

Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Occidente

Dependencia de adscripción al PAP

Procesos Tecnológicos e Industriales

PROYECTO DE APLICACIÓN PROFESIONAL (PAP)

Nombre del PROGRAMA

4E PROGRAMA DE APOYO AL DESARROLLO TECNOLÓGICO DE LA INDUSTRIA



4E06 Producción de Spirulina: Aislamiento, optimización de cultivo y secado
FASE: Aislamiento y preservación *Arthrospira (Spirulina)* nativa de Jalisco

PRESENTAN

Ing. Alimentos. Ana Sofía Camacho Morales

Profesores PAP:

M.C. Cristóbal Camarena Bernard

Dr. David José Mendoza Aguayo

Tlaquepaque, Jalisco, Mayo del 2016

ÍNDICE

Presentación Institucional de los Proyectos de Aplicación Profesional.	2
Resumen	2
1. Introducción.	4
1.1. Objetivos	4
1.2. Justificación	4
1.3. Antecedentes	5
1.4. Contexto	5
1.5. Enunciado breve del contenido del reporte	5
2. Desarrollo:	
2.1. Sustento teórico y metodológico.	5
2.2. Planeación y seguimiento del proyecto.	10
3. Resultados del trabajo profesional.	11
4. Reflexiones del alumno o alumnos sobre sus aprendizajes, las implicaciones éticas y los aportes sociales del proyecto.	15
5. Conclusiones.	15
6. Bibliografía.	16

REPORTE PAP

Los Proyectos de Aplicación Profesional son una modalidad educativa del ITESO en la que los estudiantes aplican sus saberes y competencias socio-profesionales a través del desarrollo de un proyecto en un escenario real para plantear soluciones o resolver problemas del entorno. Se orientan a formar para la vida, a los estudiantes, en el ejercicio de una profesión socialmente pertinente.

A través del PAP los alumnos acreditan el servicio social, y la opción terminal, en tanto sus actividades contribuyan de manera significativa al escenario en el que se desarrolla el proyecto, y sus aprendizajes, reflexiones y aportes sean documentados en un reporte como el presente.

Resumen

Durante el desarrollo del proyecto de aplicación profesional en el periodo primavera 2016 se logró aislar cepas de *Arthrospira* sp. de muestras colectadas en lagunas de oxidación de la planta de tratamiento de aguas residuales de Atoyac, Jalisco, México, utilizando los medios de cultivo MZ, MN, MNI, MOSJ y MSp. Las metodologías empleadas para el aislamiento fueron separación de colonias, diluciones seriadas y aislamiento células por células, siendo la separación por colonias la que mejores resultados presentó. Para la preservación de las cepas se propusieron tres metodologías: en medio sólido; preservación en hojuelas de agar seco, y en medio de cultivo con agar, así como en medio líquido a 4° y 10 ° C. Se obtuvieron mejores resultados en la preservación en medio líquido a 4° y 10° C.

1. Introducción

1.1. Objetivos

Generales

- Aislar y preservar cepas de *Arthrospira* sp. de la laguna de Sayula, Jalisco, México.

Específicos

- Muestrear la laguna de Sayula, Jalisco, México
- Seleccionar/ preparar medios de cultivo aptos para el crecimiento de microalgas
- Cultivar en laboratorio las muestras colectadas.
- Seleccionar microorganismos con características similares a *Arthrospira* sp.
- Resembrar colonias aisladas similares a *Arthrospira* sp. en medios de cultivo seleccionados hasta obtener cepas puras.
- Preservar cepas de *Arthrospira* sp. para posteriores estudios.

1.2. Justificación

Arthrospira sp. es una cianobacteria considerada como una excelente fuente de aminoácidos esenciales, vitaminas, minerales, con alto valor proteico y su crecimiento se ve favorecido en medio alcalino. Además, esta cianobacteria ha establecido ciertas ventajas sobre otros microorganismos, como fuente de proteína unicelular “*single-cell protein*” y es comercializada a escalas industriales (Muniz-Moreira *et al.*, 2011).

Considerando que la alimentación y nutrición adecuada son la base para la supervivencia, salud y crecimiento del ser humano, resulta atractivo el aislamiento de una cepa nativa de *Arthrospira* sp. Con base a lo anterior, es importante la adaptación de técnicas enfocadas en mejorar las condiciones de cultivo y materia prima con el fin de satisfacer las necesidades o deficiencias regionales en nutrición en base a microalgas como fuentes alternas de alimentación (Wilkie *et al.*, 2011).

Es necesario la preservación de la cepa nativa aislada, que ha sido caracterizada morfológica y fisiológicamente para establecer parámetros de crecimiento, y en caso de escalar la producción siempre contar con la cepa original aislada evitando la pérdida de caracteres de interés (Wilkie *et al.*, 2011).

1.3 Antecedentes del proyecto

Originalmente se le presentó a Laboratorios PISA S.A. de C.V. un proyecto para producir biomasa de una cepa de *Spirulina* sp. nativa de la región central de Jalisco, optimizar su producción y someterla a un procesos de secado sin afectar metabolitos de interés industrial.

