

INSTITUTO TECNOLÓGICO Y DE ESTUDIOS SUPERIORES DE OCCIDENTE

Centro para la Gestión de la Innovación y la Tecnología

Economía solidaria y trabajo digno

PROYECTO DE APLICACIÓN PROFESIONAL (PAP)

PROGRAMA PARA LA GESTIÓN DE LA INNOVACIÓN Y LA TECNOLOGÍA



**ITESO, Universidad
Jesuita de Guadalajara**

3H01 Micro y Pequeñas Empresas de Alta Tecnología
Formulación de inoculante biológico con cianobacteria *Nostoc sp.*

PRESENTA

Ingeniera en Biotecnología Mariana Pineda Alvarez.

Profesores PAP:

Mtra. Martha Del Carmen Alcaraz Cruz

Mtra. Ana Cynthia González Vázquez

Tlaquepaque, Jalisco, mayo 2024

ÍNDICE

Contenido

Resumen	0
1. Ciclo participativo del Proyecto de Aplicación Profesional	0
1.1 Entendimiento del ámbito y del contexto.....	1
1.2 Caracterización de la organización.....	2
1.3 Identificación de la(s) problemática(s).....	4
1.4. Planeación de alternativa(s)	4
1.4.1 Objetivo (s).....	5
1.4.2 Alcance del proyecto	6
1.4.3 Acta de constitución de proyecto	6
1.4.4 Matriz de comunicación	6
1.4.5 EDT y Calendario de actividades (actualizado).....	7
1.4.6 Matriz de riesgos	7
1.4.7 Costos	7
1.5. Desarrollo de la propuesta de mejora	8
1.6. Valoración de productos, resultados e impactos.....	30
2. Productos	31
3. Reflexión crítica y ética de la experiencia	31
3.1 Sensibilización ante las realidades	31
3.2 Aprendizajes logrados	32
4. Bibliografía y otros recursos	34
5. Anexos generales.....	36

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 proyecto “Formulación de inoculante biológico con cianobacteria *Nostoc sp.*” se centró en desarrollar un prototipo de formulación, en donde la cianobacteria *Nostoc sp.* siga teniendo una viabilidad que permita su venta comercial y facilite el transporte de dicho microorganismo. Esto con la finalidad de tener un producto inoculante biológico que sustituya a los productos químicos existentes en el mercado que erradiquen las consecuencias ambientales que estos traen consigo. Para llevar a cabo este proyecto fue necesario llevar a cabo una investigación detallada acerca de las condiciones de crecimiento del microorganismo y validación de su cinética de crecimiento, posteriormente se realizó una propuesta de formulación y sus pruebas de viabilidad y microbiológicas pertinentes. Se realizó una corrida en donde los resultados arrojaron un funcionamiento casi nulo de los conservadores añadidos, por lo que, se tuvo que plantear una reformulación en donde se determinó que el factor clave era el pH manejado. Como resultado se obtuvieron dos formulaciones de prototipos en lugar de uno solo como se había planteado, mismos que fueron entregados a la empresa de Microalgas Oleas de México, junto con las hojas de Excel con la base de datos desarrollada, en donde se determinó que la mejor formulación era a la que se le había añadido un agente viscoso. Se espera que este proyecto tenga una continuidad en donde se validen los resultados obtenidos y posteriormente su funcionamiento en cultivos.

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.

Durante este proyecto se llevaron a cabo las siguientes etapas: Recopilación bibliográfica acerca de las cianobacterias y su implementación actual en el mercado de los inoculantes

biológicos, escalamiento de cultivos y desdoble de los mismos, monitoreo y control de los cultivos, planeación de formulación del prototipo final de inoculante, realización de pruebas de sensibilidad de la cianobacteria *Nostoc sp.* al estar contacto con los reactivos, monitoreo, pruebas microbiológicas y análisis de resultados. Todas estas etapas estuvieron supervisadas en todo momento principalmente por la jefa de laboratorio y secundariamente el gerente técnico.

1.1 Entendimiento del ámbito y del contexto

Se estima que los fertilizantes son responsables del 50% de la producción mundial de alimentos actualmente, su mercado ha aumentado de 31 millones de toneladas a 173 millones en los últimos 50 años [3], sin embargo, hasta los últimos años se han conocido las consecuencias que estos pueden llegar a tener en mantos acuíferos, suelos y demás ambiente. En primera instancia, es necesario considerar que los fertilizantes químicos están comúnmente de compuestos que resultan esenciales para el crecimiento de los cultivos, como fosfato, nitrato, amonio y otras sales [4]. Este tipo de nutrientes, si bien son beneficiosos para las plantas, pueden llegar a terminar en mantos acuíferos. Actualmente la acumulación de nitrógeno en mantos acuíferos representa un problema de talla mundial, esto debido a que en concentraciones altas en agua provoca que esta ya no sea apta para consumo humano, además de que genera una acidificación y provoca crecimiento de organismos dañinos para los ecosistemas. [5]

De igual forma, se ha estudiado que el uso de fertilizantes en concentraciones mayores a las indicadas puede provocar la acumulación y concentración de sales minerales, lo que conlleva a la compactación y degradación de suelos a largo plazo [6]. En respuesta a estas preocupaciones ambientales, se ha intensificado la investigación sobre inoculantes biológicos, que consisten en microorganismos beneficiosos que pueden mejorar la salud del suelo y la productividad agrícola. Estos microorganismos pueden incluir bacterias fijadoras de nitrógeno, hongos micorrícicos y otros organismos que promueven el crecimiento de las plantas y aumentan la disponibilidad de nutrientes, además de que la aplicación de inoculantes biológicos no solo reduce la necesidad de fertilizantes químicos, sino que también puede mejorar la resistencia de las plantas a enfermedades y condiciones adversas del suelo.

Actualmente, la empresa Microalgas Oleas de México, se ha enfocado en crear este tipo de soluciones para los agricultores, dándoles la oportunidad de optimizar sus cultivos sin correr riesgos de pérdidas futuras. Un claro ejemplo de ello es la línea de productos Ficocyan, que constituye una serie de bio-estimulantes orgánicos que optimizan la absorción de nutrientes esenciales en las plantas, provocando mayor vitalidad y desarrollo de cultivos. Estos productos están desarrollados a base de microalgas o cianobacterias, mismas que son un grupo de microorganismos procariotas fotosintéticos que se encuentran ampliamente distribuidos en diversos hábitats acuáticos y terrestres. [7]

Entre los diversos inoculantes biológicos disponibles, la cianobacteria *Nostoc sp.* ha surgido como una opción prometedora debido a su capacidad única para fijar nitrógeno atmosférico y convertirlo en una forma utilizable por las plantas. Esta habilidad es especialmente relevante en contextos agrícolas donde la disponibilidad de nitrógeno es limitada, ya que puede reducir la necesidad de aplicar fertilizantes nitrogenados sintéticos. Además de que este microorganismo puede contribuir a la mejora de la calidad del suelo y la sostenibilidad a largo plazo de los sistemas agrícolas. [8]

1.2 Caracterización de la organización

Este proyecto fue realizado dentro de las instalaciones de la empresa Microalgas Oleas de México, fundada en 2016. Ellos se encargan de la colecta, purificación y cultivo masivo de distintas especies de microorganismos, principalmente cianobacterias y microalgas mayoritariamente nativas de la región, además de que se encargan de diseñar y desarrollar productos con ingredientes de alto valor personalizado para clientes involucrados en la industria agrícola y alimentaria [1].

Microalgas Oleas de México ha formado parte del grupo OLEOMEX desde su fundación, este grupo consolida 11 empresas nacionalmente reconocidas en innovación y tecnología. Su misión consiste en ser un grupo empresarial familiar mexicano que trabaja por la máxima integración y eficiencia de sus empresas para ser líderes en sus mercados y generar un impacto positivo en la sociedad [2]. Esto impacta directamente a la empresa de Microalgas

Oleas de México, debido a que, al formar parte de este grupo, sus objetivos y metas tiene que estar interrelacionados.

Por lo que la misión que sustenta a esta a esta empresa es el promover soluciones innovadoras y sustentables por medio de biotecnología de microalgas para la industria alimentaria y agrícola, sosteniendo siempre su visión que está centrada en ser un referente de biotecnología de microalgas consolidada por sus soluciones integrales e innovadores que respondan a las necesidades de la industria mexicana. [1]

Para poder consolidar su misión, Microalgas cuenta con un equipo relativamente pequeño, pero bien estructurado. En primer instancia está dividida en dos sectores: laboratorio y producción en planta, en donde en el primer sector se realiza la formulación de productos, crecimiento y escalamiento de cultivos, análisis de calidad previos a venta comercial y creación o invención de nuevos productos, y el segundo sector constituye el escalamiento a nivel industrial de lo trabajado en laboratorio, además del envasado y preparación para la venta comercial.

La forma en que está organizada la empresa es:

- Gerente General: Edgar Rodríguez, el cual está encargado de la toma de decisiones, cumplimiento de metas, gestión de recursos y administración de tareas y proyectos.
- Jefe de Laboratorio: Diana Lidia Guillén, la cual está encargada de la organización de materiales y reactivos, seguridad y cuidado de equipos dentro del laboratorio.
- Encargada de calidad: Araceli Nájera, la cual esta encargada de realizar todas las pruebas y análisis de calidad pertinentes a los productos producidos en planta antes de su venta comercial.
- Encargada de ventas: Elsa Guzmán, encargada de conseguir potenciales clientes que estén interesados en adquirir productos de la empresa, además de evaluar el mercado y mejorar las ventas.
- Practicantes: Mariana Pineda, encargada de realizar un proyecto de interés de la empresa y darle continuidad junto con la jefa de laboratorio.

1.3 Identificación de la(s) problemática(s)

Como se mencionó anteriormente, existe una gran problemática con las consecuencias que poco a poco se han conocido de los fertilizantes químicos, es por ello por lo que Microalgas Oleas de México vio una gran oportunidad de negocio en formular productos de origen biológico que los sustituyan, siendo estos mucho más económicos (por el precio de las cianobacterias) y sostenibles, es decir, sin impactos negativos en mantos acuíferos y pérdida de nutrientes en suelos.

Actualmente se desarrollan productos agrícolas que impulsan el sector agrícola, sin embargo, estos productos no cuentan con los microorganismos vivos, es decir, consisten que un concentrado seco de los mismos. Si bien, estos son productos que han demostrado su eficacia, el formular un producto que sea capaz de mantener vivas a las cianobacterias por un tiempo de vida largo de anaquel permitiría no solo un impacto al momento de su aplicación, si no también, el crecimiento del microorganismo en el cultivo y, por lo tanto, un efecto positivo constante en un periodo de tiempo más extenso, siendo más atractivo y sostenible para los agricultores y clientes de los bio-estimulantes en México.

1.4. Planeación de alternativa(s)

El formular un nuevo producto y alargar su vida en anaquel es un proceso que requiere una cantidad de tiempo extensa, por lo que el tener una planeación de cada etapa es crucial para poder terminar en tiempo y forma, es por ello por lo que se han establecido y especificado los tiempos asignados para cada etapa a continuación.

En primera instancia es necesaria una investigación completa y exhaustiva de las cianobacterias, el comprender su comportamiento y condiciones de crecimiento resulta crucial para poder extender su condiciones de vida. De igual forma, es necesario investigar los productos relacionados en el mercado para poder desarrollar ideas que permitan encaminar el proyecto, por ejemplo, analizar los conservadores u otros complementos que ayudan a dichos productos a poder mantener su actividad biológica en condiciones estándar de envasado.

Posteriormente, se comienza con el escalamiento de los cultivos para poder tener suficientes microorganismos para realizar las pruebas de sensibilidad de los componentes a implementar, la vida de anaquel, pruebas microbiológicas y el prototipo final. Una vez escalado el cultivo, es necesario mantener un control que permita observar el comportamiento de la cianobacteria y así, saber la etapa de crecimiento exponencial que tiene y poder envasarla en esta etapa.

