

INSTITUTO TECNOLÓGICO Y DE ESTUDIOS SUPERIORES DE OCCIDENTE
Departamento de Procesos Tecnológicos e Industriales

Apuesta estratégica PAP **Sustentabilidad del hábitat**

PROYECTO DE APLICACIÓN PROFESIONAL (PAP)
PROGRAMA DE DESARROLLO TECNOLÓGICO PARA LA
SUSTENTABILIDAD AMBIENTAL ENERGÉTICA Y ALIMENTARIA I



ITESO
Universidad Jesuita
de Guadalajara

4D09 INNOVACIÓN Y EMPRENDIMIENTOS BIOTECNOLÓGICOS

Petroclean – Proyecto para la biorremediación de agua contaminada con grasas, aceites e hidrocarburos mediante un consorcio bacteriano como apoyo a productores locales de alimentos

PRESENTAN

Programas educativos y Estudiantes

[Ing. En Biotecnología. Hugo Munguía Orozco.]

Profesor PAP: Dr. Luis Garrido Sánchez,

Mtra. Hilda Vallín Sánchez,

Dr. Alejandro Arana Sánchez.

Tlaquepaque, Jalisco, mayo del 2023.

ÍNDICE

Contenido

REPORTE PAP	2
Presentación Institucional de los Proyectos de Aplicación Profesional	2
Resumen	2
1. Introducción	3
1.1. Objetivos	3
1.2. Justificación	4
1.3 Antecedentes	5
1.4. Contexto	7
2. Desarrollo	9
2.1. Sustento teórico y metodológico	11
2.2. Planeación y seguimiento del proyecto	14
3. Resultados del trabajo profesional	17
4. Reflexiones del alumno o alumnos sobre sus aprendizajes, las implicaciones éticas y los aportes sociales del proyecto	24
5. Conclusiones	25
6. Bibliografía	26
Anexos	29

REPORTE PAP

Presentación Institucional de los Proyectos de Aplicación Profesional

Los Proyectos de Aplicación Profesional (PAP) son una modalidad educativa del ITESO en la que el estudiante aplica sus saberes y competencias socio-profesionales para el desarrollo de un proyecto que plantea soluciones a problemas de entornos reales. Su espíritu está dirigido para que el estudiante ejerza su profesión mediante una perspectiva ética y socialmente responsable.

A través de las actividades realizadas en el PAP, se acreditan el servicio social y la opción terminal. Así, en este reporte se documentan las actividades que tuvieron lugar durante el desarrollo del proyecto, sus incidencias en el entorno, y las reflexiones y aprendizajes profesionales que el estudiante desarrolló en el transcurso de su labor.

Resumen

La solución biotecnológica desarrollada en el PAP – Petroclean busca atender necesidades de los grupos de interés conformados por empresas del sector alimenticio a través de un proceso de “co-creación”, en el que las necesidades relacionadas con el tratamiento de efluentes contaminados con grasas y aceites son los principales puntos por cumplir en la innovación. Se propuso la elaboración de un consorcio de microorganismos seguros de las especies *Corynebacterium glutamicum* y *Rhodococcus erythropolis* capaces de flocular las grasas y aceites, permitiendo la remoción mecánica de dichos flóculos para facilitar la limpieza y mantenimiento de trampas de grasa. El consorcio generado tuvo una eficiencia de floculación/degradación de las grasas y aceites cercana al 50%, presentando una mejora ante la línea base que removió sólo el 30%. Así mismo, se realizó la inmovilización de micronutrientes en una matriz de almidón termoplástico para suplementar la nutrición de los flóculos en las trampas de grasa. Adicionalmente, se establecieron las bases para realizar análisis del perfil hidráulico de las trampas de grasa mediante simulaciones en COMSOL. De forma similar, se creó la base de un

modelo de redes neuronales para analizar las superficies de respuesta que se generarían por el análisis de diferentes parámetros en el efecto de floculación y/o degradación por parte del consorcio. Dicho modelo actualmente acepta dos variables, sin embargo, puede ser ampliado para n variables. Finalmente, se obtuvo el registro de la marca “Petroclean” ante el IMPI para diferentes actividades de la clase I de ClasNiza.

1. Introducción

1.1. Objetivos

Objetivo general

Desarrollar un proyecto de innovación y emprendimiento con base biotecnológica para la generación de un producto que permita la remoción de grasas y aceites del agua, formulando la propuesta en “co-creación” con empresas de la industria alimenticia dentro de la zona metropolitana de Guadalajara.

Objetivos específicos

- Identificar las principales necesidades de los grupos de interés con respecto al tratamiento de aguas residuales con alto contenido de grasas y aceites.
- Conformar un consorcio de microorganismos GRAS capaz de flocular grasas y aceites para su uso por empresas de la industria alimenticia en sus trampas de grasa.
- Desarrollar e implementar un MVP en una trampa de grasa de una fábrica de botanas en Guadalajara para validar los beneficios del consorcio.
- Evaluar los resultados del MVP para determinar si presenta una mejora al *status quo* de las soluciones para tratamiento de aguas residuales con alto contenido de grasas y aceites.

1.2. Justificación

Los compuestos hidrofóbicos como grasas y aceites (GyA), hidrocarburos totales de petróleo (TPH), solventes utilizados en la industria y las materias primas para la producción de combustibles fósiles, son fuertes contaminantes del agua. Estas sustancias alteran de forma directa la capacidad del agua para disolver oxígeno y, por consecuencia, causan la muerte de organismos aerobios que se encuentran presentes en cuerpos de agua naturales al sofocarlos (Eljaiek-Urzola et al, 2019). Adicionalmente, ocasionan problemas en sistemas de tuberías municipales y plantas de tratamiento, ya que se adhieren a las paredes internas de las tuberías, ocasionando obstrucciones que limitan el flujo de agua (Yousefelahiyeh et al, 2017), así como generando malos olores y corrosión de las tuberías (Gray, 1989). Por último, las acumulaciones de los compuestos hidrofóbicos mencionados anteriormente pueden causar incendios cuando existen fuentes de ignición cercanas, formando subproductos que pueden perdurar en el ambiente por décadas (EPA, 2022).

Es importante señalar que las actividades relacionadas con la preparación de alimentos en restaurantes, fábricas y el procesamiento de cárnicos en rastros y carnicerías, generan contaminación en forma de residuos grasos que son vertidos en el agua. De manera más específica, la industria restaurantera genera residuos de GyA en cantidades cercanas a 174 toneladas por año (Tacias-Pascacio et al. 2016). De acuerdo con el registro hasta 2017 de la SEMARNAT, existen 102 sitios severamente contaminados por aceites y grasas a lo largo de la república, de los cuales, solo 74 han sido remediados, sin embargo, estos no consideran a los pequeños generadores que vierten grasas y aceites en el agua que después será tratada por sistemas municipales y vertida en cuerpos de agua naturales.

A causa de las diversas actividades que contaminan el agua, así como a una deficiencia en estrategias de prevención de la contaminación y en los tratamiento de agua, México se encuentra con problemas de calidad en su agua potable. De acuerdo con un análisis realizado por QS Supplies (2023) con datos de Yale

University's Environmental Performance Index (2022), el agua potable de México tiene un índice de calidad de 50 puntos sobre 100 posibles, haciéndola no segura para su consumo (Anexo I). Esto podría no parecer un problema, ya que normalmente no bebemos el agua proveniente de la red de suministro municipal, sin embargo, el acto de lavarse los dientes con esta agua, así como bañarse, consumir hielos generados con agua potable por refrigeradores o dispensadores e incluso beber refrescos preparados por máquinas dispensadoras, puede representar un riesgo para la salud por la deficiente calidad del agua.

El propósito del presente proyecto es identificar la forma más adecuada de evitar la contaminación del agua por GyA mediante el apoyo a empresas del sector alimenticio. Para esto se hará el uso de herramientas biotecnológicas a través de las cuales se logren secuestrar y degradar dichos contaminantes de forma segura y efectiva, evitando su vertido a las redes de drenaje municipales y a su vertido en cuerpos de agua naturales.

1.3 Antecedentes

En México, los residuos relacionados con grasas y aceites (GyA) ocupan el segundo puesto del total de “residuos peligrosos”, siendo superados sólo por los residuos de sólidos urbanos (Moya-Salazar & Moya-Salazar, 2020). Este segundo lugar se traduce a un 20% del total de residuos peligrosos que, en 2018, representaría cerca de 470 mil toneladas de acuerdo con datos de la SEMARNAT.

Para ejemplificar la problemática, podemos observar el caso de contaminación de un cuerpo de agua cercano a la zona metropolitana de Guadalajara (ZMG). En septiembre de 2019 se desataron denuncias en redes sociales sobre la presencia de espuma en un río del Bosque La Primavera (El Informador, 2019. Anexo II). Tras las denuncias, el especialista en Ciencias Ambientales de la Universidad de Guadalajara (UdeG) declaró que la espuma presente en el río indicaba un nivel de contaminación alto por grasas, aceites, detergentes y sulfatos, “[...] asesinos silenciosos de las especies que hay [en el río]”. Ante esto, los comisariados de La

Primavera expresaron su preocupación a la Procuraduría Federal de Protección al Ambiente (PROFEPA), así como a la dirección del bosque, sin embargo, no se tomó acción ya que en los reportes oficiales de la entidad no fue señalada ninguna anomalía. El proceso fue escalado a la Comisión Nacional del Agua (CONAGUA) el 25 de julio del mismo año, sin embargo, debido a que no se ha reportado mayor afectación en el ecosistema del río, el proceso continúa abierto.

Ahora bien, los fenómenos de contaminación del agua pueden escalar hasta convertirse en una catástrofe ambiental en caso de no ser atendidos de manera adecuada. Un ejemplo de esto es la muerte de una cantidad enorme de peces, es específico carpas y “popochas”, en la laguna de Cajititlán (Anexo III), en el estado de Tlajomulco de Zúñiga, Jalisco. Desde 2013 hasta el 2022 han muerto de forma anual miles de peces variando de 60 a 290 toneladas de mortalidad en cada evento, a causa de la contaminación por recepción directa de descargas urbanas (Chávez y Ramírez, 2022).

Como es de esperarse, cuando estas afectaciones se vuelven crónicas se comienza a verse afectada la vida humana, como es el caso de los poblados aledaños al Río Santiago, cuya contaminación es más que evidente (Anexo IV). El agua de este río tiene una larga historia de contaminación, generando manifestaciones en el año 2002 que llevaron al Tribunal Latinoamericano del Agua a presentar en 2007 el caso “Deterioro y contaminación del Río Santiago. Municipios de El Sato y Juanacatlán, Estado de Jalisco, República Mexicana”. A pesar de su contaminación con metales pesados, patógenos y alto contenido en materia orgánica, el agua de este río es utilizada para riego de vegetales expedidos en la Zona Metropolitana de Guadalajara, así como consumida por ganado que pasta en zonas cercanas al río y que posteriormente se convierte en alimento para la población humana (Arellano-Aguilar, Ortega y Gesundheit, 2012). Todo esto ha ocasionado que las poblaciones cercanas sean más susceptibles a sufrir de leucemia, malformaciones congénitas y, en el caso de la población femenina, cáncer de mama y ovario (Montes-Rubio et al, 2021).

Las autoridades mexicanas, con la intención de abordar esta problemática crearon la NOM-001-SEMARNAT-1996 y NOM-002-SEMARNAT-1996, que establecen los límites máximos permitidos (LMP) de contaminantes que pueden ser vertidos en cuerpos de agua naturales o sistemas de alcantarillado urbano o municipal. En 2021 se actualizó la primer norma, dando lugar a la NOM-001-SEMARNAT-2021, que entró en vigor el 3 de abril de 2023 con la finalidad de proteger, conservar y mejorar la calidad de los campos acuíferos. De acuerdo con estas normas el LMP de grasas y aceites para cuerpos de agua naturales es de 15 partes por millón (ppm) y de 50 ppm para sistemas de alcantarillado urbano, sin embargo, los pequeños y medianos generadores vierten aguas con concentraciones de hasta 16,000 ppm de grasas y aceites. Adicionalmente, se están realizando esfuerzos a nivel estatal para evitar la contaminación por GyA al requerir que todos los establecimientos cuenten con trampas de grasa para evitar que estos contaminantes lleguen a la red municipal.

Así entonces, dado el daño axiomático al medio ambiente causado por los residuos industriales y domésticos de grasas y aceites, así como la reciente actualización de las normas de descargas y el requerimiento de contar con trampas de grasa en Jalisco, se encuentra una oportunidad en la incursión al mercado con propuestas de tratamiento para este tipo de residuos por métodos biotecnológicos que permita mejorar la calidad del agua sin introducir organismos y/o compuestos externos al biotopo que podrían resultar en una contaminación secundaria.

1.4. Contexto

De acuerdo con el IIEG, para marzo del 2023 existen contabilizados 15,736 restaurantes en el Área Metropolitana de Guadalajara (Anexo V), encontrándose una mayor densidad en el centro del municipio de Guadalajara. De estos establecimientos se asume que, basados en el tipo de actividad que se realiza, cerca del 50% cuenta con trampas de grasa (Anexo VI), que corresponde a los restaurantes con servicio de preparación de antojitos, autoservicio y alimentos a la carta o comida corrida. Dichos establecimientos tienen la responsabilidad de contar

con medios para captar o tratar las GyA de modo que la concentración final de este contaminante no supere una concentración mensual promedio de 50 ppm antes de ser vertido al sistema de alcantarillado urbano, cumpliendo así lo estipulado por la NOM-002-SEMARNAT-1996.