Desafortunadamente, CONACYT no aprobó el proyecto y Laboratorios PISA S.A. de C.V. decidió no continuar por falta de fondos. Sin embargo, el departamento de procesos tecnológicos e industriales del ITESO decidió continuar como proyecto PAP independiente.

Cabe señalar que el género *Spirulina* ha sufrido cambios en su taxonomía en los últimos años. La especie más producida a nivel mundial, *S. platensis*, es ahora considerada por la comunidad ficológica internacional como *Arthrospira platensis*, pues comparte mayor cantidad de rasgos con especies de este género.

Las características de la especie reportada para Jalisco concuerdan con la descripción de un filamento del género *Arthrospira*, por lo que de ahora en adelante en el documento se le nombrará *Arthrospira sp.* a la especie aislada.

1.4. Contexto

En el 2006 se estimó que a nivel mundial alrededor de 178 millones de niños menores de cinco años sufren desnutrición crónica ocasionando alrededor de 3.5 millones de muertes de niños en el mismo índice de edad. En México, 1.5 millones de niños padecen desnutrición, siendo más prevalente en la región sur de la república con un 13.6% de la población en ese mismo año (ENSANUT, 2012).

Considerando que *Arthrospira sp.* contiene altas concentraciones de proteína entre el 60-70% en base seca, cantidades de ácidos grasos entre 3-6.5% y es capaz de producir un alrededor de 6% de pigmentos en los que destacan la ficocianina, la clorofila y los carotenoides (Ramírez-Moreno & Olvera-Ramírez, 2006). En este sentido *Arthrospira sp.* puede ser empleada como un suplemento alimenticio con el fin de incrementar la calidad de la alimentación en la población.

1.5. Enunciado breve del contenido del reporte

En este proyecto se logró aislar y preservar una cepa de *Arthrospira sp.* nativa de la laguna de Sayula, Jalisco, México.

2. Desarrollo

2.1. Sustento teórico

Arthrospira platensis es una cianobacteria Gram-negativa, caracterizada por tener una fila de tricomas cilíndricos con anchuras entre 2.5 a 16 μm que a su vez se encuentran separadas por septos visibles al microscopio de luz, una hélice normalmente abierta con una distancia entre giros desde 0 hasta 80 μm y diámetros relativamente grandes de 15 a 60 μm (Vonshak, 2002).

A. platensis está compuesta de aproximadamente 60-70 % de proteína, además de contener vitaminas A (0.11-0.2 mg), B₁ (3-4 mg), B₂ (2.5-3.5 mg), B₆ (0.5-.7 mg), B₁₂ (0.15-

0.25 mg), K (2.2 mg), E (5-7 mg) y ácido fólico (4-5 mg); alrededor de 7 % minerales. Debido a lo anterior, los principales usos de *Arthrospira platensis* en para la industria alimentaria es como suplemento alimenticio, ya sea en polvo, encapsulado, en tabletas, como sustituto de harina, pastas para sopa, botanas, salsas, barras de granola, golosinas o bebidas instantáneas de frutas o vegetales; en la industria cosmética, para la pigmentación de labiales y en la farmacéutica (Sarada *et al.*, 1999; Ramírez-Moreno & Olvera-Ramírez, 2006).

La industria farmacéutica ha comprobado efectos positivos de las cianobacterias en la inmuno-regulación, como también, antioxidantes, anticancerígenos, antivirales y anti-tóxicos. Dichos efectos se han comprobado a nivel experimental. En el tratamiento de algunos tipos de alergias, anemia y leucemia y reducción hepatotóxica por lo que se considerada como un promotor de la salud o nutraceutico. (Ramírez-Moreno & Olvera-Ramírez, 2006).

2.2. Sustento metodológico

Según Amara & Steinbüchel (2013) *Arthrospira platensis* crece preferentemente en medio alcalino con rango de pH 8.5 a 10, siendo el pH 9 su óptimo de crecimiento, ya que favorece el crecimiento de *Arthrospira platensis* e inhibe el crecimiento de otros microorganismos. Por otro lado, la temperatura de crecimiento de *A. platensis* oscila entre los 24 y los 35 °C, con una temperatura óptima es de 33 °C (Zarrouk, 1966). Si bien las microalgas necesitan someterse a cierta exposición de luz, debido a su naturaleza fotosintética, se ha reportado que exposiciones prolongadas de luz inhibe el crecimiento del microorganismo. En este sentido, se decidió de acuerdo a lo reportado por Tarko en el 2012, establecer fotoperiodos de 12 h de luz con 12 h oscuridad con una agitación 150 rpm para permitir salir a la superficie el oxígeno producido.

