

**INSTITUTO TECNOLÓGICO Y DE ESTUDIOS SUPERIORES DE OCCIDENTE**

**Departamento de Procesos Tecnológicos e Industriales**

**Sustentabilidad y tecnología**

**PROYECTO DE APLICACIÓN PROFESIONAL (PAP)**

**Programa de Desarrollo Tecnológico para la Sustentabilidad Ambiental Energética y**

**Alimentaria**



**ITESO, Universidad  
Jesuita de Guadalajara**

**4D09 Innovación y emprendimientos biotecnológicos**

**Diseño de proceso de fermentación sumergida de *Lepista sordida* para la producción  
de extracto antioxidante**

**PRESENTAN**

Programas educativos y Estudiantes

Ingeniería en Biotecnología. Diego Miguel Amador Guerra

Ingeniería en Biotecnología. Jorge Luis Chimal Ayala

Ingeniería en Biotecnología. Leví Alberto González López

Profesores PAP: Dr. Luis Edmundo Garrido Sánchez

Dr. Alejandro Arana Sánchez

Tlaquepaque, Jalisco, mayo de 2024

# ÍNDICE

## Contenido

REPORTE PAP .....	2
Presentación Institucional de los Proyectos de Aplicación Profesional .....	2
Resumen .....	3
1. Ciclo participativo del Proyecto de Aplicación Profesional.....	3
1.1 Entendimiento del ámbito y del contexto .....	5
1.2 Caracterización de la organización o comunidad .....	8
1.3 Identificación de la(s) problemática(s).....	10
1.4. Planeación de alternativa(s).....	13
1.5. Desarrollo de la propuesta de mejora .....	17
1.6. Valoración de productos, resultados e impactos .....	43
1.7. Bibliografía y otros recursos .....	46
1.8. Anexos generales.....	51
2. Productos .....	52
3. Reflexión crítica y ética de la experiencia.....	58
3.1 Sensibilización ante las realidades .....	58
3.2    Aprendizajes logrados .....	61

## 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.*

*En caso de requerirse alguna adecuación al nombre de las fases propuestas para este componente, se puede realizar siempre y cuando sea complementario a lo ya establecido.*

*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

Este Proyecto de Aplicación Profesional "Diseño de proceso de fermentación sumergida de *Lepista sordida* para la producción de extracto antioxidante" corresponde al PAP 4D09 de innovación y emprendimiento biotecnológicos. Se desarrolló en tres etapas experimentales: estandarización del cultivo de la cepa, modelado de fermentación y recuperación del extracto antioxidante. El objetivo principal fue diseñar un bioproceso eficiente basado en la fermentación sumergida de *Lepista sordida* para producir biomasa y aprovechar sus compuestos antioxidantes presentes en un extracto a base de etanol al 96%. Se eligió un biorreactor *STR* debido al manejo y control microbiológico y rendimientos obtenidos, destacando un rendimiento de 0.0467 g de biomasa/g de sacarosa, conversión de sacarosa del 29.8%, y selectividad de 0.157 g de biomasa/g de sacarosa obtenidos después de 7 días de cultivo. Estos resultados superaron al biorreactor tipo *airlift* en términos de eficiencia, ahorro de materia y energía, como lo fue el aire implementado para la agitación neumática y prevención de contaminación bacteriana. El extracto obtenido mostró una capacidad antioxidante máxima del  $72.72\% \pm 3.07$  acorde a la prueba de *ABTS*, fundamentada en la presencia de metabolitos como antocianinas, polifenoles, flavonoides, polisacáridos antioxidantes como alfa y betaglucanos, entre otros. La capacidad antioxidante señalada fue superior a la de otras especies como *P. ostreatus* y *G. lucidum* según la literatura, siendo hongos comúnmente usados para la obtención de metabolitos. Este proyecto busca innovar en la producción eficiente de extractos antioxidantes de hongos como *Lepista sordida*, aplicables en diversas industrias como la alimentaria, cosmética y farmacéutica.

## 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 se busca 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.

El presente caso de innovación biotecnológica, correspondiente al PAP de Innovación y emprendimientos biotecnológicos con código 4D09A perteneciente al “Programa de desarrollo tecnológico para la sustentabilidad ambiental, energética y alimentaria”, fue desarrollado en el Instituto Tecnológico de Estudios Superiores de Occidente en los laboratorios del Departamento de Procesos Tecnológicos e Industriales pertenecientes a las instalaciones de Ingeniería Química, Ingeniería en Alimentos e Ingeniería en Biotecnología bajo la supervisión del Dr. Luis Edmundo Garrido Sánchez y el Dr. Alejandro Arana Sánchez.

Una de las principales causas por la que se rige la presente investigación y desarrollo tecnológico es el aprovechamiento e implementación de compuestos antioxidantes e intracelulares presentes en la biomasa de *Lepista sordida*, entre los que se destacan las antocianinas, polisacáridos con capacidad antioxidante como lo son betaglucanos y compuestos fenólicos a los que se les atribuyen dichas propiedades benéficas para los seres humanos.

*Lepista sordida* es un hongo basidiomiceto perteneciente a la familia *Tricholomataceae* y orden *Agaricales*. Una de sus mayores características fenotípicas es la coloración púrpura de su cuerpo fructífero, incluso pudiendo presentar esta coloración en el micelio durante la fase estacionaria de crecimiento, atribuyendo que la coloración del micelio se debe gracias a metabolitos secundarios. Otra característica de reconocimiento de este hongo es el color de sus esporas, siendo que, en caso de ser colectadas, se visualiza el color cremoso de ellas. Se ha reportado la presencia de este organismo en diferentes continentes y regiones del mundo como lo es Asia (especialmente en provincias de China), Europa y Norteamérica, siendo que está presente en bosques mesófilos con altos niveles de humedad relativa. Se ha despertado el interés de investigación de este hongo puesto que es un elemento tradicional en la medicina china gracias a sus propiedades antitumorales, antioxidantes, antiedad e inmunomoduladora obtenidas a partir del micelio o cuerpo fructífero (Thongbai *et al.*, 2016; Meng *et al.*, 2010).

Como objetivo general del desarrollo tecnológico se plantea el establecer un diseño de bioproceso eficiente con base en la fermentación sumergida de *Lepista sordida* para producir biomasa y aprovechar los compuestos antioxidantes presentes en la biomasa de este basidiomiceto. Como objetivos específicos se proponen los siguientes:

- Formular un medio de cultivo de perfil industrial para el óptimo crecimiento de *Lepista sordida* bajo condiciones de fermentación sumergida.
- Obtener concentraciones considerablemente similares de biomasa de *Lepista sordida* ante lo reportado en la literatura.
- Lograr una reducción de costos en relación con otras metodologías de fermentación propuestas en la literatura.
- Implementar diferentes biorreactores donde se identifique la mayor obtención de biomasa de *Lepista sordida*.
- Plantear una serie de operaciones unitarias de recuperación de biomasa para la obtención de compuestos antioxidantes.

### 1.1 Entendimiento del ámbito y del contexto

La tendencia actual a preferir el consumo de alimentos naturales complementada con la información aportada por numerosos estudios epidemiológicos sobre el uso de ciertos aditivos sintéticos ha contribuido a la búsqueda de nuevas fuentes de ingredientes en la naturaleza. Algunos ejemplos de estos son las frutas, verduras, cereales, legumbres, especias y hierbas, las cuales generalmente se encuentran en la dieta diaria de las personas (Parcheta *et al.*, 2021; Flieger *et al.*, 2021). Se caracterizan a las frutas y verduras de color morado (berenjena, moras, betabel), rojo (fresas, frambuesas, arándanos) y naranja (naranjas, zanahorias, papaya) como alimentos funcionales altamente nutritivos, puesto que contienen carotenoides, flavonoides, ácido ascórbico y compuestos fenólicos, siendo estos últimos característico por la inclusión de uno o más grupos hidroxilo unidos a un anillo aromático en su estructura química (Zehiroglu & Ozturk-Sarikaya, 2019; Jiménez-López, 2017).

Los compuestos fenólicos son sustancias naturales que se encuentran en una gran variedad de alimentos. Estos compuestos tienen propiedades antioxidantes, lo que significa que pueden ayudar a prevenir o retrasar el daño causado por los radicales libres en el cuerpo. Los radicales libres son moléculas inestables que se producen como resultado del metabolismo primario del cuerpo y también pueden ser causados por factores externos, como la exposición

a la radiación y la contaminación del aire. Los compuestos fenólicos se clasifican en diferentes tipos, según el número de átomos de carbono y la estructura de su esqueleto base, ejemplos de ellos son: ácidos fenólicos, taninos, cumarinas, ligninas y antocianinas (Ringuelet & Viña, 2013).

Siendo que los subproductos de las reacciones metabólicas surgen de forma continua, el metabolismo humano también tiene un sistema de producción de antioxidantes para neutralizar a estas especies químicas. No obstante, se denota que, aunque se cuente con estas rutas metabólicas, es necesario consumir fuentes adicionales de antioxidantes para evitar la aparición de enfermedades (Parcheta *et al.*, 2021). Los antioxidantes funcionan como agentes antiinflamatorios, antiedad y anticancerígenos, ya que pueden neutralizar las especies reactivas de oxígeno, nitrógeno y otros radicales libres generados en las reacciones metabólicas evitando, así, el daño oxidativo a proteínas, lípidos y DNA (Parcheta *et al.*, 2021; Zehiroglu & Ozturk Sarikaya, 2019). Es por esto que se estima que el mercado de los antioxidantes crezca en un 46% desde 2021 hasta 2028 (Fortune Business Insights, 2021).

Las antocianinas son polifenoles con propiedades antioxidantes altamente valuadas en el mercado global debido a sus grandes aplicaciones bajo conceptos nutracéuticos e industriales, teniendo un gran auge en los alimentos para la pigmentación, confitería y decoración de los alimentos. En el área farmacéutica fungen como agentes anticancerígenos, antivirales, antimicrobianos y neuroprotectivos, incluso teniendo efectos en la neurogénesis y salud cerebral. No obstante, uno de sus roles más importantes son los suplementos con efectos antioxidantes y antidiabéticos (Giuliani *et al.*, 2016; Husain *et al.*, 2022; Jiménez-López, 2017).

Los efectos antioxidantes de las antocianinas que juegan un papel esencial en la prevención de enfermedades y patologías se deben a su alta capacidad para neutralizar los radicales libres y prevenir la peroxidación, lo que puede ayudar a prevenir el estrés oxidativo y reducir el riesgo de enfermedades crónicas degenerativas. Dicha capacidad antioxidante alta se debe principalmente a la presencia de los grupos hidroxilo-fenólicos, que son capaces de prevenir eficazmente la peroxidación aportando átomos de hidrógeno que neutralizan los radicales libres y, consecuentemente, interrumpen la reacción en cadena de oxidación (Jiménez-López,

2017). Las antocianinas poseen actividad antioxidante debido a su capacidad *scavenger* (capacidad de unirse a las lipoproteínas de baja densidad acetiladas) (Díaz-Rincón, 2019).

Existen diferentes procesos industriales para producir antocianinas, que incluyen la extracción a partir de frutas frescas, la fermentación microbiana, la producción *in vitro* y la producción de suspensiones celulares. Estos procesos pueden variar en cuanto a los métodos de extracción, los solventes utilizados, las condiciones de cultivo y la purificación de los pigmentos (Díaz-Rincón, 2019).

Si bien, los alimentos y las plantas contienen diferentes compuestos antioxidantes, entre los que se destacan a las antocianinas, sin embargo, el rendimiento de producción es bajo e implican el inmoderado uso de recursos como el suelo, agua y otros aditamentos agrícolas que causan la erosión del suelo y un impacto ambiental negativo (Fernández-Sevilla *et al.*, 2010). Por lo tanto, se resaltan a los microorganismos u otros sistemas biológicos como biofábricas, entre estos, se destacan a los bacterias, levaduras, microalgas y hongos. En el caso específico de los hongos, se denota que, a pesar de que tienen un alto potencial antioxidante, no hay una gran diversidad de estudios descriptivos y escalables de la producción de este tipo de metabolitos. Se denotan a *Fusarium oxysporum*, *Agaricus bisporus* y *Pleurotus ostreatus* como algunos ejemplos de hongos con capacidad antioxidante gracias a los metabolitos que producen (Rani *et al.*, 2021).

La producción de antioxidantes puede ser potenciada mediante el uso de inductores y factores de estrés oxidativo en cultivos *in vitro*, como lo son la contaminación ambiental, radiación UV, luz azul, concentraciones elevadas de oxígeno o dióxido de carbono u otras sustancias químicas que alteran la estabilidad del microorganismo (Abril-Ibarra, 2022; Díaz-Abarca, 2014). La síntesis de antocianinas está ligada a las condiciones lumínicas, y se ha observado que la intensidad lumínica afecta su producción. La producción de antocianinas con hongos ha sido estudiada en el contexto de la síntesis de estos compuestos en cultivos celulares. Por ejemplo, se ha reportado la presencia de antocianinas en cultivos celulares de *Aristotelia chilensis*, con el desarrollo de una estrategia para la producción de extractos ricos en antocianinas a partir de estos cultivos celulares. Diversos estudios sugieren que los hongos podrían tener un impacto en la producción de compuestos antioxidantes en sistemas de

cultivo celular, lo que podría tener implicaciones en la obtención de estos compuestos con fines nutraceuticos o industriales (Díaz-Abarca, 2014).

Debido a que los antioxidantes son compuestos atractivos y esenciales para diversas industrias como la farmacéutica, cosmética y alimentaria por sus propiedades estabilizantes, conservadoras, antiinflamatorias y anticancerígenas, se denota que es imperativo aumentar la viabilidad y producción de estos compuestos de manera biotecnológica (Parcheta *et al.*, 2021; Flieger *et al.*, 2021). Considerando el valor de mercado de estas sustancias y el potencial de los hongos, se presenta a *Lepista sordida*, un hongo basidiomiceto que contiene compuestos fenólicos, flavonoides, ácido ascórbico, antocianinas, polisacáridos, entre otros, que además presentan actividad inmunológica, antitumoral y anti-edad (Alim *et al.*, 2023; Wang *et al.*, 2023; Zhong *et al.*, 2013; Chen *et al.*, 2021).

No obstante, se resalta que los procesos de producción de *L. sordida* pueden ser de carácter líquido (fermentación sumergida) o sólida (fermentación sólida) (Sheng *et al.*, 2023; Deng *et al.*, 2012). En el caso de la fermentación sólida, se sugiere el uso de granos de cereales como arroz y maíz, pero es un proceso tardado por su duración de 23 días (Sheng *et al.*, 2023). En el caso de la fermentación líquida, se implica el uso de diferentes fuentes de carbono y nutrientes para lograr un alto rendimiento de biomasa y la coloración de esta (Deng *et al.*, 2012). Por lo tanto, en este estudio se pretende diseñar un bioproceso eficiente y rentable con base en la fermentación líquida de *Lepista sordida* para aprovechar los compuestos antioxidantes presentes en la biomasa de este hongo.

## 1.2 Caracterización de la organización o comunidad

El presente proyecto de aplicación profesional se realiza en los laboratorios de Ingeniería en Biotecnología, de Ingeniería Química y de Ingeniería de Alimentos del Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Occidente (ITESO), Universidad Jesuita de Guadalajara, Jalisco, México. El PAP está a cargo del Dr. Luis Edmundo Garrido Sánchez y el Dr. Alejandro Arana Sánchez y está bajo la coordinación del Departamento de Procesos Tecnológicos e Industriales de dicha universidad.

Además, se cuenta con un equipo de asesores para las diversas actividades requeridas en dicho PAP, como lo son el Dr. Alejandro Torres Haro, Mtro. Felipe Sánchez Carrillo y la Mtra. Teresita de Jesús Ramírez García. También colaboraron los responsables técnicos de

los laboratorios mencionados, los cuales reservan los espacios para las actividades experimentales y proporcionan los materiales del laboratorio.

El ITESO fue fundado en el año de 1957 por el Padre Luis Hernández Prieto S.J., José Aguilar Figueroa y el ingeniero José Fernández del Valle y Ancira, entre otros. El ITESO es una universidad de inspiración cristiana confiada a la Compañía de Jesús y se concibe a sí mismo como una comunidad de personas en permanente crecimiento, bajo la inspiración de la tradición educativa jesuita y el análisis constante de la realidad. Actualmente el ITESO es regido por el Dr. Alexander Paul Zatyryka Pacheco SJ (ITESO, 2024).

El campus posee instalaciones educativas modernas, una red de sistemas informáticos y tecnológicos de punta, óptimos laboratorios para diferentes disciplinas, espacios deportivos, recreativos y áreas de convivencia con la naturaleza. Actualmente, la universidad cuenta con 43 planes de estudio a nivel licenciatura y con 26 a nivel posgrado, así como 5 especialidades (ITESO, 2024).

El Departamento de Procesos Tecnológicos e Industriales (PTI), está orientado a fomentar actividades que permiten intervenir de manera directa o alterna en las problemáticas nacionales. Cuenta con una infraestructura física, instrumental e intelectual multidisciplinaria que posibilita soluciones integrales en la construcción de proyectos de investigación, desarrollo e innovación. El Programa de Desarrollo Tecnológico para la Sustentabilidad Ambiental Energética y Alimentaria tiene como objetivo explorar estas líneas de investigación como se describen a continuación:

1. Gestión Ambiental: Mejorar el conocimiento sobre los servicios de ecosistemas y su relación con el bienestar y la salud humana. Desarrollar y aplicar metodologías para entender, cuantificar y prever cambios ambientales acumulativos ocasionados por proyectos hídricos, urbanos y energéticos.
2. Transición energética: Desarrollar tecnología para el ahorro y uso eficiente de la energía en procesos productivos. Desarrollar conocimiento aplicado y tecnología para el aprovechamiento de energías renovables en procesos que resulten económicas y oportunas en problemas de índole doméstica o productiva, rural o urbana.
3. Soberanía Alimentaria: Estudiar productos agropecuarios que contengan sustancias bioactivas subutilizadas que sean aprovechadas integralmente. Diseñar y desarrollar

alimentos funcionales que prevengan enfermedades agudas y crónicas empleando microorganismos probióticos y sustancias nutraceuticas. Desarrollar procesos para el aprovechamiento secundario de residuos de industrias alimentarias y producir un mejor rendimiento económico y un menor impacto ambiental.

La misión del ITESO consiste en inspirar e impulsar los procesos de formación y acompañamiento, a partir de la experiencia cristiana al modo ignaciano, que integran a la persona, promoviendo el diálogo, la fe y la cultura y para integrar un compromiso solidario. Por otra parte, la visión del ITESO radica en ser un centro de referencia para el conocimiento y la vivencia de la espiritualidad ignaciana. Además de contemplar aspectos como la cultura, la problemática social y los que están en las fronteras de la exclusión, para cumplir una propuesta de formación y acompañamiento (ITESO, 2024).