Actualmente existen algunas iniciativas privadas para atender esta problemática, enfocándose en dos ejes: servicios y productos. Los servicios ofrecidos consisten en la extracción de grasas y aceites de las trampas de grasa instaladas en los establecimientos. Para esto, las empresas que realizan el servicio cuentan con equipo especializado como bombas para succionar líquidos viscosos, mangueras de gran diámetro, camiones con permisos para el manejo de residuos peligrosos y equipo de protección personal (EPP) para los operadores. Además, las empresas que prestan el servicio de limpieza deben contar con permisos emitidos por el estado para realizar dichas labores. Debido al requerimiento de este equipo especializado y permisos estatales, los establecimientos de alimentos son incapaces de realizar la limpieza. Este servicio tiene un costo promedio de 1,200.00 MXN quincenales, incluyendo la aplicación de productos para evitar la acumulación excesiva de grasas. Por otro lado, los productos ofrecidos son trampas de grasa y soluciones biológicas para acelerar la degradación de GyA en estos sistemas. La aplicación mensual de los aceleradores para degradación supone una inversión promedio de 348.00 MXN (Anexo VII), y su composición va de mezclas enzimáticas a inoculantes con microorganismos que degradan las GyA.

De esta forma, en la ZMG se tiene un mercado de aproximadamente 7,686 establecimientos que invierten 221.4 MDP anualmente en servicios y productos para la limpieza y mantenimiento de sus trampas de grasa, y un mercado total de 15,736 establecimientos de alimentos. En Jalisco se tienen al menos 53 empresas con autorización para el manejo de residuos relacionados con GyA en Jalisco de, de acuerdo con datos del Catálogo Estatal de Trámites y Servicios del Gobierno de Jalisco (2022). De estas, se han identificado al menos 13 que operan dentro del

Área Metropolitana de Guadalajara (Anexo VIII). Por otro lado, se han identificado al menos siete productos biológicos comercializados en esta región (Anexo IX).

2. Desarrollo

El proyecto de aplicación profesional (PAP) titulado “Petroclean” fue realizado incorporando estudiantes de la materia Ingeniería en Bioproyectos II y del PAP “Programa de Desarrollo Tecnológico para la Sustentabilidad Ambiental Energética y Alimentaria I” asesorado por la Mtra. Hilda Vallín Sánchez, el Dr. Luis Garrido Sánchez y el Dr. Alejandro Arana Sánchez, siguiendo la estructura presentada en la figura 1.

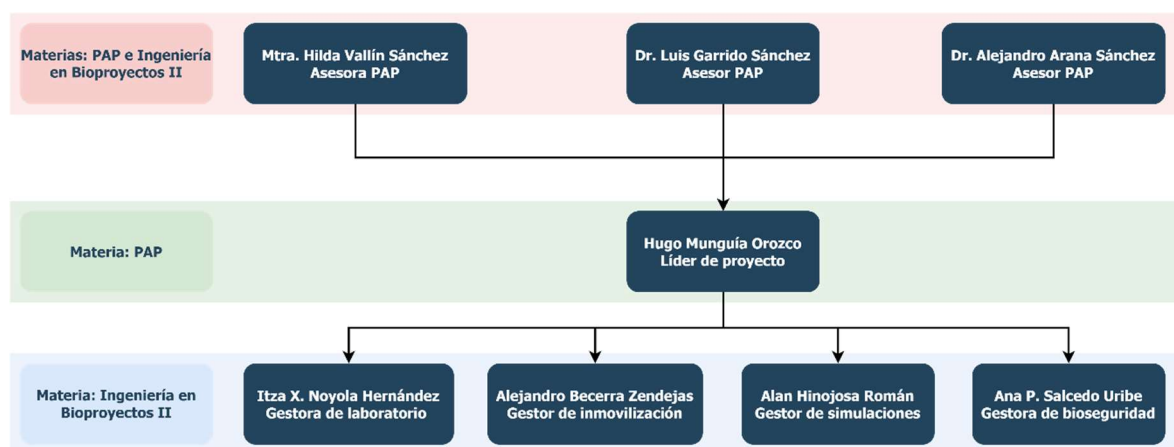


Figura 1. Organigrama del personal docente y estudiantes del ITESO que formaron parte del proyecto.

Para esto, se tomó un enfoque de “Design Thinking” (Anexo X) que enfatiza el “entender, explorar y materializar” las necesidades de un grupo de interés. Además, se tomaron como ejes para el proyecto los principios de innovación Jesuita expuestos por Lanny Vincent (2022) que incluyen el “discernimiento acompañado”, el “proceso de colaboración inclusiva y empática” y finalmente, el “propósito más allá del interés propio”.

Para analizar la problemática de forma sistémica se buscó evaluar la forma en que interactúan los campos correspondientes a las necesidades de los grupos de interés, el entorno económico de Jalisco, la legislación ambiental en México, los principios de innovación Jesuitas y herramientas para la innovación biotecnológica

(Figura 2). A través de esto, se logró establecer el siguiente propósito: La solución biotecnológica desarrollada en el PAP – Petroclean, deberá tener fuerte enfoque de apoyo social hacia los grupos de interés. Para esto se tomarán en cuenta las necesidades de los grupos de interés por sobre todas las cosas a través de un proceso de “co-creación”, en el que dichas necesidades son los principales puntos por cumplir en la innovación. Así mismo, la innovación deberá enfocarse no sólo en la parte técnica, es decir, que funcione el producto o servicio, sino que también deberá presentarse de forma económica y legalmente viable para los grupos de interés. Además, la solución deberá ofrecer un apoyo que vaya más allá de vender un producto o servicio, tal como poner a disposición de los grupos de interés información útil para aumentar su conocimiento respecto a la materia de legislación ambiental referente al vertido de aguas residuales, así como las diferentes técnicas en que puede resolverse este problema. Finalmente, la solución generada podrá ser puesta a disposición de grupos de interés cuyo poder adquisitivo sea inferior al promedio mediante la implementación de un modelo tipo “Robin Hood”, descuentos o aplicaciones “pro-bono” de la solución. En el anexo XII se presenta un desglose del análisis y síntesis realizado para la elaboración del texto anterior.

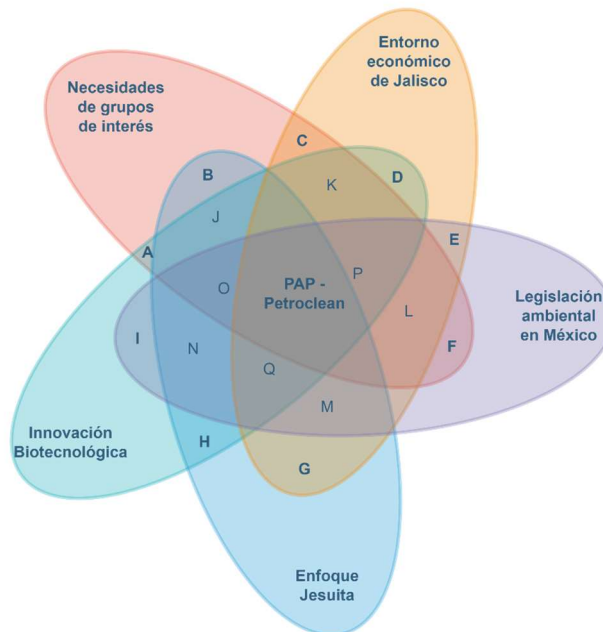


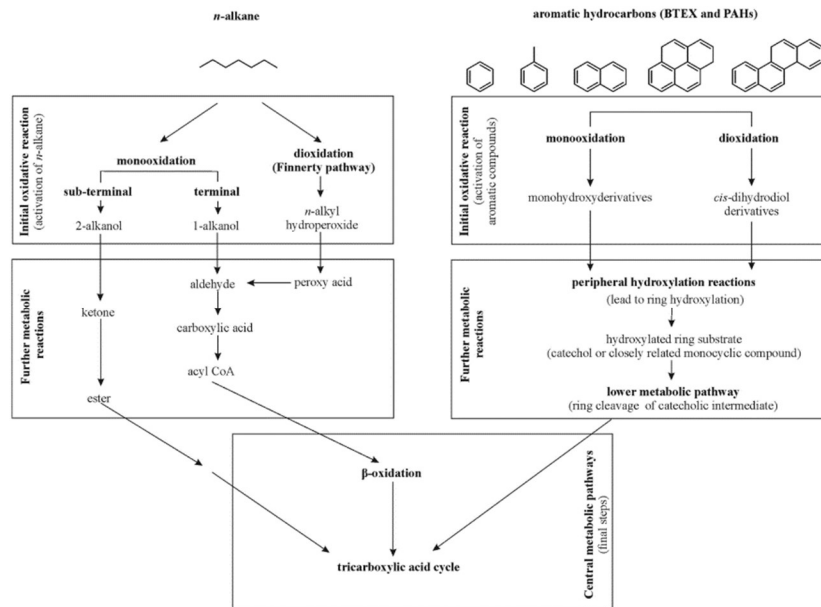
Figura 2. Diagrama Venn mostrando la intersección entre los campos tomados en cuenta para el proyecto.

2.1. Sustento teórico y metodológico

Existen múltiples microorganismos que han sido aislados de muestras acuosas o de suelo en sitios contaminados con la capacidad de incorporar en su metabolismo y degradar las GyA y los TPH. Algunas de las especies de estos microorganismos incluyen los *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Acinetobacter* (micobacterias como *Rhodococcus* y *Corynebacterium*) y *Yarrowia*, entre otras (Matsumiya et al, 2007; Shong et al, 2002; Hasanuzzaman et al, 2004; Suzuki et al, 2001; El-Bestawy et al, 2005; Sugimori et al, 2002; Horakova et al, 2000, Chang et al, 2009, como se ha citado en Čipinyté et al, 2009; Liu y Liu, 2011).

Las rutas metabólicas que permiten la degradación de alcanos y ácidos carboxílicos han sido ampliamente estudiadas (figuras 3. A y 3. B, respectivamente) e involucran reacciones de oxidación para transformar los contaminantes del tipo TPH y GyA en metabolitos que no presentan riesgo de contaminación, pues se incorporan a rutas centrales del metabolismo como beta-oxidación y ciclo de Krebs (ciclo del ácido tricarboxílico). Los principales genes involucrados en la degradación son el *alkB* que codifica para la traducción de la enzima alcano monooxigenasa que inicia el proceso de oxidación de los alcanos (Brzeszcz y Kaszycki, 2018), así como el citocromo P450 que codifica para diversas enzimas caracterizadas como alcano hidroxilasas que transforman los alcanos en alcoholes para iniciar la degradación de dichos compuestos hacia ácidos grasos que se incorporan al metabolismo central (Van Beilen et al, 2006). Por otro lado, las grasas y aceites son degradados directamente por la beta-oxidación (figura 4) hasta acetil-CoA y propionil-CoA que son incorporados al ciclo de Krebs (Madigan et al, 2010). Existen tres estrategias para mejorar la degradación de GyA y TPH en el agua: acelerar la solubilización de los contaminantes en el agua, formación de pequeñas gotas de sustrato (pseudosolubilización) y facilitar el contacto entre las células y el sustrato.

A



B

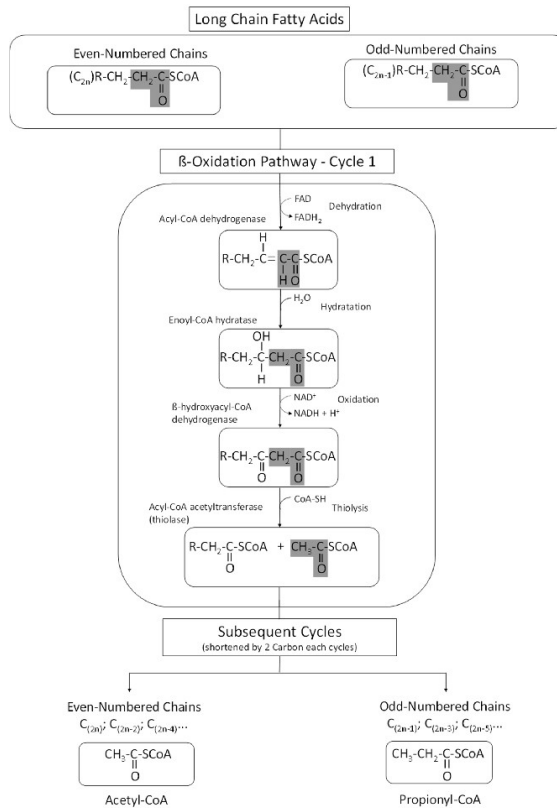


Figura 3. A: Reacciones y enzimas involucradas en la degradación bacteriana de TPH. Reproducido de Brzeszcz y Kasycki (2018), basado en Siera-Garcia y de Oliveira (2013). B: Ruta metabólica para la degradación de ácidos grasos de cadena larga. Reproducido de Reyes et al (2015) adaptado de Madigan et al (2010).

En el presente trabajo se ha explorado el comportamiento de “biofloculación” de microorganismos como respuesta a condiciones de estrés, gradientes de sustrato y a las diferentes etapas de crecimiento (Chang et al, 2003). Este comportamiento puede ser atribuido a tres mecanismos: interacción célula-célula que ocasiona adhesión a los compuestos hidrofóbicos, absorción de iones en la membrana celular y por la incorporación de gotas de compuestos hidrofóbicos en la membrana celular (Baldi et al, 1999; Ly et al, 2006; Ofir et al, 2007). En las micobacterias como *Rhodococcus erythropolis* y *Corynebacterium glutamicum* existe una hidrofobicidad natural debida a su composición celular, que contiene una membrana externa denominada micomembrana rica en ácido micólico (figura 4), un ácido graso de cadena larga que puede llegar a contener de 16 hasta 90 carbonos, aunque en *C. glutamicum* se encuentran ácidos micólicos de hasta 36 carbonos (Lanéelle et al, 2009). y en *R. erythropolis*, hasta 54 (Von Bargen y Haas, 2009).