2.2.1. Aislamiento

Andersen (2005) sugiere 6 técnicas para el aislamiento de cianobacterias de las cuales solamente se seleccionaron 3 por cuestiones de practicidad: por separación de colonias, célula por célula y mediante diluciones. Las cuales se describen a detalle en los diagramas de la fig . X I. Aislamiento por separación de colonias esta técnica consiste en la inocular 100 µL de la muestra en el centro de una placa Petri con medio ya gelificado y extender con una varilla de vidrio (doblada a 90°) adelante y atrás, mientras se gira la placa, se tapa e incuba. II. Aislamiento es célula por célula, que consiste en observar la muestra del microorganismo de interés en medio sólido al microscopio previamente sembrado empleando la técnica de siembra por agotamiento por estrías inoculando con un asa calibrada el medio de cultivo en caja Petri realizando estriado y a medida que se realizan las estrías el contenido microbiano pasa del asa al medio de cultivo siendo cada vez menor, de manera que las estrías iniciales proporcionan un crecimiento confluyente, mientras que a lo largo de las últimas estrías se desarrollan colonias más aisladas y con un asa de punta tomar solamente un filamento y suspenderlo en medio líquido para incubarlo esto con la

finalidad de tener un cultivo axénico. III. Aislamiento por diluciones con el objetivo de permitir que las colonias crezcan más separadas unas de otras facilitando su aislamiento.

2.2.2. Preservación

Tiene como objetivo conservar el o los microorganismos previamente aislados o puros y garantizar su viabilidad y reproducción. Actualmente el procedimiento más común para el mantenimiento de las cianobacterias es por transferencia en serie de cultivos en crecimiento activo a un medio de cultivo fresco, sin embargo, tiene desventajas asociadas con riesgo de contaminación, pérdida de caracteres fenotípicos así como otros inconvenientes derivados del trabajo intensivo que conlleva limitando la capacidad de los investigadores para mantener un gran número de cepas (Andersen, 2005).

2.3. Planeación y seguimiento del proyecto.

2.3.1. Enunciado del proyecto

En este proyecto se logró aislar una cepa de *Arthrospira* sp. nativa de la laguna de Sayula, Jalisco, México a partir de las muestras colectadas utilizando diferentes medios de cultivo y distintas técnicas de siembra. Una vez aislada se procedió a la preservación de la cepa a diferentes temperaturas y medios.

2.3.2. Metodología

Para lograr el aislamiento de la cepa *Arthrospira* sp. se emplearon varias metodologías de siembra y diferentes medios de cultivo. En cuanto a las metodologías de preservación se propusieron 3 diferentes medios de cultivo que se almacenaron durante 7 días a distintas temperaturas.

a. Colecta de muestra

Se realizaron colectas en 6 diferentes puntos de la planta de tratamiento de aguas residuales de Atoyac, Jalisco. En cada punto se muestrearon entre 250 y 500 mL de la superficie a 10 cm de profundidad del cuerpo de agua.

b. Verificación de *Arthrospira* sp. en muestras.

Se observó en microscopio Motic para la verificación de las muestras de acuerdo a las características morfológicas. De acuerdo a Vonshak (2002), las características morfológicas de la microalga deseada son: microalgas verdes, filamentosas, de preferencia en espiral (aunque se ha reportado la pérdida de esta característica bajo estrés ambiental).

c. Aislamiento

Descripción de los medios de cultivo

Se emplearon 5 diferentes medios de cultivo para el aislamiento de *Arthrospira* sp. I. El medio Zarrouk (MZ) se eligió ya que la producción industrial de la *Spirulina* se basan en este medio (Tarko, 2012). Los medios II y III se escogieron puesto que de acuerdo a Pedraza en (1989) se pueden utilizar aguas de residuales por su alto contenido de nitratos y fosfatos para la producción de esta microalga. II. Agua colectada en la planta de tratamiento de Atoyac medio natural (MN). III. Agua de la planta de tratamiento del ITESO medio natural ITESO (MNI). IV. El medio *Spirulina* modificado (MSp) se seleccionó porque se favorece el crecimiento de *Spirulina* (Andersen, 2005). VI. El medio OSJ se utilizó por sugerencia personal de Eduardo Juárez. En la tabla 1 se presenta la formulación de los medios I, IV y V.

Tabla 1. Composición de los diferentes medios de cultivos empleados(g/L)

Reactivos	Medio Zarrouk (MZ)	Medio OSJ (MOSJ)	Medio <i>Spirulina</i> (modificado) (MSp)
NaHCO₃	16.8	8	13.61
EDTA disódico	0.080	—	0.08
NaNO₃	2.5	2.5	2.5
K₂SO₄	1	—	—
NaCl	1	0.5	1
MgSO₄ · 7H₂O	0.20	0.1	0.2
CaCl₂	0.040	0.040	0.030
FeSO₄ · 7H₂O	0.10	—	0.01
K₂HPO₄	0.5	—	0.50
KCl	—	3	—
(NH₄)₂HPO₄	—	1.41	—
Na₂CO₃	—	—	4.03
Solución A5	1 mL	—	—

Tabla 2. Compuestos químicos de la solución de oligoelementos de la solución A5 del Medio Zarrouk.

Reactivos	Concentración (g / L)
H₃BO₃	2.86
MnCl₂ · 4H₂O	1.81
CuSO₄ · 5H₂O	0.222

El medio natural (MN) es el agua que se colectó en la planta de tratamiento de Atoyac centrifugada y el medio natural ITESO (MNI) es agua de la planta de tratamiento de la universidad Jesuita ITESO, ambas se esterilizaron a 15 lb/in² durante 15 minutos.

