

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

**Departamento de Procesos Tecnológicos e Industriales**

**Sustentabilidad y tecnología**

**PROYECTO DE APLICACIÓN PROFESIONAL (PAP)**

**Programa de Apoyo a la Investigación I y II**



**ITESO, Universidad  
Jesuita de Guadalajara**

**4G03 Programa de Apoyo a la Investigación I y II**

**Producción de *Lactobacillus plantarum* y *Chlorella vulgaris* a partir de un fermento  
bajo en alcohol obtenido de la producción de tequila por destilación al vacío en el  
ITESO, Tlaquepaque, Jalisco.**

**PRESENTAN**

Programas educativos y Estudiantes

Ing. en Biotecnología, Santiago de Alessandro Saucedo Barbosa

Ing. en Biotecnología, Juan Ramón García Hernández

Ing. en Biotecnología, Andrea Ilian Martínez Lozano

Ing. en Biotecnología, María Guadalupe Lomelí Sánchez

Ing. en Biotecnología, Saraí Salcedo Castañeda

Profesor PAP: Mtro. José Orozco González Aréchiga y Dr. Hugo Xicohténcatl Serrano

Tlaquepaque, Jalisco, mayo de 2025

## ÍNDICE

|   |    |
|---|----|
| REPORTE PAP .....   | 2  |
| Presentación Institucional de los Proyectos de Aplicación Profesional ..... | 2  |
| Resumen .....   | 4  |
| 1.    Ciclo participativo del Proyecto de Aplicación Profesional.....       | 5  |
| 1.1    Entendimiento del ámbito y del contexto .....                        | 6  |
| 1.2    Caracterización de la organización.....                              | 9  |
| 1.3    Identificación de la(s) problemática(s).....                         | 10 |
| 1.4    Planeación de alternativa(s).....                                    | 12 |
| 1.5    Desarrollo de la propuesta de mejora .....                           | 16 |
| 1.6    Valoración de productos, resultados e impactos .....                 | 43 |
| 1.7    Bibliografía y otros recursos .....                                  | 45 |
| 1.8    Anexos generales.....  | 51 |
| 2.    Productos .....   | 51 |
| 3.    Reflexión crítica y ética de la experiencia.....                      | 52 |
| 3.1    Sensibilización ante las realidades .....                            | 52 |
| 3.2    Aprendizajes logrados .....  | 56 |

## REPORTE PAP

### Presentación Institucional de los Proyectos de Aplicación Profesional

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

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

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

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

*El Reporte PAP consta de tres componentes:*

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

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

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

## Resumen

El PAP *Producción de Lactobacillus plantarum y Chlorella vulgaris a partir de un fermento bajo en alcohol obtenido de la producción de tequila por destilación al vacío en el ITESO* forma parte de un proyecto iniciado en 2023. El presente proyecto incorpora un subproducto de esta destilación al vacío del tequila, conocido como fermento bajo en alcohol (FBA) y explora sus posibles aplicaciones frente a problemáticas como la contaminación por vinazas, la malnutrición del ganado bovino y su consecuente muerte prematura.

Se propuso el uso del FBA como base para medios de cultivo alternativos para la producción de probióticos y prebióticos, como *L. plantarum* y *C. vulgaris*, respectivamente, debido a su potencial para mejorar la salud digestiva y la nutrición del ganado. Ambos microorganismos se cultivaron en medios comerciales y medios formulados con FBA para evaluar su viabilidad como fuente de nutrientes para su propagación. Los cultivos se realizaron por triplicado, monitoreando la generación de biomasa y, en el caso de *L. plantarum*, también el consumo de sustrato.

A partir de los datos obtenidos, se ajustaron modelos cinéticos de crecimiento para cada microorganismo, lo que permitió calcular parámetros cinéticos clave. Estos parámetros se analizaron estadísticamente para determinar si existían diferencias significativas entre los medios comerciales y los formulados. Los parámetros cinéticos y un análisis de costos permitieron identificar el medio de cultivo más eficiente para cada microorganismo, destacando que el FBA puede ser utilizado como sustrato para la generación de biomasa de *L. plantarum* y *C. vulgaris*.

## 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 construyen 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.

En el presente Proyecto de Aplicación Profesional (PAP) se busca la producción de *Lactobacillus plantarum* y *Chlorella vulgaris* a partir de un fermento bajo en alcohol (FBA) obtenido de la producción de tequila por destilación al vacío. El proyecto de tipo experimental será realizado en las instalaciones del parque tecnológico del Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Occidente (ITESO). El proyecto será supervisado por el Mtro. José Orozco González Aréchiga y el Dr. Hugo Xicohtécatl Serrano, con la intención de evaluar la factibilidad del fermento bajo en alcohol (FBA) para el crecimiento de microorganismos con efecto prebiótico y probiótico. La investigación tiene planteado los siguientes objetivos.

### **Objetivo general**

Producir *Lactobacillus plantarum* y *Chlorella vulgaris* a partir de un FBA proveniente de una destilación al vacío para utilizarlos como prebióticos y probióticos en la alimentación de ganado bovino.

### *Objetivos específicos*

- Desarrollar una cinética de crecimiento de *C. vulgaris* y de *L. plantarum* en el FBA.
- Optimizar el crecimiento de *L. plantarum* en el FBA.
- Comparar el crecimiento de *L. plantarum* en un medio de cultivo suplementado y en el FBA frente a un medio convencional.
- Analizar el costo del medio de cultivo suplementado formulado para *L. plantarum* proveniente del FBA.
- Comparar el crecimiento de *C. vulgaris* en el FBA frente a un medio de cultivo convencional.

## 1.1 Entendimiento del ámbito y del contexto

Cuando se estudia un proceso de fermentación existen dos parámetros de interés: el rendimiento y la productividad. Mediante el uso de datos experimentales del crecimiento de microorganismos, es posible la determinación de estas variables, las cuales son dependientes del tipo de medio y las condiciones de cultivo. Por ende, es necesario el uso de un modelo matemático cuyo comportamiento se ajuste a los datos experimentales, donde el grado de complejidad del modelo a usar depende del foco de estudio [1].

Un modelo matemático es aquel grupo de ecuaciones que relacionan las variables medibles con las variables de interés las cuales suelen estar arraigadas en un sistema de causa efecto [1]. Esta particularidad permite colocar cualquier variable controlable que puede afectar el proceso, como la concentración de sustrato, pH, agitación, aireación, intensidad lumínica, concentración de CO<sub>2</sub> o todas aquellas que pueden controlar una variable de interés. Una vez obtenidas las variables a controlar y seleccionado el modelo matemático, se deben definir las variables que se buscan estudiar (concentración de biomasa o de un metabolito de interés, por ejemplo). Las variables por estudiar se establecen en el modelo como una función del tiempo, transformando estas ecuaciones en expresiones cinéticas [1].

Existen diversos modelos matemáticos que pueden ser usados para establecer expresiones cinéticas y es recomendable probar con una variedad de modelos hasta encontrar aquél que presente un ajuste adecuado frente a los datos experimentales. Los modelos para fermentación pueden dividirse en modelos no estructurados y estructurados. Un modelo no estructurado solo toma en cuenta una variable para definir la concentración de biomasa. En un modelo estructurado, en cambio, se hace uso de más de una variable para determinar la concentración de biomasa [1].

Uno de los modelos más utilizados para definir el crecimiento de microorganismos es el de Monod (Ecuación 1), el cual establece que, a concentraciones bajas de sustrato, la velocidad a la cual se genera biomasa decrece hasta llegar a un mínimo. Con esto en mente, la tasa de crecimiento específica ( $\mu$ ) dependerá de la tasa de crecimiento máxima ( $\mu_{\max}$ ), la concentración de sustrato (S), y la afinidad del microorganismo al sustrato ( $K_s$ ). De igual manera, existen otros modelos no estructurados que pueden ser usados para el modelado de

una cinética microbiana, como son el de Teissier, Moiser, Contois, Blackman, y modelo logístico [1].

$$\mu = \mu_{max} * \left( \frac{S}{S + K_s} \right)$$

**Ecuación 1. Modelo de Monod para una cinética microbiana [1].**

La fermentación es un proceso indispensable en la producción del tequila, así como de múltiples bebidas alcohólicas [2]. El tequila es una bebida alcohólica característica de México, proveniente de un proceso que involucra extracción de azúcares, su fermentación y la destilación del jugo azucarado. Sin embargo, durante el proceso de destilación se genera un líquido oscuro conocido como vinazas [3]. Aunque estas deberían ser tratadas antes de su desecho, solo unas cuantas empresas (de gran tamaño) tratan este residuo, aquellas que no las tratan argumentan limitaciones económicas (de construcción, mantenimiento, y operación) [4].

Ante esta problemática, el Mtro. José Orozco propuso en el año 2023 un método para mejorar el proceso de producción de tequila mediante la generación de vacío reduciendo el punto de ebullición de las sustancias en el mosto. Durante el periodo de verano de 2024 se escaló a planta piloto la destilación de tequila a vacío generando el FBA (fermento bajo en alcohol) como subproducto. En el mismo periodo, el FBA fue sometido a diversas pruebas fisicoquímicas, así como biológicas con la intención de determinar las diferentes especies de microorganismos presentes, identificando *Saccharomyces cerevisiae* y *Bacillus subtilis*, y determinar posibles aplicaciones para el FBA.

Una de las aplicaciones elucidadas en el periodo de verano de 2024 fue el uso de medios para crecimiento de microorganismos probióticos y prebióticos. Un probiótico puede ser definido como un microorganismo que presenta un beneficio para el consumidor, al ser ingerido en concentraciones apropiadas [5]. *L. plantarum* ha tenido relevancia debido a que puede actuar como probiótico beneficioso para el ganado bovino, al incrementar el metabolismo de estos animales rumiantes, mediante la reducción de amonio [6]. Las microalgas también pueden presentar beneficios positivos para ciertos organismos [7], sin embargo, esto lo logran en

forma de prebiótico, los cuales son sustancias no digeribles que pueden ser usadas como fuente de energía por otros microorganismos en la microbiota [8].

En este sentido, otros investigadores han explorado el aprovechamiento de subproductos similares, como el trabajo de Quintero *et al.* (2019) [9], quienes evaluaron el uso de vinazas para la obtención de biomasa de *C. vulgaris* a concentraciones de 10, 25 y 75% encontrando que la concentración más favorable fue esta última, probablemente debido a una mayor disponibilidad de nutrientes. De manera similar, Mamani *et al.* (2023) [10] evaluaron el crecimiento de *Chlorella sp.* y la producción de lípidos utilizando distintas concentraciones de vinaza de caña de azúcar como medio de cultivo, donde la concentración más favorable para el desarrollo celular fue de 10%, mientras que la concentración a la cual se alcanza una mayor producción de lípidos es de 20%.

En otro estudio, Scapini *et al.* (2024) [11] utilizaron vinazas en concentraciones entre 1.72 y 58% como medio de cultivo para *C. vulgaris* en condiciones de heterotrofia, encontrando que la concentración más alta es la mejor para la producción de biomasa. Por su parte, Santana *et al.* (2017) [12] compararon el crecimiento de dos especies de microalgas, *Micractinium sp.* y *C. biconvexa* en distintas concentraciones de vinaza de caña de azúcar y medio Basal Bold. Los resultados indicaron que la mayor producción de biomasa en el caso de *Micractinium sp.* fue en una concentración de vinaza del 50% y para *C. biconvexa* vinaza al 100 % clarificada, con esto los autores se refieren a que centrifugaron la vinaza y los sólidos fueron resuspendidos en agua destilada.

En cuanto a *L. plantarum*, diversos autores han propuesto medios de cultivo de bajo costo a base de residuos industriales. Por ejemplo, Salgado *et al.* (2011) [13] demostraron que las vinazas del proceso de producción del vino pueden ser aprovechadas satisfactoriamente por *L. rhamnosus* para su crecimiento y la producción de ácido láctico. En un estudio similar, Zhang & Vladani (2014) [14] utilizaron un hidrolizado de rastrojo de maíz como medio de cultivo para *L. plantarum* y *L. brevis* observando un aprovechamiento eficiente en el consumo de glucosa y xilosa presentes en el medio. Por otro lado, Cerdeira *et al.* (2019) [15] utilizaron suero de leche como medio de cultivo para dos cepas enológicas de *L. plantarum* con el objetivo de aumentar la producción de biomasa, obteniendo mejores resultados en

términos de producción y viabilidad al inocular diferentes vinos, en comparación con un medio MRS.

Durante el presente PAP, se busca el aprovechamiento del FBA para la producción de *L. plantarum* y *C. vulgaris*. De igual manera, se intenta encontrar las concentraciones óptimas de fuente carbono y nitrógeno para el crecimiento de *L. plantarum*, la concentración de FBA máxima tolerable para crecimiento de *C. vulgaris* y los parámetros cinéticos de ambas especies en sus respectivos medios formulados a base de FBA. El aprovechamiento de los subproductos de origen industrial para la obtención de recursos útiles, en este caso, el aprovechamiento del FBA para la producción de *L. plantarum* y *C. vulgaris*, puede ser utilizado para mejorar la salud del ganado en Jalisco.

## 1.2 Caracterización de la organización

El PAP en curso se lleva a cabo en las instalaciones del ITESO, específicamente en los laboratorios de biotecnología del parque tecnológico. Este proyecto está impulsado por el Fondo de Apoyo a la Investigación en el ITESO en la convocatoria del año 2023 a 2024, con el cual se busca apoyar el desarrollo de un proceso de destilación del tequila sostenible y conveniente, del cual se obtiene el fermento bajo en alcohol (FBA). Así mismo, se cuenta con la colaboración de la tequilera Hacienda de Oro, la cual proporciona mosto fermentado para realizar pruebas de destilación, así como el uso de sus instalaciones para pruebas de escalamiento.

El propósito central de esta investigación es comprobar y optimizar un nuevo proceso de destilación de tequila en una escala piloto, en el cual se aproveche el fermento bajo en alcohol. El proyecto está dirigido por el Mtro. José Orozco González Aréchiga quien coordina principalmente a los alumnos dedicados a la optimización continua del proceso de destilación, la Ing. Química Odette Blanco Reyes que coordina a los alumnos dedicados a las pruebas de vida de anaquel del fermento bajo en alcohol, así como del desarrollo de formulaciones para alimentos, y el Dr. Hugo Xicohtécatl Serrano que acompaña a los alumnos que buscan aprovechar el FBA para el crecimiento de microorganismos de valor.

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

El tequila es una bebida mexicana producida a partir de la especie *Agave tequilana Weber* [3]. Actualmente el 91% de las fábricas de Tequila se encuentran en el estado de Jalisco, esto por la designación de origen de la bebida [16]. La producción de esta bebida es una de las más importantes en el país, donde en 2019 se produjeron 351.7 millones de litros de tequila [17]. En la producción del tequila, se genera un residuo en el proceso de destilado del jugo fermentado de agave, la extracción de azúcares y la cocción del agave; a este residuo se le conoce como vinazas, donde se producen entre 10 y 15 litros de estas por cada litro producido de tequila [18]. Las vinazas son un residuo difícil de tratar debido a su alto contenido de materia orgánica, sólidos suspendidos totales y sólidos disueltos totales, acompañado de un pH bajo provocando un gran daño ambiental al ser descargadas en drenajes o cuerpos de agua [19].

Con la intención de hacer frente a la problemática de las vinazas, en 2023, el Mtro. José Orozco González Aréchiga ideó un proceso para destilar el tequila al vacío. La destilación al vacío permite la disminución de la temperatura de ebullición de la mezcla, posibilitando la obtención de etanol a temperaturas menores con respecto a una destilación convencional. Durante el periodo de primavera 2024 del PAP se escaló a nivel de planta piloto la destilación al vacío, donde en lugar de producir como residuo vinazas en el proceso se obtuvo un FBA. El FBA y el tequila obtenido fueron sometidos a pruebas fisicoquímicas y biológicas para su caracterización, logrando obtener la concentración de levaduras, bacterias y hongos en el fermento, así como de azúcares, acidez y porcentaje de alcohol. Dichos resultados, permiten elucidar el tentativo beneficio de este fermento como medio para el crecimiento de microorganismos de interés comercial, como lo son probióticos y organismos que puedan servir como un suplemento nutricional para mejorar la salud animal.

Las posibles aplicaciones del FBA se vuelven relevantes al considerar los desafíos a los que se enfrenta la ganadería en nuestro país. México es cruzado por el trópico de Cáncer, por lo que desde el centro al sur del país se comprende una región tropical, incluyendo al estado de Jalisco [20]. La ganadería en zonas tropicales está sujeta a varios retos, que suponen bajos rendimientos y calidad. Uno de los retos es la disponibilidad y calidad limitada de forraje. La alimentación del ganado bovino con forraje inadecuado puede desencadenar deficiencias

nutricionales. Adicionalmente, el forraje tropical suele tener factores antinutricionales y un alto contenido de fibra, lo que puede afectar negativamente a la digestión del ganado y de la absorción de nutrientes. En vacas lecheras, además, el consumo de forraje tropical puede dificultar la producción óptima de leche [21].

Las dietas inadecuadas en el ganado pueden afectar a la fermentación entérica, que forma parte de la digestión de estos animales. La microbiota del rumen se ve alterada, lo que dificulta la digestión de materia vegetal compleja y aumenta la producción de metano. Aunado a esto, el metano es un gas de efecto invernadero que contribuye 30 veces más al calentamiento global. Es justamente la fermentación entérica uno de los procesos que más contribuyen en la generación de gases de efecto invernadero. Sin embargo, una regulación en la dieta, suplementación con prebióticos y probióticos podría equilibrar la microbiota del rumen, regularizando la producción de metano. Adicionalmente, se están estudiando alternativas de alimentos antimetanogénicos y suplementos como aceites vegetales o microalgas que incluso pudieran reducir la generación de metano por debajo de la producción normal [21].

El cambio climático trae consigo cambios en la biósfera, atmósfera y la hidrósfera. Estos cambios pueden ocasionar estrés en el ganado, lo que impacta su productividad. Este estrés vulnera el ganado a malnutrición, infecciones y enfermedades parasitarias [21]. Particularmente, la mastitis, que es la enfermedad que más afecta a las vacas productoras de leche en todo el mundo, reporta pérdidas de 938 litros por lactancia/vaca, que en términos económicos corresponde a \$6,397 al año por vaca [22].

Aunado a enfermedades respiratorias, gastrointestinales, y a la baja calidad de producción de leche, se está registrando la muerte de becerros durante sus primeros 7 meses de vida como efecto de la malnutrición y complicaciones derivadas del estrés [23]. Ya no solo se habla de baja productividad en cuanto a carne o leche, sino que empiezan a crecer las tasas de mortalidad. Para becerros que llegan a edades adultas también se comienzan a presentar mayores problemas reproductivos. Se registra pubertad retardada, bajas tasas de concepción y largos intervalos entre partos. El intervalo entre cada parto excede los 500 días, debido a la inhibición del restablecimiento de la actividad de los ovarios por la inadecuada alimentación del ganado sin suplementos [23].

Los problemas expuestos previamente como la mortalidad por malnutrición del ganado, afectan a la ganadería en México, donde según las cifras del INEGI [24] en el Censo Agropecuario 2022 se registraron alrededor de 24,553,565 cabezas de ganado bovino en el país, posicionándolo como el quinto productor de carne a nivel mundial y representando un pilar importante en la economía nacional [25]. Con esto en mente, se plantea para este PAP de primavera 2025 obtener cinéticas de crecimiento para microorganismos de valor nutricional para ganado bovino, comparar el crecimiento de los microorganismos en el FBA frente a un crecimiento en medio convencional, y optimizar el medio con base en el FBA, así como realizar un análisis de costos de los nuevos medios formulados.

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

La mayor motivación del presente proyecto surge de la destilación al vacío de tequila que busca aprovechar el FBA obtenido en lugar de vinazas. Al mismo tiempo, el proyecto se ha estado trabajando con la tequilera Hacienda de Oro que tiene interés en aprovechar el FBA en la agronomía y la ganadería. Es por ello, que se buscaron alternativas que satisfagan necesidades del campo o de la industria del tequila, para que sean los mismos productores de tequila quienes pudieran aprovechar el FBA.

Se propusieron diversas aplicaciones para el FBA en la agronomía, tales como la formulación de un biofungicida, un biofertilizante, y un agente de biocontrol. Como biofungicida, se sugirió utilizar el FBA para el cultivo de *Bacillus subtilis*, así como para estimular la producción de bacteriocinas [26]. En el caso de biofertilizantes, se propuso cultivar *Trichoderma harzianum* [26], y como biocontrol se pretendió el crecimiento también de *Trichoderma harzianum* [26] y de *Pseudomonas fluorescens* [27].

En el área de la ganadería, se planteó utilizar el FBA para la producción de probióticos, como *Lactobacillus acidophilus* y *Lactobacillus plantarum*. Así mismo, se propuso la producción de *Chlorella vulgaris* para la generación de lípidos, o para aditivo de alimentos y nutraceuticos. Estas dos últimas alternativas se unieron para conformar lo que es el presente proyecto, es decir, la producción del probiótico *L. plantarum* y el prebiótico *C. vulgaris* como suplementos alimenticios en la alimentación de ganado bovino.

Se resolvió por la presente alternativa por tres razones principales. La primera, es que los microorganismos que se pretenden crecer se encuentran en el cepario del ITESO y, además, la tequilera Hacienda de Oro mostró interés en poder utilizar el FBA como alimento para ganado. El PAP, desde el equipo de Ingeniería de Alimentos, ya está contemplando dosificar el FBA en el agua para beber del ganado. Además, se adicionarían el probiótico y el prebiótico a esta dosificación. Finalmente, se han reportado beneficios de la suplementación con probióticos intestinales y con microalgas en la alimentación del ganado. Por ejemplo, la suplementación con *C. vulgaris* ha mostrado mejoras significativas en la conversión alimenticia, la eficiencia económica y los rasgos reproductivos posparto en vacas [28], mientras que el pretratamiento con *L. plantarum* ha demostrado prevenir la mastitis [29] y reducir la aparición de diarrea en terneros [30].

Asimismo, se analizaron los resultados obtenidos durante el PAP de verano 2024 en el que se realizaron pruebas microbiológicas y fisicoquímicas para determinar la presencia de azúcares, acidez titulable, grados Brix, pH y oxalatos del FBA. Además, se realizó una revisión bibliográfica de los posibles usos alternativos del FBA con un enfoque biotecnológico y se evaluó la viabilidad y conveniencia de las propuestas encontradas. Entre las propuestas relacionadas al crecimiento de microorganismos, se planteó el cocultivo de *Saccharomyces cerevisiae* y *Kluyveromyces marxianus* para la producción de bioetanol y el cocultivo de *Aspergillus niger* y *Saccharomyces cerevisiae* para producir enzimas carbohidrasas.

Después de analizar estas alternativas, se decidió para el presente PAP de primavera 2025, producir probióticos para ganado usando microorganismos que pueden tolerar las condiciones del FBA y requieren menos etapas de purificación que las propuestas anteriores, esto con el fin de mejorar la rentabilidad del proceso. Para ello, se prepara medio MRS y medio basal Bold para el inóculo de *Lactobacillus plantarum* y *Chlorella vulgaris*, respectivamente.

Para el cultivo de *L. plantarum*, se preparan medios de cultivo suplementando el FBA con distintas concentraciones de la fuente de carbono (glucosa) y la fuente de nitrógeno (peptona), que son componentes clave en el crecimiento bacteriano debido a que la producción de células microbianas o los metabolitos de interés alcanzan valores máximos

cuando la relación carbono/nitrógeno (C/N) es óptima. Asimismo, la fuente de carbono representa aproximadamente el 60-80% del costo promedio del medio de cultivo [31], por lo que es conveniente evaluar si una menor concentración de glucosa puede lograr rendimientos comparables a los obtenidos con un medio convencional, como el medio MRS. Por otra parte, para el cultivo de *Chlorella vulgaris* se preparan medios suplementando el FBA con nejayote para controlar el pH, ya que crece a su máxima productividad de biomasa a pH de 7.4 [32]. El nejayote es un líquido residual del proceso de nixtamalización del maíz y puede utilizarse para reducir los costos de producción.

