

**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

PAP4D09 INNOVACIÓN Y EMPRENDIMIENTOS BIOTECNOLÓGICOS

**BIOSHIELD: Innovación en soluciones sostenibles para el tratamiento de  
plagas en los cultivos de Jalisco**

**PRESENTAN**

Programas educativos y Estudiantes

Ingeniería en Biotecnología. Adolfo Arteche Torres

Ingeniería en Biotecnología Raúl Soto Echevarría

Ingeniería Química. Jorge Daniel Morfin Kroepfly

Ingeniería Industrial. David Martínez Malda

Profesor PAP:

Mtra. Hilda del Sagrario Vallín Sánchez,

Dr. Alejandro Arana Sánchez,

Dr. Luís Edmundo Garrido Sánchez

Tlaquepaque, Jalisco, mayo de 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.....  | 3  |
| 1.3 Antecedentes.....  | 4  |
| 1.4. Contexto .....  | 6  |
| 2. Desarrollo .....  | 7  |
| 2.1. Sustento teórico y metodológico .....   | 7  |
| 2.2. Planeación y seguimiento del proyecto .....   | 12 |
| 3. Resultados del trabajo profesional.....   | 27 |
| 4. Reflexiones del alumno o alumnos sobre sus aprendizajes, las implicaciones éticas y los aportes sociales del proyecto ..... | 34 |
| 5. Conclusiones.....   | 43 |
| 6. Bibliografía.....   | 44 |
| Anexos (en caso de ser necesarios) .....   | 45 |

## 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

El proyecto consiste en el desarrollo de un agente de control biológico para la protección de cultivos agrícolas. El objetivo es ofrecer una solución innovadora, eficiente y ecológica para combatir las plagas que afectan los cultivos, reduciendo el uso de pesticidas químicos y minimizando el impacto ambiental. La metodología utilizada para el diseño de la solución se basó en la aplicación de Design Thinking, que permitió identificar las necesidades y requerimientos de los clientes potenciales, así como los desafíos y oportunidades del mercado. Se llevo un seguimiento cercano con los grupos de interés para el diseño de la solución final, en este caso siendo un microencapsulado de un consorcio de microorganismos obtenidos de residuos agroindustriales con el fin del control biológico de plagas en los suelos de los cultivos mexicanos. Se concluye que la cooperación entre diferentes actores del sector agrícola es esencial para el desarrollo de soluciones sostenibles y socialmente responsables. Además, la colaboración con la industria permite que la innovación científica tenga un impacto más amplio y llegue a los consumidores finales.

## 1. Introducción

### 1.1. Objetivos

#### 1.1.1 Objetivo general

Estandarizar un proceso de crecimiento y encapsulamiento de un consorcio microbiana para su uso como agente de control biológico crecido a partir del uso de residuos agroindustriales como materia prima para su uso en los cultivos hortícolas regionales.

#### 1.1.2 Objetivos específicos

- Generar una solución innovadora y ecológicamente responsable en función de las necesidades de pequeños y medianos agricultores de hortalizas en la zona de Jalisco
- Aprovechar los residuos de la industria tortillera y de la industria cervecera para generar un medio no convencional para el crecimiento de *B. subtilis* y *B. megaterium* y *Trichoderma harzianum*.
- Estandarizar una metodología de encapsulamiento para el agente de control biológico.
- Obtener al menos una prueba de concepto/PMV de un nuevo producto para el biocontrol.
- Generar una simulación computacional que realice los balances de materia y económicos con los parámetros recabados a lo largo del proyecto.
- Proponer un proceso para la producción a escala del consorcio.

### 1.2. Justificación

El aprovechamiento de residuos agroindustriales para generar un agente de biocontrol es un proyecto altamente justificado por varios factores clave:

- **Sostenibilidad ambiental:** Al utilizar residuos agroindustriales como materia prima, este proyecto reduce los residuos y promueve un uso más sostenible de los recursos. Además, el uso de agentes de control biológico en la agricultura ayuda a reducir la necesidad de pesticidas sintéticos, que pueden tener impactos ambientales negativos.
- **Rendimientos de cultivos mejorados:** Se ha demostrado que los agentes de biocontrol controlan eficazmente las plagas y enfermedades en los cultivos, lo que conduce a mejores rendimientos y productos de mayor calidad.
- **Beneficios económicos:** La producción y el uso de agentes de control biológico pueden proporcionar beneficios económicos para los agricultores y la agroindustria en general. Al reducir la necesidad de pesticidas sintéticos, los agricultores pueden ahorrar dinero en insumos y potencialmente aumentar sus ganancias.
- **Salud y seguridad:** Los pesticidas sintéticos pueden presentar riesgos para la salud de los agricultores y los consumidores, mientras que los agentes de control biológico generalmente se consideran alternativas más seguras y sostenibles.
- **Innovación científica:** Este proyecto representa un nuevo enfoque para la producción de agentes de biocontrol, aprovechando las técnicas biotecnológicas de vanguardia para transformar los desechos agroindustriales en recursos valiosos.

En general, este proyecto tiene el potencial de tener un impacto positivo significativo en el medio ambiente, la agricultura y la salud humana, lo que lo convierte en un esfuerzo altamente justificado.

