

INSTITUTO TECNOLÓGICO Y DE ESTUDIOS SUPERIORES DE OCCIDENTE
Centro para la Gestión de la Innovación y la Tecnología

Economía solidaria y trabajo digno

PROYECTO DE APLICACIÓN PROFESIONAL (PAP)
PROGRAMA PARA LA GESTION DE LA INNOVACION Y LA TECNOLOGIA



ITESO, Universidad
Jesuita de Guadalajara

3H01 Micro y Pequeñas Empresas de Alta Tecnología
Parametrización de condiciones para la extracción de compuestos con potencial
herbicida a partir de cultivos de *Lyngbya sp.* y *Synechococcus sp.*

PRESENTA

Programa educativo y Estudiante
Ingeniería en Biotecnología. Martha Sofía Aragón Bojórquez

Profesores PAP: Mtra. Beatriz Rodríguez Castellanos, Mtra. Celia Ortiz García y
Mtro. Alejandro Vigna Pérez

Tlaquepaque, Jalisco, diciembre 2022

ÍNDICE

Tabla de contenido

REPORTE PAP	2
Resumen	4
1. Ciclo participativo del Proyecto de Aplicación Profesional.....	4
1.1 Entendimiento del ámbito y del contexto	4
1.2 Caracterización de la organización	5
1.3 Identificación de la problemática	6
1.4. Planeación de alternativa	6
1.4.1 Objetivo	7
1.4.2 Alcance del proyecto	7
1.4.3 Acta de constitución de proyecto.....	8
1.4.4 Matriz de comunicación	11
1.4.5 Estructura Desglosada del Trabajo (EDT) y Calendario de actividades	11
1.4.6 Matriz de riesgos	13
1.5. Desarrollo de la propuesta de mejora	13
1.6. Valoración de productos, resultados e impactos	18
2. Productos	18
3. Reflexión crítica y ética de la experiencia.....	19
3.1 Sensibilización ante las realidades	19
3.2 Aprendizajes logrados	20
4. Bibliografía y otros recursos	21
5. Anexos generales.....	22

REPORTE PAP

Presentación Institucional de los Proyectos de Aplicación Profesional

Los Proyectos de Aplicación Profesional (PAP) son experiencias socio-profesionales de los alumnos que desde el currículo de su formación universitaria- enfrentan retos, resuelven problemas o innovan una necesidad sociotécnica del entorno, en vinculación (colaboración) (co-participación) con grupos, instituciones, organizaciones o comunidades, en escenarios reales donde comparten saberes.

El PAP, como espacio curricular de formación vinculada, ha logrado integrar el Servicio Social (acorde con las Orientaciones Fundamentales del ITESO), los requisitos de dar cuenta de los saberes y del saber aplicar los mismos al culminar la formación profesional (Opción Terminal), mediante la realización de proyectos profesionales de cara a las necesidades y retos del entorno (Aplicación Profesional).

El PAP es un proceso acotado en el tiempo en que los estudiantes, los beneficiarios externos y los profesores se asocian colaborativamente y en red, en un proyecto, e incursionan en un mundo social, como actores que enfrentan verdaderos problemas y desafíos traducibles en demandas pertinentes y socialmente relevantes. Frente a éstas transfieren experiencia de sus saberes profesionales y demuestran que saben hacer, innovar, co-crear o transformar en distintos campos sociales.

El PAP trata de sembrar en los estudiantes una disposición permanente de encargarse de la realidad con una actitud comprometida y ética frente a las disimetrías sociales. En otras palabras, se trata del reto de “saber y aprender a transformar”.

El Reporte PAP consta de tres componentes:

El primer componente refiere al ciclo participativo del PAP, en donde se documentan las diferentes fases del proyecto y las actividades que tuvieron lugar durante el desarrollo de este y la valoración de las incidencias en el entorno.

El segundo componente presenta los productos elaborados de acuerdo con su tipología.

El tercer componente es la reflexión crítica y ética de la experiencia, el reconocimiento de las competencias y los aprendizajes profesionales que el estudiante desarrolló en el transcurso de su labor.

Resumen

El PAP Programa para la gestión de la innovación y la tecnología I tiene como propósito proporcionar una oportunidad al estudiante de aplicar y desarrollar sus conocimientos profesionales en un proyecto de las empresas que colaboran con la universidad, en este caso, Microalgas Oleas de México. De esta forma, se condicionó los parámetros que se diseñaron en un PAP anterior para la extracción de los compuestos bioactivos de los cultivos de *Synechococcus sp.* y *Lyngabya sp.* para detectar un solvente y volumen óptimo que resulte redituablemente escalable. Además de realizar un análisis de los compuestos que conforman los extractos resultantes mediante cromatografía de capa fina y comparar el factor de retención con respecto a la literatura. Durante el desarrollo del proyecto se implementó la metodología PM4R para gestionar las actividades y determinar los objetivos junto con el alcance de este y, como resultado, se planteó una estrategia para escalar la metodología de extracción y purificación del compuesto similar al 7dSh.

1. Ciclo participativo del Proyecto de Aplicación Profesional

El PAP es una experiencia de aprendizaje y de contribución social integrada por estudiantes, profesores, actores sociales y responsables de las organizaciones, que de manera colaborativa construir sus conocimientos para dar respuestas a problemáticas de un contexto específico y en un tiempo delimitado. Por tanto, la experiencia PAP supone un proceso en lógica de proyecto, así como de un estilo de trabajo participativo y recíproco entre los involucrados.

Durante este proyecto se llevaron a cabo las siguientes etapas: Recopilación bibliográfica enfocada en los avances de los herbicidas como la demanda del mercado, planeación de un proceso de purificación, trabajo de laboratorio, pruebas de efecto inhibitorio y análisis de resultados. Las dudas que se presentaron a lo largo del proyecto fueron revisadas por el gerente técnico junto con la jefa de laboratorio y la encargada de calidad.

1.1 Entendimiento del ámbito y del contexto

En 1970 la empresa Monsanto comercializó por primera vez el glifosato (en Anexo 1), uno de los herbicidas no selectivo más utilizado en el mundo de la agricultura, silvicultura e

incluso en algunas actividades domésticas para el control de malas hierbas (Hernández, 2010). No obstante, se demostró en distintos estudios que este herbicida genera un daño en el medio ambiente ya que afecta a casi todas las plantas con las que entra en contacto y genera una alteración en la composición de los suelos que dificultan el transporte de nutrientes para las plantas (Guerrero, 2021). Por otro lado, la ONU clasificó en 2015 al glifosato como un compuesto “probablemente cancerígeno para humanos” por los daños que puede desembocar en el ADN (CONACYT, s.f.).