Se realizaron 3 metodologías para aislar *Arthrospira* sp.:

I. Aislamiento por separación de colonias

Se realizó a partir de la siembra de 200 µL de las muestras originales con la técnica de diseminación en superficie en medio natural (MN) al 1.5 % de agar bacteriológico y se dejaron crecer en por un periodo de 30 días a temperatura ambiente con ciclos de iluminación de 12 h luz y 12 h oscuridad.

A los 30 días se procedió a localizar las colonias empleando el microscopio Motic y posteriormente se cortaron las zonas de crecimiento de colonias en cuadros de aproximadamente 0.5 cm con ayuda de un bisturí estéril. Dichos cuadros se utilizaron para inocular tubos de 15 mL con 5 mL de los medios líquidos (MZ, MN, MSp, MOSJ y MNI) por duplicado y se incubaron a 33 °C y 150 rpm en la incubadora orbital Thermo Scientific a 1.82 Klux durante 30 días.

II. Aislamiento célula por célula

Partiendo de los medio líquidos inoculados en el aislamiento I, se verificó la presencia de *Arthrospira* sp. y se sembraron 100 µL de cultivo empleando la técnica de agotamiento por estrías en donde se realizaron siembras por duplicado en agar bacteriológico al 1.5 % con medios MZ, MN y MSp. Los inóculos de cada medio de cultivo se sembraron en el mismo medio con agar, esto con el objetivo de no someter la muestra a fase de adaptación en un medio diferente.

III. Aislamiento por diluciones

Dado que las muestras de todos los puntos presentaron la misma biodiversidad, incluidos los filamentos de interés, se decidió juntar todas las muestras y se centrifugaron a 4000 rpm por 10 minutos, a temperatura ambiente, para eliminar algunos residuos sólidos o contaminantes por diferencia de densidades y se desechó el sobrenadante.

La biomasa se resuspendió en 6 mL de agua destilada, se tomó 1 mL para inocular cada tubo de cultivo con 30 mL de medio MN o medio MZ (tabla 1), según el tipo de ensayo y se incubaron a 33 °C y con 1.82 Klux.

A partir de estos tubos de cultivo se hicieron diluciones porcentuales (50, 25, 12.5, 6.25, 3.125 %) con volumen final de 1 mL. De las cuales se tomaron 100 µL para sembrarse en los distintos medios sólidos (MZ, MN al 1.5 % agar bacteriológico) empleando la técnica de diseminación y se incubaron a temperatura ambiente a 1.82 Klux por 15 días.

d. Metodología de preservación

Se probaron 3 metodologías de preservación de acuerdo a Sivakumar & Nutan (2013) en donde se utilizan diferentes condiciones de medio. Todas las metodologías partieron del aislamiento por separación de colonias en donde se seleccionaron los 3 tubos con crecimiento de *Arthrospira* sp. de manera predominante.

I. Medio líquido

De los 3 tubos antes mencionados, se tomaron 1 mL de cada uno y se almacenaron durante 7 días a 4 y 15 °C.

Después del almacenamiento las muestras se sometieron a las 33 °C, 150 rpm y 1.82 Klux, que una vez incubadas a estas condiciones las muestras se leyeron con espectrofotómetro a una longitud de onda de 560 nm.

II. Medio sólidos

Se inoculó 1 mL de cada tubo en medio MZ con 2 % de agar bacteriológico y posteriormente se almacenaron 7 días a 4 y 15 °C.

III. Hojuelas de agar

De igual manera se inoculó 1 mL de cada tubo por la técnica vertido en MZ al 2.5 % de agar bacteriológico. Se gelificó el agar (40 °C) y se cortó en pequeños cuadrados de aproximadamente 0.5 cm, que se dejaron secar en una campana de flujo laminar bajo condiciones axénicas durante 24 h y posteriormente se incubarse a 23 y 4 °C.

- Cronograma o plan de trabajo

Para realizar los objetivos del proyecto se planearon las actividades descritas en la tabla 3, que son tanto operativas como técnicas durante el semestre. Los recursos necesarios para realizar el proyecto consisten principalmente en los compuestos químicos de los distintos medios de cultivo y el tiempo de desarrollo de *Arthrospira* sp. es de aproximadamente de 2- 3 semanas a 33 °C.

Tabla 3. Cronograma de actividades

Actividad	Fecha
Revisión de bibliografía	25 enero al 10 mayo
Selección de medio de cultivo	5 de febrero
Preparación de medio de cultivo	10 al 16 de febrero
Colecta	10 de febrero
Verificación	16 al 18 de febrero

Aislamiento	24 de febrero al 10 de abril
Incubación	28 de febrero al 6 de abril
Siembra	14 de marzo al 4 de abril
Diluciones	24 de febrero
Preservación	24 de abril al 9 de mayo

Además es necesario considerar que al trabajar con microorganismos se deben tomar en cuenta variables como las condiciones de crecimiento óptimas para este, puesto que como ya se mencionó anteriormente *Arthrospira* tiene un tiempo de crecimiento aproximado de 14 días a 33 °C pero a temperatura ambiente necesita de un mayor tiempo de incubación aproximadamente 30 días y cualquier equivocación repercute directamente en los tiempos de entrega por lo cual una buena planeación es fundamental para cumplir los objetivos del PAP y debe tomar en cuenta este tipo de situaciones para no perjudicar los entregables.

