
D4	20	41.58	100	105	105
D5	20	40.25	100	102	102

Tabla 28: Resultados del ensayo de fitotoxicidad (segundo piloto)

Dilución	Número de semillas germinadas	Elongación de radículas (promedio en mm)	PGR (%)	CRR (%)	IG (%)
D0 (control)	20	39.77	100	100	100
D1 (puro)	0	0.00	0	0	0
D2	0	0.00	0	0	0
D3	20	25.85	100	65	65
D4	20	40.97	100	103	103
D5	20	40.45	100	102	102

De los resultados presentados en la Tabla 27 y Tabla 28, se observa que en las diluciones D1 (100/100) y D2 (10/100) no se registró germinación de semillas. En ambas diluciones y pilotos, al quinto día de evaluación se detectó proliferación de hongos en el papel filtro de las tres repeticiones, identificándose levaduras y dos especies de *Aspergillus*, denominados *Aspergillus* spp. 1 y *Aspergillus* spp. 2 (ver Anexo 12). La germinación se produjo a partir de la dilución D3 (1/100), alcanzando un 100 % de germinación en D3 (1/100), D4 (0.1/100) y D5 (0.01/100) y en el control.

El análisis del crecimiento de la radícula en las plántulas permite detectar la presencia de compuestos solubles potencialmente tóxicos, incluso cuando se encuentran en concentraciones tan bajas que no afectan la germinación, pero sí pueden ralentizar o detener por completo la elongación de la raíz (Torres Rodríguez, 2003). Tanto en el primer como en el segundo piloto, la mayor elongación promedio de radículas se observó en la dilución 0.1%, seguida por la dilución 0.01%. Ambas presentaron un índice de germinación (IG) superior a 80 %, lo que indica que, en esos niveles de dilución la presencia de sustancias fitotóxicas es leve o están en muy baja concentración (ver Tabla 13).

En los sistemas hidropónicos, el pH de la solución nutritiva es un factor determinante para la disponibilidad de nutrientes, ya que mantenerlo dentro de un rango adecuado favorece la absorción de nutrientes. Según Licea Zepeda (2012), el intervalo ideal está entre 5.5 y 6.5,

mientras que Carrasco e Izquierdo (2006) sugieren un rango un poco más amplio, entre 5.5 y 7.

Según Carrasco e Izquierdo (1996), el intervalo ideal de CE para un desarrollo adecuado de los cultivos se encuentra entre 1.5 y 3 mS/cm, aunque este varía según la especie cultivada, su etapa de crecimiento y la calidad del agua empleada en la preparación de la solución nutritiva. En el caso específico de la lechuga en etapa temprana (aproximadamente cinco hojas verdaderas), la CE no debería superar un valor de 1.5 mS/cm, superar los 3 mS/cm puede reducir la absorción de agua y nutrientes debido a la alta concentración de sales, afectando el crecimiento. Por su parte, Licea Zepeda (2012) establece un rango óptimo de CE entre 1.5 y 2.5 mS/cm para un cultivo saludable.

Considerando estos rangos de referencia, se recomienda la dilución 0.01/100 (D5) para aplicaciones en hidroponía, debido a que el pH promedio de esta dilución es 6.43, cercano al valor sugerido. Si bien su CE promedio (0.03 mS/cm) está por debajo de los sugerido, el índice de germinación de esta dilución supera al del control, lo que indica un buen potencial de uso.

V. CONCLUSIONES

1. Se elaboró un bioestimulante, en sus formas líquida y sólida, mediante la fermentación homoláctica de penca de tuna (*Opuntia ficus-indica*), suero de leche y residuos hidrobiológicos. A la mezcla base se añadieron melaza de caña (10 %) y GARLAC (10 %), calculados en relación con su masa total.
2. Durante los cinco días del proceso fermentativo, se monitorearon parámetros de pH y acidez láctica, observándose una disminución progresiva del pH como resultado de la producción de ácido láctico, lo cual evidenció la actividad de las bacterias ácido-lácticas (BAL).
3. Se caracterizó la materia orgánica, macroelementos, microelementos y elementos pesados de los bioestimulantes obtenidos. El producto líquido destacó por su alto contenido de nitrógeno (3793.40 mg/L) y potasio (2602.50 mg/L); mientras que el bioestimulante sólido presentó un contenido significativo de hierro (605.70 ppm). No obstante, se recomienda prestar especial atención a los niveles de metales pesados en los bioestimulantes obtenidos, especialmente cadmio y cromo.
4. Se determinó el contenido microbiológico del bioestimulante líquido, incluyendo coliformes totales, coliformes fecales, *Escherichia coli*, recuento de mohos y levaduras, aerobios mesófilos y bacterias ácido-lácticas. Demostrando que la fermentación homoláctica es óptima para reducir microorganismos no deseados.
5. El ensayo de fitotoxicidad del bioestimulante líquido en semillas de lechuga *(Lactuca sativa* L., variedad Duett), reveló que las diluciones 0.1% y 0.01% obtuvieron los mejores índices de germinación, lo cual indica que, a bajas concentraciones, el bioestimulante no presenta efectos tóxicos y puede favorecer el desarrollo inicial de las semillas de lechuga.

VI. RECOMENDACIONES

1. Se sugiere realizar una evaluación específica del tratamiento 3 (T3), que no contiene GARLAC y presenta un 15 % de melaza de caña, ya que mostró un buen comportamiento en los parámetros de pH y acidez láctica (%) tanto durante el proceso fermentativo como en la evaluación al quinto día en escala de laboratorio. Dicha evaluación deberá considerar la posible contribución microbiana de la melaza y los cladodios de tuna, dado que ambos podrían actuar como fuentes naturales de microorganismos.
2. Se recomienda analizar por separado el contenido de metales pesados del sólido seco proveniente de la fermentación y de los huesos de pescado seco. Esto permitirá identificar con mayor precisión el componente que contribuye al incremento de estos parámetros en el bioestimulante sólido final (pellets).
3. Con el fin de mejorar la homogeneidad y disminuir la variabilidad del producto final, se recomienda triturar previamente los componentes de la Mezcla 3 (sólido seco resultante del proceso de fermentación y huesos de pescado) antes de ser procesados por la peletizadora.
4. Se recomienda secar los pellets en el horno con el objetivo de reducir la humedad del producto, lo que favorecerá su almacenamiento y conservación, evitando riesgos de descomposición o proliferación de microorganismos no deseados.
5. Finalmente, se recomienda realizar ensayos de campo utilizando el bioestimulante mediante diferentes métodos de aplicación, como aspersión foliar, riego tecnificado y drench (aplicación al suelo), en una variedad de cultivos (hortalizas, ornamentales, frutales, entre otros), con el objetivo de evaluar su efectividad agronómica en condiciones reales de producción.

VII. BIBLIOGRAFÍA

Acevedo Matamoros, Y., & Huaman Cunya, H.G. (2021). *Eficiencia del coagulante de mucílago de nopal (Opuntia ficus-indica) en la remoción de la turbidez del río Ichu – Huancavelica – 2019* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional de Huancavelica]. Repositorio Institucional UNH. https://repositorio.unh.edu.pe/items/c6010e2e-7713-4096-bc78-d6b58ffd6fb2

Adli, B., Touati, M., Yabrir, B., Bakria, T., Bezini, E., & Boutekrabt, A. (2019). Morphological characterization of some naturalized accessions of Opuntia ficus-indica (L.) Mill. in the Algerian steppe regions. *South African Journal of Botany, 124*, 211–217. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.04.017

Aider, M., de Halleux, D., & Melnikova, I. (2009). Skim acidic milk whey cryoconcentration and assessment of its functional properties: Impact of processing conditions. *Innovative Food Science & Emerging Technologies, 10*(3), 334–341. https://doi.org/10.1016/j.ifset.2009.01.005

Alava Viteri, C., Gómez de Illera, M., & Maya Pantoja, J.A. (2014). Caracterización fisicoquímica del suero dulce obtenido de la producción de queso casero en el municipio de Pasto. *Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales, 1*(1), 22 - 32. http://dx.doi.org/10.23850/24220582.110

Almanza-Merchán, P.J., & Fischer, G. (2012). Tuna (Opuntia ficus-indica (L.) Miller). En G. Fisher (Ed.), *Manual para el cultivo de frutales en el trópico* (pp.1014-1023). Produmedios. https://www.researchgate.net/publication/256681369_Tuna_Opuntia_ficus-indica_L_Miller

Alvarez, J.L. (2002). *Cultivo de la tuna y crianza de la cochinilla*. Instituto Nacional de Investigación Agraria. https://repositorio.inia.gob.pe/handle/20.500.12955/987

Anculle Arenas, A., Castro Cepero, V., & Julca Otiniano, A. (2017). Caracterización de fincas productoras de tuna (*Opuntia ficus indica*) para la producción de cochinilla del carmín (Dactylopius coccus) en La Joya (Arequipa, Perú). *Aporte Santiaguino, 10*(2), 245-258. http://dx.doi.org/10.32911/as.2017.v10.n2.167

Antezana Cerón, J.C. (2017). *Estudio de pre factibilidad para la instalación de una planta procesadora de cochinilla (Dactylopius coccus costa) para la obtención de carmín en Pisco* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional De San Cristóbal de Huamanga]. Repositorio Institucional UNSCH. http://repositorio.unsch.edu.pe/handle/UNSCH/3427

Arellano Realpe, E.K., & Benítez Morales, D.M. (2017). *Evaluación de un consorcio microbiano (Lactobacillus y Bacillus) con potencial probiótico en la alimentación de alevinos de trucha arcoíris (Oncorhynchus mykiss) bajo condiciones de laboratorio en la Universidad de Nariño* [Tesis de pregrado, Universidad de Nariño]. Sistema Nacional de Recursos Digitales. https://sired.udenar.edu.co/9449/

Barrera Vaca, R.V. (2011). *Producción de ácido láctico mediante el uso de Lactobacillus rhamnosus a partir de melaza* [Tesis de pregrado, Universidad Técnica de Ambato]. Repositorio Universidad Técnica de Ambato. http://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/3108

Bedón León, L.J., & Quintana Latorre, M.E. (2018). *Aislamiento, producción y comercialización de un consorcio de bacterias ácido-lácticas para fermentación y conservación de forrajes* [Tesis de Maestría, Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE]. Repositorio Institucional de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE. http://repositorio.espe.edu.ec/handle/21000/14555

Benítez, R., Ibarz, A., & Pagán, J. (2008). Hidrolizados de proteína: procesos y aplicaciones. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana, 42*(2), 219–228. https://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-29572008000200008

Bintsis, T. (2018). Lactic acid bacteria: their applications in foods. *Journal of Bacteriology & Mycology: Open Access*, *6*(2), 89–94. https://doi.org/10.15406/jbmoa.2018.06.00182

Boutahiri, S., Benrkia, R., Tembeni, B., Idowu, O. E., & Olatunji, O. J. (2024). Effect of biostimulants on the chemical profile of food crops under normal and abiotic stress

conditions. *Current Plant Biology, 40,* 100410. https://doi.org/10.1016/j.cpb.2024.100410

Caballero Gómez, N., Manetsberger, J., Benomar, N., Abriouel, H., & Gombossy de Melo Franco, B. D. (2025). Co-cultures of lactic acid bacteria from Brazilian foods as inhibitors of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7 biofilm formation. *Heliyon, 11*(11), e43184. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2025.e43184

Calia, C., González García, S., Ingrao, C., Lagioia, G., Ruta, C., Secchi, N., & De Mastro, G. (2025). Life cycle assessment of microbial plant biostimulant production for application in sustainable agricultural systems. *Science of The Total Environment, 981*, 179610. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2025.179610

Calvo, P., Nelson, L., & Kloepper, J.W. (2014). Agricultural uses of plant biostimulants. *Plant Soil, 383*, 3-41. https://doi.org/10.1007/s11104-014-2131-8

Carrasco, G., & Izquierdo, J. (1996). *La empresa hidropónica de mediana escala: la técnica de la solución nutritiva recirculante ("NFT")*. Editorial Universidad de Talca. ISBN 956-7059-16-0. https://www.researchgate.net/publication/277012808_La_empresa_hidroponica_de_mediana_escala_la_tecnica_de_la_solucion_nutritiva_recirculante_NFT

Carrillo, P. (2025). Can biostimulants enhance plant resilience to heat and water stress in the Mediterranean hotspot?. *Plant Stress, 16,* 100802. https://doi.org/10.1016/j.stress.2025.100802

Ciani, M., Comitini, F., & Mannazzu, I. (2008). Fermentation. En S.E. Jørgensen & B.D. Fath (Eds.), *Encyclopedia of Ecology* (pp. 1548–1557). https://doi.org/10.1016/B978-008045405-4.00272-X

Correa Bernal, J.N. (2021). *Propuesta de producción de bioplástico a partir del suero de leche generado por el clúster de derivados lácteos de Cajamarca* [Tesis de pregrado, Universidad Católica Santo Toribio de Mogrovejo]. Repositorio de Tesis USAT. http://hdl.handle.net/20.500.12423/4052