Actualmente, en México se dictaminó una serie de acciones para sustituir gradualmente el uso del agroquímico denominado glifosato mediante alternativas de producción sostenibles y adecuadas que prioricen la salud humana como la ambiental para el 2024. Entre ellos, el uso de compuestos que permita actuar en un objetivo más selectivo, presente un efecto citotóxico disminuido y una bioacumulación en la naturaleza controlable (Rout, 2021).

La propuesta de fabricar un herbicida con compuestos bioactivos procedente de las cianobacterias (en Anexo 1), fue realizada por la jefa de laboratorio de la empresa de Microalgas Oleas de México en junio de 2022 e inició en esa misma fecha. De tal forma que el proyecto asignado es una continuación para la obtención de los compuestos que presentan un potencial herbicida con mayor purificación.

1.2 Caracterización de la organización

La empresa Microalgas Oleas de México se enfoca en coleccionar, purificar y cultivar masivamente diversas especies de microorganismos, principalmente cianobacterias y microalgas, en su mayoría nativas de la región. Esto con el fin de diseñar y desarrollar productos con ingredientes de alto valor personalizado a cada cliente tal como biofertilizantes, carne vegana, aceites, entre otros.

La misión de la empresa consiste en promover soluciones innovadoras y sustentables por medio de la biotecnología de microalgas para la industria alimentaria y agrícola; presentando como visión el ser referente por sus soluciones integrales y novedosas que respondan a las necesidades de la industria mexicana.

La empresa forma parte del grupo OLEOMEX, un conglomerado de 12 grandes empresas de clase mundial cuya finalidad está en la contribución de nuevas materias primas y productos que estén en armonía con el medio ambiente y la alimentación humana.

Por lo tanto, el gerente técnico de Microalgas Oleas de México se debe de comunicar con los superiores de la empresa para informar sobre el avance de los proyectos y los cambios que se deben de realizar al respecto.

La manera en que están organizados en la empresa se conforma por el gerente técnico, la encargada de laboratorio, la encargada de calidad, la representante administrativa y la representante de ventas. Ellos tienen reuniones para discutir sobre algunas pautas de los proyectos realizado, la propuesta de un nuevo proyecto y los cambios que surjan en el proceso para conocer el mecanismo de acción que se efectuará. Por último, los practicantes se dirigen principalmente con la encargada de laboratorio, la encargada de calidad o el gerente técnico ante dudas particulares en cuestión teórica o en la continuidad del trabajo.

1.3 Identificación de la problemática

A pesar de la alta oportunidad que se presenta en el mercado tras el retiro del herbicida más utilizado en el sector agrícola en México en los últimos 48 años, junto con el innovador uso de las cianobacterias para la producción de un producto semejante que no atente contra la salud y el medio ambiente. La información sobre el compuesto de interés como los recursos que tiene la empresa en esta fase del proyecto se encuentran limitados, por lo cual, la planeación del proyecto puede presentar varios cambios de acuerdo con la información disponible sobre el compuesto deseado (junto con los procesos para su obtención) y las técnicas que se puedan recurrir para la purificación de este con los recursos que se tienen.

1.4. Planeación de alternativa

Un elemento vital para el éxito es planear cada aspecto del proyecto, y para ello, se implementó la metodología Project Management For Results (PM4R) para estructurar un orden lógico en la gestión del proyecto asignado al tomar en consideración los tiempos de trabajo, el desglose de las actividades a realizar, los posibles riesgos que pueda presentar alguna fase del proceso, la comunicación de los principales involucrados del proyecto y cómo

la asignación de interés puede afectar de forma positiva o negativa en el avance de este. Además de realizar una documentación que registre detalladamente lo que ha sucedido con los recursos asignados para desarrollar el producto, servicio o entregable y si el proyecto está marchando o no de acuerdo con lo planeado y por qué.

Antes de planear las actividades a realizar se plantearon los objetivos a seguir de acuerdo con los lineamientos del proyecto y las expectativas de los integrantes que tiene la empresa Microalgas Oleas de México en el producto final.

1.4.1 Objetivo

En base al objetivo planeado se desglosará las actividades a realizar y el tiempo que tomará hacerlas. Además, se llevará a cabo una revisión de los avances del proyecto para integrar las sugerencias en la metodología implementada.

General:

- Plantear una estrategia de escalamiento para la purificación de los extractos con potencial herbicida en las fechas de diciembre de 2022.

Específicos:

- Estandarizar el protocolo de extracción con potencial herbicida para ocupar la dosis mínima efectiva de solvente que se encarga de esta función y proporcione un mejor rendimiento.
- Realizar un protocolo de análisis de la composición de los extractos mediante cromatografía de capa fina.

1.4.2 Alcance del proyecto

Dado a que el proyecto se encuentra en una etapa inicial por el tiempo en el que se propuso y esta se desglosará en distintas etapas (que se desarrollarán más adelante). La parte que se asignó a cumplir en este semestre consta en probar con los recursos disponibles de la empresa que proporcione un extracto con mayor efecto en el control de la maleza.

Esto con el fin de establecer las pautas que parametricen y optimicen la metodología que se estaba previamente diseñada a un futuro escalamiento.

Además, los alcances del proyecto también tienen un fin educativo, por la oportunidad de que los alumnos universitarios desarrollen las habilidades profesionales en un proyecto con un impacto tangible en la sociedad.

1.4.3 Acta de constitución de proyecto

Al asignar las pautas primordiales que dieron inicio del proyecto, redactar una ruta generalizada de las actividades por realizar semanalmente y comprender la dinámica que se maneja en la empresa para la revisión de resultados junto con el rumbo del proyecto, permitió clarificar las futuras acciones que se hicieron.

Proyecto:	Microalgas Oleas: Herbicida
Código:	3H01A
Fecha:	15/08/2022
Racionalidad y Propósito del Proyecto:	
Con este proyecto se pretende producir un herbicida que presente una mayor selectividad en la eliminación de la maleza indeseada con respecto a los cultivos que se pretenden cuidar. Además, que genere un menor impacto ambiental con respecto a los productos convencionales.	
Objetivos del Proyecto:	
• Optimizar el protocolo de extracción de compuestos con efecto herbicida para un futuro escalamiento de la metodología. • Identificar el compuesto con efecto herbicida (hipotéticamente sería el 7dSh). • Plantear una estrategia para el escalamiento de metodología.	