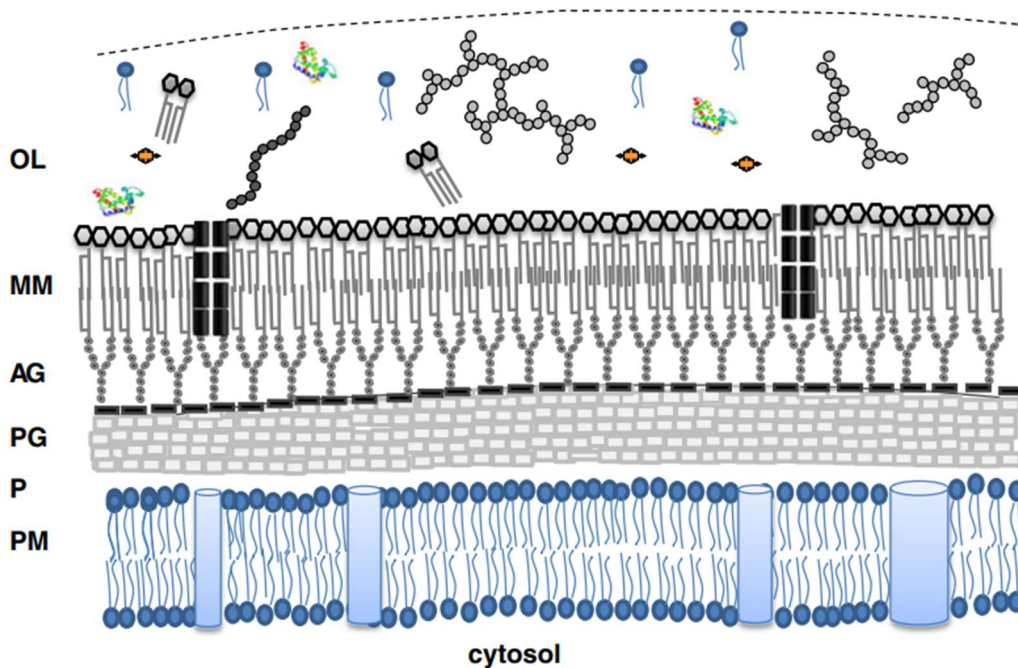


Figura 4. Representación de la membrana celular de *Corynebacterium glutamicum*. PM: Membrana plasmática, compuesta de una bicapa de proteínas y fosfolípidos. P: periplasma que separa la PM de una capa de peptidoglucano (PG) que está unido de forma covalente a polisacáridos del tipo arabinogalactanos (AG) con terminales arabinosil esterificadas por ácidos micólicos (MA). Los polisacáridos de AG unidos a los MA forman la micomembrana (MM), que contiene proteínas con capacidad de formar poros (porinas) y lípidos no covalentes unidos a la parte externa (OL) de la micomembrana. Reproducido de Lanéelle et al (2009).

2.2. Planeación y seguimiento del proyecto

Descripción del proyecto

Se propuso elaborar un producto con base bacteriana utilizando los microorganismos *Corynebacterium glutamicum* y *Rhodococcus erythropolis* como agentes de floculación y degradación de residuos del tipo grasas y aceites. Dichos microorganismos fueron seleccionados por sus propiedades de hidrofobicidad celular, así como por tratarse de microorganismos GRAS de acuerdo con el TRBA (2021) y con la ATCC (2023) que basa sus evaluaciones del nivel de bioseguridad de acuerdo con la edición más reciente del “Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL)” del departamento de salud y servicios humanos de los EE. UU. La solución propuesta busca atrapar las grasas en glóbulos que serían fácilmente removibles por medios mecánicos sencillos, como filtrado por mallas plásticas o metálicas.

Plan de trabajo

El proyecto se planeó para ser realizado en el transcurso de 16 semanas en el periodo de primavera del 2023, con un promedio de 16 horas por semana. Los recursos empleados se listan como humanos (H) como asesorías, materiales (M) que incluyen equipo de laboratorio, reactivos, instalaciones de laboratorio o similares y recursos tecnológicos (TE) como uso de software y dispositivos electrónicos.

Actividad	Recursos	Semana															
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Validación teórica de proyecto.	H, TE	■	■														
“Co-creación” con grupos de interés.	H, TE			■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
Elaboración de protocolo experimental inicial.	TE			■	■												
Preparación de medios de cultivo sólidos para experimentación de línea base.	M				■												
Validación de métodos analíticos.	H, M				■	■											
Screening de microorganismos (línea base, nativo y <i>de novo</i>)	M					■	■										
Ajuste de metodología experimental.	H, TE						■	■	■								
Pruebas de degradación en medio líquido.	M								■	■	■						
Análisis de resultados parciales	TE									■	■	■					
Evaluación y ajuste experimental.	H, M, TE										■	■	■	■	■	■	■
Validación de viabilidad con grupos de interés.	H, TE						■		■		■		■		■		■
Simulación hidráulica de una trampa de grasa.	H, TE														■	■	■
Análisis y preparación de reportes finales.	TE															■	■
Reuniones semanales y asesorías	H, TE					■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■

Figura 5. Diagrama Gantt de las actividades realizadas.

Desarrollo de propuesta de mejora

Primero, se realizó la validación teórica del proyecto. Para esto fue necesario analizar bibliografía académica, con la cual se elaboró lo expuesto en el sustento teórico y metodológico del proyecto. Así mismo, se realizó una validación a través del contacto en forma de visitas y entrevistas (Anexo XI) con tres empresas representativas de los grupos de interés: el personal operativo y administrativo de la planta de tratamiento de aguas residuales del Zoológico de Guadalajara, el

personal operativo y administrativo de la fábrica de botanas “Píkaros Botana”, restaurantes en la zona de la colonia Chapalita de Guadalajara y, finalmente, con el personal de una empresa de recolección de aceites que decidió permanecer anónima.

Posteriormente, se realizaron pruebas con un producto para la degradación de grasas y aceites para establecer una “línea base” con respecto a la cual se compararían los resultados obtenidos con el producto generado. De forma paralela, se obtuvo un consorcio no definido de microorganismos (consorcio nativo) de una muestra de suelo contaminado con hidrocarburos obtenida de un taller de diésel y mientras se realizaba cultivo con aceites como única fuente de carbono para seleccionar sólo los microorganismos capaces de degradar compuestos alifáticos como su única fuente de carbono, se adquirieron las cepas *Corynebacterium glutamicum* del CINVESTAV, situado en México, y *Rhodococcus erythropolis* de JCM Riken en Japón.

Los microorganismos del consorcio nativo y los adquiridos fueron sometidos a un proceso de selección que consistió en su cultivo en medio de sales minerales BHMS con aceite de canola, oliva y una mezcla no caracterizada de aceites usados de cocina como única fuente de carbono. Adicionalmente, se sometieron los microorganismos obtenidos a concentraciones de hasta 1% (v/v) de diésel para seleccionar sólo aquellos que pudieran flocular dicho compuesto. Las cepas obtenidas fueron nuevamente sometidas al medio con aceite como única fuente de carbono para seleccionar los flóculos más grandes. Con estos flóculos, así como con los microorganismos de la línea base, se realizaron pruebas de degradación midiendo de forma volumétrica las concentraciones de aceite en el punto inicial y punto final para determinar el porcentaje de degradación.

De forma paralela al desarrollo del consorcio, se evaluaron diferentes métodos de encapsulación de los micronutrientes necesarios para el crecimiento de los microorganismos en condiciones similares a las de una trampa de grasa. Para esto

se utilizó alginato de sodio, aunque se descartó por su elevado costo, y fue reemplazado por un polímero de almidón termoplástico de bajo costo.

Por otra parte, se trabajó en elaborar una base de simulación de la dinámica de fluidos dentro de una trampa de grasa utilizando el software COMSOL proporcionado por el ITESO.

Para buscar tener una comprensión más profunda a futuro sobre los parámetros que afectan a la floculación y remoción de GyA, se estableció una arquitectura base de una red neuronal que permite analizar los datos de superficies de respuesta. El modelo actualmente permite la entrada de dos variables, sin embargo, puede ser ampliado a n número de variables y se espera que sea útil para encontrar los parámetros óptimos de uso del consorcio.

3. Resultados del trabajo profesional

Se logró obtener información sobre las necesidades e intereses de los grupos de interés a través de entrevistas (Anexo XI) y visitas, encontrando que se tienen las siguientes necesidades:

- 1) Requieren mejorar la eficiencia de sus trampas de grasa para evitar limpiezas. En el caso de los restaurantes, lo requieren para reducir los costos de retiro de las grasas y limpieza de las trampas de grasa, ya que deben realizarlo cada siete o quince días, dependiendo del giro. En el caso del fabricante de botanas, su enfoque es evitar las multas, ya que su trampa de grasa se satura rápidamente y no es viable para él pagar el servicio de limpieza.
- 2) Las trampas de grasa emiten malos olores, por lo que su manejo se limita a los horarios en los que no hay clientes, en el caso de restaurantes.
- 3) El retiro de los aceites es complicado y no es viable realizarlo de forma manual.

- 4) En el caso de algunos restaurantes, las trampas de grasa están construidas en concreto, por lo que su modificación es complicada y el cliente requiere una solución que no implique cambios drásticos. En los demás casos las trampas de grasa son estructuras de acero inoxidable empotradas en el piso y pueden ser fácilmente modificadas.
- 5) Finalmente, los entrevistados se vieron interesados en la opción de poder retirar la grasa de forma manual generando un residuo fácilmente almacenable y que pudiera evitar clasificarse como residuo de manejo especial.

Por otro lado, se obtuvieron los precios promedio por limpieza de trampas de grasa para la ZMG, que se encuentran en 1,200.00 MXN quincenales. Así mismo, se identificaron algunos de los productos disponibles en el mercado para acelerar la degradación de grasas y aceites en trampas de grasa (Anexo VII) y las empresas registradas en Jalisco con autorización para el manejo de contaminantes relacionados con aceites (Anexo VIII). Esto permite establecer un rango de precios competitivos para poder incursionar en el mercado a través de sólo producto, o producto y servicio.

Además, se obtuvo un prototipo funcional del producto bacteriano que logró flocular aceite de canola, aceite de oliva y una mezcla no caracterizada de aceite usado proveniente del Laboratorio de cocina metabólica del Departamento de Psicología, Educación y Salud (DEPS) del ITESO (figura 6. A y C). Este comportamiento fue obtenido únicamente después de un periodo de adaptación de los microorganismos a los tres aceites y de ser sometidos a concentraciones de diésel de hasta 1% (v/v), ya que antes de esto, se generaban flóculos pequeños que se iban al fondo del recipiente y no degradaban adecuadamente las grasas (figura 6. C).

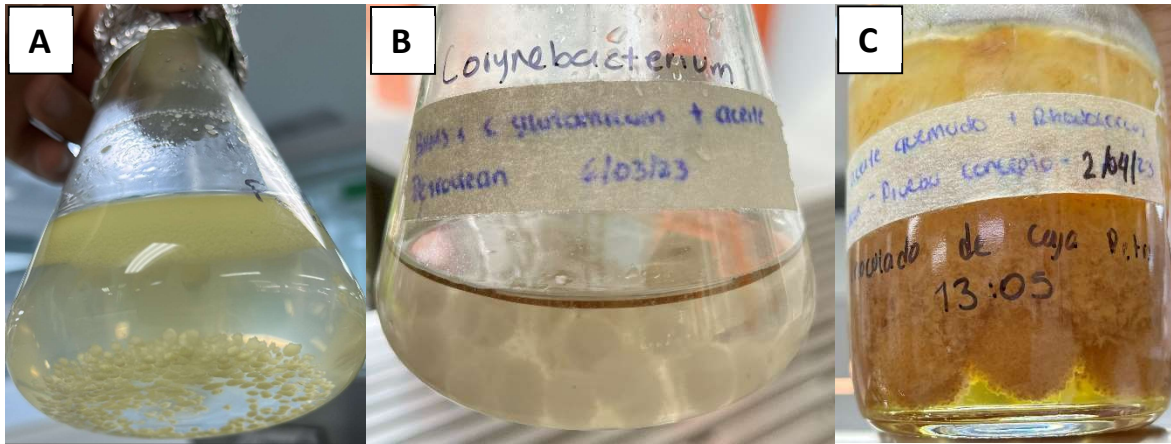


Figura 6. Comportamiento de floculación obtenido en *C. glutamicum* y *R. erythropolis*. A) Flóculos de *C. glutamicum* antes del proceso de adaptación. B) Flóculos de *C. glutamicum* después del proceso de adaptación a las fuentes de carbono hidrofóbicas. C) Flóculos de *R. erythropolis* después del proceso de adaptación a las fuentes de carbono hidrofóbicas.

En los cultivos donde se realizaron las pruebas de floculación se logró retirar entre 44.1 y 47.9% del contenido inicial de aceite, lo cual representó una mejora contra el 30% logrado con la línea base (figura 7). Esto supuso un primer avance en la validación de la solución que la sitúa en un Technology Readiness Level (TRL) nivel 4. Adicionalmente, se validó que los flóculos pueden ser retirados por medios mecánicos como filtrado por malla, debido a que los flóculos presentan diámetros de 1 a 11 mm, encontrándose la mayoría en el rango de 5.9 a 6.5 mm (Anexo XII).

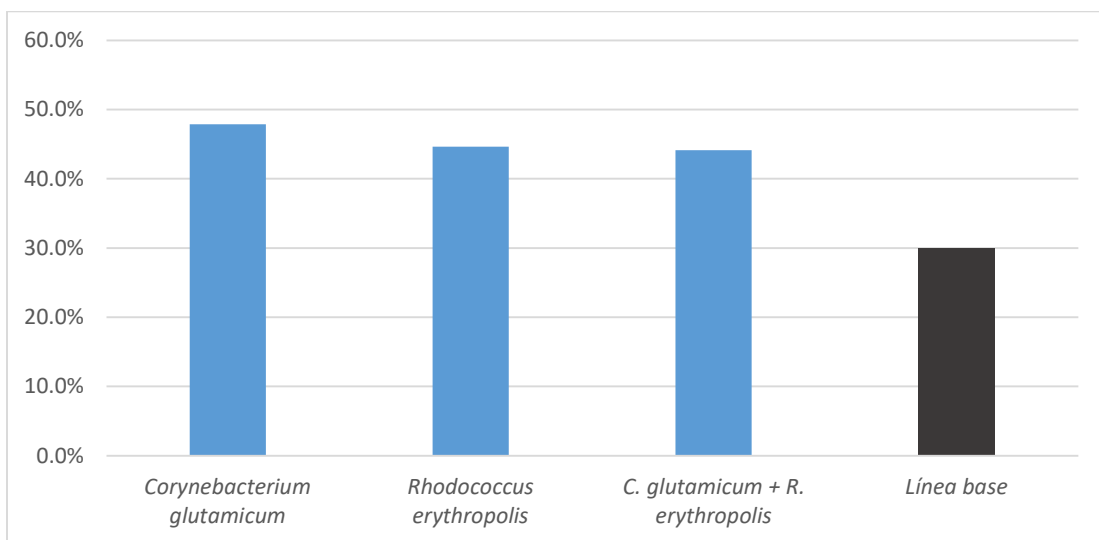


Figura 7. Resultados de remoción de las alternativas propuestas para flocular y degradar los residuos de aceite comparados con la línea base.