Cota-Espericueta, A.D., & Ponce-Corral, C. (2008). Eliminación de bacterias patógenas en lodos residuales durante el secado solar. *Revista internacional de contaminación ambiental, 24*(4), 161-170.

http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-49992008000400002&lng=es&tlng=es

Daeschel, M. A. (1993). Chapter 4 - Applications and Interactions of Bacteriocins from Lactic Acid Bacteria in Foods and Beverages. En D.G. Hoover & L.R. Steenson (Eds.), *Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria* (pp. 63-91). Academic Press. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-355510-6.50012-9

Decreto Legislativo Nº1278. (2016). Decreto Legislativo que aprueba la Ley de Gestión Integral de Residuos Sólidos. Presidencia de la República. https://www.gob.pe/institucion/minam/normas-legales/3610-1278

Decreto Supremo Nº016-2012-AG. (2012). Aprueban Reglamento de Manejo de los Residuos Sólidos del Sector Agrario. Presidencia de la República. https://www.gob.pe/institucion/midagri/normas-legales/2318260-016-2012-ag

Decreto Supremo Nº014-2017-MINAM. (2017). Reglamento del Decreto Legislativo N° 1278, Decreto Legislativo que aprueba la Ley de Gestión Integral de Residuos Sólidos. Presidencia de la República. https://www.gob.pe/institucion/minam/normas-legales/3695-014-2017-minam

Decreto Supremo Nº006-2024-MIDAGRI. (2024). Decreto Supremo que aprueba el Reglamento de Gestión Ambiental del Sector Agrario y de Riego. Presidencia de la República. https://www.gob.pe/institucion/midagri/normas-legales/5648253-006-2024-midagri

Decreto Supremo N°007-2025-MIDAGRI. (2025). Decreto Supremo que aprueba la Hoja de Ruta hacia una Economía Circular en el Sector Agrario y de Riego. Presidencia de la República. https://sinia.minam.gob.pe/normas/decreto-supremo-que-aprueba-hoja-ruta-hacia-una-economia-circular-sector

De Angelis, M., & Calasso, M. (2014). Molecular biology: Proteomics. Encyclopedia of *Food Microbiology*, 793–802. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00376-1

Du Jardin, P. (2015). Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. *Scientia Horticulturae*, *196*, 3–14. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.021

Durand Ordiales, B.L. (2020). *Valorización de los residuos orgánicos blandos de productos hidrobiológicos del mercado pesquero Palomar – Arequipa –2019* [Tesis de pregrado, Universidad Católica de Santa María]. Repositorio Institucional - Universidad Católica de Santa María. https://repositorio.ucsm.edu.pe/handle/20.500.12920/9827

Fadel, M., Abdel Naser A. Zohri, El-Heeny, M.S., & Abdel Aziz, A.M. (2018). Managing of bacterial contamination in alcoholic fermentation of sugar cane molasses. *Asian Journal of Science and Technology, 9*(01), 7383-7391. https://www.journalajst.com/sites/default/files/issues-pdf/5545.pdf

Fajardo Castillo, E.E., & Sarmiento Forero, S.C. (2007). *Evaluación de melaza de caña como sustrato para la producción de Saccharomyces cerevisiae* [Tesis de pregrado, Pontificia Universidad Javeriana]. Repositorio Institucional Javeriano. http://hdl.handle.net/10554/8279

Farooq, U., Anjum, F. M., Zahoor, T., Sajjad-ur-Rahman, Randhawa, M. A., Ahmed, A., & Akram, K. (2012). Optimization of lactic acid production from cheap raw material: sugarcane molasses. *Pakistan Journal of Botany, 44*(1), 333-338. https://pakbs.org/pjbot/PDFs/44(1)/49.pdf

Ganugi, P., Martinelli, E., & Lucini, L. (2021). Microbial biostimulants as a sustainable approach to improve the functional quality in plant-based foods: a review. *Current Opinion in Food Science*, *41*, 217–223. https://doi.org/10.1016/j.cofs.2021.05.001

García, C., Rendueles, M., & Díaz, M. (2019). Liquid-phase food fermentations with microbial consortia involving lactic acid bacteria: A review. *Food Research International, 119*, 207-220. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.01.043

Garrote Achou, C., Cantalejo Díez, M. J., Diaz Cano, J., & Molinos Equiza, X. (2025). Evaluation of different nutritional sources in lactic acid bacteria fermentation for sustainable postbiotic production. *Foods, 14*(4), 649. https://doi.org/10.3390/foods14040649

Ghaffar, T., Irshad, M., Anwar, Z., Aqil, T., Zulifqar, Z., Tariq, A., Kamran, M., Ehsan, N., & Mehmood, S. (2014). Recent trends in lactic acid biotechnology: A brief review on production to purification. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences, 7*(2), 222-229. https://doi.org/10.1016/j.jrras.2014.03.002

Godenzi Vargas, J.P. (2018). *Niveles de Externalidad de la Tuna y Cochinilla de Tunales Silvestres y Campos Cultivados en el Distrito de Pacaycasa* [Tesis de maestría, Universidad Nacional De San Cristóbal de Huamanga]. Repositorio UNSCH. http://repositorio.unsch.edu.pe/handle/UNSCH/4707

Guerrero-Haber, J.R., Ramírez-Perú, A.L., & Puente-Vidal, W. (2011). Caracterización del suero de queso blanco del combinado lácteo Santiago. *Tecnología Química, 31*(3), 313-323. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-61852011000300006&lng=es&tlng=es

Hernández-Urbiola, M. I., Contreras-Padilla, M., Pérez-Torrero, E., Hernández-Quevedo, G., Rojas-Molina, J. I., Cortes, M. E., & Rodríguez-García, M. E. (2010). Study of nutritional composition of nopal (Opuntia ficus indica cv. Redonda) at different maturity stages. *The Open Nutrition Journal, 4*, 11–16. https://www.researchgate.net/publication/264869294_Study_of_Nutritional_Composition_of_Nopal_Opuntia_ficus_indica_cv_Redonda_at_Different_Maturity_Stages

Hetényi, K., Németh, Á., & Sevella, B. (2011). Role of pH-regulation in lactic acid fermentation: Second steps in a process improvement. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification, 50*(3), 293–299. https://doi.org/10.1016/j.cep.2011.01.008

Huambo Abad, O. C. (2025). *Diseño de planta productora de cerveza artesanal para aprovechar el suero de leche de una empresa ganadera en Lambayeque* [Tesis de pregrado, Universidad Católica Santo Toribio de Mogrovejo]. Repositorio de Tesis USAT. http://hdl.handle.net/20.500.12423/8471

Huerta Muñoz, E., Cruz Hernández, J., Aguirre Álvarez, L., Caballero Mata, R., Pérez Hidalgo, L. F. (2015). Toxicidad de fertilizantes orgánicos estimada con bioensayo de germinación de lechuga. *Terra Latinoamericana, 33*(2), 179-185. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-57792015000200179

Huss, H. H. (Ed.). (1999). *El pescado fresco: su calidad y cambios de su calidad (FAO Fisheries Technical Paper No. 348).* Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). https://www.fao.org/4/v7180s/v7180s00.htm#Contents

Instituto Tecnológico de la Producción. (2018). *Boletín de vigilancia tecnológica: Pesca, N°01-2018 "Residuos de la pesca: Aprovechamiento y valor agregado"*. Ministerio de la Producción. https://www.itp.gob.pe/archivos/vtic/PESCA_001-2018.pdf

Jiménez Gómez, G. C., Martínez Lara, L., Martínez Valenzuela, M. (2022). Categorización de residuos de pescado para la elaboración de subproductos de valor agregado. *Revista Ingeniantes, 1*(1), 7-12. https://citt.itsm.edu.mx/ingeniantes/revista9no1vol1/files/basic-html/page7.html

Lau, S.-E., Lim, L. W. T., Hamdan, M. F., Chan, C., Saidi, N. B., Ong Abdullah, J., & Tan, B. C. (2025). Enhancing Plant Resilience to Abiotic Stress: The Power of Biostimulants. *Phyton - Revista Internacional de Botánica Experimental, 94*(1), 1–31. https://doi.org/10.32604/phyton.2025.059930

Leiva Trujillo, B.F. (2018). *Elaboración de biofertilizante a partir de estiércol de ganado vacuno y efluente de proceso de fermentación cervecera mediante fermentación homoláctica* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Agraria la Molina]. Repositorio Institucional Universidad Nacional Agraria La Molina. https://hdl.handle.net/20.500.12996/3740

Licea Zepeda, I. (2012). *Efecto de la solución nutritiva en el rendimiento de lechuga (Lactuca sativa L.) en dos sistemas hidropónicos: camas flotantes y aeroponía* [Tesis de Especialidad en Ingeniería de Invernaderos, Universidad Autónoma de Querétaro]. Repositorio Institucional DGBSDI-UAQ. https://ri-ng.uaq.mx/handle/123456789/6347

Lozano, L. (2011). Ecofisiología de la tuna (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.). *Horticultura Argentina 30*(72), 37-52. https://www.produccion-animal.com.ar/produccion_y_manejo_pasturas/Tuna/04-Lozano.pdf

Malde, M. K., Bügel, S., Kristensen, M., Malde, K., Graff, I. E., & Pedersen, J. I. (2010). Calcium from salmon and cod bone is well absorbed in young healthy men: a double-blinded randomised crossover design. *Nutr Metab, 7*, 2-9. https://doi.org/10.1186/1743-7075-7-61

Medico Beviá, A. M. (2021). *Determinación de metals y de la capacidad antioxidante en tuna (Opuntia ficus-indica Mill): Microbiota y salud* [Tesis de maestría, Universidad Miguel Hernández de Elche]. Repositorio RediUMH. http://hdl.handle.net/11000/25895

Muck, R. E. (2010). Silage microbiology and its control through additives. *Revista Brasileira de Zootecnia*, *39*, 183-191. https://doi.org/10.1590/S1516-35982010001300021

Nedjimi, B. (2021). Determination of Some Major and Trace Elements in Cladodes of Barbary fig (*Opuntia ficus-indica* Mill.) by X-ray Fluorescence Spectrometry. *Biol Trace Elem Res 199*, 4353–4359 (2021). https://doi.org/10.1007/s12011-020-02555-4

Njinkoue, J. M., Gouado, I., Tchoumbougnang, F., Yanga Ngueguim, J. H., Ndinteh, D. T., Fomogne-Fodjo, C. Y., & Schweigert, F. J. (2016). Proximate composition, mineral content and fatty acid profile of two marine fishes from Cameroonian coast: *Pseudotolithus typus* (Bleeker, 1863) and *Pseudotolithus elongatus* (Bowdich, 1825). *NFS Journal, 4*, 27–31. https://doi.org/10.1016/j.nfs.2016.07.002

Nuzhyna, N., Raksha, N., Halenova, T., Vovk, T., Savchuk, O., Maievska, T., Maievskyi, K., Tonkha, O., & Ostapchenko, L. (2024). Fish hydrolysates as potential biostimulants for growing legumes and cereals to reduce temperature stress. *The Open Agriculture Journal*, *18*. https://doi.org/10.2174/0118743315337010240830071253

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (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. https://openknowledge.fao.org/server/api/core/bitstreams/de051ab1-9bb0-4bb5-99e8-8d84e604e711/content

Orozco Olivarez, F.G. (2011). *Producción de ácido láctico por medio de fermentación anaeróbica y su polimerización a partir de reacciones de apertura de anillo* [Tesis de maestría, Centro de Investigación Científica de Yucatán A.C.]. CICY Repositorio. http://cicy.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1003/1333

Ossa, J. A., Vanegas, M. C., & Badillo, Á. M. (2010). Evaluación de la melaza de caña como sustrato para el crecimiento de *Lactobacillus plantarum*. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, *13*(1), 97–104. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-42262010000100011&lng=en&tlng=es.