### 1.3 Antecedentes

La agricultura es una actividad económica muy importante en México, se desarrolla a lo largo de todo el territorio y con todo tipo de cultivos. Históricamente los cultivos mexicanos tienen problemas de plagas de todo tipo, siendo las plagas fúngicas una de las cuales causa mayor pérdida a nivel económico en la mayoría de los cultivos. Siendo difícil de prevenir y de controlar una vez infectada una cosecha.

Uno de los cultivos que sufren estas plagas son los aguacates, este cultivo es fuertemente atacado por sepas de *Colletotrichum capsicii* causando antracnosis en los frutos. Se estima que esta enfermedad llega a causar pérdidas de hasta el 20% en la producción anual nacional, donde una vez detectado el fitopatógeno en el huerto es muy difícil deshacerse de él, ya que se queda en la tierra de los plántulos esperando a las condiciones de humedad y temperatura para propagarse de nueva manera (Rodríguez et al, 2020).

Actualmente una de las principales soluciones radica en la utilización de pesticidas. Sin embargo, aunque entre sus beneficios existe un mayor potencial económico en términos de una mayor producción del fruto, los pesticidas tienen efectos tóxicos severos o inclusive mortales en especies no objetivo, sin contar la afectación a la biodiversidad animal y vegetal, redes alimentarias y ecosistemas acuáticos y terrestres (Aktar et Al., 2009).

Por esta razón en los últimos años, conforme la tecnología ha ido avanzando se han encontrado nuevas soluciones. Cada vez se ha ido dejando los productos químicos convencionales y se han ido pasando al biocontrol. Esta práctica empieza desde 1920, donde se empieza a encontrar sepas en los suelos que tienen propiedades fungicidas, esto generó que se empezara a hablar de fungicidas biológicos, esto en 1934. Sin embargo, se empezó a darle mayor importancia hasta la década de los 80, donde se le empezó a dar énfasis a la contaminación y los daños que causan los fungicidas químicos (Lewis y Papavizas, 1991).

Por estas razones el biocontrol ha sido una rama de investigación importante en los últimos años, ya que se han demostrado sus beneficios en la rizosfera y en el microbiota de los cultivos donde se ha ido implementado. Esta rama de biotecnología está creciendo y le falta

mucho por crecer, ya que cada año se publican nuevas maneras de utilizar esta tecnología, donde cada vez se encuentran mayores beneficios para todos.

#### 1.4. Contexto

México está en el lugar número siete de países exportadores de agricultura en el mundo, es el mayor exportador de aguacate y el segundo mayor exportador de berries (fresa, frambuesa, arándano, zarzamora y mora) en el mundo, mientras que, a nivel nacional, este sector aporta 3% al PIB. Al tener un rol tan importante a nivel mundial, es de suma importancia para los agricultores tener un buen desempeño en el campo, sin embargo, existen muchos factores que pueden afectar dicho desempeño, como lo son; cambio climático brusco, plagas de insectos, malezas, fertilidad del suelo, plagas fúngicas etc. De acuerdo con la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) Hasta un 40 por ciento de la producción agrícola mundial se pierde por causa de las plagas que llegan a afectar a los diferentes cultivos.

Esto por supuesto va de la mano con la pérdida económica para los agricultores, ya que perdidas en sus huertos implica invertir en recuperar sus cultivos tanto en infraestructura como en productos, no vender sus cosechas, pagar manos de obra, etc. Según agricultores de aguacates en el estado de Michoacán y Jalisco, así como de berries en el estado de Jalisco y Colima, el factor que más los asusta son las plagas fúngicas, son difíciles de erradicar, se propagan rápido y pueden llegar a acabar con el 100% de los huertos.

Este tipo de plagas fúngicas se tratan con fungicidas, las cuales son sustancias que impiden o eliminan el crecimiento de hongos perjudiciales para las plantas, a pesar de eficacia, si se utilizan en exceso pueden causar daños fisiológicos a la planta, al ser humano que esté en contacto constante y al subsuelo.

En la actualidad, la mayoría de los agricultores en México usan fungicidas químicos ya que su precio ronda entre los 200 pesos aproximadamente, mientras que un fungicida orgánico ronda entre los 400 y 500. Es por ello por lo que los agricultores optan por la manera

convencional de tratar sus plagas fúngicas, siempre y cuando dichos fungicidas cumplan con los requisitos de químicos aceptados por la SENAISCA, USDA, GLOBAL GAP, CFR 40, etc.

En el presente PAP se tuvo un contacto cercano con más de 40 agricultores de la zona para la generación de relaciones estratégicas de confianza y poder lograr un co-diseño de nuestra solución, para poder alcanzar nuestros objetivos se hicieron diversas visitas al campo para llegar a tener un contexto mucho más cercano y poder generar innovación basada en nuestro grupo de interés, asimismo, nos dimos cuenta de los problemas y carencias que posee este sector de la población, tales como la poca cantidad de productos orgánicos y biológicos para el tratamiento de enfermedades, de mismo modo, una de las principales preocupaciones de los agricultores es la incidencia de plagas en los suelos, ya que cuando estas comienzan con síntomas, la plaga ya tuvo el suficiente tiempo para desarrollarse y ser eliminada por los productos convencionales, obligando el uso y aplicación de agroquímicos mucho más agresivos.