Una vez que su crecimiento se detiene y comienza a decaer, se realiza un análisis cinético que permita observar el comportamiento que tuvo, y ahora sí, se proponen las distintas formulaciones para los prototipos a probar. Seguidamente, se realizan pruebas de sensibilidad que permitan saber las concentraciones necesarias de conservadores y demás componentes para que se no provoque un efecto negativo en la cianobacteria, es decir, un estado de shock que provoque la muerte celular.

A continuación, se realizan las pruebas pertinentes de viabilidad celular que permitan conocer si ahora sí, la formulación completa está permitiendo que el microorganismo prolongue su actividad biológica, al mismo tiempo que se realizan pruebas microbiológicas que proporcionan información de los posibles contaminantes que pueden crecer en el producto que evitarían su venta al público (coliformes, hongos, etc.)

Si las pruebas no salen conforme lo esperado, se tendría que replantear una nueva formulación y repetir las pruebas de sensibilidad y microbiológicas, sin embargo, si todo avanza conforme lo esperado, la siguiente etapa consistiría en iniciar la prueba de vida de anaquel (mínimo 2 meses conforme lo esperado) y finalmente, terminar con el análisis de resultados y posibles mejoras al proceso o formulación.

1.4.1 Objetivo (s)

Objetivo general:

Formular un prototipo de inoculante biológico con la cianobacteria *Nostoc* sp. Para poder obtener un nuevo producto que ayude con la fijación de nitrógeno en los cultivos a mayo de 2024.

Objetivos específicos:

- Establecer estándares de cultivo de Nostoc para proceso de producción de inoculante.
- Formular un inoculante biológico con Nostoc sp.
- Aumentar la vida mínima de anaquel del inoculante Nostoc por lo menos 1 mes.
- Validar la calidad del prototipo.

1.4.2 Alcance del proyecto

El alcance de este proyecto prevé el desarrollar un prototipo de formulación, en donde la cianobacteria *Nostoc sp.* siga teniendo una viabilidad que permita su venta comercial y facilite el transporte de dicho microorganismo. Debido a la cantidad de tiempo dedicada a este proyecto, el alcance no permite generar el producto final, por lo que lo que se espera como mínimo es el formular un prototipo.

1.4.3 Acta de constitución de proyecto

Durante la fase inicial del proyecto se desarrolló un documento denominado Acta de constitución del proyecto, en donde se desglosaron aspectos fundamentales como la racionalidad y propósito del proyecto, los objetivos, la estrategia que se planea seguir, la estructura de gobernabilidad, entre otras cosas. Este documento es posible observarlo en la sección de Anexos como Anexo 1.

1.4.4 Matriz de comunicación

Más adelante, en la etapa de desarrollo, se realizó una matriz de comunicaciones en donde se plasman las responsabilidades que recaen en cada persona involucrada del proyecto. Esta matriz resultó fundamental, debido a que refleja y planea las principales actividades que se planea implementar para poder cumplir en tiempo y forma los objetivos planteados. La matriz de comunicaciones se adjuntó como Anexo 2 en la sección de anexos generales.

1.4.5 EDT y Calendario de actividades (actualizado)

A lo largo de la fase de planeación de actividades se desarrolló un documento denominado Enunciado de Trabajo (EDT), el cual permitió delimitar de forma concreta el propósito y objetivo del proyecto, así como detallar los productos que se prevé obtener, líneas estratégicas, impactos previstos del proyecto y un contexto breve de la problemática que abarca el proyecto.

De igual forma, se realizó un calendario de actividades en donde se desglosaron las actividades y tiempos esperados a lo largo del desarrollo del proyecto. Esto, con la finalidad de considerar y prever los tiempos aproximados necesarios para poder cumplir con los objetivos planteados en su inicio, que si bien, pueden ocurrir contratiempos, es necesario delimitar tiempos que aseguren el éxito del proyecto. Ambos documentos (EDT y calendario de actividades), se pueden encontrar en la sección de anexos generales como Anexo 3 y 4 respectivamente.

1.4.6 Matriz de riesgos

Otro paso fundamental para el desarrollo de este proyecto fue la prevención de posibles riesgos que podían pasar a lo largo del proyecto, mismos que, como se mencionó anteriormente, se contemplaron en el tiempo de desarrollo de actividades en el cronograma. De igual forma, el realizar esta matriz permitió no sólo considerar los posibles factores que pudieran interrumpir o atrasar el desarrollo, si no que permitió establecer medidas de acción para cada riesgo propuesto. Esta matriz se adjuntó en la sección de anexos generales como Anexo 5.

1.4.7 Costos

Los costos se desglosan en el costo de la cepa y los reactivos necesarios para realizar el medio en el que la misma vive y crece, además de los conservadores y nutrientes que se le adicionaron al prototipo final.

De igual forma, se puede considerar como costo el equipo de seguridad obligatorio que requiere el ingreso al laboratorio, es decir guantes, cubre zapatos, cofia y cubrebocas.

1.5. Desarrollo de la propuesta de mejora

Primeramente, y previo al planteamiento del proyecto, se realizó un curso de introducción a la empresa y al área de laboratorio, en donde se hizo un recorrido de las instalaciones, una presentación acerca de las buenas prácticas de laboratorio y del lineamiento que se debe seguir al estar dentro de sus instalaciones. Además de que se expusieron los diversos productos y microorganismos con los que actualmente trabaja la empresa y la misión y visión que tienen para su futuro.

Posteriormente, durante la primera semana dentro de la empresa (enero 2024), se comenzó con el planteamiento del proyecto, en donde se inició con una investigación exhaustiva acerca de las microalgas y cianobacterias, su comportamiento, morfología y el medio en el que crecen.

Al terminar la semana y ya con conocimiento previo, se asignó el microorganismo con el que se iba a trabajar a lo largo del semestre; *Nostoc sp.*, así como los objetivos que se planean cumplir con el mismo, por lo que se comenzó con el calendario de trabajo y la distribución de horas de trabajo que se requerían para llevarse a cabo. De igual forma, se indagó acerca de los productos similares existentes en el mercado, es decir, inoculantes biológicos a base de microorganismos vivos o cianobacterias que ya están a la venta, analizar sus componentes y su tiempo de vida de anaquel.

Una vez que se planteó que el microorganismo sería la cianobacteria *Nostoc sp.*, se comenzó con la preparación del medio BG11 que es indicado por bibliografía para esta cianobacteria, se esterilizó el medio y se realizó un desdoble del inóculo con el que se contaba previamente en la empresa, en donde se realizaron 4 garrafas de 4L cada una (Figura 1), y se mantuvieron en observación y monitoreo durante 15 días aproximadamente (Figura 2) para poder medir su cinética de crecimiento, y así, envasar para el prototipo en la fase exponencial de crecimiento de esta cianobacteria.



Figura 1. Desdoble de cultivo inicial



Figura 2. Crecimiento del cultivo después de 15 días.

Para poder realizar el monitoreo fue necesario tomar muestra de los cultivos prácticamente cada tercer día, en donde se analizaban 4 parámetros cinéticos: pH, salinidad, cel/mL y peso seco. En primera instancia, la salinidad y pH nos permite saber que las condiciones del medio fueron preparadas correctamente para crear un ambiente en donde las células estén creciendo es un rango de 6-10 [9], el parámetro de cel/mL, nos permitió observar que en efecto el crecimiento estuviera ocurriendo (aspecto que también fue comprobable con el cambio de coloración en los cultivos), por lo que se esperaba un aumento considerable en este valor, y finalmente, el parámetro de peso seco, que de igual forma, nos ayudaría a comprobar que la densidad celular hubiera aumentado de inicio a fin.

Para poder realizar estas pruebas fue necesario tomar una alícuota de 15 mL de cada una de las garrafas, este procedimiento fue llevado a cabo dentro de la campana de flujo laminar para evitar contaminación hacia los cultivos y hacia las alícuotas a muestrear. De igual forma,

cada que se realizaba dicho proceso se aforaban las garrafas con medio para mantener un volumen de cultivo constante.

Para los parámetros de pH se utilizó el potenciómetro y se registraron los valores obtenidos en la bitácora, mientras que para cel/mL se tuvo que realizar una dilución 1:10 en tubos eppendorf para que fuera posible contabilizar células en el microscopio, de igual forma para este paso se utilizó a cámara Sedgewick Rafter en donde se contabilizaban 10 cuadrantes y posteriormente se obtenía el promedio de cada muestra. Finalmente, para peso seco se utilizó la metodología CE-MA-005 determinada por la empresa, en donde se determinó la cantidad de biomasa seca obtenida en cada tiempo.

Los resultados obtenidos para cada parámetro se muestran en los Gráficos 1,2,3 y 4, en donde se puede observar que para los parámetros de salinidad y pH, no hubieron cambios abruptos, lo que refleja que el cultivo permaneció siempre en condiciones apropiadas para su crecimiento, y, para los parámetros de cel/mL y peso seco, se puede observar un crecimiento constante al menos hasta el día 15 y luego un decaimiento del mismo, lo que indica que es correcta la investigación de que para el prototipo final se debe envasar durante este periodo.

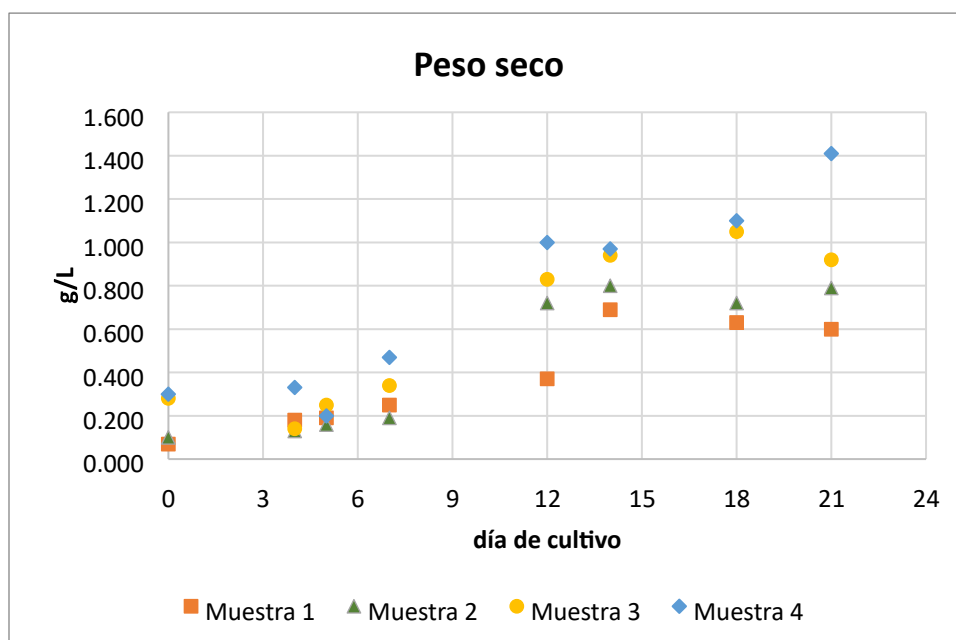


Gráfico 1. Resultados de peso seco para las 4 muestras a lo largo de 21 días.