Para determinar el crecimiento bacteriano, se utiliza 10% de inóculo, se toman muestras y se mide la biomasa y sustrato para cada tiempo. El método de elección para esta determinación es el uso de densidad óptica, el cual se basa en el comportamiento de un haz de luz (transmisión, reflexión o dispersión) frente a un objeto [33]. Se relaciona la medición obtenida con una curva de peso seco que implica secar completamente la muestra para eliminar el contenido de agua [34], este método permite determinar la concentración de biomasa y la etapa del crecimiento en una muestra en un tiempo determinado, la cual es la variable más importante para un modelo cinético [33] [35]. La determinación de glucosa se realiza usando glucosa oxidasa, una enzima con alta especificidad por la glucosa, capaz de oxidarla mediante su degradación, lo que permite obtener datos de concentración de glucosa [2] [36] [37].

Para el desarrollo de la alternativa se planean actividades durante las 16 semanas que comprende el semestre. Las actividades fueron programadas y se puede visualizar el cronograma con las actividades previstas en la Tabla 1. Así mismo, en la Tabla 2, se muestran los recursos necesarios para llevar a cabo las actividades con las respectivas abreviaturas utilizadas en el cronograma.

**Tabla 1. Cronograma de actividades previstas para la realización del proyecto**

| Nombre de la actividad   | Recursos       | Tiempo (días/semana) | Semana 1 | Semana 2 | Semana 3 | Semana 4 | Semana 5 | Semana 6 | Semana 7 | Semana 8 | Semana 9 | Semana 10 | Semana 11 | Semana 12 | Semana 13 | Semana 14 | Semana 15 | Semana 16 |
|--|----------------|----------------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Entendimiento del contexto                                       | AJ, AH         | 1                    |          |          |          |          |          |          |          |          |          |           |           |           |           |           |           |           |
| Evaluación documental y de alternativas                          | AH, TP         | 1                    |          |          |          |          |          |          |          |          |          |           |           |           |           |           |           |           |
| Propuesta de protocolo de experimentación                        | TP, AH, LB     | 1                    |          |          |          |          |          |          |          |          |          |           |           |           |           |           |           |           |
| Activación de <i>L. plantarum</i>                                | TP, LB, IO     | 2                    |          |          |          |          |          |          |          |          |          |           |           |           |           |           |           |           |
| Activación de <i>C. vulgaris</i>                                 | TP, LB, FP     | 1                    |          |          |          |          |          |          |          |          |          |           |           |           |           |           |           |           |
| Cinética de crecimiento de <i>L. plantarum</i>                   | TP, LB, IO     | 2                    |          |          |          |          |          |          |          |          |          |           |           |           |           |           |           |           |
| Curva de calibración de glucosa por glucosa oxidasa              | TP, LB, MP     | 1                    |          |          |          |          |          |          |          |          |          |           |           |           |           |           |           |           |
| Curva de calibración de peso seco                                | TP, LB, HS, MP | 2                    |          |          |          |          |          |          |          |          |          |           |           |           |           |           |           |           |
| Cinética de crecimiento de <i>C. vulgaris</i>                    | TP, LB, FP     | 3                    |          |          |          |          |          |          |          |          |          |           |           |           |           |           |           |           |
| Medición de biomasa y glucosa en cultivos de <i>L. plantarum</i> | TP, LB, MP     | 1                    |          |          |          |          |          |          |          |          |          |           |           |           |           |           |           |           |
| Medición de biomasa de <i>C. vulgaris</i>                        | TP, LB, MP     | 3                    |          |          |          |          |          |          |          |          |          |           |           |           |           |           |           |           |
| Tratamiento de los resultados                                    | TP             | 5                    |          |          |          |          |          |          |          |          |          |           |           |           |           |           |           |           |
| Entrega de versión final del RPAP y correcciones                 | TP, AJ, AH     | 5                    |          |          |          |          |          |          |          |          |          |           |           |           |           |           |           |           |
| Entrega de cartel  | TP, AJ, AH     | 5                    |          |          |          |          |          |          |          |          |          |           |           |           |           |           |           |           |
| Exposición de carteles   | TP             | 1                    |          |          |          |          |          |          |          |          |          |           |           |           |           |           |           |           |

**Tabla 2. Significado de las siglas de los recursos señalados**

| Recursos utilizados |                                   |
|---------------------|-----------------------------------|
| Siglas              | Significado                       |
| AJ                  | Asesoría con el Mtro. José Orozco |
| AH                  | Asesoría con el Dr. Hugo          |
| TP                  | Trabajo personal                  |
| LB                  | Laboratorios de biotecnología     |
| IO                  | Incubadora orbital                |
| FP                  | Anaqueles de fotoperiodo          |
| HS                  | Horno de secado                   |
| MP                  | Lector de microplacas             |

### 1.5. Desarrollo de la propuesta de mejora

El presente proyecto se dividió en cuatro fases; la primera se enfocó en el crecimiento de *C. vulgaris* y de *L. plantarum* así como la elaboración de las curvas de calibración de biomasa para dichos microorganismos y de glucosa con la técnica de glucosa oxidasa. Mediante estas curvas se relacionó la densidad óptica a concentraciones de biomasa (para *L. plantarum* y *C. vulgaris*) y glucosa (en los tratamientos para *L. plantarum*).

En la segunda fase se sometieron los datos experimentales obtenidos de las cinéticas de crecimiento a MATLAB® (2024b). Durante la tercera fase, los parámetros cinéticos se compararon entre sí mediante análisis estadístico en el programa Minitab® (Ver. 22.2.2). Finalmente, durante la cuarta fase, se determinó la viabilidad y costos de los medios de cultivo formulados con FBA.

#### *Cinéticas de crecimiento de L. plantarum*

#### **Preparación de medios de cultivo**

Para la cinética de crecimiento de *L. plantarum* en el FBA, se hizo un diseño de experimentos donde se utilizaron cinco tratamientos con tres repeticiones los cuales se compararon con un medio de cultivo convencional (Caldo MRS). En la Tabla 3 se muestra la composición de los tratamientos evaluados, donde el FBA fue suplementado con diferentes cantidades de

peptona como fuente de nitrógeno y glucosa como fuente de carbono y el pH se ajustó a 6.5. Los medios de cultivo se vertieron en frascos Schott de 250 mL (Figura 1). Posteriormente, se distribuyeron en matraces Erlenmeyer de 250 mL, dispensando 45 mL en cada uno, y se esterilizaron a 121°C, 15 psig por 15 minutos.



**Figura 1. Medios de cultivo formulados con FBA y diferentes concentraciones de peptona y glucosa, así como el caldo MRS (A) en frasco Schott de 250 mL.**

**Tabla 3. Formulación de los tratamientos del medio de cultivo con FBA para *L. plantarum***

| Tratamiento | Peptona (g/L) | Glucosa (g/L) |
|-------------|---------------|---------------|
| 1           | 15            | 15            |
| 2           | 20            | 10            |
| 3           | 10            | 10            |
| 4           | 20            | 20            |
| 5           | 10            | 20            |

### **Inoculación e incubación de los medios de cultivo**

Una vez preparados los medios de cultivo, se activó un liofilizado comercial marca Sacco System de *L. plantarum* en 50 mL de caldo MRS ajustado a pH 6.5, y se incubó (en incubadora Infors HT Ecotron Incubator) a 37 °C y 160 rpm durante 24 h, correspondiente a la fase logarítmica de crecimiento [38]. Después de transcurridas 24 h, se dosificaron 5 mL como inóculo en los medios de cultivo de cada tratamiento para tener un volumen de operación de 50 mL y se llevaron a incubación a 37 °C y 160 rpm (Figura 2) [39]. Se tomaron muestras de 1 mL cada hora durante las primeras 12 horas y a las 24 y 25 h y se llevaron a

congelación a  $-15^{\circ}\text{C}$  en un congelador Thermo Scientific Forma® Flammable, hasta su posterior análisis.



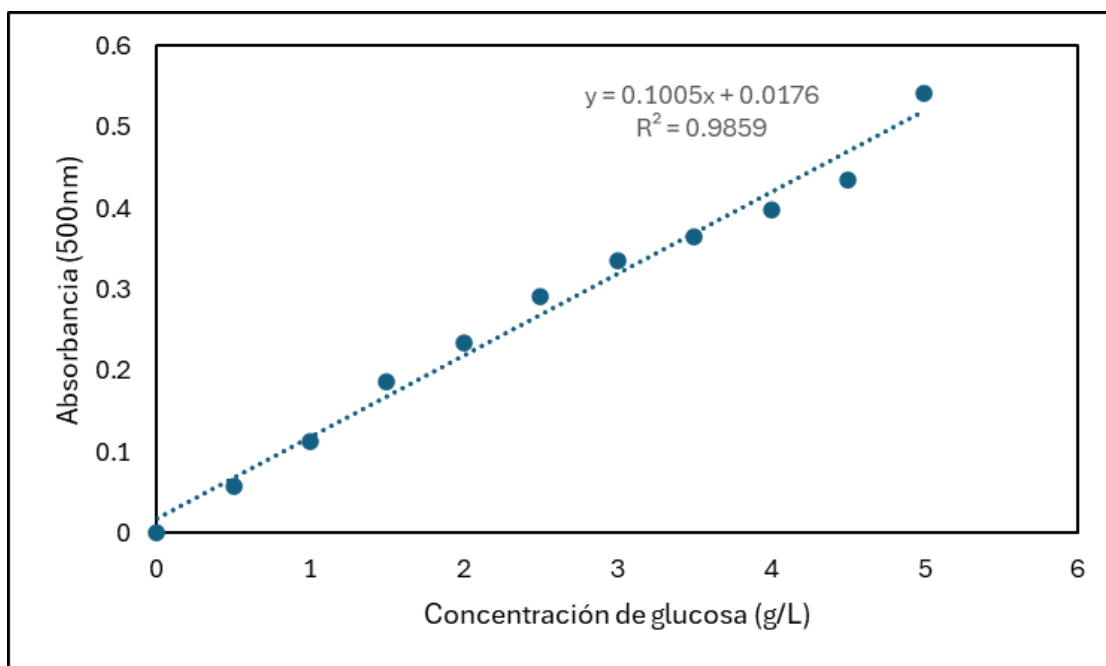
**Figura 2. Incubación de medios de tratamientos con *L. plantarum* a  $37^{\circ}\text{C}$  y 160 rpm en incubadora con agitación mecánica Infors HT Ecotron Incubator.**

### **Elaboración de curvas de calibración de glucosa y biomasa de *L. plantarum***

Para la determinación de glucosa se empleó el método de glucosa oxidasa, una técnica bioquímica que utiliza esta enzima para catalizar la oxidación de  $\beta$ -d-glucosa a d-glucono- $\delta$ -lactona que es hidrolizada secuencialmente por la lactonasa a ácido d-gluconico [40]. Para ello, se prepararon 40 mL de una solución madre de glucosa a una concentración de 5 g/L, utilizando buffer PBS como solución de aforo. A partir de esta solución, se realizaron diluciones para obtener concentraciones de 0 (blanco), 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5 y 5.0 g/L de glucosa, las cuales se colocaron en tubos Eppendorf.

Posteriormente, se colocaron 200  $\mu\text{L}$  de la enzima glucosa oxidasa (GOx) en 10 pocillos de una microplaca y se incubó durante 10 minutos a  $37^{\circ}\text{C}$  en el espectrofotómetro. Transcurrido este tiempo, se añadieron 2.0  $\mu\text{L}$  de cada una de las soluciones de glucosa a los respectivos pocillos, excepto en el blanco, al cual únicamente se le agregó buffer PBS. Luego, se llevó a cabo una segunda incubación por 10 minutos a  $37^{\circ}\text{C}$ . Finalizada la segunda incubación, se realizó la medición de absorbancia a 500 nm por espectrofotometría de manera inmediata. Los datos obtenidos fueron registrados y se construyó la curva de calibración (

Figura 3) utilizando los rangos lineales observados. Para aquellos puntos que excedieron el rango lineal de la curva, se realizaron las diluciones correspondientes.



**Figura 3. Curva de calibración de glucosa obtenida mediante la técnica de glucosa oxidasa**

En cuanto a la biomasa de *L. plantarum*, se construyó una curva de calibración de peso seco basándose en la metodología propuesta por Gökmen y colaboradores [41] con algunas modificaciones, donde se tomaron 5 tubos Eppendorf de 1.5 mL y se secaron durante 48h a 65°C en un horno Memmert UF75, para posteriormente pesarlos en una balanza analítica (Nimbus Adam). Se realizaron 5 diluciones: 1, 1:2, 1:10, 1:20 y 0, todos con un volumen final de 1 mL. Las diluciones se cuantificaron en el espectrofotómetro a 600nm (Thermo Scientific™ Multiskan™ GO), para después centrifugarlas en una microcentrifugadora Hermle Z216M High Capacity High-Speed Benchtop a 10,000 rpm durante 5 min, retirando el sobrenadante. Los tubos Eppendorf con biomasa precipitada se secaron durante 48h a 65°C y se recuperaron las siguientes biomásas en cada tubo: 0, 0.15, 0.3, 1.35 y 2.7 g/L. La relación de las absorbancias registradas con los gramos de biomasa de *L. plantarum* por litro obtenidos se muestra en la Figura 4.

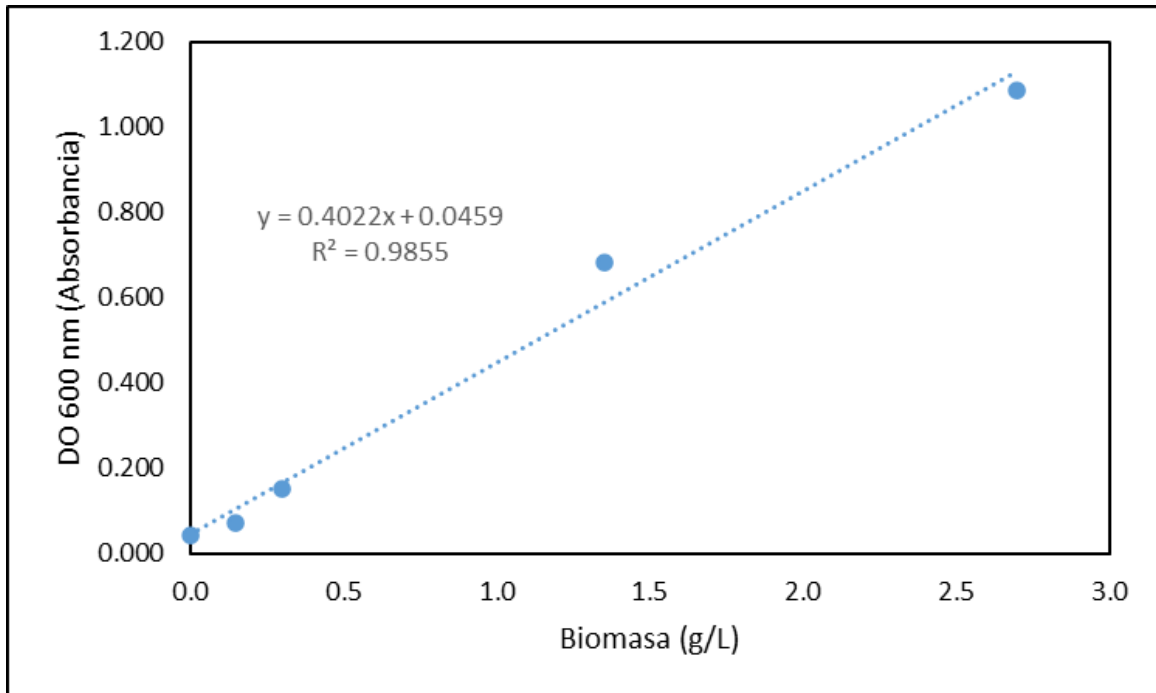


Figura 4. Curva de calibración de biomasa para *L. plantarum* en caldo MRS.

### Toma y lectura de muestras

Con el objetivo de modelar el crecimiento de *L. plantarum* en el FBA y poder compararlo con su crecimiento en caldo MRS, se determinó la biomasa de las muestras a través del siguiente procedimiento.

Primero, las muestras de biomasa de *L. plantarum* fueron descongeladas a temperatura ambiente por aproximadamente 1 hora. Después se centrifugaron a 10,000 rpm, en una microcentrifugadora Hermle Z216M, durante 5 minutos, se separó el sobrenadante en un tubo y se resuspendió la biomasa en 1 mL de agua destilada. Posteriormente se dispensaron 200  $\mu$ L por duplicado en una microplaca y se determinó la densidad óptica por espectrofotometría UV-Visible a 600 nm en un espectrofotómetro de microplacas (Thermo Scientific™ Multiskan™ GO) [42] [43]. Los resultados de absorbancia se promediaron y el resultado se correlacionó con la curva de peso seco para calcular la biomasa a través del tiempo en g/L.

Por otra parte, para la determinación de glucosa en las muestras, se dispensaron 200  $\mu\text{L}$  de la enzima glucosa oxidasa en los pocillos correspondientes para realizar las determinaciones por triplicado. Posteriormente, la microplaca se incubó a  $37^\circ\text{C}$  durante 10 minutos en el espectrofotómetro de microplacas (Thermo Scientific™ Multiskan™ GO) para activar la enzima. Transcurrido este tiempo, en los pocillos designados se agregaron 2.0  $\mu\text{L}$  del sobrenadante de la muestra previamente diluida en proporciones 1:5, 1:4 o 1:3 para obtener valores de absorbancia dentro del rango lineal de la curva de calibración. A continuación, se llevó a cabo una segunda incubación a  $37^\circ\text{C}$  por 10 minutos. Finalmente, se midió la absorbancia mediante espectrofotometría a 500 nm.

*Cinética de crecimiento de C. vulgaris.*

### **Preparación de medios de cultivo**

El experimento para *C. vulgaris* contempló el uso de medio Basal Bold [44] para obtención de datos cinéticos de referencia y para la preparación del inóculo. Además, se utilizó FBA diluido y un medio de cultivo de bajo costo elaborado con FBA y nejayote. El FBA diluido consistió en una solución en partes iguales de FBA y agua destilada. Por otro lado, la composición del medio de cultivo formulado se presenta en la Tabla 4. La formulación fue ajustada de modo que el pH ácido del FBA se neutralizara con el nejayote hasta alcanzar un pH alrededor de 7.5, óptimo para el crecimiento de *C. vulgaris* [45].

**Tabla 4. Medio de cultivo de bajo costo formulado con FBA y nejayote.**

| Componente     | Cantidad (% v/v) |
|----------------|------------------|
| Nejayote       | 43               |
| Agua destilada | 50               |
| FBA            | 7                |

Se prepararon 2 L de medio Basal Bold, el cual fue dispensado en biorreactores para propagar el inóculo inicial por duplicado y para realizar la cinética de referencia por triplicado. Cada biorreactor tuvo un volumen de trabajo de 400 mL de medio Basal Bold. En cuanto al FBA diluido, este fue dispensado en 3 matraces Erlenmeyer de 1 L, que contuvieron 700 mL de la

mezcla cada uno. Similarmente, el medio de cultivo formulado con FBA y nejayote se dispensó por triplicado en alícuotas de 700 mL en matraces de 1 L.

### **Inoculación e incubación de medios de cultivo**

Para dar inicio con la experimentación, se propagaron 7 mL de inóculo de *C. vulgaris* en dos frascos Schott de 1 L con 400 mL de medio Basal Bold. Se suministró aire mediante una bomba de acuario ELITE 800, conectada con una manguera (Masterflex calibre 18) al frasco Schott, junto con una manguera de salida de gases exhaustos (Figura 5). Se incubó a temperatura ambiente en el laboratorio ( $\sim 22^{\circ}\text{C}$ ) con un fotoperiodo de 12 h luz y 12 h oscuridad durante 21 días. Ambos biorreactores de propagación, o biorreactores, se utilizaron para inocular los experimentos de cinéticas en el medio Basal Bold, FBA diluido y el medio de cultivo formulado. El inóculo tuvo una densidad óptica promedio a 750 nm de 0.180 y comprendió el 10% del volumen final de operación de cada biorreactor montado.



**Figura 5. Montaje de biorreactor para la propagación de *C. vulgaris* en 400 mL de medio basal Bold.**

La cinética de referencia en medio Basal Bold se realizó por triplicado en frascos Schott (Figura 5) y cada uno se llevó a un volumen de operación de 400 mL. Las cinéticas de crecimiento en FBA diluido y el medio de cultivo formulado también se llevaron a cabo por triplicado. Estos experimentos se montaron en matraces Erlenmeyer de 1 L, sellados con un tapón de hule, donde se conectaron las mangueras de entrada de aire y de salida de gases exhaustos (Figura 6). El volumen final de operación de estos biorreactores fue de 600 mL.

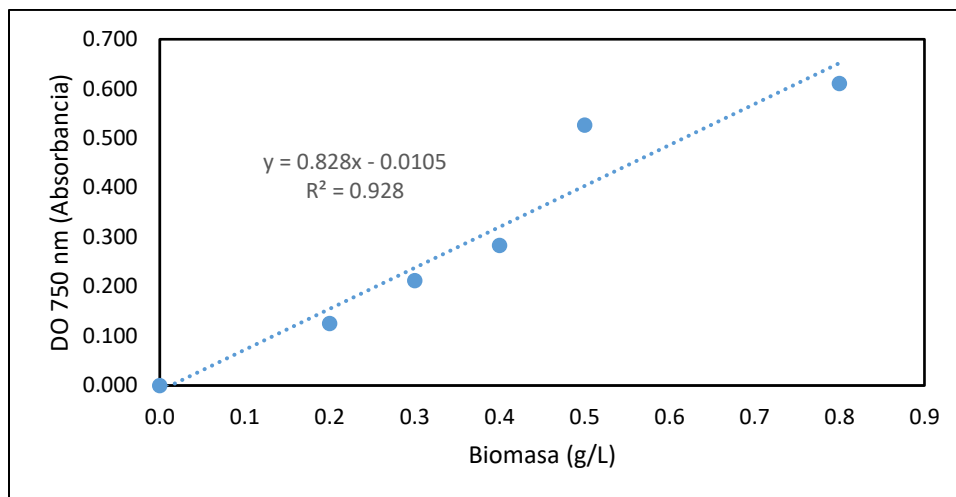
Todos los biorreactores se incubaron a las mismas condiciones que los biorreactores de propagación inicial durante 38 días.



**Figura 6. Montaje de biorreactores para la propagación de *C. vulgaris* en 600 mL de medios con FBA.**

#### **Elaboración de curva de calibración de biomasa de *C. vulgaris***

La curva de peso seco de *C. vulgaris* se realizó de manera similar a la de *L. plantarum*, donde se prepararon 6 tubos Eppendorf de 1.5 mL los cuales se secaron durante 48 h a 65°C en un horno Memmert UF7, para posteriormente pesarlos en una balanza analítica (Nimbus Adam). Se prepararon diluciones de 1 mL de volumen final que contenían 0, 20, 40, 60, 80 y 100% de muestra de microalgas crecidas en medio Basal Bold. La absorbancia se cuantificó a 750 nm en el espectrofotómetro (Thermo Scientific™ Multiskan™ GO). A continuación, se llevó a cabo una centrifugación igual que en el peso seco de *L. plantarum* para retirar el sobrenadante y hacer un segundo secado en las mismas condiciones para obtener los pesos secos de cada tubo. La relación entre el peso y la absorbancia se muestra en la Figura 7.



**Figura 7. Curva de calibración de biomasa de *C. vulgaris* en medio Basal Bold.**

### **Toma y lectura de muestras**

Con el objetivo de modelar y conocer la cinética de crecimiento de *C. vulgaris*, se tomó 1 mL de muestra diariamente hasta los 38 días. Las muestras se llevaron a congelación a  $\sim 15^{\circ}\text{C}$  en un congelador Forma® Flammable Storage durante 1 semana. Semanalmente, las muestras fueron descongeladas a temperatura ambiente por aproximadamente 1 hora para posteriormente determinar su densidad óptica.

Las muestras se llevaron a centrifugación a 10,000 rpm durante 5 minutos (Hermle Z216M High Capacity High-Speed Benchtop Microcentrifuge) y se retiró el sobrenadante para remover la coloración del FBA y del nejayote adicionados en los medios de propagación. El pellet se resuspendió en 1 mL de agua destilada. Las muestras de medio Basal Bold fueron utilizadas directamente sin pretratamiento. Posteriormente, se tomó una alícuota de 200  $\mu\text{L}$  de cada muestra tratada y se dispensó en una microplaca de 96 pocillos. Para finalizar, se determinó la densidad óptica de todas las muestras a 750 nm en un espectrofotómetro (Thermo Scientific™ Multiskan™ GO), con el objetivo de relacionar la absorbancia de la muestra con biomasa en peso seco [45].