## 2. Desarrollo

### 2.1. Sustento teórico y metodológico

En la aplicación de la metodología de Design Thinking para el presente proyecto, se ha llevado a cabo una serie de pasos enfocados en la identificación y validación de la problemática y solución propuesta. En primer lugar, se realizó una inmersión en el contexto del mercado objetivo para comprender mejor sus necesidades y expectativas en cuanto a productos biológicos de control para el campo. Luego, se realizaron entrevistas y encuestas a productores agrícolas para recopilar información específica sobre sus necesidades y dificultades en el control de plagas y enfermedades en sus cultivos.

A continuación, se procedió a la definición de la problemática y la generación de múltiples soluciones, en las que se utilizó el pensamiento divergente y se fomentó la creatividad en la generación de alternativas. Después, se procedió a la selección de las soluciones más viables



y se trabajó en la prototipación y testeo de estas para asegurar su eficacia y eficiencia en la solución de la problemática identificada.

Finalmente, se procedió a la implementación y evaluación de la solución propuesta en el mercado, en la que se busca obtener retroalimentación constante de los clientes para poder seguir mejorando el producto y su aplicación. La metodología de Design Thinking permite que el enfoque en el cliente sea la base para la generación de soluciones innovadoras y eficaces en la solución de problemáticas complejas, lo que asegura la satisfacción de las necesidades y expectativas del mercado objetivo.

Para abordar la presente problemática y generar las diferentes soluciones a esta, el proyecto se sustenta en la actividad antagónica del consorcio de microorganismos a utilizar, *Bacillus subtilis*, *Bacillus megatherium*, y *Trichoderma harziaunum*. Asimismo, buscamos incluir factores diferenciadores a los agentes de biocontrol ya existentes en el mercado, debido a esto, se busca que la mayoría de la materia prima a utilizar sea obtenida a partir de residuos de la industria alimentaria y agrícola.

Los microorganismos, debido a su alta adaptación a condiciones extremas, han sido cultivados en medios con altas temperaturas, pH variable, alta salinidad y en general, propiedades fisicoquímicas no aptas para otro ser vivo. A la par, se han descubierto capaces de producir importantes metabolitos primarios y secundarios, incluidos alcohol, enzimas, antibióticos, pigmentos y muchas otras moléculas en estas condiciones.

Por ejemplo, en la actualidad diversas especies del género *Bacillus*, como *B. subtilis* o *B. megatherium*, son ampliamente estudiadas para mitigar la incidencia de enfermedades de importancia agrícola. Sucede que esta bacteria puede evitar la incidencia y proliferación de los organismos fitopatógenos por diversas maneras. Ya sea por la excreción de antibióticos, enzimas líticas, toxinas, entre otros. (Villarreal-Delgado, 2018).

Retomando a *Bacillus subtilis*, un microorganismo de alto interés se podría centrar en mercado agricultores en México como el aguacate puesto que el país se posiciona como el

productor principal del fruto en el mundo produciendo un millón de toneladas anuales. Aunque el aguacate se cultiva en 25 estados del país, el 95% de la producción se concentra en estados como Jalisco, Nayarit, y Michoacán, siendo este último el líder en producción.

*Bacillus Megaterium* es una bacteria no patógena que es segura para el consumo humano y se ha utilizado en una amplia gama de aplicaciones, incluyendo la biorremediación, la biotecnología y los procesos de fermentación industrial. También se utiliza como organismo modelo en la investigación de biología molecular. También es conocido por su capacidad para fijar nitrógeno, lo que lo convierte en un importante contribuyente a la fertilidad del suelo. También puede producir antibióticos y se ha encontrado que tiene propiedades antimicrobianas, lo que puede tener aplicaciones terapéuticas potenciales (Shivaji et al, 2009).

Como agente de biocontrol, *Bacillus megaterium* es capaz de proteger los cultivos agrícolas contra patógenos y otras enfermedades. Se ha demostrado que su producción de metabolitos secundarios y la competencia por los nutrientes y el espacio en el suelo ayudan a prevenir la colonización de patógenos dañinos. Además, *Bacillus megaterium* también puede inducir la resistencia en las plantas, lo que las hace más resistentes a las enfermedades potenciales (Shivaji et al, 2009). *Trichoderma harzianum* es un hongo filamentoso y saprofito que se encuentra en el suelo y en otros ambientes naturales. Es ampliamente utilizado como agente de biocontrol en la agricultura debido a su capacidad para controlar una variedad de patógenos de las plantas. Además, *Trichoderma harzianum* se ha encontrado que tiene varios beneficios para las plantas, como la promoción del crecimiento vegetal y la mejora de la calidad de las cosechas (Contreras-Cornejo et al, 2009).

De la misma manera produce una variedad de compuestos bioactivos, como enzimas, antibióticos y péptidos antifúngicos, que ayudan a prevenir el crecimiento y la propagación de patógenos de las plantas. Además, *Trichoderma harzianum* también puede inducir la resistencia sistémica en las plantas, lo que las hace más resistentes a las enfermedades (Contreras-Cornejo et al, 2009).