Estrategia del Proyecto:

El proyecto se realizará en la empresa de Microalgas oleas de acuerdo con el cronograma que se planteará, presupuesto y normas de calidad. Además, hubo un componente de comunicación interna como estrategia para lograr una aceptación y apoyo durante el proceso.

- *Alcance:*
 - Protocolo optimizado de extracción de compuestos con potencial herbicida.
 - Primeras pautas para un protocolo de purificación del herbicida.
 - Futura estrategia para escalar la extracción del compuesto con potencial herbicida.
- *Límites del alcance:*
 - Producción escalada del compuesto (que se mandará a purificar).
- *Cronograma resumido de hitos:*
 - Semana 1-2: Introducción a los laboratorios de la empresa y realización de actividades rutinarias del área de calidad.
 - Semana 3: Investigación y presentación inicial del herbicida.

- Semana 4: Proceso de extracción de compuesto con efecto herbicida con metanol (control).
- Semana 5: Reunión con la jefa de laboratorio y encargada de calidad para parametrizar el rendimiento de extracción (se enfoca principalmente en variar la concentración de solventes, mezcla de solventes que en resultados previos presentaron resultados favorables junto con el metanol, tales como la acetona y acetato de etilo. También determinar si se obtienen resultados favorables al diluir el metanol en agua).
- Semana 6: Continuar proceso de extracción de compuesto con las nuevas variantes.
- Semana 7: Análisis de los compuestos presente en los extractos mediante cromatografía de capa fina.
- Semana 8: Preparativo de la presentación de avance de resultados.
- Semana 9: Reunión con el gerente técnico para revisar los avances obtenidos hasta el momento e inicio de extracción de compuestos con menor volumen de solventes.
- Semana 10: Preparación de medio de cultivo para las pruebas de antibiogramas y siembra de *Chlorella vulgaris* (microalga).
- Semana 11: Preparación de los discos de papel filtro y solución de 30 g/L de glifosato.
- Semana 12: Esterilización por autoclave de los discos de papel filtro, esterilización por medio de filtración por jeringa de la solución de 30 g/L de glifosato y los extractos con potencial herbicida.
- Semana 13: Inicio del ensayo de toxicidad en microplacas.
- Semana 14 – 15: Preparación de reporte y presentación final.
- *Presupuesto resumido:*

El presupuesto se dirigirá en los siguientes aspectos: reactivo, tiempo, salarios, energía y materiales. En este caso, la inversión que el practicante de PAP realizaría sería en cuestión del tiempo.

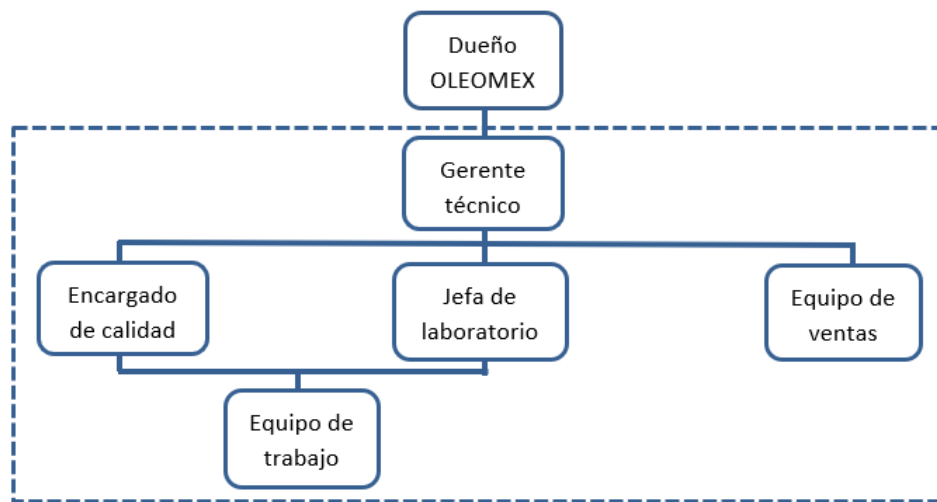
- *Riesgos, supuestos y restricciones de alto nivel:*
 - Cuidado con el código de vestimenta para entrar al laboratorio.
 - Cuidado en el manejo de reactivos utilizados en el proyecto.
 - Capacidad limitada en los laboratorios.

Estructura de gobernabilidad:

El gerente técnico de Microalgas Oleas de México es quien ejerce la función directiva en todos los proyectos y es quien toma el veredicto de continuar, modificar o cancelar el proyecto. El encargado de calidad (principalmente) y la jefa de laboratorio es quien se encarga de vigilar las actividades realizadas como la investigación encontrada para la purificación del herbicida. Cada cierto tiempo se mandará informes del avance del proyecto a un representante del grupo OLEOMEX.

La comunicación puede ser directa (gerente, jefa de laboratorio y encargado de calidad) o virtual (WhatsApp con el gerente, jefa de laboratorio y encargado de calidad y conferencia con grupo OLEOMEX con las personas anteriormente mencionadas).

Gerencia del Proyecto:



Control de Cambios:

Todas las solicitudes de cambio deberán ser presentadas al gerente del proyecto, quien evaluará el impacto tanto en el área técnica como en el área de ventas. También evaluará las ventajas para el proyecto con relación a los costos y tiempos.

Se dará una junta con todos los involucrados de la empresa (Gerente técnico, jefa de laboratorio, encargado de calidad, equipo de administración...) para determinar los pros y contras. Una vez que se aprueba la solicitud, el gerente del proyecto procederá a realizar los cambios.

Figura 1. Acta de constitución del proyecto.

1.4.4 Matriz de comunicación

En el proyecto, la comunicación juega un papel importante dado a que surgió dudas en el funcionamiento de equipo, los materiales o en la continuidad del proceso. La mayor parte de la comunicación se realizó de forma presencial con la encargada de calidad y la jefa de laboratorio para chequeos ocasionales.