### 1.3 Identificación de la(s) problemática(s)

La ingeniería en biotecnología se caracteriza por ser una disciplina que toma en consideración los principios y leyes de las ciencias químicas, físicas y biológicas para implementar sistemas biológicos y/o bioquímicos de alto potencial para la resolución de problemáticas, carencias o necesidades presentes en la sociedad y el mundo actual. Esta disciplina se fundamenta en los mecanismos metabólicos de ciertos seres vivos, pudiéndose tratar de organismos complejos o microorganismos, para llevar a cabo procesos de carácter científico e industrial que cumplan con ciertos objetivos, destacando entre ellos la obtención de productos y/o servicios de alta necesidad, ejemplificando al caso de los alimentos a partir de fermentaciones para la conservación, enriquecimiento y formulación de los alimentos o en el caso de la industria farmacéutica la obtención de fármacos o elementos destacables para la salud humana (Verma *et al.*, 2011).

Tal es el caso del presente proyecto de aplicación profesional (PAP 4D09 Innovación y emprendimientos biotecnológicos) donde se da la oportunidad de indagar, reconocer y explorar dentro del vasto campo de la Biotecnología una carencia o servicio por introducir y/o mejorar dentro de la sociedad a partir de los principios y beneficios propuestos por un sistema biológico o bioquímico. En este PAP se permite reconocer los elementos necesarios para realizar una propuesta de modelo biotecnológico, identificar los aspectos técnicos y elementales requeridos para llevarlo a cabo, valorar la opinión de grupos de interés, como lo

es la comunidad científica, acerca de la factibilidad y viabilidad del modelo propuesto y finalmente la implementación de técnicas de laboratorio para llevar a cabo dicho modelo. Entre las alternativas propuestas para identificar, desarrollar y modelar a través de principios biotecnológicos se resalta a la investigación sobre los alimentos, fármacos, nutracéuticos, procesos de biorremediación y modelos industriales, dando así el caso de interés de estudio acerca de la disponibilidad y producción de antioxidantes a partir de fuentes biológicas.

Muchos de los compuestos antioxidantes presentes en el mercado son de origen vegetal, como lo es el caso de la luteína, la cual proviene de pétalos de flores de cempasúchil, sin embargo, la agricultura y horticultura generan un impacto ambiental considerable puesto que demanda recursos hídricos, nutrientes, suelo, requisitos específicos de cultivo y genera erosión del suelo. Asimismo, se menciona que se requiere una mayor cantidad de personal que otras industrias; además que las fuentes vegetales cuentan con muy poca concentración de antioxidante biodisponible (0.03%) (Fernández-Sevilla *et al.*, 2010).

Si bien la producción de pigmentos y compuestos antioxidantes de origen microbiano presenta beneficios como menores costos de producción, menor impacto ambiental, mayores rendimientos, implementación de materias primas de bajo costo y posibilidades de optimización a través del proceso diseñado y del organismo seleccionado, sin embargo, el desarrollo de esto puede ser costoso bajo un largo periodo de tiempo. Además, los colorantes naturales presentan menor fuerza de tinción, muy pocos han sido aprobados para uso alimenticio y farmacéutico, presentan olores y aromas interferentes en sus propiedades organolépticas y pueden ser degradados por factores abióticos como la luz, pH, temperatura y calor, causando menor vida de anaquel y la pérdida de sus funciones (Sen *et al.*, 2019).

En el área de diseño de proceso y determinación de estrategia de producción de biomasa, se presenta a la fermentación sumergida como una estrategia de producir mayores rendimientos de biomasa y de productos de interés. Esto gracias al alto grado de control que se puede implementar gracias al monitoreo de factores como la agitación, el pH, la temperatura y la aireación. Además, los riesgos de contaminación se pueden reducir al implementar mayor control en el proceso de inoculación y de recuperación de biomasa. Gracias a la homogenización de la transferencia de oxígeno y nutrientes en el medio, se promueve la

producción de metabolitos de interés de forma intracelular y extracelular (Bakratsas *et al.*, 2021).

Dentro de la sección de desarrollo de proceso, se destaca que los procesos de extracción y acabado de este tipo de compuestos determinan el rendimiento; el valor económico de todas las operaciones unitarias influye directamente en el costo global del proceso. Un método clásico es la extracción mediante solventes orgánicos, pero es costoso y los resultados son bajos rendimientos y baja pureza (Sen *et al.*, 2019). En el caso de los hongos, se resalta que producen diversos metabolitos de interés de naturaleza intracelular, los cuales requieren de la ruptura de la pared celular del hongo para obtenerlo, no obstante, esta estructura celular es muy robusta y, para romperla con eficiencia, es necesario implementar procesos fisicoquímicos y/o mecánicos para obtener los metabolitos intracelulares (Bhadauria & Peng, 2008; Madla *et al.*, 2012). Es a causa de ello que se han estandarizado métodos de extracción no convencionales como extracción por ultrasonido, microondas o fluidos supercríticos, así como métodos de acabado de producto como la microencapsulación, nanoencapsulación o nanoemulsiones para mantener la estabilidad de los metabolitos de interés ante cambios fisicoquímicos del ambiente (Pai *et al.*, 2022; Sen *et al.*, 2019).

En el caso de las antocianinas, su disponibilidad puede verse afectada por varios factores. Se ha observado que las antocianinas en algunos casos reducen su bioaccesibilidad, posiblemente debido al protocolo de extracción de antocianinas en tejidos que no ha sido optimizado, lo que podría provocar que algún metabolito importante no haya sido descubierto o extraído de manera satisfactoria (Gómez-Zeledón & Jiménez, 2011). Adicionalmente, el almacenamiento, procesamiento y acabado de estas sustancias presentan desafíos en el proceso de producción de estos compuestos a nivel industrial, pues de todo esto depende la estandarización, optimización y el cumplimiento de los parámetros de calidad correspondientes a los sectores de implementación (Ramos-Córdoba, 2021).

A pesar de las ventajas que las antocianinas ofrecen como posibles sustitutos de los colorantes artificiales, su incorporación a matrices alimenticias o productos farmacéuticos y cosméticos son limitadas debido a su baja estabilidad durante el procesamiento y el almacenamiento. La extracción de antocianinas de fuentes naturales como plantas puede ser un desafío debido a la baja concentración de estos compuestos y la necesidad de técnicas

eficientes de extracción y purificación. Factores como su propia estructura química, pH, concentración, temperatura, presencia de oxígeno, ácido ascórbico, y actividad de agua de la matriz determinan la estabilidad del pigmento (Jiménez-López, 2017).

#### 1.4. Planeación de alternativa(s)

De manera general, el cultivo de hongos, sean basidiomicetos, ascomicetos o levaduriformes han representado un gran impacto social, tecnológico y cultural en la población mundial gracias a su diversidad de aplicaciones en beneficio de la mejora de condiciones y calidad de vida, resaltando su aplicación en el desarrollo de biomateriales, servicios destinados a la biorremediación de áreas contaminadas, obtención de nutracéuticos, aditivos alimenticios, reactivos de importancia industrial o fármacos de alta necesidad y consumo en la sociedad. Uno de los mayores ejemplos de su explotación a nivel industrial es el abastecimiento de alimentos ricos en vitaminas y minerales, estimando que se producen 260,000 toneladas de cuerpos fructíferos al año, representando 1.98 mil millones de USD en ventas (Prasad & Singh, 2023; Bakratsas *et al.*, 2021).

Otra de las ventajas del consumo de estos organismos es que son considerados como prebióticos, favoreciendo el equilibrio de la microbiota intestinal ante sus elevadas concentraciones de polisacáridos funcionales y antioxidantes que nutren a los microorganismos benéficos para la salud humana. Además de ello, cuentan con un 80-85% de compuestos bioactivos como lo son proteínas, ácidos grasos, fibras, antioxidantes, compuestos fenólicos, triterpenoides y diterpenoides que permiten una actividad inmunomoduladora, antioxidante, antitumoral y antimicrobiana que mejora la salud del consumidor. Actualmente la industria de productos de origen fúngico se centra en la obtención de compuestos bioactivos a partir del cuerpo fructífero de estos organismos, siendo que comúnmente son cultivados en residuos agroindustriales bajo condiciones ambientales controladas, sin embargo, el cultivo de cuerpos fructíferos puede demorar varios meses, demandar grandes cantidades de sustratos y condiciones únicas y específicas de cultivo, presenta un gran riesgo de contaminación ante la baja tasa de crecimiento en comparación con otros microorganismos competidores y en ciertos casos se obtienen bajos rendimientos de producción (Bakratsas *et al.*, 2021).

*Lepista sordida* es un hongo basidiomiceto, el cual se caracteriza por ser saprófito y por tener como condiciones ideales de crecimiento un pH de 6.3 y una temperatura de 25°C (Thongbai *et al.*, 2016). La selección de *Lepista sordida* como actuador biológico se fundamenta en la gran diversidad de compuestos antioxidantes y de importancia biotecnológica que están presentes en este organismo, tales son los diterpenoides, antocianinas, compuestos fenólicos, polisacáridos con capacidad antioxidante que en ciertos otros hongos no están presentes. Cabe señalar que la inducción de la antocianina sintetasa podría favorecer la producción de antocianinas en este sistema metabólico y por ende obtener una coloración morada mucho mayor, sin embargo, la capacidad antioxidante de este organismo se fundamenta a través de los compuestos fenólicos y polisacáridos que son producidos en forma de metabolitos secundarios (Thongbai *et al.*, 2016; Meng *et al.*, 2010).

Se resalta que la investigación realizada en este proyecto de aplicación profesional está basada en diferentes trabajos de investigación que ya probaron la fermentación sumergida de *L. sordida* con fuentes de carbono, nitrógeno y minerales diferentes y la fermentación sólida con diferentes granos de cereales (Sheng *et al.*, 2024; Deng *et al.*, 2012). Asimismo, se denota que se utilizaron metodologías de medición de tasa de crecimiento y de determinación de condiciones ideales previamente reportadas (Sheng *et al.*, 2024; Thongbai *et al.*, 2016; Deng *et al.*, 2012).

La innovación de la propuesta de este proyecto de aplicación profesional radica en la implementación de la fermentación sumergida, una estrategia de producción de biomasa y metabolitos de interés, en la cual se puede regular y controlar factores físicos como la agitación, el pH y la aireación, así como mejorar la transferencia de oxígeno y de nutrientes en el medio (Bakratsas *et al.*, 2021). Adicionalmente, se presenta como otro factor novedoso el diseño y optimización de un medio de cultivo, así como en el escalamiento y definición del tipo de biorreactor a utilizar y sus condiciones (Tang *et al.*, 2023; Zhou *et al.*, 2023; Zięba *et al.*, 2021; Ruytinx *et al.*, 2020). A continuación, en la figura 1, se puede observar el cronograma del proyecto y la planeación de cada actividad y subactividad:





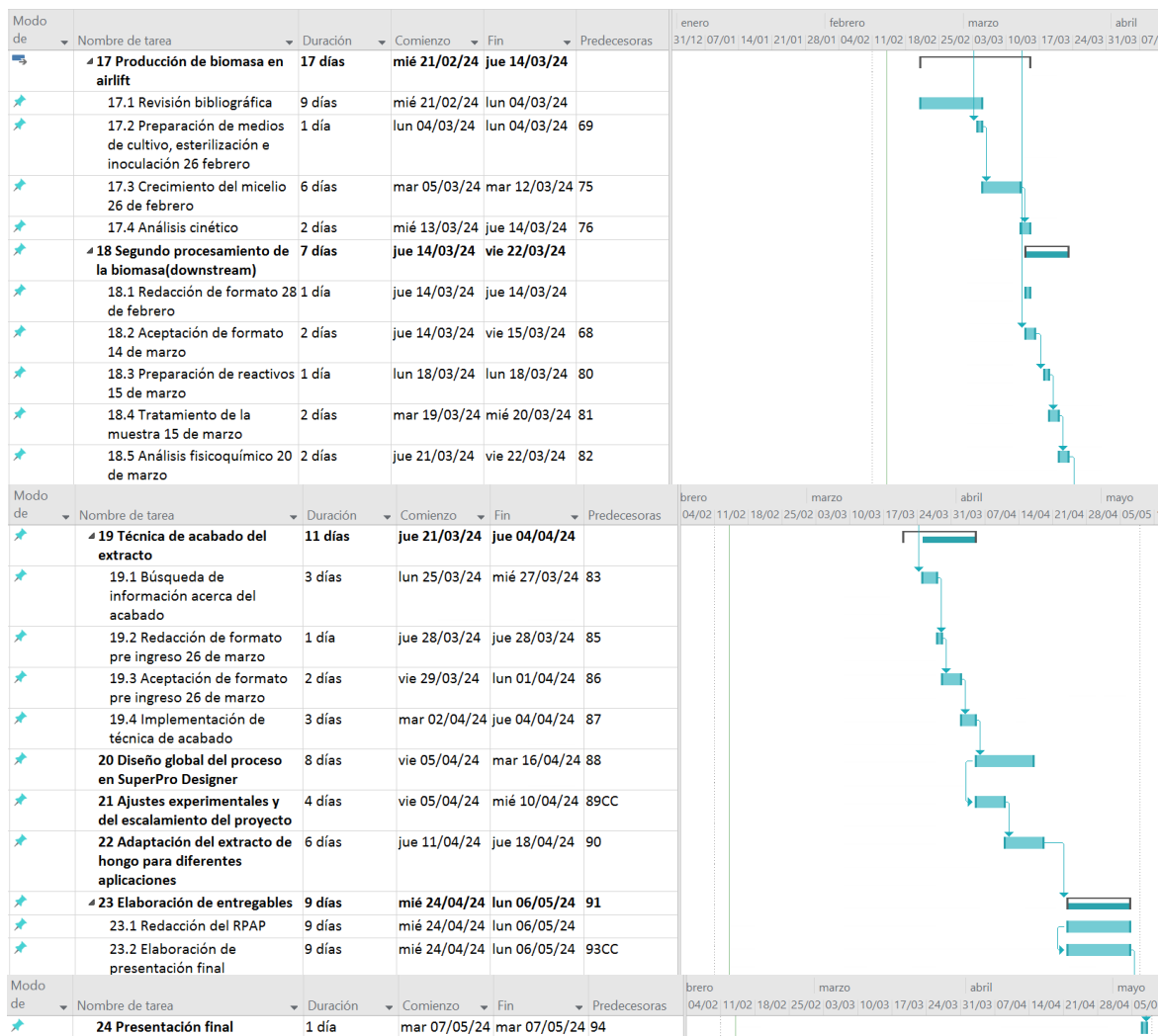


Figura 1. Cronograma y planeación de actividades realizado en Microsoft Project.

El cronograma mostrado en la figura 1 fue realizado en el programa *MS Project* y orientado junto con el Dr. Alejandro Arana Sánchez desde los inicios de la experimentación del presente proyecto de investigación. El incentivo de esta planeación es mantener una bitácora digital con respecto al tiempo invertido y desempeñado en la experimentación y evaluación de la producción de antioxidantes, además de planificar sesiones informativas con grupos de interés, clases teóricas respectivas al programa de proyecto de aplicación profesional y elaboración de entregables. A su vez, se destina como una herramienta profesional que cautiva a la temprana planificación de un proyecto de investigación robusto como lo es el presente caso.

### 1.5. Desarrollo de la propuesta de mejora

Para lograr diseñar el proceso de fermentación sumergida para la producción de biomasa y, posteriormente, un extracto antioxidante de *Lepista sordida*, se implementaron diversas metodologías. En primera instancia, se evaluaron las condiciones de crecimiento de *L. sordida* con distintos medios sólidos definidos (PDA, Agar Sabouraud y “*Yeast Malt Agar*”) y a diferentes temperaturas (22, 25 y 28°C). Después de este experimento, se observó el crecimiento de *L. sordida* en frascos con sustratos sólidos (granos de alpiste, avena, sorgo, maíz palomero, bagazo de malta, trigo y arroz) para determinar la eficiencia de este tipo de fermentación y las contrapartes que podrían surgir durante la fermentación. Posteriormente, se ejecutó un diseño experimental de medios líquidos, evaluando los efectos de diferentes fuentes de carbono (fructosa, jarabe de maíz y miel de abeja) y la presencia de ácido glutámico; esto con el fin de obtener un medio de bajo costo y que genere rendimientos altos de biomasa.

Como parte del escalamiento, se prepararon 2 matraces Erlenmeyer de 100 mL con el medio optimizado para generar el preinóculo para implementar la fermentación líquida en un biorreactor de tipo *airlift* de capacidad de 2 L con una aireación de 1 vvm, temperatura de 22°C, pH de 6.3 y 5 días de biorreacción. Después, se implementó un biorreactor de tipo STR de capacidad de 1 L con temperatura de 25°C, pH de 6.3, 210 rpm y 7 días de biorreacción. Al final del proceso, se secará la biomasa para obtener el extracto del hongo con etanol al 96% v/v y este se caracterizará con las pruebas de capacidad antioxidante de *ABTS*, medición de compuestos fenólicos con ácido gálico, medición de antocianinas por método de pH diferencial y la comparación con respecto de Trolox.

#### *Caracterización microbiológica de L. sordida*

La cepa de *Lepista sordida* proviene del laboratorio “*Three Petals Biotechnology*” ubicado en Malasia cuyo enfoque es la propagación, venta y distribución de hongos medicinales, gourmet o de alta importancia en los alimentos, implementados para realizar biomateriales y con fines de biorremediación. La figura 2 muestra la imagen de la cepa de *L. sordida* enviada por parte del proveedor. Acorde a Thongbai *et al.* (2016), *Lepista sordida* se caracteriza por ser un hongo saprófito que presenta su mayor actividad biológica a un pH de 6.3 y temperatura de 25°C; se reconoce que esta especie crece en bosques mesófilos con altos niveles de humedad y en suelos ricos en materia orgánica para favorecer la fructificación de

este, siendo que se requiere una humedad relativa del 95-97% y una temperatura promedio de 25°C (Thongbai *et al.*, 2016).

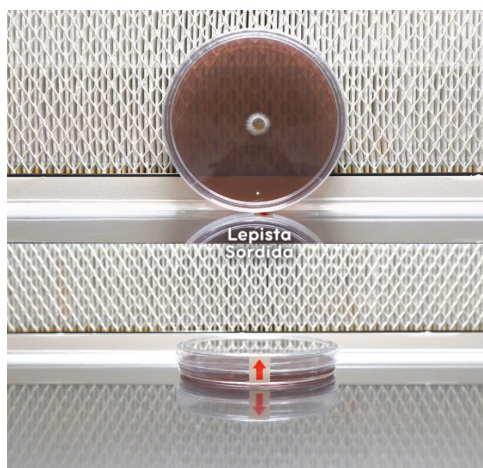


Figura 2. Inoculación y distribución de *Lepista sordida* por parte del laboratorio “*Three Petals Biotechnology*”.