La inmovilización celular puede ser definida como la ubicación física de células en un espacio o región específica de forma natural o inducida, en la cual son capaces de mantener su actividad catalítica deseada (Karel et al., 1985). Esta metodología consiste en atrapar células vivas y garantizar su viabilidad, así como mejorar el aprovechamiento de los metabolitos producidos por los microorganismos mediante la lenta liberación para diversas aplicaciones. (Alonso, 2017)

El alginato es un componente de la pared celular de las algas caféas, formado por dos tipos de unidades monoméricas: el ácido  $\beta$ -D manurónico (M) y el ácido  $\alpha$ -L-gulurónico (G) (Espín et al., 2000; Sabra et al., 2000; Hernández-Carmona et al., 2012). Cuando una solución de alginato se encuentra expuesta a la presencia de diferentes iones alcalinotérreos (principalmente calcio), forman redes por entrecruzamiento con los monómeros del ácido gulurónico, lo cual permite la formación de geles, no reversibles y de gran tensión superficial. El quitosano es un polisacárido lineal compuesto de cadenas distribuidas aleatoriamente de  $\beta$ -(1-4) D-glucosamina (unidades desacetiladas) y N-acetil-Dglucosamina (unidad acetilada), el cual es extraído de la quitina mediante un proceso de desacetilación (Alonso, 2017)

La quitina forma parte de la estructura de soporte de numerosos organismos vivos, tales como los artrópodos (crustáceos e insectos), moluscos y hongos. Se trata además de un subproducto importante de varias industrias como la pesquera y la cervecera. La quitina y el quitosano son biopolímeros que en los últimos años se les han encontrado gran cantidad de aplicaciones, especialmente en la industria alimentaria y biotecnológica (Alonso, 2017).

Algunas de las propiedades funcionales del quitosano son su biodegradabilidad, biocompatibilidad, mucoadhesión, capacidad filmogénica, hemostático, promotor de absorción, efecto antimicrobiano, anticolesterolémica y antioxidante (Aranaz, et al., 2009). Estas propiedades funcionales han promovido su utilización en campos industriales como la agricultura y medicina. En la agricultura, el quitosano se ha descrito como un agente para el control de enfermedades virales en plantas y como aditivo en fertilizantes (Alonso, 2017).

Ante alguna plaga existente en los cultivos, una de las principales soluciones radica en la utilización de pesticidas. Sin embargo, aun grupos que entre sus beneficios existe un mayor potencial económico en términos de una mayor producción del fruto, estas sustancias

químicas representan un riesgo potencial para los seres humanos y otras formas de vida además de efectos secundarios no deseados para el medio ambiente (Alonso, 2017).

Las melazas son subproductos de la producción de azúcar y se caracterizan por ser una fuente rica en nutrientes para microorganismos. Son una mezcla de sacarosa, glucosa, fructosa y otros azúcares, junto con minerales y oligoelementos que provienen de la caña de azúcar o de la remolacha azucarera. (Fernández et al., 2012). Contienen compuestos como ácidos orgánicos, aminoácidos, vitaminas y antioxidantes que pueden actuar como agentes antimicrobianos, así como ser una fuente rica y efectiva de nutrientes para microorganismos. La adición de melaza en el medio de cultivo puede mejorar la eficiencia y rentabilidad de los procesos biotecnológicos en los que se utilizan estos microorganismos. (Fernández et al., 2012).

La maltodextrina es un polisacárido hidrolizado obtenido a partir del almidón que se utiliza ampliamente como agente encapsulante debido a sus propiedades protectoras y estabilizadoras para los compuestos bioactivos (Zhao et al., 2018).

Se evaluó la eficacia de la maltodextrina en la microencapsulación de nuestro consorcio. Los resultados mostraron que la maltodextrina fue efectiva para encapsular, y protegiendo de condiciones ambientales adversas, como la temperatura y la humedad. (Torkashvand et al., 2018).

Se utilizó la maltodextrina para la microencapsulación de *B. megaterium*. Los resultados indicaron que la maltodextrina fue efectiva en la encapsulación de *B. megaterium*, y que la microencapsulación mejoró la estabilidad y la supervivencia de *B. megaterium* en ambientes hostiles. (Sahu et al., 2020).

Se evaluó la eficacia de la maltodextrina en la microencapsulación del hongo *T. harzianum*. Los resultados mostraron que la maltodextrina fue efectiva en la encapsulación de, y que la microencapsulación mejoró la supervivencia y la estabilidad del hongo en diferentes medios de crecimiento. (González-Rocha et al., 2017).

## 2.2. Planeación y seguimiento del proyecto

- Descripción del proyecto

Se busca desarrollar un nuevo producto agrícola obtenido a partir de medios de cultivo no convencionales generados de residuos agroindustriales. El producto está basado en el biocontrol de plagas fúngicas para hortalizas utilizando un consorcio de microorganismos que incluyen a *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium* para respuestas antagónicas y para respuestas sistémicas y simbiosis (unión de beneficio mutuo entre dos organismos) con los cultivos. Además, el producto cuenta con microencapsulación de alginato-quitosano para proveer con una liberación prolongada y controlada durante el uso del producto. Nuestro mercado objetivo son los pequeños y medianos agricultores de la región de México ya que estos representan más del 80% de los productores en el país generando alrededor del 35% del valor económico de la producción total según datos de la Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER), además, se estima que la superficie cultivable en México para hortalizas es de alrededor de 602 mil hectáreas, y el valor de la producción de hortalizas en el país en 2020 fue de más de 98 mil millones de pesos, según datos del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). Se busca empezar con una planta piloto en Jalisco y planeamos aumentar la producción a medida que aumente la demanda de nuestros productos. Hasta el momento, hemos realizado pruebas de laboratorio y en ambientes controlados con 1 resultados prometedores que prueban la eficacia de este producto en comparación con otros productos del mercado. El modelo de negocio propuesto se enfoca en mejorar la rentabilidad y sustentabilidad económica de los pequeños y medianos agricultores a través de una mayor eficiencia en la producción de hortalizas, reducción de costos y minimización del uso de pesticidas dañinos para la salud humana y el medio ambiente. Se espera que este modelo tenga un impacto significativo en el mercado de hortalizas en México, y que sea una solución atractiva y rentable para los agricultores. La planta piloto se ubicaría en el estado de Jalisco, donde se cuenta con una superficie cultivable de más de 50 mil hectáreas para hortalizas, según datos del SIAP. En cuanto a la distribución de productos, se prevé utilizar canales de distribución directos, formando alianzas estratégicas con cooperativas agropecuarias y organizaciones de productores, así como el comercio en línea