Oude Elferink, S. J. W. H., Driehuis, F., Gottschal, J. C., & Spoelstra, S. F. (2001). Los procesos de fermentación del ensilaje y su manipulación. En L. 't Mannetje (Ed.), *El ensilaje en el trópico: Privilegiando opciones para pequeños campesinos. Memorias de la Conferencia Electrónica de la FAO sobre el Ensilaje en los Trópicos (1 septiembre–15 diciembre 1999)*. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). https://www.fao.org/4/x8486s/x8486s04.htm

Padín González, C., & Díaz Fernández, M. (2009). Fermentación alcohólica del lactosuero por *Kluyveromyces marxianus* y solventes orgánicos como extractantes. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología, 29*(2), 110-116. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562009000200008&lng=es&tlng=es

Palmonari, A., Cavallini, D., Sniffen, C. J., Fernandes, L., Holder, P., Fagioli, L., Fusaro, I., Biagi, G., Formigoni, A., & Mammi, L. (2020). Short communication: Characterization of molasses chemical composition. *Journal of Dairy Science, 103*(7), 6244-6249. https://doi.org/10.3168/jds.2019-17644

Parra Huertas, R.A. (2010). Review. Bacterias ácido lácticas: papel funcional en los alimentos. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, 8*(1), 93-105. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1692-35612010000100012&lng=en&tlng=es

Pentreath, V., Gonzáles, E., Barquín, M., Ríos, S.M., & Perales, S. (2015). Bioensayo de toxicidad aguda con plantas nativas para evaluar un derrame de petróleo. *Rev. salud ambiental, 15*(1), 4-12. https://ojs.diffundit.com/index.php/rsa/article/view/551/668

Potgieter, J., & D'Aquino, S. (2018). *Producción de tuna y manejo postcosecha.* En P. Inglese, C. Mondragón Jacobo, A. Nefzaoui & C. Sáenz (Eds.), *Ecología del cultivo, manejo y usos del nopal.* La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura y el Centro Internacional de Investigaciones Agrícolas en Zonas Áridas. https://hdl.handle.net/20.500.11766/9380

Poveda E., E. (2013). Suero lácteo, generalidades y potencial uso como fuente de calcio de alta biodisponibilidad. *Revista chilena de nutrición, 40*(4), 397-403. https://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182013000400011

Ramírez Ramírez, J.C., Rosas Ulloa, P., Velázquez Gonzáles, M.Y., Ulloa, J. A., & Arce Romero, F. (2011). Bacterias lácticas: Importancia en alimentos y sus efectos en la

salud. *Revista Fuentes*, (7), 1-16. http://fuente.uan.edu.mx/publicaciones/03-07/1.pdf

Reglamento (UE) 2019/1009. (2019). Reglamento (UE) 2019/1009 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 5 de junio de 2019, por el que se establecen normas relativas a la comercialización de los productos fertilizantes UE y se modifican los Reglamentos (CE) n.º 1069/2009 y (CE) n.º 1107/2009 y se deroga el Reglamento (CE) n.º 2003/2003. Parlamento Europeo y el Consejo de la Unión Europea. http://data.europa.eu/eli/reg/2019/1009/oj

Ren, S., Zhou, R., Shen, S., & Yu, J. (2025). A novel method for rapid detection of lactic acid bacteria resistance based on flow cytometry. *LWT*, *228*, 118109. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2025.118109

Resolución N° 270/022 DGSA. (2022). Se aprueban los requisitos técnicos para el Registro de Insumos orgánicos especiales: Bioestimulantes de origen orgánico (sustancias húmicas, aminoácidos, extractos de algas y extractos vegetales) que se identificará como Anexo IV de la Resolución 97/018 de fecha 15 de agosto de 2018, y los siguientes Formularios adjuntos: N° 304 "Solicitud de Registro de Bioestimulante de origen orgánico" y Nº 305 "Proyecto de Etiqueta de Bioestimulantes de origen orgánico". Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/institucional/normativa/resolucion-n-270022-dgsa-requisitos-tecnicos-para-registro-bioestimulantes

Reyes-Agüero, J.A., Aguirre-Rivera, J.R., & Hernández, H.M. (2005). Systematic notes and a detailed description of Opuntia ficus-indica (L.) Mill. (CACTACEAE). *Agrociencia, 39*(4), 395-408. http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=30239404

Ruero Silva, H.H. (2006). *Agentes microbianos asociados a enfermedades en Opuntia spp. "tuna". Ayacucho 2001-2002* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga]. Repositorio Institucional UNSCH. http://repositorio.unsch.edu.pe/handle/UNSCH/5282

Rustad, T., Storrø, I., & Slizyte, R. (2011). Possibilities for the utilisation of marine by-products. *International Journal of Food Science and Technology, 46*(10), 2001–2014. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2011.02736.x

Saborío, F. (2002). Bioestimulantes en fertilización foliar. En G. Meléndez y E. Molina (Eds), *Fertilización Foliar: Principios y Aplicaciones* (pp 107-124). Universidad de Costa Rica. https://www.nutricaodeplantas.agr.br/site/downloads/unesp_jaboticabal/Memoria_CursoFertilizacionFoliar.pdf

Sáenz, C., Berger, H., Corrales García, J., Galletti, L., García de Cortázar, V., Higuera, I., Mondragón, C., Rodríguez-Félix, A., Sepúlveda, E., & Varnero, M.T. (2006). *Utilización agroindustrial del nopal*. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). https://www.fao.org/4/a0534s/a0534s00.pdf

Salamanca Grosso, G., Osorio Tangarife, M.P., & Machado Arguelles, I. (2007). *Estado fisicoquímico y microbiológicos del pescado seco distribuido en periodos de temporada*. https://www.researchgate.net/publication/311415670

Salvatore, M. M., Maione, A., Buonanno, A., Guida, M., Andolfi, A., Salvatore, F., & Galdiero, E. (2025). Biological activities, biosynthetic capacity and metabolic interactions of lactic acid bacteria and yeast strains from traditional home-made kefir. *Food Chemistry*, *470*, 142657. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.142657

Sierra y Selva Exportadora (2022a). *Análisis de Mercado - Tuna 2015 - 2021*. Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego. https://www.gob.pe/institucion/agromercado/informes-publicaciones/2765089-analisis-de-mercado-tuna-2015-2021

Sierra y Selva Exportadora (2022b). *Perfil de mercado de la cochinilla 2017 - 2021*. Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego. https://www.gob.pe/institucion/agromercado/informes-publicaciones/3746028-perfil-de-mercado-de-la-cochinilla

Sobrero, M.C., & Ronco, A. (2008). Ensayo de toxicidad agua con semillas de lechuga *Lactuca sativa* L. En P. Ramírez & A. Mendoza (Eds.), *Ensayos toxicológicos para la evaluación de sustancias químicas en agua y suelo: La experiencia en México*. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales e Instituto Nacional de Ecología. http://centro.paot.org.mx/documentos/semarnat/ensayo_toxicologico.pdf

Teughels, W., Loozen, G., & Quirynen, M. (2011). Do probiotics offer opportunities to manipulate the periodontal oral microbiota? *Journal of Clinical Periodontology*, *38*, 159–177. https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2010.01665.x

Teusink, B., & Molenaar, D. (2017). Systems biology of lactic acid bacteria: For food and thought. *Current Opinion in Systems Biology, 6*, 7–13. https://doi.org/10.1016/j.coisb.2017.07.005

Tolkou, A. K., Toubanaki, D. K., & Kyzas, G. Z. (2023). Detection of arsenic, chromium, cadmium, lead, and mercury in fish: Effects on the sustainable and healthy development of aquatic life and human consumers. *Sustainability, 15*(23), 16242. https://doi.org/10.3390/su152316242

Torres Rodríguez, M.T. (2003). Empleo de los ensayos con plantas en el control de contaminantes tóxicos ambientales. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología, 41*(2-3) http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-30032003000200009&lng=es&tlng=es

Ulloa Flores, E.J.R. (2022). *Aprovechamiento de residuos de pescado en la producción de biogás obtenido mediante digestión anaerobia en la ciudad de Arequipa* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional San Agustín de Arequipa]. Repositorio Institucional UNAS. http://hdl.handle.net/20.500.12773/14177

Varnero, M.T., Rojas, C., & Orellana, R. (2007). Índices de fitotoxicidad en residuos orgánicos durante el compostaje. *Revista de la ciencia del suelo y nutrición vegetal, 7*(1), 28-37. https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-27912007000100003

Vega-Baudrit, J., Delgado-Montero, J., Sibaja Ballestero, K., Alvarado Aguilar, P., & Barrientos Ramírez, S. (2008). Empleo de melaza de caña de azúcar para la obtención y caracterización de poliuretanos potencialmente biodegradables. I. *Revista Iberoamericana de Polímeros, 9*(4), 408-421. https://reviberpol.org/wp-content/uploads/2019/07/2008-vega2.pdf

Villagomez Izaguirre, M. (2000). *Cultivo tunas y tendrá buenos ingresos*. Instituto Nacional de Agricultura. https://repositorio.inia.gob.pe/handle/20.500.12955/1000

Willey, J.M., Sandman, K.M., & Wood, D.H. (2023). Prescott's Microbiology (12ª ed.). McGraw Hill.

Yeboah, P. J., Ibrahim, S. A., & Krastanov, A. (2023). A review of fermentation and the nutritional requirements for effective growth media for lactic acid bacteria. *Food*

Science and Applied Biotechnology, 6(2), 215–240. https://doi.org/10.30721/fsab2023.v6.i2.269

Zapaśnik, A., Sokołowska, B., & Bryła, M. (2022). Role of lactic acid bacteria in food preservation and safety. *Foods, 11*(9), 1283. https://doi.org/10.3390/foods11091283

VIII. ANEXOS

Anexo 1: Ficha técnica de GARLAC

Qollkafer
QOLLKA FER SAC. *"Mejorando la productividad en la agroindustria"*

GARLAC

Biofertilizante Líquido Orgánico 100% Natural
Acidificante Orgánico

GARLAC, es un consorcio de microorganismos benéficos o GRAS (generally recognized as safe), concentrado microbiano líquido de amplio uso en el sector agropecuario.
GARLAC, acelera el proceso de descomposición de la materia orgánica en el suelo y en los procesos de compostaje, reduce rápidamente los malos olores en granjas y se usa como conservante en procesos de ensilado.
GARLAC, aplicado al suelo agrícola, el complejo de bacterias benéficas y sus metabolitos mejoran el pH y favorecen la solubilidad del fósforo, azufre y elementos menores haciéndolos más disponibles y facilitando la absorción de nutrientes.
GARLAC, en aplicación foliar, drench y por el sistema de riego tecnificado se comporta como un bioestimulante completo. Su participación en la nutrición vegetal es vital, actuando como suplemento nutricional, activador de los procesos fisiológicos (crecimiento y desarrollo) de las plantas.
GARLAC promueve condiciones favorables para el incremento de microorganismos beneficiosos en el suelo, en el área foliar de las plantas,
el cual suprime el desarrollo de microorganismos fitopatógenos.
GARLAC es producido a través de procesos Biotecnológicos de fermentación láctea, genera los aminoácidos en forma L (biológicamente activos), única forma de aprovechamiento de las plantas.

GARLAC protege el medio ambiente, no contamina el agua ni el suelo, no produce desequilibrios en el agroecosistema, asegura productos totalmente saludables.

COMPOSICION:

pH de 3.5 – 3.9
Ácidos orgánicos, aminoácidos libres, péptidos, factores de crecimiento y activadores del metabolismo vegetal.
Microorganismos aerobios viables
Bacterias acidolácticas probióticas.

Calle Santa Paula N° 524, Urb. Santa Paula – III Etapa, Dist. Lima - Lima
Cel: 995 516 897 - email: qollkafer@gmail.com

APLICACIÓN:

Sobre excretas de animales de granja use solución concentrada o al 50%.
Para humedecer el compost y acelerar el proceso usar una concentración de 1 - 2 L / 100 L de agua.
En bebederos de animales de 1 a 2 ml por 1 L de agua.
En plantas 1 - 2 L por cilindro de agua para aplicación foliar. En drench 5 L en 200 L de agua.
Para otros usos consultar con el asesor técnico.

RECOMENDACIONES DE USO:

No necesita condiciones especiales de aplicación y manejo.
No necesita adherentes ni acidificantes.
Agítelo antes de usar.
Una vez preparada la solución nutritiva úsela inmediatamente.
Almacenar en ambientes ventilados y evite la exposición directa al sol.

PRESENTACIÓN: (1 L, y 20 L)



Anexo 2: Evaluación diaria de pH (escala laboratorio)

Tratamiento	Composición		Repetición	Día					
	GARLAC	Melaza		0	1	2	3	4	5
T0	0 %	0 %	R1	5.57	5.01	4.25	3.9	3.84	3.85
			R2	5.54	5.05	4.38	3.9	3.87	3.78
			R3	5.56	5.16	4.6	3.96	3.89	3.84
T1	0 %	5 %	R1	5.49	4.92	4.15	3.92	3.85	3.67
			R2	5.47	5.01	4.29	3.97	3.89	3.71
			R3	5.46	5.26	4.4	4.01	3.85	3.71
T2	0 %	10 %	R1	5.44	5	3.98	3.82	3.63	3.72
			R2	5.43	5.15	4.21	3.93	3.74	3.73
			R3	5.45	5.27	4.32	4.01	3.81	3.81
T3	0 %	15 %	R1	5.3	4.63	3.66	3.5	3.5	3.52
			R2	5.36	4.74	3.83	3.63	3.55	3.58
			R3	5.39	4.77	4.02	3.52	3.43	3.54
T4	5 %	0 %	R1	5.16	4.84	4.2	3.87	3.74	3.91
			R2	5.15	4.9	4.26	3.89	3.82	3.83
			R3	5.13	5.02	4.44	3.92	3.82	3.76
T5	5 %	5 %	R1	5.23	4.8	4.21	3.83	3.65	3.8
			R2	5.1	4.87	3.82	3.64	3.5	3.69
			R3	5.08	4.96	4.17	3.61	3.48	3.65
T6	5 %	10 %	R1	5.13	4.8	3.86	3.65	3.55	3.66
			R2	5.15	4.87	4.15	3.74	3.54	3.58
			R3	5.14	5	4.25	3.67	3.54	3.55
T7	5 %	15 %	R1	5.11	4.96	4.09	3.87	3.72	3.83
			R2	5.14	4.99	4.21	3.81	3.74	3.76
			R3	5.13	5.03	4.27	3.8	3.71	3.62