Matriz de comunicación					
Emisor	Receptor	Vía de comunicación	Frecuencia	¿Entregable?	Vía de entrega
Practicante PAP	Celia/Beatriz	Presencial	Martes y jueves	Entregables PAP + Bitácora semanal	Canvas
Practicante PAP	Gerente técnico	Reuniones de avance (presencial)	Principio, mitad y final	Avance de reportes y presentación (con las secciones a completar del momento)	Presentación PPT
Practicante PAP	Encargado de calidad	Presencial/ correo	Recurrente	Avance de reportes y presentaciones (borradores y datos crudos)	Presentación PPT, Excel, Word
Practicante PAP	Jefa de laboratorio	Presencial	Ocasional	Datos crudos de actividades	N.a (presencial)
Encargado de calidad	Practicante PAP	Presencial/ correo	Eventual	PNO's, formato de presentación, informes previos (resultados) del proyecto	Correo institucional

Tabla 1. Matriz de comunicaciones

1.4.5 Estructura Desglosada del Trabajo (EDT) y Calendario de actividades

Una vez que se estableció los objetivos, se comenzó a desglosar las actividades que se realizaron para indicar un avance del proyecto. En general, consta de 8 actividades que se pueden clasificar en 4 hitos: Pretratamiento de la muestra, extracción del compuesto deseado, análisis de la muestra y pruebas de toxicidad.

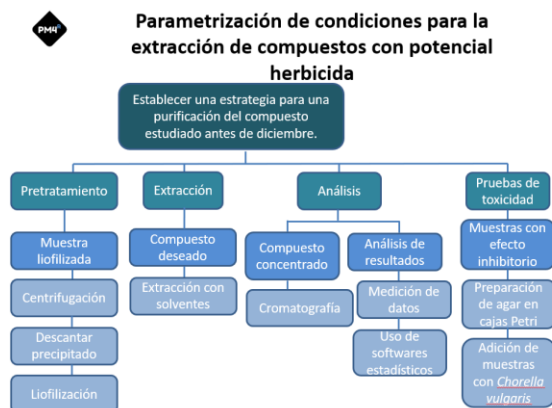


Figura 2. EDT del proyecto.

Posteriormente, se planteó el cronograma de las actividades para tener un seguimiento acorde al lapso que se tiene determinado. Muchas de las actividades se pueden ejecutar en un día, pero otras se requieren de más tiempo por la integración, retiro o modificación de metodología de acuerdo con la información y el equipo con el que se cuenta.

PM4^R

Cronograma

Micoalgas Oleas de México: Herbicida					
	Estructura de la EDT	Duración	Predecesora	Costo estimado	
1	Introducción a los laboratorios de la empresa				
1.1	Capacitación a las buenas prácticas de laboratorio				
1.1.1	Desarrollo de prácticas de laboratorio en calidad				
1.1.1.1	Contribución de resultados				
1.1.1.1.1	Ejecución de actividades realizadas	10 días	-	-	
1.2	Investigación preliminar del proyecto				
1.2.1	Presentación inicial				
1.2.1.1	Exponer propuesta a ejecutar en el proyecto				
1.2.1.1.1	Investigar artículos, patentes y bibliografía	6 días	-	-	
1.2.1.1.2	Revisión de presentación con asesoramiento	2 días	1.2.1.1.1	-	
1.2.1.1.3	Exposición de presentación con los miembros de la empresa	1 día	1.2.1.1.2	-	
2	Metodología enfocada en el proyecto del herbicida				
2.1	Escalamiento de la cepa				
2.1.1	Producción muestra de cultivos				
2.1.1.1	Conocimiento de escalamiento de muestra				
2.1.1.1.1	Capacitación con asesora sobre escalamiento de cepas de acuerdo con las normas de la empresa	1 día	-	-	
2.1.1.1.2	Escalamiento de cepa de forma independiente	1 día	2.1.1.1.1	-	
2.2	Cosecha				
2.2.1	Recuperación de biomasa obtenida de las cepas escaladas				
2.2.1.1	Depurar impurezas presentes de la muestra (restos)				
2.2.1.1.1	Centrifugación de muestras en tubos Falcon (50 mL)	1 día	-	-	
2.2.1.1.2	Decantar sobrenadante (y desechar)	1 día	2.2.1.1.1	-	
2.2.1.1.3	Congelar biomasa (precipitado)	1 día	2.2.1.1.2	-	
2.3	Liofilización				
2.3.1	Retirar la humedad de la biomasa				
2.3.1.1	Obtención de muestras secas				
2.3.1.1.1	Asesoramiento del funcionamiento de equipo liofilizador	1 día	-	-	
2.3.1.1.2	Moitoreo de muestras	3 días	2.3.1.1.1	-	
2.3.1.1.3	Retirar muestras una vez terminado su ciclo de funcionamiento	1 día	2.3.1.1.2	-	
2.4	Extracción				
2.4.1	Obtención del compuesto deseado mediante el uso de solventes				
2.4.1.1	Trabajo en cámara de extracción				
2.4.1.1.1	Pesar la biomasa en cantidades equivalentes	1 día	-	-	
2.4.1.1.2	Adición de metanol	1 día	2.4.1.1.1	-	
2.4.1.1.3	Sonicación de muestra	1 día	2.4.1.1.2	-	
2.4.1.1.4	Centrifugación de tubos	1 día	2.4.1.1.3	-	
2.5	Cromatografía TLC				
2.5.1	Análisis de los compuestos presentes en los extractos				
2.5.1.1	Placas cromatográficas para calcular el factor de retardo				
2.5.1.1.1	Cortar las placas cromatográficas a (15 x 5 cm)	1 día	-	-	
2.5.1.1.2	Preparar el solvente (hexano/acetato de etilo) a 6:4	1 día	2.5.1.1.1	-	
2.5.1.1.3	Preparar la cámara cromatográfica	1 día	2.5.1.1.2	-	
2.5.1.1.4	Monitoreo de separación	1 día	2.5.1.1.3	-	
2.7	Ensayo de toxicidad				
2.7.1	Comparación en efecto inhibidor entre muestra de cepa con respecto al glifosato en <i>Chlorella vulgaris</i>				
2.7.1.1	Prueba de microplacas				
2.7.1.1.1	Planeación de concentraciones de glifosato y de <i>Chlorella vulgaris</i>	1 día	-	-	
2.7.1.1.2	Adición de microvolúmenes de glifosato y de cultivo en microplaca	1 día	2.7.1.1.1	-	
2.7.1.1.3	Adición de microvolúmenes de muestra y de cultivo en microplaca	1 día	2.7.1.1.2	-	
2.7.1.1.4	Monitoreo de microplaca	3 días	2.7.1.1.3	-	
2.7.1.1.5	Observación de muestras significativas por microscopio	1 día	2.7.1.1.4	-	
2.8	Antibiograma				
2.8.1	Prueba de sensibilidad				
2.8.1.1	Concentración mínima inhibidora en agar				
2.8.1.1.1	Preparación de agar en cajas Petri	1 día	-	-	
2.8.1.1.2	Siembra de cajas bold con clorofitas	1 día	2.8.1.1.1	-	
2.8.1.1.3	Inoculación de extracto y glifosato	1 día	2.8.1.1.2	-	
2.8.1.1.4	Monitoreo de antibiograma	3 días	2.8.1.1.3	-	
2.8.1.1.5	Evaluación de antibiograma	1 día	2.8.1.1.4	-	