### *Determinación de parámetros cinéticos de *L. plantarum* y *C. vulgaris*.*

Los datos experimentales obtenidos, provenientes del crecimiento de *L. plantarum*, fueron acoplados a un modelo cinético de Contois (Ecuación 2). A diferencia de otros modelos

cinéticos, como el de Monod o Tessier, el modelo de Contois toma en cuenta que la alta concentración de células en el medio impide la degradación del sustrato, por ende, a medida que aumenta la biomasa la tasa de crecimiento disminuye ( $\mu$ ) [46] [47]. Asimismo, se ha reportado que este modelo describe el crecimiento de otras especies de lactobacilos como *Lactobacillus paracasei* en un proceso de fermentación sin control de pH, así como *L. bulgaricus*, *L. casei*, *L. fermentum*, *L. delbrueckii* y *L. lactis* en un cultivo sumergido por lotes [48] [49].

La utilización del modelo cinético permite determinar la afinidad al sustrato ( $K_s$ ) por parte del microorganismo, la tasa de crecimiento máximo ( $\mu_{max}$ ), y el rendimiento de biomasa por cada gramo de sustrato ( $Y_{x/s}$ ), para cada tratamiento promediando todas sus repeticiones (Tabla 5). Las simulaciones fueron corridas en el programa MATLAB© (Versión R2024b).

$$\mu = \mu_{max} \frac{S}{S + K_s X}$$

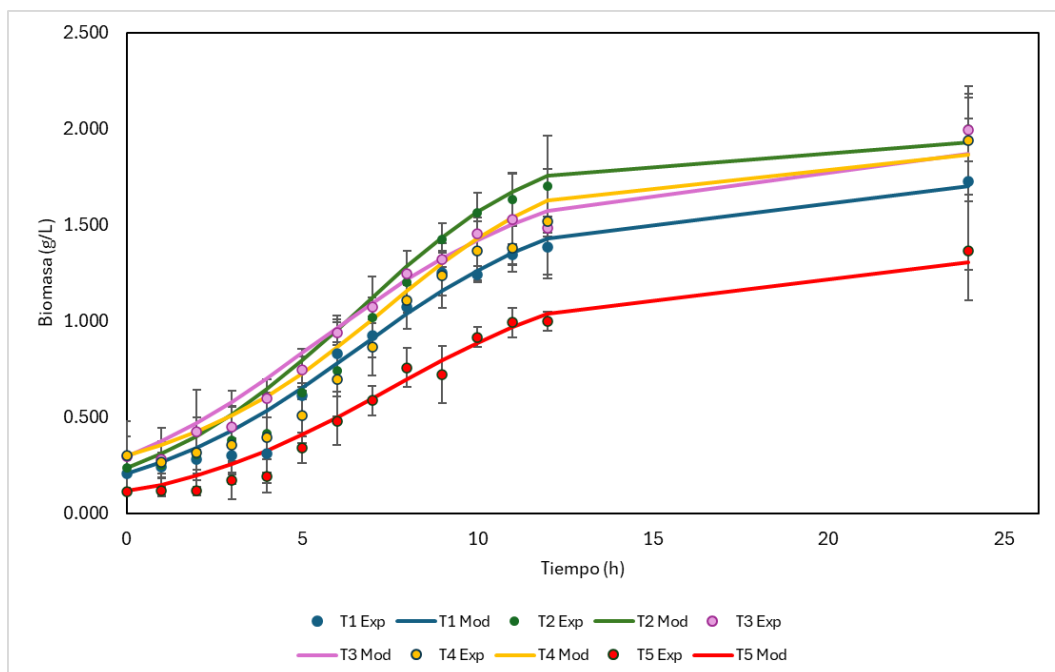
**Ecuación 2. Modelo de Contois para una cinética microbiana [50].**

**Tabla 5. Parámetros cinéticos (promediados) de crecimiento de *L. plantarum* en medio con FBA.**

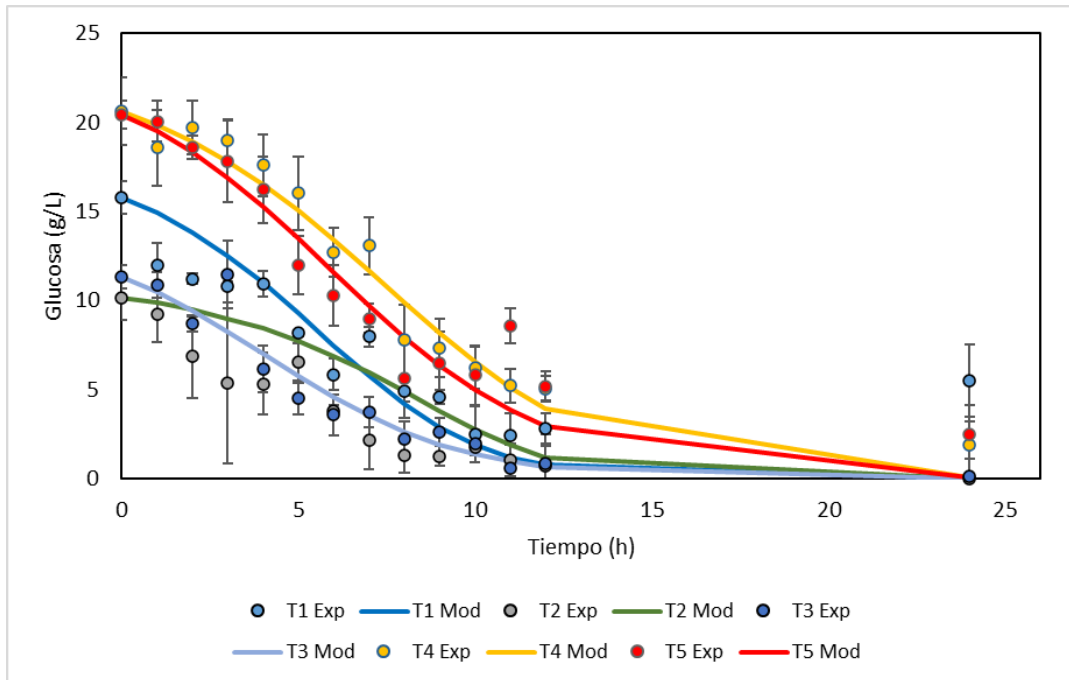
| Tratamiento | $K_s$   | $\mu_{max}$ (h <sup>-1</sup> ) | $Y_{x/s}$ (g/g) |
|-------------|---------|--------------------------------|-----------------|
| 1           | 9.3742  | 0.2985                         | 0.0898          |
| 2           | 4.6029  | 0.3020                         | 0.1534          |
| 3           | 7.2770  | 0.3139                         | 0.1466          |
| 4           | 8.3712  | 0.2548                         | 0.0633          |
| 5           | 19.3020 | 0.3264                         | 0.0558          |
| MRS         | 13.2492 | 0.5730                         | 0.1894          |

Realizando un enfoque de los parámetros cinéticos de los tratamientos 1-5 (Tabla 5), se puede observar una mayor afinidad de *L. plantarum* al tratamiento 2 frente al resto de los tratamientos. De igual manera, el tratamiento 2 presentó un mejor rendimiento de biomasa por cada gramo de sustrato (0.1534 g/g), finalmente se observa una  $\mu_{max}$  menor comparando con los tratamientos 3 y 5. El tratamiento 5, en cambio, presentó el menor crecimiento total de biomasa (1.3660g/L) en comparación con los demás tratamientos, al igual que una menor afinidad ( $K_s$ ) por el sustrato en el medio con FBA.

Los datos modelados fueron comparados frente a los experimentales obteniendo valores de correlación promedio entre 0.9767-0.9876 para biomasa y de 0.9396-0.9460 para sustrato. En los valores promediados para cada tratamiento se observó un mayor crecimiento en el tratamiento 3 obteniendo una concentración de 1.9988 g/L de biomasa (Figura 8). En la Figura 9 se muestra el consumo de sustrato con respecto al tiempo para la cinética de *L. plantarum*, para todos los tratamientos en medio con FBA.



**Figura 8. Comparación de cinéticas de crecimiento de *L. plantarum* en medio con FBA. Exp: Experimental y Mod: Modelado.**



**Figura 9. Comparación de cinéticas de consumo de sustrato de *L. plantarum* en medio con FBA. Exp: Experimental y Mod: Modelado.**

Los datos experimentales obtenidos, provenientes del crecimiento de *C. vulgaris*, fueron acoplados a un modelo logístico (Ecuación 3), pues se ha reportado que el crecimiento de esta especie de alga se ve representado por este modelo [51]. El uso del modelo cinético permite determinar la tasa de crecimiento máximo ( $\mu_{max}$ ) y la cantidad de biomasa máxima que se puede obtener ( $X_{max}$ ) para cada medio de cultivo, promediando todas sus repeticiones (Tabla 6). Las simulaciones fueron corridas en el programa MATLAB© (Versión R2024b).

$$\mu = \mu_{max} \left( \frac{X_{max} - X}{X_{max}} \right) X$$

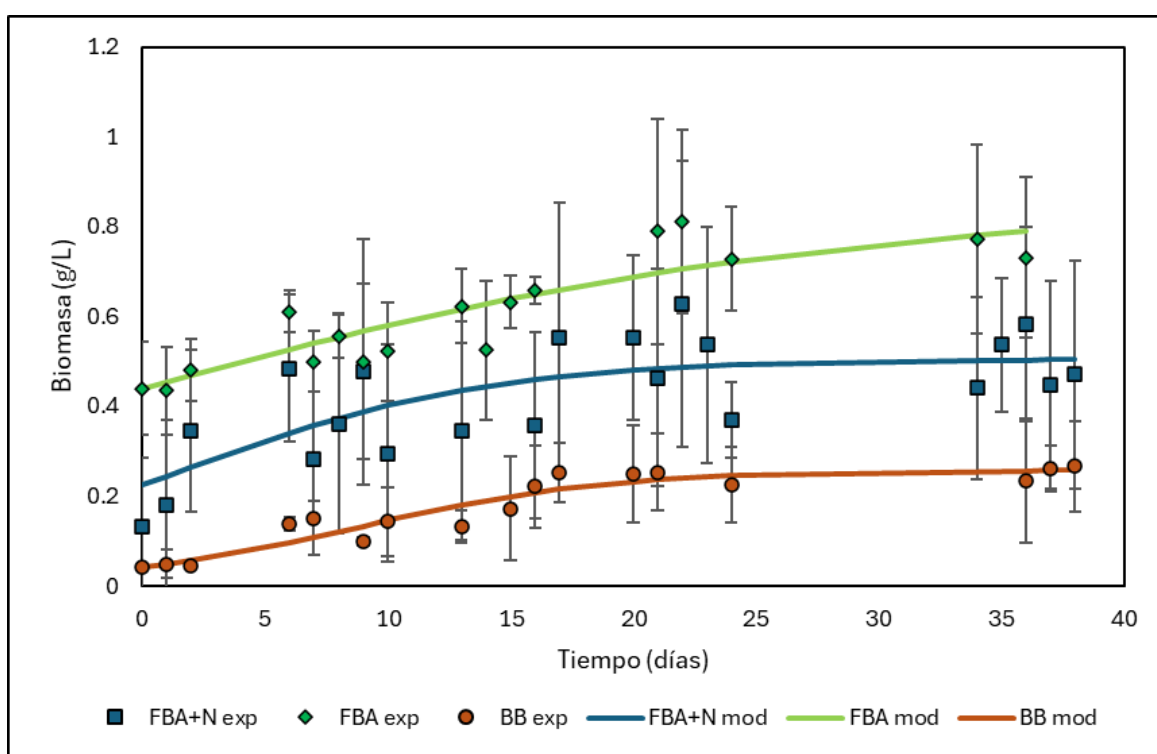
**Ecuación 3. Modelo logístico de crecimiento [51].**

**Tabla 6. Parámetros cinéticos (promediados) de crecimiento de *C. vulgaris* en medios de cultivo distintos.**

| Medio de cultivo             | $\mu_{max}$ (días <sup>-1</sup> ) | $X_{max}$ (g/L) |
|------------------------------|-----------------------------------|-----------------|
| Basal Bold                   | 0.2104                            | 0.2558          |
| Formulado con FBA            | 0.0575                            | 1.0371          |
| Formulado con FBA y nejayote | 0.3673                            | 0.4928          |

Realizando un enfoque de los parámetros cinéticos (Tabla 6), se puede observar una menor tasa específica de crecimiento ( $\mu_{\max}$ ) de *C. vulgaris* en el medio de cultivo formulado con FBA frente a los otros dos medios de cultivo. Esto indica que, a *C. vulgaris* le toma mayor tiempo en llegar a su máxima producción de biomasa en este medio de cultivo. Sin embargo, el medio de cultivo formulado con FBA presentó mayor producción de biomasa, resultando en una concentración máxima de 1.0371 g/L. El medio Basal Bold, en cambio, presentó el menor crecimiento máximo de biomasa (0.2558 g/L) en comparación con los demás medios de cultivo, al igual que una mayor  $\mu_{\max}$ .

Los datos modelados fueron comparados frente a los experimentales (Figura 10) obteniendo valores de correlación. El modelo para el crecimiento en medio Basal Bold mostró la mejor correlación, que corresponde a 0.9433. Seguido de este modelo se encuentra el respectivo para el medio de cultivo formulado con FBA, con una correlación de 0.8858. Finalmente, el modelo para el crecimiento en medio de cultivo formulado con FBA y nejayote obtuvo una correlación de 0.6754.



**Figura 10.** Comparación de cinéticas de crecimiento de *C. vulgaris* en medio Basal Bold (BB), medio formulado con FBA y medio formulado con FBA y nejayote (FBA+N). Se muestran datos experimentales (exp) y datos modelados (mod).

### *Análisis estadístico de parámetros cinéticos para L. plantarum y C. vulgaris*

Se realizaron análisis estadísticos con la intención de determinar diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos de *L. plantarum* y *C. vulgaris* mediante un ANOVA, así como determinar el efecto de la concentración de glucosa y peptona en el medio con FBA (para *L. plantarum*) sobre los parámetros cinéticos mediante un diseño factorial 2<sup>2</sup>. Seguidamente se buscó determinar el efecto de los tratamientos frente a un control, MRS o Basal Bold, para *L. plantarum* y *C. vulgaris* mediante un análisis de Dunnet. Los análisis fueron realizados en Minitab® (Ver. 22.2.2).

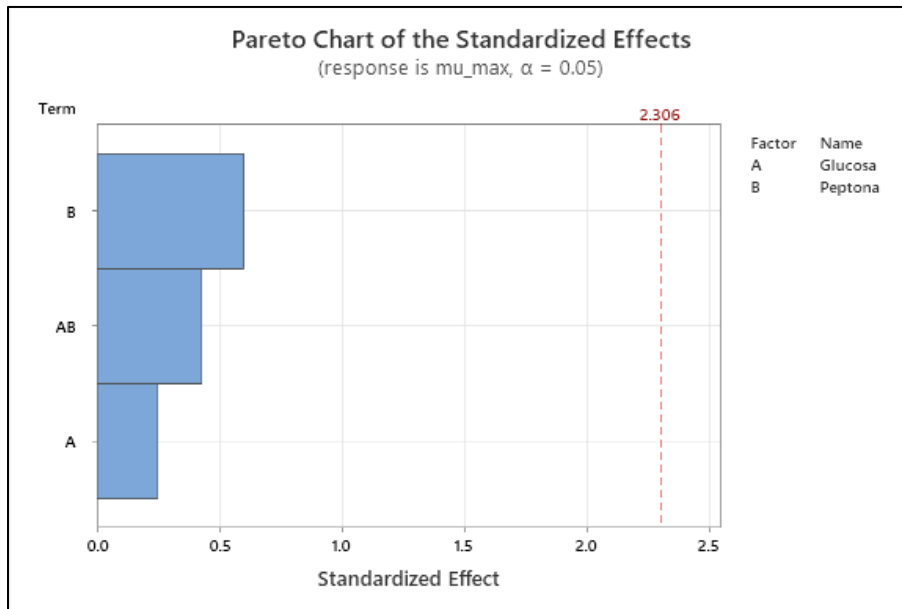
### **Diseño factorial 2<sup>2</sup> para tratamientos de medio formulado con FBA con *L. plantarum***

Con la intención de determinar posibles efectos que presentan la concentración de glucosa y peptona en el medio con FBA sobre los parámetros cinéticos ( $\mu_{\max}$ ,  $K_s$  y  $Y_{x/s}$ ), se optó por un diseño factorial 2<sup>2</sup> con un punto central, 3 réplicas y en 3 bloques.

Para el caso de la  $\mu_{\max}$ , la concentración de glucosa y peptona, al igual que la interacción entre ambas, no presentaron un efecto significativo sobre la tasa de crecimiento máximo, al obtener valores-p mayores a 0.05 (Tabla 7) (Figura 11). Con esto, en mente es relevante mencionar la posible existencia de otro factor que presenta un efecto significativo sobre la tasa de crecimiento máximo.

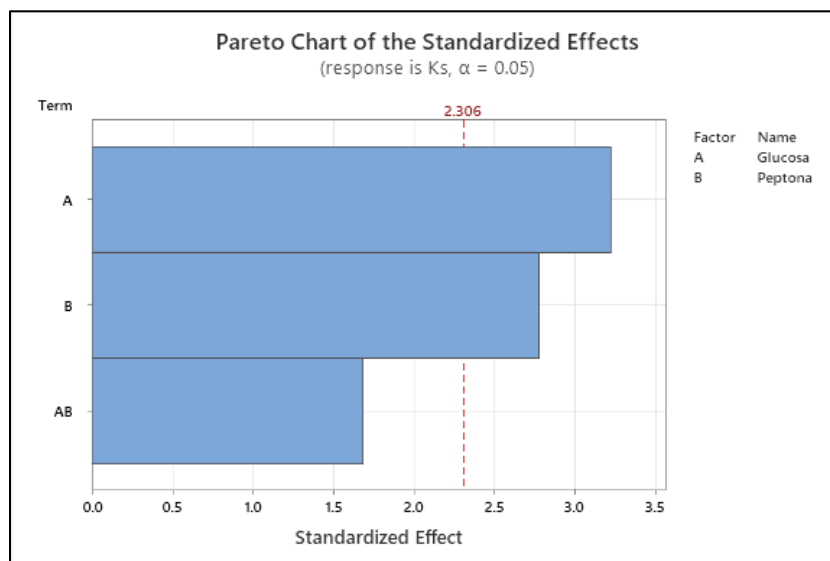
**Tabla 7. Valores-p para concentración de peptona, glucosa e interacción de glucosa y peptona para determinar efecto sobre la tasa de crecimiento máxima ( $\mu_{\max}$ ), afinidad para el sustrato ( $K_s$ ) y rendimiento de biomasa ( $Y_{x/s}$ ).**

| <b>Factor</b>                       | <b>Valor-p para <math>\mu_{\max}</math></b> | <b>Valor-p para <math>K_s</math></b> | <b>Valor-p para <math>Y_{x/s}</math></b> |
|-------------------------------------|---|--------------------------------------|--|
| Concentración de peptona            | 0.565                                       | 0.024                                | 0.528                                    |
| Concentración de glucosa            | 0.809                                       | 0.012                                | 0.000                                    |
| Interacción entre glucosa y peptona | 0.679                                       | 0.130                                | 0.975                                    |



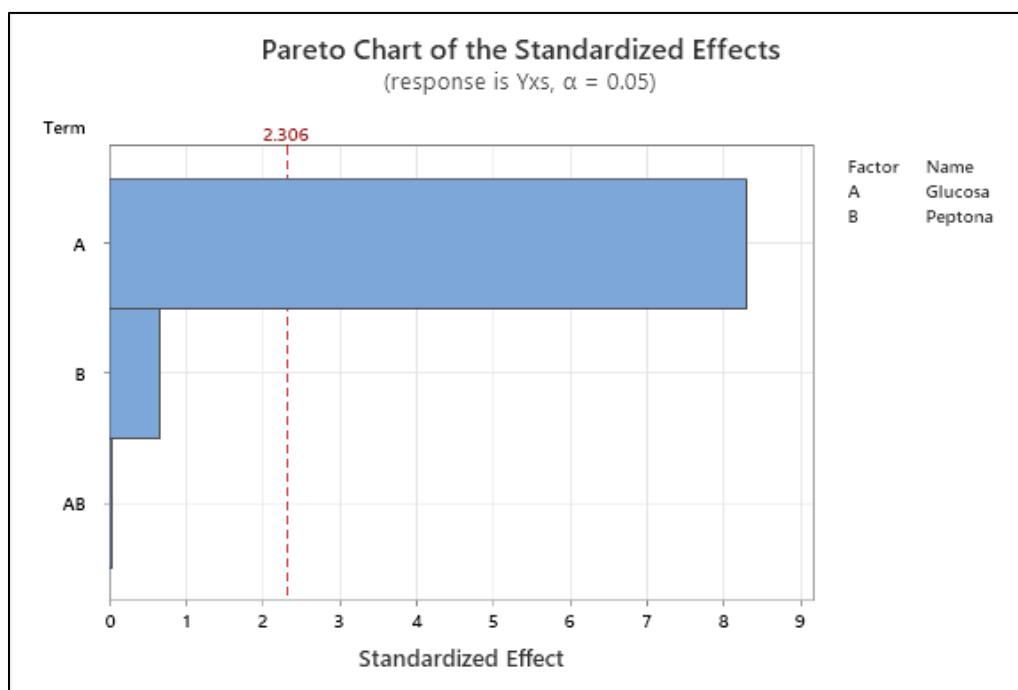
**Figura 11. Diagrama de Pareto de efecto estandarizado de concentración de glucosa, peptona e interacción entre ambos sobre  $\mu_{max}$ .**

De igual manera, se determinó el efecto de dichos factores sobre la afinidad al sustrato ( $K_s$ ), con un 95% de confianza, se puede determinar que la concentración de glucosa y peptona, presentan un efecto significativo sobre la afinidad al sustrato (Valor- $p < 0.05$ ), sin embargo, la interacción entre ambos no presentó un efecto estadísticamente significativo (Valor- $p > 0.05$ ) (Tabla 7) (Figura 12).



**Figura 12. Diagrama de Pareto de efecto estandarizado de concentración de glucosa, peptona e interacción entre ambos sobre  $K_s$ .**

Seguidamente, se determinó el efecto de dichos factores sobre el rendimiento de biomasa ( $Y_{x/s}$ ), con un 95% de confianza, la concentración de glucosa presenta un efecto significativo sobre el rendimiento de biomasa (Valor- $p < 0.05$ ) y la interacción entre ambos no presentó un efecto estadísticamente significativo (Valor- $p > 0.05$ ) (Tabla 7) (Figura 13).



**Figura 13. Diagrama de Pareto de efecto estandarizado de concentración de glucosa, peptona e interacción entre ambos sobre  $Y_{x/s}$ .**

La validez de los resultados obtenidos en el análisis de varianza depende del cumplimiento de los supuestos del modelo. Estos suponen que la variable de respuesta se distribuye normalmente, con varianza constante en cada tratamiento, y que las observaciones son independientes. Los residuales se definen como la diferencia entre la respuesta observada y la respuesta predicha por el modelo, lo cual permite hacer un diagnóstico de la calidad del modelo, ya que su magnitud señala qué tan bien describe a los datos el modelo. Para la prueba de normalidad se utiliza la prueba de Anderson Darling y para la de homogeneidad de varianzas la prueba de Bartlett [52]. Bajo lo mencionado anteriormente, el diseño factorial presenta una distribución normal (Figura 14a) (Figura 15a) (Figura 16a), varianza constante (Figura 14b) (Figura 15b) (Figura 16b) en los tratamientos e independencia en las

observaciones (Figura 14d)(

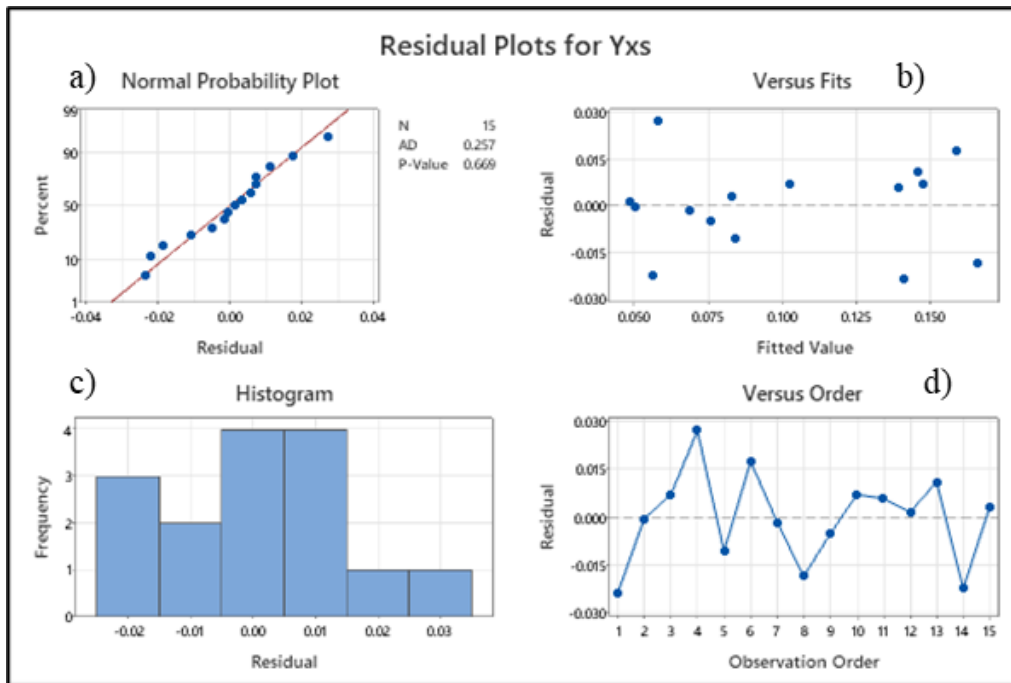


Figura 15d) (Figura 16d).