Continuación …

T8	10 %	0 %	R1	4.97	4.86	4.18	3.96	3.79	3.85
			R2	4.86	4.86	4.03	3.93	3.76	3.88
			R3	4.94	4.89	4.05	3.97	3.84	3.84
T9	10 %	5 %	R1	4.95	4.84	3.89	3.65	3.54	3.67
			R2	5.03	4.81	3.56	3.5	3.51	3.55
			R3	4.89	4.76	3.58	3.59	3.5	3.54
T10	10 %	10 %	R1	4.92	4.82	4.06	3.52	3.43	3.44
			R2	4.93	4.76	3.75	3.5	3.57	3.54
			R3	5.01	4.81	3.63	3.57	3.54	3.54
T11	10 %	15 %	R1	4.91	4.8	3.48	3.54	3.53	3.49
			R2	4.93	4.84	3.47	3.51	3.48	3.53
			R3	4.94	4.84	3.52	3.54	3.6	3.54
T12	15 %	0 %	R1	4.95	4.84	4.21	4.01	3.9	3.83
			R2	4.89	4.8	4.09	3.92	3.83	3.77
			R3	4.86	4.76	3.94	3.85	3.84	3.75
T13	15 %	5 %	R1	4.85	4.75	4.23	3.81	3.65	3.68
			R2	4.83	4.68	3.92	3.7	3.71	3.62
			R3	4.9	4.83	3.88	3.65	3.59	3.58
T14	15 %	10 %	R1	4.61	4.62	3.84	3.57	3.44	3.52
			R2	4.77	4.6	3.71	3.51	3.52	3.51
			R3	4.72	4.71	4	3.58	3.56	3.58
T15	15 %	15 %	R1	4.88	4.76	4.17	3.6	3.5	3.48
			R2	4.87	4.8	3.97	3.66	3.59	3.6
			R3	4.9	4.76	3.82	3.52	3.49	3.47

Anexo 3: Evaluación diaria del consumo de mL de NaOH (escala laboratorio)

Tratamiento	Composición		Repetición	Día					
	GARLAC	Melaza		0	1	2	3	4	5
			R1	2.6	2.8	6.1	7.7	9.4	8.6
T0	0 %	0 %	R2	3	2.7	4.8	7.3	8.6	8.9
			R3	2.8	3	3.9	6.2	8	8.8
			R1	1.6	3.7	6	8.4	10	11.1
T1	0 %	5 %	R2	2.2	3.4	5.5	7.7	9.4	10.7
			R3	2.4	2.4	5.4	7.2	9.6	11.1
			R1	2.5	3.7	7.8	9.7	13.5	13.8
T2	0 %	10 %	R2	2.6	3.4	6.8	8	11.2	13.2
			R3	2.3	2.6	6.2	7.1	10.1	12.7
			R1	3	3.6	10.2	14.3	16.8	16.1
T3	0 %	15 %	R2	3.2	3.5	8.8	11.9	16.3	15.5
			R3	2.5	4.1	7.7	13.9	17.2	15.4
			R1	2.7	3.2	5.6	7.5	10.4	9.4
T4	5 %	0 %	R2	3.3	3.2	4.5	6.7	8.5	8.7
			R3	2.9	2.7	4.4	6.7	8.8	9.7
			R1	2.7	3.6	5.7	9.9	10.6	10.8
T5	5 %	5 %	R2	4.2	3.3	8.5	11.1	11.8	11.7
			R3	3.2	3.1	6	11.3	12.2	12.1
			R1	4.8	3.4	10.4	13.7	12.7	14.6
T6	5 %	10 %	R2	3.4	4.1	7.8	12.6	14	14.9
			R3	3.3	3.1	7.3	12.9	13.6	15.1
			R1	3.5	3.5	7.1	9.9	11.1	12.1
T7	5 %	15 %	R2	3.9	3.3	7.4	10.1	11.1	12.8
			R3	3	2.9	6.3	10.1	11.3	13.4

Continuación …

			R1	3.3	3.3	5.5	7.5	8.9	9.4
T8	10 %	0 %	R2	3.5	3.1	5.6	7.6	9	8.3
			R3	3.5	3.3	5.7	7	7.6	8.4
			R1	3.7	3.6	8.3	10.6	11.4	11.8
T9	10 %	5 %	R2	4	3.2	9.9	12.1	12	12.5
			R3	3.9	3.4	9.8	10.7	12.3	13.1
			R1	3.6	2.9	6.9	13.6	17	16.7
T10	10 %	10 %	R2	3.1	3.4	9.8	14	15.2	15.2
			R3	3.8	3.5	11.4	13.8	16	14.9
			R1	3.6	3.4	11.4	13.1	14.5	15.5
T11	10 %	15 %	R2	3.6	3.2	12.4	14.9	16.6	16
			R3	3.5	3.5	10.8	13.9	14.1	14.8
			R1	3	2.9	6	7.9	10.9	11
T12	15 %	0 %	R2	3	2.8	6.4	9	12.1	12.9
			R3	3.3	2.9	7.2	9.3	12.1	11.8
			R1	3.6	3.5	6.4	9.3	13	14.2
T13	15 %	5 %	R2	3.5	3.7	7.5	10.2	11.2	15.1
			R3	3	3.3	7.5	11.1	13.9	14.4
			R1	4	3.5	9.3	13.2	16	15.5
T14	15 %	10 %	R2	4	3.3	9.3	14.3	15.8	16
			R3	4.1	3.4	7.5	13.3	14.4	14.3
			R1	4.8	3.6	7	13.2	16.5	17.5
T15	15 %	15 %	R2	4.5	3.6	8.8	11.4	14.8	15.5
			R3	4	3.4	10.1	15.2	18	17.8

Anexo 4: Evaluación diaria del porcentaje de acidez láctica (escala laboratorio)

Tratamiento	Composición		Repetición	Día					
	GARLAC	Melaza		0	1	2	3	4	5
T0	0 %	0 %	R1	0.59	0.63	1.37	1.73	2.12	1.94
			R2	0.68	0.61	1.08	1.64	1.94	2.00
			R3	0.63	0.68	0.88	1.40	1.80	1.98
T1	0 %	5 %	R1	0.36	0.83	1.35	1.89	2.25	2.50
			R2	0.50	0.77	1.24	1.73	2.12	2.41
			R3	0.54	0.54	1.22	1.62	2.16	2.50
T2	0 %	10 %	R1	0.56	0.83	1.76	2.18	3.04	3.11
			R2	0.59	0.77	1.53	1.80	2.52	2.97
			R3	0.52	0.59	1.40	1.60	2.27	2.86
T3	0 %	15 %	R1	0.68	0.81	2.30	3.22	3.78	3.62
			R2	0.72	0.79	1.98	2.68	3.67	3.49
			R3	0.56	0.92	1.73	3.13	3.87	3.47
T4	5 %	0 %	R1	0.61	0.72	1.26	1.69	2.34	2.12
			R2	0.74	0.72	1.01	1.51	1.91	1.96
			R3	0.65	0.61	0.99	1.51	1.98	2.18
T5	5 %	5 %	R1	0.61	0.81	1.28	2.23	2.39	2.43
			R2	0.95	0.74	1.91	2.50	2.66	2.63
			R3	0.72	0.70	1.35	2.54	2.75	2.72
T6	5 %	10 %	R1	1.08	0.77	2.34	3.08	2.86	3.29
			R2	0.77	0.92	1.76	2.84	3.15	3.35
			R3	0.74	0.70	1.64	2.90	3.06	3.40
T7	5 %	15 %	R1	0.79	0.79	1.60	2.23	2.50	2.72
			R2	0.88	0.74	1.67	2.27	2.50	2.88
			R3	0.68	0.65	1.42	2.27	2.54	3.02

Continuación …

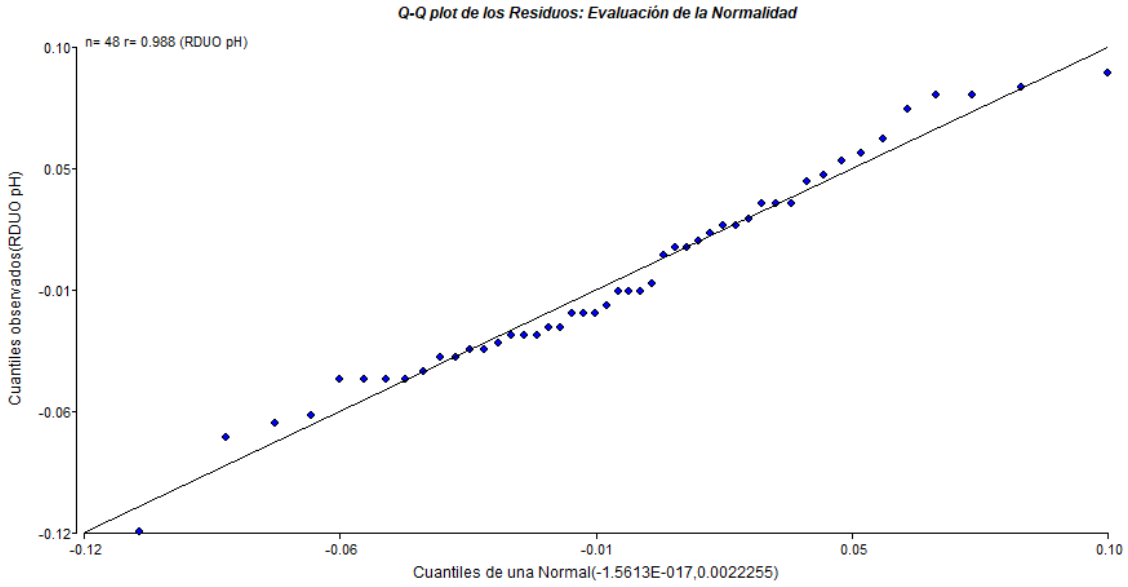
			R1	0.74	0.74	1.24	1.69	2.00	2.12
T8	10 %	0 %	R2	0.79	0.70	1.26	1.71	2.03	1.87
			R3	0.79	0.74	1.28	1.58	1.71	1.89
			R1	0.83	0.81	1.87	2.39	2.57	2.66
T9	10 %	5 %	R2	0.90	0.72	2.23	2.72	2.70	2.81
			R3	0.88	0.77	2.21	2.41	2.77	2.95
			R1	0.81	0.65	1.55	3.06	3.83	3.76
T10	10 %	10 %	R2	0.70	0.77	2.21	3.15	3.42	3.42
			R3	0.86	0.79	2.57	3.11	3.60	3.35
			R1	0.81	0.77	2.57	2.95	3.26	3.49
T11	10 %	15 %	R2	0.81	0.72	2.79	3.35	3.74	3.60
			R3	0.79	0.79	2.43	3.13	3.17	3.33
			R1	0.68	0.65	1.35	1.78	2.45	2.48
T12	15 %	0 %	R2	0.68	0.63	1.44	2.03	2.72	2.90
			R3	0.74	0.65	1.62	2.09	2.72	2.66
			R1	0.81	0.79	1.44	2.09	2.93	3.20
T13	15 %	5 %	R2	0.79	0.83	1.69	2.30	2.52	3.40
			R3	0.68	0.74	1.69	2.50	3.13	3.24
			R1	0.90	0.79	2.09	2.97	3.60	3.49
T14	15 %	10 %	R2	0.90	0.74	2.09	3.22	3.56	3.60
			R3	0.92	0.77	1.69	2.99	3.24	3.22
			R1	1.08	0.81	1.58	2.97	3.71	3.94
T15	15 %	15 %	R2	1.01	0.81	1.98	2.57	3.33	3.49
			R3	0.90	0.77	2.27	3.42	4.05	4.01

Anexo 5: Prueba estadística para el pH en el día cinco (escala laboratorio)

1. Cumplimientos de supuestos del ANOVA

1.1. Normalidad de los residuos

1.1.1. Método gráfico



1.1.2. Prueba de la Normalidad (Shapiro – Wilks modificado)

H_0: Los residuos siguen una distribución normal ($p > 0.05$)

H_1: Los residuos no siguen una distribución normal ($p < 0.05$)

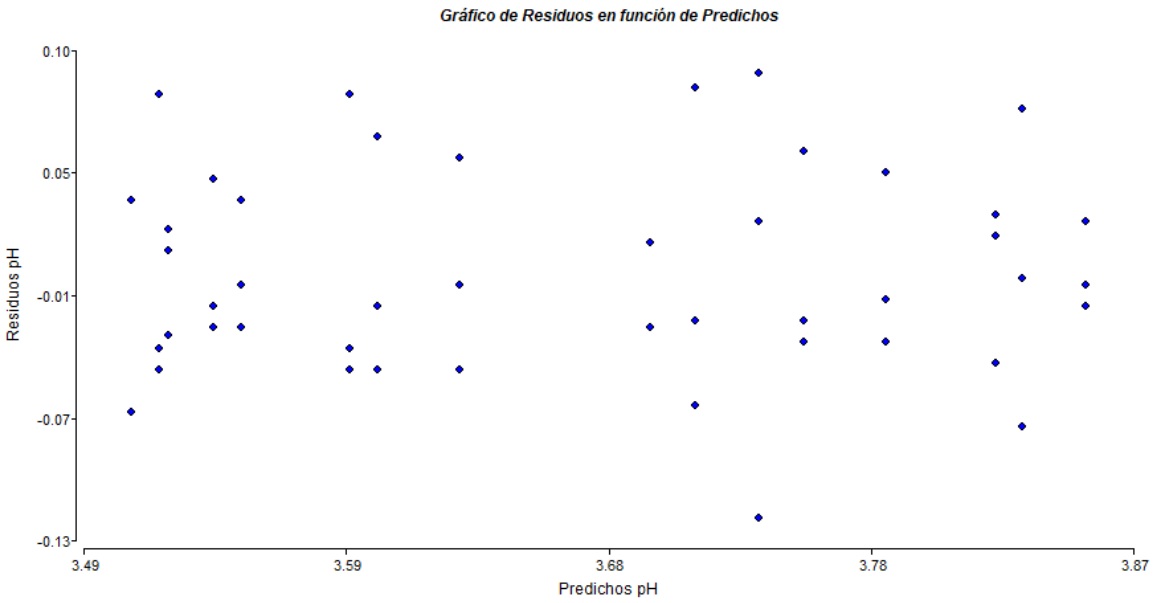
Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO pH	48	0.00	0.05	0.96	0.4066

Conclusión: Se acepta H_0, los residuos no presentan evidencia suficiente de no seguir una distribución residuos, por lo que se asume que los datos tienen una distribución normal.