Así mismo, se establecieron las bases para simular el perfil hidráulico de las trampas de grasa (figura 8), lo que permitirá realizar ajustes a las trampas de grasa existentes para mejorar la solución propuesta o diseñar nuevas trampas de grasa que permitan al consorcio funcionar de forma óptima. De forma similar, se estableció un modelo de redes neuronales que permitirá evaluar las interacciones entre diferentes parámetros y su efecto en el comportamiento de degradación y floculación (Anexos XIV, XV y XVI).

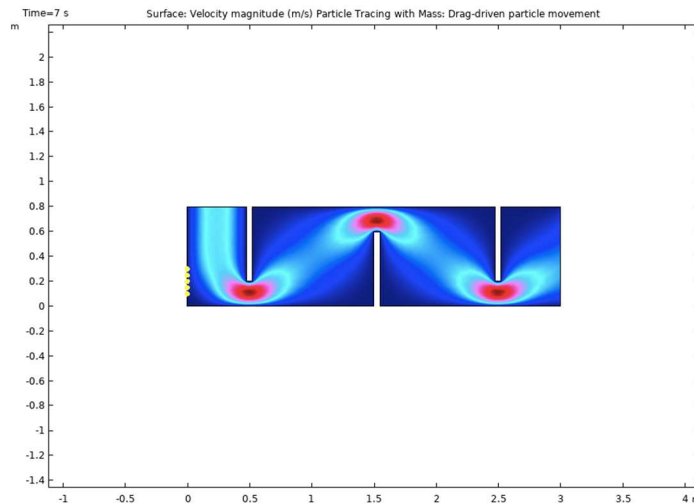


Figura 8. Simulación de una trampa de grasa con la geometría encontrada en el establecimiento de un fabricante de botanas.

Por otro lado, se lograron encapsular las sales del medio BHMS en una matriz de almidón termoplástico que permanece a flote para liberar dichas sales en la región donde se situarían los microorganismos que realizan la floculación (figura 9).



Figura 9. Pellets de almidón termoplástico con sales inmovilizadas.

Con respecto a cuestiones legales, se obtuvo el registro de la marca Petroclean® ante el IMPI bajo la Clase I del ClasNiza (Anexo XVII). Esto permitirá desarrollar la imagen e identidad de marca en un futuro.

Por otro lado, se estableció una propuesta de presupuesto para arrancar una planta de producción piloto con capacidad anual de 16,065 productos (Anexo XVIII). De acuerdo con el análisis se determinó que se requeriría una inversión anual de \$1,741,308.12 MXN durante 5 años (\$8,706,540.60 MXN para los cinco años) para tener una capacidad instalada que generaría valor de \$4,803,435.00 MXN, con un ROI de 1.76. Ahora bien, el valor presente neto, considerando abarcar el 1% del mercado el primer año, 1.5% el segundo, 2.0% el tercero, 3.0% el cuarto y 5.0% el quinto, es de \$2,412,521.90 MXN, presentando una oportunidad atractiva de inversión. La estrategia de competencia, de acuerdo con el precio de venta elegido de 299.00 MXN por producto de consumo mensual, que es un 15% más barato que las soluciones en el mercado y tiene potencial de ayudar más que éstas, es posicionar el producto en el cuadrante IV de la matriz Calidad-Precio (Anexo XIX) “bajo precio, alta calidad”. Dentro del Benchmarking realizado (Tabla 1), se presenta un precio más bajo que el promedio en la competencia, además de ser el único que ofrece el beneficio de facilitar el retiro de las GyA a través de la formación de biomasa fácilmente filtrable. Se considera que esta ventaja competitiva es clave para la captación del mercado con el producto Petroclean®.

Tabla 1. Benchmarking de la competencia directa de Petroclean.

Producto	Precio (MXN)	Rendimiento (semanas)	Inversión mensual (MXN)	Base del producto	Ventajas	Desventajas
Drop-it® digestor enzimático	999	12.5	319.68	Bacterias (<i>Bacillus spp.</i>)	Promete digerir grasas y aceites en tuberías y trampas de grasa. Presentación en cápsulas fáciles de usar.	No sustituye remoción con bombas de GyA. La biomasa es propensa a lavarse por el flujo constante de agua.
Drain Free®	522	7.6	275.62	Mezcla de bacterias y enzimas no especificadas.	Promete digerir grasas y aceites en tuberías y trampas de grasa.	No sustituye remoción con bombas de GyA. La biomasa es propensa a lavarse por el flujo constante de agua. Debe ser añadido diariamente de forma manual.
ROHM BioPro®	498	5.7	348.60	Mezcla de bacterias no especificada.	Promete digerir grasas y aceites en tuberías y trampas de grasa.	No sustituye remoción con bombas de GyA. La biomasa es propensa a lavarse por el flujo constante de agua.
Swipe: Biodegraser®	3163	13.6	233.06	Mezcla de bacterias no especificada.	Promete digerir grasas y aceites en tuberías y trampas de grasa.	No sustituye remoción con bombas de GyA. La biomasa es propensa a lavarse por el flujo constante de agua.
Bioalkim®	548	7.1	306.88	Mezcla de bacterias y enzimas no especificada. Incluye nutrientes.	Promete digerir grasas y aceites en tuberías y trampas de grasa.	No sustituye remoción con bombas de GyA. La biomasa es propensa a lavarse por el flujo constante de agua.
Bioalkim® TGD	988	8.0	494.00	Mezcla de bacterias y enzimas no especificada. Incluye nutrientes.	Promete digerir grasas y aceites en tuberías y trampas de grasa.	No sustituye remoción con bombas de GyA. La biomasa es propensa a lavarse por el flujo constante de agua. Alto costo.
Idor®	5500	48.0	458.33	Mezcla de bacterias (mayoritariamente <i>Bacillus spp.</i> y enzimas lipasas). Incluye nutrientes.	Promete digerir grasas y aceites en tuberías y trampas de grasa.	No sustituye remoción con bombas de GyA. La biomasa es propensa a lavarse por el flujo constante de agua. Alto costo.
PetroSynth®	5500	48.0	458.33	Mezcla de bacterias (mayoritariamente <i>Bacillus spp.</i> y enzimas lipasas). Incluye nutrientes.	Promete digerir grasas y aceites en tuberías y trampas de grasa.	No sustituye remoción con bombas de GyA. La biomasa es propensa a lavarse por el flujo constante de agua. Alto costo.
Petroclean®	299	4.0	299.00	Mezcla de <i>C. glutamicum</i> y <i>R. erythropolis</i> . Incluye nutrientes.	Ayuda a bioflocular y degradar GyA. Facilita la remoción de estos contaminantes al formar cúmulos de biomasa fácilmente filtrables. Promete hacer menos frecuentes las limpiezas de trampas de grasa.	Requiere reinoculación cada que se limpie la trampa de grasa. Producto en fase de desarrollo.

Finalmente, se elaboró un diagrama de la producción a escala piloto del producto (figura 10). En el diagrama se ha incluido la forma en que se pretende utilizar los residuos de GyA recuperados de las trampas de grasa de los potenciales clientes, así como una estrategia para recuperación de envases para evitar la generación excesiva de recipientes plásticos que terminan siendo depositados en rellenos sanitarios. Así mismo, se tiene pensado recircular parte de los residuos líquidos generados en el proceso de reproducción realizado en el biorreactor para evitar gasto excesivo de agua.

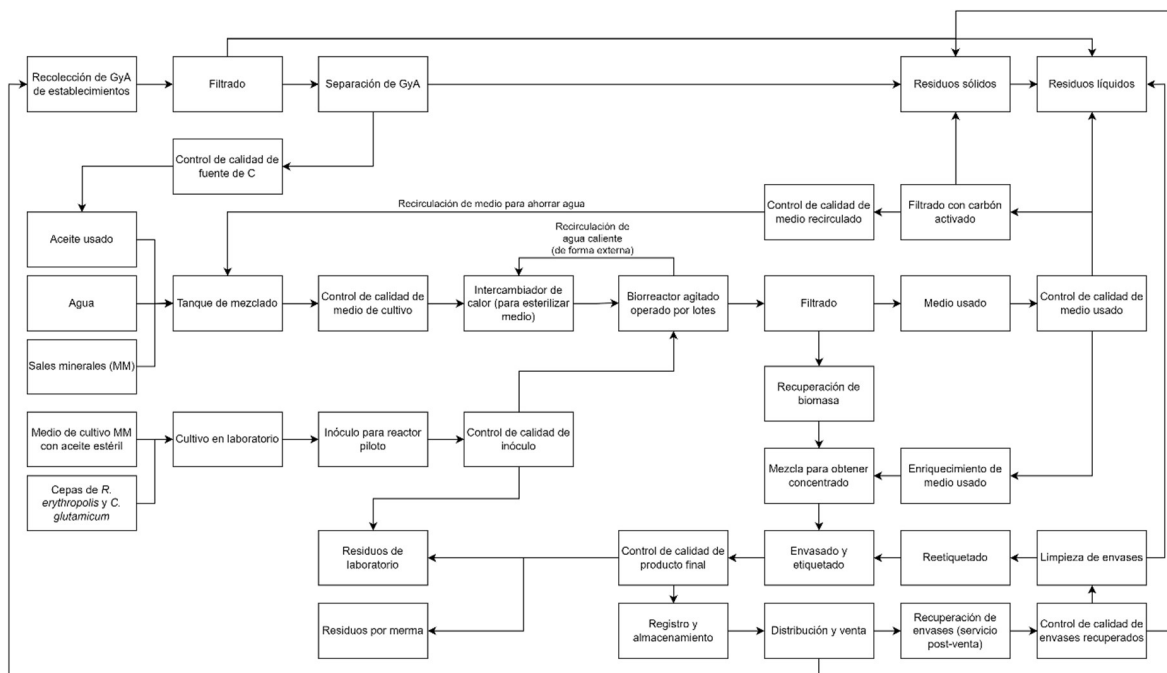


Figura 10. Diagrama de producción de Petroclean® a escala piloto.

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

Aprendizajes profesionales

La gestión del proyecto con un equipo de una materia ajena al PAP fue un gran reto, ya que el enfoque y motivación era completamente distinto. Para esto se tuvieron que desarrollar estrategias de comunicación y organización que, si bien no fueron las mejores, permitieron que el proyecto avanzara en frentes distintos, pero manteniendo siempre como meta principal el desarrollo de un producto que permitiera satisfacer las necesidades de los grupos de interés.

Durante el proyecto fue necesario replantear las bases técnicas que permitirían lograr el comportamiento de floculación de los microorganismos, lo que requirió investigación autodirigida de forma constante y creatividad para establecer soluciones a los problemas que se presentaban, lo cual sin duda fue un reto profesional para los integrantes del equipo.

Aprendizajes sociales

Durante el proyecto nos percatamos que la solución que debíamos proponer debía trascender el interés económico, ya que cualquier propuesta impactaría en la realidad de cada persona relacionada con los grupos de interés. Si bien el enfoque primero era de elaborar un producto para entrar al mercado, pronto se transformó en desarrollar una solución para una problemática que afecta a todos, que es la contaminación del agua.

Para poder determinar las necesidades de los grupos de interés fue necesario desarrollar habilidades blandas que nos permitieran comunicarnos de forma efectiva y establecer un terreno común dentro del cual se intercambiarían ideas para el desarrollo de la propuesta tecnológica.

Aprendizajes en lo personal

A través del desarrollo del presente PAP me percaté de la flexibilidad y creatividad necesaria para desarrollar un producto, ya que siempre surgen problemas que difícilmente son contemplados si no se tiene experiencia en la materia. Además, queda muy arraigado en mi persona el pensamiento que los emprendimientos

deben atender a una necesidad social y no basarse únicamente en el interés de lucrar. Los negocios deben ser una labor de servicio social, poniendo a disposición del público soluciones para las problemáticas que les atañen de una forma ética y justa.

5. Conclusiones

Se lograron desarrollar las bases para un producto capaz de degradar y flocular compuestos hidrofóbicos del tipo grasas y aceites mediante el uso de los microorganismos GRAS *Rhodococcus erythropolis* y *Corynebacterium glutamicum*. El prototipo funcional logró remover/flocular hasta 47.9% de las grasas y aceites iniciales (6.6 g totales) en un periodo de 6 días, que representó una mejora contra el 30% de remoción obtenido en la línea base. Esto permite situar la propuesta en un TRL nivel 4, sin embargo, se pretendía lograr el nivel 5 al realizar pruebas *in situ* con los grupos de interés. Es necesario validar si la mejora obtenida en condiciones de laboratorio es suficiente para lograr un beneficio *in situ* con los grupos de interés para poder realizar cambios al mismo en caso de ser necesarios de acuerdo con el principio de “co-creación”. Además, se creó una forma de encapsular las sales minerales que auxilian al crecimiento de los microorganismos en una matriz de almidón termoplástico que flota sobre el agua y libera gradualmente los nutrientes.

Así mismo, se sentaron las bases para simular el perfil hidráulico de las trampas de grasa, lo que permitirá realizar ajustes a las trampas de grasa existentes para mejorar la solución propuesta o diseñar nuevas trampas de grasa que permitan al consorcio funcionar de forma óptima. De forma similar, se estableció un modelo de redes neuronales que permitirá evaluar las interacciones entre diferentes parámetros y su efecto en el comportamiento de degradación y floculación.