utilizando plataformas de comercio electrónico. También se tiene planeado la oferta de programas de capacitación y asistencia técnica para facilitar la utilización del producto, asimismo, para incrementar el impacto de nuestro producto en el mercado se planean utilizar estrategias incluyendo publicidad en medios especializados, demostraciones en vivo, participación en eventos de la industria y dar a conocer los beneficios de nuestros productos, como su efectividad y fórmula de liberación controlada

#### 2.2.1 Descripción de metodologías cualitativas y cuantitativas

##### **Cultivo de *B. subtilis* y *B. megaterium***

###### **-Reactivación de cepa**

###### a. Preparación de medio

Preparación de 100mL de medio MRS en matraz Erlen Meyer, según las instrucciones del reactivo.

###### b. Cultivo de propagación.

Mediante un pase v/v de 10% se realizará la inoculación de la cepa en el nuevo cultivo.

###### **-Cultivo de *B. subtilis* y *B. megaterium* en medio MRS.**

El cultivo será llevado en matraz, posteriormente se manejará en biorreactor con condiciones de operación de 37°C, pH 6.5, 250 rpm, se encontró que también a 28°C/pH 5 y 28°C/pH 8 presenta máximas tasas de crecimiento (Jiménez et. Al., 2018).

1. Inocular una sola colonia de *Bacillus subtilis* y *Bacillus megaterium* de una placa de Petri en un pequeño volumen de medio MRS (p. ej., 50 ml) en un matraz.
2. Hacer crecer el inóculo durante la noche a 37°C con agitación a 150-200 RPM.
3. Inocular el cultivo de la noche a la mañana en un volumen mayor de medio MRS (p. ej., 2L) en un matraz.

4. Hacer crecer el cultivo hasta que alcance una densidad óptica (DO) de 0,6-0,8 a 600 nm.
5. Transferir el cultivo a un biorreactor de 10 litros que contenga el volumen deseado de medio MRS.
6. Mantener las condiciones del biorreactor, como la temperatura (37 °C), el pH (7,0-7,2) y la tasa de transferencia de oxígeno (OTR), según sea necesario para el crecimiento óptimo de *Bacillus subtilis*.
7. Controlar el crecimiento del cultivo midiendo la DO a 600 nm y/o el recuento de células viables.
8. Cosechar el cultivo cuando se alcance la densidad celular deseada.

**-Cultivo de *B. subtilis* y *B. megaterium* en medio nejayote-malta cervecera.**

El cultivo será llevado en matraz, posteriormente se manejará en biorreactor con condiciones de operación de 37°C, pH 6.5, 250 rpm, se encontró que también a 28°C/pH 5 y 28°C/pH 8 presenta máximas tasas de crecimiento (Jiménez et. Al., 2018).

1. Esterilizar 80g de malta cervecera gastada y 800mL de nejayote.
2. Separar los sólidos del nejayote y recuperar el sobrenadante
3. Ajustar pH y utilizar sobrenadante como medio de cultivo no convencional.
4. Inocular una sola colonia de *Bacillus subtilis* y *Bacillus megaterium* de una placa de Petri en un pequeño volumen de medio malta-nejayote (MNM), por ej. 50 ml en un matraz.
5. Hacer crecer el inóculo durante la noche a 37°C con agitación a 150-200 RPM.
6. Inocular el cultivo de la noche a la mañana en un volumen mayor de medio MNM (p. ej., 2L) en un matraz.
7. Hacer crecer el cultivo hasta que alcance una densidad óptica (DO) de 0,6-0,8 a 600 nm.
8. Transferir el cultivo a un biorreactor de 10 litros que contenga el volumen deseado de medio MRS.

9. Mantener las condiciones del biorreactor, como la temperatura (37 °C), el pH (7,0-7,2) y la tasa de transferencia de oxígeno (OTR), según sea necesario para el crecimiento óptimo de *Bacillus subtilis*.
10. Controlar el crecimiento del cultivo midiendo la DO a 600 nm y/o el recuento de células viables.
11. Cosechar el cultivo cuando se alcance la densidad celular deseada.

#### **-Cuantificación de viabilidad mediante unidades formadoras de colonias.**

1. Tomar 1mL de la muestra del cultivo ya que este haya alcanzado la DO deseado y añadir a 9mL de solución fisiológica estéril.
2. Realizar diluciones seriadas hasta obtener una dilución 1:10<sup>8</sup>
3. Inocular 20μL de las ultimas 3 diluciones en cajas Petri con agar MRS y dejar incubar de 12-48hr a 37°C.
4. Contar unidades formadoras de colónias y determinar viabilidad celular.