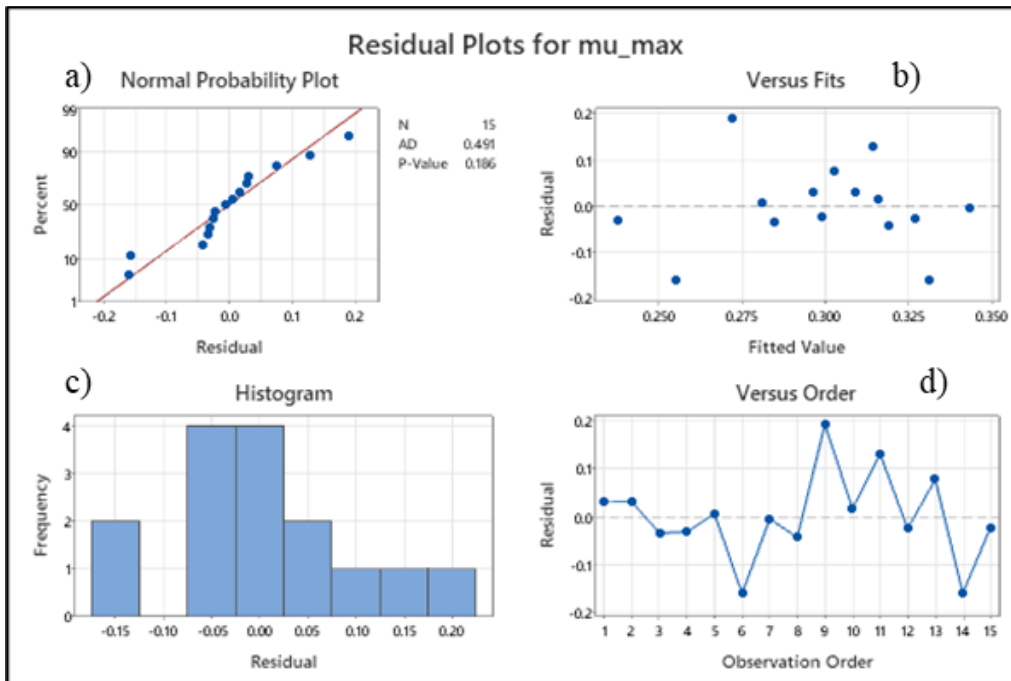


Figura 14. Residuales para comprobación de supuestos para  $\mu_{max}$ . a) Prueba de normalidad, b) Prueba de homocedasticidad, c) Prueba de normalidad de varianza, d) Prueba de independencia.

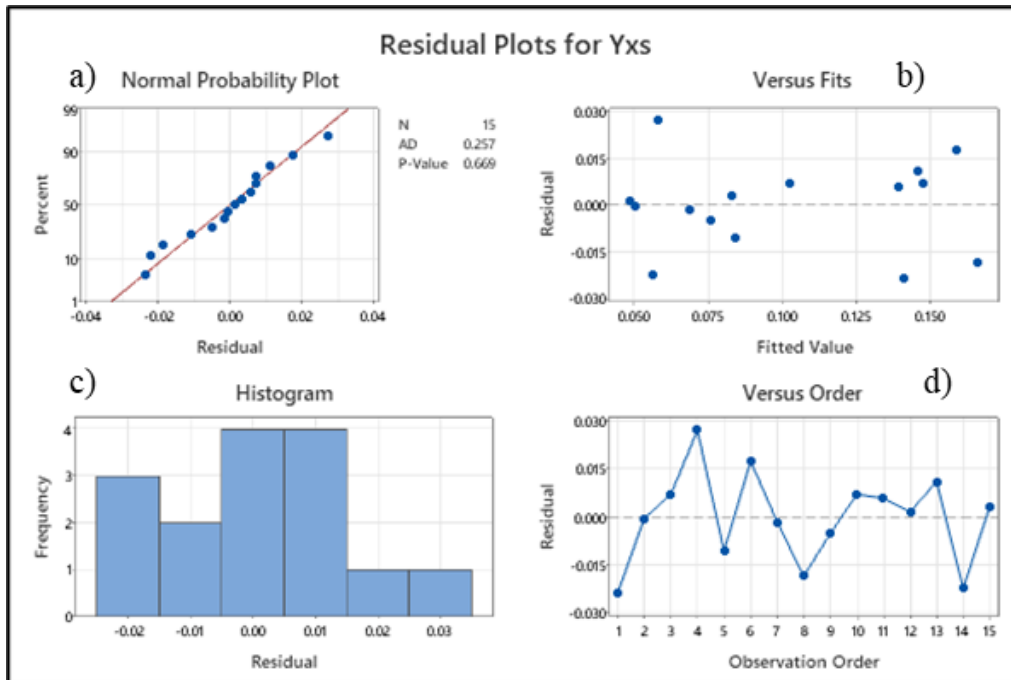


Figura 15. Residuales para comprobación de supuestos para  $Y_{x/s}$ . a) Prueba de normalidad, b) Prueba de homocedasticidad, c) Prueba de normalidad de varianza, d) Prueba de independencia

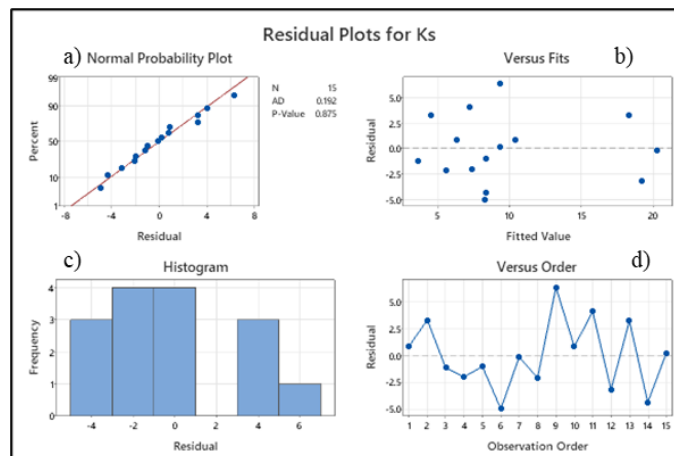


Figura 16. Residuales para comprobación de supuestos para  $K_s$ . a) Prueba de normalidad, b) Prueba de homocedasticidad, c) Prueba de normalidad de varianza, d) Prueba de independencia

### Comparación entre tratamientos por ANOVA, Tukey para *L. plantarum* y optimización de respuesta

Con la intención de determinar la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos, los parámetros cinéticos de afinidad al sustrato ( $K_s$ ) así como

rendimientos de biomasa ( $Y_{x/s}$ ) obtenidos para cada tratamiento se sometieron a un análisis ANOVA. Se realizó una prueba de dos colas con un nivel de significancia de 0.05 ( $\alpha=0.05$ ), donde la hipótesis nula declara, que no existe diferencia estadística entre las medias de los tratamientos y la hipótesis alterna declara la existencia de diferencia estadística entre las medias de los tratamientos. Este mismo procedimiento se realizó para la comparación de los tratamientos frente a un control (MRS) por el método de Dunnet.

El análisis de varianza para la afinidad al sustrato ( $K_s$ ) obtuvo un Valor-p de 0.009 con un  $R^2$  de 71.05% (Tabla 8), indicando la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos.

**Tabla 8. Valor-p y  $R^2$  de modelo ANOVA para los parámetros cinéticos de tratamientos con medio FBA (Tratamientos 1-5).**

| Parámetro cinético | $R^2$  | Valor-p |
|--------------------|--------|---------|
| $K_s$              | 71.05% | 0.009   |
| $Y_{x/s}$          | 86.14% | 0.000   |

Mediante las comparaciones por pares de Tukey fue posible identificar dos grupos que presentaban diferencias estadísticas entre sí con un 95% de confianza: el grupo A, conformado por los tratamientos 1 y 5, así como el grupo B, conformado por los tratamientos 1, 2, 3 y 4 (Tabla 9) (

Tabla 10).

**Tabla 9. Información de agrupamiento por método de Tukey con 95% de confianza para  $K_s$ . \*Medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.**

| Diferencia de niveles | Número de replicas | Media | Agrupamiento |
|-----------------------|--------------------|-------|--------------|
| 5                     | 3                  | 19.30 | A            |
| 1                     | 3                  | 9.37  | A B          |
| 4                     | 3                  | 8.37  | B            |
| 3                     | 3                  | 7.28  | B            |
| 2                     | 3                  | 4.60  | B            |

**Tabla 10. Valor-p ajustado e intervalos de confianza por método de Tukey con 95% de confianza para  $K_s$ . Hipótesis nula se rechaza si valor-p es < 0.05.**

| Diferencia entre niveles | Diferencia entre promedios | Intervalo de confianza (95%) | Valor-p ajustado |
|--------------------------|----------------------------|------------------------------|------------------|
| 2 - 1                    | -4.77                      | (-15.30, 5.76)               | 0.590            |
| 3 - 1                    | -2.10                      | (-12.63, 8.44)               | 0.962            |
| 4 - 1                    | -1.00                      | (-11.54, 9.53)               | 0.998            |
| 5 - 1                    | 9.93                       | (-0.60, 20.46)               | 0.067            |
| 3 - 2                    | 2.67                       | (-7.86, 13.21)               | 0.914            |
| 4 - 2                    | 3.77                       | (-6.76, 14.30)               | 0.764            |
| 5 - 2                    | 14.70                      | (4.17, 25.23)                | 0.007            |
| 4 - 3                    | 1.09                       | (-9.44, 11.63)               | 0.997            |
| 5 - 3                    | 12.02                      | (1.49, 22.56)                | 0.024            |
| 5 - 4                    | 10.93                      | (0.40, 21.46)                | 0.041            |

Seguidamente, el análisis de varianza para rendimiento ( $Y_{x/s}$ ) presentó un Valor-p de 0.000 con un 95% de confianza y una  $R^2$  de 86.14%, indicando diferencias estadísticas entre los tratamientos (Tabla 8). Se presentaron dos grupos mediante la prueba de Tukey: el grupo A, compuesto por los tratamientos 2 y 3, así como el grupo B, compuesto por los tratamientos 1, 4 y 5 (Tabla 11) (Tabla 12).

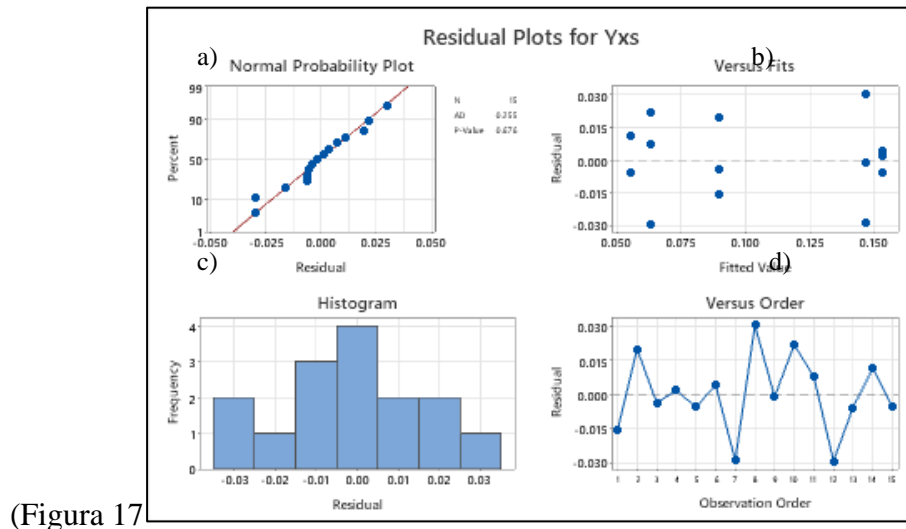
**Tabla 11. Información de agrupamiento por método de Tukey con 95% de confianza para  $Y_{x/s}$ . \*Medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.**

| Tratamiento | Número de replicas | Media (g/g) | Agrupamiento |
|-------------|--------------------|-------------|--------------|
| 2           | 3                  | 0.1534      | A            |
| 3           | 3                  | 0.1466      | A            |
| 1           | 3                  | 0.0898      | B            |
| 4           | 3                  | 0.0633      | B            |
| 5           | 3                  | 0.0558      | B            |

**Tabla 12. Valor-p ajustado e intervalos de confianza por método de Tukey con 95% de confianza para Ks. Hipótesis nula se rechaza si valor-p es < 0.05.**

| Diferencia entre niveles | Diferencia entre promedios | Intervalo de confianza (95%) | Valor-p ajustado |
|--------------------------|----------------------------|------------------------------|------------------|
| 2 - 1                    | -4.77                      | (0.0095, 0.1177)             | 0.021            |
| 3 - 1                    | -2.10                      | (0.0026, 0.1108)             | 0.039            |
| 4 - 1                    | -1.00                      | (-0.0806, 0.0276)            | 0.523            |
| 5 - 1                    | 9.93                       | (-0.0881, 0.0201)            | 0.303            |
| 3 - 2                    | 2.67                       | (-0.0609, 0.0473)            | 0.993            |
| 4 - 2                    | 3.77                       | (-0.1442, -0.0360)           | 0.002            |
| 5 - 2                    | 14.70                      | (-0.1517, -0.0435)           | 0.001            |
| 4 - 3                    | 1.09                       | (-0.1373, -0.0291)           | 0.003            |
| 5 - 3                    | 12.02                      | (-0.1449, -0.0367)           | 0.002            |
| 5 - 4                    | 10.93                      | (-0.0616, 0.0466)            | 0.990            |

Se validaron los supuestos del modelo con la intención de validar las diferencias estadísticas obtenidas. El valor-p de los residuales para el rendimiento de biomasa, así como, para la afinidad del sustrato son mayores a 0.05, se concluye que presentan una distribución normal (Figura 17a) (Figura 18a). La prueba de homocedasticidad no presenta forma contundente, como de corneta o rombo, y por lo tanto se cumple una varianza constante



(Figura 17)

Figura 17b) (Figura 18b). Finalmente, los valores-p mayores a 0.05 de las pruebas de independencia indican la presencia de error aleatorio y no existe una correlación entre

errores (Figura 17

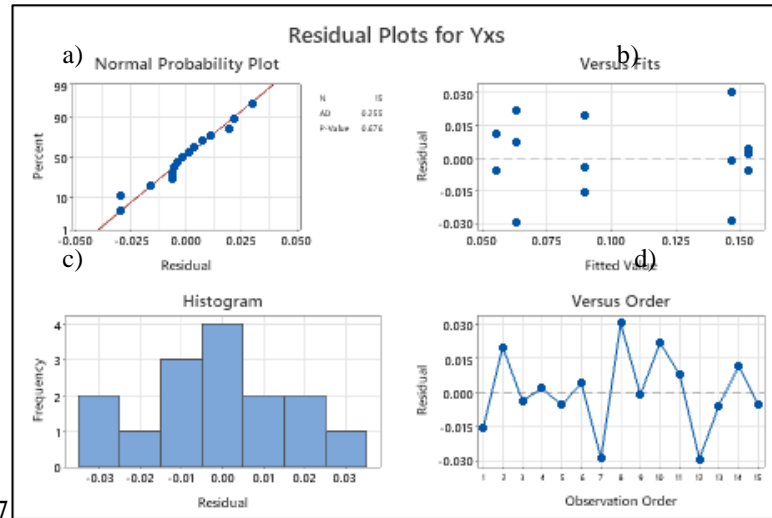


Figura 17d) (Figura 18

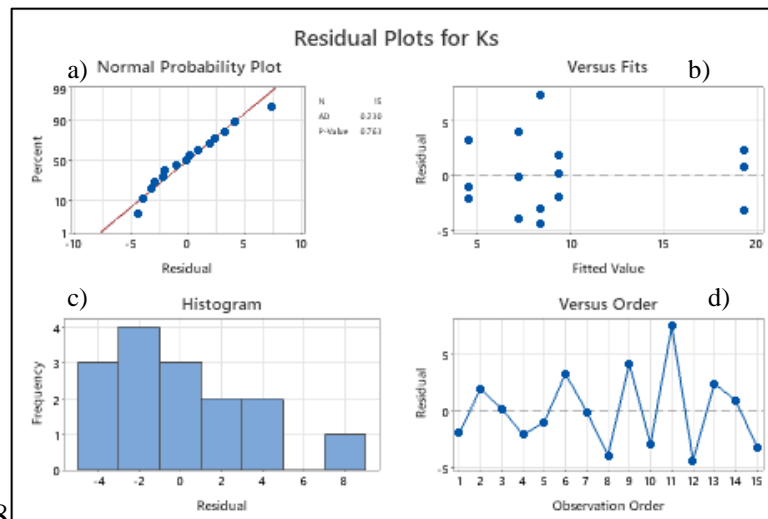


Figura 18d). Por ende, se validan las diferencias estadísticas obtenidas por el método de Tukey para estos parámetros cinéticos.

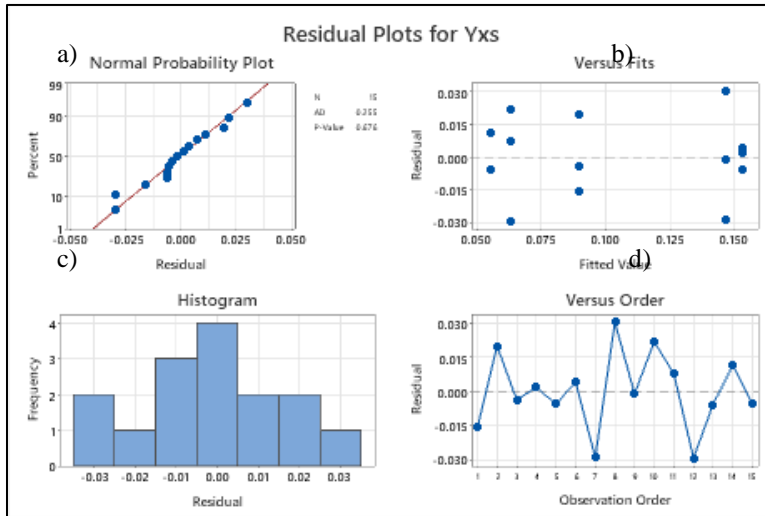


Figura 17. Residuales para comprobación de supuestos para  $Y_{x/s}$ . a) Prueba de normalidad, b) Prueba de homocedasticidad, c) Prueba de normalidad de varianza, d) Prueba de independencia

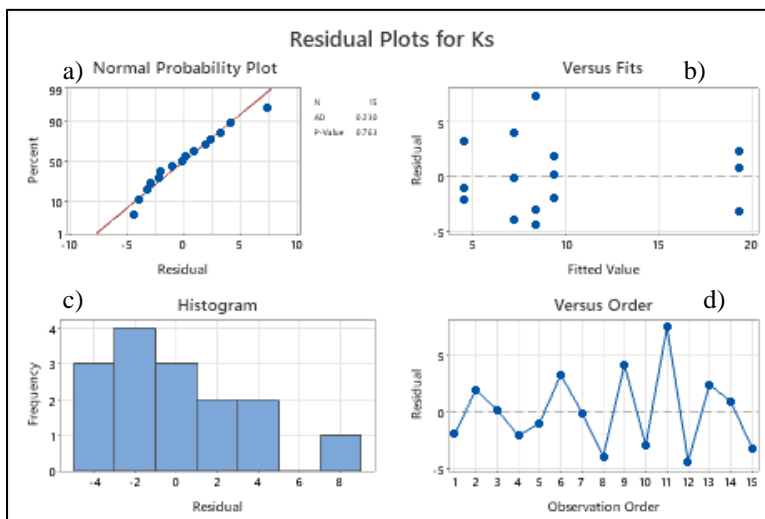


Figura 18. Residuales para comprobación de supuestos para  $K_s$ . a) Prueba de normalidad, b) Prueba de homocedasticidad, c) Prueba de normalidad de varianza, d) Prueba de independencia

Finalmente, se buscó optimizar la respuesta para el rendimiento de biomasa entre los tratamientos, encontrando entonces que los niveles de óptimos de concentración de glucosa y peptona son de 10g/L y 20g/L respectivamente (Figura 19).

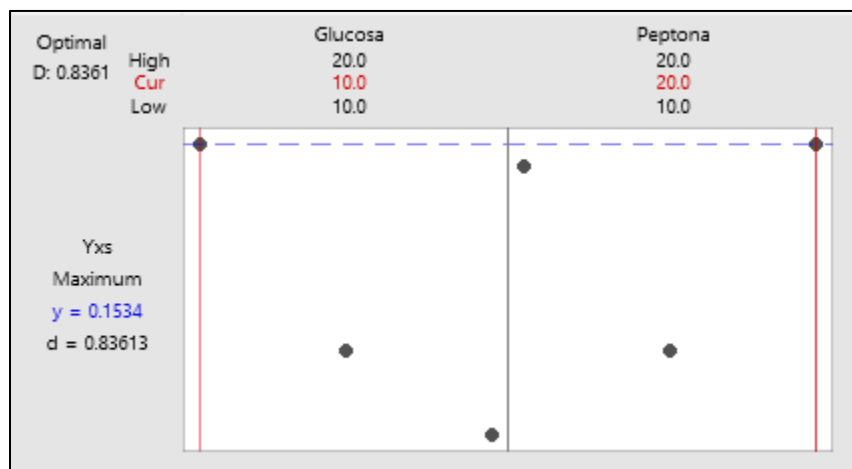


Figura 19. Optimización de respuesta para rendimiento de biomasa  $Y_{x/s}$  de medio FBA.

### Comparación entre tratamientos frente a MRS por Dunnett para *L. plantarum*

Con la intención de determinar la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos y un medio de cultivo control (MRS), los parámetros cinéticos de afinidad al sustrato ( $K_s$ ) y rendimiento de la biomasa en relación con el sustrato consumido ( $Y_{x/s}$ ) obtenidos para cada tratamiento se sometieron a un análisis de varianza para obtener la  $R^2$  del modelo y el valor p para cada parámetro cinético. Debido a que para ambos parámetros se obtuvo un valor- $p < \alpha$  (Tabla 13) posteriormente se sometieron a una prueba de Dunnett con un nivel de significancia de 0.05 ( $\alpha=0.05$ ), donde la hipótesis nula declara que no existe diferencia estadística entre las medias del control y tratamientos y la hipótesis alterna declara la existencia de diferencia estadística entre la media del control y los tratamientos.

Tabla 13. P-value y  $R^2$  de modelo ANOVA para los parámetros cinéticos de tratamientos con medio FBA y MRS.

| Parámetro cinético | $R^2$   | Valor -p |
|--------------------|---------|----------|
| $K_s$              | 71.90%  | 0.005    |
| $Y_{x/s}$          | 90.17 % | 0.000    |

La agrupación de la prueba de Dunnett para la  $K_s$  indica que existe diferencia estadísticamente significativa entre la media del tratamiento 2 y la media del control, no obstante, no se puede concluir de manera confiable, ya que el valor p es de 0.05 (Tabla 14).