Por último, se identificaron núcleos de invención con posibilidad de patente en el mecanismo de remoción de grasas y aceites a través de una combinación de floculación y degradación biológica, en el potencial diseño de una trampa de grasa y en la encapsulación de nutrientes en una matriz polimérica que permanezca a flote para nutrir el consorcio de microorganismos formadores de flóculos.

6. Bibliografía

- Arellano-Aguilar, O., Elorza, L. O., & Montero, P. G. (2012). Estudio de la contaminación del río y la salud pública en la cuenca del alto Santiago.
- Ayming (2021). ¿Qué son los TRL (Technology Readiness Levels) o Niveles de Madurez Tecnológica? Recuperado el 02/05/2023 desde: <https://www.ayming.es/insights-y-noticias/noticias/trl-technology-readiness-levels/>
- Baldi F, Ivosćević N, Minacci A, Pepi M, Fani R, Svetlicić V, et al. Adhesion of *Acinetobacter venetianus* to diesel fuel droplets studied with in situ electrochemical and molecular probes. *Appl Environ Microbiol* 1999;65:2041–8.
- Brzeszcz, J., & Kaszycki, P. (2018). Aerobic bacteria degrading both n-alkanes and aromatic hydrocarbons: an undervalued strategy for metabolic diversity and flexibility. *Biodegradation*, 29(4), 359–407. doi:10.1007/s10532-018-9837-x
- Chang YI, Su CY. Flocculation behavior of *Sphingobium chlorophenicum* in degrading pentachlorophenol at different life stages. *Biotechnol Bioeng* 2003;82:843–50.
- Chang, W.-N., Liu, C.-W., & Liu, H.-S. (2009). Hydrophobic cell surface and bioflocculation behavior of *Rhodococcus erythropolis*. *Process Biochemistry*, 44(9), 955–962. doi:10.1016/j.procbio.2009.04.014
- Chávez, R., Ramírez, V. (2022). Cajititlán: mueren miles de peces y carpas. *El Occidental*. Recuperado el 25/03/2023 desde <https://www.eloccidental.com.mx/local/cajititlan-mueren-miles-de-peces-y-carpas-8882412.html>
- Čipinytė, V., Grigiškis, S., & Baškys, E. (2009). Selection of fat-degrading microorganisms for the treatment of lipid-contaminated environment. *Biologija*, 55(3-4).
- El Informador (2019). Contaminan río turístico en Bosque La Primavera. *El Informador*. Recuperado el 01/05/2023 desde: <https://www.informador.mx/jalisco/Contaminan-rio-turistico-en-Bosque-La-Primavera-20190928-0131.html>
- El Occidental (2022). Cajititlán: Mueren miles de peces y carpas. Recuperado el 04/03/2023 desde <https://www.eloccidental.com.mx/local/cajititlan-mueren-miles-de-peces-y-carpas-8882412.html>
- Eljaiek-Urzola, M., Romero-Sierra, N., Segrera-Cabarcas, L., Valdelamar-Martínez, D., & Quiñones-Bolaños, É. (2019). Oil and grease as a water quality index parameter for the conservation of marine biota. *Water*, 11(4), 856.

- EPA (2022). Vegetable Oils and Animal Fats. Recuperado el 1 de Marzo de 2023 desde <https://www.epa.gov/emergency-response/vegetable-oils-and-animal-fats>
- Francisco Javier Romero Pérez (2017). Calidad y Tarifa ¿Una relación indisoluble?. *Noticias Pasajero7* recuperado el 9/05/2023 desde <http://www.pasajero7.com/calidad-tarifa-una-relacion-indisoluble/>
- German Federal Institute for Occupational Safety and Health Technical Rule for biological agents (TRBA). (2021). TRBA 466: Classification of Prokaryotes (Bacteria and Archaea) into Risk Groups.
- González Canal, I., & González Ubierna, J. A. (2015). Aceites usados de cocina. Problemática ambiental, incidencias en redes de saneamiento y coste del tratamiento en depuradoras. *Aguasresiduales. Info*, 1-8.
- Gray NF. *Biology of wastewater treatment*. Oxford University Press, 1989: 6–38.
- Guadalupe, Veymar & Tacias-Pascacio, Veymar & Rosales-Quintero, Arnulfo & Torrestiana-Sánchez, Beatriz. (2016). Evaluación y caracterización de grasas y aceites residuales de cocina para la producción de biodiésel: Un caso de estudio. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. 32. 303-313. 10.20937/RICA.2016.32.03.05.
- IEA (2021), *World Energy Balances* (database).
- Kristine Von Bargen, Albert Haas, *Molecular and infection biology of the horse pathogen Rhodococcus equi*, *FEMS Microbiology Reviews*, Volume 33, Issue 5, September 2009, Pages 870–891, <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2009.00181.x>
- Lanéelle, M.-A., Tropis, M., & Daffé, M. (2013). Current knowledge on mycolic acids in *Corynebacterium glutamicum* and their relevance for biotechnological processes. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(23), 9923–9930. doi:10.1007/s00253-013-5265-3
- Liu, C.-W., & Liu, H.-S. (2011). *Rhodococcus erythropolis* strain NTU-1 efficiently degrades and traps diesel and crude oil in batch and fed-batch bioreactors. *Process Biochemistry*, 46(1), 202–209.
- Ly MH, Nai'tali-Bouchez M, Meylheuc T, Bellon-Fontaine MN, Le TM, Belin JM, et al. Importance of bacterial surface properties to control the stability of emulsions. *Int J Food Microbiol* 2006;112:26–34.
- Montes Rubio PY, Aguilar Castro N, Ávila Domínguez R, Macbani Olvera P, Raygoza Anaya M, Garnica Guerrero B, Reynoso Vázquez J, Ruvalcaba-Ledezma JC. (2021). Contaminación del Río Santiago: Un problema epidemiológico ambiental persistente de Salud Pública en Jalisco, México. *JONNPR* 6(9):1222-36. DOI: 10.19230/jonnpr.3951

- NASA (2012). Technology Readiness Level. Recuperado el 02/05/2023 desde: https://www.nasa.gov/directorates/heo/scan/engineering/technology/technology_readiness_level
- Ofir E, Oren Y, Adin A. Electroflocculation the effect of zeta-potential on particle size. *Desalination* 2007;204:33–8.
- Regeneración (2015). Toneladas de peces muertos en Cajititlán, Jalisco. Recuperado el 10/02/2023 desde <https://regeneracion.mx/toneladas-de-peces-muertos-en-cajititlan-jalisco/>
- Reyes, I. P., Díaz, J. P., & Horváth, I. S. (2015). Anaerobic Biodegradation of Solid Substrates from Agroindustrial Activities — Slaughterhouse Wastes and Agrowastes. *Biodegradation and Bioremediation of Polluted Systems - New Advances and Technologies*. doi:10.5772/60907
- SEMADET (2022). Autorización para la recolección o traslado de residuos de manejo especial. Catálogo Eestatal de Trámites y Servicios del Gobierno de Jalisco; Registro Estatal de Trámites y Servicios. Recuperado el 28/04/2023 desde: <https://tramites.jalisco.gob.mx/tramite/13559>
- SEMARNAT-ASEA (2022). Sitios contaminados por emergencias ambientales según tipo de contaminante, competencia de la ASEA. Consulta Temática del BADESNIARN.
- van Beilen, J. B., Funhoff, E. G., van Loon, A., Just, A., Kaysser, L., Bouza, M., ... & Witholt, B. (2006). Cytochrome P450 alkane hydroxylases of the CYP153 family are common in alkane-degrading eubacteria lacking integral membrane alkane hydroxylases. *Applied and environmental microbiology*, 72(1), 59-65.
- Vincent, Lanny (2022) "A Jesuit Way of Innovating?," *Jesuit Higher Education: A Journal*: Vol. 11(1): 8.
- Wolf, M. J., Emerson, J. W., Esty, D. C., de Sherbinin, A., Wendling, Z. A., et al. (2022). 2022 Environmental Performance Index. New Haven, CT: Yale Center for Environmental Law & Policy. epi.yale.edu
- Yousefelahiyeh, R., Dominic, C. C. S., & Ducoste, J. (2017). Modeling fats, oil and grease deposit formation and accumulation in sewer collection systems. *Journal of Hydroinformatics*, 19(3), 443-455.

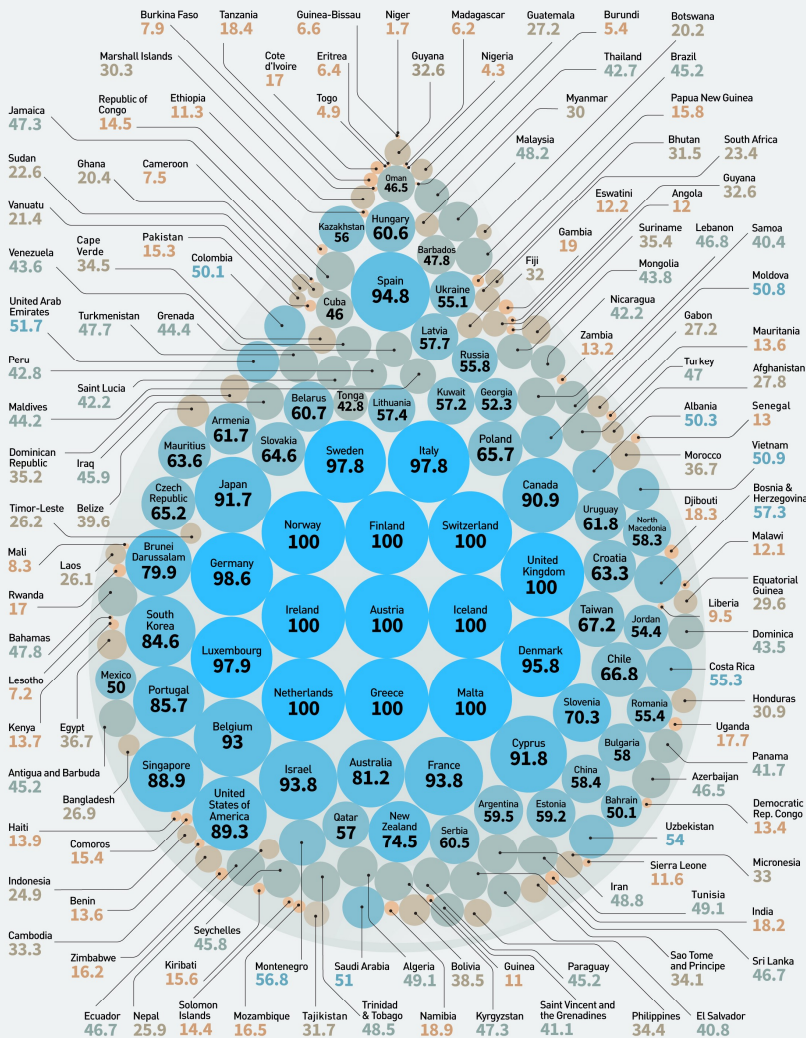
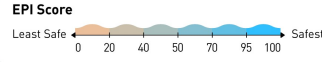
The Quality of Drinking Water

AROUND THE WORLD



Before water is safe to drink, it first needs to be treated for germs, pollutants and parasites that can make you dangerously unwell. But how does the quality of drinking water differ around the world? Our map reveals each country's water quality (EPI) score as given by Yale University, indicating how safe the local drinking water is. A higher score means safer water.

Ten European countries (including the UK) score a perfect 100, meaning the local tap water is the safest in the world to drink. In contrast, many countries in Africa place at the most dangerous end of the scale.



Anexo I. índice de calidad de agua de acuerdo con datos del Yale University's Environmental Performance Index (2019). Gráfica elaborada por QS Supplies (2023).



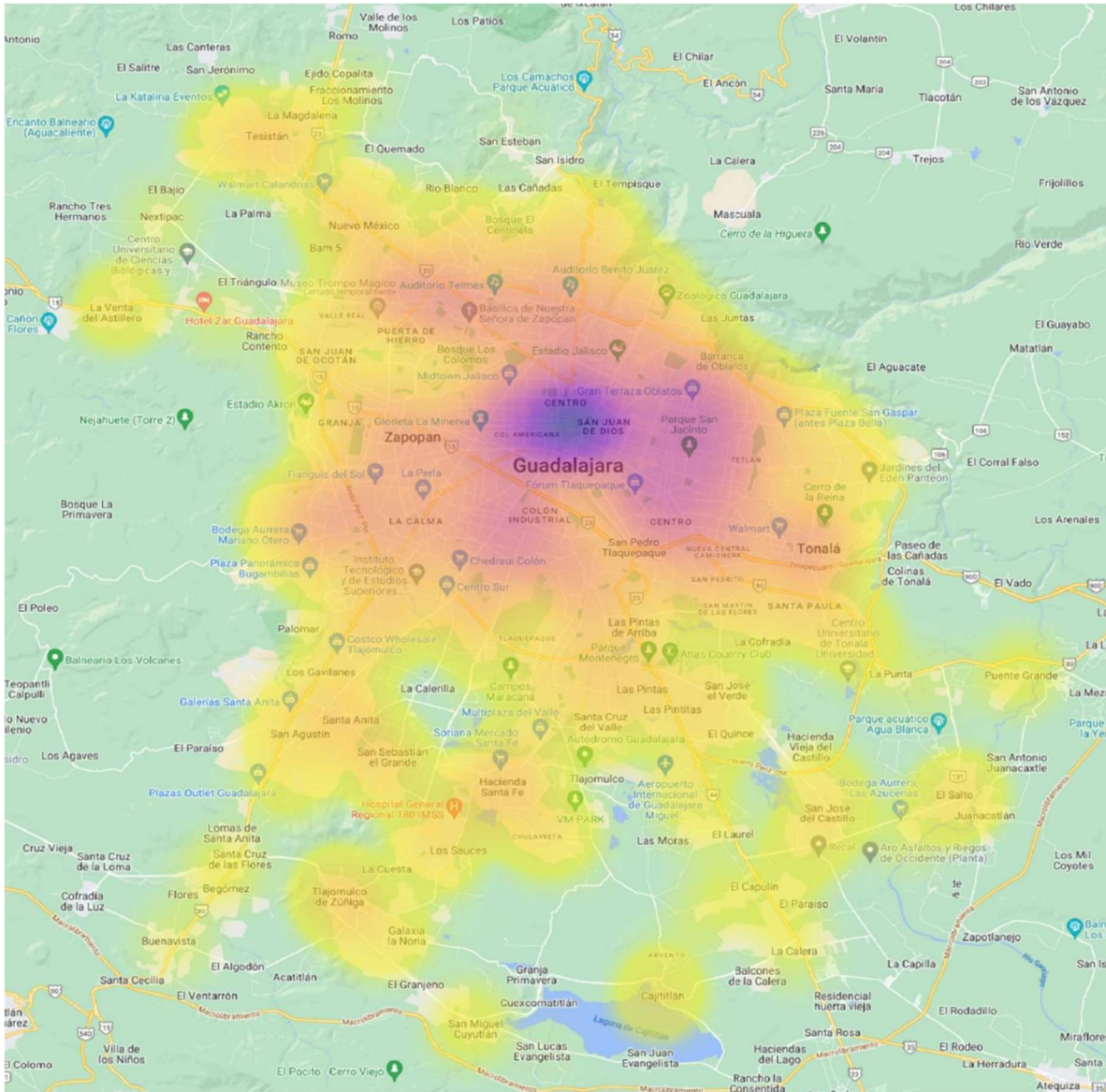
Anexo II. Presencia de espuma en el río de agua caliente en el Bosque La Primavera, en la Zona Metropolitana de Guadalajara. El Informador/F. Atilano (2019).