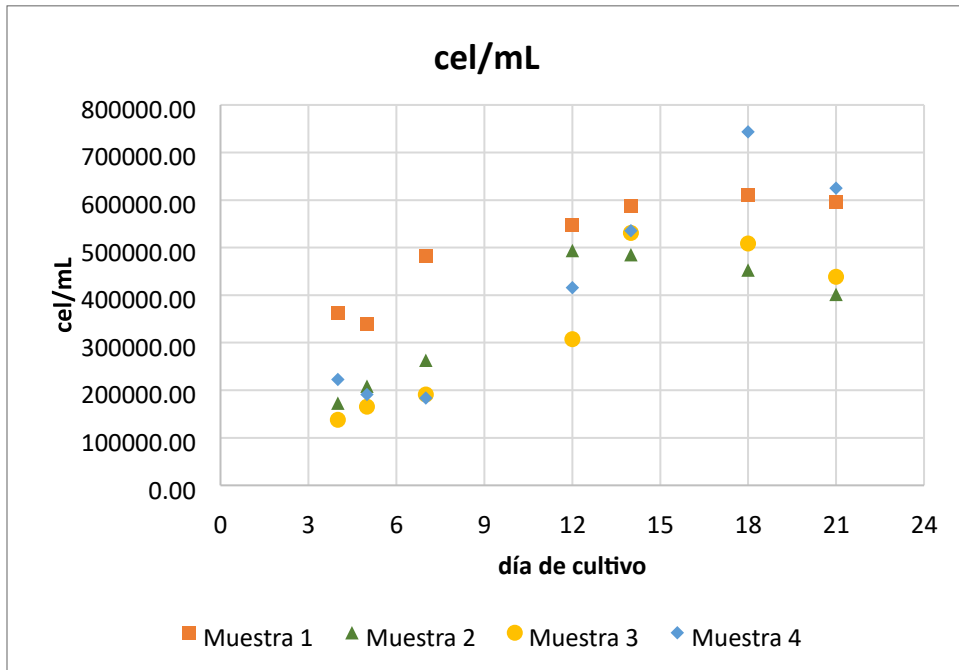


Gráfico 2. Resultados de cel/mL seco para las 4 muestras a lo largo de 21 días.

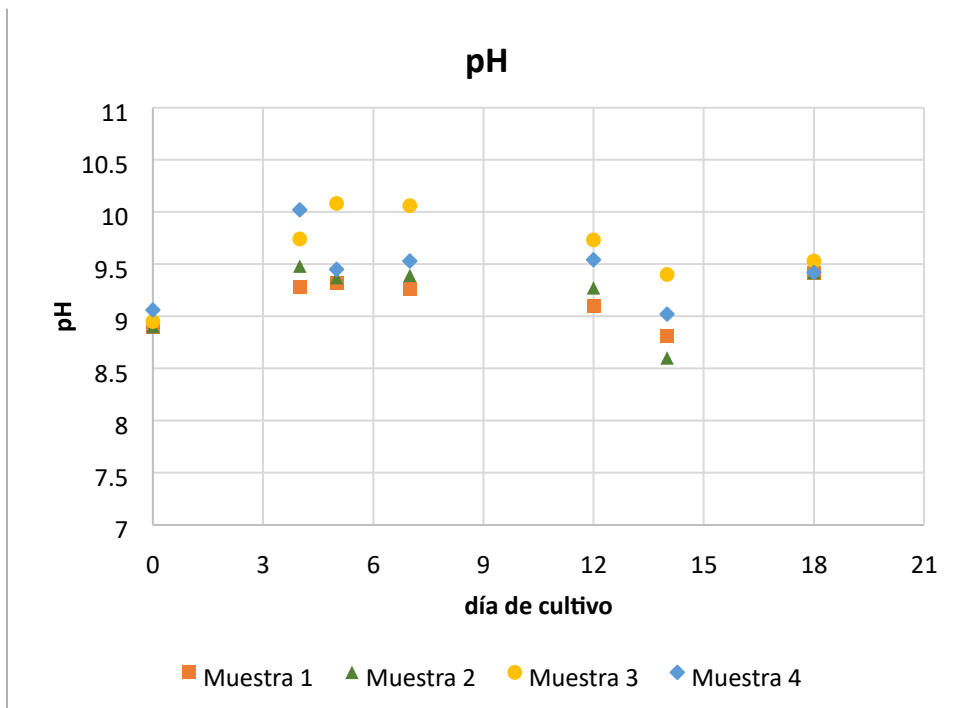


Gráfico 3. Resultados de pH para las 4 muestras a lo largo de 21 días.

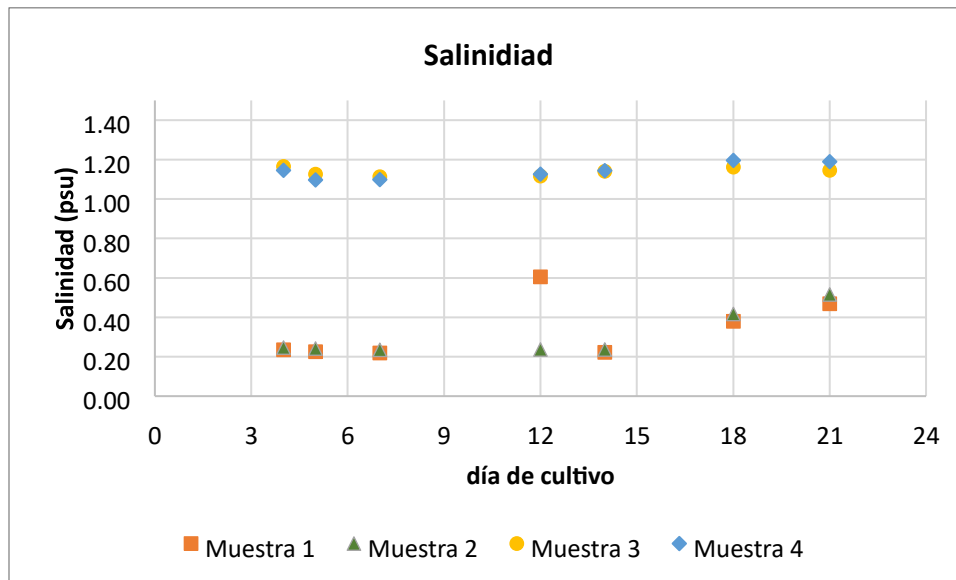


Gráfico 4. Resultados de salinidad (PSU) para las 4 muestras a lo largo de 21 días.

Simultáneamente que se realizó el monitoreo de los cultivos, se tuvo que plantear la formulación que se iba a implementar, en donde después de investigar otros productos, se llegó a la conclusión de que para alargar la vida de anaquel se tenían que añadir distintos compuestos como bacteriostáticos (conservadores), antioxidantes, nutrientes adicionales, estabilizadores de pH, etc. (no se detallarán por temas de confidencialidad). En primer instancia, se plantearon dos formulaciones, en donde el factor de cambio entre ambas sería la viscosidad, es decir que a una se agregó un gelificante para impedir el choque o estrés celular pensando a futuro en el transporte del producto. Para esta parte se planteó que los parámetros de respuesta para validar el prototipo fueran parámetros organolépticos: Color y olor, y análisis microbiológico, en donde se cuenta el crecimiento de hongos y levaduras, coliformes fecales y bacterias mesófilas.

Primeramente, se realizaron distintas pruebas de sensibilidad para comprobar que los compuestos añadidos no tuvieran un efecto negativo en lugar de positivo, es decir que se agregaron distintas concentraciones de conservadores para ver la tolerancia de la bacteria al reactivo (Figura 3), y se dejó en observación durante 4-5 días para analizar los resultados. Una vez que transcurrió el tiempo (Figura 4), se observaron y analizaron los resultados obtenidos (gráficos 5, 6 y 7), con los que se pudo comprobar que las concentraciones mínimas

propuestas de todos los componentes eran las cantidades que mostraban un mejor panorama para el cumplimiento del objetivo.



Figura 3. Tiempo 0 de cultivo con conservador a distintas concentraciones y control.



Figura 4. Día 4 de cultivo con conservador a distintas concentraciones y control.

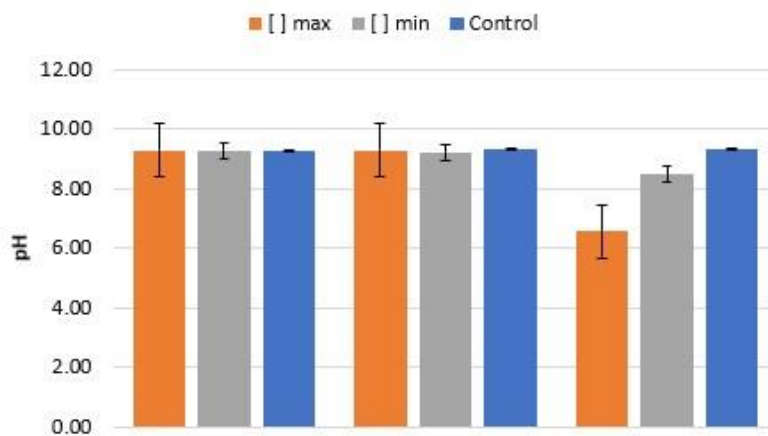


Gráfico 5. Comportamiento de pH en cultivo con distintas concentraciones de conservadores (omitidos por confidencialidad)

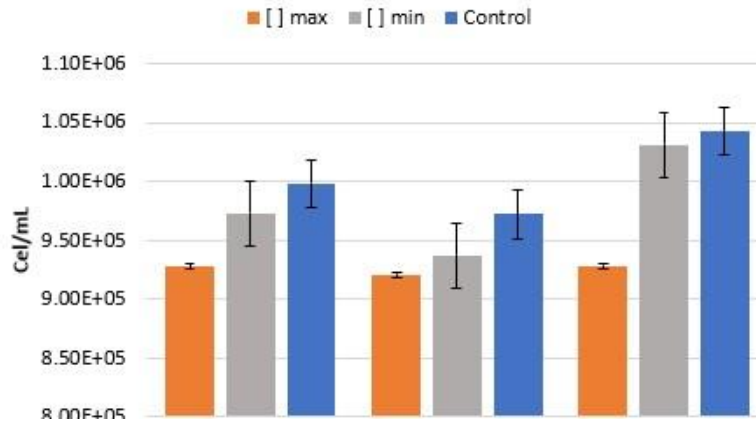


Gráfico 6. Comportamiento de cel/mL en cultivo con distintas concentraciones de conservadores (omitidos por confidencialidad)

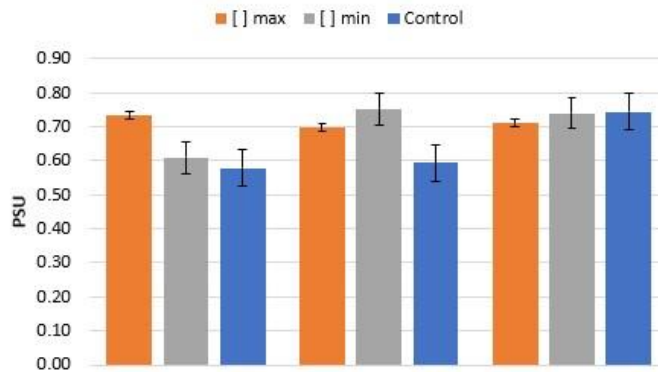


Gráfico 7. Comportamiento de salinidad en cultivo con distintas concentraciones de conservadores (omitidos por confidencialidad)

Una vez que se determinaron las cantidades y se culminó la corrida cinética de crecimiento, se comenzó con el desarrollo de la Formulación 1 líquida y Formulación 2 (viscosa), además del control. Para todas las formulaciones propuestas fue necesario realizar 4 muestras, esto debido a que para poder evaluar su vida de anaquel acelerada es necesario almacenar los prototipos a 3 distintas temperatura (5, 25 y 45°C). Sumando a esas muestras, es necesario almacenar una extra para las pruebas microbiológicas, debido a que esta muestra no puede ser manipulada, mientras que a las otras es necesario realizar monitoreo. Los resultados después de 2 semanas de cada muestra es posible observarlos en las Figuras 5, 6 y 7.



Figura 5. Resultado de las tres formulaciones después de 2 semanas a 5°C.



Figura 6. Resultado de las tres formulaciones después de 2 semanas a 25°C.



Figura 7. Resultado de las tres formulaciones después de 2 semanas a 45°C.