3	Análisis de resultados				
3.1	Presentación final				
3.1.1	Discusión de resultados obtenidos				
3.1.1.1	Desglose de dato mediante softwares estadísticos				
3.1.1.1.1	Búsqueda de artículos y bibliografía	1 día	-	-	
3.1.1.1.2	Análisis estadístico mediante softwares estadísticos	1 día	3.1.1.1.1	-	
3.1.1.1.3	Construcción de reporte de entrega (Análisis y discusión de datos)	1 día	3.1.1.1.2	-	
3.1.1.1.4	Revisión de reporte (o presentación) con asesores	5 días	3.1.1.1.3	-	
3.1.1.1.5	Corrección de productos finales	2 días	3.1.1.1.4	-	
3.1.1.1.6	Presentación final entre maestras del PAP y miembros de la empr	1 día	3.1.1.1.5	-	
3.1.1.1.7	Entrega final de reporte	1 día	3.1.1.1.6	-	
3.1.1.1.8	Limpieza de materiales	3 días	2	-	

Figura 2. Organigrama de actividades

1.4.6 Matriz de riesgos

Con base a las actividades establecidas, se determinó los posibles factores de riesgo que se enfrentó en cada actividad y se indagó tácticas para prevenir, o en su defecto mitigar, los riesgos. Analizando el objetivo asignado para el proyecto se presentó que la técnica seleccionada para la purificación es el pilar de todo el proyecto, lo que viene tras verificar mediante pruebas de control el factor inhibitorio deseado para el herbicida.

No. de Riesgo	Elemento de la EDT	Tipo de riesgo	Riesgo		Síntoma	Impacto (A/M/B)	Probabilidad (A/M/B)	Evaluación		Respuesta	Responsable de la acción de respuesta
			Fuente	Consecuencia				Valor (1 al 9)	Nivel (A/M/B)		
1	1.1. Pretratamiento de la muestra [1.1.1.4. Liofilizar la muestra]	Cronograma y técnico	No se encuentra listo la muestra a utilizar	Retraso en las actividades del cronograma (Volver a cultivar la microalga)	Que explote el envase de la muestra en pleno proceso de liofilización.	A	B	3	M	Todo depende del manejo que se realice con el liofilizador, procurar que la muestra se encuentre congelada y el envase no completamente sellado	Practicante PAP y encargado de calidad
2	1.2. Análisis del compuesto activo de la muestra [1.2.1.1.3. Medición de datos]	Técnico y experiencia	Falta en la habilidad de utilizar los softwares estadísticos o alguno de los datos ingresados se toman mal los resultados serán no favorables.	Desconocimiento en la viabilidad del proceso realizado	"Ruido" o discordancia en los resultados que se reflejen.	M	M	4	M	Aprender el uso de los softwares a utilizar y tener la supervisión de los asesores de la empresa para comprobar si los resultados reflejados son coherentes o no.	Practicante PAP
3	2.1. Planteamiento de la metodología [2.1.1.1.3. Investigación de la metodología]	Técnico	La estrategia implementada no obtiene resultados favorables.	Retraso en las actividades por realizar (Buscar una nueva metodología)	Bajo porcentaje de purificación del compuesto deseado.	A	M	6	A	Revisar artículos que hayan implementado un proceso similar a lo que se está realizando.	Practicante PAP
4	2. Demostración de avances [2.1.1. Presentación ppt]	Alcance	Falta de referencias.	Flajo en algún segmento del proyecto que derive a consecuencias mayores.	Foca información investigada.	A	B	3	B	Investigación rigurosa y comparación constante con otras metodologías existentes.	Practicante PAP
5	2. Demostración de avances [2.1.1. Presentación ppt]	Experiencia	Falta de preparación al presentar.	La investigación realizada parecerá inocua.	Inseguridad, falta de ensayos.	M	B	2	B	Ensayos previo al día asignado.	Practicante PAP

Tabla 2. Matriz de riesgos

1.5. Desarrollo de la propuesta de mejora

En un inicio, previo a la asignación del proyecto, se realizó una capacitación de 3 semanas que consistía en desempeñar una serie de actividades dirigidas al área de calidad para conocer las instalaciones en las que se iba a trabajar a lo largo del semestre. Además, se expuso una presentación de las buenas prácticas de laboratorio con la información básica de la empresa,

su misión, los productos que han generado por medio de las microalgas y el código de vestimenta para entrar a los laboratorios.

También se asignó en la primera semana de agosto de 2022 el proyecto con el que se trabajaría a lo largo del semestre junto con los propósitos que se desea cumplir. Durante la asignación del proyecto se indicó la fecha de la presentación inicial en la que se propuso una estrategia que lograría los resultados deseados.

Al mismo tiempo, se efectuó un estudio de mercado con el objetivo de detectar la situación actual del producto competencia (glifosato) que se desea reemplazar en el mercado, encontrar algún producto similar existente en el mercado y recopilar datos sobre el compuesto que se desea emplear como principio bioactivo para el herbicida.

Se encontró la pronta salida del glifosato en el mercado a principios del 2024, que se detalla en la *sección 1.1 Entendimiento del ámbito y contexto*, la cantidad reducida de patentes referentes a herbicidas con un compuesto bioactivo (que se obtienen a partir de esporas, tejido vegetal o bacterias). No obstante, solo se encontró una patente vencida de un herbicida que se compone por cianobacterina y un tensioactivo que proporciona una formulación que se adhiera a las plantas en una cantidad eficaz (Florence, 1986).

Por otro lado, se indagó más en las propiedades que presentan las cianobacterias dentro del ámbito agrícola, donde se descubrió un antimetabolito (en Anexo 1) llamado 7-desoxi-sedoheptulosa (7dSh), que presenta un mecanismo de acción similar al glifosato que solamente afecta en microorganismos y plantas. Sin embargo, presenta una buena degradabilidad, baja ecotoxicidad y es inofensiva para animales y humanos (Brilisauer, 2019). También se llevó a cabo en otro experimento una determinación para la dosis mínima efectiva de cianobacterina (otro compuesto bioactivo que se encuentra en las cianobacterias) por el método de dilución para dificultar la división celular, detectar el comportamiento de los compuestos bioactivos al estar en contacto en una comunidad microbiana compleja y confirmar la ausencia de algún efecto adverso en ratones (Gromov, 1991; Días, 2017).