1.2. Homocedasticidad

1.2.1. Método gráfico



1.2.2. Homogeneidad de varianzas (prueba de Levene)

H_0: Las varianzas de los tratamientos son iguales ($p > 0.05$)

H_1: Las varianzas de los tratamientos no son iguales ($p < 0.05$)

Análisis de la varianza

Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
RABS pH	48	0.42	0.15	61.77

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0.01	15	9.0E-04	1.56	0.1407
Tratamiento	0.01	15	9.0E-04	1.56	0.1407
Error	0.02	32	5.8E-04		
Total	0.03	47			

Conclusión: Se acepta H_0, los datos no presentan evidencia suficiente para sugerir que las varianzas de los tratamientos son diferentes.

2. Análisis de la varianza (ANOVA)

H_0: Las medias de todos los tratamientos son iguales (*p > 0.05)*

H_1: Al menos una de las medias de los tratamientos es diferente (*p < 0.05)*

pH

Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
pH	48	0.87	0.81	1.56

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0.69	15	0.05	14.15	<0.0001
Tratamiento	0.69	15	0.05	14.15	<0.0001
Error	0.10	32	3.3E-03		
Total	0.80	47			

Conclusión: Se rechaza H_0, por lo cual se concluye que al menos uno de los tratamientos es estadísticamente significativa diferente de los demás.

3. Prueba de Tukey

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.17310

Error: 0.0033 gl: 32

Tratamiento	Medias	n	E.E.					
T10	3.51	3	0.03	A				
T15	3.52	3	0.03	A				
T11	3.52	3	0.03	A				
T14	3.54	3	0.03	A	B			
T3	3.55	3	0.03	A	B	C		
T9	3.59	3	0.03	A	B	C	D	
T6	3.60	3	0.03	A	B	C	D	
T13	3.63	3	0.03	A	B	C	D	E
T1	3.70	3	0.03		B	C	D	E	F
T5	3.71	3	0.03			C	D	E	F
T7	3.74	3	0.03				D	E	F
T2	3.75	3	0.03				D	E	F
T12	3.78	3	0.03					E	F
T0	3.82	3	0.03						F
T4	3.83	3	0.03						F
T8	3.86	3	0.03						F

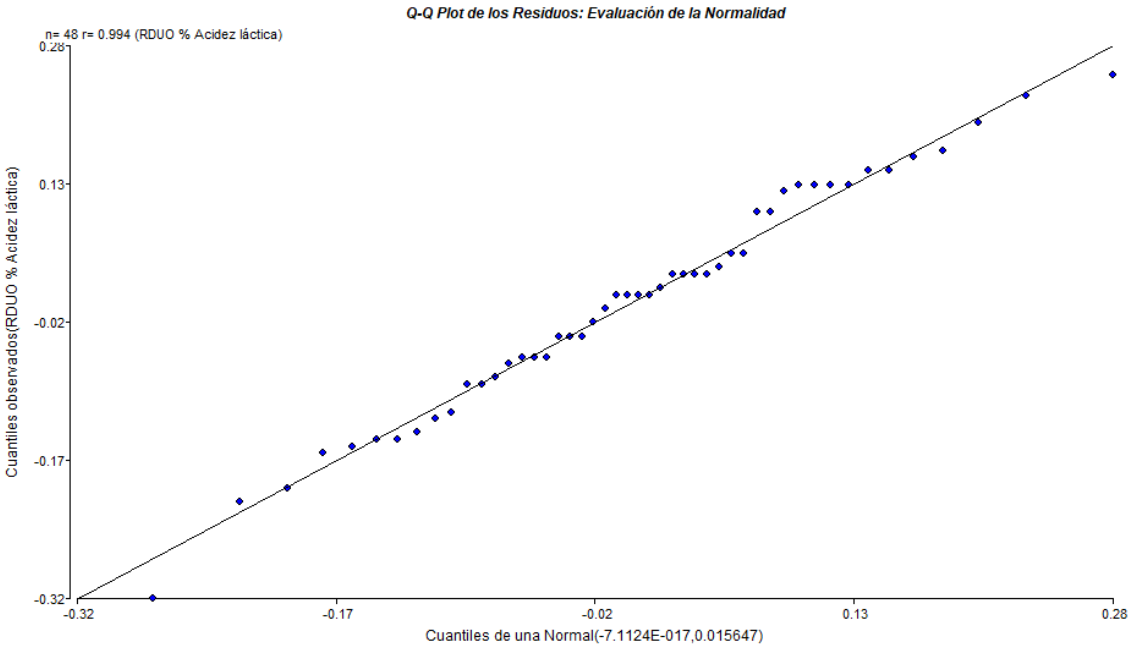
Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

Anexo 6: Prueba estadística para la acidez láctica al día cinco (escala laboratorio)

1. Cumplimientos de supuestos del ANOVA

1.1. Normalidad de los residuos

1.1.1. Método gráfico



1.1.2. Prueba de la Normalidad (Shapiro – Wilks modificado)

H_0: Los residuos siguen una distribución normal ($p > 0.05$)

H_1: Los residuos no siguen una distribución normal ($p < 0.05$)

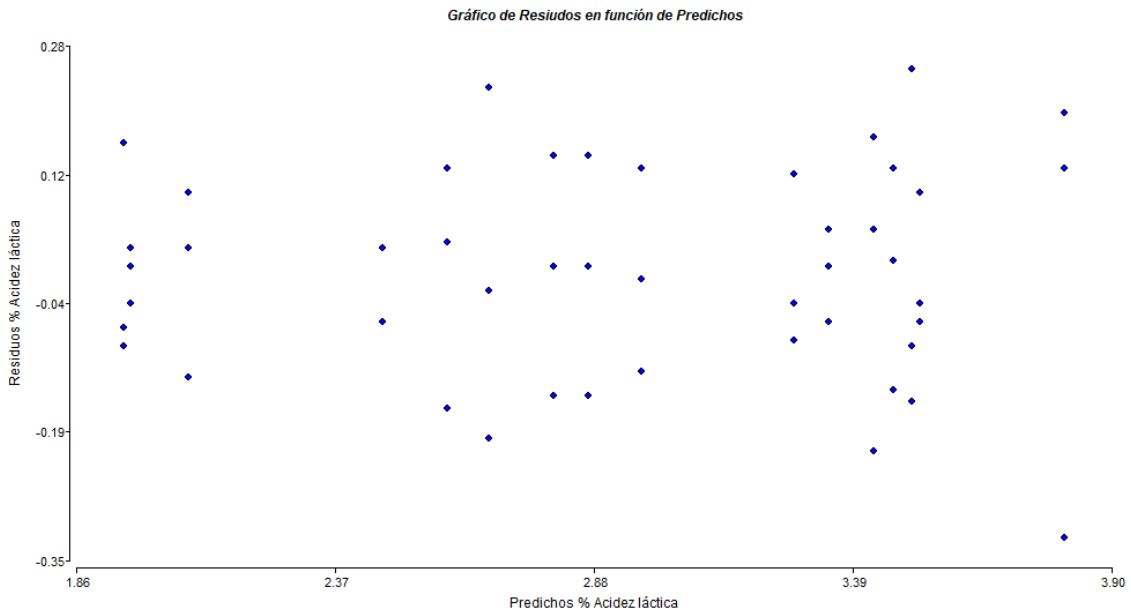
Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO % Acidez láctica	48	0.00	0.13	0.97	0.7562

Conclusión: Se acepta H_0, los residuos no presentan evidencia suficiente de no seguir una distribución normal, por lo que se asume que los residuos tienen una distribución normal.

1.2. Homocedasticidad

1.2.1. Método gráfico



1.2.2. Homogeneidad de varianzas (prueba de Levene)

H_0: Las varianzas de los tratamientos son iguales ($p > 0.05$)

H_1: Las varianzas de los tratamientos no son iguales ($p < 0.05$)

Análisis de la varianza

Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
RABS % Acidez láctica	48	0.44	0.18	66.25

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0.11	15	0.01	1.68	0.1077
Tratamiento	0.11	15	0.01	1.68	0.1077
Error	0.14	32	4.4E-03		
Total	0.25	47			

Conclusión: Se acepta H_0, los datos no presentan evidencia suficiente para sugerir que las varianzas de los tratamientos son diferentes.

2. Análisis de la varianza (ANOVA)

H_0: Las medias de todos los tratamientos son iguales ($p > 0.05$)

H_1: Al menos una de las medias de los tratamientos es diferente ($p < 0.05$)

% Acidez láctica

Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
% Acidez láctica	48	0.96	0.94	5.18

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	15.88	15	1.06	46.07	<0.0001
Tratamiento	15.88	15	1.06	46.07	<0.0001
Error	0.74	32	0.02		
Total	16.62	47			

Conclusión: Se rechaza H_0, por lo cual se concluye que al menos uno de los tratamientos es estadísticamente significativa diferente de los demás.

3. Prueba de Tukey

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.45898

Error: 0.0230 gl: 32

Tratamiento	Medias	n	E.E.					
T15	3.81	3	0.09	A				
T3	3.53	3	0.09	A	B			
T10	3.51	3	0.09	A	B			
T11	3.47	3	0.09	A	B			
T14	3.44	3	0.09	A	B	C		
T6	3.35	3	0.09		B	C		
T13	3.28	3	0.09		B	C	D	
T2	2.98	3	0.09			C	D	E
T7	2.87	3	0.09				D	E	F
T9	2.81	3	0.09					E	F
T12	2.68	3	0.09					E	F
T5	2.60	3	0.09					E	F
T1	2.47	3	0.09						F	G
T4	2.09	3	0.09							G	H
T0	1.97	3	0.09								H
T8	1.96	3	0.09								H

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

Anexo 7: Balance de masa (prueba piloto)

1. **Primera prueba piloto**

Insumos	Masa (kg)	pH
Residuos hidrobiológicos	6.00	-
Suero de leche	15.00	6.18
Masa de entrada al biorreactor	**21.00**	-
Hidrolizado de pescado	19.38	6.80
Huesos de pescado (húmedo)	0.64	-
Masa de salida del biorreactor	**20.02**	-
Hidrolizado de pescado	19.38	6.80
Penca de tuna	19.38	-
Unidad experimental (Mezcla 1, antes del triturado)	**38.75**	-
Unidad experimental (Mezcla 1, después del triturado)	**37.43**	-
Muestras para laboratorio (Mezcla 1)	**1.80**	-
Unidad experimental (Mezcla 1, masa final)	**35.63**	5.80
Melaza	3.56	5.15
GARLAC	3.56	3.59
Mezcla 2	**42.75**	-

Cosecha	Masa (kg)
Total (Mezcla 2 al quinto día del proceso fermentativo)	**42.19**
Líquido	**33.69**
Sólido húmedo	7.62
Sólido seco (60 °C por 4 días en el horno)	1.11
Huesos de pescado (seco, 60 °C por 2 días en el horno)	0.32
Mezcla 3	1.43
Pellets	**1.21**

2. **Segunda prueba piloto**

Insumos	Masa (kg)	pH
Residuos hidrobiológicos	6.00	-
Suero de leche	15.00	6.08
Masa de entrada al biorreactor	**21.00**	-
Hidrolizado de pescado	19.53	6.20
Huesos de pescado (húmedo)	0.63	-
Masa de salida del biorreactor	**20.16**	
Hidrolizado de pescado	19.53	6.20
Penca de tuna	19.50	-
Unidad experimental (Mezcla 1, antes del triturado)	**39.00**	-
Unidad experimental (Mezcla 1, después del triturado)	**36.92**	-
Muestras para laboratorio (Mezcla 1)	**1.80**	-
Unidad experimental (Mezcla 1, masa final)	**35.12**	5.34
Melaza	3.51	4.68
GARLAC	3.51	3.53
Mezcla 2	**42.14**	-