De igual forma, se realizó un análisis de calidad del prototipo que permitió observar si el funcionamiento de los bacteriostáticos (conservadores) era el esperado o deseado y así poder determinar si la vida de anaquel era en efecto, alargada. Como se observa en la Tabla 1, se pudo ver un funcionamiento eficiente contra bacterias coliformes, sin embargo, su funcionamiento es prácticamente nulo con bacterias mesófilas aerobias y, de igual forma, mantiene un funcionamiento parcial para hongos y levaduras.

ANÁLISIS DE CALIDAD			
Muestra	Bacterias Coliformes Totales	Bacterias Mesófilas Aerobias	Hongos y Levaduras
Control	0 UFC/mL	Incontables UFC/mL	6 UFC/mL
Fórmula 1	0 UFC/mL	Incontables UFC/mL	7 UFC/mL
Fórmula 2	0 UFC/mL	Incontables UFC/mL	6 UFC/mL

Tabla 1. Análisis microbiológico de las distintas formulaciones después de 14 días.

Al obtener estos resultados se tomó la decisión de interrumpir el estudio de vida de anaquel de los prototipos desarrollados y retomar la investigación para ver puntos de mejora en la misma y así poder cumplir con el objetivo. Por lo que, investigando, se encontró que el pH óptimo que permite el funcionamiento de los conservadores no era el mismo que con el que se estaba trabajando, por lo que se tuvo que realizar un ajuste que permitiera tanto al cultivo crecer como a los conservadores funcionar.

De acuerdo con lo expuesto en el libro Handbook of Pharmaceutical Excipients (2009) [10], ambos conservadores implementados tienen un rango de funcionamiento de pH entre 3-6, por lo que se decidió observar el comportamiento de la cianobacteria a pH de 4 y 5.5 (además del control) para observar si esta era capaz de adaptarse a condiciones ácidas en el medio. En la Figura 8 es posible observar el resultado después de 1 semana de dejar el cultivo en estas nuevas condiciones.



Figura 8. Comportamiento del cultivo *Nostoc sp.* bajo condiciones de pH de 4, 5 y control a los 7 días de almacenamiento.

Una vez que se analizó que el cultivo era capaz de sobrevivir bajo pH más ácidos, se propuso un replanteamiento de formulación en donde el cultivo se adaptara al pH funcional de los conservadores, por lo que se trabajó con un tampón de fosfatos obtenido del libro Buffers de Calbiochem (2003) [11], siendo ahora que estos sean los que ajusten el pH de las nuevas formulaciones y no los buffers que normalmente se utilizan.

Una vez definiendo estos parámetros, se realizaron 2 formulaciones de igual forma, una líquida y otra con el factor de viscosidad incrementada, además de que para ambas formulaciones se realizaron bajo dos condiciones de pH para poder observar el comportamiento y supervivencia de la cianobacteria, siendo estos pH 6 y 7 como se muestra en las Figuras 9 y 10.



Figura 9. Formulaciones líquidas (F1) bajo condiciones de pH de 6, 7 y sus respectivos controles.



Figura 10. Formulaciones viscosas (F2) bajo condiciones de pH de 6, 7 y sus respectivos controles.

Una vez que se realizaron las respectivas formulaciones, se alicuotaron en tubos Falcon de 45 mL, en donde se separaron los tubos pertinentes para las tres temperaturas que requiere el análisis de vida de anaquel acelerada (5°, 25° y 45°C) para dos semanas, además de otros tubos que almacenaran las muestras pertinentes para los análisis microbiológicos.

Como variables de respuesta se determinó que a todas las muestras se les tomaran parámetros fisicoquímicos (pH, salinidad (PSU), cel/mL y separación por sedimentación), parámetros organolépticos (color y olor) y sus respectivos análisis microbiológicos (Hongos y levaduras, coliformes fecales y bacterias mesófilas). Para ello fueron un total de 96 muestras que fueron analizadas durante un periodo de 21 días, en donde se obtuvieron los siguientes resultados para las formulaciones propuestas:

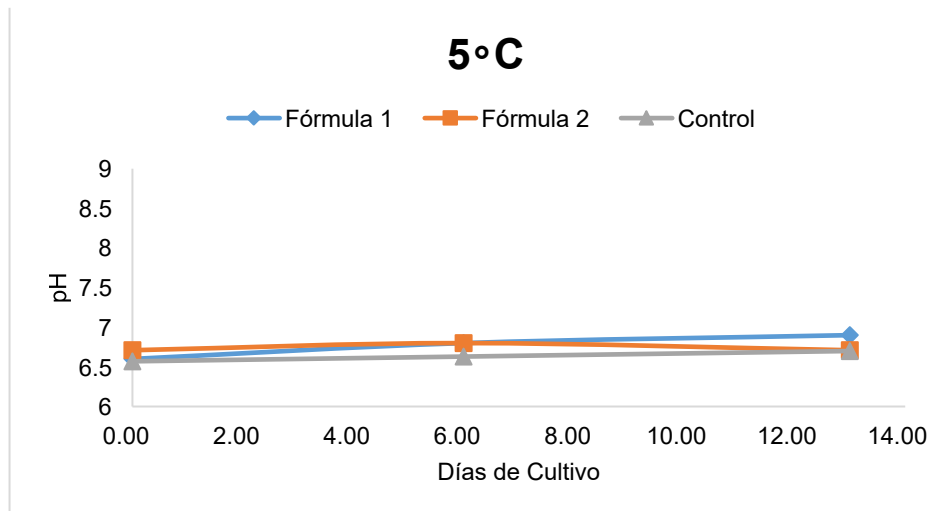


Gráfico 8. Comportamiento de pH en para la Formulación 1 (líquida), Formulación 2 (viscosa) y el control a pH inicial 6 bajo condiciones de 5°C.

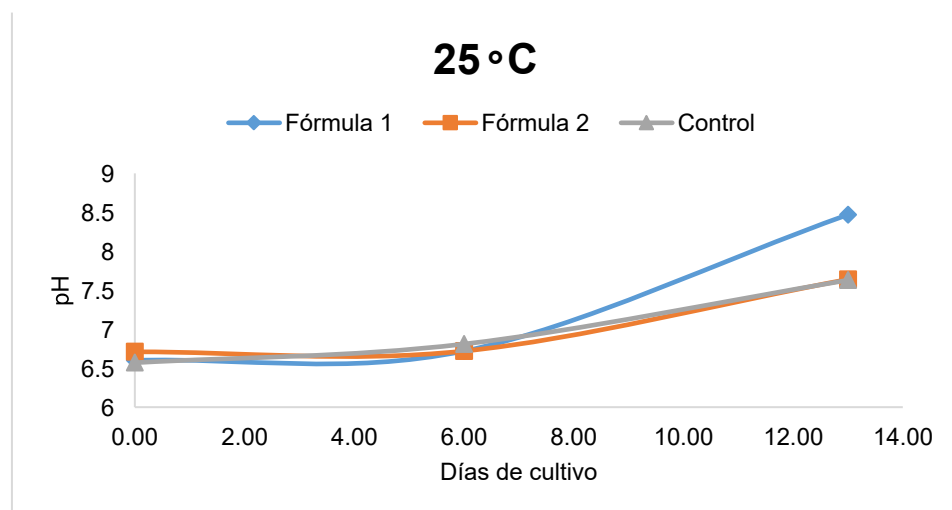


Gráfico 9. Comportamiento de pH en para la Formulación 1 (líquida), Formulación 2 (viscosa) y el control a pH inicial 6 bajo condiciones de 25°C.

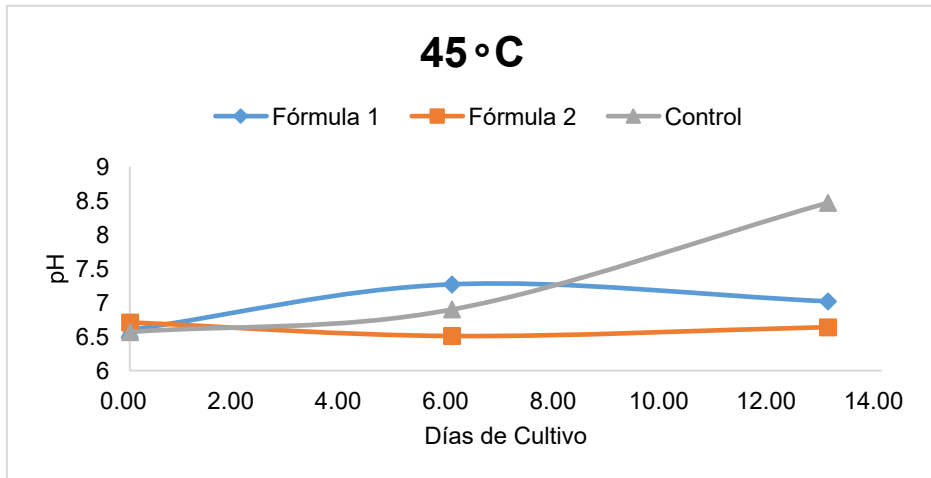


Gráfico 10. Comportamiento de pH en para la Formulación 1 (líquida), Formulación 2 (viscosa) y el control a pH inicial 6 bajo condiciones de 45°C.

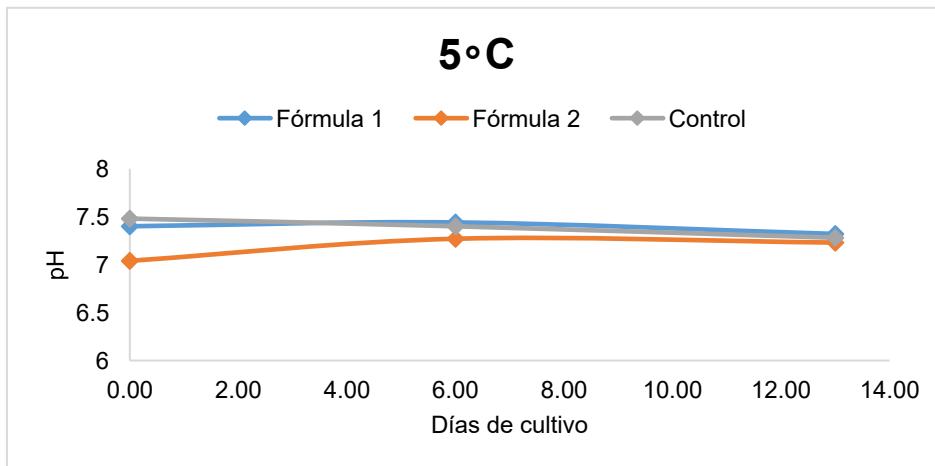


Gráfico 11. Comportamiento de pH en para la Formulación 1 (líquida), Formulación 2 (viscosa) y el control a pH inicial 7 bajo condiciones de 5°C

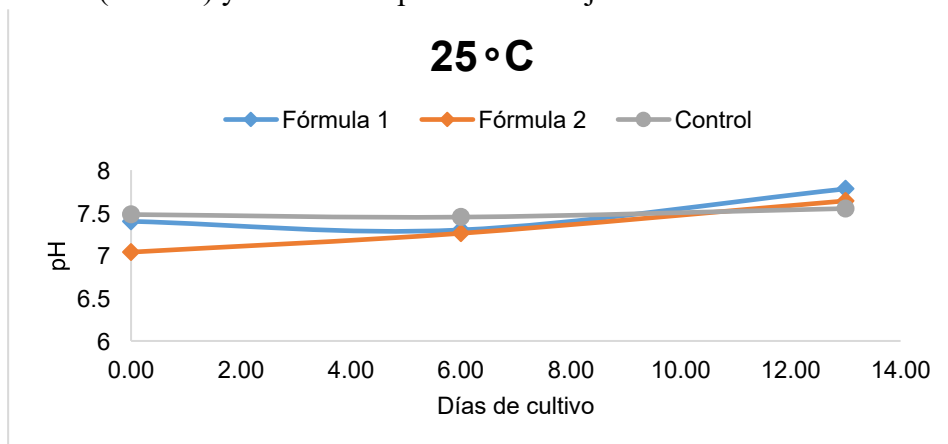


Gráfico 12. Comportamiento de pH en para la Formulación 1 (líquida), Formulación 2 (viscosa) y el control a pH inicial 7 bajo condiciones de 25°C.