**Tabla 14. Información de agrupamiento, valor p ajustado e intervalos de confianza por método de Dunnett con 95% de confianza para  $K_s$ . \*Medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.**

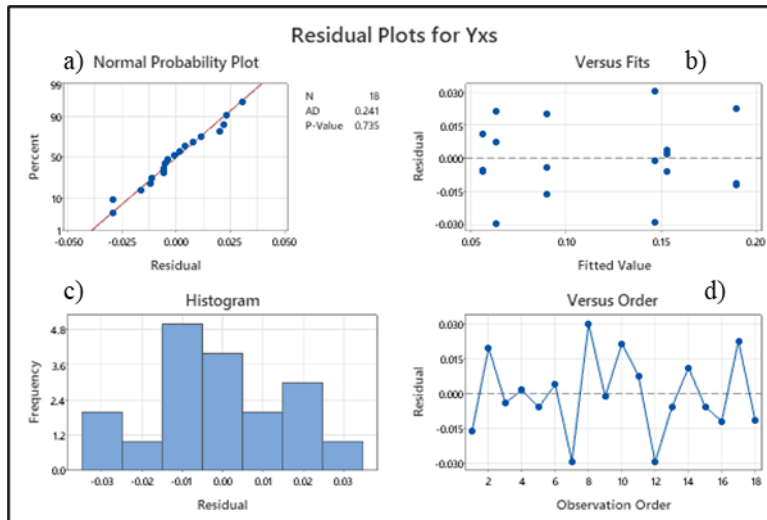
| Tratamiento   | Número de réplicas | Media  | Agrupamiento | Valor-p ajustado | Intervalos de confianza (95%) |
|---------------|--------------------|--------|--------------|------------------|-------------------------------|
| MRS (control) | 3                  | 13.249 | A            |                  |                               |
| 5             | 3                  | 19.30  | A            | 0.214            | (-2.58, 14.68)                |
| 1             | 3                  | 9.370  | A            | 0.58             | (-12.51, 4.76)                |
| 4             | 3                  | 8.37   | A            | 0.382            | (-13.51, 3.75)                |
| 3             | 3                  | 7.28   | A            | 0.223            | (-14.6, 2.66)                 |
| 2             | 3                  | 4.60   |              | 0.050            | (-17.28, -0.01)               |

La prueba de Dunnett para  $Y_{x/s}$  revela que no existe diferencia estadística significativa entre la media del control y los tratamientos 2 y 3, además se concluye que los tratamientos 1, 4 y 5 minimizan significativamente  $Y_{x/s}$  respecto al control, ya que se obtuvieron intervalos de confianza negativos (Tabla 15).

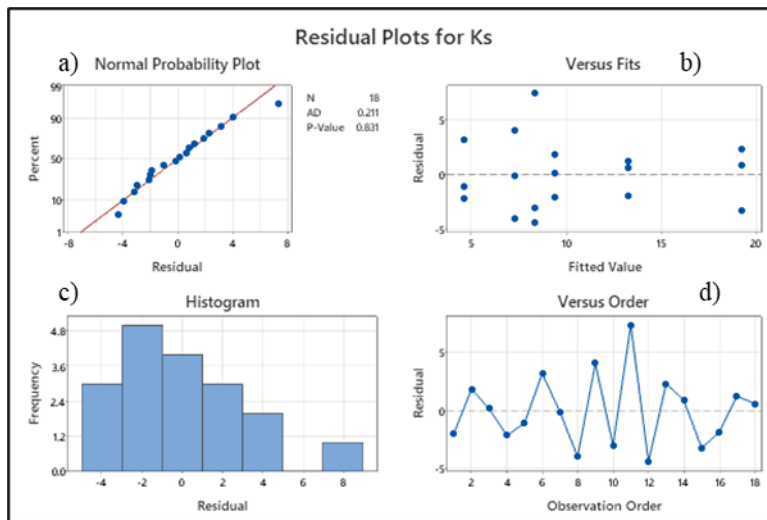
**Tabla 15. Información de agrupamiento, valor p ajustado e intervalos de confianza por método de Dunnett con 95% de confianza para  $Y_{x/s}$ . \*Medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.**

| Tratamiento   | Número de réplicas | Media   | Agrupamiento | Valor-p ajustado | Intervalos de confianza (95%) |
|---------------|--------------------|---------|--------------|------------------|-------------------------------|
| MRS (control) | 3                  | 0.1894  | A            |                  |                               |
| 2             | 3                  | 0.15340 | A            | 0.165            | (-0.0836, 0.0116)             |
| 3             | 3                  | 0.1466  | A            | 0.082            | (-0.0905, 0.0047)             |
| 1             | 3                  | 0.0898  |              | 0.000            | (-0.1472, -0.0520)            |
| 4             | 3                  | 0.0633  |              | 0.000            | (-0.1737, -0.0785)            |
| 5             | 3                  | 0.05580 |              | 0.000            | (-0.1812, -0.0860)            |

Debido a que los valores-p de los residuales de la prueba de normalidad (Figura 20a) (Figura 21a) son mayores al valor de significancia de 0.05, se concluye que los datos proceden de una distribución normal. De igual manera, para la prueba de homogeneidad de varianzas (Figura 20b) (Figura 21b), no se observa un patrón claro y contundente, como por ejemplo una forma de corneta o embudo, por lo que se cumple el supuesto de varianza constante. Además, los valores-p mayores a 0.05 de las pruebas de independencia (Figura 20d) (Figura 21d) indican que los residuales tienen error aleatorio y no existe una correlación entre los errores.



**Figura 20. Residuales para comprobación de supuestos para  $Y_{x/s}$ . a) Prueba de normalidad, b) Prueba de homocedasticidad, c) Prueba de normalidad de varianza, d) Prueba de independencia.**



**Figura 21. Residuales para comprobación de supuestos para  $K_s$ . a) Prueba de normalidad, b) Prueba de homocedasticidad, c) Prueba de normalidad de varianza, d) Prueba de independencia.**

### **Comparación entre tratamientos frente a medio Basal Bold por Dunnet para *C. vulgaris***

De manera similar, se buscó determinar la existencia de diferencia estadística significativa entre los medios formulados a base de FBA y FBA con Nejayote frente a un control (Medio Basal Bold), mediante el uso de una prueba de Dunnet y un ANOVA con un nivel de

significancia de 0.05 ( $\alpha=0.05$ ). Se reporta un valor- $p < \alpha$  indicando diferencias estadísticas entre los medios (Tabla 16).

**Tabla 16. P-value y R<sup>2</sup> de modelo ANOVA para X<sub>max</sub> de medios con FBA y FBA con Nejayote**

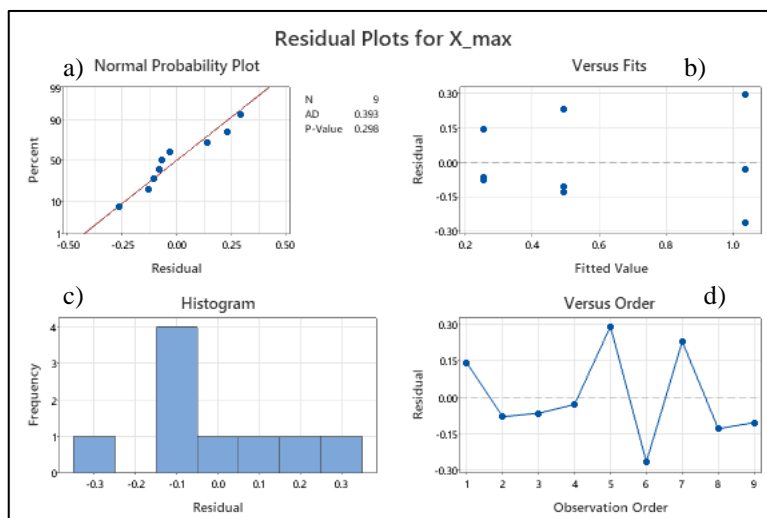
| Parámetro cinético | R <sup>2</sup> | Valor -p |
|--------------------|----------------|----------|
| X <sub>max</sub>   | 78.24%         | 0.010    |

La prueba de Dunnett para X<sub>max</sub> indica que existe diferencia estadísticamente significativa entre la media del medio FBA y la media del control (BB), y tomando en cuenta los intervalos de confianza se puede observar que maximiza la respuesta con respecto al control (Tabla 17)

**Tabla 17. Información de agrupamiento, valor p ajustado e intervalos de confianza por método de Dunnett con 95% de confianza para X<sub>max</sub>. \*Medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.**

| Tratamiento  | Número de réplicas | Media | Agrupamiento | Valor-p ajustado | Intervalos de confianza (95%) |
|--------------|--------------------|-------|--------------|------------------|-------------------------------|
| BB (control) | 3                  | 0.256 | A            |                  |                               |
| FBA          | 3                  | 1.037 |              | 0.007            | (0.288, 1.275)                |
| FBA+N        | 3                  | 0.493 | A            | 0.349            | (-0.257, 0.731)               |

Con la intención de validar la conclusión se analizaron los supuestos del modelo. Debido a que el valor-p es mayor a 0.05 se concluye que presentan una distribución normal. La prueba de homogeneidad de varianzas no muestra una forma contundente, por lo tanto, se pasa dicha prueba. Finalmente, se presenta independencia en las observaciones (Figura 22).



**Figura 22. Residuales para comprobación de supuestos para  $X_{max}$ . a) Prueba de normalidad, b) Prueba de homocedasticidad, c) Prueba de normalidad de varianza, d) Prueba de independencia**

*Determinación de viabilidad de medio de cultivo formulado con FBA y costos*

Para comparar el costo de preparación del medio MRS en relación con los distintos tratamientos, se consideraron los costos del medio MRS, glucosa y peptona. Asimismo, se calculó el costo para preparar MRS con una concentración estándar de 52 g/L (Tabla 18).

**Tabla 18. Costo de los tratamientos de FBA con glucosa y peptona y del medio de cultivo MRS.**

| Tratamiento | Glucosa             |             | Peptona             |             | FBA         |             | Costo total MXN/L | Reducción del costo (%) |
|-------------|---------------------|-------------|---------------------|-------------|-------------|-------------|-------------------|-------------------------|
|             | Concentración (g/L) | Costo MXN/L | Concentración (g/L) | Costo MXN/L | Volumen (L) | Costo MXN/L |                   |                         |
| MRS         | No aplica           | No aplica   | No aplica           | No aplica   | No aplica   | No aplica   | 351               | No aplica               |
| 1           | 2.25                | 12          | 2.25                | 101         | 1           | 3           | 116               | 67.0%                   |
| 2           | 3.00                | 16          | 1.50                | 67.4        | 1           | 3           | 86.4              | 75.4%                   |
| 3           | 1.50                | 8           | 1.50                | 67.4        | 1           | 3           | 78.4              | 77.7%                   |
| 4           | 3.00                | 16          | 3.00                | 135         | 1           | 3           | 154               | 56.1%                   |
| 5           | 1.50                | 8           | 3.00                | 135         | 1           | 3           | 146               | 58.4%                   |

De igual manera, los costos asociados a la preparación de los distintos tratamientos se calcularon considerando las cantidades necesarias para la preparación de 150 mL (Tabla 7). En promedio, los tratamientos evaluados representaron una reducción del 67.9% en el costo de preparación respecto al medio MRS, esto se debe a que el medio MRS contiene 25.25 g/L de otros compuestos, como extracto de carne, extracto de levadura, monooleato de sorbitán,

fosfato dipotásico, acetato de sodio, citrato de amonio, sulfato de magnesio y sulfato de manganeso [53].

El medio Basal Bold, ampliamente utilizado para el cultivo de diversas especies de microalgas, este requiere de una gran cantidad de sales minerales para su preparación como se muestra en la Tabla 19. La tabla, además, resume el costo de cada uno de los componentes en gramos y el costo que representa para la preparación de 1 L de medio.

**Tabla 19. Costos para preparar 1 L de medio Basal Bold [54].**

| Componente                        | Precio por g (MXN/g) | Costo para preparar 1 L (MXN) |
|-----------------------------------|----------------------|-------------------------------|
| CaCl <sub>2</sub>                 | 6.37                 | 0.159                         |
| MgSO <sub>4</sub>                 | 3.25                 | 0.244                         |
| K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>   | 6.37                 | 0.477                         |
| NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>  | 2.39                 | 0.419                         |
| NaCl                              | 0.35                 | 0.009                         |
| KOH                               | 1.48                 | 0.046                         |
| H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>    | 2.91                 | 0.032                         |
| ZnSO <sub>4</sub>                 | 3.35                 | 0.030                         |
| MnCl <sub>2</sub>                 | 1.71                 | 0.003                         |
| Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> | 18.99                | 0.019                         |
| CuSO <sub>4</sub>                 | 9.03                 | 0.018                         |
| FeSO <sub>4</sub>                 | 1.33                 | 0.007                         |
| NaNO <sub>3</sub>                 | 2.47                 | 0.616                         |
| EDTA                              | 2.85                 | 0.142                         |
| H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>    | 0.93                 | 0.001                         |

Aunque aparentemente hay un costo reducido por litro de Basal Bold, de aproximadamente \$2.22, es necesario adquirir las sales mostradas en la Tabla 19 y además requiere un mayor tiempo de preparación lo cual puede incrementar los costos de producción. En caso de que se quisiera reducir el tiempo de preparación, se pueden adquirir sobres a los cuales solo es necesario añadir agua destilada y esterilizar, en este caso el costo se eleva a aproximadamente \$10.50 por litro [55]. Mientras tanto, el FBA (3 MXN/L) es un subproducto generado en el proceso de producción del tequila y el nejayote es un residuo de la nixtamalización del maíz

por lo que el éxito de su implementación como medio de cultivo representaría un ahorro tanto en tiempo como en recursos económicos.

## 1.6. Valoración de productos, resultados e impactos

### *Optimización de medio FBA con *L. plantarum**

En cuanto a *L. plantarum*, como se mencionó en la sección de resultados, el tratamiento con la mayor tasa de crecimiento, fue el tratamiento 5 ( $\mu_{\max} = 0.3264 \text{ h}^{-1}$ ). Sin embargo, el tratamiento 2 mostró el mayor rendimiento biomasa sustrato ( $Y_{x/s} = 1534 \text{ g/g}$ ) y la mejor afinidad al sustrato ( $K_s = 4.60 \text{ g/L}$ ). Lo anterior se determinó considerando que la tasa máxima de crecimiento ( $\mu_{\max}$ ) indica, como su nombre lo dice, la velocidad más alta a la que una población microbiana puede crecer en condiciones ideales, el rendimiento biomasa sustrato ( $Y_{x/s}$ ) indica los gramos de biomasa generados por gramos de sustrato consumidos [56] y finalmente la constante de afinidad ( $K_s$ ) mientras menor sea su valor mayor es la afinidad del microorganismo por el sustrato [57].

Este comportamiento es coherente con lo determinado en el análisis estadístico que sugiere que la concentración de glucosa en el medio tiene un efecto significativo sobre el rendimiento y la constante de afinidad, pues el tratamiento 2 es el que tiene un mayor contenido de glucosa junto con el tratamiento 5 con  $20 \text{ g/L}$ , sin embargo, el tratamiento 5 a pesar de tener una concentración elevada de glucosa y peptona no presentó el mejor rendimiento ni la mejor afinidad al sustrato. Esto dio como resultado la menor cantidad de biomasa final a pesar de tener la mejor tasa de crecimiento. Esto podría indicar que las condiciones iniciales fueron óptimas, pero algo limitó su crecimiento a lo largo del tiempo, probablemente la acumulación de algún metabolito tóxico, un cambio en el pH, el agotamiento de algún nutriente esencial o inhibición por una alta densidad celular [58]. Finalmente, con la intención de determinar las condiciones óptimas de rendimiento de biomasa, se optimizaron los factores (concentración de glucosa y peptona) y se encontró un mayor rendimiento a  $10 \text{ g/L}$  y  $20 \text{ g/L}$ , respectivamente.

Por otro lado, no se observó un efecto significativo en las concentraciones de glucosa ni peptona sobre la tasa de crecimiento lo cual podría indicar la influencia de otro factor sobre

el crecimiento como la temperatura de incubación o el pH del medio que suelen ser parte de los factores que más afectan en el cultivo de microorganismos [59].

En comparación con otros autores que han utilizado medios de cultivo de bajo costo para el crecimiento de *L. plantarum*, Mechmeche *et al.* [60] encontraron que la concentración final de biomasa en un aislado de semilla de tomate rico en proteína fue de 1.24 g/L luego de 24 h de incubación a 37 °C y una tasa máxima de crecimiento de 0.169 h<sup>-1</sup>, por su parte, Ślizewska & Chlebicz-Wójcik [61] determinaron que la tasa máxima de crecimiento para *L. plantarum* en un medio de bajo costo a partir de harinas de maíz, cebada, centeno y avena fue de 0.22 h<sup>-1</sup> y, otros autores como Figueredo *et al.* [62], reportaron una  $\mu_{\max}$  de 0.191 h<sup>-1</sup> y una  $K_s$  de 3.07 g/L para el cultivo de *L. plantarum* en un medio a base de melaza de betabel.

Estos resultados son comparables con los obtenidos en este caso donde para los medios formulados con FBA se obtuvieron concentraciones finales de biomasa entre 1.36 g/L y 1.99 g/L con tasas máximas de crecimiento entre 0.29 y 0.33 h<sup>-1</sup>. En el caso de la cinética llevada a cabo en un medio basado en melaza de betabel a pesar de que la  $\mu_{\max}$  es menor que las reportadas en el presente trabajo, su constante de afinidad también es menor, esto podría deberse a que los autores en el estudio consideraron una constante de afinidad para la glucosa (que se menciona aquí) y una constante para la sacarosa presente en su medio de cultivo.

En conjunto, los resultados de la optimización del medio FBA con *L. plantarum* podrían respaldar la viabilidad del FBA como medio de cultivo para *L. plantarum* suplementado con glucosa y peptona. Este enfoque tiene implicaciones económicas y ambientales positivas que además contribuyen a la valorización de subproductos del proceso de producción del tequila.

#### *Optimización medio FBA con C. vulgaris*

La mayor tasa específica de crecimiento para *C. vulgaris* se obtuvo en medio Basal Bold con un valor de 0.1914 días<sup>-1</sup>. Este valor se asemeja a la mayor tasa específica de crecimiento (0.1675 días<sup>-1</sup>) reportada por Ma y Jian [63] utilizando un inóculo inicial del 3%. Al inocular con el 10% del volumen de operación, de forma similar a como se hizo en el presente proyecto, obtuvieron una concentración de biomasa total a 0.2 g/L tras alcanzar la fase estacionaria después de 12 días. Este resultado es similar al obtenido en el presente proyecto

en medio Basal Bold (0.2584 g/L), sin embargo, el tiempo de incubación fue de 38 días sin presentar una fase estacionaria.

En comparación con medios alternativos para el crecimiento de *C. Vulgaris*, la mayor tasa específica de crecimiento para esta especie, crecida en aguas residuales suplementadas con amonio, fue de 0.27 días<sup>-1</sup>, la cual es un poco menor a la obtenida experimentalmente en el medio de FBA con nejayote (0.367 días<sup>-1</sup>). Esto indica que las microalgas estaban teniendo una mayor velocidad de reproducción al crecer en el medio propuesto, que cuando se crece en aguas residuales [64].

Según Quintero-Dallos y colaboradores [65], quienes utilizaron medios de cultivo con diferentes concentraciones de vinazas derivadas de la fermentación de melazas, las vinazas no diluidas (75%v/v) produjeron un rendimiento de biomasa de *C. vulgaris* de 5.11 g/L después de 18 días. Esta producción es considerablemente mayor que la obtenida en el presente experimento con la formulación de FBA (1.031g/L) y la de FBA con nejayote (0.4928 g/L). La diferencia entre las concentraciones de biomasa puede deberse a la concentración de nutrientes del medio proporcionado en el experimento de Quintero-Dallos, donde las vinazas, además de tener mayor cantidad de nutrientes en comparación al FBA de forma natural, fueron suplementadas con cloruro de amonio, sulfato de magnesio, urea, fosforo y levadura [65].

## 1.7. Bibliografía y otros recursos

- [1] J. Nielsen, «Microbial process kinetics,» de *Basic Biotechnology*, Cambridge, Cambridge University Press, 2013, pp. 155-163.
- [2] A. Samphao, P. Butmee, P. Saejueng, C. Pukahuta, L. Švorc y K. Kalcher, «Monitoring of glucose and ethanol during wine fermentation by biozymatic biosensor,» *Journal of Electroanalytical Chemistry*, vol. 816, pp. 179-188, 2018.
- [3] F. Zurita, A. Tejeda, A. Montoya, I. Carrillo, B. Sulbarán-Rangel y A. Carreón-Álvarez, «Generation of Tequila Vinasses, Characterization, Current Disposal Practices and Study Cases of Disposal Methods,» *Water*, p. 1395, 2022.
- [4] A. Tejeda, A. Montoya, B. Sulbarán y F. Zurita, «Possible Pollution of Surface Water Bodies with,» *water*, vol. 15, n° 21, p. 3773, 2023.
- [5] Y. Vandenplas, G. Huys y G. Daube, «Probiotics: an update,» *Jornal de Pediatria*, vol. 91, pp. 6-21, 2015.

- [6] H. F. Monteiro, A. L. J. Lelis, V. L. Brandao, A. Faccenda, A. S. Avila, J. Arce-Cordero, L. G. Silva, X. Dai, R. Restellato, P. Carvalho, L. R. Lima y A. P. Faciola, «In vitro evaluation of *Lactobacillus plantarum* as direct-fed microbials,» *Translational Animal Science*, vol. 4, n° 1, pp. 214-228, 2020.
- [7] M. F. de Jesus Raposo, A. M. de Moraes y R. de Moraes, «Emergent Sources of Prebiotics: Seaweeds,» *marine drugs*, vol. 14, n° 2, p. 27, 2016.
- [8] D. Davani-Davari, M. Negahdaripour, I. Karimzadeh, M. Seifan, M. Mohkam, S. Masoumi, A. Berenjian y Y. Ghasemi, «Prebiotics: Definition, Types, Sources, Mechanisms,» *foods*, vol. 8, n° 3, p. 92, 2019.
- [9] V. Quintero Dallos, J. B. García Martínez, J. E. Contreras Roperero, A. F. Barajas Solano, C. Barajas Ferreira, R. Lavecchia y A. Zuorro, «Vinasse as a Sustainable Medium for the Production of *Chlorella vulgaris* UTEX 1803,» *Water*, vol. 11, n° 8, p. 1526, 2019.
- [10] M. A. Mamani Condori, M. R. Valderrama Valencia, F. G. Acién Fernández y F. J. Choix, «Evaluation of sugarcane vinasse as a medium for enhanced *Chlorella*,» *Journal of Applied Phycology*, n° 35, pp. 581-590, 2023.
- [11] T. Scapini, A. L. Woiciechowski, M. C. Medeiros, M. C. Manzoki, P. C. Durat, L. J. Duda y C. R. Soccol, «Exploring Heterotrophic Cultivation on Sugarcane Vinasses by *Chlorella vulgaris*,» de *Creating connections between biotechnology and industrial sustainability*, Florianópolis, 2024.
- [12] H. Santana, C. R. Cereijo, V. C. Teles, R. C. Nascimento, M. S. Fernandes, P. Brunale, R. C. Campanha, I. P. Soares, F. C. Silva, P. S. Sabaini, F. G. Siqueira y B. S. Brasil, «Microalgae cultivation in sugarcane vinasse: Selection, growth and,» *Bioresource Techonology*, n° 228, pp. 133-140, 2017.
- [13] J. M. Salgado, N. Rodríguez, B. Max, B. Pérez, R. Rodríguez, S. Cortés y J. M. Domínguez, «Evaluation of wine vinasses as alternative nutrients in biotechnological processes,» *Journal of Food*, vol. 9, n° 4, pp. 278-281, 2011.
- [14] Y. Zhang y P. V. Vladani, «Lactic acid production from biomass-derived sugars via co-fermentation of,» *Journal of Bioscience and Bioengineering*, vol. 119, n° 6, pp. 1-6, 2014.
- [15] V. Cerdeira, B. M. Bravo Ferrada, L. Semorile y E. Tymczyszyn, «Design of a low-cost culture medium based in whey permeate,» *Biotechnology Progress*, n° e2791, 2019.
- [16] CRT, «Producción Total de Tequila y Tequila 100%,» [En línea]. Available: <https://www.crt.org.mx/EstadisticasCRTweb>. [Último acceso: 5 febrero 2025].
- [17] Instituto Nacional de Estadística y Geografía; Consejo Agropecuario de Jalisco, «Coleccion de Estudios Regionales y Sectoriales. Conociendo la Industria del Tequila y Mezcal,» 2019. [En línea]. Available: [https://www.inegi.org.mx/contenidos/productos/prod\\_serv/contenidos/espanol/bvinegi/productos/nueva\\_estruc/702825189600.pdf](https://www.inegi.org.mx/contenidos/productos/prod_serv/contenidos/espanol/bvinegi/productos/nueva_estruc/702825189600.pdf). [Último acceso: 6 febrero 2025].
- [18] A. López-López, G. Davila-Vazquez, E. León-Becerril, E. Villegas-García y J. Gallardo-Valdez, «Tequila Vinasses: Generation and full scale treatment processes,» *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, vol. 9, n° 2, pp. 109-116, 2010.