Cosecha	Masa (kg)
Total (Mezcla 2 al quinto día del proceso fermentativo)	**41.85**
Líquido	**35.50**
Sólido húmedo	5.17
Sólido seco (60 °C por 4 días en el horno)	0.97
Huesos de pescado (seco, 60 °C por 2 días en el horno)	0.30
Mezcla 3	1.27
Pellets	**1.24**

Anexo 8: Registro diario de pH, consumo de NaOH y acidez láctica (prueba piloto)

Día	Repetición	Primer piloto			Segundo piloto		
		pH	mL NaOH	% Acidez láctica	pH	mL NaOH	% Acidez láctica
0	R1	4.88	5	1.125	4.85	4.5	1.0125
	R2	4.86	5.2	1.17	4.87	4.5	1.0125
	R3	4.92	5.8	1.305	4.86	4.5	1.0125
1	R1	4.15	7.6	1.71	3.93	9.1	2.0475
	R2	4.13	7.3	1.6425	3.90	9.2	2.07
	R3	4.12	7.5	1.6875	3.88	9.2	2.07
2	R1	3.52	12.1	2.7225	3.60	12.4	2.79
	R2	3.50	12.2	2.745	3.60	12.4	2.79
	R3	3.50	12.1	2.7225	3.59	12.3	2.7675
3	R1	3.34	14.7	3.3075	3.42	14.1	3.1725
	R2	3.37	14.6	3.285	3.44	14.1	3.1725
	R3	3.33	14.7	3.3075	3.45	13.9	3.1275
4	R1	3.35	14.5	3.2625	3.42	14.6	3.285
	R2	3.36	14.5	3.2625	3.43	14.6	3.285
	R3	3.34	15	3.375	3.43	14.6	3.285
5	R1	3.35	13.9	3.1275	3.42	13.6	3.06
	R2	3.35	14.1	3.1725	3.43	13.4	3.015
	R3	3.35	13.9	3.1275	3.44	13.2	2.97

Anexo 9: Análisis físico-químico (prueba piloto)

Mezcla 1 (primer piloto)

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
FACULTAD DE AGRONOMIA
LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES

INFORME DE ANÁLISIS ESPECIAL DE MATERIA ORGÁNICA

SOLICITANTE	:	ZAYURI RIVERA ZEVALLOS
PROCEDENCIA	:	LIMA/ LIMA/ LA MOLINA
MUESTRA DE	:	BIOESTIMULANTE
REFERENCIA	:	H.R. 84886
BOLETA	:	7135
FECHA	:	17/02/2025

Nº LAB	CLAVES	pH	C.E. dS/m	Sólidos Totales g/L	M.O. en Solución g/L	N Total mg/L	P Total mg/L	K Total mg/L
096		4.81	13.71	86.34	72.60	4247.49	537.45	2825.00

Nº LAB	CLAVES	Ca Total mg/L	Mg Total mg/L	Na Total mg/L
096		2585.00	390.00	485.00

N° LAB	CLAVES	Cu Total mg/L	Mn Total mg/L	Fe Total mg/L	Zn Total mg/L	B Total mg/L
096		1.36	3.06	30.42	8.32	3.43

N° LAB	CLAVES	Pb Total mg/L	Cr Total mg/L	Cd Total mg/L
096		0.45	N.D.	0.28

Av. La Molina s/n Campus UNALM
Telf.: 614-7800 Anexo 222 Teléfono Directo: 349-5622
Celular: 946-505-254
e-mail: labsuelo@lamolina.edu.pe

Mezcla 1 (segundo piloto)

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
FACULTAD DE AGRONOMIA
LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES

INFORME DE ANÁLISIS ESPECIAL DE MATERIA ORGÁNICA

SOLICITANTE	:	ZAYURI RIVERA ZEVALLOS
PROCEDENCIA	:	LIMA/ LIMA/ LA MOLINA
MUESTRA DE	:	BIOESTIMULANTE - M2
REFERENCIA	:	H.R. 84943
BOLETA	:	7150
FECHA	:	20/02/2025

Nº LAB	CLAVES	pH	C.E. dS/m	Sólidos Totales g/L	M.O. en Solución g/L	N Total mg/L	P Total mg/L	K Total mg/L
119		4.96	10.64	97.69	86.97	4526.93	344.27	3100.00

Nº LAB	CLAVES	Ca Total mg/L	Mg Total mg/L	Na Total mg/L
119		2285.00	395.00	200.00

N° LAB	CLAVES	Cu Total mg/L	Mn Total mg/L	Fe Total mg/L	Zn Total mg/L	B Total mg/L
119		1.40	2.05	42.40	14.90	5.29

N° LAB	CLAVES	Pb Total mg/L	Cr Total mg/L	Cd Total mg/L
119		0.96	0.53	0.24

Av. La Molina s/n Campus UNALM
Telf.: 614-7800 Anexo 222 Teléfono Directo: 349-5622
Celular: 946-505-254
e-mail: labsuelo@lamolina.edu.pe

Biestimulante líquido (primer piloto)

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
FACULTAD DE AGRONOMIA
LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES

INFORME DE ANÁLISIS ESPECIAL DE MATERIA ORGÁNICA

SOLICITANTE	:	ZAYURI RIVERA ZEVALLOS
PROCEDENCIA	:	LIMA/ LIMA/ LA MOLINA
MUESTRA DE	:	BIOESTIMULANTE LÍQUIDO
REFERENCIA	:	H.R. 84938
BOLETA	:	7135
FECHA	:	20/02/2025

Nº LAB	CLAVES	pH	C.E. dS/m	Sólidos Totales g/L	M.O. en Solución g/L	N Total mg/L	P Total mg/L	K Total mg/L
118		3.32	19.44	72.91	61.37	4596.79	318.43	4300.00

Nº LAB	CLAVES	Ca Total mg/L	Mg Total mg/L	Na Total mg/L
118		840.00	525.00	535.00

N° LAB	CLAVES	Cu Total mg/L	Mn Total mg/L	Fe Total mg/L	Zn Total mg/L	B Total mg/L
118		2.75	2.00	32.05	5.75	1.87

N° LAB	CLAVES	Pb Total mg/L	Cr Total mg/L	Cd Total mg/L
118		0.35	0.32	0.14

Av. La Molina s/n Campus UNALM
Telf.: 614-7800 Anexo 222 Teléfono Directo: 349-5622
Celular: 946-505-254
e-mail: labsuelo@lamolina.edu.pe

Biestimulante líquido (segundo piloto)

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
FACULTAD DE AGRONOMIA
LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES

INFORME DE ANÁLISIS ESPECIAL DE MATERIA ORGÁNICA

SOLICITANTE : ZAYURI RIVERA ZEVALLOS
PROCEDENCIA : LIMA/ LIMA/ LA MOLINA
MUESTRA DE : BIOESTIMULANTE LÍQUIDO 2
REFERENCIA : H.R. 84982
BOLETA : 7150
FECHA : 27/02/2025

Nº LAB	CLAVES	pH	C.E. dS/m	Sólidos Totales g/L	M.O. en Solución g/L	N Total mg/L	P Total mg/L	K Total mg/L
139		3.44	20.47	86.93	73.09	2990.01	320.88	905.00

Nº LAB	CLAVES	Ca Total mg/L	Mg Total mg/L	Na Total mg/L
139		74.70	108.00	125.00

N° LAB	CLAVES	Cu Total mg/L	Mn Total mg/L	Fe Total mg/L	Zn Total mg/L	B Total mg/L
139		0.06	0.33	3.08	0.22	22.41

N° LAB	CLAVES	Pb Total mg/L	Cr Total mg/L	Cd Total mg/L
139		0.06	N.D.	0.02

N.D. no detectable. L.D. límite de detección/ L.C. límite de cuantificación.
Cromo: LD = 0.00947 ppm / LC = 0.03157 ppm

Av. La Molina s/n Campus UNALM
Telf.: 614-7800 Anexo 222
Celular: 946-505-254
e-mail: labsuelo@lamolina.edu.pe

Biestimulante sólido (primer piloto)

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
FACULTAD DE AGRONOMIA
LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES

INFORME DE ANÁLISIS DE MATERIA ORGÁNICA

SOLICITANTE : ZAYURI RIVERA ZEVALLOS

PROCEDENCIA : LIMA/ LIMA/ LA MOLINA

MUESTRA DE : BIOESTIMULANTE SÓLIDO 1

REFERENCIA : H.R. 85010

BOLETA : 7135

FECHA : 03/03/2025

Nº LAB	CLAVES	pH	C.E. dS/m	M.O. %	N %	P_2O_5 %	K_2O %
151		4.13	18.74	73.39	2.97	3.60	2.50

Nº LAB	CLAVES	CaO %	MgO %	Hd %	Na %
151		6.98	0.58	7.31	0.30

N° LAB	CLAVES	Cu ppm	Mn ppm	Fe ppm	Zn ppm	B ppm
151		6.83	25.20	493.90	70.75	22.15

N° LAB	CLAVES	Pb ppm	Cr ppm	Cd ppm
151		8.60	5.53	2.08

M.O. por oxidación.

Av. La Molina s/n Campus UNALM
Telf.: 614-7800 Anexo 222 Teléfono Directo: 349-5622
Celular: 946-505-254
e-mail: labsuelo@lamolina.edu.pe

Biestimulante sólido (segundo piloto)

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
FACULTAD DE AGRONOMIA
LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES

INFORME DE ANÁLISIS DE MATERIA ORGÁNICA

SOLICITANTE : ZAYURI RIVERA ZEVALLOS
PROCEDENCIA : LIMA/ LIMA/ LA MOLINA
MUESTRA DE : BIOESTIMULANTE SÓLIDO 2
REFERENCIA : H.R. 85045
BOLETA : 7135
FECHA : 11/03/2025

N° LAB	CLAVES	pH	C.E. dS/m	M.O. %	N %	P_2O_5 %	K_2O %
153		4.26	17.28	68.31	2.77	3.06	2.21

N° LAB	CLAVES	CaO %	MgO %	Hd %	Na %
153		6.97	0.52	4.74	0.27

N° LAB	CLAVES	Cu ppm	Mn ppm	Fe ppm	Zn ppm	B ppm
153		6.50	26.25	717.50	91.25	56.08

N° LAB	CLAVES	Pb ppm	Cr ppm	Cd ppm
153		12.00	6.86	1.68

M.O. por oxidación.

Av. La Molina s/n Campus UNALM
Telf.: 614-7800 Anexo 222
Celular: 946-505-254
e-mail: labsuelo@lamolina.edu.pe

Anexo 10: Análisis microbiológico (prueba piloto)

Primera prueba piloto

Mezcla 1 (suero de leche, residuos hidrobiológicos y penca de tuna)

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
LABORATORIO DE ECOLOGIA MICROBIANA Y BIOTECNOLOGIA

INFORME DE ENSAYO Nº 2501062 – LMT

SOLICITANTE: ZAYURI RIVERA ZEVALLOS
DESCRIPCIÓN DEL OBJETO ENSAYADO
MUESTRA : FERTILIZANTE LIQUIDO "MUESTRA 1 – TIEMPO 0"

Métodos:
[1]International Commission on Microbiological Specifications for Foods. 1983. 2da Ed. Vol 1 Part II, (Trad. 1988) Reimp. 2000. Editorial Acribia.

Observaciones:
Informe de ensayo emitido sobre la base de resultados de nuestro laboratorio en muestras proporcionadas por el solicitante.
Prohibida la reproducción total o parcial de este informe, sin nuestra autorización escrita.
Validez del documento:
Este documento tiene validez sólo para la muestra descrita.

La Molina, 05 de febrero de 2025

Teléfono: 6147800 anexo 274
E-mail: lmt@lamolina.edu.pe

Av. La Molina s/n La Molina, Código Postal 15024 - Lima – Perú
(511) 614-7800 anexo 274 - E-mail: lmt@lamolina.edu.pe

Página 1 de 1

Bioestimulante líquido

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
LABORATORIO DE ECOLOGIA MICROBIANA Y BIOTECNOLOGIA

INFORME DE ENSAYO Nº 2502065 – LMT

SOLICITANTE: ZAYURI RIVERA ZEVALLOS
DESCRIPCIÓN DEL OBJETO ENSAYADO
MUESTRA : BIOESTIMULANTE LÍQUIDO 1

Métodos:
[1]International Commission on Microbiological Specifications for Foods. 1983. 2da Ed. Vol 1 Part II, (Trad. 1988) Reimp. 2000. Editorial Acribia.

Observaciones:
Informe de ensayo emitido sobre la base de resultados de nuestro laboratorio en muestras proporcionadas por el solicitante.
Prohibida la reproducción total o parcial de este informe, sin nuestra autorización escrita.
Validez del documento:
Este documento tiene validez sólo para la muestra descrita.