Se desarrolló un diseño experimental con dos factores, siendo el primero de ellos el medio de cultivo, seleccionando tres medios comerciales diferentes (*PDA*, *Agar Sabouraud* y “*Yeast Malt Agar*”) y tres temperaturas diferentes (20, 25 y 28°C), esto con la finalidad de evaluar la tasa de crecimiento radial del micelio como variable de respuesta.

En la tabla 1, se presentan las tasas de crecimiento de *L. sordida* según las condiciones experimentales propuestas por el diseño experimental mencionado anteriormente:

Tabla 1. Diseño de experimentos para la determinación de la tasa de crecimiento según el medio de cultivo y la temperatura.

Medio de cultivo	Temperatura [°C]	Tasa de crecimiento [día <sup>-1</sup> ]
<i>Yeast Malt agar</i>	20	0.16 ± 0.005
<i>Yeast Malt agar</i>	25	0.19 ± 0.005
<i>Yeast Malt agar</i>	28	0.15
<i>Agar Sabouraud</i>	20	0.16 ± 0.018
<i>Agar Sabouraud</i>	25	0.20 ± 0.005
<i>Agar Sabouraud</i>	28	0.18 ± 0.012
<i>Potatoe Dextrose Agar</i>	20	0.14 ± 0.008
<i>Potatoe Dextrose Agar</i>	25	0.16 ± 0.005
<i>Potatoe Dextrose Agar</i>	28	0.14 ± 0.005

Tras haber obtenido los resultados cinéticos de la tasa de crecimiento promedio en función a la temperatura y medio de cultivo seleccionado para el experimento con *L. sordida*, se llevó a cabo el análisis de varianza en Minitab con el propósito de identificar diferencias estadísticamente significativas y evaluar las mejores condiciones propuestas para el crecimiento de este basidiomiceto. Los resultados estadísticos se muestran en las figuras 3 y 4:

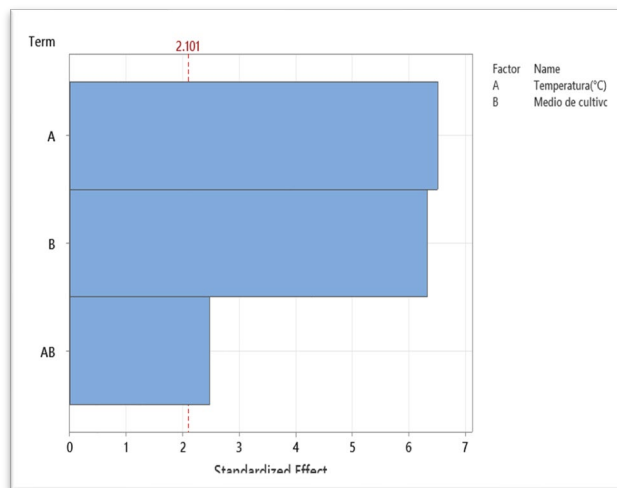


Figura 3. Análisis de varianza para la selección de medio de cultivo y temperatura.

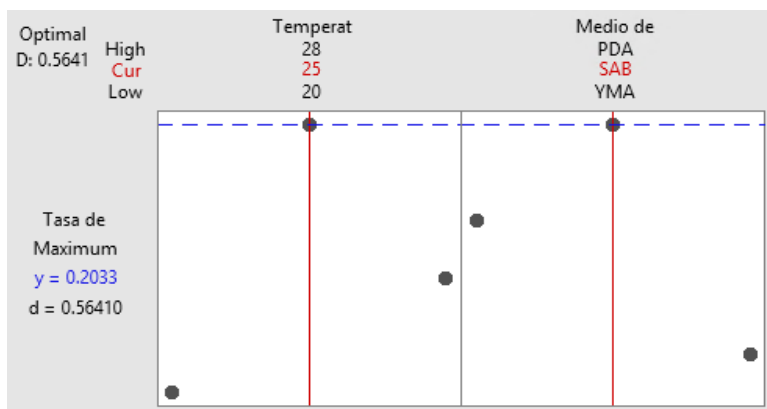


Figura 4. Análisis estadístico de la tasa de crecimiento para la determinación de medio de cultivo y temperatura óptimo.

En función a las figuras 3 y 4 se denota que la temperatura y el medio de cultivo sí tienen un efecto estadísticamente significativo en la tasa de crecimiento del organismo puesto que ambos factores rebasaron el límite permisible de la prueba estadística, además de que la interacción entre ambos también mostró un efecto relevante sobre la actividad biológica de *Lepista sordida*. De igual manera, se buscaron las condiciones idóneas donde la tasa de

crecimiento fue mayor para este experimento, siendo que las condiciones ideales fueron una temperatura de 25°C y como medio de cultivo el Agar Sabouraud, siendo este un medio de cultivo selectivo para el aislamiento de hongos y levaduras (Bioser, 2024).

De manera paralela, se realizó un experimento bajo el modelo de fermentación sólida donde se seleccionaron 6 cereales (maíz palomero, trigo, sorgo, avena, arroz y alpiste) y un residuo agroindustrial (residuo de malta cervecera) para evaluar el crecimiento de biomasa de *Lepista sordida*. Se llevó a cabo la fermentación sólida en los 6 tipos de cereales mencionados puesto que son sustratos ricos en polisacáridos y demás carbohidratos esenciales para el crecimiento del micelio, además que los cereales pueden ser implementados como reservas de nutrientes en cualquier momento del crecimiento del micelio y asemejan las condiciones de crecimiento del micelio en la naturaleza (Ishani *et al.*, 2021). Se seleccionaron específicamente esos 6 granos puesto que son semillas cultivadas en la región occidente de México y su abastecimiento no sería una limitante para el crecimiento del micelio.

Por otra parte, se implementó como residuo agroindustrial al residuo de malta cervecera puesto que es uno de los grandes desperdicios de la industria de bebidas, siendo que en 2018 se obtuvieran cifras de producción de 20 kg de bagazo de malta cervecera húmedo por cada 100 L de cerveza, representando aproximadamente el 85% de los residuos generados por esta industria. La selección de este residuo para el crecimiento de micelio se fundamenta en su composición bioquímica, siendo que contiene proteínas, celulosa, hemicelulosa, lignina y lípidos que son esenciales para el crecimiento y metabolismo fúngico, además de presentar cierta capacidad antioxidante (Barrera-Martínez, 2019).

Cada uno de los sustratos fue suspendido en agua de grifo por al menos 12 horas con la finalidad de incrementar el porcentaje de humedad en cada uno de ellos y asimilar la humedad necesaria para el crecimiento del micelio. Posteriormente, fueron colocados 100 g de cada medio sólido en frascos de cristal por duplicado y esterilizados a 121°C y 15 psi por 60 minutos. Tras 15 días de crecimiento, se evaluó el crecimiento de biomasa obtenido para cada uno de ellos, los resultados de dicha prueba de crecimiento de micelio se muestran a través de la figura 5:



Figura 5. Resultados de crecimiento de *Lepista sordida* sobre medios sólidos y lignocelulósicos tras 15 días.

Dada la información obtenida a partir del experimento de fermentación sólida, se presentan los resultados de la biomasa obtenida, en gramos, a partir de cada tipo de cereal y el bagazo de malta cervecera como residuo agroindustrial mediante la tabla 2:

Tabla 2. Resultados del diseño de experimentos propuesto para la determinación de crecimiento de biomasa de *L. sordida* en diferentes medios sólidos.

Sustrato	Biomasa [g]
Maíz palomero	99.17 ± 1.26
Trigo	100.15 ± 0.94
Sorgo	100.57 ± 0.89
Avena	99.52
Arroz	96.3
Alpiste	96.2 ± 1.54
Bagazo de cebada	96.19 ± 0.97

Posteriormente, se llevó a cabo el análisis de varianza en Minitab con el propósito de identificar diferencias estadísticamente significativas y evaluar las mejores condiciones propuestas para el crecimiento de este basidiomiceto bajo el modelo de fermentación sólida. Los resultados estadísticos se muestran en las figuras 6 y 7:

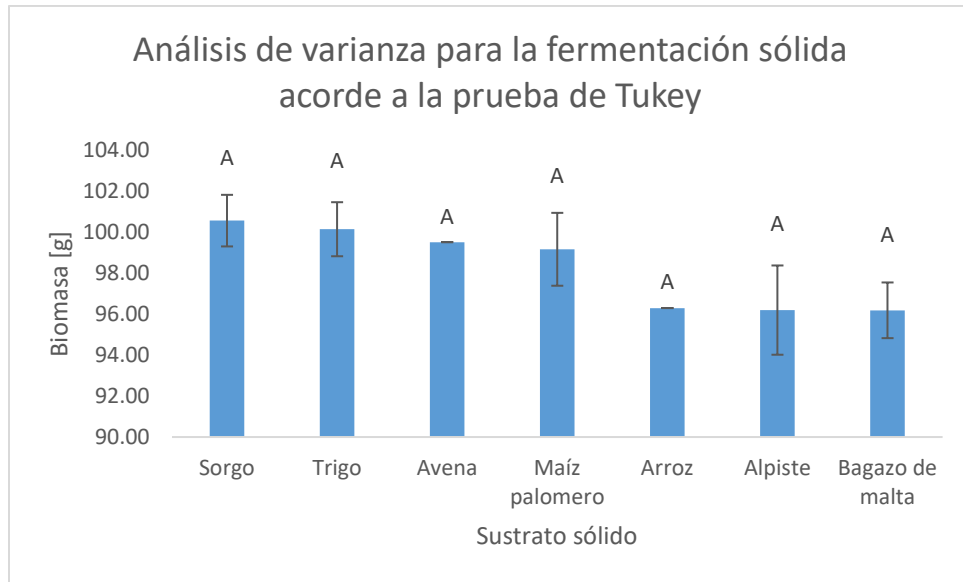


Figura 6. Análisis de varianza para la fermentación sólida acorde a la prueba estadística de Tukey.

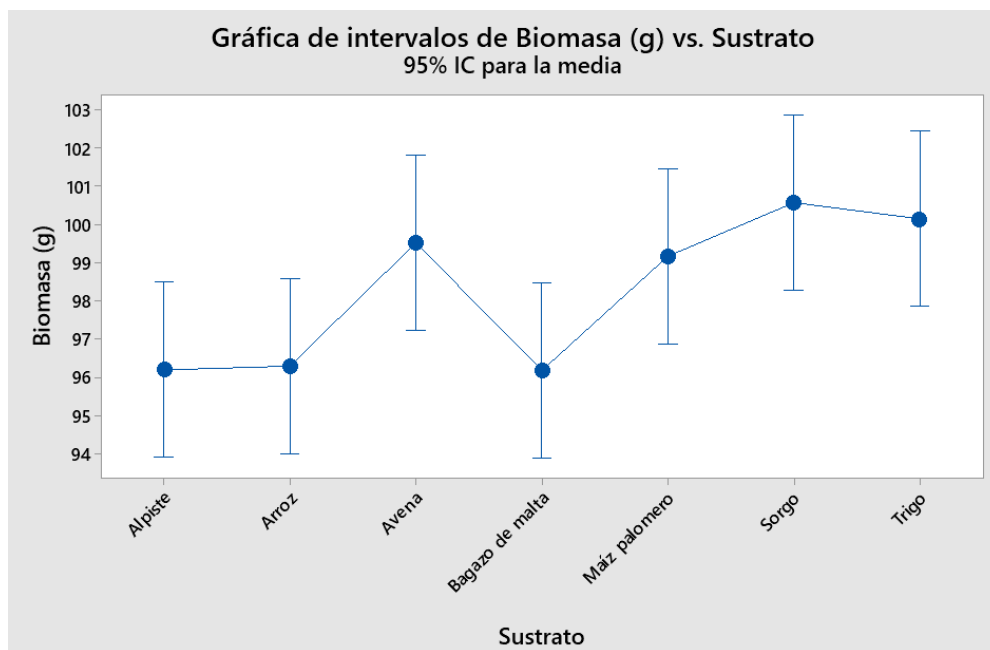


Figura 7. Gráfica de intervalos de biomasa con respecto del sustrato sólido para análisis estadístico de fermentación sólida.

Según los datos obtenidos y mostrados en la tabla 2, figuras 6 y 7, se denota que la biomasa obtenida por cada 100 gramos de sustrato sólido previamente hidratado va desde 96.19 hasta 100.57 g tomando en consideración la masa correspondiente a la humedad y sustrato presente en cada biorreactor. Cabe señalar que no se contó con una instrumentación propiamente destinada para la medición de biomasa seca, siendo que se tomó en cuenta la diferencia de

masa una vez que el proceso de colonización del sustrato finalizó por lo que solamente se precisó la afinidad del organismo ante cada tipo de sustrato. De igual manera, la prueba estadística mostrada en la figura 3 obtuvo un *P-value* de 0.041, afirmando que se rechaza la hipótesis nula y por ende se asegura que todas las medias del experimento son diferentes. Asimismo, se demuestra que no hay diferencias estadísticamente significativas con respecto del crecimiento de *L. sordida* entre cada tipo de sustrato al ser que todos los tratamientos pertenecen al grupo A correspondiente a la prueba de Tukey, señalando que los sustratos con mayor biomasa fueron el sorgo, trigo y avena.

Cabe señalar que el agua obtenida del proceso de maceración de los cereales del experimento anterior fue implementada para realizar una fermentación líquida y obtener un preinóculo de *L. sordida* para posteriores experimentos. Para ello, se tomaron 100 mL de cada concentrado líquido de los cereales por duplicado y se les adicionó peptona de gelatina y dextrosa en concentraciones de  $1 \text{ g L}^{-1}$  para ambos reactivos. Posteriormente fueron esterilizados a  $121^\circ\text{C}$  y 15 psi por 15 minutos, inoculados con 2 discos de agar con biomasa de *L. sordida* e incubados a una temperatura de  $28^\circ\text{C}$  y 180 rpm. La figura 8 representa el preinóculo obtenido de biomasa de *Lepista sordida* a través del medio de cultivo previamente formulado para su posterior uso en fermentaciones líquidas más robustas y específicas:

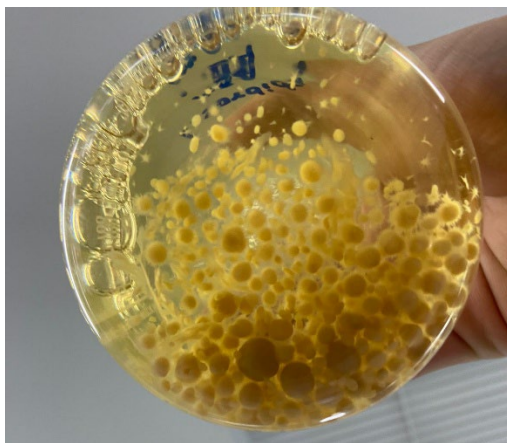


Figura 8. Preinóculo de *Lepista sordida*.

Tras haber obtenido suficiente inóculo de *Lepista sordida* en medios de cultivo líquidos a base de macerados de cereales, como se muestra en la figura 8, se decidió por delimitar una formulación de medio de cultivo en base a jarabes o materias primas de la industria

alimenticia como fuentes de carbono puesto que son materias primas de mediano costo y que presentan una atractiva concentración de azúcares reductores y disacáridos esenciales para el crecimiento de biomasa fúngica. Con ayuda de la tabla 3, se presenta la formulación de dicho medio de cultivo:

Tabla 3. Formulación de medio de cultivo a base materias primas de alimentos como fuentes de carbono.

Sustancia química	Concentración [g L <sup>-1</sup> ]
Miel de abeja / jarabe de maíz / fructosa	20
Fosfato de amonio	2.4
Ácido glutámico	1

Se optó por implementar miel de abeja o jarabe de maíz como fuentes de carbono presentes en un medio de cultivo líquido puesto que son compuestos de origen natural con altas concentraciones de azúcares, ejemplificando a la miel de abeja que cuenta con aproximadamente 70% de azúcares reductores y no reductores. Otra ventaja del uso de estas sustancias como elementos nutritivos de un medio de cultivo es que cuentan con sales y minerales que brindan una mayor nutrición a los organismos consumidores, además de contar con vitaminas y micronutrientes esencialmente necesarios para el metabolismo fúngico. Además de ello, la miel de abeja cuenta con propiedades antimicrobianas que mantienen la asepsia de los medios de cultivo en casos de presentarse contaminación cruzada, sin embargo, no se garantiza su uso como total agente desinfectante o preventivo de actividad microbiana (Sollid, 2020; Stanley *et al.*, 2013).

Por otra parte, se seleccionó como fuente de nitrógeno al fosfato de amonio puesto que es uno de los elementos con mayor asimilación de nitrógeno por parte del micelio. Su principal función es el abastecimiento de nitrógeno para la formación de péptidos como lo son enzimas o proteínas de membrana cuyo enfoque será mantener la estabilidad celular, crecimiento del micelio y producción de proteínas intermediarias en el metabolismo. Se ha demostrado que el cultivo de *Ganoderma lucidum* en biorreactores tipo *airlift* con fosfato de amonio como fuente de nitrógeno en concentraciones menores a 3 g L<sup>-1</sup> ha incrementado considerablemente la producción de exopolisacáridos y biomasa. No obstante, se señala que en concentraciones

mayores a la indicada los iones amonio son responsables de inhibir la actividad biológica, afectando directamente en la morfología y densidad del micelio además de la producción de exopolisacáridos. Finalmente, el fosfato de amonio adiciona grupos fosfato al metabolismo fúngico que pueden ser implementados en la síntesis de diferentes moléculas intermediarias del metabolismo (Lee *et al.*, 1999).

El ácido glutámico presenta la particularidad de ser uno de los intermediarios metabólicos del ciclo del ácido cítrico, por lo que su suplementación en un medio de cultivo favorecería una mayor dirección de flujo de materia para la formación de precursores e intermediarios que pueden ser direccionados hacia la formación de biomasa, lo que propiciaría tener mayores rendimientos de producción de biomasa en el sistema fermentativo y que además se esperaría una mayor presencia de compuestos antioxidantes de interés biotecnológico. La asimilación del ácido glutámico u otros aminoácidos esenciales por parte del micelio mejora considerablemente la producción de biomasa fúngica puesto que este compuesto eficientiza la actividad metabólica del organismo al beneficiar la permeabilidad de la membrana celular, lo que permite una mayor difusión de nutrientes para su aprovechamiento y transformación en metabolitos de interés; tal es el caso de la mejora en la producción de pigmentos, ácidos aminobutíricos y monacolinas por parte de *Monascus purpureus* al suplementar ácido glutámico al medio de cultivo en una concentración de 10 mM (Zhang *et al.*, 2019).