- [19] A. A. Ramírez Ramírez, J. A. Lozano Álvarez, M. Gutiérrez Lomelí y F. Zurita, «Tequila Vinasse Treatment in Two Types of Vertical Downflow Treatment Wetlands (with Emergent Vegetation and Ligninolytic Fungi),» *Water*, vol. 16, n° 13, p. 1778, 2024.
- [20] Comisión Nacional Forestal, «Trópicos, biodiversidad y sabor,» 28 junio 2018. [En línea]. Available: <https://www.gob.mx/conafor/articulos/tropicos-biodiversidad-y-sabor?idiom=es>. [Último acceso: 6 febrero 2025].
- [21] L. Sacarrão-Birrento, . L. J. S. Harrison, R. Pienaar, F. N. Toka, . J. F. J. Torres-Acosta, V. L. Ribeiro Vilela, L. E. Hernández-Castellano,, C. M. Arriaga-Jordán, Y. A. Soltan, R. Ugerfeld, S. Özkan, S. van Harten, E. Ferlizza, P. Rossiter, A. Kumar Patra, A. Caglan Gunal, C. P. Bianchi, J. Starič, G. Lach y A. M. de Almeida, «Challenges for Animal Health and Production in the Tropics and Mediterranean for the next 55 years,» *Tropical Animal Health and Production*, vol. 56, n° 381, 2024.
- [22] B. Pineda, J. Nájera, M. E. Rodríguez, L. J. y V. M. V. , «El impacto económico de la mastitis bovina en México,» *Revista Biológico Agropecuaria Tuxpan*, vol. 12, n° 1, pp. 51-60, 2024.
- [23] R. Rojo-Rubio, J. F. Vázquez-Armijo, P. Pérez-Hernández, G. D. Mendoza-Martínez, A. Z. M. Salem, B. Albarrán-Portillo, A. González-Reyna, J. Hernández-Martínez, S. Rebollar-Rebollar, D. Cardoso-Jiménez, E. J. Dorantes-Coronado y J. G. Gutierrez-Cedillo, «Dual purpose cattle production in Mexico,» *Tropical Animal Health and Production*, vol. 41, pp. 715-721, 2009.
- [24] INEGI, «Ganadería,» 2022. [En línea]. Available: <https://www.inegi.org.mx/temas/ganaderia/>. [Último acceso: 7 Febrero 2025].
- [25] S. d. A. y. D. Rural, «Ganadería Bovina en México: Un Orgullo Nacional,» 18 Septiembre 2024. [En línea]. Available: <https://www.gob.mx/agricultura/es/articulos/ganaderia-bovina-en-mexico-un-orgullo-nacional>. [Último acceso: 7 Febrero 2025].
- [26] Y. González-León, J. Ortega-Bernal y M. Á. Anducho-Reyes, «Bacillus subtilis y Trichoderma: Características generales y su aplicación en la agricultura,» *TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, vol. 25, 2022.
- [27] B. V. David, G. Chandrasehar y P. N. Selvam, «Chapter 10 - Pseudomonas fluorescens: A Plant-Growth-Promoting Rhizobacterium (PGPR) With Potential Role in Biocontrol of Pests of Crops,» de *Crop Improvement Through Microbial Biotechnology*, Elsevier, 2018, pp. 221-243.
- [28] A. Shams, A. Elsadany y R. Abou, «Effects of orally Chlorella vulgaris algae additive on productive and reproductive performance of lactating Friesian cows,» *Journal of Animal and Poultry Production*, vol. 11, n° 3, pp. 125-131, 2020.
- [29] Q. Chen, S. Wang, J. Guo, Q. Xie, S. E. Evivie, Y. Song y G. Huo, «The protective effects of Lactobacillus plantarum KLDS 1.0344 on LPS-induced mastitis in vitro and in vivo,» *Frontiers in Immunology*, vol. 12, p. 770822, 2021.
- [30] I. J. Anee, S. Alam, R. A. Begum, R. M. Shahjahan y A. M. Khandaker, «The role of probiotics on animal health and nutrition,» *The Journal of Basic and Applied Zoology*, vol. 82, pp. 1-16, 2021.

- [31] A. E. Kavak, V. Selen y F. Tamtürk, «Optimization of Media Composition for Maximum Growth of Probiotic *Lactobacillus fermentum* NBC-08 using response surface methodology.,» *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences*, vol. 32, n° 1, pp. 69-80, 2022.
- [32] H. Amini, L. Wang y A. Shahbazi, «Effects of harvesting cell density, medium depth and environmental factors on biomass and lipid productivities of *Chlorella vulgaris* grown in swine wastewater,» *Chemical Engineering Science*, vol. 152, pp. 403-412, 2016.
- [33] B. Sonnleitner, G. Locher y A. Fiechter, «Biomass determinatio,» *Journal of Biotechnology*, vol. 25, n° 1-2, pp. 5-22, 1992.
- [34] W. Huang, D. A. Ratkowsky, C. Hui, P. Wang, J. Su y P. Shi, « Leaf fresh weight versus dry weight: which is better for describing the scaling relationship between leaf biomass and leaf area for broad-leaved plants?,» *Forests*, vol. 10, n° 3, p. 256, 2019.
- [35] J. Myers, B. Curtis y C. Wayne, «Improving accuracy of cell and chromophore,» *BMC Biophysics*, vol. 6, 2013.
- [36] «Glucose oxidase: Applications, sources, and recombinant production,» *Khatami, Seyyed; Vakili, Omid; Ahmadi, Nahid; Fard, Elahe; Mousavi, Pegah; Khalvati, Bahman; Maleksabet, Amir; Savardashtaki, Amir; Taheri, Mortaza; Movahedpour, Ahmad* , vol. 69, n° 3, pp. 939-950, 2021.
- [37] J. Bauer, Z. Monika, J. Majtán y V. Bauerová, «Glucose Oxidase, an Enzyme “Ferrari”: Its Structure, Function,» *Biomolecules*, vol. 12, p. 472, 2022.
- [38] R. Vera, L. Sánchez, P. Zambrano y Y. Rodriguez, « Obtención de un candidato a probiótico de *Lactobacillus plantarum* 22 LMC a partir de un medio de cultivo natural con materias primas agroindustriales.,» *Revista de Salud Animal*, vol. 43, n° 3, 2021.
- [39] T. Ding y Y. Li, «Beneficial effect and mechanism of walnut oligopeptide on *Lactobacillus plantarum* Z7,» *Food Science & Nutrition*, vol. 9, n° 2, pp. 672-681, 2021.
- [40] J. Bauer, M. Zámocká, J. Majtán y V. Bauerová, «Glucose Oxidase, an Enzyme “Ferrari”: Its Structure, Function, Production and Properties in the Light of Various Industrial and Biotechnological Applications.,» *Biomolecules*, vol. 12, 2022.
- [41] G. Gurur Gökmen , S. Sarıyıldız, C. Remzi , A. Nalbantsoy , B. Baler, E. Aslan, A. Düzel , S. Sargin, Y. Göksungur y D. Kışla, «A novel *Lactiplantibacillus plantarum* strain: probiotic properties and optimization of the growth conditions by response surface methodology,» *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, vol. 40, n° 2, 2024.
- [42] C. Haokok, S. Lunprom, A. Reungsang y A. Salakkam, «Efficient production of lactic acid from cellulose and xylan in sugarcane bagasse by newly isolated *Lactiplantibacillus plantarum* and *Levilactobacillus brevis* through simultaneous saccharification and co-fermentation process,» *Heliyon*, vol. 9, n° 7, 2023.
- [43] G. G. Gökmen, S. Sarıyıldız, R. Cholakov, A. Nalbantsoy, B. Baler, E. Aslan, A. Düzel, S. Sargin, Y. Göksungur y D. Kışla, «A novel *Lactiplantibacillus plantarum* strain: probiotic properties and optimization of the growth conditions by response

- surface methodology,» *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, vol. 40, 2024.
- [44] H. W. Bischoff y H. C. Bold, *Phycological Studies IV. Some Soil Algae from Enchanted Rock and Related Algal Species*, Austin: University of Texas Publication, 1963, p. 95.
- [45] Jirˇı´Masoji´dek, Jirˇı´Kopecky´, L. Giannelli y G. Torzillo, «ORIGINAL PAPERProductivity correlated to photobiochemical performanceof Chlorella mass cultures grown outdoors in thin-layer cascades,» *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, vol. 38, n° 2, pp. 307-317, 2010.
- [46] Y. Wang y F. Witarsa, «Application of Contois, Tessier, and first-order kinetics for modeling and simulation of a composting decomposition process,» *Bioresource Technology*, vol. 220, pp. 384-393, 2016.
- [47] Z.-W. Wang y Y. Li, «A theoretical derivation of the Contois equation for kinetic modeling of the microbial degradation of insoluble substrates,» *Biochemical Engineering Journal*, vol. 82, pp. 134-138, 2014.
- [48] R. Colucci, M. Gallo, F. Nigro, F. Passannanti, A. Budelli y R. Nigro, «Mathematical Modeling of Lactobacillus paracasei CBA L74 Growth during Rice Flour Fermentation Performed with and without pH Control,» *Applied Sciences*, vol. 11, n° 7, p. 2921, 2021.
- [49] F. Rezvani, F. Ardestani y G. Najafpour, «Growth kinetic models of five species of Lactobacilli and lactose consumption in batch submerged culture,» *Brazilian Journal of Microbiology*, vol. 48, n° 2, pp. 251-258, 2017.
- [50] M. Muloiwa, S. Nyende-Byakika y M. Dinka, «Comparison of unstructured kinetic bacterial growth models,» *South African Journal of Chemical Engineering*, vol. 33, pp. 141-150, 2020.
- [51] A. Azmi, N. A. Che Aziz, N. I. Mohamad Puad, A. Abdul Halim, F. Yusof y Y. Suzana, «Chlorella vulgaris logistic growth kinetics model in high concentrations of aqueous ammonia,» *IJUM Engineering Journal*, vol. 19, n° 2, pp. 1-9, 2018.
- [52] H. Gutiérrez, de *Análisis y diseño de experimentos*, México, McGraw-Hil, 2012, pp. 81-89.
- [53] «Sigma Aldrich,» 2025. [En línea]. Available: [https://www.sigmaaldrich.com/MX/es/product/sial/69966?srsltid=AfmBOopJK\\_4xu9TUhW-b-NqyKCIzOrPeknxk6nXz1AQk1f0zIRqfa12](https://www.sigmaaldrich.com/MX/es/product/sial/69966?srsltid=AfmBOopJK_4xu9TUhW-b-NqyKCIzOrPeknxk6nXz1AQk1f0zIRqfa12). [Último acceso: 4 Abril 2024].
- [54] Milipore, «69966 MRS Broth (Lactobacillus Broth acc. to De Man, Rogosa and,» 2013. [En línea]. Available: [https://www.sigmaaldrich.com/deepweb/assets/sigmaaldrich/product/documents/158/568/69966dat.pdf?srsltid=AfmBOopa5IjSaVXYu91jSHy7cnygyeJYFXCXH\\_6t1TaMK58YXIBpbm32](https://www.sigmaaldrich.com/deepweb/assets/sigmaaldrich/product/documents/158/568/69966dat.pdf?srsltid=AfmBOopa5IjSaVXYu91jSHy7cnygyeJYFXCXH_6t1TaMK58YXIBpbm32). [Último acceso: 4 April 2025].
- [55] A. Bank, «Algae bank,» 2025. [En línea]. Available: <https://algaebank.com.mx/tienda/bbm/?v=3d26b0b17065>.
- [56] K. Kovárová y T. Egli, «Growth Kinetics of Suspended Microbial Cells: From SingleSubstrate-Controlled Growth to Mixed-Substrate Kinetics,» *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, vol. 62, n° 3, pp. 646-666, 1998.

- [57] L. T. Fernández Martínez, A. Javelle y P. A. Hokisson, «Microbial Primer: Bacterial growth kinetics,» *Microbiology*, vol. 170, n° 2, 2024.
- [58] F. Smakman y A. Hall, «Exposure to lysed bacteria can promote or inhibit growth of neighboring live bacteria depending on local abiotic conditions,» *FEMS Microbiology Ecology*, vol. 98, n° 2, pp. 1-10, 2022.
- [59] M. Aspri, P. Papademas y D. Tsaltas, «Review on Non-Dairy Probiotics and Their Use in Non-Dairy Based Products,» *Probiotics and Prebiotics: New Knowledge*, vol. 6, n° 1, p. 30, 2019.
- [60] M. Mechmeche, F. Kachouri, H. B. Yaghlane, H. Ksontini, K. Setti y M. Hamdi, «Kinetic analysis and mathematical modeling of growth parameters of *Lactobacillus plantarum* in protein-rich isolates form tomato seed,» *Food Science and Technology International*, vol. 23, n° 2, 2016.
- [61] K. Śliżewska y A. Chlebicz-Wójcik, «Growth Kinetics of Probiotic *Lactobacillus* Strains in the Alternative, Cost-Efficient Semi-Solid Fermentation Medium,» *Biology*, vol. 9, n° 12, p. 423, 2020.
- [62] C. Figueredo, O. A. Rojas Rejón, A. Martínez Vera Negrete, A. E. Carranza Volquarts, F. J. Estrada Girón y J. C. Peña Partida, «Kinetic parameters of *Lactobacillus plantarum* and *Saccharomyces boulardii* growing in a,» *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, vol. 20, n° 1, pp. 467-478, 2021.
- [63] X. Ma y W. Jian, «Growth Conditions and Growth Kinetics of *Chlorella Vulgaris* Cultured in Domestic Sewage,» *Sustainability*, vol. 15, n° 3, p. 2162, 2023.
- [64] A. Sánchez-Bayo, V. Morales, G. Rodríguez y L. Bautista, «Cultivation of microalgae and cyanobacteria: Effect of operating conditions on growth and biomass composition,» *Molecules*, vol. 25, n° 12, p. 2834, 2020.
- [65] V. Quintero Dallos, J. García Martínez, J. Contreras-Ropero, A. Barajas-Solano, C. Barajas-Ferreira, R. Lavecchia y A. Zuorro, «se as a Sustainable Medium for the Production of *Chlorella vulgaris* UTEX 1803,» *MDPI*, vol. 8, n° 11, p. 1526, 2019.

## 1.8. Anexos generales

### 2. Productos

El primer producto presenta una síntesis de la metodología utilizada para desarrollar las cinéticas de crecimiento de *Lactobacillus plantarum* y *Chlorella vulgaris*. Su finalidad es servir como guía para futuros estudiantes que continúen con la investigación de microorganismos que puedan crecer en medios de cultivo con FBA (Tabla 20).

**Tabla 20. Síntesis de metodología para producción de *L. plantarum* y *C. vulgaris*.**

|  |  |
|--|--|
| Nombre y código del PAP                                    | 4G03 PROGRAMA DE APOYO A LA INVESTIGACIÓN  |
| Nombre del proyecto  | Producción de <i>Lactobacillus plantarum</i> y <i>Chlorella vulgaris</i> a partir de un FBA obtenido de la producción de tequila por destilación al vacío  |
| Descripción (qué es, para quién se realizó y para qué es): | Síntesis de la metodología utilizada para el desarrollo de las cinéticas de crecimiento de <i>L. plantarum</i> y <i>Chlorella vulgaris</i> , incluye la preparación de medios de cultivo, inoculación, elaboración de curvas de calibración, determinación de parámetros cinéticos, análisis estadístico y económico, con el fin de facilitar la réplica o modificación del experimento por parte de futuros estudiantes que continúen el PAP, especialmente en investigaciones orientadas a la optimización de medios de cultivo. |
| Autores:   | María Guadalupe Lomelí Sánchez, Saraf Salcedo Castañeda, Juan Ramón García Hernández, Santiago de Alessandro Saucedo Barbosa y Andrea Ilian Martínez Lozano.   |

El segundo producto es la formulación de un medio de cultivo con FBA optimizado mediante el análisis de un diseño factorial, principalmente para que estudiantes e investigadores lo implementen en el proceso de producción del probiótico *L. plantarum* y prebiótico *C. vulgaris* (Tabla 21).

**Tabla 21. Descripción de medios de cultivo con FBA para *L. plantarum* y *C. vulgaris*.**

|  |  |
|--|--|
| Nombre y código del PAP                                    | 4G03 PROGRAMA DE APOYO A LA INVESTIGACIÓN  |
| Nombre del proyecto  | Producción de <i>Lactobacillus plantarum</i> y <i>Chlorella vulgaris</i> a partir de un FBA obtenido de la producción de tequila por destilación al vacío  |
| Descripción (qué es, para quién se realizó y para qué es): | Formulación de medio de cultivo con FBA optimizado, que maximiza la afinidad al sustrato y el rendimiento de biomasa.<br>Esto con el objetivo de facilitar que los estudiantes o investigadores que continúen con el desarrollo del PAP implementen los resultados estadísticos obtenidos y el medio de cultivo óptimo para la producción de probióticos utilizando <i>L. plantarum</i> y su escalamiento. |
| Autores:   | María Guadalupe Lomelí Sánchez, Saraí Salcedo Castañeda, Juan Ramón García Hernández, Santiago de Alessandro Saucedo Barbosa y Andrea Ilian Martínez Lozano.   |

### 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

##### ***Juan Ramón García Hernández***

Durante el PAP tuvimos la oportunidad de visitar la tequilera con la que se colabora en este proyecto. Aunque nos han concientizado respecto a los retos ambientales de la industria tequilera, nunca había visto de primera mano estos. Además de ver el “patrimonio cultural de la humanidad” que es el devastador paisaje del monocultivo agavero, me di cuenta de lo que pasa dentro de las tequileras. La cantidad de vinazas que se generan es excesiva, y aunque la tequilera con la que se colabora resguarda y dispone de las vinazas mediante un tercero, es rumor que esto no es suficiente. Muchas veces hay derrames de vinazas, y los terceros “autorizados” no disponen bien de este residuo altamente contaminante. Repito, estos son rumores, pero conociendo el gran reto que son las vinazas, llegas a creer los rumores. Dentro de la tequilera sí me tocó ver el bagazo de agave tirado en un patio entre el

almacén de barricas y la planta principal. Montículos de biomasa que se pueden aprovechar para otras aplicaciones.

De ahí que comprendo el gran avance que este proyecto implica. El Mtro. José Orozco propone una nueva forma de producción sin generación de vinazas, y la tequilera está creyendo en este proyecto. Entonces proponemos aplicaciones para el subproducto que se genera de esta nueva destilación de tequila, pues nos interesa que no sea desperdiciado y que se convierta en un residuo más que requiere ser tratado. Al conocer los intereses de la tequilera nos encontramos con su cercanía a la industria ganadera. Es por ello que investigamos los retos actuales de esta industria. Es en ese momento que proponemos la producción de probióticos y de prebióticos para el ganado bovino, para contrarrestar su malnutrición, promover su salud estomacal y mejor calidad de vida, y consecuentemente, mejores productos derivados de esta industria. Finalmente, me siento muy satisfecho de estar abonando a trabajos para mejorar la industria local. Y no solo eso, sino que estoy participando en proyectos de la industria tequilera, que, por su alcance, es global. Esto da motivación para creer en los conocimientos y habilidades adquiridas, y genera esperanza para mi futura carrera profesional.

### ***María Guadalupe Lomelí Sánchez***

Es bien sabido que nuestro estado se caracteriza por la producción de tequila, el cual es orgullo de la región. Sin embargo, a menudo se ignora el impacto ambiental que hay detrás de su elaboración. El monocultivo, la deforestación y la contaminación del agua y suelo forman parte del proceso de producción de esta bebida tan emblemática. Particularmente, es sorprendente la cantidad de vinazas que se generan por cada litro de tequila, rondando los 12 L de este residuo por litro de tequila constituyen una de las mayores fuentes de contaminación de esta industria, pues pocos productores son los que tratan adecuadamente sus residuos mientras que otros simplemente los desechan sin tratamiento alguno.

Ante esta problemática surgió el PAP dirigido por el Mtro. José Orozco, quien, en colaboración con otras personas propuso un nuevo método de producción de tequila que evita la generación de vinazas. En su lugar, se obtiene un subproducto aprovechable con distintas aplicaciones. De ahí surge el proyecto desarrollado durante este semestre en donde se propuso la utilización de este subproducto para la producción de probióticos y prebióticos

para el ganado. Consideramos que la producción ganadera en nuestro país tiene una gran relevancia, y también enfrenta importantes desafíos, por lo que esta propuesta busca aportar soluciones sostenibles. En este sentido, me alegra que tequileras como Hacienda de Oro que es la tequilera que está trabajando en el proyecto, muestren un interés por replantear sus prácticas en la producción del tequila para reducir su impacto ambiental de su actividad incorporando nuevas metodologías.

Este proyecto me hizo cuestionar cual es el papel de mi formación profesional frente a realidades como esta, pues considero que el ejercicio de mi profesión no solo implica la generación de conocimiento, sino también la aplicación de ese conocimiento para buscar soluciones que contribuyan a mejorar las condiciones medioambientales y a su vez la calidad de vida de las personas.

### *Saraí Salcedo Castañeda*

En el transcurso de este PAP pude tener un acercamiento a la industria tequilera de nuestro estado, la cual es una de las principales en México con una gran producción, sin embargo, cumplir con esta alta demanda ha conllevado a que ocurran procesos poco éticos, como el monocultivo del agave y el desecho inadecuado de residuos altamente contaminantes como son las vinazas. Es sabido que por cada litro de tequila que se produce se producen alrededor de 12 L de vinazas, y que al ser desechadas de forma inadecuada estos contaminan el agua y el suelo de forma significativa, afectando a todos los seres vivos.

El Mtro. José Orozco ha logrado el desarrollo de una metodología donde la destilación del tequila es posible con una alta calidad, donde ya no se produce como residuo las vinazas, sino un fermento bajo en alcohol que posee un valor nutricional. En este PAP se buscó no seguir con la línea de desechar el fermento bajo en alcohol, sino de volver este proceso circular con el aprovechamiento de este residuo, que en este caso se utilizó para crecer microorganismos de alto valor.

Este proyecto me ha ayudado a reflexionar en donde se ponen los esfuerzos de la ciencia y la tecnología, y que como ingeniero/as que se incorporan a la vida laboral en un futuro

tenemos una responsabilidad enorme con el medio ambiente y las personas. Con la crisis medio ambiental que estamos enfrentando es indiscutible y necesario redirigir nuestros esfuerzos hacia un aprovechamiento de los residuos y la materia que tenemos. Este proyecto me da esperanza de que es posible ofrecer alternativas que cuiden al medio ambiente sin sacrificar las ganancias para las empresas, y que hay empresas como tequilera de oro blanco dispuestas a adoptarlas.

### ***Santiago De Alessandro Saucedo Barbosa***

En México la cultura del alcohol se encuentra normalizada e incluso el no beber se ha vuelto causa de desaprobación en algunas comunidades, resulta como un rito social donde uno pasa de la infancia a la adultez. Está estrecha relación entre la sociedad y el consumo de alcohol, es la que ha llevado a un consumo excesivo y más aún no darse cuenta de los distintos males que puede causar la sobreproducción de este alimento. Un entendimiento de los peligros de algo puede llevar a la búsqueda de soluciones, y esto fue lo que el Mtro. José Orozco realizó. Encontró un proceso para evitar la producción de vinazas y la generación de un fermento bajo en alcohol. Las vinazas me resultan como un concepto familiar, al cual fui introducido durante una de mis clases dentro del ITESO el cual es un residuo que resulta nocivo para el medio ambiente.