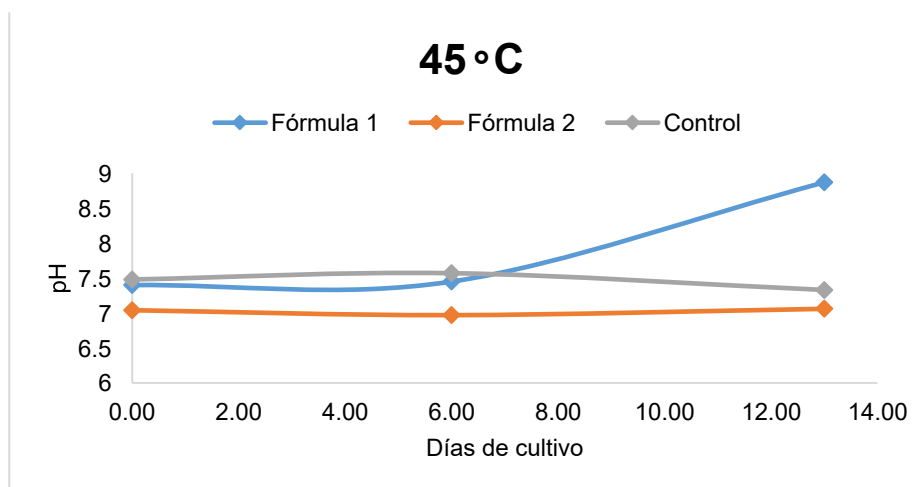


Gráfico 13. Comportamiento de pH en para la Formulación 1 (líquida), Formulación 2 (viscosa) y el control a pH inicial 7 bajo condiciones de 45°C.

A partir de estos gráficos se pudo determinar que el pH implica un cambio en la densidad celular de la cianobacteria, es decir que, en aquellas muestras en las que se refleja un cambio notable o considerable en el comportamiento del pH es debido a que existió una muerte celular importante [12]. Este fenómeno es posible observarlo y compararlo entre las gráficas, por un lado, en las gráficas donde se presentó una menor muerte celular (°5), el cambio en pH fue casi nulo, siendo esto reflejando en la conservación de la viabilidad celular, mientras que para el caso de 45°C se observa para ambos casos un cambio muy grande en el pH, mismo que es reflejado en la apoptosis celular temprana.

De igual forma, se midió la salinidad de todas las formulaciones en donde se obtuvieron las Gráficas 14, 15, 16, 17, 18 y 19, en donde se obtuvo que para todas las muestras los valores de salinidad fue constante, lo que concluye que no hubo evaporación de medio [13] o de ningún líquido durante el proceso de este proyecto, lo que significa que su almacenamiento fue el correcto, además de que el envase elegido fue exitosamente hermético y almacena correctamente a los prototipos.

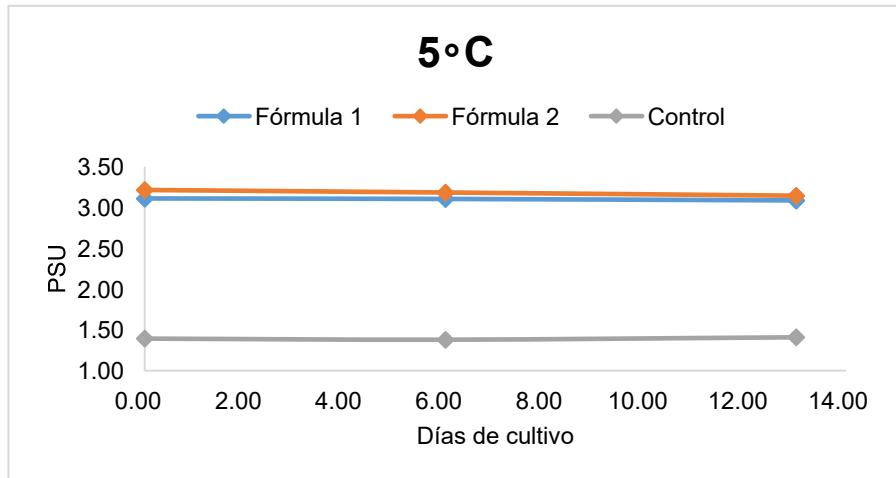


Gráfico 14. Comportamiento de salinidad en para la Formulación 1 (líquida), Formulación 2 (viscosa) y el control a pH inicial 6 bajo condiciones de 5°C.

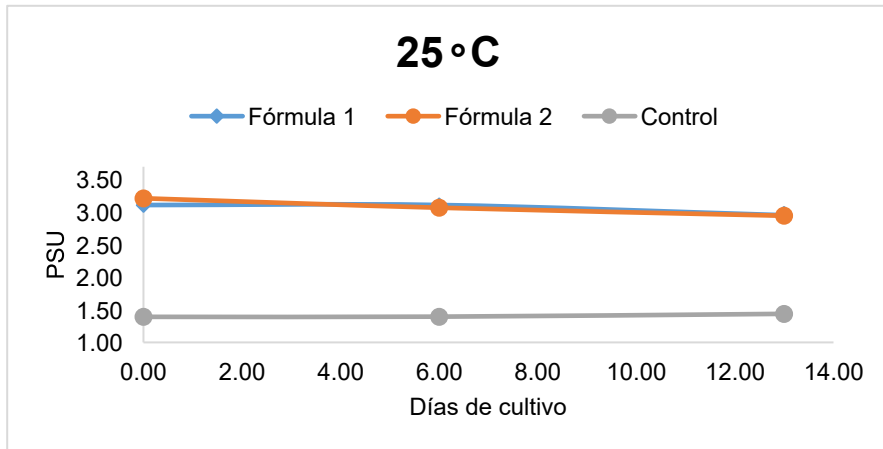


Gráfico 15. Comportamiento de salinidad en para la Formulación 1 (líquida), Formulación 2 (viscosa) y el control a pH inicial 6 bajo condiciones de 25°C.

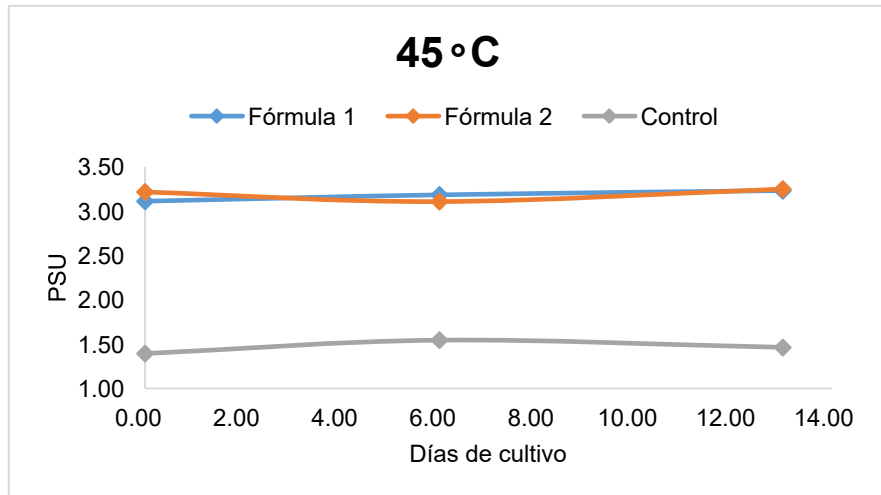


Gráfico 16. Comportamiento de salinidad en para la Formulación 1 (líquida), Formulación 2 (viscosa) y el control a pH inicial 6 bajo condiciones de 45°C.

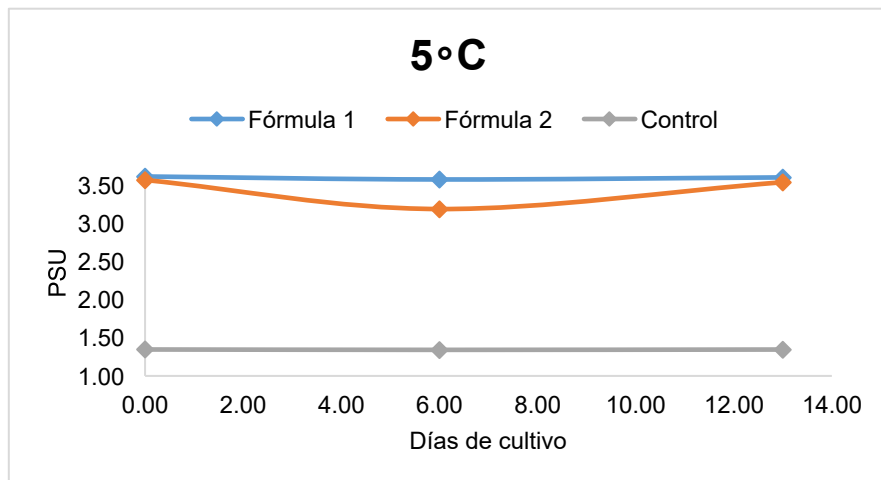


Gráfico 17. Comportamiento de salinidad en para la Formulación 1 (líquida), Formulación 2 (viscosa) y el control a pH inicial 7 bajo condiciones de 5°C.

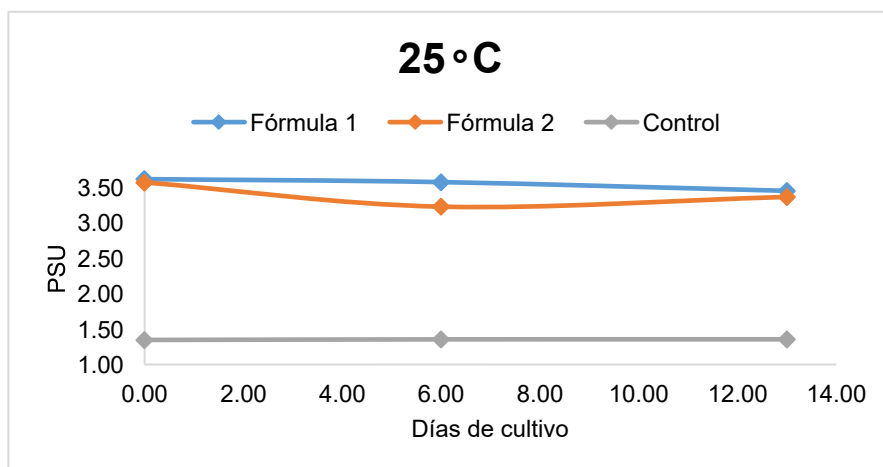


Gráfico 18. Comportamiento de salinidad en para la Formulación 1 (líquida), Formulación 2 (viscosa) y el control a pH inicial 7 bajo condiciones de 25°C.

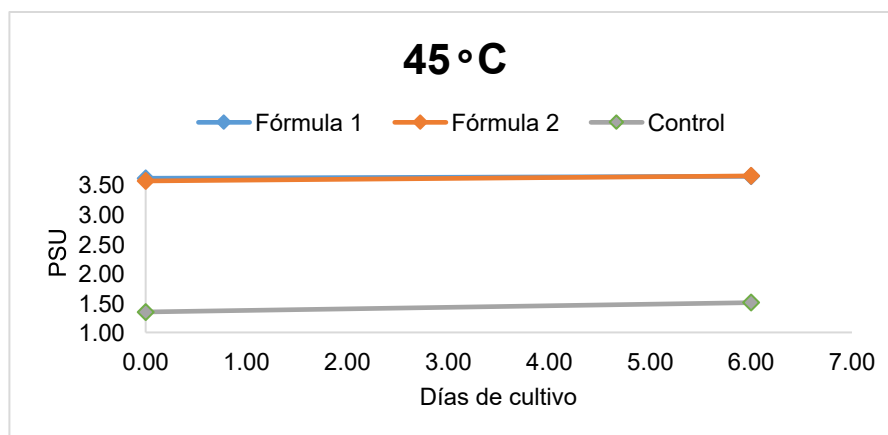


Gráfico 19. Comportamiento de salinidad en para la Formulación 1 (líquida), Formulación 2 (viscosa) y el control a pH inicial 7 bajo condiciones de 45°C.