Como continuación de la experimentación, se ejecutó la fermentación líquida utilizando matraces Erlenmeyer de 250 mL, implementando como volumen de biorreacción 100 mL de medio de cultivo para cada fuente de carbono mencionada con duplicados para cada tratamiento y 5 mL como volumen de inóculo de *L. sordida*. Además, se consideró la adición de ácido glutámico a  $1 \text{ g L}^{-1}$  para evaluar su efecto en el crecimiento del micelio, comparando medios de cultivo con y sin este compuesto de carácter vitamínico. Los medios de cultivo fueron esterilizados a  $121^\circ\text{C}$  y 15 psi por 15 minutos e incubados a  $28^\circ\text{C}$  y 180 rpm por 7 días, siendo estos visualizados a través de la figura 9. Por otra parte, los resultados de concentración de biomasa obtenidos se presentan en la tabla 4:



Figura 9. Experimentación de fermentación líquida de *Lepista sordida* bajo medios de cultivo definidos.

Tabla 4. Resultados de diseño de experimentos para fermentación líquida con variación de fuentes de carbono y presencia de ácido glutámico

Medio de cultivo	Biomasa [g*L <sup>-1</sup> ]
Miel de abeja	1.15 ± 0.35
Miel de abeja + ácido glutámico	2.65 ± 0.35
Jarabe de maíz	1.45 ± 0.07
Jarabe de maíz + ácido glutámico	2.30 ± 0.42
Fructosa	2.15 ± 0.49
Fructosa + ácido glutámico	2.60 ± 0.42

Posteriormente, se llevó a cabo el análisis de varianza en Minitab con el propósito de identificar diferencias estadísticamente significativas y evaluar las mejores condiciones propuestas para el crecimiento de este basidiomiceto bajo el modelo de fermentación líquida, también tomando en cuenta el efecto del ácido glutámico sobre la concentración de biomasa fúngica. Los resultados estadísticos se muestran en las figuras 10 y 11:

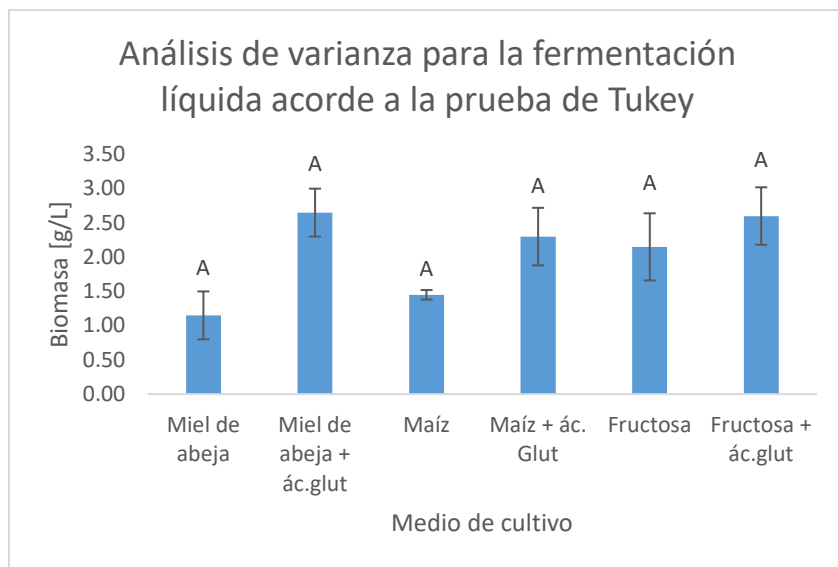


Figura 10. Análisis de varianza para la fermentación líquida acorde a la prueba estadística de Tukey.

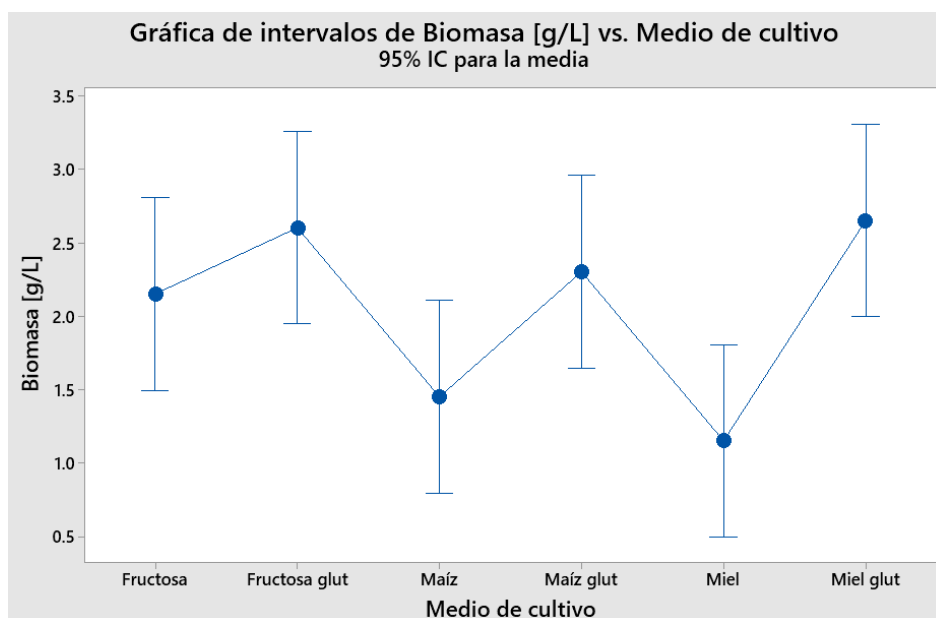


Figura 11. Gráfica de intervalos de concentración de biomasa con respecto del medio de cultivo.

Cabe señalar que en el análisis de varianza obtenido a partir de los datos presentados de la tabla 4 y evaluados a través de las figuras 10 y 11, se obtuvo un *P-value* de 0.033, denotando que se rechaza la hipótesis nula y por ende se afirma que todas las medias de los 6 tratamientos son diferentes. De igual manera, a través de la prueba de Tukey expuesta en la figura 10, se interpretó que todos los tratamientos son pertenecientes al mismo grupo estadístico, sin embargo, las mayores concentraciones de biomasa fueron obtenidas a partir

de los tratamientos que incluían fructosa-ácido glutámico y miel de abeja-ácido glutámico como fuentes de carbono, resultando en 2.60 y 2.65 g L<sup>-1</sup> de biomasa respectivamente.

No obstante, se tomó la decisión en que el medio de cultivo fuera químicamente definido puesto que la estandarización de azúcares del medio de cultivo con miel variaba según fuera el lote de producción de miel y por ende se podría complicar la estandarización del proceso de fermentación. Además de ello, se desconocía el valor experimental de azúcares presentes en la muestra de miel, siendo que se tomó en consideración el valor reportado por Sollid (2020). Es por ello que se adecuó el uso de monosacáridos como la fructosa y disacáridos como la sacarosa, ambos de grado alimenticio, para la nueva formulación de un medio de cultivo.

Cabe señalar que se intercaló a la fructosa por sacarosa puesto que Zhu *et al.* (2016) encontraron mayores rendimientos y productividades de polisacáridos con capacidad antioxidante producidos por *Cordyceps gunnii* al implementar sacarosa como principal fuente de carbono. Además, el uso de sacarosa obliga al micelio a la expresión de enzimas hidrolíticas que sean capaces de romper el enlace glucosídico presente en dicho disacárido y aprovechar las unidades monoméricas como fuentes de carbono. De igual manera, se fundamentó el uso de sacarosa puesto que Meng *et al.* (2010) registraron la mayor velocidad de crecimiento, mejor desarrollo y morfología densa y lanuda del micelio de *L. sordida* al optar por esta fuente de carbono, obteniendo los mismos resultados que al implementar almidón de maíz. Por otra parte, se decidió suplementar cloruro de calcio y sulfato de magnesio puesto que el calcio y magnesio en forma de iones funcionan como cofactores que activan y estimulan la actividad enzimática del micelio, además de ser micronutrientes indispensables para el crecimiento de hongos (Holt *et al.*, 2024).

Mediante la tabla 5, se ilustran las concentraciones de cada elemento presente en el medio de cultivo químicamente definido:

Tabla 5. Elementos del medio de cultivo químicamente definido

Componentes de medio de cultivo	Concentración [g*L <sup>-1</sup> ]
Sacarosa	15.2
Fosfato de amonio	2.4

Ácido glutámico	1
Cloruro de calcio	0.1
Sulfato de magnesio	0.5

Se resalta que el medio de cultivo propuesto en la tabla 5 tiene un costo de materias primas de \$15.70 aproximadamente para 1 L de medio, tomando en consideración costos de reactivos de grado alimenticio. Ante esta propuesta de medio de cultivo se satisface la necesidad de buscar un medio de cultivo barato y rentable para facilitar el escalamiento del proceso fermentativo en cuestión de búsqueda de medios de cultivo a nivel industrial.

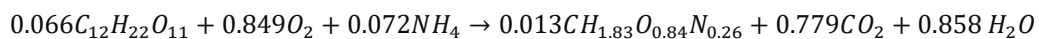
El preinóculo fue desarrollado en 2 matraces Erlenmeyer de 250 mL con 100 mL de volumen de trabajo cada uno correspondientes al medio de cultivo descrito en la tabla 5 y expuestos a una velocidad de agitación de 180 rpm y 28°C por 7 días. Tras haber identificado el óptimo crecimiento del preinóculo de *L. sordida*, se realizó un escalamiento a nivel biorreactor tipo “airlift” con la finalidad de obtener una mayor obtención de biomasa y los procesos posteriores de caracterización fisicoquímica del extracto y su acabado final, lo cual se puede apreciar en la figura 12. Esto se debe gracias a que la agitación, al ser neumática e impulsada por el suministro de un gas de alimentación, permite que el esfuerzo cortante aplicado sobre las células del micelio sea menor y por ende el estrés hidrodinámico sea menor, manteniendo la integridad y viabilidad celular (Bakratsas *et al.*, 2021).

Un día previo a la finalización del crecimiento del preinóculo, se realizó la instrumentación, lavado, secado y regulación del pH con reactivos implementados en la industria de alimentos tales como ácido cítrico y bicarbonato de sodio según sea el caso para poder verter el medio de cultivo y esterilizarlo a 121°C y 15 psi por 20 minutos (Xu *et al.*, 2023). Se resume que las condiciones de cultivo fueron una temperatura promedio de 22°C, 5 días de biorreacción y 1 vvm de aireación. La figura 12 muestra la instrumentación y operación en tiempo real del biorreactor tipo *airlift* para evaluar el crecimiento de micelio de *L. sordida* bajo este sistema biotecnológico:

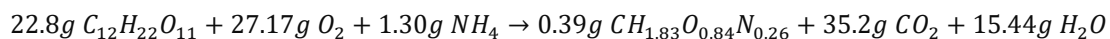


Figura 12. Experimento de escalamiento en biorreactor tipo *airlift* de 2 L.

A continuación, se presenta el balance metabólico de materia para la biorreacción de producción de biomasa:



Ecuación 1. Balance metabólico de materia en coeficientes molares para la biorreacción de producción de biomasa en biorreactor tipo *airlift* (Pineda-Insuasti *et al.*, 2014).



Ecuación 2. Balance metabólico de materia en coeficientes másicos para la biorreacción de producción de biomasa en biorreactor tipo *airlift* (Pineda-Insuasti *et al.*, 2014).

A partir del balance metabólico en coeficientes másicos planteado en la ecuación 2, se ha determinado un rendimiento de 0.017 g biomasa por cada g de sacarosa, deduciendo que el flujo metabólico se direccionó principalmente hacia la formación de subproductos como lo fueron primordialmente dióxido de carbono y agua. Puesto que el rendimiento biomasa-sustrato fue tan bajo, se tomó la decisión de no continuar implementando el biorreactor tipo *airlift* ante las condiciones de cultivo mencionadas con anterioridad.

Al mismo tiempo, se procesó biomasa de *L. sordida* proveniente de fermentación sólida con la finalidad de establecer un protocolo de extracción de compuestos antioxidantes implementando como solvente etanol 96% v/v. Para ello, se recolectó el micelio fuera de los biorreactores de fermentación sólida, se secó en una estufa de secado a 30°C por 4 horas y

fue triturado con ayuda de un mortero con la finalidad de minimizar el tamaño de partícula. Posteriormente, se colocó 1 g de biomasa seca y pulverizada en tubos cónicos limpios de 15 mL por triplicado y se evaluó el volumen de etanol 96% v/v implementado, tomando como niveles la relación 1:10 y 1:20 de biomasa-etanol. La extracción tuvo una duración de 24 horas a 180 rpm y 28°C (Dwi-Nurhayat *et al.*, 2023).

Mediante el uso de la tabla 6 se presentan los resultados de concentración de antocianinas en forma de cianidina-3-glucósido con respecto a la relación gramos de biomasa - volumen de etanol 96% v/v implementado para cada tratamiento:

Tabla 6. Resultados de extracción de antioxidantes (antocianinas) con respecto de la relación biomasa-etanol 96%.

Relación biomasa-etanol	Antocianinas [g*L <sup>-1</sup> ]
1:10	2.282 ± 0.753
1:20	2.115 ± 0.695

Dados los resultados de antocianinas reflejados en la tabla 6, se llevó a cabo el análisis de varianza en Minitab con el propósito de identificar diferencias estadísticamente significativas y evaluar las mejores condiciones de extracción a partir de la biomasa fúngica obtenida a través del modelo de fermentación sólida. Los resultados estadísticos se muestran en las figuras 13 y 14:

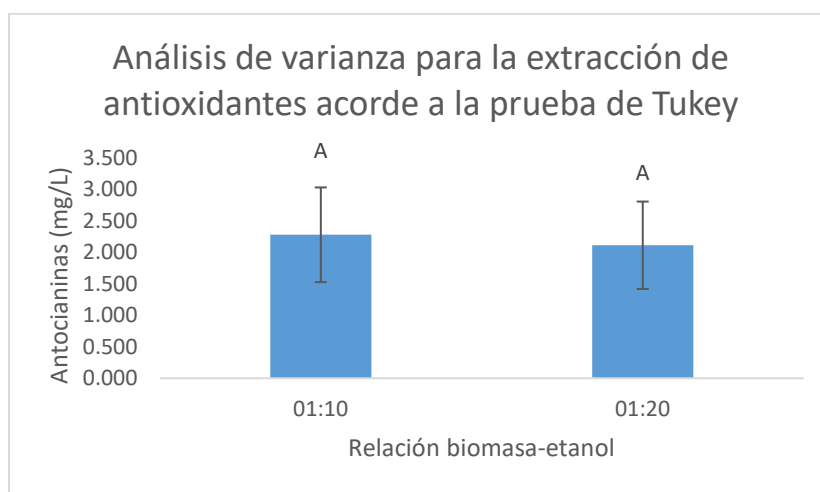


Figura 13. Análisis de varianza para la extracción de antioxidantes acorde a la prueba de Tukey.

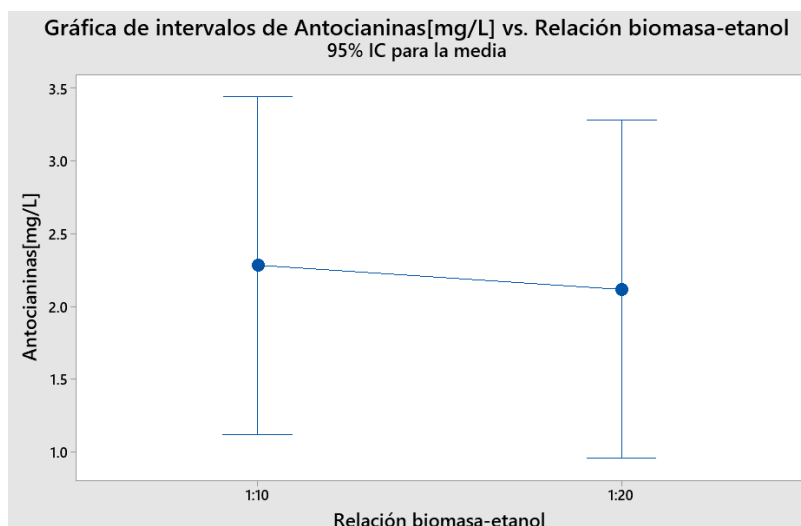


Figura 14. Gráfica de intervalos de antocianinas vs relación biomasa-etanol.

A partir de los 0.39 g de biomasa de *Lepista sordida* obtenidos del biorreactor *airlift*, se generaron 3.9 mL de extracto con etanol al 96% siguiendo la metodología previamente descrita y fundamentada a través del análisis estadístico de las figuras 13 y 14.

El extracto antioxidante fue caracterizado con la prueba de capacidad antioxidante por *ABTS*, comparación con respecto de Trolox, cuantificación de antocianinas mediante método de pH diferencial y cuantificación de compuestos fenólicos con el método de ácido gálico. Lo anterior se puede apreciar en la tabla 7.

Tabla 7. Caracterización del extracto de la biomasa crecida en biorreactor de tipo “*airlift*”.

Antocianinas (mg L <sup>-1</sup> )	Capacidad antioxidante (% de inhibición)	Trolox (μmol L <sup>-1</sup> )	Compuestos fenólicos (mg GAE/g muestra)
4.23	44.15	585.96	3.896

La siguiente ecuación química en coeficientes másicos describe el balance de materia del proceso de extracción:

$$0.39 \text{ g Biomasa} \rightarrow 0.000017\text{g antoc.} + 0.00118\text{g antiox.} + 0.0156\text{g comp. fenólicos} + 0.373 \text{ g Debris}$$

Ecuación 3. Balance de materia en coeficientes másicos para el proceso de extracción de compuestos bioactivos a partir de biomasa de *L. sordida*.

En consecuencia de las cuatro mediciones representadas en la tabla 7, se obtuvo menos de 1 mL restante de extracto antioxidante para la realización de otros subproductos o su aprovechamiento. Es por ello por lo que se decidió someter al proceso de extracción la biomasa presente en 4 matraces con cultivo de *Lepista sordida*, siendo que se obtuvo 5 g de biomasa seca y ya preparada para someter al proceso de extracción. Nuevamente, esta fue suspendida en 50 mL de etanol 96% v/v y macerada por 24 horas tomando en consideración una agitación de 180 rpm y 28°C. A continuación, se presentan los resultados pertinentes de compuestos y actividad antioxidante obtenidos a partir de dicho nuevo extracto en la tabla 8:

Tabla 8. Caracterización del extracto de *Lepista sordida*.