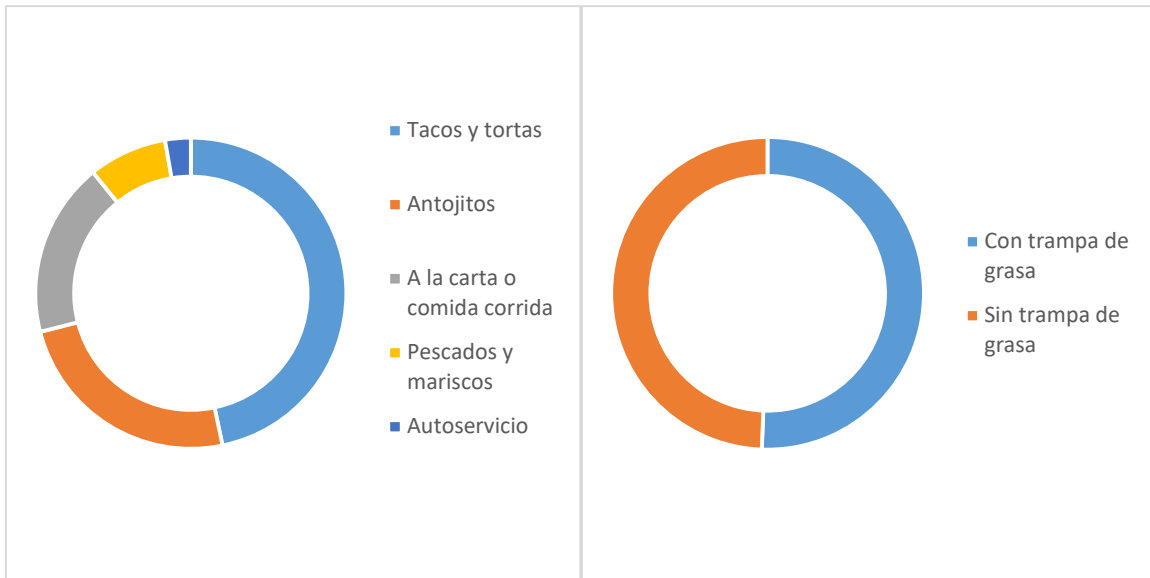
Anexo III. A) Orilla de la laguna de Cajititlán con peces muertos a causa de la contaminación. *Regeneración* (2015). B) Carpas y "popochas" muertas en la laguna de Cajititlán. Pablo Toledo en *El Occidental* (2022).



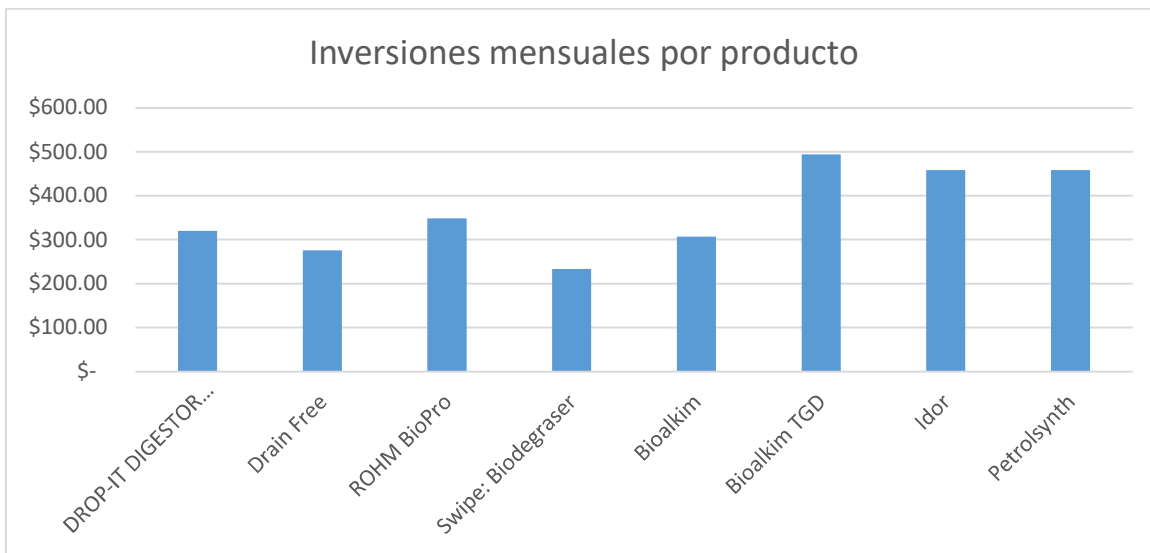
Anexo IV. Manifestación de Green Peace en el Río Santiago. Fuente: Arellano-Aguilar, Ortega y Gesundheit, 2012).



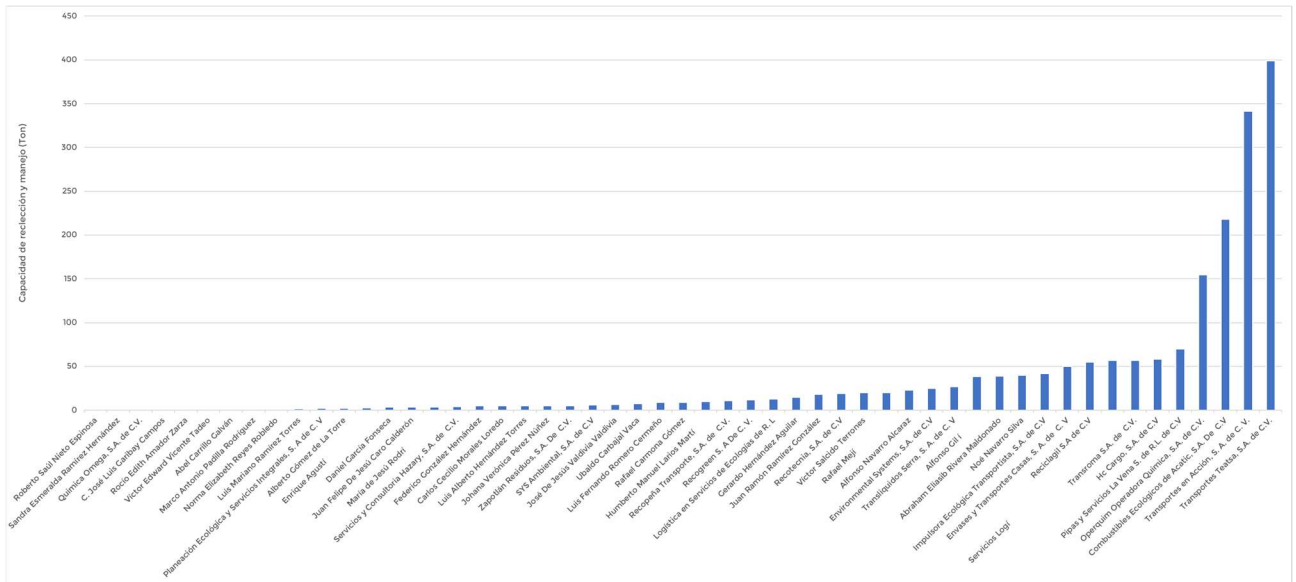
Anexo V. Mapa de calor de la distribución de restaurantes en el Área Metropolitana de Guadalajara. Fuente: IIEG, Directorio Nacional de Unidades Económicas (DENUE), 2022, INEGI.



Anexo VI. Distribución de los tipos de actividad que realizan los restaurantes en el Área Metropolitana de Guadalajara, así como la proporción de población estimada con y sin trampas de grasa. Fuente: IIEG, Directorio Nacional de Unidades Económicas (DENUE), 2022, INEGI.



Anexo VII. Inversiones mensuales por producto para acelerar la degradación de grasas y aceites en trampas de grasa.



Anexo VIII. Empresas con autorizaciones para la recolección de residuos del tipo aceites, grasas y/o hidrocarburos de acuerdo con el Catálogo Estatal de Trámites y Servicios del Gobierno de Jalisco (2022).

Anexo IX. Tabla con listado de empresas activas con servicio de limpieza de trampas de grasa en la ZMG.

Empresa	Sitio Web
Bio-eco	https://bio-eco.mx/
ReciclaGil	https://www.reciclagil.com
BioCorp	https://www.biocorp.com.mx/trampas-de-grasa
Ghusa	https://www.ghusa.com.mx/
Greenza	https://limpiezadetrampas.com.mx
EcoSar	http://www.eco-sar.com/trampas-de-grasa/
Hidromovil	https://www.hidromovil.com/grasas.html
Corporativo La Vena	https://www.corporativolavena.mx/grasas.html
Desazolve	https://empresadesazolve.com/#empresa
Servicio Mendoza	https://www.serviciomendoza.net/guadalajara/
Rhino clean	https://rhinocleangdl.com
Desagües M	https://limpiezadefosasybanos.com/contactanos/#
SISA	https://sisa.org.mx/sucursales



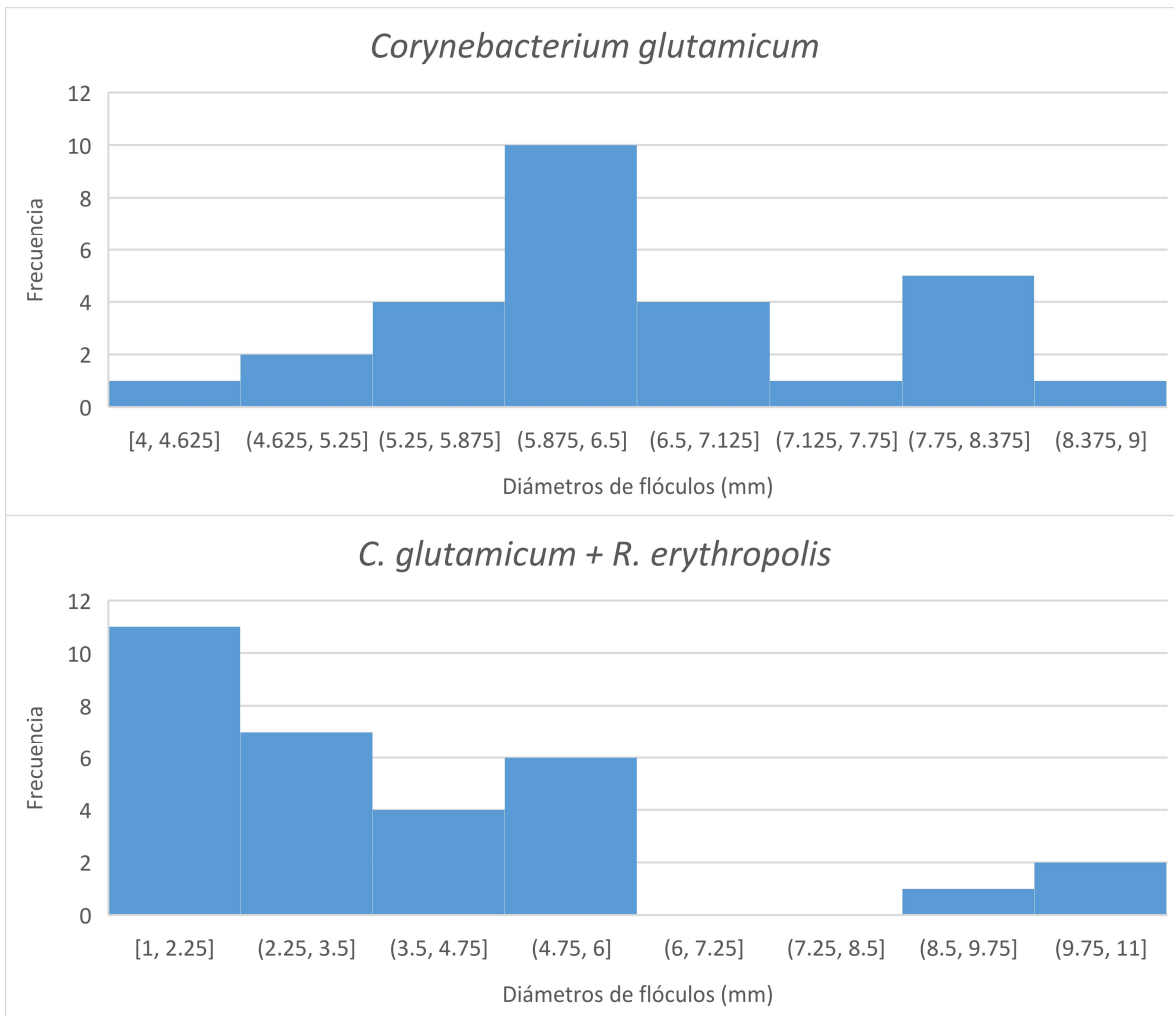
Anexo X. Principios de "Design Thinking" tomados en cuenta para el desarrollo del proyecto.