La Molina, 12 de febrero de 2025

Teléfono: 6147800 anexo 274
E-mail: lmt@lamolina.edu.pe

Segunda prueba piloto

Mezcla 1 (suero de leche, residuos hidrobiológicos y penca de tuna)

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

LABORATORIO DE ECOLOGIA MICROBIANA Y BIOTECNOLOGIA

INFORME DE ENSAYO Nº 2502066 – LMT

SOLICITANTE: ZAYURI RIVERA ZEVALLOS
DESCRIPCIÓN DEL OBJETO ENSAYADO
MUESTRA : FERTILIZANTE LIQUIDO "MUESTRA 2 – TIEMPO 0"

Métodos:
[1]International Commission on Microbiological Specifications for Foods. 1983. 2da Ed. Vol 1 Part II, (Trad. 1988) Reimp. 2000. Editorial Acribia.

Observaciones:
Informe de ensayo emitido sobre la base de resultados de nuestro laboratorio en muestras proporcionadas por el solicitante.
Prohibida la reproducción total o parcial de este informe, sin nuestra autorización escrita.
Validez del documento:
Este documento tiene validez sólo para la muestra descrita.

La Molina, 12 de febrero de 2025

Teléfono: 6147800 anexo 274
E-mail: lmt@lamolina.edu.pe

Av. La Molina s/n La Molina, Código Postal 15024 - Lima – Perú
(511) 614-7800 anexo 274 - E-mail: lmt@lamolina.edu.pe

Página 2 de 2

Biestimulante líquido

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
LABORATORIO DE ECOLOGIA MICROBIANA Y BIOTECNOLOGIA

INFORME DE ENSAYO Nº 2502068 – LMT

SOLICITANTE: ZAYURI RIVERA ZEVALLOS
DESCRIPCIÓN DEL OBJETO ENSAYADO
MUESTRA : BIOESTIMULANTE LÍQUIDO 2

Métodos:
[1]International Commission on Microbiological Specifications for Foods. 1983. 2da Ed. Vol 1 Part II, (Trad. 1988) Reimp. 2000. Editorial Acribia.

Observaciones:
Informe de ensayo emitido sobre la base de resultados de nuestro laboratorio en muestras proporcionadas por el solicitante.
Prohibida la reproducción total o parcial de este informe, sin nuestra autorización escrita.
Validez del documento:
Este documento tiene validez sólo para la muestra descrita.

La Molina, 19 de febrero de 2025

Teléfono: 6147800 anexo 274
E-mail: lmt@lamolina.edu.pe

Anexo 11: Resultados del ensayo de fitotoxicidad (bioestimulante líquido)

Primer piloto

N° de semillas	Puro (100/100)			D1 (10/100)			D2 (1/100)			D3 (0.1/100)			D4 (0.01/100)			Control (0/100)		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
1	0	0	0	0	0	0	27	22	28	36	41	41	40	36	40	40	40	39
2	0	0	0	0	0	0	32	37	33	50	36	35	26	44	39	41	39	48
3	0	0	0	0	0	0	35	27	39	45	45	38	36	38	44	41	38	47
4	0	0	0	0	0	0	21	32	26	41	41	50	42	37	45	44	53	42
5	0	0	0	0	0	0	33	24	27	42	40	45	45	45	40	38	39	42
6	0	0	0	0	0	0	24	30	19	38	46	32	36	43	45	39	39	40
7	0	0	0	0	0	0	35	39	22	46	45	46	45	42	40	33	37	39
8	0	0	0	0	0	0	32	35	36	33	35	42	35	39	44	30	39	43
9	0	0	0	0	0	0	27	27	30	45	52	41	40	35	42	35	38	37
10	0	0	0	0	0	0	30	32	39	38	40	35	37	42	39	45	33	41
11	0	0	0	0	0	0	25	18	36	41	52	41	40	45	45	35	40	40
12	0	0	0	0	0	0	18	32	22	44	40	50	30	40	43	41	35	36
13	0	0	0	0	0	0	25	34	29	40	40	45	40	38	45	38	45	40
14	0	0	0	0	0	0	35	17	27	42	45	40	41	45	42	44	40	45
15	0	0	0	0	0	0	18	36	32	50	40	32	42	35	36	38	37	36
16	0	0	0	0	0	0	30	22	27	44	41	40	40	42	40	38	39	41
17	0	0	0	0	0	0	25	23	34	47	48	33	41	36	44	37	46	45
18	0	0	0	0	0	0	27	36	24	46	34	41	46	40	38	37	42	30
19	0	0	0	0	0	0	36	19	17	34	39	40	39	44	43	32	40	43
20	0	0	0	0	0	0	32	32	33	41	39	46	36	38	40	40	37	39
Promedio por repetición	0	0	0	0	0	0	28.35	28.7	29	42.15	41.95	40.65	38.85	40.2	41.7	38.3	39.8	40.65
Promedio por dilución	0.00			0.00			28.68			41.58			40.25			39.58		

Segundo piloto

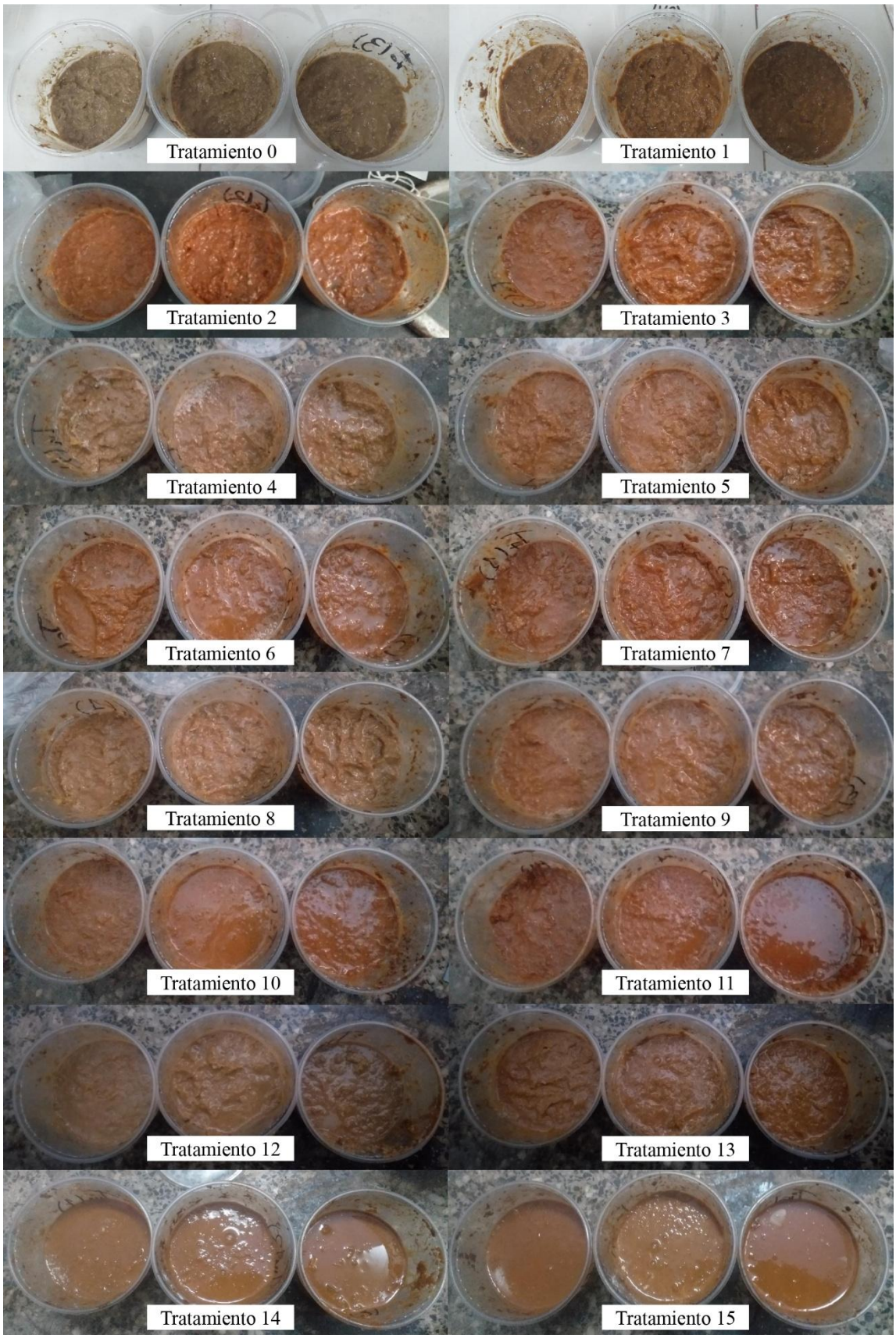
N° de semillas	Puro (100/100)			D1 (10/100)			D2 (1/100)			D3 (0.1/100)			D4 (0.01/100)			Control (0/100)		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
1	0	0	0	0	0	0	25	26	30	35	47	41	42	35	43	40	33	44
2	0	0	0	0	0	0	22	28	32	45	41	39	40	38	36	45	43	33
3	0	0	0	0	0	0	24	22	24	41	46	49	39	42	35	41	38	41
4	0	0	0	0	0	0	16	24	22	39	47	38	48	39	45	36	34	40
5	0	0	0	0	0	0	25	25	18	49	41	50	40	37	44	46	35	39
6	0	0	0	0	0	0	35	22	30	44	40	30	42	35	38	41	38	41
7	0	0	0	0	0	0	32	30	24	40	38	32	52	30	37	36	41	40
8	0	0	0	0	0	0	25	25	27	39	35	38	42	38	42	45	30	45
9	0	0	0	0	0	0	26	30	20	52	39	50	47	39	35	38	38	38
10	0	0	0	0	0	0	18	22	36	48	48	47	36	43	46	40	41	40
11	0	0	0	0	0	0	24	28	25	30	47	51	42	40	41	40	38	41
12	0	0	0	0	0	0	27	31	31	44	42	45	43	48	36	34	45	40
13	0	0	0	0	0	0	21	30	19	35	39	45	40	39	48	40	38	38
14	0	0	0	0	0	0	28	33	20	41	35	30	38	35	44	38	38	39
15	0	0	0	0	0	0	20	35	32	52	40	35	33	45	52	46	40	40
16	0	0	0	0	0	0	35	32	19	35	38	47	41	44	46	48	40	40
17	0	0	0	0	0	0	28	30	21	40	41	30	35	36	36	42	36	39
18	0	0	0	0	0	0	31	20	20	39	37	42	36	39	35	50	40	39
19	0	0	0	0	0	0	22	25	23	40	40	30	40	40	41	40	40	41
20	0	0	0	0	0	0	32	19	25	42	36	42	42	41	46	40	41	35
Promedio por repetición	0	0	0	0	0	0	25.8	26.85	24.9	41.5	40.85	40.55	40.9	39.15	41.3	41.3	38.35	39.65
Promedio por dilución	0.00			0.00			25.85			40.97			40.45			39.77		

Anexo 12: Registro fotográfico

1. Determinación del tratamiento con mejor desempeño (escala laboratorio)

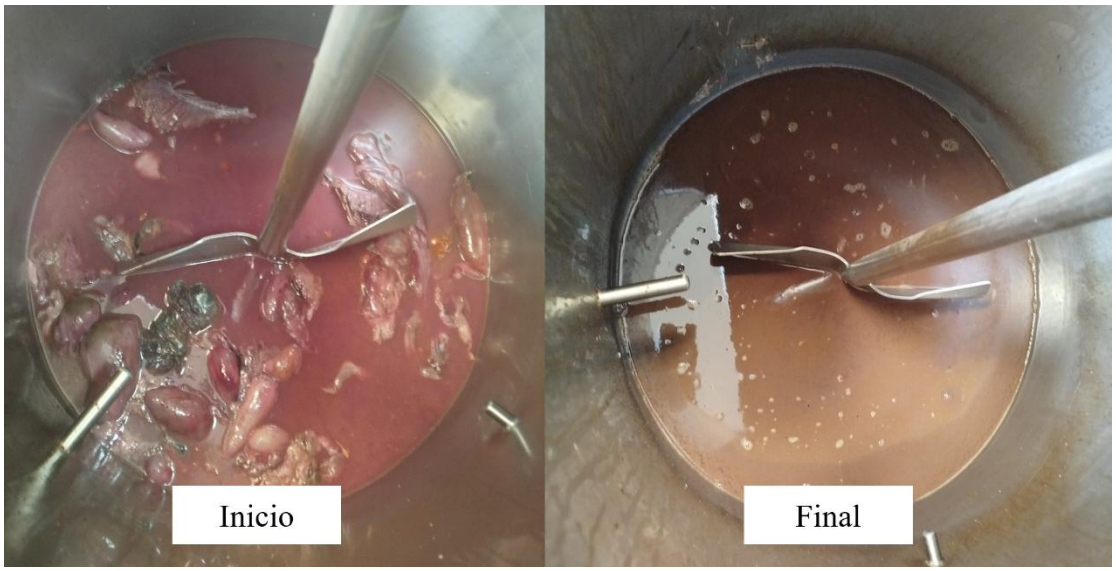


Fotografía 1: Incubación de los 16 tratamientos en la estufa a 40°C por 5 días



Fotografía 2: Día cinco de los 16 tratamientos

2. Prueba piloto



Fotografía 3: Hidrolizado de pescado



Fotografía 4: Productos del hidrolizado de pescado



Fotografía 5: Penca de tuna utilizada



Fotografía 6: Proceso de obtención de la Mezcla 1 (penca de tuna con hidrolizado de pescado)