Antocianinas (mg L <sup>-1</sup> )	Capacidad antioxidante (% de inhibición)	Trolox (μmol L <sup>-1</sup> )	Compuestos fenólicos (mg GAE/g muestra)
7.014	72.72 ± 3.07	1957.42 ± 84.37	0.141

Como parte de la evaluación del escalamiento del proceso, también se evaluó el crecimiento de *L. sordida* en un biorreactor de tipo STR de capacidad de 1L, el cual estuvo operando por 7 días a 25°C, 210 rpm y pH de 6.3. Se resalta que el agitador fue de tipo Rushton. A continuación, se muestran los resultados obtenidos a partir de la fermentación líquida de este hongo en dicho biorreactor:

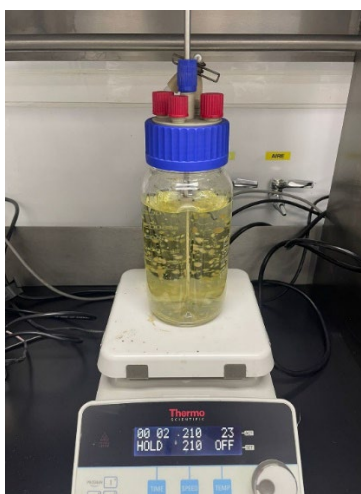
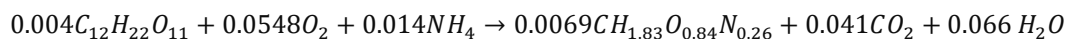
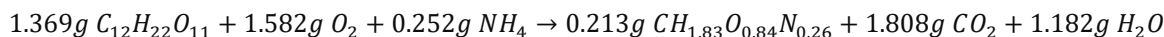


Figura 15. Fermentación líquida de *Lepista sordida* en biorreactor STR con turbina tipo Rushton.

Dados los resultados obtenidos a partir de la fermentación líquida de *Lepista sordida* en biorreactor STR con turbina tipo Rushton, se plantearon los siguientes balances metabólicos para la obtención de biomasa:



Ecuación 3. Balance metabólico de materia en coeficientes molares para la biorreacción de producción de biomasa en biorreactor STR con turbina tipo Rushton (Pineda-Insuasti *et al.*, 2014).



Ecuación 4. Balance metabólico de materia en coeficientes másicos para la biorreacción de producción de biomasa en biorreactor STR con turbina tipo Rushton (Pineda-Insuasti *et al.*, 2014).

Tomando en consideración el balance metabólico planteado en la ecuación 4 bajo coeficientes másicos, se tiene en cuenta que la producción de biomasa fúngica fue mejor en el biorreactor STR con turbina tipo Rushton que en el biorreactor tipo *airlift*, exaltando que además se tuvo un mejor cuidado en cuestión de la inocuidad y prevención de contaminación cruzada del experimento. Bajo este esquema, se planteó un rendimiento biomasa-sustrato ( $Y_{x/s}$ ) de 0.0467 g de biomasa por cada gramo de sacarosa, así como una conversión de la principal fuente de carbono ( $C_{sac}$ ) del 29.82% y una selectividad para la principal fuente de carbono ( $S_{sac}$ ) del 15.7%.

Tras haber establecido todos los parámetros adecuados para cada una de las operaciones unitarias implícitas en el desarrollo del bioproceso de producción de antioxidantes mediante *L. sordida* se prosiguió a insertar y simular el flujo de proceso mediante SuperPro Designer, siendo esta una herramienta digital cuyo enfoque es el análisis de procesos químicos y biológicos donde se permite ingresar las operaciones unitarias destinadas, tiempo de operación individual, ajuste de flujos de materia y energía y finalmente un análisis financiero para verificar la factibilidad, viabilidad y economía propuesta por el modelo industrial. En las figuras 16 y 17 se dan a conocer las operaciones unitarias implementadas para la obtención y manufactura de 1000 unidades de 25 mL de cada una de extracto antioxidante de *L. sordida*:

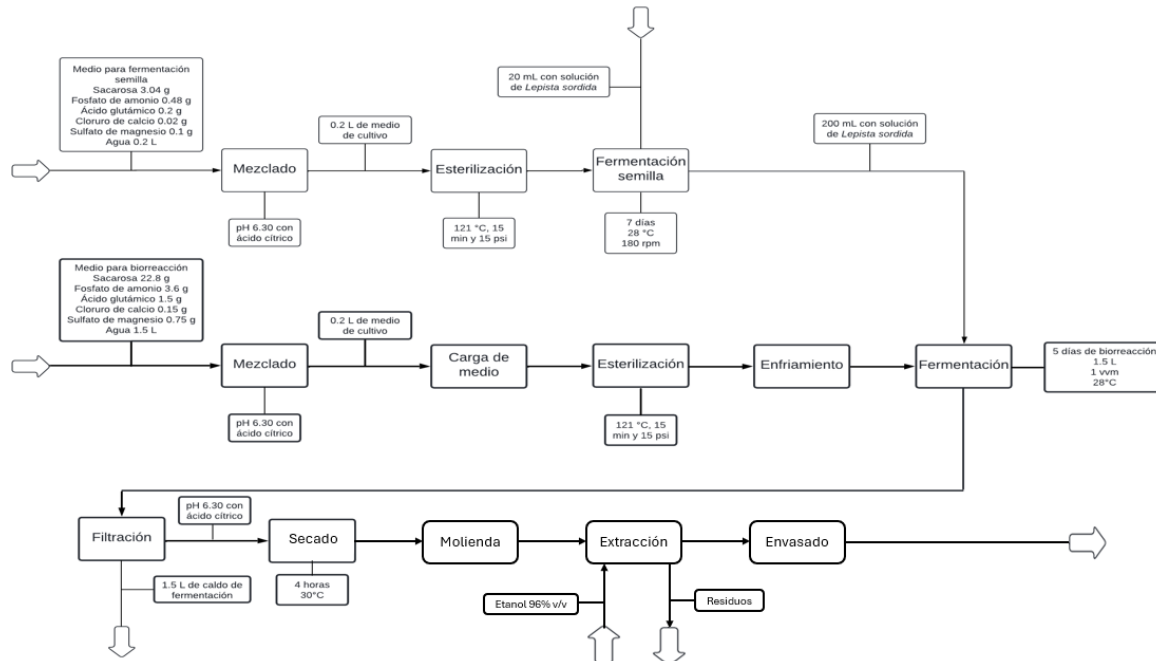


Figura 16. Diagrama de proceso acorde a ISO 10628 acerca del modelado para la producción de extracto antioxidante de *Lepista sordida*.

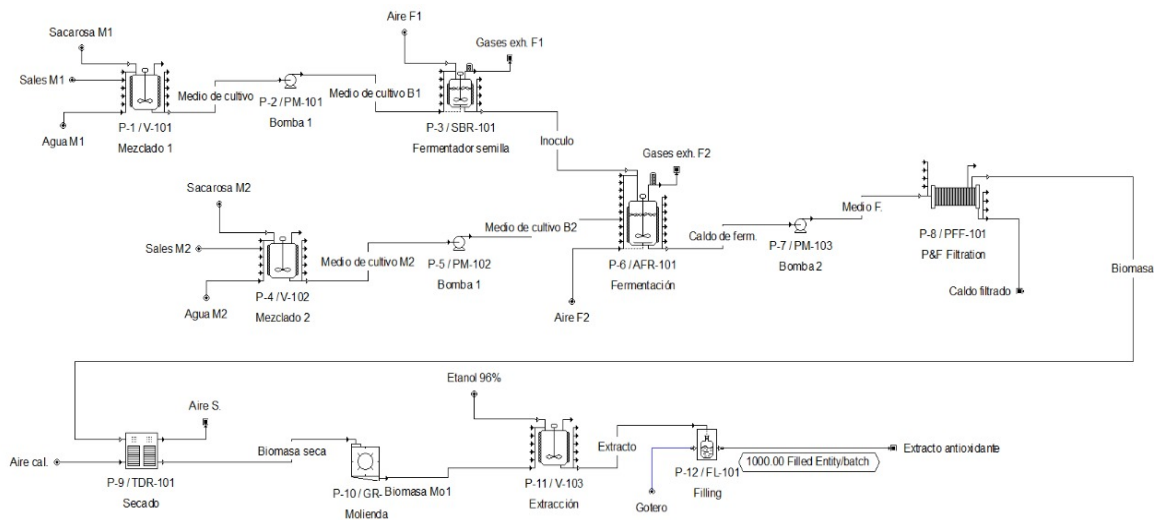


Figura 17. Simulación en SuperPro Designer para el modelado de producción de extracto antioxidante de *Lepista sordida*.

Acorde a la figura 16, se muestra el diagrama de bloques realizado en función a la normatividad de la ISO 10628, siendo que se señala el flujo de materia y energía destinado para la fermentación semilla con una menor intensidad de color de flujo, haciendo referencia mediante esta metodología en que el flujo principal de materia se destina hacia la

fermentación principal y posterior a las operaciones unitarias involucradas en la recuperación y pretratamiento de la biomasa, extracción de antioxidantes y metabolitos de interés y finalmente en el envasado de este extracto en goteros color ámbar con una capacidad de 25 mL.

Tal como se aprecia en la figura 17, se distingue a las operaciones unitarias correspondientes a los procesos de formulación y mezclado de medio de cultivo, pertenecientes a la sección de *upstream*. Posteriormente, se presenta a las operaciones unitarias de fermentación pertinentes al grupo *midstream*, focalizadas primordialmente al crecimiento de biomasa según sean las condiciones requeridas del cultivo previamente mencionadas. Finalmente, se hace hincapié en las operaciones unitarias *downstream* cuyo propósito es recuperar y pretratar la biomasa de *Lepista sordida* para obtener el extracto antioxidante.

El costo unitario de producción por unidad de extracto antioxidante de *Lepista sordida* de 25 mL es de 21.33 USD. Por otra parte, el costo de venta unitario por unidad de extracto antioxidante es de 30 USD, siendo este delimitado a partir de las características y propiedades antioxidantes obtenidas en el producto, así como una estimación en función a los precios ya establecidos en el mercado de extractos antioxidantes.

Cabe señalar que el proceso de manera general tarda 342 horas, siendo este equivalente a 14.3 días de proceso por cada *batch*. Según la información proporcionada por el software, la planta industrial y biotecnológica operará por 7771.1 horas, teniendo en cuenta 7920 horas de operación por año. Las horas de trabajo y operación del modelo biotecnológico dan como resultado 44 lotes por año de trabajo. De igual manera, se obtuvo que se requiere una inversión inicial de 506,007 USD y un costo anual de operación de 938,505 USD por año. No obstante, se garantiza una ganancia anual de 1'320,000 USD, retorno de inversión (*ROI*) de 52.86%, tasa interna de retorno (*TIR*) de 24.95%, tiempo de recuperación (*PBT*) de 1.89 años y un valor presente neto (*VPN al 7%*) de 1'420,192 USD.

Tomando en consideración la inversión inicial de 506,007 USD requerida para la adquisición de materiales y equipos industriales implícitos con las operaciones unitarias, se tiene el siguiente desglose acorde a los precios cotizados para cada una de las operaciones unitarias:

Tabla 9. Desglose económico de costos de compra de equipos industriales.

Cantidad	Nombre	Descripción	Costo unitario (USD)	Costo (USD)
1	V-101	Tanque de mezclado	2000	2000
1	PM-101	Bomba centrífuga	2000	2000
1	SBR-101	Fermentador semilla	2000	2000
1	V-102	Tanque de mezclado	6000	6000
1	PM-102	Bomba centrífuga	4000	4000
1	AFR-101	Biorreactor tipo STR	6000	6000
1	PM-103	Bomba centrífuga	4000	4000
1	TDR-101	Secador de charola	4000	4000
1	GR-101	Molino	5000	5000
1	V-103	Tanque de mezclado	1000	1000
1	FL-101	Embotelladora	8000	8000
1	PFF-101	Filtro de placas y marcos	11000	11000
			Total	66000

En función a los datos proporcionados por SuperPro Designer y mostrados en la tabla 9, se tiene en consideración que la inversión requerida con respecto a la compra de equipos industriales representa el 13.04% del total de inversión inicial, siendo que las operaciones unitarias con un mayor costo son la embotelladora y el filtro de placas y marcos, siendo ambas pertenecientes a la sección *downstream*.

Cabe señalar que entre los principales costos implícitos en la instalación y desarrollo de la planta piloto se destacan los costos directos e indirectos de construcción y pago de contratistas y contingencia prevista en el desarrollo de esta, siendo que los tres forman parte del capital fijo directo propuesto por SuperPro Designer. Mediante la tabla 10 se dan a conocer todos los costos relacionados con el capital fijo directo para la construcción y operación de la planta industrial:

Tabla 10. Capital fijo directo para la construcción y operación de la planta industrial.

Costos directos de construcción de la planta	
Compra de equipos industriales	66,000
Instalación	30,000
Tuberías y bombeo	23,000
Instrumentación	26,000
Aislamiento térmico	2,000
Costos eléctricos	7,000
Costo de construcción	30,000
Mejoramiento del terreno	10,000
Instalaciones externas	26,000
Total	221,000

Costos indirectos de construcción de la planta	
Ingeniería	55,000
Construcción	77,000
Total	132,000

Pago de contratistas y contingencia	
Pago de contratistas	18,000
Contingencia	35,000
Total	53,000

Como se mencionó anteriormente, el objetivo de la tabla 10 es dar a conocer el capital fijo directo de la planta industrial de producción de extracto antioxidante de *Lepista sordida*. Dentro de este desglose económico se destaca un total de 406,000 USD donde los costos directos de construcción de la planta absorben el 43.68% del total de este costo, mientras que los costos indirectos representan el 26.09% del total de capital fijo. Cabe señalar que se tomaron en consideración costos directamente capturados por el programa de SuperPro Designer, por lo que estos podrían variar según sea la localización de la planta, impuestos, oferta y demanda de los equipos u otras operaciones unitarias implícitas en la construcción de la planta.

De igual manera, la planta es estrictamente operada por operadores de planta u operadores de reactores y biorreactores quienes son especialistas en cada una de las operaciones unitarias implícitas en el modelaje e industrialización del extracto antioxidante de *Lepista sordida*. Mediante la tabla 11 se dan a conocer el tiempo de trabajo anual, así como el costo anual acorde a cada tipo de operador o colaborador tomado en consideración en el presente modelado industrial:

Tabla 11. Costos de operación y mano de obra

Tipo de operador	Costo unitario (USD por hora)	Horas de trabajo anuales	Costo anual (USD)	%
Operador de planta	69	9,587	661,537	87.05
Operador de reactor	3.99	24,652	98,390	12.95

En función a los resultados propuestos por SuperPro Designer plasmados en la tabla 11, se señala que el 87.05% de los costos destinados a la mano de obra son operadores de planta, quienes son responsables del mantenimiento, vigilancia, control y parametrización de todas las operaciones unitarias que no involucren reacciones químicas o metabólicas. Por otra parte, se destaca un 12.95% de costos de operación con respecto a los operadores de reactor, quienes desempeñan únicamente en la operación de fermentación semilla y la fermentación principal.

Otro de los aspectos económicos por reconocer y evaluar en el balance económico global de la presente simulación es el costo de materias primas, destacando a los reactivos implícitos en el desarrollo y formulación del medio de cultivo para las correspondientes fermentaciones, así como el solvente por implementar para la extracción, siendo este etanol 96% v/v. A través de la tabla 12 se dan a conocer el costo de cada uno de los materiales y reactivos según sea su clasificación como materiales por granel o materiales por unidad:

Tabla 12. Costos y consumo de materiales y reactivos a granel

Material a granel	Costo unitario (USD)	Monto anual	Unidades de referencia	Costo anual (USD)	%
Aire	0	1'530,046	kg	0	0
Etanol 96%	2.94	267	L	784	0.87
Sales para medio de cultivo	15.93	466	kg	7,428	8.24
Sacarosa	1.1	1,772	kg	1,949	2.16
Agua	0.5	115,510	kg	57,975	64.32

Tabla 13. Costos y consumo de materiales discretos

Material a granel	Costo unitario (USD por unidad)	Monto anual	Costo anual (USD)	%
Gotero	0.5	44,000	22,000	24.41

Cabe destacar que el costo de los materiales y reactivos fue tomado en consideración como precios mayoristas destinados para la industria de alimentos, por lo que al solicitar las grandes cantidades de materia señaladas en la tabla 12 se puede acceder a materiales y reactivos más económicos y de menor pureza que como lo podrían ser reactivos de grado laboratorio o analítico. Dentro de dicha tabla el componente con un mayor porcentaje de participación es el agua, siendo esta implementada primordialmente en la elaboración de medios de cultivo, así como agente de transferencia de calor en distintas operaciones unitarias. Con respecto a la tabla 13, se toma en cuenta al gotero o recipiente que contiene al extracto antioxidante como material discreto puesto que este debe ser adquirido de manera individual y cuenta como si fuese un único reactivo. Se reitera que este elemento debe poseer un volumen de 25 mL y debe ser de color ámbar o cualquier otro material cristalino que minimice la incidencia de luz sobre el extracto antioxidante, esto con el objetivo de minimizar la degradación de los antioxidantes ante su exposición a la luz.

No obstante, otro de los principales costos implícitos en el trabajo y operación de la presente planta industrial es el abastecimiento de energía y agentes de transferencia de calor para regular los procesos térmicos requeridos en cada una de las operaciones unitarias, tales como la remoción de calor metabólico y energía de agitación implícitas durante las fermentaciones. A continuación, se darán a conocer los costos con respecto al consumo de energía y agentes de transferencia de calor.

Tabla 14. Costo y consumo de energía.

Utilidad	Costo unitario (USD)	Monto anual	Unidades de referencia	Costo anual (USD)	%
Energía de potencia	0.10	78,587	kWh	7,859	64.74
Vapor	12	5	MT	58	0.49
Agua	0.4	10,552	MT	4,221	35.50

En relación con la tabla 14, se denota que el principal costo referente al consumo de energía va directamente a la energía de potencia, siendo está directamente relacionada con la agitación de los tanques de mezclado, fermentador semilla y agentes mecánicos de transporte de fluidos como lo son las bombas. Por otra parte, el agua toma la segunda posición bajo esta categoría, nuevamente resaltando su importancia como agente de transferencia de calor y sumamente importante para la elaboración de medio de cultivo a nivel industrial. Finalmente, el vapor desempeñó un papel crucial para regular las operaciones unitarias donde el gradiente de temperatura se ve favorecido, ejemplificando al secado implementado en el *downstream* del bioproceso.