Preguntas a grupos de interés.

Generadores de residuos grasos (restaurantes, fábricas de alimentos, zoológicos, rastros y granjas)

1. ¿Cuáles son los puntos de generación de residuos grasos?
2. ¿Cuentan con algún sistema para captación de grasas? (trampas de grasa)
 - a. ¿Qué tamaño/capacidad tiene?
 - b. ¿Qué problemáticas observa? (olores, desbordamientos, atascamientos)
 - c. ¿Cada cuánto deben vaciar el sistema de captación?
 - d. ¿Cuánto cuesta vaciar el sistema?
 - e. ¿Qué empresa les presta este servicio?
3. ¿Cuentan con algún sistema para tratamiento de aguas residuales?
 - a. ¿Qué tamaño/capacidad tiene?
 - b. ¿Qué problemáticas observa? (olores, desbordamientos, atascamientos)
 - c. ¿Cuáles son las concentraciones de grasas en el influente y efluente? (Eficiencia de remoción)
 - d. ¿Toman alguna acción específica para remover o tratar contaminantes grasos?
 - e. ¿Cuál es el costo de las estrategias que toman?
4. ¿Están enterados de la normativa en materia de agua?
5. ¿Conoce las multas que se efectúan cuando no hay un correcto manejo de grasas y aceites?
6. ¿Han recibido alguna advertencia o sanción durante sus operaciones?
7. ¿Conoce a alguien que haya recibido alguna advertencia o sanción durante sus operaciones?
8. ¿Tendrían interés en un producto que permita atrapar y degradar las grasas para reducir costos relacionados con la remoción y/o tratamiento de trampas y grasas?
9. ¿Les parecería bueno poder retirar las grasas de forma sólida?

Anexo XI. Cuestionario realizado a grupos de interés.



Anexo XII. Distribución de los diámetros de flóculo para diferentes cultivos. Se tomó un número de muestras tal que se obtuvo un 95% de confianza y un 15% de error.

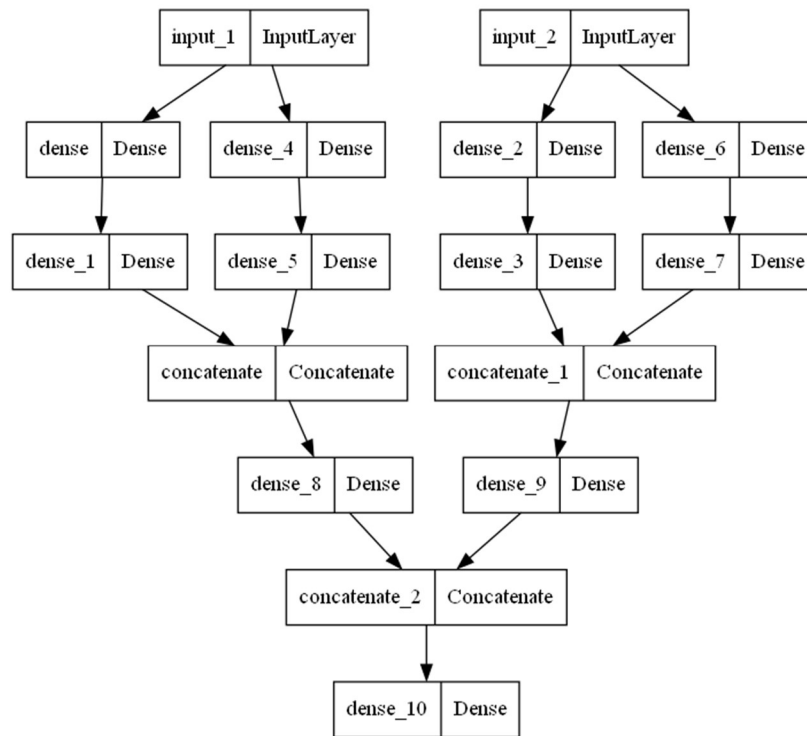
Anexo XIII. Criterios evaluados para la generación de la propuesta de solución considerando cinco ejes: Innovación biotecnológica, enfoque Jesuita, Necesidades de los grupos de interés, Entorno económico de Jalisco y Legislación ambiental en México.

Criterio	Descripción
A	Se determinarán las necesidades de los grupos de interés referentes al manejo de GyA.
B	Las necesidades de los grupos de interés dictan las bases con las que se realizará el proyecto. El acompañamiento a los grupos de interés es clave.
C	El poder adquisitivo de los grupos de interés determina cuánto pueden invertir a una solución para sus necesidades.
D	La solución biotecnológica debe ser económicamente viable tomando en cuenta el contexto económico de Jalisco.
E	Se deben tomar en cuenta los costos de trámites para registro de marca, así como de productos y servicios relacionados con el ambiente.
F	Es necesario identificar qué requerimientos legales deben cumplir los grupos de interés para descartar residuos contaminados con GyA, así como las multas por no hacerlo en conformidad con las leyes estatales y federales.
G	El interés propio, que podría ser el económico, pasa a segundo plano cuando se busca ayudar a un grupo.
H	La innovación biotecnológica se adaptará a un principio de “co-creación” para atender a los grupos de interés.
I	La innovación biotecnológica propuesta deberá ser legalmente viable en todas sus partes, por lo que será necesario determinar permisos pertinentes.
J (A+B+H)	Desarrollo de una solución biotecnológica que atienda las necesidades de los grupos de interés mediante el principio de “co-creación”.
K (A+C+D)	La solución biotecnológica debe considerar el poder adquisitivo de los grupos de interés para generar una solución económicamente viable en el contexto económico de Jalisco.
L (C+E+F)	Es necesario identificar cómo interviene el poder adquisitivo de los grupos de interés con los trámites o soluciones necesarias para evitar multas, así como la forma en que impactan dichas multas en la operación de los negocios.
M (E+G)	Los trámites requeridos para la solución se verán como una inversión social más que para vender un producto o servicio, ya que la finalidad es apoyar a los grupos de interés.
N (H+I)	En el desarrollo de la innovación biotecnológica deberá conocerse cómo las alternativas actuales interactúan con el ámbito legal. Así mismo deberá desarrollarse con el grupo de interés una estrategia para que la solución propuesta no suponga un riesgo legal en cuanto a su implementación.
O (A+B+H+I)	Desarrollo de una solución biotecnológica que atienda las necesidades de los grupos de interés mediante el principio de “co-creación”, siendo legalmente viable en todas sus partes.
P (A+C+D+E+F)	La solución biotecnológica debe considerar el poder adquisitivo de los grupos de interés para generar una solución económicamente viable en el contexto económico de Jalisco, así como considerar el poder adquisitivo de los grupos de interés conociendo cómo este afecta con los requisitos legales para evitar multas y, finalmente, teniendo en cuenta el impacto de las multas en la operación de los negocios.
Q (D+E+G+H+I)	La solución biotecnológica deberá ser económica y legalmente viable para los grupos de interés, incorporando dentro de sí un eje de apoyo social, ya sea a través de la educación, implementaciones “pro-bono”, o apoyo en trámites para evitar que los grupos de interés incurran en multas.
PAP- Petroclean (A+B+C+D+E+ F+G+H+I)	La solución biotecnológica desarrollada en el PAP – Petroclean, deberá ser una con un fuerte enfoque de apoyo social para los grupos de interés. Para esto se tomarán en cuenta las necesidades de los grupos de interés por sobre todas las cosas a través de un proceso de “co-creación”, en el que dichas necesidades son los principales puntos por cumplir en la innovación. Así mismo, la innovación deberá enfocarse no sólo en la parte técnica, es decir, que funcione el producto o servicio, sino que también deberá presentarse forma económica y legalmente viable para los grupos de interés. Además, la solución deberá ofrecer un apoyo que vaya más allá de vender un producto o servicio, tal como poner a disposición de los grupos de interés información útil para aumentar su conocimiento respecto a la materia de legislación ambiental referente al vertido de aguas residuales, así como las diferentes técnicas en que puede resolverse este problema. Finalmente, la solución generada podrá ser puesta a disposición de grupos de interés cuyo poder adquisitivo sea inferior al promedio mediante la implementación de un modelo tipo “Robin Hood”, descuentos o aplicaciones “pro-bono” de la solución.

Model: "model"

Layer (type)	Output Shape	Param #	Connected to
input_1 (InputLayer)	[(None, 60)]	0	[]
input_2 (InputLayer)	[(None, 60)]	0	[]
dense (Dense)	(None, 2048)	124928	['input_1[0][0]']
dense_4 (Dense)	(None, 2048)	124928	['input_1[0][0]']
dense_2 (Dense)	(None, 2048)	124928	['input_2[0][0]']
dense_6 (Dense)	(None, 2048)	124928	['input_2[0][0]']
dense_1 (Dense)	(None, 1024)	2098176	['dense[0][0]']
dense_5 (Dense)	(None, 1024)	2098176	['dense_4[0][0]']
dense_3 (Dense)	(None, 1024)	2098176	['dense_2[0][0]']
dense_7 (Dense)	(None, 1024)	2098176	['dense_6[0][0]']
concatenate (Concatenate)	(None, 2048)	0	['dense_1[0][0]', 'dense_5[0][0]']
concatenate_1 (Concatenate)	(None, 2048)	0	['dense_3[0][0]', 'dense_7[0][0]']
dense_8 (Dense)	(None, 4096)	8392704	['concatenate[0][0]']
dense_9 (Dense)	(None, 4096)	8392704	['concatenate_1[0][0]']
concatenate_2 (Concatenate)	(None, 8192)	0	['dense_8[0][0]', 'dense_9[0][0]']
dense_10 (Dense)	(None, 60)	491580	['concatenate_2[0][0]']

Total params: 26,169,404
Trainable params: 26,169,404
Non-trainable params: 0



Anexo XIV. Arquitectura del modelo de redes neuronales para analizar superficies de respuesta con dos vectores de entrada. El modelo puede ser ampliado para recibir n vectores de entrada y así relacionar diferentes parámetros con el comportamiento de floculación y/o degradación del consorcio.

```

import tensorflow as tf
from sklearn.preprocessing import MinMaxScaler
from sklearn.metrics import mean_squared_error
from tensorflow.keras import Model
from tensorflow.keras.utils import plot_model
from keras.layers import Dense, Input, Multiply, Concatenate, LSTM, RepeatVector, TimeDistributed, Flatten
from numpy import asarray
from matplotlib import pyplot

def arquitectura(n):
    # Arquitectura de La red neuronal
    xi1 = Input(shape=(n,))
    xi2 = Input(shape=(n,))
    xi3 = xi1
    xi4 = xi2

    x1 = Dense(2048, activation='sigmoid', kernel_initializer='he_uniform')(xi1)
    x1 = Dense(1024, activation='relu', kernel_initializer='he_uniform')(x1)

    x2 = Dense(2048, activation='sigmoid', kernel_initializer='he_uniform')(xi2)
    x2 = Dense(1024, activation='relu', kernel_initializer='he_uniform')(x2)

    x3 = Dense(2048, activation='sigmoid', kernel_initializer='he_uniform')(xi3)
    x3 = Dense(1024, activation='sigmoid', kernel_initializer='he_uniform')(x3)

    x4 = Dense(2048, activation='sigmoid', kernel_initializer='he_uniform')(xi4)
    x4 = Dense(1024, activation='sigmoid', kernel_initializer='he_uniform')(x4)

    xo1 = Concatenate()([x1,x3])
    xo1 = Dense(4096)(xo1)

    xo2 = Concatenate()([x2,x4])
    xo2 = Dense(4096)(xo2)

    xo = Concatenate()([xo1,xo2])

    xo = Dense(n, activation='linear')(xo)

    model = Model(inputs = [xi1,xi2], outputs = [xo])

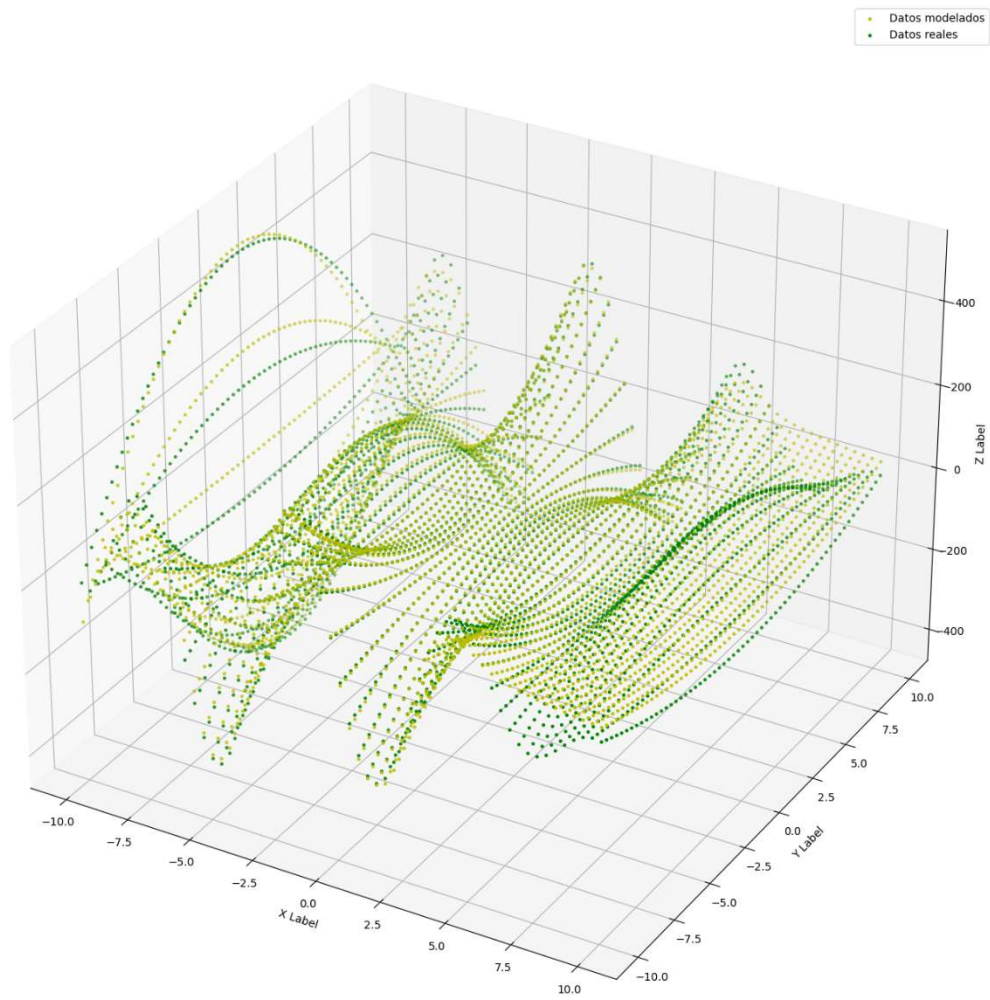
    # Compilación de modelo con función de pérdida, optimizador y métricas
    model.compile(loss='mse', optimizer='adam', metrics=["MeanAbsoluteError"])

    # Mostrar datos y arquitectura del modelo
    model.summary()

    return model

```

Anexo XV. Código de la red neuronal elaborada.