3. Resultados del trabajo profesional

- a. Colecta de la muestra en la laguna de Sayula, Jalisco, México.

La imagen 1 muestra imágenes de una de las lagunas de la planta de tratamiento de aguas residuales de la población de Atoyac, Jalisco, México. En donde se colectaron las muestras.



Imagen 1. Fotografías tomadas en la planta de tratamiento de aguas residuales de la población de Atoyac, Jalisco, México.

- b. Verificación de *Arthrospira* sp. por observación al microscopio.

Como se observa en la imagen 2, se observan filamentos lineales que se puede inferir son *Arthrospira* sp. en su forma lineal puesto que de acuerdo a la investigación de Vonshak (2002) es posible encontrarla también en esta morfologías. También se puede observar en la misma imagen la presencia de otro microorganismo, encerrado en círculo rojo que podría ser una diatomea ya que ambas crecen en condiciones similares (Cárdenas *et al*, 2010).

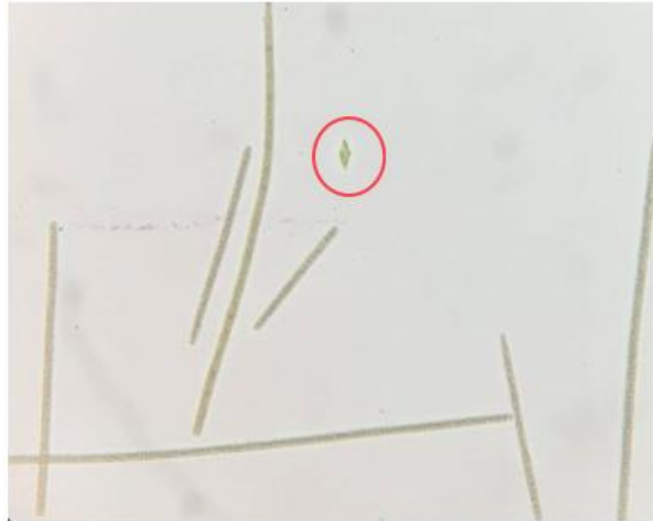


Imagen 2. *Arthrospira* sp. en forma lineal y otro microorganismo.

c. Aislamiento

I. Aislamiento por separación de colonias

En la imagen 5 se muestra un conglomerado de *Arthrospira* sp. en su forma morfológica característica en espiral.



Imagen 5. *Arthrospira* sp. en su forma característica en espiral.

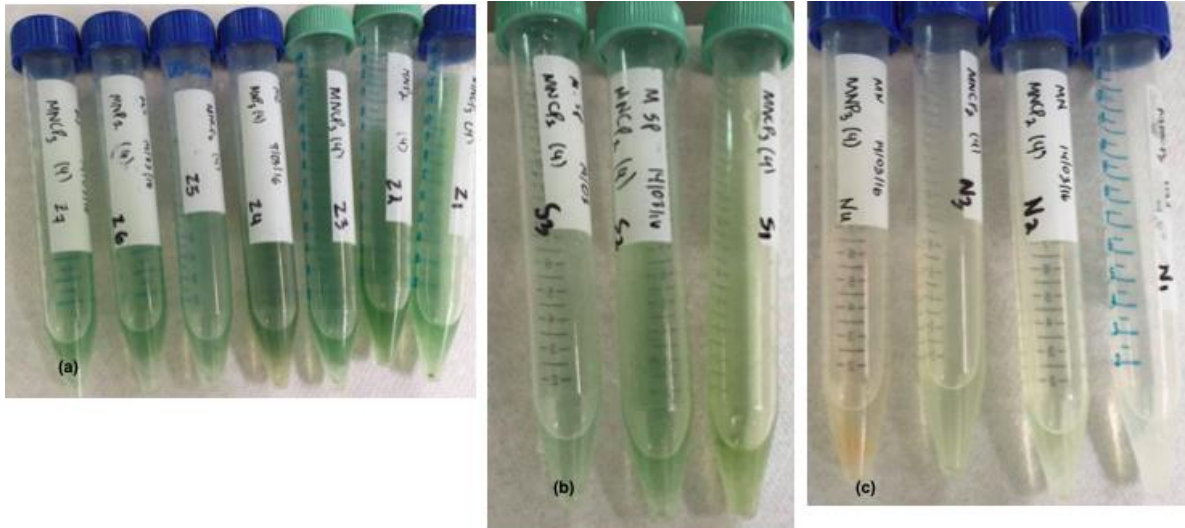


Imagen 6. Distintos medio de incubación donde se observó crecimiento después de 30 días de incubación. (a): tubos en medio de cultivo MZ; (b): tubos en medio de cultivo MSp.; (c): tubos en medio de cultivo MN.

La imagen 6 muestra la coloración del medio. Se puede observar que el medio MZ presenta un color verde más intenso y turbio que en las muestras con medios MN y MSp.