#### **-Cultivo y conteo de esporas *Trichoderma harzianum* en malta cervecera gastada**

1. Inocular una colonia de *T. harzianum* en PDA e incubar por 4 días
2. Esterilizar 250g de malta cervecera gastada y dejar enfriar
3. Tomar el inoculo inicial de *T. harzianum*, cortar los fragmentos de micelio y sembrarlos en la malta.
4. Incubar de 3-7 días.
5. Para recuperar esporas añadir 100mL de PBS y dejar reposar por 1hr.
6. Filtrar con una maya de cocina el sobrenadante para remover la mayor cantidad de sólidos.
7. Tomar una 1mL de la solución de esporas y se diluye en 9mL de agua destilada
8. Realizar diluciones seriadas hasta obtener una dilución 1:10<sup>8</sup>
9. Realizar el conteo de esporas mediante el microscopio óptico

#### **-Comprobación de la actividad como agente de biocontrol *in vitro*.**



### Ensayo en Petri por co-cultivo.

Siembra de 5 mm de diámetro de cultivo puro de patógeno en el centro de la Petri con medio PDA (por triplicado de preferencia). Inocular *Bacillus subtilis* en dos esquinas opuestas e incubar durante 72 h a 28 °C. Mediar diámetro de crecimiento del patógeno y comparar con el crecimiento de un control (sin bacteria, utilizar agua destilada estéril).

Calcular el % de inhibición como sigue:

$$\% \text{ de inhibición} = \left[ 1 - \left( \frac{\text{Crecimiento del hongo}}{\text{Crecimiento del control}} \right) \right] * 100$$

### **-Comprobación de la actividad como agente de biocontrol *in vivo*.**

Para validar la actividad de biocontrol de *Bacillus subtilis* frente a *Fusarium oxysporum* in vivo, el proceso consta de varios pasos. En primer lugar, se inocula el patógeno *Fusarium oxysporum* en el cultivo de tejido vegetal. Luego, se inocula *Bacillus subtilis* al cultivo de tejido infectado. El cultivo de tejido se incuba en condiciones óptimas para el crecimiento y se controla el crecimiento del cultivo de tejido vegetal y la presencia de *Fusarium oxysporum*. El crecimiento del cultivo de tejido vegetal tratado con *Bacillus subtilis* se compara con un cultivo de tejido de control que no ha sido tratado. La actividad de control biológico de *Bacillus subtilis* se evalúa midiendo la reducción en la gravedad de la enfermedad, la incidencia y el crecimiento de patógenos. Para confirmar aún más los resultados y aumentar la fiabilidad de los datos, el experimento se repite varias veces.

### **Secado por aspersión para la obtención de microcápsulas con nuestro consorcio microbiano**

#### **I. Preparación de las matrices**

a. Matriz de maltodextrina-quitosano

1. Disolver 2 g de quitosano en 100 mL de agua estéril y dejar bajo agitación durante 30 min a 50°C.
2. Disolver 2 g de maltodextrina en 100 mL de agua destilada bajo agitación magnética durante 2 horas a temperatura ambiente.
3. Ajustar pH a 5.5 utilizando ácido láctico 1N o hidróxido de sodio 1N.
4. Diluir la solución resultante con agua destilada hasta obtener una concentración final de 5% (p/p) de la matriz

b. Matriz de alginato-quitosano

1. Disolver 1 g de quitosano en 100 mL de agua destilada y agitar durante 30 min a 50 °C hasta que se disuelva por completo.
2. Disolver 1 g de alginato de sodio en 100 mL de agua destilada y agitar durante 30 min a 50 °C hasta que se disuelva por completo.
3. Mezclar las soluciones de quitosano y alginato en proporción 1:1 y agitar hasta obtener una mezcla homogénea.
4. Ajustar el pH de la solución a 5.5 utilizando ácido láctico 1N o hidróxido de sodio 1N.
5. Diluir la solución resultante con agua destilada hasta obtener una concentración final de 5% (p/p) de la matriz.

**II. Preparación de los microorganismos (*B. subtilis*, *B. megaterium* y *T. harzianum*)**

1. Cultivar cada microorganismo hasta la fase estacionaria.
2. Centrifugar cultivos a 4000rpm durante 10min y resuspender el sedimento en solución salina estéril
3. Determinar y ajustar la concentración a  $1 \times 10^9$  UFC/mL

### **III. Encapsulación por secado por atomización**

#### **a. Encapsulación en matriz de maltodextrina-quitosano**

1. Añadir la solución de microorganismos a la matriz de maltodextrina-quitosano a una proporción 1:1 (v/v) para obtener un volumen final de 350mLx bajo agitación durante 30 minutos a temperatura ambiente.
2. Ajustar la viscosidad de la mezcla de microorganismos y matriz utilizando agua destilada para obtener una viscosidad adecuada para la técnica de secado por atomización (aproximadamente 50 cP).
3. Cargar la mezcla de microorganismos y matriz en el atomizador de aire caliente y ajustar las condiciones de secado por atomización a una temperatura de entrada de 140°C y una temperatura de salida de 80°C.
4. Recoger las partículas de microencapsulación en el colector de partículas.