Con respecto del flujo de efectivo planteado a partir de los algoritmos de SuperPro Designer, se estipulo en que este fuese tomando en cuenta 20 años del proyecto, una depreciación de los equipos y operaciones unitarias del 5% anual e impuestos del 30%. La siguiente tabla representa el flujo de efectivo para cada año transcurrido del proyecto:

Tabla 15. Flujo de efectivo para la simulación de producción de alimento de mascotas

Flujo de efectivo	
Año	Flujo de efectivo neto
1	-\$ 122.00
2	-\$ 162.00
3	-\$ 796.00
4	\$ 420.00
5	\$ 306.00
6	\$ 306.00
7	\$ 306.00
8	\$ 306.00
9	\$ 306.00
10	\$ 306.00
11	\$ 306.00
12	\$ 306.00
13	\$ 294.00
14	\$ 294.00
15	\$ 294.00
16	\$ 294.00
17	\$ 294.00
18	\$ 294.00
19	\$ 294.00

## 1.6. Valoración de productos, resultados e impactos

La metodología de fermentación sólida presenta desventajas ante otras posibles formas de fermentación acorde a los objetivos esperados en el presente desarrollo tecnológico. Uno de los principales defectos de este tipo de fermentación es la difusión y transferencia de oxígeno hacia el medio, siendo que la compactación de los sustratos de origen vegetal afecta directamente a la sinuosidad del medio y por ende el oxígeno no es aprovechado de manera uniforme para su aprovechamiento metabólico. Entre otros parámetros que afectan directamente al crecimiento de hongos en sustratos sólidos es la agitación, siendo que al ser cultivos estáticos la transferencia de calor metabólico presenta dificultades, además que se pueden presentar regiones muertas dentro del biorreactor (Bakratsas *et al.*, 2021).

De igual forma, el pH no puede ser estandarizado para maximizar la actividad metabólica según los requerimientos del organismo y la actividad de agua influye considerablemente con el aprovechamiento de esta molécula para el metabolismo fúngico, también representando un posible riesgo de contaminación en caso de tener mal manejo de técnicas de cultivo celular (Bakratsas *et al.*, 2021).

Acorde a los datos propuestos en las figuras 10 y 11 se puede distinguir el efecto del ácido glutámico con respecto a la concentración de biomasa, siendo que para los tres casos donde se implementó dicho reactivo se presentó un incremento en la concentración de biomasa, denotando que este sí presentó un efecto de una mayor absorción de nutrientes, lo que conllevaría a una mayor formación de biomasa y optimización del aprovechamiento de nutrientes del medio de cultivo como fue señalado por Zhang *et al.* (2019).

El biorreactor *airlift* fue seleccionado como primera instancia de escalamiento de la fermentación puesto que sus características mecánicas favorecen el crecimiento del micelio en medios líquidos. De igual manera, la agitación neumática beneficiada por el bucle interno del biorreactor favorece que la transferencia de nutrientes y biomasa y que la transferencia de calor metabólico sea dispersada de manera homogénea en el sistema siempre y cuando se tenga un óptimo flujo de aire de alimentación (Bakratsas *et al.*, 2021).

Además de los beneficios reflejados en la hidrodinámica del biorreactor, se hace hincapié en que el suministro constante de gas como agente de agitación mantiene el micelio en forma de *pellets*, lo que permite una eficiente transferencia de masa e incluso favorece la producción de exopolisacáridos y compuestos bioactivos. Este beneficio proporcionado por el biorreactor se debe gracias al coeficiente volumétrico de transferencia de masa, velocidad de flujo, tamaño de burbuja y esfuerzo cortante aplicado a la biomasa (Bakratsas *et al.*, 2021).

La tabla 8 muestra la caracterización del extracto de *L. sordida* obtenido a partir de la reserva de biomasa generada, de la cual se resalta que *L. sordida* tiene una capacidad antioxidante del  $72.72 \pm 3.07$  %, la cual es mayor a la de *Pleurotus ostreatus* (45.4%) y *Ganoderma lucidum* (40.7%), pero menor a la de *Volvariella volvacea* (82.9%) y a la de *Lentinula edodes* (75.8%) (Mwangi *et al.*, 2022). En cuestión de los compuestos fenólicos, se resalta que se obtuvo una concentración de 0.141 mg GAE/g muestra. En comparación con la literatura, se denota que, con el método de extracción hidroalcohólica, se ha reportado una concentración de  $1.35 \pm 0.03$  µg GAE/mg extracto (Aranha *et al.*, 2022).

Como mencionaron Sen *et al.* (2019) en su investigación, se comenta que los pigmentos y compuestos antioxidantes provenientes de distintos organismos como las plantas y microorganismos, presentan sensibilidad ante factores como luz, pH y temperaturas y que también es necesario optimizar los procesos de producción de estos. Algunas estrategias de optimización incluyen evaluar otras fuentes de carbono como xilosa, maltosa o manitol, así como la adición de micronutrientes adicionales al calcio y al magnesio como lo son el hierro, cobre, zinc y manganesos para estimular la producción de flavonoides, compuestos fenólicos, enzimas y polisacáridos. Todo esto a través de herramientas como diseños de experimentos, observaciones y revisión bibliográfica (Zhou *et al.*, 2023; Tang *et al.*, 2023; Zięba *et al.*, 2021; Ruytinx *et al.*, 2020; Elisashvili *et al.*, 2008).

En cuestión de la obtención de extractos y metabolitos fúngicos, se resalta que el principal desafío que presentan los hongos son su pared celular rígida (Bhadauria & Peng, 2008; Madla *et al.*, 2012). Antes las dificultades que caracterizan a los hongos para la extracción de productos de interés han surgido las técnicas de extracción no convencionales. Algunos ejemplos de estas la asistida con ultrasonido (utiliza fuerza ultrasónica para romper la pared celular a través de la generación de burbujas en la pared celular, causando la lisis celular),

asistida por microondas (usa radiación electromagnética para evaporar el agua de la célula, lo cual después hace que la célula se estire, por lo que es más sencillo extraer después utilizando un solvente) o la extracción con fluido supercrítico (implementación de dióxido de carbono supercrítico como solvente y, cuando se tienen que extraer compuestos polares, se usa un cosolvente como el etanol) (Tena & Asuero, 2022).

Para lograr la estabilidad de los antioxidantes, se pueden implementar estrategias como las nanoemulsiones (dispersiones líquidas en líquido de alta estabilidad que generan mayor disponibilidad de compuestos bioactivos), liposomas (estructuras coloidales con forma esférica, en las cuales se forma una vesícula con colas lipofílicas con orientación hacia el centro de esta y colas hidrofílicas con orientación hacia la fase acuosa) o el uso de nanopartículas metálicas (presentan actividad antioxidante similar a la de algunas enzimas) (Samrot *et al.*, 2022; Ayala-Fuentes & Chavez-Santoscoy, 2021).

Si bien se están investigando las nuevas alternativas de estabilización compuestos bioactivos, cabe resaltar que el acabado posterior a la estabilización es esencial para la comercialización final de los productos y para prolongar su vida de anaquel. Algunas de las estrategias más prometedoras son la microfluidización, la microencapsulación y la nanoencapsulación. La microfluidización consiste en reducir el tamaño de partícula de los compuestos, lo cual ayuda incrementar la biodisponibilidad y la bioaccesibilidad (los compuestos interactúan de forma más eficiente con los sistemas metabólicos por el incremento de área superficial) gracias a las modificaciones causadas por las fuerzas turbulentas, velocidad y fuerza cortante del proceso (Kumar *et al.*, 2022). En el caso de la encapsulación, esta tiene como objetivo utilizar materiales que protejan al compuesto bioactivo para evitar su degradación. Esto se puede hacer en microescala (1-1000  $\mu\text{m}$ ) o nanoescala (1-1000 nm). Si bien ambas estrategias son eficientes, se resalta que ambas reducen la biodisponibilidad y la bioaccesibilidad. No obstante, en el caso de la nanoencapsulación, se pueden implementar estrategias de administración dirigida (en el caso terapéutico) para que el compuesto actúe en momentos y condiciones específicas (Ayala-Fuentes & Chavez-Santoscoy, 2021).

Finalmente, se resalta que la herramienta utilizada para generar el principal producto de este proyecto fue SuperPro Designer, un programa de simulación de procesos ampliamente utilizado para modelar procesos biotecnológicos. Se denota que este programa ayuda a

determinar los tiempos de proceso, tiempos muertos, tiempos de espera, rentabilidad y la viabilidad del proceso, cuellos de botella, los efectos de los parámetros de operación en los costos y en los rendimientos y estrategias de optimización. Aparte de que se puede simular en régimen continuo y por lotes, también es posible obtener los costos y tamaño de equipos según el volumen de producción objetivo, así como los costos de personal, producción, construcción de la planta (instalaciones de equipos, adecuación del terreno, instalación de tuberías y bombas, entre otros), servicios (agua, energía eléctrica, vapor y aire). Con base en lo anterior, se determina la inversión inicial, viabilidad, rentabilidad y el precio de venta del producto final y la producción necesaria para que el proyecto propuesto sea viable (Pal *et al.*, 2008).

### 1.7. Bibliografía y otros recursos

- Abril Ibarra, Z. (2022). *Antioxidantes producidos por microorganismos acuáticos y terrestres con uso potencial en cosméticos*. 44(116).
- Alim, Y., Sidhoum, W., & Dib, S. (2023). First Record of the Edible Mushroom *Lepista sordida* in Western Algerian Forest: Nutritional Value and Physicochemical Parameters of Mycelial Culture. *Journal of Fungi*, 9(8), Article 8. <https://doi.org/10.3390/jof9080858>
- Aranha, G. M., Contato, A. G., Salgado, J. C. dos S., de Oliveira, T. B., Retamiro, K. M., Ortolan, G. G., Crevelin, E. J., Nakamura, C. V., de Moraes, L. A. B., Peralta, R. M., & Polizeli, M. de L. T. de M. (2022). Biochemical characterization and biological properties of mycelium extracts from *Lepista sordida* GMA-05 and *Trametes hirsuta* GMA-01: New mushroom strains isolated in Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 53(1), 349-358. <https://doi.org/10.1007/s42770-021-00670-5>
- Bakratsas, G., Polydera, A., Katapodis, P., & Stamatis, H. (2021). Recent trends in submerged cultivation of mushrooms and their application as a source of nutraceuticals and food additives. *Future Foods*, 4, 100086. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2021.100086>
- Barrera-Martínez, I. del C. (s. f.). *Revalorización de residuos de la industria cervecera*. Recuperado 21 de abril de 2024, de <https://www.ciatej.mx/el-ciatej/comunicacion/Noticias/Revalorizacion-de-residuos-de-la-industria-cervecera/148>
- Bhadauria, V., & Peng, Y.-L. (2010). Optimization of a protein extraction technique for fungal proteomics. *Indian Journal of Microbiology*, 50(Suppl 1), 127-131. <https://doi.org/10.1007/s12088-010-0072-3>
- Bioser. (2024). Sabouraud Dextrose Agar | Hongos. *Bioser*. <https://www.bioser.com/productos/sabouraud-dextrose-agar-1282p/>

- Chen, M.-H., Lin, C.-H., & Shih, C.-C. (2014). Antidiabetic and Antihyperlipidemic Effects of *Clitocybe nuda* on Glucose Transporter 4 and AMP-Activated Protein Kinase Phosphorylation in High-Fat-Fed Mice. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine : eCAM*, 2014, 981046. <https://doi.org/10.1155/2014/981046>
- Deng, G., Wang, J., Zhao, H., Gao, L., Li, Y., Li, J., Li, J., & Ma, Y. (2012). *Optimization of Fermentation Conditions of Lepista sordida mycelium*. 1(4), 54-57.
- Díaz Abarca, P. A. (2014). *Producción de antocianinas de Aristotelia chilensis en biorreactores para uso nutracéutico* [Universidad de Chile]. <https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/132019/Producci%C3%B3n-de-antocianinas-de-aristotelia-chilensis-en-biorreactores-para-uso-nutr%C3%A1utico.pdf?sequence=1>
- Díaz Rincón, K. J. (2019). *Estandarización del proceso de obtención de antocianinas a partir de callos de mora (Rubus glaucus Benth) mediante la técnica de suspensiones celulares*. [Universidad de Santander]. <https://repositorio.udes.edu.co/server/api/core/bitstreams/e308a7ba-44f3-49ce-99d1-c684ab5f06e5/content>
- Dwi Nurhayat, O., Putra, I., Sibero, M., Hermawan, R., Karimah, S., Anita, S., Yanto, D., & Kristanto, M. (2023). First identification of potential bioactive compounds from ethanol extracts of *Lepista sordida* from Indonesia. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1271, 012058. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1271/1/012058>
- Elisashvili, V., Kachlishvili, E., & Wasser, S. (2009). Carbon and nitrogen effects on Basidiomycetes exopolysaccharide production. *Prikladnaia biokhimiia i mikrobiologiia*, 45, 592-596. <https://doi.org/10.1134/S0003683809050135>
- Fernández-Sevilla, J. M., Acién Fernández, F. G., & Molina Grima, E. (2010). Biotechnological production of lutein and its applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 86(1), 27-40. <https://doi.org/10.1007/s00253-009-2420-y>
- Flieger, J., Flieger, W., Baj, J., & Maciejewski, R. (2021). Antioxidants: Classification, Natural Sources, Activity/Capacity Measurements, and Usefulness for the Synthesis of Nanoparticles. *Materials*, 14(15), 4135. <https://doi.org/10.3390/ma14154135>
- Fortune Business Insights. (2021). *Antioxidants Market Size, Share | Global Report [2021-2028]*. <https://www.fortunebusinessinsights.com/industry-reports/food-antioxidants-market-100789>
- Giuliani, A., Cerretani, L., & Cichelli, A. (2016). Colors: Properties and Determination of Natural Pigments. *Encyclopedia of Food and Health*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00189-6>
- Gómez-Zeledón, J., & Jiménez, V. M. (2011). PRODUCCIÓN in vitro DE ANTOCIANINAS - REVISIÓN. *Acta Biológica Colombiana*, 16(1), 3-20.
- Holt, R. R., Munafo, J. P. J., Salmen, J., Keen, C. L., Mistry, B. S., Whiteley, J. M., & Schmitz, H. H. (2024). Mycelium: A Nutrient-Dense Food To Help Address World Hunger, Promote Health, and Support a Regenerative Food System. *Journal of*

- Agricultural and Food Chemistry*, 72(5), 2697-2707.  
<https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c03307>
- Husain, A., Chanana, H., Khan, S. A., Dhanalekshmi, U. M., Ali, M., Alghamdi, A. A., & Ahmad, A. (2022). Chemistry and Pharmacological Actions of Delphinidin, a Dietary Purple Pigment in Anthocyanidin and Anthocyanin Forms. *Frontiers in Nutrition*, 9, 746881. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.746881>
- Ishani, A. A., Yella Vinay Kumar, C. A., & Shivam, S. (2021). Role of different grains in spawn production for growing mushrooms. *Asian Journal of Microbiology, Biotechnology & Environmental Sciences Paper*, 23(3), 460-463.
- ITESO. (2024a). *Departamento de Procesos Tecnológicos e Industriales*. <https://dpti.iteso.mx/>
- ITESO. (2024b). *Misión y Visión*. <http://www.iteso.mx/>
- ITESO. (2024c). *Orientaciones fundamentales del ITESO*. <https://www.iteso.mx/documents/2624322/0/Orientaciones+fundamentales+del+ITESO.pdf/4831d49f-7335-47f7-8cdd-d5df274b74e8>
- Jiménez López, C. (2017). *Desarrollo de un aditivo colorante natural a base de cianidina obtenido a partir de frutos de Arbutus unedo L.: Optimización de la extracción y estudio de su aplicación en gofres*. [Universidad de Salamanca]. <https://core.ac.uk/download/pdf/153416355.pdf>
- Kumar, A., Dhiman, A., Suhag, R., Sehrawat, R., Upadhyay, A., & McClements, D. J. (2022). Comprehensive review on potential applications of microfluidization in food processing. *Food Science and Biotechnology*, 31(1), 17-36. <https://doi.org/10.1007/s10068-021-01010-x>
- Lee, K.-M., Lee, S.-Y., & Lee, H.-Y. (1999). *Effect of Ammonium Phosphate on Mycelial growth and Exopolysaccharides Production of Ganoderma lucidum in an Air—Lift Fermenter*. 9(6), 726-731.
- Madla, S., Miura, D., & Wariishi, H. (2012). Optimization of Extraction Method for GC-MS based Metabolomics for Filamentous Fungi. *Journal of Microbial & Biochemical Technology*, 04. <https://doi.org/10.4172/1948-5948.1000064>
- Meng, L., Wang, L., Huang, F., & Song, A. (2010a). Effect of Selected Culture Parameters on the Growth of *Lepista sordida* Mycelium. *Acta Edulis Fungi*, 17(03), Article 03. <https://doi.org/10.16488/j.cnki.1005-9873.2010.03.011>
- Meng, L., Wang, L., Huang, F., & Song, A. (2010b). Optimization of a protein extraction technique for fungal proteomics. *Indian Journal of Microbiology*, 17(3), 45-49.
- Mwangi, R. W., Macharia, J. M., Wagara, I. N., & Bence, R. L. (2022). The antioxidant potential of different edible and medicinal mushrooms. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 147, 112621. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.112621>
- Pai, S., Hebbar, A., & Selvaraj, S. (2022). A critical look at challenges and future scopes of bioactive compounds and their incorporations in the food, energy, and pharmaceutical sector. *Environmental Science and Pollution Research International*, 29(24), 35518-35541. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-19423-4>