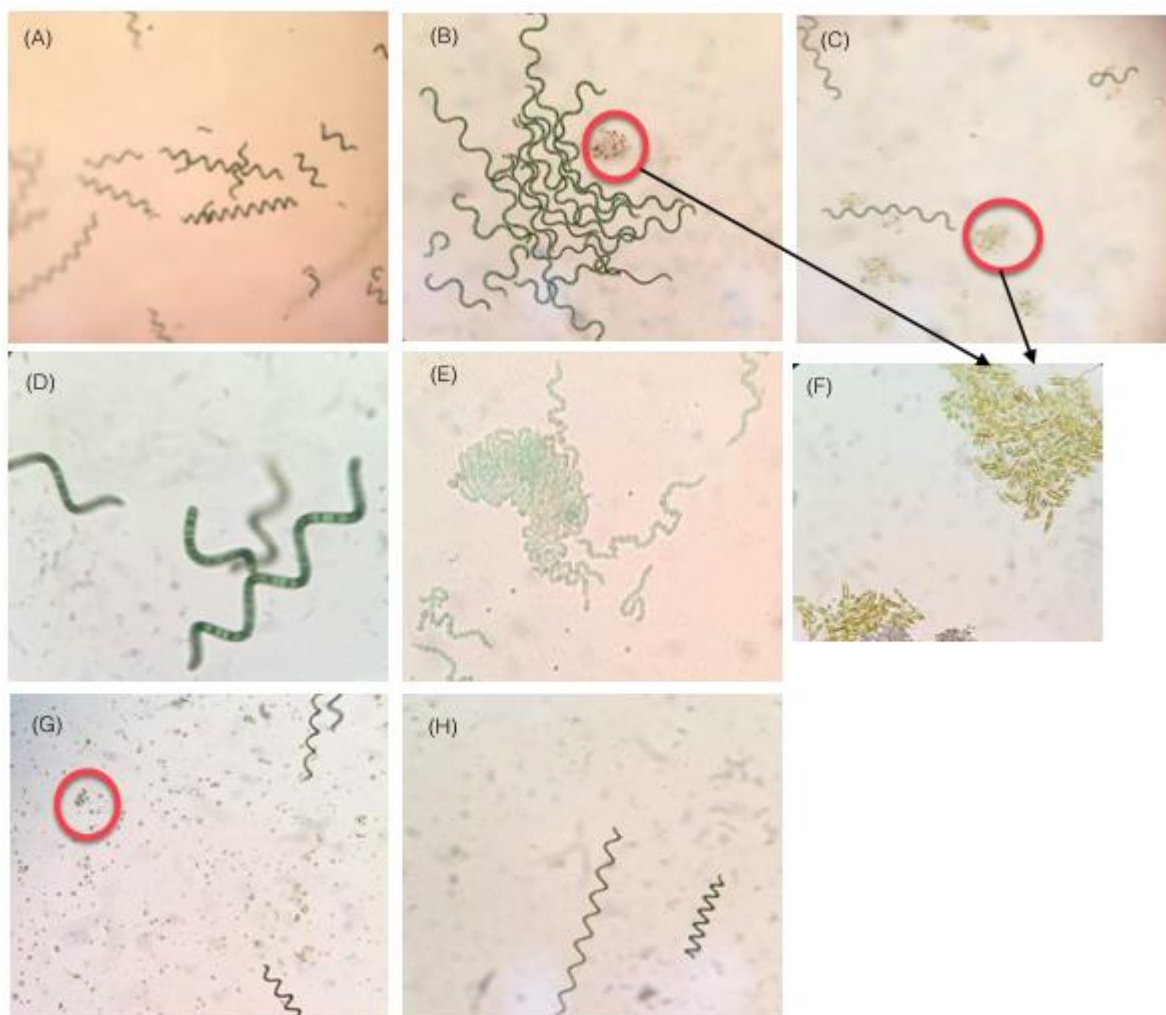


Imagen 7. Observación al microscopio después de 30 días de incubación de muestras en distintos medio de incubación. (A): Muestra en medio de cultivo MZ; (B): Muestra en medio de cultivo MZ; (C): Muestra en medio de cultivo MSp.; (D): Muestra en medio de cultivo MZ; (E): Muestra en medio de cultivo MN; (F) Microorganismo presente en MZ y MSp.; (G): Muestra en medio de cultivo MSp.; (H): Muestra en medio de cultivo MSp.

En el la imagen 7 se puede observar el crecimiento de *Arthrospira* sp. en su morfología característica en espiral. De igual manera es posible observar que en MZ presenta una mayor predominancia de *Arthrospira* sp. con respecto a los tres otros microorganismos encontrados posiblemente en los medios MN y MSp. Posiblemente se trata de *Anabaena* sp. (E), diatomeas (F) y encerrado en círculo rojo *Chlorella* sp. (G) ya que estos microorganismos crecen en condiciones muy similares (Cárdenas *et al.*, 2010).

II. Aislamiento célula por célula

Este aislamiento solamente se realizó una vez sin ningún éxito y no se logró la reproducibilidad del método por cuestiones de tiempo y su complejidad.