#### **b. Encapsulación en matriz de alginato-quitosano**

1. Modificar el Spray Dryer para la atomización de la matriz de alginato-quitosano removiendo la columna del equipo y sustituyéndola por un vaso de precipitado de 2L con la solución de CaCl<sub>2</sub>.
2. Añadir la solución de microorganismos a la matriz de alginato-quitosano a una proporción 1:1 (v/v) bajo agitación durante 30 minutos a temperatura ambiente.
3. Ajustar la viscosidad de la mezcla de microorganismos y matriz utilizando agua destilada para obtener una viscosidad adecuada para la técnica de secado por atomización (aproximadamente 50 cP).
4. Cargar la mezcla de microorganismos y matriz en el atomizador de aire caliente y ajustar las condiciones de secado por atomización a una temperatura de entrada de 140°C y una temperatura de salida de 80°C.
5. Recoger las partículas de microencapsulación en la solución de CaCl<sub>2</sub>

## **-Medición de la biomasa y viabilidad celular**

La solución de cultivo se obtiene en la muestra libre de cultivo celular en intervalos regulares, la densidad óptica se mide utilizando un espectrofotómetro a una longitud de onda de 600 nm para calcular la biomasa celular. Se abre la microcápsula después de colectar la muestra para liberar *B. subtilis* y se mide la densidad óptica utilizando un espectrofotómetro a 650 nm para calcular la biomasa. Los métodos se describen por Liu X. (2008).

## **-Caracterización de las propiedades de las microcápsulas**

### a. Morfología y tamaño de partícula

Para observar la morfología y el tamaño de partícula de las microcapsulas obtenidas por el secado por aspersión se utilizó un microscopio electrónico de barrido de modelo JEOL JSM-6010LA con un voltaje de aceleración de 10-20kV. Para realizar las mediciones del tamaño de partícula se utilizó el software del fabricante del microscopio.

### b. Humedad

Para determinar el porcentaje de humedad del polvo obtenido a partir del secado se tomo un peso inicial de las muestras y después se llevo a peso constante en un horno de secado a 102°C y una noche en un desecador como indica la Federación Internacional de Lácteos (1993).

### c. Actividad de agua

La actividad de agua fue determinada en un equipo AquaLab 4TEV después de atemperar las muestras a temperatura ambiente (~25°C) por 30min como indica el fabricante.

### d. Solubilidad

Para las pruebas de solubilidad se utilizaron 2g de nuestro polvo en 50mL de agua destilada en un vaso de precipitado de 100mL en un agitador magnético a 850RPM. Se realizaron mediciones del tiempo que tomaba para que el material fuera completamente disuelto.

### **-Cuantificación de carbohidratos por método de Dubois**

La técnica de Dubois utiliza el reactivo de fenol-ácido sulfúrico para determinar la cantidad de carbohidratos presentes en una muestra. El reactivo de fenol-ácido sulfúrico reacciona con los grupos de hidroxilo de los carbohidratos para producir un compuesto de color amarillo intenso que se puede medir mediante espectrofotometría.

Primero se genera la curva de calibración, haciendo una solución madre con 1.2 g/L de dextrosa en agua destilada. Esta solución madre se utiliza para generar la curva de calibración, donde se van generando disoluciones de 0 a 1200 mg/L de dextrosa para generar la curva de calibración.

Para las muestras a medir se prepararon diferentes disoluciones para asegurarse que las mediciones estén dentro del rango de medición del espectro, una vez teniendo las disoluciones a diferentes concentraciones se prepararon para ser medidas.

Se empezó preparando 200 mL de Fenol al 5% y Ácido sulfúrico 1 M, estas soluciones se prepararon en campana de extracción debido a los gases que se desprenden y el Fenol diluido se debe de tapar con aluminio inmediatamente después de realizar la disolución.

Se empezó preparando 200 uL de cada muestra de la curva de calibración y las muestras a medir en tubos de ensayo de 15 mL, estas muestras a continuación se aforaron a 1 mL con el ácido sulfúrico 1 M. Una vez preparadas todas las muestras se les agregó 1 mL de Fenol al 5% y se dejaron reposar las muestras en la campana de extracción por 40 minutos antes de realizar el siguiente paso.

A continuación, se agregó 5 mL de ácido sulfúrico concentrado a todas las muestras, se vortexó y se dejó reposar hasta que la reacción deje de emitir calor, una vez teniendo la coloración deseada se midió en espectrofotómetro a 485 nm.

### **-Cuantificación de Nitrógeno Amoniacal**

El método para cuantificar nitrógeno amoniacal con fenol y nitroferrocianuro de sodio es conocido como el método de Indofenol. Este método es una modificación del método de FO-DGA-CPAP-0017

Berthelot y se utiliza comúnmente para la cuantificación de amoníaco en aguas residuales, suelos y otros materiales ambientales.

Preparación del reactivo de Indofenol: El reactivo de Indofenol se prepara mezclando una solución de nitroferrocianuro de sodio con una solución de fenol y una solución de hipoclorito de sodio. La proporción comúnmente utilizada es de 1 g/L de nitroferrocianuro de sodio, 2 g/L de fenol y 0.1 g/L de hipoclorito de sodio. Es importante mezclar bien los reactivos y dejar reposar la solución durante al menos una hora antes de su uso para permitir que se forme el complejo colorido.

Adición del reactivo a la muestra: Se añade el reactivo de Indofenol a la muestra y se mezcla bien. La solución se deja reposar durante un corto período de tiempo para permitir que se desarrolle la coloración.

Medición: Se mide la absorbancia de la solución a una longitud de onda específica (entre 600 y 660 nm) utilizando un espectrofotómetro.