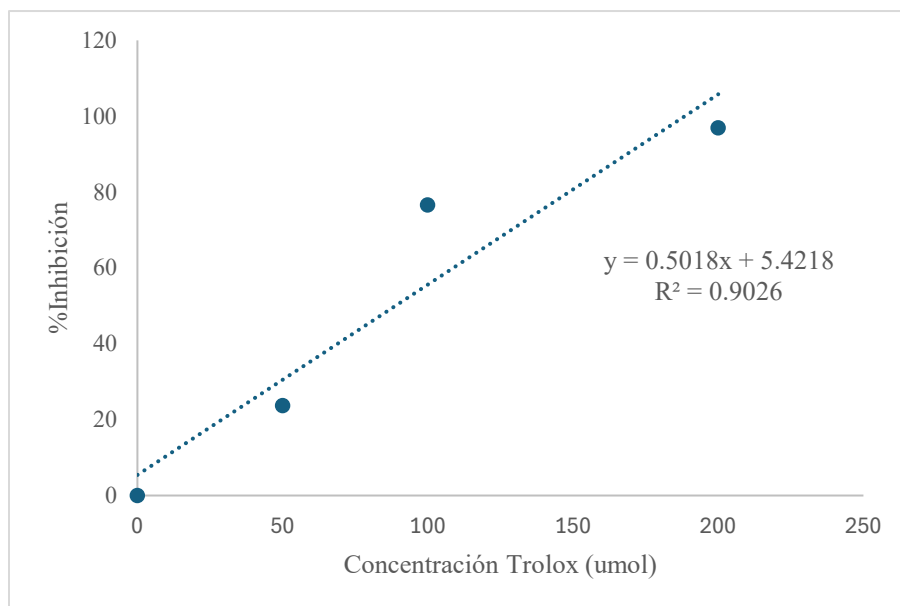
- Pal, N., Siletti, C., & Petrides, D. (2008, noviembre 17). *Superpro Designer: An Interactive Software Tool for Designing and Evaluating Integrated Chemical, Biochemical, and Environmental Processes*.
- Parcheta, M., Świsłocka, R., Orzechowska, S., Akimowicz, M., Choińska, R., & Lewandowski, W. (2021). Recent Developments in Effective Antioxidants: The Structure and Antioxidant Properties. *Materials*, *14*(8), 1984. <https://doi.org/10.3390/ma14081984>
- Pineda-Insuasti, J. A., Soto-Arroyave, C. P., & Beltrán, L. (2014). Stoichiometry equation to describe the growth of the *Pleurotus ostreatus* ceba-gliie-po-010606 strain. *Biotecnología Aplicada*, *31*(1), 48-52.
- Prasad, D., & Singh, R. P. (2023, enero 5). *Mushroom Production in the World: An Overview*.
- Ramos Córdoba, E. (2021). *ANTOCIANINAS: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA DE SU PROCESAMIENTO Y POTENCIAL USO COMO COLORANTE NATURAL EN ALIMENTOS* [Universidad de Chile]. <https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/185067/Antocianinas-revision-bibliografica-de-su-procesamiento.pdf>
- Rani, A., Saini, K. C., Bast, F., Mehariya, S., Bhatia, S. K., Lavecchia, R., & Zuorro, A. (2021). Microorganisms: A Potential Source of Bioactive Molecules for Antioxidant Applications. *Molecules*, *26*(4), 1142. <https://doi.org/10.3390/molecules26041142>
- Ringuelet, J. A., & Viña, S. Z. (2013). *Productos naturales vegetales*. Editorial de la Universidad Nacional de La Plata (EDULP). <https://doi.org/10.35537/10915/27885>
- Ruytinx, J., Kafle, A., Usman, M., Coninx, L., Zimmermann, S. D., & Garcia, K. (2020). Micronutrient transport in mycorrhizal symbiosis; zinc steals the show. *Fungal Biology Reviews*, *34*(1), 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2019.09.001>
- Samrot, A. V., Ram Singh, S. P., Deenadhayalan, R., Rajesh, V. V., Padmanaban, S., & Radhakrishnan, K. (2022). Nanoparticles, a Double-Edged Sword with Oxidant as Well as Antioxidant Properties—A Review. *Oxygen*, *2*(4), Article 4. <https://doi.org/10.3390/oxygen2040039>
- Sen, T., Barrow, C. J., & Deshmukh, S. K. (2019). Microbial Pigments in the Food Industry—Challenges and the Way Forward. *Frontiers in Nutrition*, *6*, 7. <https://doi.org/10.3389/fnut.2019.00007>
- Sheng, C., Wang, Y., Pan, C., Shi, L., Wang, Y., Ma, Y., Wang, J., Zhao, J., Zhang, P., Liu, Z., Yu, H., Wang, F., Dong, X., & Yan, S. (2024). Evaluation of Rice Straw, Corncob, and Soybean Straw as Substrates for the Cultivation of *Lepista sordida*. *Life (Basel, Switzerland)*, *14*(1), 101. <https://doi.org/10.3390/life14010101>
- Sollid, K. (2020, diciembre 23). *What is Honey?* Food Insight. <https://foodinsight.org/what-is-honey/>
- Stamets, P. E. & Fungi Perfecti. (2024). *Lion's Mane Extract 1 oz*. Host Defense Mushrooms. Recuperado el 10 de mayo de 2024 de <https://hostdefense.com/collections/extracts/products/lions-mane-extract>

- Stanley, H. O., Odu, N. N., & Onwuka, J. U. (2013). The Effect of Honey on the Mycelial Growth of *Pleurotus sajor caju* (Oyster mushroom). *International Research Journal of Environment Sciences*, 2(12). <https://www.isca.me/IJENS/Archive/v2/i12/3.ISCA-IRJEvS-2013-228.pdf>
- Tang, Z.-X., Shi, L.-E., Jiang, Z.-B., Bai, X.-L., & Ying, R.-F. (2023). Calcium Enrichment in Edible Mushrooms: A Review. *Journal of Fungi*, 9(3), Article 3. <https://doi.org/10.3390/jof9030338>
- Tena, N., & Asuero, A. G. (2022). Up-To-Date Analysis of the Extraction Methods for Anthocyanins: Principles of the Techniques, Optimization, Technical Progress, and Industrial Application. *Antioxidants*, 11(2), Article 2. <https://doi.org/10.3390/antiox11020286>
- Thongbai, B., Wittstein, K., Richter, C., Miller, S. L., Hyde, K. D., Thongklang, N., Klomklung, N., Chukeatirote, E., & Stadler, M. (2017). Successful cultivation of a valuable wild strain of *Lepista sordida* from Thailand. *Mycological Progress*, 16(4), 311-323. <https://doi.org/10.1007/s11557-016-1262-0>
- Verma, A. S., Agrahari, S., Rastogi, S., & Singh, A. (2011). Biotechnology in the Realm of History. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 3(3), 321-323. <https://doi.org/10.4103/0975-7406.84430>
- Wang, L., Lian, J., Zheng, Q., Wang, L., Wang, Y., & Yang, D. (2023). Composition analysis and prebiotics properties of polysaccharides extracted from *Lepista sordida* submerged cultivation mycelium. *Frontiers in Microbiology*, 13. <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2022.1077322>
- Xu, C., Geng, L., & Zhang, W. (2013). Production of Extracellular Polysaccharides by the Medicinal Mushroom *Trametes trogii* (Higher Basidiomycetes) in Stirred-Tank and Airlift Reactors. *International journal of medicinal mushrooms*, 15, 183-189. <https://doi.org/10.1615/IntJMedMushr.v15.i2.70>
- Zehiroglu, C., & Ozturk Sarikaya, S. B. (2019). The importance of antioxidants and place in today's scientific and technological studies. *Journal of Food Science and Technology*, 56(11), 4757-4774. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03952-x>
- Zhang, C., Chai, S., Hao, S., Zhang, A., Zhu, Q., Zhang, H., & Wang, C. (2019). Effects of glutamic acid on the production of monacolin K in four high-yield monacolin K strains in *Monascus*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103(13), 5301-5310. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-09752-9>
- Zhong, W., Liu, N., Xie, Y., Zhao, Y., Song, X., & Zhong, W. (2013). Antioxidant and anti-aging activities of mycelial polysaccharides from *Lepista sordida*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 60, 355-359. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.06.018>
- Zhou, T., Reji, R., Kairon, R. S., & Chiam, K. H. (2023). A review of algorithmic approaches for cell culture media optimization. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2023.1195294>

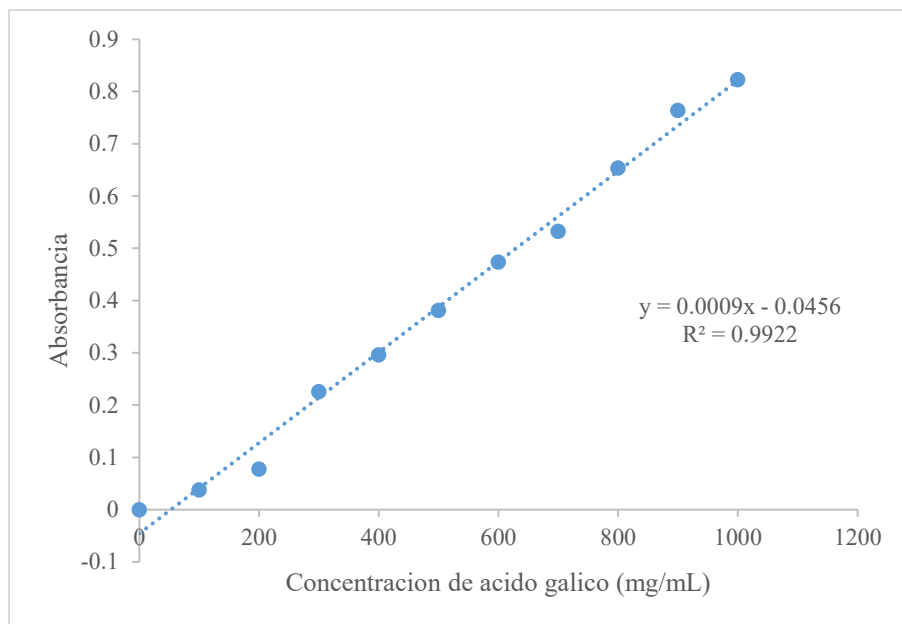
- Zhu, Z.-Y., Liu, X.-C., Tang, Y.-L., Dong, F.-Y., Sun, H.-Q., Chen, L., & Zhang, Y.-M. (2016). Effects of cultural medium on the formation and antitumor activity of polysaccharides by *Cordyceps gunnii*. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 122(4), 494-498. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2016.03.015>
- Zięba, P., Sękara, A., Bernaś, E., Krakowska, A., Sułkowska-Ziaja, K., Kunicki, E., Suchanek, M., & Muszyńska, B. (2021). Supplementation with Magnesium Salts— A Strategy to Increase Nutraceutical Value of *Pleurotus djamor* Fruiting Bodies. *Molecules*, 26(11), 3273. <https://doi.org/10.3390/molecules26113273>

### 1.8. Anexos generales

A continuación, se muestran las gráficas de las curvas de calibración para la determinación de los compuestos antioxidantes.



Anexo 1. Curva de calibración para capacidad antioxidante con referente a Trolox.



Anexo 2. Curva de calibración para determinación de compuestos fenólicos con referente a ácido gálico.

## 2. Productos

<b>Nombre y código del PAP:</b>	4D09 Programa de Desarrollo Tecnológico para la Sustentabilidad Ambiental Energética y Alimentaria I
<b>Nombre del subproyecto:</b>	Diseño de proceso de fermentación sumergida de <i>Lepista sordida</i> para la producción de extracto antioxidante
<b>Nombre del producto:</b>	Simulación del bioproceso de producción de un extracto antioxidante a partir de <i>Lepista sordida</i> .
<b>Descripción:</b>	Simulación de bioproceso. Es un documento que contiene el diagrama de flujo del proceso de producción del extracto antioxidante a partir de <i>Lepista sordida</i> . Esto incluye las secciones de “upstream”, “midstream” y “downstream” con sus respectivas operaciones

	unitarias. Además, se incluye la programación, los costos, insumos, el personal y las condiciones de cada operación, así como el análisis financiero de la planta diseñada con el objetivo de determinar la viabilidad del bioproceso bajo los parámetros determinados por el usuario.
<b>Autores:</b>	Diego Miguel Amador Guerra, Jorge Luis Chimal Ayala y Leví Alberto González López.

En la figura 18, se puede apreciar la simulación realizada en SuperPro Designer, resaltando a la preparación de medio de cultivo para el biorreactor semilla y para el biorreactor principal como la parte del *upstream*. Debido a los rendimientos obtenidos, se decidió utilizar un biorreactor de tipo STR para el “*midstream*” (proceso de fermentación). Posteriormente, para el *downstream*, se implementaron las operaciones de filtrado (en filtro de marcos y placas para recuperar la biomasa), secado (eliminación de humedad), molienda (reducción del tamaño de partícula), extracción con etanol al 96% (obtención de los compuestos antioxidantes presentes en *L. sordida*) y, finalmente, el envasado en goteros ámbar con capacidad de 25 mL (acabado final del extracto antioxidante).

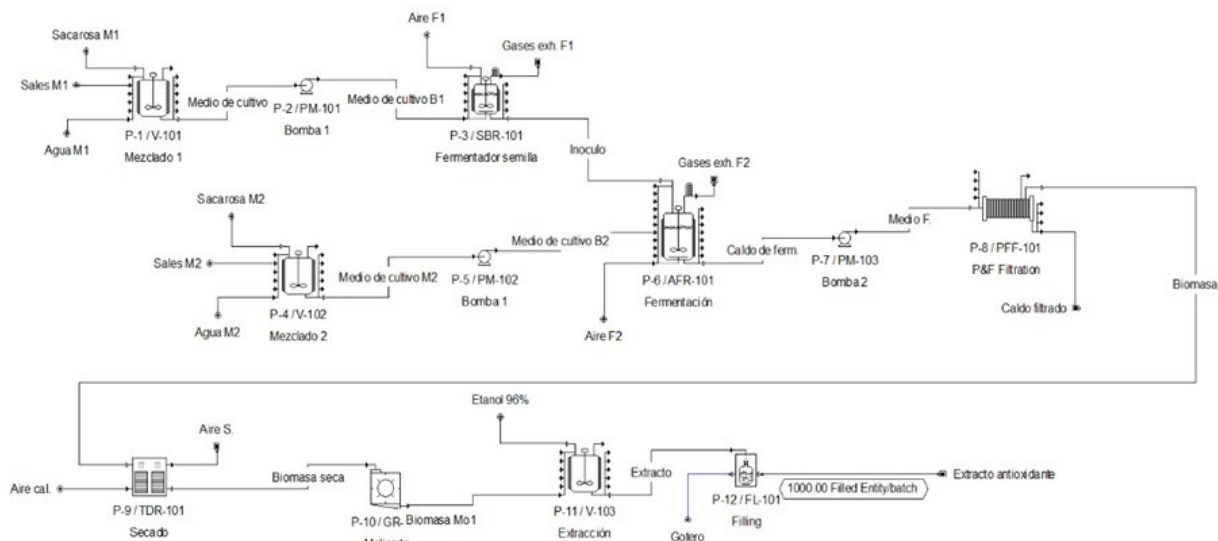


Figura 18. Simulación del bioproceso de producción de extracto antioxidante a partir de *L. sordida*.

Se comenta que SuperPro Designer es un programa de simulación ampliamente utilizado para simular bioprocesos de diferentes capacidades para determinar los tiempos de proceso,

tiempos muertos, tiempos de espera, rentabilidad y la viabilidad del proceso, cuellos de botella, los efectos de los parámetros de operación en los costos y en los rendimientos y estrategias de optimización. Asimismo, se puede definir el régimen de operación, el cual fue por lotes (“*batch*”) en este caso (Pal *et al.*, 2008).

El uso de programas como SuperPro Designer es esencial para el diseño de una planta, puesto que, para lograr un determinado número de producción, es necesario evaluar el tamaño y el costo de cada equipo por implementar. Además, cada proceso requiere de análisis y control de calidad constante, lo cual incrementa el costo de personal y de producción por el consumo de reactivos en dichos ensayos. Es importante resaltar que el costo de las materias prima y de los reactivos se puede considerar, así como los costos de utilidades (servicios como agua, energía eléctrica, vapor y aire), costos de construcción (instalaciones de equipos, adecuación del terreno, instalación de tuberías y bombas, entre otros) (Pal *et al.*, 2008). En la tabla 16, se presentan los costos de construcción y del personal requerido para ello, mientras que en la tabla 17 y 18 se muestran los costos de personal (operadores de planta u operadores de reactores y biorreactores) y de utilidades, respectivamente.

Tabla 16. Costos directos e indirectos de la construcción de la planta de producción de extracto antioxidante a partir de *L. sordida*.

Costos directos de construcción de la planta	
Compra de equipos industriales	66,000
Instalación	30,000
Tuberías y bombeo	23,000
Instrumentación	26,000
Aislamiento térmico	2,000
Costos eléctricos	7,000
Costo de construcción	30,000
Mejoramiento del terreno	10,000
Instalaciones externas	26,000
Total	221,000
Costos indirectos de construcción de la planta	
Ingeniería	55,000
Construcción	77,000
Total	132,000
Pago de contratistas y contingencia	
Pago de contratistas	18,000
Contingencia	35,000

Total	53,000
-------	--------

Tabla 17. Costos de operación y mano de obra.

Tipo de operador	Costo unitario (USD por hora)	Horas de trabajo anuales	Costo anual (USD)	%
Operador de planta	69	9,587	661,537	87.05
Operador de reactor	3.99	24,652	98,390	12.95

Tabla 18. Costo y consumo de energía.

Utilidad	Costo unitario (USD)	Monto anual	Unidades de referencia	Costo anual (USD)	%
Energía de potencia	0.10	78,587	kWh	7,859	64.74
Vapor	12	5	MT	58	0.49
Agua	0.4	10,552	MT	4,221	35.50

Cabe señalar que entre los principales costos implícitos en la instalación y desarrollo de la planta piloto se destacan los costos directos e indirectos de construcción y pago de contratistas y contingencia prevista en el desarrollo de esta, siendo que los tres forman parte del capital fijo directo propuesto por SuperPro Designer. Como se mencionó anteriormente, el objetivo de la tabla 15 es dar a conocer el capital fijo directo de la planta industrial de producción de extracto antioxidante de *Lepista sordida*. Dentro de este desglose económico se destaca un total de 406,000 USD donde los costos directos de construcción de la planta absorben el 43.68% del total de este costo, mientras que los costos indirectos representan el 26.09% del total de capital fijo. Cabe señalar que se tomaron en consideración costos directamente capturados por el programa de SuperPro Designer, por lo que estos podrían variar según sea la localización de la planta, impuestos, oferta y demanda de los equipos u otros aspectos relacionados con la construcción de la planta.

A través del ajuste de costos de venta, se puede determinar el precio óptimo del producto de modo que el proceso sea rentable, lo cual se define por un retorno de inversión (*ROI*), tasa interna de retorno (*TIR*) y valor presente neto (*VPN* al 7%) mayores a 0, así como lograr un tiempo de recuperación de inversión (*PBT*) corto (Pal *et al.*, 2008). De igual manera, se obtuvo que se requiere una inversión inicial de 506,007 USD y un costo anual de operación

de 938,505 USD por año. Sin embargo, la ganancia anual sería de 1'320,000 USD. La tabla 19 muestra los parámetros financieros que justifican la viabilidad y rentabilidad del proceso.

Tabla 19. Parámetros financieros referentes al bioproceso de producción del extracto antioxidante de *L. sordida*.

<b>Parámetro financiero</b>	<b>Valor</b>
Retorno de inversión ( <i>ROI</i> )	52.86%
Tasa interna de retorno ( <i>TIR</i> )	24.95%
Valor presente neto ( <i>VPN</i> al 7%)	1'420,192 USD
Tiempo de recuperación de inversión ( <i>PBT</i> )	1.89 años

Utilizando las herramientas de análisis de costos, así como de valoración de precio de venta, se determinó que el costo unitario de producción por unidad de extracto antioxidante de *Lepista sordida* de 25 mL es de 29.21 USD. Por otra parte, el costo de venta unitario por unidad de extracto antioxidante es de 30 USD. Si bien este precio de venta es más elevado al de los competidores como “*Host Defense Mushrooms*” (9.05 USD más caro) (Stamets & Fungi Perfecti, 2024), se denota que se tomó esta decisión por los compuestos y propiedades antioxidantes que se reportaron en la tabla 8.