Así mismo, se agendó una reunión informativa con la jefa de laboratorio y la encargada de calidad para analizar los resultados obtenidos previamente en el proyecto e idear propuestas

para mejorar el rendimiento y concentración de los extractos con potencial herbicida y validar la presencia del 7dSh en las cepas que maneja la empresa.

De esta forma, se llevó a cabo la extracción con una mezcla de solventes para la separación selectiva del compuesto por medio de la diferencia de solubilidad (en Anexo 1), mientras que la concentración se efectuó al variar el volumen de solvente hasta un punto en que se respetara la hidratación de la biomasa y tuviera una manipulación sencilla. En la Tabla 3, se indica los solventes que se implementaron para la extracción junto con el volumen y las cianobacterias que se utilizaron durante el curso.

CEPA	SOLVENTE			
	Metanol	Acetona:Metanol [75:25]	Metanol:Acetato de etilo [1:1]	Metanol:Agua [1:1]
<i>Synechococcus sp.</i>	4 mL	4 mL	4 mL	4 mL
	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL
	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL
<i>Lyngbya sp.</i>	4 mL	4 mL	4 mL	4 mL
	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL
	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL

Tabla 3. Parámetros para la extracción de compuestos bioactivos.



Figura 3. Montaje para la sonicación de extractos.



Figura 4. Extractos con distintos solventes.

Una vez preparada la cantidad necesaria de extractos se efectuó una cromatografía de capa fina para analizar los compuestos presentes utilizando placas cromatográficas de gel sílice como fase estacionaria y un solvente de cloroformo: metanol [8:5] como fase móvil (ver Anexo 1). Se determinó la presencia de un compuesto que podría ser el 7dSh por medio de la literatura con la comparación del factor de retención, cuyo valor es de 0.58, y se realizó varias réplicas en esta fase para obtener un porcentaje de error en el factor de retención que se obtuvo experimentalmente.

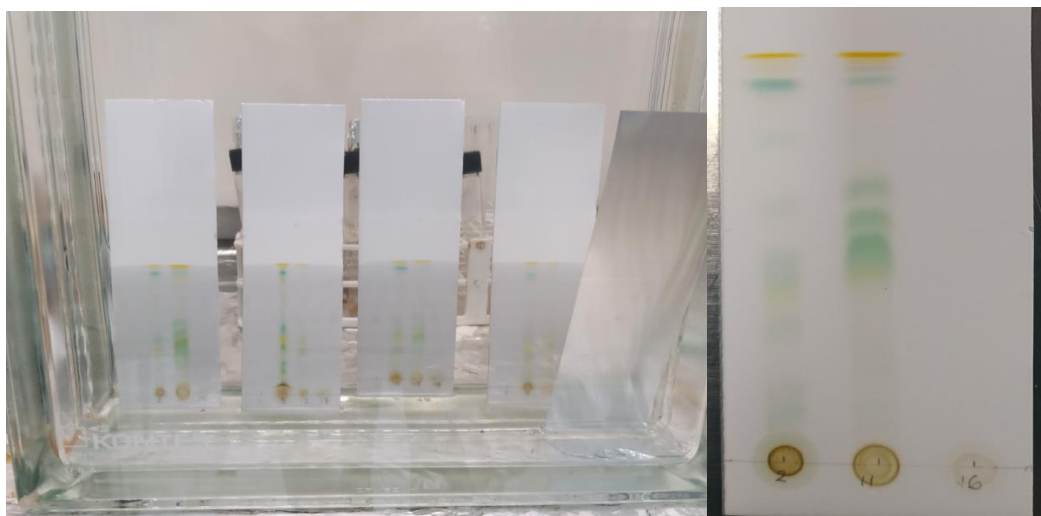


Figura 5. Cromatografía en capa fina

Al encontrar dos de los solventes que indican la presencia del compuesto similar al 7dSh (en metanol puro y acetona:metanol [75:25]) en ambas cepas, se realizó un avance de resultados

con el gerente técnico para indagar en la trayectoria del proyecto. Lo que concluyó con el escalamiento de la metodología ya estipulada con el equipo que tiene la empresa.

Finalmente se realizó una prueba de antibiograma como un ensayo de toxicidad en microplaca para determinar el porcentaje de inhibición de los extractos. Para la primera prueba se preparó un medio de cultivo Bold y se cortó unos discos de papel filtro de 0.6 cm de diámetro para esterilizar por autoclave mientras que los extractos y una solución de glifosato (utilizada como control positivo) se esterilizó con filtros.



Figura 6. Material utilizado para las pruebas de antibiograma.

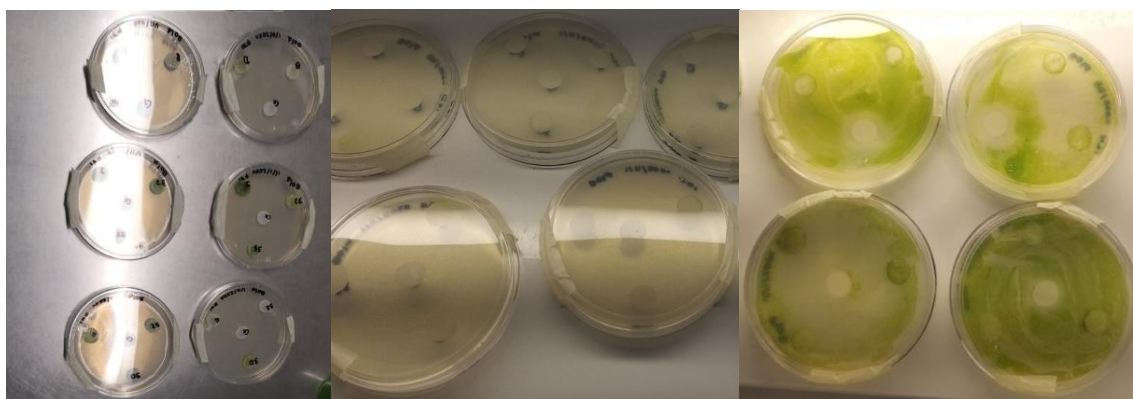


Figura 7. Desarrollo de las pruebas de antibiograma.