De igual forma, en la Tabla 2 y 3, se muestran los resultados obtenidos para los parámetros organolépticos de color, mientras que las Tablas 4 y 5 muestran los resultados de los parámetros de olor para ambas formulaciones y bajo todas las condiciones de temperatura. Para la Tabla 2 y 3 primeramente, se muestran las características de color que se obtuvieron a lo largo de los 13 días de anaquel que se analizaron, para las formulaciones de pH 6 y pH 7, en donde al igual que con el pH, se puede observar una conservación de la cianobacteria a 5°C, en donde el color no se vio afectado durante todo este periodo de tiempo, mientras que para la temperatura de 25 y 45°C, este se vio afectado desde la primer semana de su almacenamiento, principalmente con la temperatura de 45°C.

5°C			
Fórmula/Día	0	6	13
F1 pH6	Intenso	Intenso	Intenso
F2 pH6	Intenso	Intenso	Intenso
Control pH6	Intenso	Intenso	Intenso
25°C			
Fórmula/Día	0	6	13
F1 pH6	Intenso	Intenso	Opaco
F2 pH6	Intenso	Intenso	Opaco
Control pH6	Intenso	Opaco	Opaco
45°C			
Fórmula/Día	0	6	13
F1 pH6	Intenso	Opaco	Opaco
F2 pH6	Intenso	Opaco	Opaco
Control pH6	Intenso	Opaco	Opaco

Tabla 2. Resultados del parámetro organoléptico de color para ambas formulaciones y el control de pH 6.

5°C			
Fórmula/Día	0	6	13
F1 pH7	Intenso	Intenso	Intenso
F2 pH7	Intenso	Intenso	Intenso
Control pH7	Intenso	Intenso	Intenso
25°C			
Fórmula/Día	0	6	13
F1 pH7	Intenso	Intenso	Opaco
F2 pH7	Intenso	Intenso	Opaco
Control pH7	Intenso	Opaco	Opaco
45°C			
Fórmula/Día	0	6	13
F1 pH7	Intenso	Opaco	Opaco
F2 pH7	Intenso	Opaco	Opaco
Control pH7	Intenso	Opaco	Opaco

Tabla 3. Resultados del parámetro organoléptico de color para ambas formulaciones y el control de pH 7.

Por otra parte, en la Tabla 4 y 5 se puede observar de la misma forma el comportamiento y conservación de los microorganismos se ve reflejado en el olor que maneja el cultivo al pasar los días. Esta cianobacteria tiene parámetros específicos de crecimiento, es decir que no es considerada por ser adaptable a otras condiciones [9], por lo que el mantenerla bajo condiciones extremas como lo son 45°C, impacta rápidamente su crecimiento y supervivencia, siendo esto reflejado en el olor desagradable que desprende al pasar el tiempo.

5°C			
Fórmula/Día	0	6	13
F1 pH6	Agradable	Agradable	Agradable
F2 pH6	Agradable	Agradable	Agradable
Control pH6	Agradable	Agradable	Agradable
25°C			
Fórmula/Día	0	6	13
F1 pH6	Agradable	Agradable	Desagradable
F2 pH6	Agradable	Agradable	Agradable
Control pH6	Agradable	Agradable	Desagradable
45°C			
Fórmula/Día	0	6	13
F1 pH6	Agradable	Desagradable	Desagradable
F2 pH6	Agradable	Desagradable	Desagradable
Control pH6	Agradable	Desagradable	Desagradable

Tabla 4. Resultados del prámetro organoléptico de olor para ambas formulaciones y el control de pH 6.

5°C			
Fórmula/Día	0	6	13
F1 pH7	Agradable	Agradable	Agradable
F2 pH7	Agradable	Agradable	Agradable
Control pH7	Agradable	Agradable	Agradable
25°C			
Fórmula/Día	0	6	13
F1 pH7	Agradable	Agradable	Desagradable
F2 pH7	Agradable	Agradable	Desagradable
Control pH7	Agradable	Desagradable	Desagradable
45°C			
Fórmula/Día	0	6	13
F1 pH7	Agradable	Desagradable	Desagradable
F2 pH7	Agradable	Desagradable	Desagradable
Control pH7	Agradable	Desagradable	Desagradable

Tabla 5. Resultados del prámetro organoléptico de olor para ambas formulaciones y el control de pH 7.

Como se mencionó anteriormente, se realizaron análisis microbiológicos que permitieron determinar si los conservadores inhibían de forma concreta el crecimiento de microorganismos externos (bacterias, hongos y levaduras). Por lo que se analizaron las muestras a los 6 y 13 días desde que se cerraron los tubos con las formulaciones dentro y se obtuvieron los resultados reflejados en la Tabla 6. Como resultado se obtuvo una gran cantidad de crecimiento en todas las muestras conservadas a 45°C, lo que únicamente termina de confirmar el deterioro tan grande que tuvo el cultivo bajo estas condiciones y de cómo, aún con los conservadores, no fue capaz de mantenerse viable ni siquiera a los 6 días.

Por otra parte, en la Tabla 6, es posible observar como en la mayoría de las formulaciones y alícuotas se presenta un crecimiento incontable de bacterias mesófilas aerobias, esto se le puede atribuir a que los tubos implementados para separar las formulaciones no fueron tubos estériles, es decir que habían sido utilizados para otros experimentos y fueron únicamente lavados, por lo que se asume que quedaron microorganismos restantes en los mismos, siendo estos los que posiblemente estén contaminando. De igual forma, en la formación de hongos y levaduras se observa mayoritariamente un crecimiento en los controles y casi nulo en las formulaciones realizadas, lo que indica que el decrementar el pH en los cultivos fue una decisión correcta y pertinente para que el efecto de los mismos fuera el buscado. Y, finalmente para bacterias coliformes totales, se observa como en la mayoría no hubo un crecimiento, habiendo algunas excepciones, que también se le pueden atribuir a la falta de esterilidad de los tubos, o inclusive, a que el pH de los conservadores implementados no estaba lo suficientemente ácido para que estos tuvieran el efecto deseado.

Temperatura (°C)	Tipo de Unidad de cultivo	Bacterias coliformes Totales (UFC)	Bacterias mesófilas aerobias (UFC)	Hongos y levaduras (UFC)
25	Fórmula 1	Incontable	Incontable	0
	Fórmula 2	0		0
	Control	0		Incontable
	Fórmula 1	0		0
	Fórmula 2	0		0
	Control	725		Incontable
5	Fórmula 1	0	Incontable	Incontable
	Fórmula 2	0		4

	Control	Incontable	Incontable
25	Fórmula 1		Incontable
	Fórmula 2	0	0

	Control	15		Incontable
45	Fórmula 1	0		0
	Fórmula 2	0	2	0
	Control	0	Incontable	0
5	Fórmula 1	0		0
	Fórmula 2	1		3
	Control	Incontable		Incontable
25	Fórmula 1			0
	Fórmula 2			Incontable
	Control			Incontable
45	Fórmula 1	0		0
	Fórmula 2	0	0	Incontable
	Control	0	Incontable	4
5	Fórmula 1	0		5
	Fórmula 2	0		0
	Control	0		0
25	Fórmula 1	Incontable		0
	Fórmula 2	0		0
	Control	0		11
45	Fórmula 1	0	0	0
	Fórmula 2	0	Incontable	0
	Control	0		0
5	Fórmula 1	0		9
	Fórmula 2	2		0
	Control	Incontable		Incontable
25	Fórmula 1			0
	Fórmula 2			0
	Control			1

45	Fórmula 1	0	0	0
	Fórmula 2	0	Incontable	0
	Control	0	0	0

Tabla 6. Resultados de los análisis microbiológicos realizados a todas las formulaciones bajo temperaturas de 5°, 25° y 45°C.

Asimismo, por medio de conteo celular con la cámara de Sedgewick Rafter fue posible obtener el parámetro de respuesta de cel/mL (Anexo 6), con el cual se pudo obtener el porcentaje de viabilidad celular (Tabla 7) y ahora sí, con base en ese y en los resultados de los análisis microbiológicos, concluir con bases sólidas cuál formulación obtuvo mejores resultados y nos acercó más al objetivo.

TEMPERATURA °C	CONTROL		FORMULA 1		FORMULA 2	
	pH 6	pH 7	pH 6	pH 7	pH 6	pH 7
5	100%	101%	100%	126%	100%	108%
25	80%	60%	2%	8%	83%	79%
45	0%	1%	3%	29%	7%	15%

Tabla 7. Porcentajes de supervivencia celular de los controles y formulaciones líquidas y viscosas a ambos pH.

A partir de esta tabla y con las evidencias de los resultados de los otros parámetros fisicoquímicos, organolépticos y los análisis microbiológicos, se pudo determinar que, a pesar de que los mejores resultados son observables en la temperatura de 5°C, esta no es la más viables debido a que para el transporte de un producto que se almacene a esas condiciones, es necesaria una inversión y costo mayor, lo que provocaría que el producto deje de estar en el mercado competitivo de su área.

Por lo que, se concluyó que la mejor formulación o la que mostró mejores resultados fue la formulación 2, es decir la que contaba con un agente que aumentaba su viscosidad. Si bien en el porcentaje de supervivencia, solo se observa una mejora o un incremento del 3% respecto a sus controles, en el área de calidad, se observa una mejora considerable ya que en

los controles el crecimiento bacteriano y fúngico fue total, en las formulaciones propuestas si se observó una inhibición clara y precisa.

Si bien falta mucho para mejorar este proyecto, es claro que deja un base sólida para sus siguientes fases, en donde es fundamental que se validen los datos obtenidos durante este proyecto, y, posteriormente se valide su funcionamiento en situaciones y escenarios reales como el campo.

1.6. Valoración de productos, resultados e impactos

El haber formado parte de este PAP ha sumado considerablemente a mi formación profesional, y me ha permitido abordar las problemáticas previamente planteadas. Debido a que fue un proyecto que comenzó desde cero, no se contó con una base previa ni con mucha literatura de apoyo, por lo que la fase de investigación y planteamiento de una formulación resultó más tardada de lo esperado y terminó atrasando de cierta forma el resto del proyecto.

Los resultados obtenidos durante este PAP resultan importantes ya que, una vez que el producto superó todas las pruebas pertinentes para su venta, puede no solo ampliar el catálogo de venta de la empresa, si no también, extender su rango de distribución debido al alargamiento de la vida de anaquel, además, de que permite que este producto se ponga en un foco de atención de los consumidores debido no sólo a su costo accesible, si no también, a los beneficios a largo plazo que presenta con respecto a su competencia, y la innovación tan grande que representa debido a la poca cantidad de patentes que existen relacionadas a los inoculantes biológicos a base de esta cianobacteria.

Si bien los efectos para la empresa y comunidad pueden ser considerables, este proyecto no tiene un cierre durante este PAP, ya que podría continuar con la investigación para alargar aún más la vida de anaquel, o en todo caso, continuar con las pruebas en escala mayor e incluso con las pruebas en los distintos suelos y cultivos para monitorear su comportamiento y cumplimiento de su función.