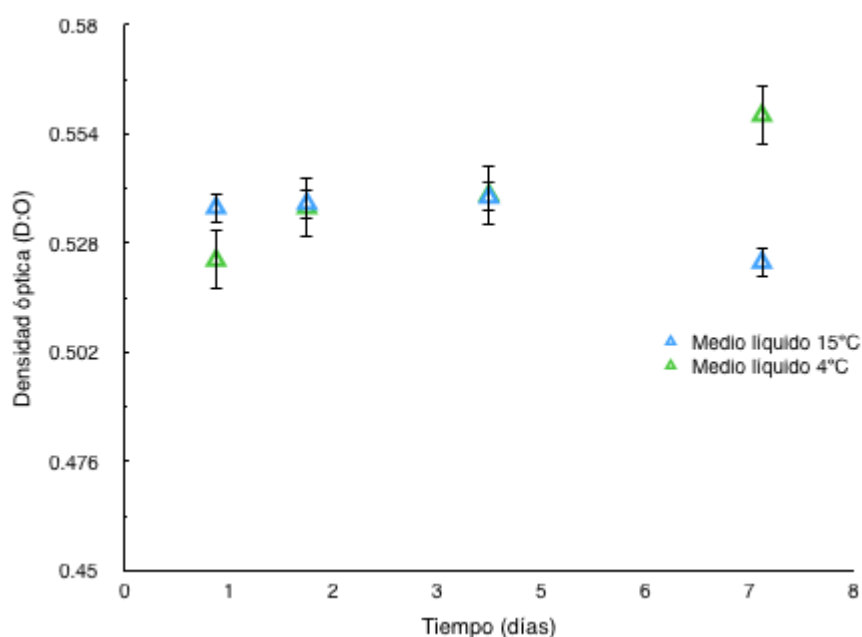
III. Aislamiento por diluciones

En cajas Petri con MZ se observan pequeños puntos color café y ninguna *Arthrospira* sp. que posiblemente fue ocasionado por la formación de algún compuesto del medio someterse a temperaturas de esterilización ya que previo a su esterilización presenta color transparente y después la solución cambia a un color marrón. Por otra parte, las cajas con MN presentaron crecimiento de cultivo mixto y de *Arthrospira* sp. en su forma lineal.

d. Metodología de preservación

I. Medio líquido

Después del periodo de almacenamiento de los cultivos observaron filamentos en buen estado, por lo que se decidió reactivar su cultivo y medir su crecimiento por densidad óptica de las muestra a una longitud de onda de 560 nm durante 7 días.



Gráfica 1. Densidad óptica contra días después de la incubación.

En la gráfica 1 se puede observar un aumento en la densidad óptica conforme aumenta el tiempo en la muestra almacenada a 4 °C. Por otra parte la muestra almacenada a 15 °C presenta un comportamiento opuesto, mostrando una disminución de la densidad óptica conforme aumenta el tiempo esto podría atribuirse a que la temperatura no es lo suficientemente baja para mantener los índices metabólicos bajos de *Arthrospira* sp. por lo que tratará de adaptarse en lugar de reservar su energía para mantenerse viva. Podemos correlacionar el crecimiento de *Arthrospira* sp. con la densidad óptica de acuerdo a lo reportado por Sivakumar & Rajendran en (2013) a mayor densidad óptica mayor cantidad de biomasa (mg / mL).

Medio sólido y hojuelas de agar

La reactivación de los medios sólido y hojuelas de agar no fueron exitosos puesto que no se observó *Arthrospira* en la reactivación de estos medios. Esto pudo ser causado por algún compuesto formado durante la esterilización (15 lb/in² durante 15 minutos) ocasionando el color café al agar.

4. Reflexiones del alumno o alumnos sobre sus aprendizajes, las implicaciones éticas y los aportes sociales del proyecto.

- **Aprendizajes profesionales**

Este Proyecto de Aplicación Profesional me permitió conocer que para todo proyecto se necesita un propósito u objetivo al que se pretende llegar y de ser posible apegarse a este hasta donde los recursos lo delimiten con la finalidad de no perderse durante el desarrollo de cualquier proyecto. Además aprendí que para la realización de cualquier proyecto se necesitan fundamentos basados en la investigación de diversas fuentes.

- **Aprendizajes sociales**

Aunque este proyecto no se enfocó en solucionar alguna problemática de alguna empresa la *Arthrospira* es un fuente rica en proteínas, aminoácidos esenciales, vitaminas D, A, E, minerales y otros nutrientes que podrían ser de interés no solo para la industria de alimentos sino para la cosmética y farmacéutica. En la industria alimentaria podría ayudar a solucionar problemas sociales como la desnutrición.

- **Aprendizaje ético**

Es brindar información verídica de los resultado obtenidos en el proyecto para que al ser consultados por alumnos o maestro de cualquier universidad pueda replicar el experimento y obtenga resultados muy parecidos, esto con el fin de enriquecer el conocimiento que se tiene sobre la cianobacteria *Arthrospira* en los ámbitos científicos y laborales.