Por otro lado, el ensayo de toxicidad se colocó en cada pocillo de la microplaca cierto volumen de *Chlorella vulgaris* con cierto volumen de los extractos con el fin de determinar

la concentración necesaria para que se tenga efecto; como se indica en la figura 8. También se realizó el mismo tratamiento con el glifosato (control).

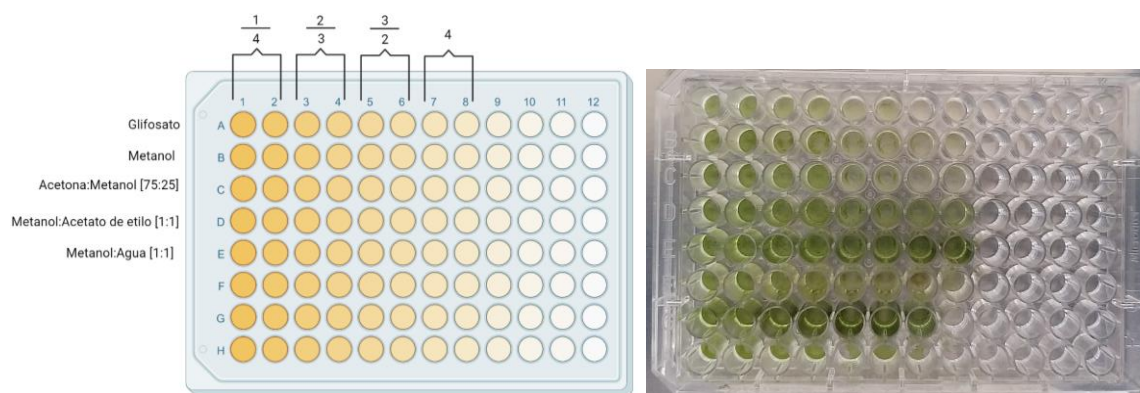


Figura 8. Diseño para el ensayo de toxicidad.

1.6. Valoración de productos, resultados e impactos

Como el proyecto se encuentra en una fase temprana y la información que se pueda conseguir por medio de la literatura se encuentra limitada, resulta de suma importancia el parametrizar las condiciones de las principales fases de la metodología de manera óptima para hacer un escalamiento de forma eficiente que considere un ahorro en el consumo de solvente y empleando una proporción en la mezcla de solvente que resulte más redituable en gran escala.

Por otro lado, la localización del compuesto que presenta el mismo factor de retención que el 7dSh muestra una oportunidad para la adquisición de columnas para realizar una cromatografía en columnas que permita aislar este compuesto para ser tratada posteriormente en una cromatografía HPLC que purifique y analice las propiedades del compuesto.

Una vez establecida la obtención y estabilización del compuesto bioactivo para el herbicida se podrá formular el producto con otros compuestos que le de ciertas propiedades como un adherente que influya en la tensión superficial del líquido y se fije en la maleza para que surta un mayor efecto; y finalmente ser comercializado (en Anexo 1).

2. Productos

Los primeros productos obtenidos fueron: un Protocolo Normalizado de Operación (PNO) sobre la extracción de compuestos optimizado que especifica el tipo de solvente junto con el

volumen mínimo necesario para efectuar esta función, un Protocolo Normalizado de Operación para analizar los compuestos que se conforman con los extractos obtenidos mediante una cromatografía de capa fina, junto con una comparación del factor de retención experimental con respecto al factor de retención que se encuentre en la literatura de los compuestos bioactivos que se han detectado en microalgas o cianobacterias.

Y por último, una estrategia para escalar los procesos de extracción y aislamiento del compuesto mediante el uso de equipo disponible y una futura adquisición de columnas para una cromatografía de separación. Además, de entregar los resultados obtenidos a lo largo del semestre.

3. Reflexión crítica y ética de la experiencia

El RPAP tiene también como propósito documentar la reflexión sobre los aprendizajes en sus múltiples dimensiones, las implicaciones éticas y los aportes sociales del proyecto para compartir una comprensión crítica y amplia de las problemáticas en las que se intervino.

El desarrollo de este proyecto aportó una visión analítica y profunda sobre la planeación de un proyecto en una índole laboral, con el cual se aprendió el rol que ejerce un analista de laboratorio en las pequeñas empresas. Además de comprender los criterios que se manejan al momento de trazar la ruta a seguir del proyecto de acuerdo con el presupuesto, importancia e impacto que pueda generar a largo plazo. Por otro lado, se mencionó de forma superficial la influencia que presenta estos productos con respecto a la propiedad intelectual, con su respectiva metodología, ya que al compartir con personas no relacionadas con el proyecto puede repercutir todo el avance realizado por alguna fuga de información.

3.1 Sensibilización ante las realidades

La experiencia adquirida a lo largo del semestre me ha permitido ampliar un poco más el panorama respecto a la carrera que he cursado, las repercusiones que puede conllevar futuros proyectos en distintos ámbitos de la vida (sea alimentaria, ambiental o en la salud) y la dinámica que se ejerce con un equipo de trabajo dentro de una empresa. Desde un comienzo, a los estudiantes de esta carrera nos hacen conscientes del impacto o importancia que puede tener la intervención biotecnológica en la producción de un producto o en la modificación de un proceso al utilizar alguna materia prima no convencional o algún microorganismo que

pueda realizar de manera más efectiva el trabajo, que aplicar por algún método químico. Por lo que indagar en los beneficios a largo plazo que involucre distintos ámbitos no deja de ser factor clave para considerar la aprobación o rechazo de un posible proyecto.

Profesionalmente me llevo un aprendizaje en la manera en la que uno debe de expresar cierta creatividad al momento de proponer una metodología cuya información base es escasa. Este aspecto dándose principalmente por la mínima información que toca sobre el tema.

Además, al estar presente en un ambiente laboral pude detectar y desarrollar (o estar en camino) mis habilidades blandas, mi forma de trabajar y mi organización que, en muchas ocasiones repercuten más en el día a día en la interacción y colaboración con otros integrantes de la empresa.

Por último, pude comprender el impacto económico y social que genera este tipo de proyecto. En este caso, se plantea obtener y estabilizar un compuesto bioactivo (7dSh) a partir de cianobacterias para una futura comercialización, que consecuentemente implica un gasto en la obtención de materiales, reactivos y en energía para el manejo del equipo. Además, se trata de presentar oportunidades para que los estudiantes que están por concluir los estudios universitarios experimenten un panorama en micro o pequeñas empresas de alta tecnología que permita desenvolver sus ideas mientras son retroalimentados y guiados por gente experta en el área.