El objetivo del PAP buscó encontrar un uso para el fermento bajo en alcohol, así como presentar un beneficio para el sector ganadero. El crecimiento de microorganismos probióticos, así como prebióticos pueden mejorar la salud de las vacas, reduciendo el riesgo de infecciones, lo cual, mediante una investigación, resulta una problemática relevante en nuestro país. Este proyecto me resultó relevante, ya que demuestra el cómo la solución a una problemática puede ayudar en otras problemáticas diferentes. Presenta un impacto significativo sobre la industria tequilera al encontrar un método a escala industrial que reduce el grado de contaminación de dicha industria. Ser parte de un proyecto como este, me da a entender que las aplicaciones de mi carrera no son solo científicas, pero presentan un contexto cultural y social, que busca un bien común.

### ***Andrea Ilian Martínez Lozano***

Considero que este proyecto es especialmente valioso porque pone en el centro al medio ambiente y los animales, no a los humanos, ya que se están valorando los servicios ecosistémicos que nos brindan y que rara vez se toman en cuenta para justificar el impacto o viabilidad de un proyecto. Me di cuenta de que las necesidades y problemáticas del ganado deben ser atendidas con el mismo interés que las necesidades humanas para lograr un equilibrio natural, más aún porque es precisamente el estilo de vida humano, basado en la explotación intensiva de los recursos, el que ha provocado diversos problemas de salud en los animales, en gran parte a causa de una alimentación inadecuada.

Esta toma de conciencia me conectó con realidades físicas como las comunidades afectadas por la contaminación del agua y culturales como la forma en que tradicionalmente se produce el tequila. Al reflexionar sobre mis motivaciones, reconozco que mis creencias han influido en mi postura porque creo en la justicia ambiental y en el respeto por todas las formas de vida, pero racionalmente también entiendo que un enfoque más ético y sostenible es indispensable para asegurar un futuro viable para todos los seres vivos.

Proyectos como este, que proponen modificar procesos para eliminar la generación de compuestos tóxicos, como las vinazas en la producción de tequila, y aprovechar residuos alternativos como el FBA, nos acercan a un estilo de vida más sustentable y un enfoque más ético en la producción, del que toda la humanidad puede beneficiarse. Además, demostrar el éxito de estas propuestas de biorremediación puede marcar una tendencia en los proyectos de investigación futuros. Sin embargo, para que esto ocurra, es fundamental comprender que el impacto de un proyecto no debe medirse únicamente en términos económicos. El bienestar ambiental y animal constituye una forma igualmente válida y necesaria de retribución, y debe ser considerado como un criterio legítimo en la evaluación de sus beneficios.

### **3.2 Aprendizajes logrados**

#### ***Juan Ramón García Hernández***

Para el desarrollo de este PAP identifiqué dos competencias principales que desarrollé: la autodirección y el compromiso. Debido a que se trata de un proyecto que nosotros, los

estudiantes, propusimos, no existió dirección por parte del director del PAP. Nosotros teníamos que presentar resultados, por lo que fue muy importante organizarnos y trabajar con compromiso para lograr los objetivos y presentar avances al director. Al no tener a nadie que nos dijera qué hacer ni cuándo, la autogestión y autodirección no eran una opción, sino una obligación. Aunado a esto, aprendí a delegar tareas y adoptar responsabilidades propias.

Como todo proyecto que es nuevo, hay cosas que no salen como se esperan. Al hacer los experimentos con microalgas notamos que estas no estaban creciendo. Es un microorganismo del cual no tenemos tanto conocimiento y no conocíamos bien su comportamiento. Aun así, notamos que algo estaba mal y tuvimos que investigar, proponer y resolver ese reto. Al final pudimos lograr que las microalgas crecieran, pero eso nos quitó tiempo del experimento. Nos organizamos para aprovechar al máximo ese tiempo, aunque no terminamos el experimento como lo planteamos desde el principio. De igual manera, al procesar las muestras de las bacterias, notamos que algunos datos no se ajustaban o que había inconsistencias. Por ello, varios experimentos tuvieron que ser repetidos y llevarlos a cabo con mayor cuidado. De esto aprendo a resolver problemas bajo presión o en poco tiempo. Además, a aprender de los errores y ver cómo se puede mejorar.

Finalmente, estuvo el reporte de resultados. Tal vez no fue el mayor reto, pero el equipo de trabajo fue de 5 personas. Fue un poco más difícil repartirnos las tareas y que hubiera consistencia y cohesión entre las partes. Sin embargo, al final logramos acoplarnos bien y cada uno aportó al RPAP lo que sus habilidades mejor podían ofrecer. Con ello aprendí a soltar, y confiar en el trabajo de mis compañeros sin querer hacerlo todo yo. Además, de ellos aprendí un poco más de análisis estadístico, que no es mi fortaleza y reconozco que es importante para proyectos de investigación como este.

### ***María Guadalupe Lomelí Sánchez***

Durante mi participación en este PAP, uno de los aprendizajes más significativos fue el hecho de desarrollar competencias para la planeación de un proyecto como el pensamiento crítico, la colaboración y la capacidad para organizar un plan de trabajo de acuerdo con los objetivos del proyecto.

En el aspecto profesional, el proyecto implicó el diseño y ejecución de un proyecto de investigación como respuesta a una problemática dentro de la cual además se buscó aprovechar un subproducto del proceso de destilación del tequila. Por otra parte, en el ámbito social, el proyecto me permitió entender como la ciencia puede contribuir a generar y aplicar el conocimiento al generar soluciones sostenibles para problemáticas reales como en este caso, los retos que enfrenta la producción ganadera.

En el ámbito personal y profesional, me permitió aprender a trabajar de manera colaborativa, comunicar mis ideas y confiar más en mis capacidades. El ser parte de un equipo de trabajo me ayudó a valorar otros puntos de vista y la importancia de la responsabilidad compartida. Este PAP no solo me permitió aplicar conocimientos técnicos, sino que también contribuyó a mi desarrollo personal y profesional, reafirmando mi compromiso como profesionista para contribuir al desarrollo sostenible.

### ***Saraí Salcedo Castañeda***

Durante este PAP pude desarrollar y confirmar diversas disciplinas como fue el trabajo en equipo, la confianza y la autonomía. Uno de los factores que fueron más determinantes en este PAP para mí fue que nosotros éramos los que planteamos el proyecto desde un inicio con los conocimientos que hemos ido desarrollando en la carrera. Me pareció muy retador realizar una planeación y un protocolo de investigación por nuestra cuenta donde considerábamos la literatura, los equipos a utilizar, materiales, tiempos, etc. para lograr un objetivo. En este caso éramos 5 miembros del equipo por lo que tuvimos que aprender a comunicarnos y delegar responsabilidades para aligerar y sacar adelante el proyecto a tiempo. Uno de los mayores objetivos que logramos fue la comunicación en equipo, donde se buscaba aclarar siempre el trabajo que se tenía que realizar, cuales fueron los retos encontrados y como superarlos como equipo. En el desarrollo experimental enfrentamos el reto de trabajar con un organismo de crecimiento lento como fueron las microalgas, desarrollando la paciencia y la confianza en resultados a mediano plazo.

Personalmente logre confiar más en mis conocimientos como ingeniera en biotecnología, sintiéndome más capaz para desarrollar medios de cultivo de bajo costo, crecimiento y

mantenimiento de organismos y pruebas analíticas para evaluar que todo este en orden. Disfrute ser parte de este proyecto y desarrolle un gran cariño, confianza y responsabilidad hacia el equipo de trabajo.

### ***Santiago De Alessandro Saucedo Barbosa***

Durante este PAP reafirme la habilidad de la comunicación con otras personas. Dicha habilidad me es difícil de usar, sin embargo, gracias a este PAP he encontrado una gran utilidad en ponerla en uso. Dar a conocer mis ideas de la manera correcta, permite a los demás recibir mi mensaje y comprenderlo adecuadamente, esto evita confusiones y permite generar un mejor trabajo en equipo.

Otra de las competencias más relevantes en este PAP fue el uso de mis conocimientos previos específicamente el modelado de cinéticas, este PAP me permitió aplicar la programación para el modelado de las cinéticas, así como su ajuste con la intención de encontrar un modelo que se acoplará mejor a los datos experimentales. En este caso, salí de las materias donde los datos limpios y entré a un proyecto que presentaba datos reales. Cabe recalcar, que apliqué el manejo adecuado de residuos, productos, así como de reactivos que fueron utilizados durante el proyecto, nutriendo aún más mi crecimiento como biotecnólogo.

En el aspecto personal, me di cuenta de que se debe tener confianza en lo que se realiza, esto permite actuar con seguridad, lo que permite disminuir el error humano. De igual manera levantó mi autoestima y esto me llevó a defender mis puntos de vista utilizando de respaldo fuentes viables. Finalmente, puedo decir que desde el primer momento en el que comenzó la planeación del experimento, comencé a aplicar todo lo que vi dentro de mi carrera. Me resultó un reto, e incluso desafiante, pero a lo largo del proceso ese desafío fue dominado por mí gracias a todos los conocimientos aprendidos a lo largo del desarrollo del PAP.

### ***Andrea Ilian Martínez Lozano***

Durante el desarrollo del PAP, desarrollé las competencias disciplinares de cultivo de microalgas y bacterias, modelado cinético, diseño experimental, análisis estadístico y redacción científica. Asimismo, mejoró mi capacidad de trabajar en equipo, ya que logré

confiar en las labores de cada miembro, pues nos manteníamos enterados de lo que se hacía cada día, proponíamos mejoras y atendíamos las sugerencias. Desarrollé la planeación de un cronograma de trabajo y mejoré la disciplina para adherirme a las fechas que planteamos en el equipo.

El reto fue no desistir en cumplir todos los objetivos planteados, principalmente el de comparar el crecimiento con un medio convencional, ya que la cuantificación del sustrato fue muy tardada porque la repetimos varias veces. Para resolver el problema revisamos cada detalle del procedimiento para detectar qué podría estar causando el error, por lo que también desarrollé el pensamiento crítico para encontrar los errores que causaban variación. Aprendí sobre las necesidades metabólicas, crecimiento y aplicaciones en diversas industrias de *L. plantarum* y *C. vulgaris*, asimismo identifiqué los errores comunes en el cultivo de ambos microorganismos, así como las formas de corregirlos al revisar literatura.

### 3.3 Inventario de competencias Inicial (ingreso del PAP) e Inventario de competencias Final (salida al PAP).

#### **Juan Ramón García Hernández**

Las competencias, actitudes y habilidades adquiridas y potenciadas (Tabla 22) dan fe del profesional que le estaré entregando al mundo. Me dan seguridad de que podré desempeñarme en mi futura vida laboral.

**Tabla 22. Inventario de competencias de Juan Ramón. En blanco se indican las competencias iniciales, en naranja las competencias potenciadas durante el PAP, y en verde las competencias adquiridas durante el PAP.**

|   |               | Competencia                 | Evidencia   | Relevancia/Fortaleza *  | Competencias potenciadas   | Competencias nuevas   |
|---|---------------|-----------------------------|---|---|--|---|
| Categoriza las competencias en conocimientos, habilidades y actitudes.<br><br>Escribe la o las evidencias de cada | Conocimientos | Biología molecular aplicada | Son conocimientos que adquirí en la materia de Biología Molecular Aplicada, y que he utilizado para el desarrollo <i>in silico</i> de proyectos en las materias de Ingeniería Genética, | Estos conocimientos los podría utilizar para la caracterización de microorganismos, para su transformación y para evaluar la producción de metabolitos desde la teoría, y poder llevarlo a la práctica. | El desarrollo de este PAP me permitió reforzar mis conocimientos de microbiología al trabajar con dos tipos distintos de microorganismos, cuyo crecimiento se llevó a cabo de formas | En el presente PAP fue de importancia el uso de software estadístico para análisis de resultados. Se realizaron análisis de varianzas ANOVA y pruebas de Tukey y Dunnett se |

|                              |   |  |   |   |  |
|------------------------------|---|--|---|---|--|
| competencia y su relevancia. |   | Ingeniería Metabólica y Biorremediación .  |   | diferentes. Tuve que familiarizarme mejor con las microalgas, pues son microorganismos que no trabajamos tan extensivamente durante la carrera.     | llevaron a cabo en Statgraphics y Minitab. La interpretación de estas pruebas fue de utilidad para poder diferenciar si los medios de cultivo propuestos se diferenciaban y eran mejores o peores que los medios de cultivo comerciales. |
|                              | Biorremediación de biotopos y residuos        | Cursé la materia de Biorremediación, donde se propuso un proyecto teórico para la biorremediación de agua de mar, además, se utilizaron los conocimientos para el desarrollo de los proyectos en Bioproyectos I y Cinética al proponer residuos agroindustriales como bagazos como sustratos para cultivo de organismos. | El actual proyecto PAP tiene un enfoque de biorremediación, pues se deshace de las vinazas y genera un subproducto, el cual yo puedo aprovechar como sustrato para fermentaciones y que no se convierta en un desecho.  |   |  |
|                              | Microbiología en aplicaciones biotecnológicas | Adquirí conocimientos básicos de microbiología en cuanto a los tipos de microorganismos que hay, características metabólicas generales y condiciones de crecimiento.   | El actual proyecto PAP propone fermentaciones utilizando como sustrato el subproducto generado. Conociendo las condiciones de crecimiento y requerimientos de los microorganismos, puedo proponer algunas especies que pueden aprovechar el subproducto y que puedan generar valor comercial. |   |  |
| <b>Habilidades</b>           | Aislamiento de microorganismos                | Durante mi primer PAP colaboré en el aislamiento de hongos micorrízicos de orquídeas terrestres.   | En el caso de presentarse la oportunidad de utilizar un microorganismo que es difícil de conseguir comercialmente, puedo aislar de muestras donde se conozca puede estar presente.  | Al trabajar con dos microorganismos y su cultivo reforcé mis habilidades en la construcción de fermentaciones aerobias. Esto se vio potencializado, | Las determinaciones que se hicieron requerían del pipeteo de volúmenes muy pequeños. Además, se manejó una cantidad muy  |

|           |  |   |   |   |  |
|-----------|--|---|---|---|--|
|           | Obtención de cultivos axénicos                             | A partir de los aislamientos que realicé en mi primer PAP, obtuve cultivos axénicos para la identificación de diferentes especies de hongos.  | Durante el aislamiento, según el caso anterior, sería necesaria la obtención de cultivos axénicos si no se busca utilizar un consorcio de microorganismos, sino, una especie o cepa específica.                 | no solo al replicar esquemas de biorreactores en laboratorio, sino también en el trabajo con microalgas que lleva bombeo de aire, cosa que no hacemos en un cultivo convencional de bacterias en el esquema de matraz.  | grande de muestras, lo que ayudó al desarrollo de una mejor habilidad de pipeteo. El pipeteo correcto era necesario para obtener resultados precisos.  |
|           | Germinación <i>in vitro</i> de semillas y micropropagación | Durante mi primer PAP y laboratorios de la carrera germiné en varias ocasiones semillas de forma <i>in vitro</i> y realicé micropropagación a partir de tejidos diversos.                               | Al realizar micropropagación, puedo realizar diferentes actividades manteniendo condiciones asépticas y puedo esterilizar los materiales necesarios según sus características.                                  |   |  |
|           | Fermentaciones aerobias                                    | Durante la materia de Cinética Química y Biológica, Biorremediación e Ingeniería de Biorreactores participé en fermentaciones aerobias como parte de los proyectos de la materia.                       | El actual PAP plantea realizar fermentaciones, en lo cual puedo colaborar sin problema alguno. Puedo proponer esquemas de operación y monitorear el bioproceso.   |   |  |
| Actitudes | Compromiso   | Haber llegado hasta al PAP 2 demuestra mi compromiso con mis estudios y con el avance de cada una de las materias que he cursado.   | Es importante que me comprometa, para que las propuestas de proyecto que haga, al final sí se hagan realidad y yo pueda presentar resultados.   | Durante el PAP fortalecí mi compromiso y responsabilidad con el proyecto y con mi equipo. El trabajo en laboratorio fue extensivo y con experimentos ininterrumpidos, por lo que la organización dentro del equipo también fue vital. Sin mi compromiso, yo no hubiera podido haber abonado al trabajo en equipo. | Además de autonomía, el proyecto requirió que tomáramos iniciativa propia dentro del mismo equipo. Que se hayan logrado los objetivos es evidencia de <u>proactividad</u> . El proyecto contemplaba experimentos largos y con mucho procesamiento de muestras. La proactividad fue necesaria |
|           | Responsabilidad  | Durante el curso de mi carrera he logrado mantener 2 becas que hacen posible que yo estudie en el ITESO. He tenido que responsabilizarme por cumplir los requisitos para el mantenimiento de las becas. | Durante el desarrollo del proyecto, podré hacerme responsable de las consecuencias de mis acciones y podré orientarlas para que el desarrollo del proyecto no se comprometa y que llegue a resultados exitosos. |   |  |

|  |              |  |  |  |  |
|--|--------------|--|--|--|--|
|  | Respeto      | Logro convivir con personas en distintos contextos y he podido desenvolverme con estudiantes de intercambio dentro del ITESO, y con extranjeros al estudiar en otro país durante mi intercambio. | El respeto será fundamental para que yo pueda aceptar el trabajo e ideas de otras personas que trabajarán en equipo conmigo. Así mismo, trabajaré con distintos académicos que he de escuchar y aprender de ellos.                             |  | para sacar el trabajo sin contratiempos y que se llevaran a cabo en su totalidad, respondiendo a disponibilidad de horario entre los integrantes y desafíos que se fueron presentando. |
|  | Organización | Llevo una agenda de las actividades que debo y quiero realizar durante el semestre. Esto me permite cumplir con mis obligaciones y atender mis necesidades y deseos en la medida de lo posible.  | El PAP lo deberé desarrollar en tan solo 14 semanas. La calendarización de actividades y su cumplimiento lo más apegado posible a lo programado será fundamental para que pueda presentar los resultados que prometía al proponer mi proyecto. |  |  |

El desarrollo del PAP implicó aplicar conocimientos, habilidades y actitudes adquiridas a lo largo de la carrera universitaria para poder lograr los objetivos planteados. Así mismo, se generaron nuevos conocimientos y habilidades. Al ser un proyecto propuesto por los mismos alumnos (nosotros) la autodirección fue indispensable. Es por ello por lo que se potencializaron actitudes de compromiso, responsabilidad, respeto y organización. Al enfrentarnos a disponibilidades de horario variadas de los integrantes del equipo, pude desarrollar proactividad. Así mismo, mis conocimientos y habilidades en microbiología y fermentaciones aerobias fueron necesarias, pues justo el proyecto se centraba en estas aplicaciones biotecnológicas. Finalmente, aumenté conocimientos y habilidades en pipeteo y análisis estadístico en el análisis de muestras y procesamiento de resultados.

***María Guadalupe Lomelí Sánchez***

A continuación, se presenta el inventario de competencias actualizado con competencias, habilidades y actitudes potenciadas y nuevas (Tabla 23).

**Tabla 23. Inventario de competencias de María Guadalupe. En blanco se indican las competencias iniciales, en naranja las competencias potenciadas en el PAP, y en verde las competencias adquiridas en el PAP.**

|   |   | Competencia  | Evidencia  | Relevancia/Fortaleza*  | Competencias potenciadas   | Competencias nuevas   |
|---|---|--|--|--|--|---|
| <p>Categoriza las competencias en conocimientos, habilidades y actitudes.</p> <p>Escribe la o las evidencias de cada competencia y su relevancia.</p> | <p style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);"><b>Conocimientos</b></p> | Planificación de proyectos de investigación            | He planificado junto con mis equipos de trabajo las actividades necesarias para desarrollar proyectos como la comparación de un medio de cultivo comercial con uno formulado a partir de residuos agroindustriales | Puedo planificar las actividades y elaborar los protocolos necesarios para la consecución del proyecto   | El trabajar durante este PAP me permitió poner en práctica mis conocimientos en cuanto a la planificación de un proyecto, pues nosotros como estudiantes fuimos los responsables de plantear el protocolo bajo el cual estuvimos trabajando durante todo el semestre.  | Para el análisis de resultados se utilizaron distintos softwares para llevar a cabo el análisis estadístico, esta actividad me permitió comprender de mejor manera en qué ocasiones se utilizan los distintos tipos de análisis y pruebas para en este caso determinar cuál fue el mejor tratamiento de los que se evaluaron. |
|   |   | Modelado de cinética de crecimiento de microorganismos | Junto con mi equipo encontramos el mejor modelo de ajuste para los datos experimentales de una fermentación  | Puedo hacer uso de herramientas tecnológicas para modelar el crecimiento del microorganismo que se utilice en el medio que se formule con el fermento bajo en alcohol. | De la misma manera, aprendí de mis compañeros un poco más en cuanto al modelado de la cinética de crecimiento de los microorganismos, así como el diseño de experimentos y análisis estadístico, que si bien he utilizado durante la carrera, no son mi fuerte pero son parte fundamental en el desarrollo de una investigación. |   |
|   |   | Diseño de experimentos                                 | Durante la clase de cultivo de células y tejidos vegetales hice un factorial 3x3 para la determinación de la influencia de distintas fitohormonas en la micropropagación de violetas                               | Puedo proponer un diseño de experimentos para determinar las condiciones óptimas de crecimiento del microorganismo a utilizar  |  |   |
|   | <p style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);"><b>Habilidades</b></p>   | Aislamiento de microorganismos                         | Aislé hongos micorrízicos de orquídeas nativas del Bosque La Primavera junto con mi equipo.  | Puedo aislar el microorganismo que se vaya a utilizar en caso de que así se requiera   | El trabajo de este semestre para el desarrollo de este PAP me permitió mejorar mis habilidades en microbiología al   | El trabajo en el PAP requirió utilizar técnicas de laboratorio que, aunque son sencillas pueden tener un  |

|  |           |  |  |   |   |   |
|--|-----------|--|--|---|---|---|
|  |           | Formulación de medios de cultivo a partir de residuos agroindustriales | En la clase de cinética junto con mi equipo utilizamos un hidrolizado de bagazo de agave como medio de cultivo   | Puedo investigar en fuentes confiables los requerimientos nutricionales del microorganismo a utilizar para ajustar los nutrientes del fermento bajo en alcohol. | trabajar con dos microorganismos muy distintos. Principalmente <i>C. vulgaris</i> , pues esta sería apenas la segunda vez que trabajo con microalgas por lo que tuve que aprender sobre sus condiciones de crecimiento, así como el cómo evaluar su crecimiento y los modelos cinéticos más utilizados para representar su crecimiento. | impacto importante al momento de analizar los resultados. Entre ellas se requirió pipeteo, esterilización, centrifugación, decantación, espectrofotometría, los cuales hemos realizado durante múltiples prácticas de laboratorio, pero siempre es posible mejorar.   |
|  |           | Espectrofotetría a UV-Vis  | He interpretado los resultados de análisis con espectrofotetría a UV-Vis   | Puedo utilizar técnicas de análisis como la espectrofotetría UV-Vis para determinar concentraciones de biomasa o algún metabolito                               |   |   |
|  |           | Capacidad de trabajo en equipo   | Desarrollé proyectos junto con mis equipos de trabajo en distintas asignaturas como cinética, biosensores y biorremediación.   | Puedo colaborar en un equipo de trabajo para la consecución de un objetivo  | En cuanto a las actitudes, como ya se mencionó fue necesario organizar un plan de trabajo, esto implicó fortalecer mi capacidad de trabajo en equipo, así como mi compromiso y responsabilidad para llevar a cabo las actividades necesarias para la realización del proyecto.  | Considero que además de las actitudes mencionadas anteriormente también fue fundamental la organización, pues el proyecto requirió de distintas actividades y los miembros del equipo tienen horarios distintos por lo que la capacidad de organización y la comunicación fueron muy importantes para el desarrollo del proyecto. |
|  | Actitudes | Compromiso y responsabilidad   | A lo largo de mi carrera y en entornos de trabajo me he desempeñado asumiendo la responsabilidad que me corresponde al llevar a cabo tareas asignadas y cumplir con plazos de entrega. | Puedo organizarme de forma adecuada para cumplir con los plazos de entrega del proyecto   |   |   |
|  |           | Adaptabilidad  | Me he adaptado a distintos ambientes de trabajo y situaciones imprevistas  | Puedo buscar una solución alterna en caso de que el plan inicial para un experimento no funcione  |   |   |
|  |           |  |  |   |   |   |

Primeramente, profundice en mis conocimientos sobre análisis estadístico tanto el cómo realizarlos e interpretarlos, esto resulta fundamental para la realización de investigaciones futuras. En el ámbito de mis habilidades profundice en el cómo trabajar con microorganismos

de diferentes especies y como estos son tratados de diferentes maneras. No solo eso, sino que las técnicas aprendidas resultan relevantes ya que cada microorganismo presenta su propia forma de ser analizadas. Finalmente, en cuanto a mis actitudes, el crecimiento de mis habilidades de trabajo en equipo, así como adquirir la habilidad de organización me permitieron ayudar de una manera más eficiente en el proyecto.