2. Productos

2.1 producto A) Modelo o prototipo

- Descripción del producto: Se elaborará por lo menos un prototipo de formulación que contenga los compuestos y nutrientes necesarios para poder prolongar la vida de anaquel del inoculante biológico a base de la cianobacteria *Nostoc sp.*

2.2 producto B) Base de datos en Excel con análisis de resultados

- Descripción del producto: Se elaborará una base o distintas bases de Excel que permitan analizar y observar los resultados obtenidos a lo largo del proyecto, es decir, los resultados de los análisis microbiológicos realizados, el monitoreo cinético de los cultivos, los parámetros de viabilidad celular establecidos para las formulaciones, etc.

2.3 producto C) Reporte PAP

- Descripción del producto: Se elaborará el reporte PAP, en donde se especificará detalladamente todo lo realizado a lo largo del proyecto, los resultados y pasos siguientes que se recomiendan para dar continuidad.

2.4 producto D) Bitácora de laboratorio

- Descripción del producto: Se realizará de forma diaria y continua una bitácora de laboratorio en donde se detallará todo lo realizado dentro de las instalaciones durante el día de trabajo, esto con la finalidad de mantener un registro ordenado de los resultados y de la metodología implementada.

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

A lo largo de este Proyecto de Aplicación Profesional me enfrenté a una realidad que siempre estuvo ajena a mí por el contexto en el que se desarrolla, es decir que nunca me había enfrentado a la problemática que involucra los fertilizantes químicos y las grandes

consecuencias ambientales que estos están dejando actualmente y que son ignoradas por las grandes compañías. Lo que me llevó a ser consciente de la gran importancia que tiene el desarrollar nuevas e innovadoras soluciones biológicas, que si bien, permitan los beneficios que cuentan los fertilizantes químicos tradicionales, pero, evitando las consecuencias que estos traen, beneficiando así no solo al consumidor, si no también al planeta.

De igual forma, al involucrarme en este proyecto, pude poder ser capaz de comprender el funcionamiento de una empresa, los roles de los trabajadores dentro de ella, y la importancia que tiene la jerarquía dentro de la misma, es de decir que, es fundamental que haya gente más preparada que otra para poder tener con quien acercarte en caso de encontrar una problemática que y que no se detenga el proyecto. Además, me resultó muy enriquecedor esta experiencia ya que me permitió adentrarme en el mundo profesional, teniendo experiencias más reales de lo que implica formar parte de una empresa.

Finalmente, el Proyecto de Aplicación Profesional me permitió ser más consciente de lo que implica mi profesión en el mundo real, es decir que, existen aún muchas problemáticas que productos químicos han desencadenado en el medio ambiente a causa de sus desechos, por lo que considero que me hizo tener una responsabilidad ética en que mi profesión me va a permitir generar soluciones amigables con el medio ambiente y está en mí formarme como una profesionista capaz de ofrecer este tipo de soluciones.

3.2 Aprendizajes logrados

Durante el Proyecto de Aplicación Profesional, pude ser capaz de sobrellevar nuevos retos que me permitieron sentir una satisfacción mayor a la culminación del proyecto. Considero que el mayor reto al que fui capaz de enfrentarme durante este proyecto fue no tener buenos resultados desde la primera vez, esto porque he estado acostumbrada a obtener buenos resultados en lo que hago, por lo que el no tenerlo en este proyecto a la primera, me hizo replantearme muchas cosas, sin embargo, al obtener un mejor resultado en la segunda formulación me hizo considerar que las cosas no siempre salen a la primera, y que por el contrario, es necesario regresarse algunos pasos, analizar y entonces volver a proponer.

De igual forma, otro reto al que me tuve que enfrentar fue la cantidad tan grande de muestras que tuve que tratar, que durante todo el proyecto terminaron siendo más de 100 muestras analizadas, lo que me conllevó a aprender a gestionar mi tiempo y recursos para poder cumplir con lo que se propone.

Personal y profesionalmente este proyecto me aportó ya que logré dominar nuevas técnicas analíticas como lo es peso seco, medición de pH, salinidad, análisis microbiológico y análisis de viabilidad celular, haciéndome una profesionalista más completa y con una mayor experiencia dentro del laboratorio.

4. Bibliografía y otros recursos

- [1] Microalgas Oleas de México. (2024) <https://www.microalgasoleas.com.mx/>
- [2] OLEOMEX. (2024). <https://oleomex.com.mx/nosotros/>
- [3] De la Cruz, A., & García-Serrano, P. (2012). La contribución de los fertilizantes a la producción ya la calidad de los alimentos. *Agricultura: Revista agropecuaria y ganadera*, (955), 668-670.
- [4] Savci, S. (2012). Investigation of effect of chemical fertilizers on environment. *Apcon Procedia*, 1, 287-292.
- [5] Craswell, E. (2021). Fertilizers and nitrate pollution of surface and ground water: an increasingly pervasive global problem. *SN Applied Sciences*, 3(4), 518.
- [6] Massah, J., & Azadegan, B. (2016). Effect of chemical fertilizers on soil compaction and degradation. *Agricultural Mechanization in Asia, Africa and Latin America*, 47(1), 44-50.
- [7] Irisarri, P., Gonnet, S., Deambrosi, E., & Monza, J. (1999). Diversidad de cianobacterias con heterocistos en suelos cultivados con arroz. *Agrociencia Uruguay*, 3(1), 31-37.
- [8] Ávalos de la Cruz, M. A., Figueroa Viramontes, U., García Hernández, J. L., Vázquez Vázquez, C., Gallegos Robles, M. A., & Orona Castillo, I. (2018). Bioinoculantes y abonos orgánicos en la producción de maíz forrajero. *Nova scientia*, 10(20), 170-189.
- [9] Quinto Hidalgo, E. J. (2022). Sobrevivencia del “nostoc sp” cultivado a diferentes parámetros productivos en cultivo in vitro—Perú, 2021.
- [10] Rowe, R. C., Sheskey, P., & Quinn, M. (2009). *Handbook of pharmaceutical excipients*. Libros Digitales-Pharmaceutical Press.
- [11] Mohan, C. (2003). Buffers a guide for the preparation and use of buffers in biological systems.
- [12] García Tamayo, J. (1994). Muerte Celular. *Invest. clín*, 119-22.

[13] Gutiérrez, M., & Carreón-Hernández, E. (2004). Salinidad en el bajo Río Conchos: aportes y tendencias. *Terra Latinoamericana*, 22(4), 499-506.

5. Anexos generales

Anexo 1. Acta Constitutiva

Proyecto:	Formulación de inoculante biológico con cianobacteria <i>Nostoc sp.</i>
Código:	728200-01
Fecha:	15,01,2024

Racionalidad y Propósito del Proyecto:

Este proyecto pretende la formulación de un prototipo de un inoculante biológico a partir de la cianobacteria *Nostoc sp.*, con una vida mínima de anaquel de 2 meses. Esto ya que actualmente no existen productos relacionados con el tema y se observa un gran potencial de crecimiento y negocio en este tema.

Objetivos del Proyecto:

Desarrollar un prototipo de inoculante biológico a base de la cianobacteria *Nostoc sp.*

Objetivos específicos:

- Establecer estándares de cultivo de *Nostoc* para proceso de producción de inoculante.
- Formular un inoculante biológico con *Nostoc sp.*
- Aumentar la vida mínima de anaquel del inoculante *Nostoc* por lo menos 2 meses. - Validar la calidad del prototipo.

Estrategia del Proyecto:

El alcance de este proyecto prevé el desarrollar un prototipo que tenga una vida mínima de anaquel de 2 meses. En donde el microorganismo siga teniendo una viabilidad que permita su venta comercial y facilite el transporte de esta cianobacteria.

Debido a la cantidad de tiempo dedicada a este proyecto, el alcance no permite generar el producto final, por lo que lo que se espera como mínimo es el formular un prototipo.

Cronograma:

1. Escalamiento en garrafas de 4.5L de la cianobacteria *Nostoc sp.*, crecida previamente en matraz.
2. Mantenimiento y monitoreo de la cepa. (pH, salinidad, conteo celular, peso seco).
3. Revisión y análisis de datos de cinéticas de crecimiento.
4. Determinación de distintas formulaciones para la generación de prototipos.
5. Desarrollo de prototipos.
6. Pruebas de viabilidad celular posterior a la generación de los prototipos.
7. En caso de no tener los resultados esperados, regresar al análisis de datos y la reformulación de prototipos.
8. Pruebas de vida de anaquel.
9. Análisis de resultados.
10. Presentación de resultados obtenidos.

Presupuesto mínimo:

- Gastos generales de materiales implementados (microalgas, garrafas, medios de cultivo, equipos de laboratorio, agua e insumos, etc.)- - Transporte o gastos de traslado.

Breve descripción del modelo de intervención.

Riesgos:

- Muerte de cultivo celular en periodo de escalamiento.
- Contaminación de cultivos.
- Vida de anaquel interrumpida o menor a lo previsto.
- Fracaso en formulación.

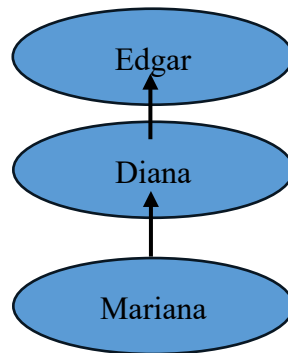
Estructura de gobernabilidad:

La organización y/o jerarquía dentro de la empresa se define de la siguiente forma:

- Gerencia: Ing Edgar
- Jefe de Laboratorio: Mtra. Diana Guillen
- Practicante: Mariana Pineda

Para poder reportar algún cambio y/o modificación primero se tendría que informar a la jefe de Laboratorio y, en caso de no encontrar solución o de que se haya generado un impacto muy grande, entonces ya se tendría que discutir los cambios con el gerente actual, el Ing. Edgar.

Gerencia del Proyecto:



Control de Cambios:

En caso de que se llegaran a presentar cambios imprevistos, se tendrá que dirigir directamente Diana, debido a que ella es la encargada del proyecto y ella será la persona con la que se puedan discutir las distintas soluciones que se podrían plantear.

Anexo 2. Matriz de comunicación

Matriz de Comunicaciones	
Proyecto:	Formulación de inoculante biológico con cianobacteria Nostoc sp.
ID:	PAP3H01-1

Elemento de la EDT	Objetivo		Usuario		Responsabilidad		Tiempo	
	¿Qué comunicamos?	¿Por qué?	Destinatario	Método de Comunicación	Preparación	Envío	Fecha inicial	Frecuencia
Número de elemento en la EDT.	Describe el asunto o tema que se quiere comunicar.	Describe los motivos por los cuales se va a comunicar.	Nombre o rol de la persona al que va dirigido.	Describe la forma en que será comunicado.	Responsable de elaboración.	Responsable de hacer el envío.	Fecha en que debe comenzar el envío.	Indica la frecuencia del envío.
1.1	Bitácora de actividades dentro del laboratorio.	Se comunica debido a las aclaraciones o dudas que puedan surgir con respecto al procedimiento que se lleva a cabo dentro del laboratorio de forma	Supervisora Diana Guillen.	Escrita	Mariana Pineda	Mariana Pineda	15/01/2024	Diaria

1.1	Presentación de resultados intermedia	Esta presentación se realiza debido a que es importante que no solo mi supervisora, si no a los supervisores de otras áreas y el gerente, por cualquier otra aportación y enfoque que ellos	Supervisores, Gerente y Jefes de planta	Oral	Mariana Pineda	Mariana Pineda	19/02/2024	Única entrega
1.1	Hoja de cálculo con resultados en excel	Esto se realiza debido a que es importante no solo obtener resultados, si no también tratar los resultados que se obtienen y de igual forma, analizarlos para poder llegar a una conclusión.	Supervisora Diana Guillen.	Computadora, hoja de excel.	Mariana Pineda	Mariana Pineda	19/02/2024	Única entrega
1.1	Descripción y comunicación oral diaria del trabajo realizado y de la planeación de futuras actividades	Esto se realiza para que mi supervisora esté al pendiente de todas las actividades que llevo a cabo, y así ella me pueda dar seguimiento y un	Supervisora Diana Guillen.	Oral	Mariana Pineda	Mariana Pineda	15/01/2024	Diaria
1.1	Presentación con resultados final	Esto se realizará cuando ya tenga los resultados finales, y así, pueda complementar los resultados presentados en la presentación intermedia y así	Supervisores, Gerente y Jefes de planta	Oral	Mariana Pineda	Mariana Pineda	may-24	Única entrega