Anexo XVI. Ejemplo de aplicación del modelo de redes neuronales en una superficie de respuesta simulada con una función matemática desconocida por el modelo. La función utilizada fue

$$z = c^2 \left(\frac{x^2}{a^2} - \frac{y^2}{b^2} \right) \sin \left(\frac{x}{0.01*(x+15)} \right) \text{ con } a = 3, b = 3 \text{ y } c = 2, \text{ evaluada en el rango } x = [-10,10], y = [-10,10].$$

Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial

Datos del signo distintivo	
Signo que solicita: Marcar con una X sólo una casilla	
<input type="radio"/> Publicación de Nombre Comercial <input checked="" type="checkbox"/> Registro de Marca <input type="radio"/> Registro de Imagen Comercial <input type="radio"/> Registro de Aviso Comercial <input type="radio"/> Registro de Marca Colectiva	
Fecha de primer uso en México: DD / MM / AAAA <input type="radio"/> No se ha usado	
Clase: 1	Productos o Servicios, en el caso de Marca o Aviso Comercial/Giro preponderante, en el caso de Nombre Comercial: PRODUCTOS QUIMICOS PARA LA INDUSTRIA, LA CIENCIA Y LA FOTOGRAFIA, ASI COMO PARA LA AGRICULTURA, LA HORTICULTURA Y SILVICULTURA; COMPUESTOS PARA LA EXTINCION DE INCENDIOS Y LA PREVENCIÓN DE INCENDIOS; COMPOST, ABONOS Y FERTILIZANTES; PREPARACIONES BIOLÓGICAS PARA LA INDUSTRIA Y LA CIENCIA; AGENTES QUIMICOS TENSOACTIVOS PARA USO AGRICOLA; AGENTES QUIMICOS TENSOACTIVOS PARA USO FORESTAL; AGENTES QUIMICOS TENSOACTIVOS PARA USO HORTICOLA; AGENTES TENSOACTIVOS CON FINES
<input checked="" type="checkbox"/> Continúa en anexo	
Denominación: <small>Sólo en caso de marcas que, además de un elemento figurativo, se integren por palabras, letras o números. En caso de tratarse de una marca conformada únicamente por palabras, letras o números prevalece por el alfabeto latino internacional, en la representación que presente los caracteres estándar.</small> PETROCLEAN	Representación del signo:  PETROCLEAN
Elementos sobre los cuales No se solicita protección: <input type="radio"/> Continúa en anexo	
Ubicación del establecimiento	
Código postal: Calle: <small>(Por ejemplo: Avenida Insurgentes Sur, Boulevard Ávila Camacho, Calzada, Corredor, etc.)</small> Número exterior: Número interior: Colonia: <small>(Por ejemplo: Ampliación Juárez, Residencial Hidalgo, Fraccionamiento, Sección, etc.)</small> Localidad: Municipio o demarcación territorial: Entidad federativa: Entre calles (opcional): Calle posterior (opcional): País:	
Prioridad reclamada: <small>(Sólo en caso de Marca o Aviso Comercial presentado en el extranjero)</small> País (oficina) de origen: Número: Fecha de presentación: DD / MM / AAAA	
Manifiesto bajo protesta de decir verdad que los datos asentados en esta solicitud son ciertos. Los productos o servicios que ofertaré se encuentran libres de engaño o mala fe. En caso de actuar como mandatario cuento con facultades suficientes para llevar a cabo el presente trámite. Así mismo, me doy por enterado del tratamiento que se les dará a los datos personales contenidos en la presente solicitud.	
Nombre del solicitante o de su representante HUGO MUNGUÍA OROZCO	Caracteres de autenticidad jqAPVj62ZSa2yvR8+TzY6nhq3R114b5SkdWhIVryTWge9ZrvvNLyq1CHCZ1rMq

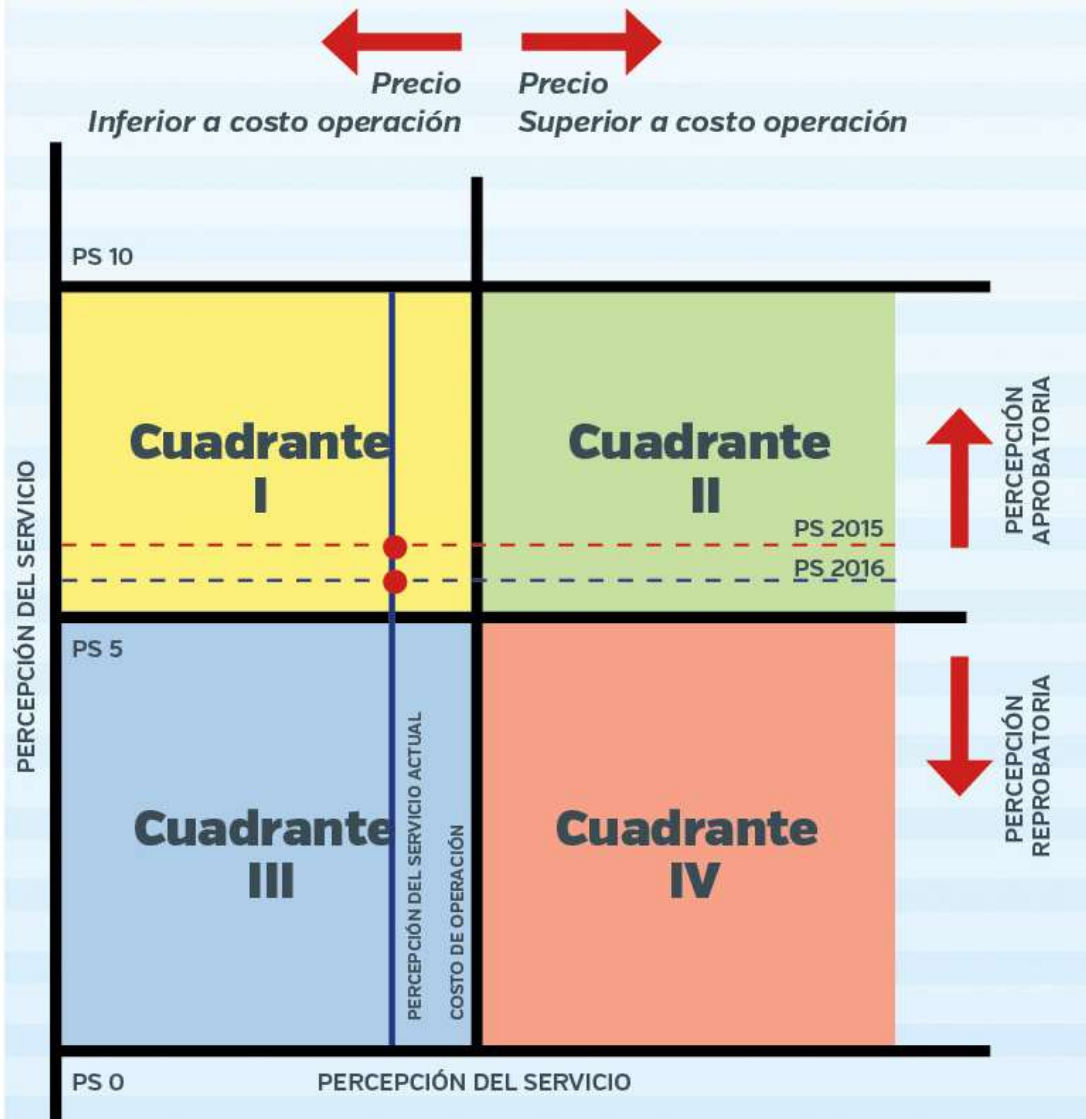
Anexos - Productos o Servicios
 INDUSTRIALES; AGENTES TENSOACTIVOS PARA SU USO EN LA RESTAURACION DE SUPERFICIES DE SUELO; AGENTES TENSOACTIVOS; AGENTES SURFACTIVOS; PREPARACIONES BIOLÓGICAS QUE NO SEAN PARA USO MEDICO NI VETERINARIO; ACONDICIONADORES QUIMICOS DE SUELO; ADITIVOS QUIMICOS PARA SUELO; BIOFERTILIZANTES PARA SU USO EN EL TRATAMIENTO DE SUELO; AGENTES DE ENMIENDA DEL SUELO; PREPARACIONES PARA MEJORAR LOS SUELOS.

Anexo XVII. Registro de la marca ante el IMPI.

Anexo XVIII. Análisis de costos e inversión inicial para adquisición del equipo mínimo para producción en una planta piloto.

Concepto	Unidad	Precio unitario	Cantidad	Inversión
Adquisición de materiales de vidrio para laboratorio		\$ 25,000.00	1	\$ 25,000.00
Adquisición de reactivos, sales y medios de cultivo		\$ 30,000.00	1	\$ 30,000.00
Adquisición de cepas		\$ 10,400.00	1	\$ 10,400.00
Adquisición de equipo para laboratorio				
Balanza	Pieza	\$ 28,343.44	1	\$ 28,343.44
Centrífuga clínica digital	Pieza	\$ 17,729.44	1	\$ 17,729.44
Espectrofotómetro UV-Vis (opcional)	Pieza	\$ 65,523.76	1	\$ 65,523.76
Autoclave de 24 litros eléctrica	Pieza	\$ 14,406.04	1	\$ 14,406.04
Medidor de pH	Pieza	\$ 750.00	1	\$ 750.00
Medidor de conductividad	Pieza	\$ 750.00	1	\$ 750.00
Mechero Bunsen	Pieza	\$ 380.00	1	\$ 380.00
Campana de flujo laminar	Pieza	\$ 73,868.80	1	\$ 73,868.80
Bomba de vacío	Pieza	\$ 15,112.48	1	\$ 15,112.48
Microscopio	Pieza	\$ 16,963.84	1	\$ 16,963.84
Total de equipo para laboratorio				\$ 233,827.80
Equipo para producción a escala piloto				
Biorreactor STBR de 120 L (diseño propio)	Pieza	\$ 26,100.00	1	\$ 26,100.00
Bombas peristálticas	Pieza	\$ 7,563.20	4	\$ 30,252.80
Filtros para biomasa (diseño propio)	Pieza	\$ 10,925.00	2	\$ 21,850.00
Tanque de mezclado (diseño propio)	Pieza	\$ 9,860.00	1	\$ 9,860.00
Intercambiador de calor (diseño en conjunto con empresa de ingeniería)	Pieza	\$ 14,500.00	1	\$ 14,500.00
Envasadora de líquidos	Pieza	\$ 25,000.00	1	\$ 25,000.00
Total de equipo para planta piloto				\$ 127,562.80
Total				\$ 426,790.60
Total amortizado a 5 años (\$MXN/año)				\$ 85,358.12
Capacidad productiva	Lotes/año		43	
Productos por lote	U/lote		420	
Productos por año (Considerando merma del 10%)	U/año		16065	
Personal de planta (Un operador y Un laboratorista)	\$MXN/año	\$	262,200.00	
Personal de ventas (Un vendedor de planta)	\$MXN/año	\$	225,000.00	
Viáticos para personal de ventas y directivo.	\$MXN/año	\$	96,000.00	
Insumos para producción	\$MXN/lote	\$	18,300.00	
Insumos para producción	\$MXN/año	\$	777,750.00	
Renta de bodega para producción y almacén	\$MXN/año	\$	300,000.00	
Inversión anual total	\$MXN/año	\$	1,746,308.12	
Precio mínimo para recuperar inversión a 5 años con capacidad instalada	\$MXN/U	\$	108.70	
Precio promedio de la competencia	\$MXN/U	\$	348.00	
Precio de venta propuesto	\$MXN/U	\$	299.00	
Valor de la producción anual	\$MXN	\$	4,803,435.00	
ROI	\$MXN		1.75	
Cálculo de VPN				
Año 1 (Acaparando 1% del mercado)	\$	889,525.00		
Año 2 (Acaparando 1.5% del mercado)	\$	1,334,287.50		
Año 2 (Acaparando 2.0% del mercado)	\$	1,779,050.00		
Año 2 (Acaparando 3.0% del mercado)	\$	2,668,575.00		
Año 2 (Acaparando 5.0% del mercado)	\$	4,447,625.00		
Inversión total	\$	8,731,540.60		
VPN	\$	2,387,521.90		

Matriz Calidad-Precio



Fuente: Elaborado por Arq. Francisco Romero Pérez con Información de las matrices realizadas por el Boston Consulting Group en 1973 y la diseñada por Martilla y James en 1977

CUADRANTE I: Calidad superior al precio del servicio.

CUADRANTE II: Relación precio calidad ideal.

CUADRANTE III: Baja calidad y bajo precio.

CUADRANTE IV: Calidad inferior al precio del servicio.

Anexo XIX. Matriz calidad-precio de acuerdo con información del Boston Consulting Group. Adaptada por el Arq. Francisco Romero Pérez (2017) del diseño elaborado por Martilla y James (1977).