Se determinó que el proceso de manera general tarda 342 horas, lo cual es equivalente a 13 días de proceso por cada lote. Según la información proporcionada por el software, la planta industrial y biotecnológica operará por 7771.1 horas, teniendo en cuenta 7920 horas de operación por año. Las horas de trabajo y operación del modelo biotecnológico dan un resultado de 44 batches por año de trabajo.

Asimismo, se resaltan los costos correspondientes a los reactivos, materias primas y envases para el empaquetamiento del producto final. En la tabla 20 y 21, se muestran los costos de los materiales utilizados en la formulación del medio de cultivo, la extracción con solvente, y en el envasado.

Tabla 20. Costos y consumo de materiales y reactivos a granel.

Material a granel	Costo unitario (USD)	Monto anual	Unidades de referencia	Costo anual (USD)	%
Aire	0	1'530,046	kg	0	0
Etanol 96%	2.94	267	L	784	0.87
Sales para medio de cultivo	15.93	466	kg	7,428	8.24
Sacarosa	1.1	1,772	kg	1,949	2.16
Agua	0.5	115,510	kg	57,975	64.32

Tabla 21. Costos y consumo de materiales discretos.

Material a granel	Costo unitario (USD por unidad)	Monto anual	Costo anual (USD)	%
Gotero	0.5	44,000	22,000	24.41

Tomando en consideración la inversión inicial de 506,007 USD requerida para la adquisición de materiales y equipos industriales implícitos con las operaciones unitarias, se tiene el siguiente desglose en la tabla 22 acorde a los precios cotizados para cada una de las operaciones unitarias:

Tabla 22. Desglose económico de costos de compra de equipos industriales.

Cantidad	Nombre	Descripción	Costo unitario (USD)	Costo (USD)
1	V-101	Tanque de mezclado	2000	2000
1	PM-101	Bomba centrífuga	2000	2000
1	SBR-101	Fermentador semilla	2000	2000
1	V-102	Tanque de mezclado	6000	6000
1	PM-102	Bomba centrífuga	4000	4000
1	AFR-101	Biorreactor tipo STR	6000	6000
1	PM-103	Bomba centrífuga	4000	4000

1	TDR-101	Secador de charola	4000	4000
1	GR-101	Molino	5000	5000
1	V-103	Tanque de mezclado	1000	1000
1	FL-101	Embotelladora	8000	8000
1	PFF-101	Filtro de placas y marcos	11000	11000
			Total	66000

En función a los datos proporcionados por SuperPro Designer y mostrados en la tabla 22, se tiene en consideración que la inversión requerida con respecto a la compra de equipos industriales representa el 13.04% del total de inversión inicial, siendo que las operaciones unitarias con un mayor costo son la embotelladora y el filtro de placas y marcos, siendo ambas pertenecientes a la sección “*downstream*”.

### 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.

#### 3.1 Sensibilización ante las realidades

Diego Miguel Amador Guerra

Mediante el desarrollo de este proyecto de aplicación profesional, me di cuenta de la falta de información, aplicación y explotación de hongos no levaduriformes en el campo de la Biotecnología. Son maquinarias asombrosamente capaces de realizar procesos o sintetizar productos de alta necesidad y que muchas veces por evitar su uso por las esporas generadas se deja de lado esta oportunidad. En el presente caso se desarrolló el establecimiento de un bioproceso para la producción de antioxidantes, sin embargo, los hongos pueden ser implementados para producción de enzimas, pigmentos, biomoléculas de uso alimenticio, cosmético o farmacéutico o en tecnología ambiental para la remediación de sitios contaminados. A pesar de ello, se han destacado por ser organismos altamente efectivos y adaptables según sean sus condiciones de crecimiento y cultivo, siendo que estos organismos se distribuyen por todo el mundo según sean las condiciones abióticas y bióticas del ecosistema en el que se encuentren, frecuentemente funcionando como descomponedores de

materias muertas con el objetivo de contribuir al equilibrio biótico y permitir que su presencia sea igual de importante que otras especies.

Enfatizando la producción y uso de antioxidantes, caí en cuenta que son productos verdaderamente valuados en la sociedad y que representan una gran oportunidad de mejora en el área de los alimentos y la salud, sin embargo, estos productos son altamente sensibles ante condiciones externas e internas de los procesos de producción y almacenamiento, lo que podría complicar su explotación y comercialización. Sin embargo, a través de la divulgación y transferencia de conocimiento se pueden plantear técnicas y metodologías para que estos productos sean estables bajo ciertas condiciones que puedan ser replicables fácilmente y lograr mantener márgenes de calidad deseados para la comercialización de estos productos. La búsqueda y desarrollo de los antioxidantes involucra mucho trabajo e inversión económica para su estudio, sin embargo, se presentan por ser moléculas de naturaleza orgánica y bioquímica que podrían marcar una diferencia significativa ante el uso de productos provenientes de síntesis orgánica que podrían empeorar la salud de los consumidores y no contribuir con una búsqueda de producciones sustentables a nivel industrial.

Finalmente, y tomando en cuenta el establecimiento de un bioproceso para la producción de antioxidantes, se enfatizan las complicaciones obtenidas en cada una de las operaciones unitarias incluidas, siendo que muchas de ellas involucraban alto consumo de reactivos o energía para obtener bajos rendimientos. Además de ello, fueron seleccionadas con sumo cuidado y delicadeza puesto que los antioxidantes son sensibles ante las condiciones industriales optadas por cada una de las operaciones unitarias, por lo que este proceso se tornaba un poco más complicado de indagar, resolver y discutir resultados en cuestión del producto deseado y obtenido. A pesar de ello, se llegó a un modelado industrial donde se demuestra que la producción de antioxidantes a partir de *L. sordida* si se vuelve una metodología factible y rentable puesto que el mercado sigue pagando el precio justo y razonable para el producto propuesto.

Jorge Luis Chimal Ayala

A través de este proyecto, me percaté de que el área de producción de antioxidantes se enfrenta a una gran variedad de desafíos. Entre estos, se describe que son compuestos que se pueden degradar a causa de factores abióticos como la temperatura, el pH y la luz, lo cual causa que la vida de anaquel de estos sea menor y que sus funciones se pierdan a través del tiempo. Además, los métodos convencionales de extracción de antioxidantes a partir de frutas, verduras o fuentes vegetales como las plantas, presentan bajos rendimientos y consumen recursos como agua y suelo, lo cual tiene un impacto ambiental negativo por el estrés hídrico y erosión del suelo que se genera a corto, mediano y largo plazo.

Adicionalmente, mantener grandes áreas de terrenos para cultivo de fuentes vegetales involucra mucho tiempo y mayores costos de personal, resaltando la necesidad de lograr procesos más eficientes de producción de antioxidantes que también sean sustentables. Aunque un bioproceso es más eficiente que los métodos tradicionales de producción de antioxidantes, también es esencial realizar una evaluación del impacto ambiental del diseño de este y del tratamiento de residuos para poder ejecutar una comparación cuantitativa de los beneficios de la propuesta desarrollada en este documento.

Considerando la tendencia de buscar nuevas metodologías nutracéuticas a través de los antioxidantes, se denota que el planteamiento de un bioproceso utilizando *L. sordida* resultó ser una estrategia rentable y viable en cuestión de costos. No obstante, debido a que *L. sordida* es un organismo que no se ha explorado de forma extensiva, todavía es necesario seguir investigando acerca del efecto de los parámetros de producción de biomasa, así como de los componentes del medio de cultivo para poder optimizar y estandarizar el proceso.

En cuestión de involucramiento con los grupos de interés, fue un ejercicio muy interesante, pues se logró concretar juntas con un experto en *L. sordida* y con especialistas del cultivo de distintos tipos de hongos, lo cual fue muy enriquecedor, pues se abrieron espacios de colaboración. Igualmente, si bien este proyecto de aplicación profesional tiene como sede al ITESO, se generó consciencia de los espacios de trabajo que se pueden utilizar, así como de los equipos, pues es necesario considerar esto debido a que otros docentes y estudiantes también los utilizan.

Leví Alberto González López

Mediante el estudio realizado tomé conciencia sobre las problemáticas a las cuales se enfrenta la industria de los antioxidantes. Ante la inminente demanda de productos con beneficios antioxidantes y el limitado aprovechamiento de los antioxidantes biodisponibles, los sistemas de producción buscan satisfacer la demanda de estos, y para lograrlo implican el complicado uso de fuentes naturales antioxidantes que representan una limitante para escalar a procesos industriales. El uso de alternativas como los bioprocesos para elaborar productos de alto valor a menores costos, representa una oportunidad para explorar y diseñar procesos utilizando materias primas o recursos alternativos a los convencionales que suelen ser menos accesibles.

El diseño de proceso planteado en este PAP resulta ser efectivo proporcionando un potencial recurso para extraer compuestos antioxidantes. El uso de hongos ha sido ampliamente explorado en los últimos años gracias a sus maquinarias metabólicas capaces de producir metabolitos con gran valor agregado. No obstante, se debe considerar que la implementación de estas alternativas podría requerir de inversiones significativas en términos de tiempo, recursos y capacitación. Aunque la fermentación de hongos resulta ser menos costosa frente a una producción masiva de fuentes naturales de antioxidantes, es necesario el uso de equipos y operadores con conocimientos básicos sobre bioprocesos.

También, debido a la falta de información del organismo utilizado (*Lepista sordida*), existe la posibilidad de que los consumidores no tengan disposición para implementar en sus cuidados (personal, alimenticio, etc.) productos o insumos antioxidantes con base biotecnológica si para ello se requieren conocimientos específicos o costos adquisitivos más elevados, lo que resulta uno de los mayores desafíos por afrontar.

### 3.2 Aprendizajes logrados

#### Diego Miguel Amador Guerra

Considero que el presente proyecto de aplicación profesional ha sido una de las experiencias más enriquecedoras a lo largo de toda mi trayectoria y capacitación en Ingeniería en Biotecnología. Se destaca que este proyecto involucró todos los aprendizajes esenciales de la carrera, destacando esencialmente técnicas microbiológicas, análisis químico y biológico, estandarización de técnicas de inocuidad, calidad y cuidado microbiológico, conocimiento de operaciones unitarias de fenómenos de transporte, desarrollo tecnológico y empresarial y

sin ser menos importante la formación humana obtenida a lo largo del presente periodo de trabajo y experimentación. Además de ello, considero que se involucraron aspectos de organización, cuidado de trabajo y disciplina con respecto a los entregables, forma y manera en que debían ser redactados y entregados y manejo de los tiempos, siendo este último esencial puesto que involucra presión y esfuerzo por dedicar ante la realización del presente proyecto.

De igual manera, destaco la importancia de la biotecnología y en general la ingeniería ante la resolución de problemas de carácter científico, tecnológico e industrial puesto que involucra técnicas de análisis crítico y racional acerca de las situaciones y la manera en que el análisis numérico, modelado de sistemas y funcionalidad de la materia y energía puede ser aprovechada en favor de la resolución o planteamiento del problema, inclusive teniendo en cuenta que muchos tópicos tomados en cuenta no han sido resueltos en su totalidad o parcialmente. Con esto último se hace énfasis a *L. sordida*, siendo este un organismo completamente desconocido para la biotecnología, sin embargo, se caracteriza por ser un sistema biológico potencial para el desarrollo tecnológico como lo fue el presente modelado para obtención de extracto antioxidante, obteniendo una capacidad antioxidante mayor al 70% que permite que el proceso sea pertinente y apto para su introducción en el mercado y competir con otros productos de origen fúngico que atienden la necesidad del consumo de antioxidantes para el beneficio de la salud.

A lo largo de la experimentación sentí la satisfacción de poder colaborar en este proyecto desde mi perspectiva y conocimiento ingenieril, poniendo en prueba mis conocimientos y aptitudes científicas para lograr los resultados obtenidos. Ciertamente se sintió como una asignatura donde se apliquen todos los conocimientos aprendidos y obtenidos satisfactoriamente, sin embargo, se destaca la presencia de cierto grado de incertidumbre a lo largo del desarrollo. Por otra parte, el uso de hongos en prácticamente todos mis proyectos de trascendencia profesional y académica respaldan mi decisión profesional en el uso y aprovechamiento de estos organismos de manera biotecnológica en beneficio de la sociedad, siendo que los hongos son maquinarias metabólicas altamente evolucionadas y con capacidades moleculares asombrosas para la producción y establecimiento de metabolitos de interés y necesidad social.

Finalmente, el presente proyecto de aplicación profesional contribuyó a mi propia toma de decisiones con respecto al camino u orientación biotecnológica de mi preferencia, siendo esta la biotecnología industrial destinada para el desarrollo y producción de alimentos, siendo que mediante estos productos se satisfacen necesidades nutrimentales y metabólicas, además de garantizar una muy buena oportunidad de mercado. Enfatizando la idea de los nutraceuticos, mis expectativas es continuar trabajando con este tipo de organismos, sea de forma profesional o personal, con el propósito de indagar en su potencial y capacidades aprovechables para la Biotecnología.

### Jorge Luis Chimal Ayala

Para poder ejecutar las diferentes instancias de este PAP, fue necesario realizar una amplia consulta bibliográfica para diseñar los experimentos (*DOE*) y definir la cuantificación de estos con base en los reactivos, equipos y materiales disponibles en los laboratorios de química, biotecnología y alimentos del ITESO. Además de la investigación, se resalta que este proyecto incluyó a todos los aprendizajes obtenidos durante la carrera, entre ellos, la generación de *DOEs*, simulación de bioprocesos, bioseparaciones, ingeniería en biorreactores, microbiología, química analítica y cinética biológica.

Durante este PAP, continué afinando mis habilidades de uso de software como SuperPro Designer, Minitab, Microsoft Project y Microsoft Excel, las cuales fueron esenciales para planear el proyecto, los experimentos, hacer análisis e interpretaciones estadísticas y para determinar cómo es que funcionaría una planta de producción de extracto antioxidante de *L. sordida*, así como la viabilidad y rentabilidad de esta. En la cuestión social, fue un ejercicio de alto grado de aprendizaje gracias a el taller de *soft skills* que los profesores PAP implementaron por una semana para mejorar las técnicas de comunicación, liderazgo, asertividad y trabajo en equipo. También, el contacto con los grupos de interés fue muy enriquecedor, pues involucró contactar a investigadores e inversionistas relacionados a la investigación y al emprendimiento biotecnológico. Esto fue de gran utilidad, pues se trabajaron las habilidades de comunicar de forma clara y concisa el proyecto sin revelar toda la información de este. Asimismo, estas personas retroalimentaron el proyecto y también fue un direccionamiento de futuros experimentos y aspectos a considerar.

Debido a que *L. sordida* es un organismo que todavía no se investiga de forma extensiva, encontrar información acerca de su contenido de compuestos bioactivos, condiciones de crecimiento y optimización del proceso de fermentación fue muy desafiante. En muchas instancias del proyecto, se presentaron complicaciones con el hongo, pues su tasa de crecimiento resultó ser muy lenta, su adaptación a distintos sustratos fue muy selectiva, no se logró conseguir la pigmentación morada del hongo y, aunque la fermentación en biorreactor incrementó el rendimiento, seguía siendo un proceso que se necesitaba optimizar. Ante todo esto, llegué a sentir diferentes niveles de frustración y enojo, pues nunca hubo pausas en el trabajo experimental y no se obtenían los resultados deseados. Sin embargo, parte de lo que aprendí en este proyecto fue a lidiar con estas emociones y a seguir perseverando e investigando para resolver las complicaciones presentadas y poder explicar cómo se atendieron e identificaron las áreas de oportunidad. A partir de los nuevos resultados y de la información encontrada, seguí generando propuestas para seguir avanzando en la parte experimental del PAP.

Adicionalmente, parte de un trabajo innovador es tener habilidades de organización y paciencia, pues se está desarrollando un proceso o producto nuevo, lo cual fue el caso de este proyecto. Asimismo, como parte de la optimización de un flujo de trabajo, es importante reducir costos y realizar los experimentos de forma justificada con base en observaciones previas y en la dirección que se busque seguir en el desarrollo del proyecto; lo anterior es un aprendizaje muy importante, puesto que ayuda a reducir tiempos de experimentación, se generan resultados relevantes en menor tiempo y se utilizan solo los recursos necesarios.

[Leví Alberto González López](#)

Durante este PAP tuve la oportunidad de involucrarme en diferentes experimentaciones que requirieron la planeación de alternativas, el uso de técnicas y la implementación de procesos que enriquecieron mis aprendizajes. La integración de algunas de las áreas de biotecnología resultó en un proceso interesante donde se pudo experimentar con las herramientas que proporcionan para dar solución a un determinado problema.

Trabajar con especies de hongos que se consideran en cierto grado desconocidas ante la investigación global, fue relevante en el sentido de reflexión y cuestionarse el qué contienen y de dónde provienen los alimentos y productos que consumimos o utilizamos

cotidianamente. La implementación de recursos como los hongos para elaborar productos de uso cotidiano y no solamente médicos y clínicos, suena a una realidad inalcanzable. Sin embargo, el poder trabajar con hongos y evaluar, estudiar y utilizar técnicas para caracterizarlos, estresarlos, y estandarizar su desarrollo resultó muy enriquecedor y complementario en cuanto a mi formación académica y profesional. Considero que uno de los mayores aprendizajes que obtuve fue el desarrollar la parte ingenieril de mi carrera y dar soluciones a problemas, es decir encontrar el porqué de la realización de un trabajo y no solo experimentar de manera injustificada.

El área de investigación demanda la indagación de estudios o experimentaciones que sustenten el trabajo realizado, por lo que pude desarrollar un pensamiento más analítico para dar respuesta y comparar lo que encontré con lo que ya existe o lo que se ha encontrado. Durante mi trabajo en laboratorio, pude poner en práctica los conocimientos de mi formación académica para realizar las experimentaciones postuladas. El desarrollo de capacidades, como la paciencia, el compromiso, la organización y la implementación de los bioprocesos fueron piezas clave para culminar con éxito el presente PAP.

Estoy inmensamente agradecido y satisfecho por haber tenido la oportunidad de colaborar en este proyecto que, aunque se sustentaba en estudios previos, fue realizado desde la planeación de las experimentaciones hasta la consolidación de los resultados. Considero que, al fusionar mis aprendizajes académicos con los aprendizajes adquiridos durante este PAP, puedo decir que soy una persona distinta en cuanto al sentido académico y sobre todo en el sentido personal, puesto que logré desarrollar conocimientos y aptitudes que me ayudan mejorar como persona y tener un mejor desenvolvimiento en el entorno social.