- **Aprendizaje personal**

Aprendí que una buena planeación es esencial para el éxito de un proyecto y la aplicación de los conocimientos adquiridos en materias anteriores ahorra tiempo, porque de otra manera se tienen que investigar para recordarlos. También que el trabajar con seres vivos representa un ciencia muy compleja puesto que aunque en algunos casos se pueda acelerar el crecimiento de un microorganismo siempre va estar delimitada por la naturaleza del mismo y considero a esto una virtud para demostrarnos que no todo depende de nosotros y debemos de trabajar de manera multidisciplinaria no sólo con otras profesiones sino con otros seres vivos.

5. Conclusiones

Se llevó a cabo de manera exitosa el aislamiento de una cepa nativa de *Arthrospira sp.* por la metodología de aislamiento por selección de colonias a partir de las muestras colectadas en la planta de tratamiento de aguas residuales de la población de Atoyac, Jalisco, México. El medio empleado que nos permitió obtener una mayor predominancia de *Arthrospira sp.* entre otros organismos fue el MZ.

La preservación de la cepa nativa *Arthrospira sp.* fue exitosa en medio líquido almacenados a 4°C en un periodo de 7 días puesto que se registró crecimiento de la cianobacteria después su almacenamiento.

La participación en este proyecto me sirvió para buscar manera de solucionar problemas que se presenta de manera experimental y en algunas ocasiones no se explican en los libros como por ejemplo la coloración del MZ al someterse todas las soluciones a altas temperaturas, la solución que se propuso fue esterilizar cada una de las soluciones por separado y mezclar bajo condiciones axénicas, para sembrar en agar-bacteriológico esterilizar una solución de agar concentrado y antes de llegar a 40°C (temperatura de gelación del agar) adicionar los mL de MZ para posteriormente vaciar en placas.

Otro problema fue el crecimiento de la cianobacteria, por lo tanto hubo retraso en el aislamiento y por consiguiente en las metodologías de conservación donde solo se pudieron incubar durante 7 días y debido a la coloración del MZ no fue posible monitorear el crecimiento de las metodologías de corto y largo plazo en agar por espectrofotometría.

Bibliografía orden alfabético y sangría francesa

Cárdenas, J., Díaz, M., Vizcaíno, M. (2010). *Industrialización del alga Spirulina*. Universidad del Valle Cali. Colombia. Págs 25- 28

ENSANUT (2012). *Desnutrición en México: intervenciones hacia su erradicación*. Centro de Investigación en Nutrición y Salud, Instituto Nacional de Salud Pública. México. Consultado el 15 de abril del 2016 en <http://ensanut.insp.mx/doctos/analiticos/Desnutricion.pdf>

Mayashree, B. & Bhattacharjee, A. (2010). *An Efficient Protocol for Long-Term Preservation of Cyanobacteria*. Journal of Advanced Laboratory Research in Biology. Vol. (I), Págs 41-45.

Muniz, L., Silva, A. Garcez, C., Silva, R., & Almeida, L. (2011). *Nutritional evaluation of single-cell protein produced by Spirulina platensis*. African Journal of Food Science. Vol. 5(15), Págs. 799-805.

Nutan, R., Khandual, S., Gutierrez-Mora, A., Gallardo-Valdéz, J., Rodríguez-Garay B., Ibarra-Montoya, J., Vega-Valero, G. (2013). *Isolation, Identification and Germplasm Preservation of Different Native Spirulina Species from Western Mexico*. American Journal of Plant Sciences. Vol (4), Págs 65-71.

- Pedraza, X. (1989). *Cultivo de Spirulina maxima para suplementación proteica*. FAO. Vol (1).
- Ramírez-Moreno, L. & Olvera-Ramírez, R. (2006). *Uso tradicional y actual de Spirulina sp. (Arthrospira sp.)*. Interciencia. Vol. (31), Págs 657-663.
- Sarada, R., Manoj, G., Pillai, & Ravishankar G.A. (1999). *Phycocyanin from Spirulina sp: influence of processing of biomass on phycocyanin yield, analysis of efficacy of extraction methods and stability studies on phycocyanin*. Process Biochemistry. Vol. (34), Págs 795–801
- Sivakumar, R. & Rajendran S. (2013). *Growth measurement technique of microalgae*. Current Science Journal. Vol (7), Págs 52- 54.
- Tarko, T. (2012). *Influence of Growth Medium Composition on Synthesis of Bioactive Compounds and Antioxidant Properties of Selected Strains of Arthrospira Cyanobacteria*. Czech Journal Food Science. Vol (30), Págs 258–267.
- Vonshak, A. (2002). *Spirulina Platensis Arthrospira Physiology, Cell-Biology And Biotechnology*. Taylor & Francis. Págs 677- 702.
- Wilkie, A., Edmundson, S., & Duncan, J. (2011). *Indigenous algae for local bioresource production: Phycoprospecting*. Energy for Sustainable Development. Vol (15), Págs 365-371.
- Zarrouk, C. (1966). Contribution à l'étude d'une cyanophycée Influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthèse de *Spirulina maxima* (Setchell & Gardner) Geitler. La faculté des sciences de l'université de Paris. Págs 1-88.