3.2 Aprendizajes logrados

Uno de los principales retos que enfrenté al comienzo del PAP fue la escasa información existente sobre el uso de las microalgas o cianobacterias en el ámbito agrícola. Lo que llevó a preguntar reiteradas veces a los integrantes de la empresa sobre posibles acciones que podía realizar para el proyecto e indagar en lo más recóndito de las fuentes bibliográficas en la búsqueda de una técnica que pueda validar lo que se realizó en el laboratorio.

También, otro reto que todavía falta por desarrollar es la manera en la que me relaciono con las demás personas en un ámbito laboral. Este proyecto me permitió fortalecer la proactividad mediante los avances que se iban desarrollando en el proyecto semana a semana como en la gestión de tiempo y el uso de cierto equipo que otra persona lo pueda requerir. No obstante, la comunicación que pude manejar con el gerente técnico como con la jefa de laboratorio con

respecto a alguna duda en el proceso o sobre una demostración de los avances obtenidos semanalmente fue reducida.

De manera más personal me llevé una gran experiencia en este proyecto al aplicar todos los aprendizajes obtenidos en la carrera en un ámbito más profesional. Además de adquirir nuevos aprendizajes en el proceso que no se reducían a lo técnico como fortalecer la proactividad, la comunicación y la gestión de las actividades para obtener unos resultados favorables que sirvan como repertorio en esta fase temprana del proyecto.

Finalmente, el manejo del estrés y la frustración fueron un aprendizaje muy importante ya que es bastante común que en el día a día se vivan estas experiencias, pero saber controlar y sobrellevar estos sentimientos tras reflexionar y aclarar las ideas con respecto al tiempo, ayudaron.

4. Bibliografía y otros recursos

- Brilisauer, K., Rapp, J., Rath, P. et al. *Cyanobacterial antimetabolite 7-deoxy-sedoheptulose blocks the shikimate pathway to inhibit the growth of prototrophic organisms*. Nat Commun 10, 545 (2019). <https://doi.org/10.1038/s41467-019-08476-8>
- CONACYT. (s.f.). *Expediente científico sobre el glifosato y los cultivos GM*. Recuperado en https://conacyt.mx/wp-content/uploads/documentos/glifosato/Dossier_formato_glifosato.pdf
- Días, F. et. al. (2017). *Cyanobacterial Allelochemicals But Not Cyanobacterial Cells Markedly Reduce Microbial Community Diversity*. Front Microbiol. Recuperado en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5550742/>
- Florence, K. (1986). *CYANOBACTERIN HERBICIDE*. United States Patent. Recuperado en <https://patentimages.storage.googleapis.com/d5/de/f1/8aa0e2121bb757/US4626271.pdf>
- Guerrero, V. (2021). *Glifosato ¿herbicida que no hace daño?* UNAM. Recuperado en <https://ciencia.unam.mx/leer/1089/glifosato-herbicida-que-no-hace-dano->
- Gromov, B. V., Vepritskiy, A. A., Titova, N. N., Mamkayeva, K. A., & Alexandrova, O. V. (1991). *Production of the antibiotic cyanobacterin LU-1 by Nostoc linckia CALU 892*

- (cyanobacterium). *Journal of Applied Phycology*, 3(1), 55–59.
doi:10.1007/bf00003919
- Hernández, F. (2010). *Análisis de residuos de plaguicidas polares, con especial énfasis en el herbicida glifosato: Problemática analítica*. Universidad Jaume, España. Recuperado en https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-aspectos_ambientales_del_uso_de_glifosato__version_pa.pdf
- López, A. et al. (2001). *Cianobacterias criptobióticas: una alternativa de agricultura orgánica*. Fundación Produce Baja California Sur, A. C. Recuperado en https://cibnor.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1001/1318/1/lopez_a%20001%20LIBRO%20CIANOBACTERIAS%20CRIPTOBIOTICAS.pdf
- Rout, N. Fuentes, J. (2021). Cianobacterias para el control de maleza, una alternativa al glifosato. CIATEJ. Recuperado en <https://ciatej.mx/el-ciatej/comunicacion/Noticias/Cianobacterias-para-el-control-de-maleza--una-alternativa-al-glifosato/218#:~:text=Estos%20compuestos%20son%20%C3%BAnicos%20y,de%20herbicidas%20de%20%C3%BAltima%20generaci%C3%B3n.>

5. Anexos generales

Anexo 1 [Glosario]:

Glifosato: Es un ácido orgánico soluble en agua, sintetizada químicamente, que actúa deteniendo la vía metabólica del shikimato, ruta metabólica esencial en la síntesis de aminoácidos aromáticos en bacterias, algas, hongos y plantas. Por lo tanto, presenta una toxicidad muy elevada que permitió por muchos años el laboreo mecánico y manual del campo.

Cianobacteria: Denominadas previamente como algas azul-verdosas, son organismos unicelulares que tienen la capacidad de realizar fotosíntesis oxigénica donde el agua es el donante primario de electrones y libera oxígeno como un subproducto (López et al, 2001).

Antimetabolito: Compuesto que reemplaza, inhibe o compite con un metabolito específico para desestabilizar el crecimiento celular.

Solubilidad: Es una medida de la capacidad en una determinada sustancia para disolverse en otra.

Cromatografía en capa fina: Es una técnica de análisis químico utilizada para separar los componentes presentes de una mezcla compleja.

Fase estacionaria: Es la fase fija donde se desplaza la mezcla.

Fase móvil: Es la fase que mueve o arrastra a la mezcla de compuestos a través de la fase estacionaria y de todo el sistema cromatográfico.

Factor de retención: Es la relación entre la cantidad de tiempo que un compuesto pasa a la fase estacionaria y el tiempo que el compuesto pasa en la fase móvil. Cuanto más fuerte sea la interacción, mayor será la retención.

Antibiograma: Pruebas de sensibilidad que determinan la susceptibilidad de un microorganismo a la exposición de un medicamento o, en este caso, de un herbicida.

Ensayo de toxicidad: Prueba que estudia los efectos nocivos que pueden ser ocasionados por cualquier agente químico sobre la estructura y función de distintos organismos.

Adherente: Es un tensioactivo autoemulsionante que cuenta con propiedades dispersante y un adhesivo que aumenta la permanencia del producto.