Anexo 3. EDT

TITULO Formulación de un Inoculante Biológico con la cianobacteria <i>Nostoc sp.</i>	Guía para el aprendizaje de la Administración de Proyectos	No. DOCUMENTO PAP3H01- 01	REVISION
Proceso: Integración del Proyecto	FECHA ÚLTIMA REVISIÓN 2017-DD-MM	Página 1 de 2	
		Mariana Pineda Alvarez Ing. Diana Guillen	

ENUNCIADO DEL TRABAJO

Objetivo(s) del proyecto:

“Formular un prototipo de inoculante biológico con la cianobacteria *Nostoc sp.* para poder obtener un nuevo producto que ayude con la fijación de nitrógeno en los cultivos a mayo de 2024. ”

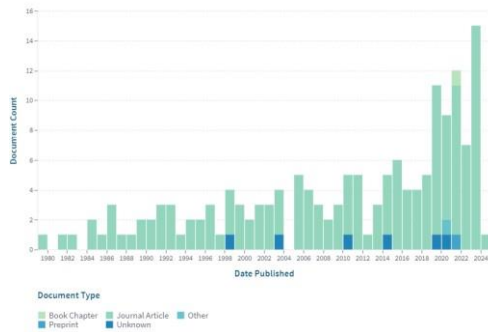
Producto(s) a obtener:

- Prototipo de Inoculante a base del alga *Nostoc sp.* con una vida de anaquel mínima de 2 meses.
 - Bitácora diaria
- Hoja de cálculo con resultados, gráficos, análisis de cinéticas y parámetros de crecimiento de las microalgas.
 - Metodologías escritas.

Descripción del contexto:

○ **Líneas estratégicas de la empresa**

- Ser una empresa (Microalgas-OLEOMEX) referente de la biotecnología a nivel Nacional (vanguardia, investigación).
- Innovación constante en la línea de productos agrícolas (FICOCYAN).
- Innovación constante en el diseño e implementación en la línea de productos alimenticios. o **Antecedentes y Contexto en que se da el proyecto**
- Dentro de la empresa no se ha realizado un proyecto similar con anterioridad.
- Es una nueva formulación y un nuevo producto el que se debe de obtener.
- La cantidad de patentes relacionadas con el proyecto son limitadas (39), y nulas en México.
- El enfoque que se le está dando a la investigación relacionada a las cianobacterias en los últimos años ha sido creciente.



○ **Lineamientos y políticas de la organización**

- Política de calidad de compras
- Calidad en todos los productos de la empresa (valor agregado: sin consecuencias ambientales)
- Proveer soluciones innovadoras y sustentables por medio de la biotecnología de microalgas para la industria alimentaria y agrícola.
- Ser un referente de la biotecnología de microalgas consolidada por sus soluciones integrales e innovadoras que respondan a las necesidades de la industria mexicana.

Impactos previstos del proyecto:

○

Sociales

- El uso de *Nostoc* contribuye a la seguridad alimentaria al proporcionar una fuente adicional de alimentos nutritivos.
- Mejora de la fertilidad del suelo y reducción de la dependencia de fertilizantes químicos, lo que podría beneficiar a los agricultores y comunidades rurales

○ **Económicos**

- Inoculante biológico de bajo costo.

○ **Ambientales**

- La fijación de nitrógeno por parte de *Nostoc* podría contribuir a la salud de los ecosistemas acuáticos al proporcionar una fuente adicional de nutrientes.
- Reducción de la contaminación debida al uso de fertilizantes químicos

<ul style="list-style-type: none">○ Tecnológicos<ul style="list-style-type: none">- Las cianobacterias, incluidas las del género <i>Nostoc</i>, tienen la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico, lo que podría mejorar la fertilidad del suelo y reducir la necesidad de fertilizantes nitrogenados.
<ul style="list-style-type: none">○ Legales<ul style="list-style-type: none">- Seguir las normas y reglas NOM que permitan que el producto pueda ser clasificado como inoculante orgánico.○ Políticos<ul style="list-style-type: none">- No aplica○ Personales<ul style="list-style-type: none">- La realización de este proyecto permitirá ampliar el conocimiento acerca de las cianobacterias, su mantenimiento y alargamiento de vida, así como el proceso de formulación y construcción de un nuevo producto, no solo en temas legales, si no también en la metodología y planeación que este tema requiere.

Anexo 4. Calendario de actividades

Formulación de inoculante biológico con cianobacteria <i>Nostoc</i> sp.					
Estructura de la EDT		Duración Predecesora Costo estimado			
1	Inicio				
1.1	Escalamiento de cultivos				
1.1.1	Investigación de la cianobacteria a trabajar				
1.1.1.1	Ver condiciones de crecimiento				
1.1.1.1.1	Inoculación de cultivo	1 día	n/a	-	
1.1.1.1.2	Escalamiento a garrafas	1 día	1.1.1.1	-	
1.1.1.1.3	Conservación de cultivo original	-	1.1.1.2	-	
1.2	Monitoreo de cultivo				
1.2.1	Bitácora				
1.2.1.1	Hoja de excel con resultados				
1.2.1.1.1	Medición pH y salinidad	15 días	1.1.1.1	-	
1.2.1.1.2	Conteo celular	15 días	1.1.1.1	-	
1.2.1.1.3	Realización de peso seco para calcular biomasa	15 días	1.1.1.1	-	
2	Formulación de prototipo				
2.1	Análisis para formulación				
2.1.1	Bitácora				
2.1.1.1	Hoja de excel con análisis				
2.1.1.1.1	Análisis de cinéticas de crecimiento de la cepa	15 días	1.2.1.1, 1.2.1.1.2 & 1.2.1.1.3	-	
2.1.1.1.2	Investigación de soluciones o productos por añadir para prolongar su vida de ar	3 días	n/a	-	
2.2	Inicio de pruebas de formulación				
2.2.1	Bitácora				
2.2.1.1	Excel				
2.2.1.1.1	Inicio de pruebas de formulación	40 días	1.1.1.2 & 2.1.1.2	-	
2.2.1.1.2	Validación de viabilidad	21 días	2.2.1.1	-	
2.2.1.1.3	Análisis de viabilidad	21 días	2.2.1.1 & 2.2.1.2	-	
3	Vida de anaquel				
3.1	Prototipo				
3.1.1	Bitácora				
3.1.1.1	Excel				
3.1.1.1.1	Pruebas continuas de vida de anaquel	21 días	2.2.1.1	-	
3.1.1.1.2	Presentación	10 días	n/a	-	
3.1.1.1.3	Entrega prototipo final	5 meses	n/a	-	

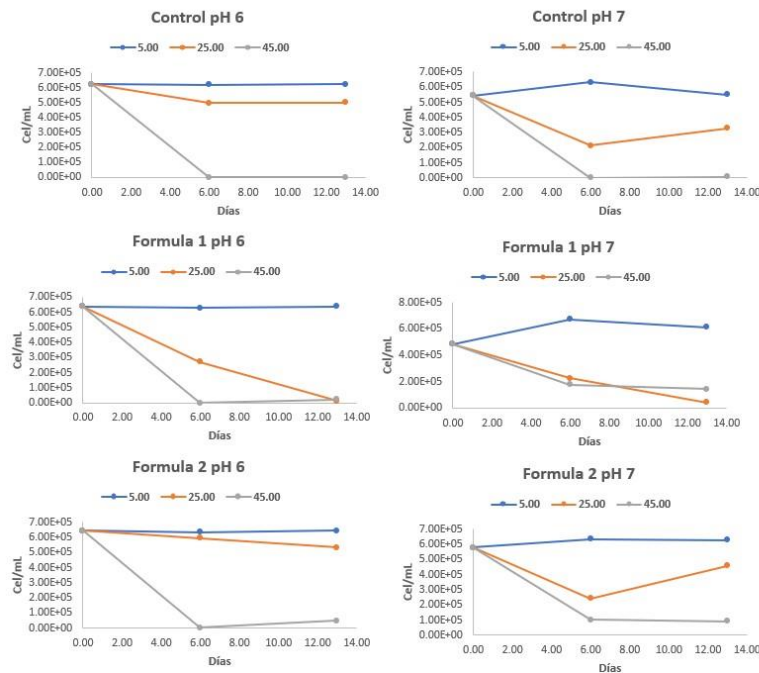
Anexo 5. Matriz de riesgos



Matriz de Riesgos			
Proyecto:	Formulación de inoculante biológico a partir de cianobacteria <i>Nostoc sp.</i>		
ID:	129200-01		
Fecha de inicio:	15/01/2024		
Fecha de fin:	13/05/2024		

No. de Riesgo	Elemento de la EDT	Tipo de riesgo	Riesgo		Sistema	Impacto (A/M/B)	Probabilidad (A/M/B)	Evaluación		Respuesta	Responsable de la acción de respuesta
			Fuente	Consecuencia				Valor (1 al 9)	Nivel (A/M/B)		
No. de identificación del riesgo	1.1	Técnico	Si no se mantienen condiciones adecuadas, o no se alimenta de forma correcta el cultivo, se puede generar una muerte celular indeseada.	Esto puede conducir a un retraso total en el proyecto ya que es la base del mismo, o incluso un cambio de los tiempos programados.	Falta de suministro de coloración de cultivo.	A	B	3	MEDIO	Se podría volver a realizar el escalamiento ya que la capa original se conservó. O se podría replantar el	Diana Guillón Jefe de Laboratorio
No. de identificación del riesgo	1.1	Calidad	Si no se mantienen condiciones adecuadas a la hora de obtener las muestras para monitoreo, se puede generar una contaminación indeseada.	Esto podría generar una calidad baja en el producto obtenido o incluso afectar vías de aseque o inclusive generar un fracaso en los objetivos.	Cultivo tome una coloración diferente a la deseada.	M	M	4	MEDIO	Se podría buscar soluciones para la contaminación, con algún reactivo o alguna solución. Podría llegar incluso hasta el cambio de	Diana Guillón Jefe de Laboratorio
No. de identificación del riesgo	1.1	Cronograma	De forma continua (a lo largo del día) se tienen que realizar monitoreos del cultivo, por lo que se pueden llegar a acumular las muestras que se tienen que analizar.	En caso de que no se administren de forma correcta las tareas y actividades, puede generar un retraso en el cronograma y una acumulación de tareas. De igual forma podría impactar en los tiempos dedicados en la empresa, haciendo que las horas sumen.	Acumulación de muestras en refrigeración	M	M	4	MEDIO	Especificar la acción que el equipo del proyecto llevará a cabo para eliminar, transferir o mitigar la amenaza o para explorar, mejorar o compartir una oportunidad.	Diana Guillón Jefe de Laboratorio
No. de identificación del riesgo	1.1	Alcance	Si la formulación planteada no cumple con su objetivo.	Vida de aseque interrumpido o menor a lo previsto.	Visibilidad celular decayente.	A	M	6	ALTO	Replanteamiento de formulación	Diana Guillón Jefe de Laboratorio
No. de identificación del riesgo	1.1	Alcance	Si las condiciones de almacenamiento impactan en la vida de aseque del producto final.	Vida de aseque interrumpido o menor a lo previsto.	Visibilidad celular decayente.	A	M	6	ALTO	Replanteamiento de formulación	Diana Guillón Jefe de Laboratorio

Anexo 6. Gráficos de conteo celular



Formulas	Variaciones
Formula 1	Líquida sin arábigo
Formula 2	Viscosa con arábigo

Conteo celular