### *Saraí Salcedo Castañeda*

Durante el desarrollo del PAP se pudieron desarrollar y reforzar diversos conocimientos, habilidades y actitudes los cuales se muestran en la tabla 24. El proyecto por su complejidad e interdisciplinaridad se presta para potenciar el crecimiento de los alumnos que participan en este, y en los ámbitos ya antes mencionados.

**Tabla 24. Inventario de competencias de Saraí Salcedo Castañeda. En blanco se indican las competencias iniciales, en naranja las competencias potenciadas en el PAP, y en verde las competencias adquiridas en el PAP.**

|  |                      | Competencia   | Evidencia  | Relevancia/Fortaleza*   | Competencias potenciadas  | Competencias nuevas   |
|--|----------------------|---|--|---|---|---|
| Categoriza las competencias en conocimientos, habilidades y actitudes.<br><br>Escribe la o las evidencias de cada competencia y su relevancia. | <b>Conocimientos</b> | Comprensión de la utilidad que tiene la producción de microorganismos         | Llevé la clase de ingeniería metabólica y de cinética donde se estudió la utilidad de crecer diferentes microorganismos                          | Esto me permite poder justificar diferentes proyectos y seleccionar los organismos a trabajar en base a lo que se desee producir u aprovechar | Durante el experimento se trabajó con dos tipos de microorganismos: bacterias y algas donde se potenciaron las habilidades que adquirí en la clase de microbiología para poder investigar en que medios crecen de forma más apropiada los organismos. | Durante el PAP se trabajó con el diseño y formulación de medios de cultivo con el uso del fermento bajo en alcohol la cual es una competencia que no había podido llevar a cabo. Además de que los modelos utilizados en Matlab como el Contois y el Logístico fueron nuevos para mi en el sentido de que no los había utilizado de forma práctica. |
|  |                      | Uso de MATLAB y Excel para realizar simulaciones de crecimiento de organismos | Llevé las materias de cinética y biorreactores donde realizamos modelados y predicciones del crecimiento de microorganismos en Matlab y en Excel | Esto me permite realizar predicciones de crecimiento que se asemejen a los datos obtenidos experimentalmente                                  |   |   |
|  |                      | Conocimiento del cuidado y mantención de microorganismos.                     | Durante la clase de microbiología se estudiaron las diferentes características de los organismos y sus necesidades                               | Esto me permite poder mantener en condiciones óptimas a los microorganismos y cuidar los factores en los que se encuentran como               |   |   |

|                    |                                  |  |   |   |   |  |
|--------------------|----------------------------------|--|---|---|---|--|
|                    |                                  |  |   | pH, temperatura, nutrientes del medio etc.  |   |  |
| <b>Habilidades</b> | Manejo de equipos de laboratorio | Realicé un PAP en el centro de investigación CIATEJ donde utilicé varios equipos de laboratorio como el orbital, centrifuga, incubadora, entre otros                       | Esto me permite manipular con facilidad diferentes equipos dentro del laboratorio de forma más rápida y autónoma                  | Reforcé mis habilidades en el manejo de laboratorio como el espectrofotómetro, la centrifuga, etc. Con la escritura del RPAP y con el trabajo en equipo reforcé la habilidad de comunicar mis ideas de forma más concreta y clara.                        | Adquirí una habilidad significativamente mayor en la manipulación del microscopio óptico para analizar las muestras ya que no había formado parte de un proyecto que requiriera tanto su uso como este.   | Para mí fue nuevo el hecho de trabajar con microalgas por lo que fue muy interesante aprender e investigar al respecto |
|                    | Comunicación oral y escrita      | Durante el PAP del semestre pasado realicé el documento RPAP y la redacción de un artículo científico  | Esto me permite comunicar mis ideas de forma clara de forma oral y escrita con un formato científico                              |   |   |  |
|                    | Investigación                    | Durante la carrera y en cursos llevados a cabo fuera de ella, he tenido que dedicar varias horas a la investigación, específicamente a la lectura de artículos científicos | Esta habilidad me permite poder discernir e identificar distintas fuentes de información que fundamenten, apoyen mi investigación |   |   |  |
| <b>Actitudes</b>   | Curiosidad                       | Tiendo a plantearme muchas preguntas, e interesarme por lo que los demás saben   | Esto me permite plantear preguntas que ayuden a resolver situaciones complejas y aprender de los demás                            | Durante la investigación como nosotros planteamos el proyecto y su alcance se reforzó altamente la curiosidad por saber cómo podrían crecer los microorganismos de forma óptima y como cuantificar su crecimiento. Así mismo el trabajo en equipo reforzó | La actitud nueva que más adquirí en el PAP es la de la autonomía y confianza en el trabajo en equipo, esto porque nosotros mismos planeamos el proyecto reforzando así nuestra capacidad de planear proyectos y experimentos como estudiantes próximos al egreso, además de que contamos con poco |  |
|                    | Honestidad                       | Admito cuando tengo un error, no sé hacer algo o por alguna razón no puedo   | Esto me permite ser responsable de mis acciones y encontrar alternativas junto con mi equipo                                      | reforzo la honestidad y compromisos, al tener que ser muy abiertos sobre nuestras fortalezas, debilidades y comprometernos  |   |  |
|                    | Compromiso                       | Busco hacer las cosas bien y cumplir con lo que se me pide en el tiempo estipulado   | Esto me permite ser una persona confiable y cumplida  |   |   |  |

|  |  |  |  |  |                                  |   |
|--|--|--|--|--|----------------------------------|---|
|  |  |  |  |  | para sacar adelante el proyecto. | acompañamiento de parte de los profesores por lo que era muy importante comprometernos como equipo. |
|--|--|--|--|--|----------------------------------|---|

Mejoré mis conocimientos sobre trabajo con diferentes microorganismos e incluso sobre una estrategia para encontrar la mejor formulación de medio para estos microorganismos, haciendo uso de una combinación de cinética, estadística y microbiología. Mejoré mi manejo de equipos de laboratorio, así como de redacción para el reporte PAP. Para finalizar, noté un cambio positivo en mi curiosidad en cuanto al desarrollo de un proyecto para potenciar el crecimiento de los microorganismos, así como la autonomía que obtuve al realizar el proyecto mejorando mis habilidades de planeación.

### ***Santiago De Alessandro Saucedo Barbosa***

En la tabla 25 se muestra el inventario de competencias actualizado el cual incluye competencias, habilidades y actitudes potenciadas y nuevas.

**Tabla 25. Inventario de competencias de Santiago De Alessandro Saucedo Barbosa. En blanco se indican las competencias iniciales, en naranja las competencias potenciadas en el PAP, y en verde las competencias adquiridas en el PAP**

|  |               | Competencia  | Evidencia  | Relevancia/Fortaleza*  | Competencias potenciadas  | Competencias nuevas  |
|--|---------------|--|--|--|---|--|
| Categoriza las competencias en conocimientos, habilidades y actitudes.<br><br>Escribe la o las evidencias de cada competencia y su relevancia. | Conocimientos | Procesos de esterilización de material en autoclave  | Seguí procesos de esterilización para material, con el objetivo de crecer microorganismos                      | Me es posible realizar un proceso de esterilización eficiente y eficaz, así como diferenciar materiales que son esterilizables por autoclave y aquellos que no lo son. | Durante este PAP mané por mi propia autoclave para la esterilización de material. Encontrar mejores códigos para el modelado de los datos experimentales, así como la obtención de nueva teoría en cuenta a modelos matemáticos que pueden ser utilizados en cinéticas. | Conocimientos previos nunca vistos con respecto a diseño de experimentos en STATGRAPHIC S, así como en Minitab, esto me permitió determinar la viabilidad estadística de los datos obtenidos y el cómo realizar un análisis adecuado para determinar si los resultados resultan presentables para el desarrollo. |
|  |               | Composición de diversos medios de cultivo para microorganismo, células vegetales y células animales. | Diseñé diversas formulaciones para crecimiento de <i>K. phaffi</i> , semilla de chile amarillo y células CACO. | Tengo un entendimiento de las necesidades nutricionales de cada microorganismo, lo que permite brindar el medio apropiado para su crecimiento.                         |   |  |

|  |  |  |   |  |  |
|--|--|--|---|--|--|
|  | Armado de un biorreactor.  | Armé diferentes tipos de biorreactores (de propela y tipo airlift).  | Puedo determinar el biorreactor indicado para el crecimiento de un microorganismo.  |  |  |
|  | Conocimiento de distintas bases para obtención de información de temas de interés. | Durante mi trayectoria académica he hecho uso de revistas científicas y buscadores académicos para encontrar temas relevantes. | Puedo saber qué información resulta útil (permite el crecimiento de mi proyecto) y que investigación resultan irrelevantes. Así como de donde sacarlas.         |  |  |
|  | Fundamentos de programa MATLAB.  | He realizado simulaciones de biorreactores para modelar el crecimiento de un microorganismo de interés                         | Con esto puedo modelar el comportamiento del microorganismo en un medio de interés y así determinar si el microorganismo lo puede usar como fuente de alimento. |  |  |
|  | Conocimientos base de diseño de experimentos.                                      | He diseñado experimentos en cinética y diseño de experimentos.   | Esto me permite que las pruebas realizadas tengan un respaldo estadístico con su respectivo nivel de confianza.   |  |  |
|  | Fundamentos sobre la producción de fármacos y su desarrollo.                       | Soy tecnólogo químico en fármacos y aprendí sobre la metodología para desarrollar un fármaco.                                  | Esto me permite comprender los procesos biológicos por los que pasa un compuesto dentro del cuerpo humano.  |  |  |
|  | Principios para la determinación de contenido de proteínas.                        | Determine el contenido de proteínas de diversas sustancias mediante el método de Bradford.                                     | Puedo determinar cuántas proteínas produjo el microorganismo después de un tiempo determinado en un medio específico.   |  |  |
|  | Principios para la determinación de  | Determine la concentración de  | Puedo modelar el consumo de   |  |  |

|             |                                       |   |   |   |  |  |
|-------------|---------------------------------------|---|---|---|--|--|
|             |                                       | dextrosa en el medio.   | sacarosa en una cinética de <i>K. phaffi</i> , mediante glucosa oxidasa.  | glucosa con respecto al tiempo de un microorganismo, así como la afinidad que el microorganismo le tiene al sustrato.   |  |  |
| Habilidades | Programación en MATLAB                | Realicé proyectos donde utilizar MATLAB para modelar el comportamiento de microorganismos.            | Determinar el comportamiento de un microorganismo me permite saber si las condiciones de cultivo son óptimas.           | Profundicé aún más en la optimización de cultivos, dejando en claro que existen más factores que pueden afectar el crecimiento celular como es la temperatura y pH y resultan relevantes para futuras optimizaciones. | Preparé inóculos a partir de un liofilizado. Esta habilidad resulta indispensable para comenzar cualquier cinética y resulta de una combinación y aplicación de buenas prácticas de laboratorio, asepsia y esterilidad. Aprendí a como optimizar una metodología para la determinación de glucosa mejorando mi técnico de muestreo con la intención de reducir el error experimental. Esto me permitió eficientizar los tiempos. |  |
|             | Optimizar medios de cultivos.         | Realicé un proyecto donde optimicé el costo de un medio de cultivo.                                   | Puedo modificar un medio cultivo con la intención de mejorar el crecimiento de un microorganismo.                       |   |  |  |
|             | Programación en IDE.                  | Realicé un proyecto en el que se usó IDE y Arduino como controlador.                                  | Puedo controlar un proceso con la finalidad de automatizar el proceso de una manera más eficiente.                      |   |  |  |
|             | Siembra de microorganismos.           | Realicé proyectos donde se buscó la propagación de microorganismos.                                   | Puedo propagar microorganismos de un medio a otro con la intención de mantenerlos activos para futuros proyectos.       |   |  |  |
|             | Manejo de datos numéricos.            | Realicé proyectos que requieren analizar información en Excel para determinar la validez estadística. | Puedo analizar datos con la intención de determinar si son estadísticamente correctos.                                  |   |  |  |
|             | Diseño de plantas piloto en SuperPro. | Participé en un proyecto para la creación de una planta de biorremediación de agua salada.            | Puedo realizar una simulación de una planta piloto lo que me permite evaluar condiciones de operación y financiamiento. |   |  |  |

|           |   |   |   |  |  |
|-----------|---|---|---|--|--|
|           | Uso de programas de bioinformática                              | Realicé un proyecto para la edición de un microorganismo.   | Puedo determinar las rutas metabólicas de un microorganismo, permitiendo una mejor comprensión de este.             |  |  |
|           | Diseño de plásmidos para transformación bacteriana.             | Realicé un plásmido para la transformación de una bacteria y aumentar la producción de un producto de interés.          | Puedo diseñar un plásmido que aumente el crecimiento del microorganismo o le permita digerir compuestos de interés. |  |  |
|           | Diseño de procesos para edición genética por Crispr-Cas9        | Realicé un procedimiento teórico y simulado por fases para el desarrollo de un microorganismo genéticamente modificado. | El diseño de este proceso me permite potenciar la capacidad del microorganismo de interés.                          |  |  |
|           | Comprensión lectora de artículos de revisión y de experimentos. | He leído una variedad de revistas científicas, así como artículos de revisión.  | Puedo ser eficiente y eficaz lo que me permite encontrar información relevante en un menor tiempo.                  |  |  |
| Actitudes | Orden durante el desarrollo del experimento.                    | Durante los proyectos mantengo una modalidad de orden por estaciones.   | Tener orden en el desarrollo de un experimento permite hacer más eficiente el proceso y evitar errores.             | En definitiva, la responsabilidad dentro del laboratorio, así como para un proyecto determinado, se vio beneficiada, esto debido a la independencia en cuanto al manejo del equipo de laboratorio. Esa libertad no solo brindó el apogeo de nuevas ideas, pero también de una carga de responsabilidad que me da a entender la importancia del | Yo diría que la actitud que conseguí fue la de la autocrítica. Es adecuado confiar y defender tus resultados, pero también resulta importante reflexionar en la viabilidad de los datos. Al desafiar mi investigación me será posible encontrar nuevas vertientes a problemas presentes. |
|           | Objetividad durante la obtención y análisis de resultados.      | Al obtener resultados no se corrigen, los reportó como se obtienen.   | Durante un experimento deo de lado lo que me gustaría y se pone al frente el que es y lo que pasará.                |  |  |
|           | Adaptabilidad en cuanto a trabajar en las diferentes áreas.     | Durante proyectos tuve que trabajar en diferentes áreas de manera rápida, teniendo que adaptarme a los procesos.        | Esta adaptabilidad me permite eliminar estrés permitiendo enfocarme en el momento.                                  |  |  |

|  |  |  |  |   |  |
|--|--|--|--|---|--|
|  | Búsqueda de alternativas en caso de cambios inesperados en el experimento. | Tengo un pensamiento rápido cuando se trata de encontrar soluciones a una problemática cercana.                    | Esta creatividad me permite mantener el ritmo en el experimento.   | manejo de un proyecto de manera adecuada. |  |
|  | Facilidad para trabajar con diferentes individuos.                         | He trabajado con múltiples personas, lo que me ha llevado a adaptarme a su estilo de trabajo.                      | Puedo acoplarme a equipos de trabajo de manera sencilla.   |   |  |
|  | Respeto hacia trasfondos culturales de compañeros de trabajo.              | He conocido una variedad de personas provenientes de distintos países y he trabajado con ellos de manera adecuada. | Puedo tener una mejor sinergia con mis compañeros de trabajo, teniendo un equipo más cohesivo.           |   |  |
|  | Expresar dudas, así como retroalimentación al experimento.                 | He realizado diferentes proyectos, donde al expresar mis dudas se han visto puntos débiles en el procedimiento.    | Puedo ser vocal permitiendo dejar en claro partes del proceso y posibles errores se pueden revelar.      |   |  |
|  | Responsabilidad en el área de trabajo.                                     | Me he comprometido a realizar diversas tareas dentro de proyectos y entregarlas en tiempo y forma.                 | Puedo realizar mis tareas y objetivos con la mejor calidad posible haciéndome responsable de cada etapa. |   |  |
|  | Compromiso para trabajar con ética profesional.                            | En diferentes proyectos me he comprometido a ser lo más correcto y honesto durante el desarrollo de los proyectos. | Puedo asegurarme de que no haré algo que pueda dañar la reputación de mi equipo de trabajo o de mí.      |   |  |

Para mí lo más relevante de este proyecto fueron las habilidades que mejoré, así como las que aprendí. El descubrimiento de nuevas aptitudes, así como de habilidades es algo que me llevó como importante la prueba y el error se vuelven indispensables del proceso de aprendizaje. Específicamente el introducirme a programas de análisis estadístico resulta altamente relevante porque no siempre se tiene acceso a un programa específico, reconocer y adaptarme a estos cambios es sumamente relevante. Lo más relevante para mí en cuanto a

mis habilidades es la experiencia adquirida para la medición de glucosa oxidasa, esto me permitió profundizar en mi capacidad para la organización de muestras, la rapidez con la cual se debe realizar el método y el pipeteo, el cual resulta como la parte que puede más compleja debido al volumen bajo con el cual se trabaja. Finalmente, me convertí en una persona autocrítica de mí propio trabajo, lo cual reconozco que es sumamente importante para poder crecer como profesionista y persona.

### **Andrea Ilian Martínez Lozano**

En la tabla 26 se muestra el inventario de competencias actualizado, el cual incluye las competencias potenciadas y nuevas desarrolladas durante el PAP.

**Tabla 26. Inventario de competencias de Andrea Ilian Martínez Lozano. En blanco se indican las competencias iniciales, en naranja las competencias potenciadas en el PAP, y en verde las competencias adquiridas en el PAP**

|  |                      | Competencia   | Evidencia  | Relevancia/<br>Fortaleza*   | Competencias<br>potencializadas  | Competencias<br>nuevas  |
|--|----------------------|---|--|---|--|---|
| Categoriza las competencias en conocimientos, habilidades y actitudes.<br><br>Escribe la o las evidencias de cada competencia y su relevancia. | <b>Conocimientos</b> | Técnicas analíticas (titulación, espectrofotometría, cromatografía) | Desarrollé un proyecto de caracterización de tequila   | Puedo identificar y cuantificar compuestos o propiedades físicas de muestras                                  | La preparación de soluciones y diluciones se practicó mucho en la cuantificación de sustrato, así como el pipeteo en microplaca. | Aunque había desarrollado cinéticas bacterianas, nunca había preparado el inóculo desde el liofilizado, realizando pasajes. Asimismo, aprendí a preparar medio Basal Bold y a realizar curvas de peso seco para determinar biomasa. Además, conocí los requerimientos metabólicos de las microalgas y apliqué estos conocimientos para el armado de un biorreactor para microalgas. |
|  |                      | Química general   | Desarrollé un proyecto teórico sobre la producción de un fertilizante                          | Puedo manipular procesos químicos en sistemas biológicos y procesos industriales.                             | Conocí el rango de linealidad de la técnica de glucosa oxidasa e identifiqué los errores comunes de la misma.                    |   |
|  |                      | Cultivo de células y tejidos  | He cultivado tejidos vegetales mediante técnicas de micropropagación y células animales Caco-2 | Puedo conservar especies, propagar células o tejidos con características deseables e investigar enfermedades. |  |   |
|  |                      | Cinética biológica  | Cultivé distintas levaduras a nivel matraz, monitoreé su                                       | Puedo caracterizar y optimizar la producción  |  |   |

|  |                    |                                       |  |  |  |  |
|--|--------------------|---------------------------------------|--|--|--|--|
|  |                    |                                       | crecimiento y producción de metabolitos  | de productos biotecnológicos.  |  |  |
|  |                    | Microbiología                         | He aislado microorganismos mediante distintos métodos de cultivo.                | Puedo estudiar y cultivar microorganismos para procesos como fermentación, producción o biorremediación.             |  |  |
|  |                    | Biología molecular                    | Apliqué una metodología para la transformación de células competentes de E. coli | Puedo aplicar técnicas para aislar material genético, cuantificación de ADN, amplificación e inserción de plásmidos. |  |  |
|  | <b>Habilidades</b> | Simulaciones de procesos industriales | Realicé una simulación para producir ácido hialurónico a 95% de pureza           | Puedo diseñar equipos para plantas piloto  | Se realizó un análisis de costos aplicando conocimientos de simulación de bioprocesos.   | Aprendimos a utilizar StatGraphics para proponer un diseño factorial que fuera robusto y viable para el tiempo con el que contábamos |
|  |                    | Diseño de experimentos                | Diseñé y evalué distintos tratamientos para acelerar procesos de ensamblaje      | Puedo determinar las condiciones óptimas para distintos procesos   | Analicé un diseño de experimentos más relacionado al campo biotecnológico en Minitab e interpreté los parámetros obtenidos para explicar la cinética de crecimiento. A su vez redacté las conclusiones al interpretar los resultados estadísticos. | Conocí los requerimientos de agitación, luz y aireación para cada microorganismo.  |
|  |                    | Evaluación de actividad enzimática    | Obtuve valores de Km y Vmax de la enzima glucosa oxidasa                         | Puedo medir la capacidad de una enzima ante distintos valores de pH y temperatura                                    |  | Conocí la función de Word para citar en formato IEEE y vincular los títulos de tablas y figuras.                                     |
|  |                    | Diseño de plásmidos                   | Diseñé un plásmido para producir insulina recombinante in silico                 | Puedo diseñar plásmidos para producir y estudiar eficientemente proteínas  |  |  |
|  |                    | Bioinformática                        | Planteé un proyecto para la modificación de                                      | Puedo simular el comportamie   |  |  |

|  |           |                                      |  |  |  |  |
|--|-----------|--------------------------------------|--|--|--|--|
|  |           |                                      | una especie de Pseudomonas para mejorar la producción de ramnolípidos usando software de ingeniería genética | nto de genes modificados para reducir costos de experimentación                    |  |  |
|  |           | Manejo y diseño de biorreactores     | Ajusté las condiciones de cultivo de distintos microorganismos en biorreactores Aplikkon                     | Puedo crecer microorganismos para producir metabolitos de interés                  |  |  |
|  |           | Escritura científica                 | Analicé datos y discutí resultados de prácticas de distintos campos biotecnológicos                          | Puedo comunicar de manera clara y objetiva los resultados de investigaciones.      |  |  |
|  | Actitudes | Responsabilidad                      | He presentado conclusiones de proyectos transparentes y que toman en cuenta consideraciones éticas           | Puedo asegurar la fiabilidad de resultados y el cumplimiento o ético.              | Mejoré mi responsabilidad, ya que tuve que cumplir con actividades en tiempo y forma, agregando mis propios recordatorios y notas. | Mejoré mi capacidad para gestionar mi propio aprendizaje al identificar mis debilidades y buscar ayuda mediante asesoría |
|  |           | Organización personal y colaborativa | He logrado cumplir con proyectos u objetivos en tiempo y forma   | Puedo gestionar eficazmente el tiempo y los recursos para cada actividad           | Mejoré mi organización personal al dar seguimiento a todos los experimentos registrando datos en una bitácora.                     | Aprendí como agendar un espacio en los laboratorios de biotecnología.  |
|  |           | Comunicación asertiva                | He colaborado en proyectos que requieren escucha activa y propuesta de ideas innovadoras                     | Puedo favorecer un entorno tranquilo para la expresión de propuestas y limitantes. | Mejoré mi capacidad de síntesis al responder de manera concreta y formal las dudas acerca del proyecto                             |  |
|  |           | Orientación de proyectos a lo social | He desarrollado proyectos que priorizan el bienestar y el enfoque humano.                                    | Puedo identificar problemas sociales y formas de resolverlos                       |  |  |

De manera general, durante este PAP se fortalecieron habilidades técnicas como la preparación de soluciones, el manejo de micropipetas y la cuantificación de biomasa. En

cuanto a habilidades practiqué la realización de un análisis de costos para evaluar la viabilidad del proyecto. También se mejoraron competencias personales, como la responsabilidad, la organización y la capacidad de síntesis. Aprendí a preparar los inóculos, preparar medios de cultivo específicos, a montar un biorreactor para microalgas y conocí los requerimientos metabólicos para *L. plantarum* y *C. vulgaris*. Además, se aplicaron herramientas estadísticas como el diseño de experimentos en StatGraphics y Minitab; se potenció el aprendizaje autónomo al buscar asesoría docente y la gestión de espacios en laboratorio.