Fotografía 7: Medición del pH y titulación de la Mezcla 1



Fotografía 8: Preparación Mezcla 2 (Mezcla 1, melaza y GARLAC)



Fotografía 9: Medición de pH y titulación de la Mezcla 2



Fotografía 10: Condiciones para la fermentación homoláctica durante 5 días



Fotografía 11: Cosecha del bioestimulante en el día cinco

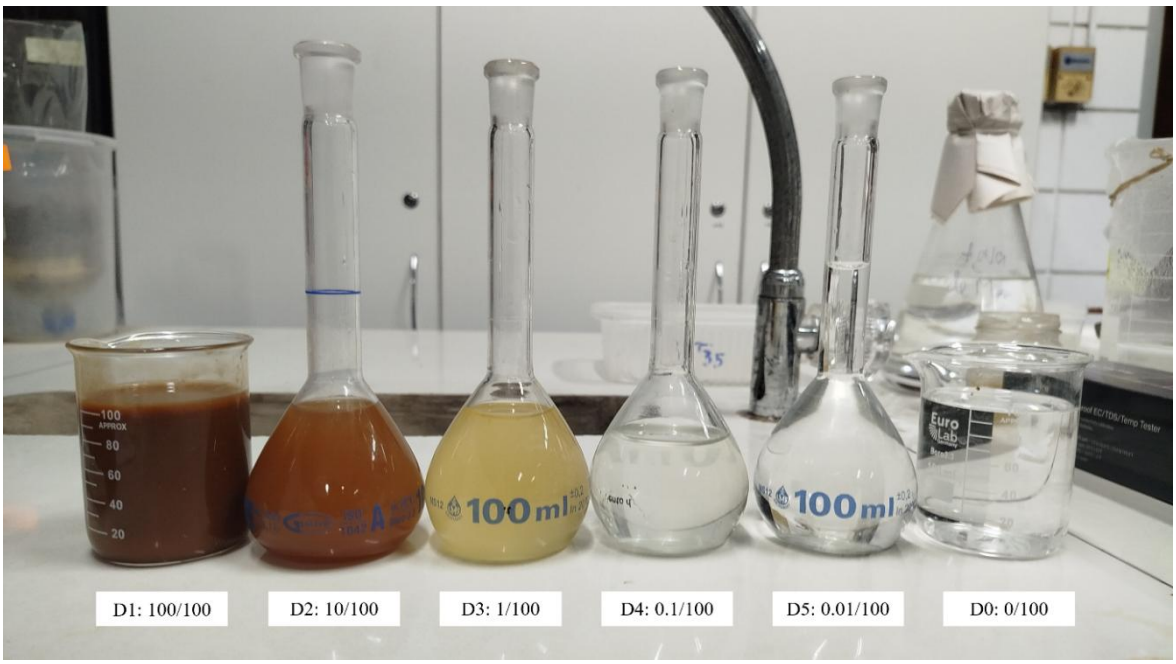


Fotografía 12: Productos obtenidos de la separación del fermento en el día cinco

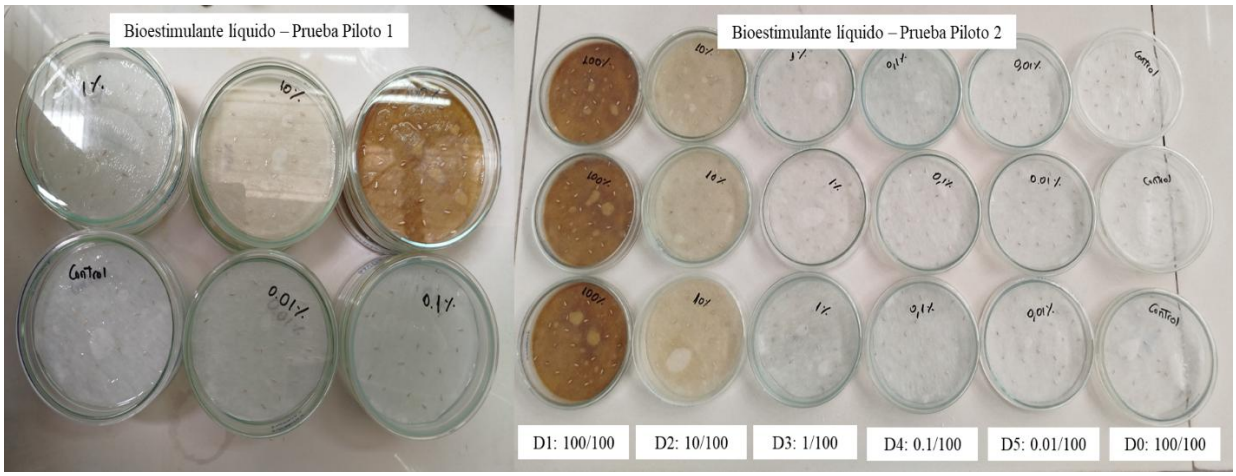


Fotografía 13: Obtención del bioestimulante sólido en forma de pellets

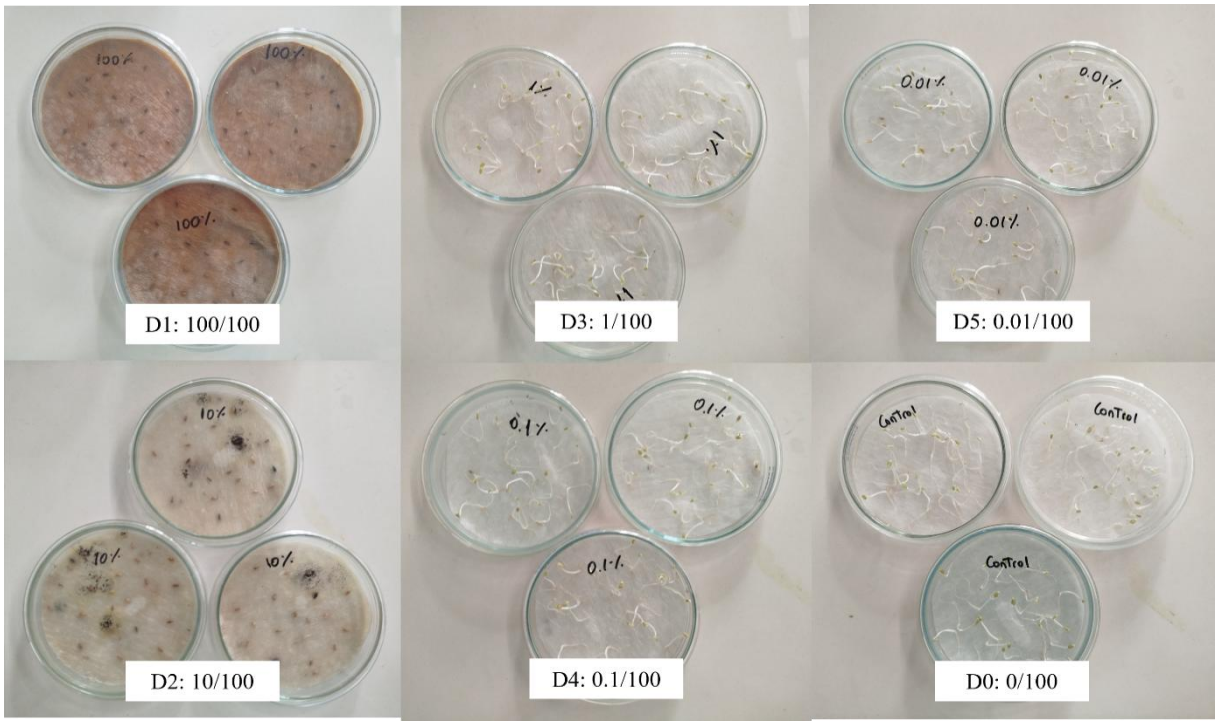
3. Ensayo de fitotoxicidad



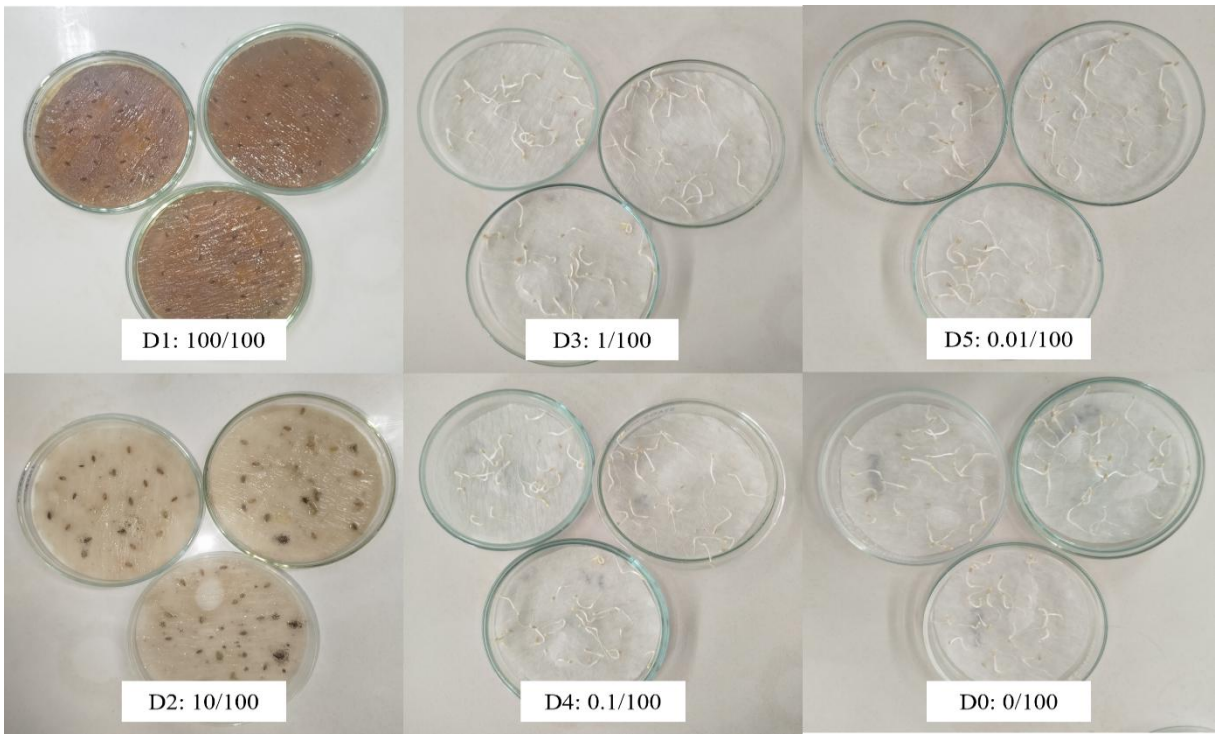
Fotografía 14: Preparación de diluciones para el ensayo de fitotoxicidad



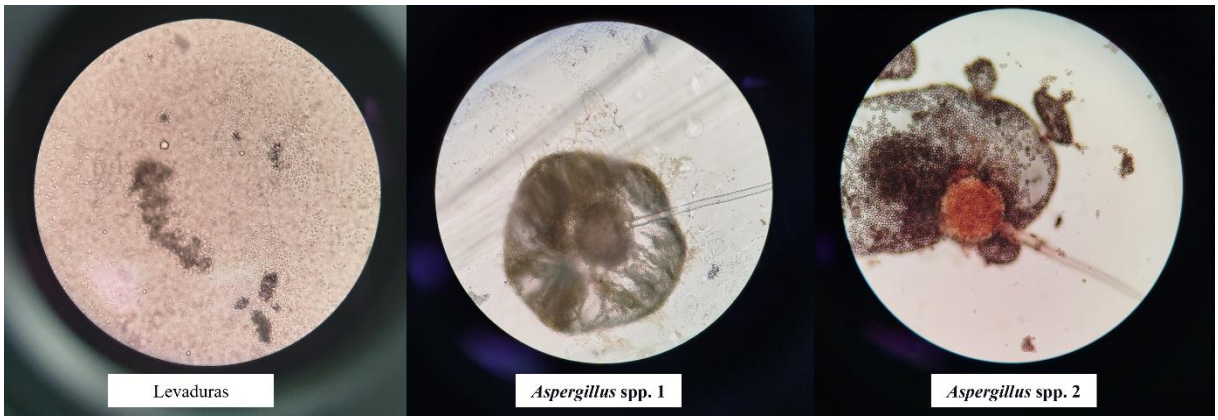
Fotografía 15: Día cero del ensayo de fitotoxicidad en lechuga (*Lactuca sativa* L.) de la variedad Duett



Fotografía 16: Día cinco del ensayo de fitotoxicidad del bioestimulante líquido – Primera prueba piloto



Fotografía 17: Día cinco del ensayo de fitotoxicidad del bioestimulante líquido – Segunda prueba piloto



Fotografía 18: Hongos identificados en las diluciones 100/100 y 10/100 de ambas pruebas piloto.