Cálculo: La cantidad de nitrógeno amoniacal presente en la muestra se calculó a partir de una curva de calibración previamente obtenida utilizando soluciones de fosfato de amonio a concentraciones conocidas.

#### - **Optimización del medio nejayote-malta (MNM)**

Se realiza un análisis estadístico por la metodología de superficie de respuesta para evaluar cuales concentraciones de sulfato de amonio y carbohidratos serían las optimas para una primera optimización del medio. Para esto se utilizó el software *StatGraphics Analytics* y con los resultados obtenidos se compararon las cinéticas y tasas de crecimiento contra el medio sin optimizar.

Para preparar las cinéticas se utilizó un biorreactor en frasco SCOTT con una entrada y salida de aire, una salida para la toma de muestra y una salida para un termopar y poder controlar la temperatura del sistema. Asimismo, el medio para cada cepa se preparo con forme la **tabla 1**. La cinética fue seguida por 28hrs con toma de muestra cada 30min las primeras 14hrs.

| <b>mL</b>                           | <b><i>B. megaterium</i></b> | <b><i>B. subtilis</i></b> |
|-------------------------------------|-----------------------------|---------------------------|
| <b>MNM</b>                          | 265                         | 306.97                    |
| <b>Melazas 10°Bx</b>                | 42                          | 36.45                     |
| <b>Sulfato de amonio<br/>200g/L</b> | 143                         | 106.57                    |

**Tabla 1.** Composición del medio optimizado

- Plan de trabajo

Se siguieron con las actividades cronograma de a continuación desarrollado a partir de una estructura desglosada de trabajo (**Fig. 1**) para lograr los objetivos y metas en tiempo y forma:

| PAP4DogA: Innovación y Emprendimiento Biotecnológico |   |          |             |
|--|---|----------|-------------|
| Estructura del EDT                                   |   | Duración | Predecesora |
| <b>1</b>   | <b>Pruebas experimentales</b>   |          |             |
| <b>1.1</b>   | <b>Crecimiento de las cepas</b>   |          |             |
| 1.1.1  | Conseguir los insumos   |          |             |
| 1.1.1.1  | Paquete de trabajo  |          |             |
| 1.1.1.1.1  | Pedir las cepas ( <i>B. subtilis</i> , <i>B. megaterium</i> , <i>T. harzianum</i> , <i>F. oxysporum</i> etc)  | 1 día    | -           |
| 1.1.1.1.2  | Conseguir material para encapsulamiento   | 1 día    | 1.1.1.1.1   |
| 1.1.1.1.3  | Estandarizar el crecimiento en los residuos propuestos  | 3 días   | 1.1.1.1.2   |
| 1.1.1.1.4  | Primeras pruebas de enfrentamiento  | 3 días   | 1.1.1.1.3   |
| <b>1.2</b>   | <b>Pruebas de enfrentamiento <i>in vivo</i></b>   |          |             |
| 1.2.1  | Reporte(s) experimental   |          |             |
| 1.2.1.1  | Paquete de trabajo  |          |             |
| 1.2.1.1.1  | Conseguir las plantas modelo  | 2 días   | 1.1.1       |
| 1.2.1.1.2  | Realizar las pruebas de enfrentamiento  | 14 días  | 1.1.1       |
| 1.2.1.1.3  | Generar los reportes experimentales   | 2 días   | 1.2.1.1.2   |
| <b>2</b>   | <b>Generación de la metodología de encapsulamiento de las cepas</b>   |          |             |
| <b>2.1</b>   | <b>Generación de la metodología de encapsulamiento</b>  |          |             |
| 2.1.1  | Reporte(s) de las pruebas de encapsulamiento  |          |             |
| 2.1.1.1  | Paquete de trabajo  |          |             |
| 2.1.1.1.1  | Seleccionar los compuestos con mayor afinidad a los objetivos del proyecto (PVA, quitosano, alginato)   | 3 días   | 1.2.1.1.3   |
| 2.1.1.1.2  | Definir la metodología de encapsulamiento ya con las cepas de interés   | 5 días   | 2.1.1.1.1   |
| 2.1.1.1.3  | Caracterizar mediante pruebas por enfrentamiento  | 7 días   | 2.1.1.1.2   |
| 2.1.1.1.4  | En caso de obtener una prueba de concepto viables se generan los reportes necesarios a presentar  | 2 días   | 2.1.1.1.3   |
| <b>2.2</b>   | <b>Desarrollar un producto mínimo viable (PMV)</b>  |          |             |
| 2.2.1  | Desarrollo de prototipo(s) inicial(es)  |          |             |
| 2.2.1.1  | Paquete de trabajo  |          |             |
| 2.2.1.1.1  | Identificar los compuestos más afines para el desarrollo de un nuevo producto   | 2 días   | 2.1.1.1.4   |
| 2.2.1.1.2  | Analizar y caracterizar un PMV para evaluar áreas de oportunidad y buscar optimizaciones en la producción del mismo (Ing. económica e Ing. de procesos) | 14 días  | 2.2.1.1.1   |
| 2.2.1.1.3  | Generar los PNO's (proceso normalizado de operación) necesarios para la producción  | 6 días   | 2.2.1.1.2   |
| 2.2.1.1.4  | Presear los resultados obtenidos  | 3 días   | 2.2.1.1.3   |
| <b>3</b>   | <b>Desarrollo Ingeniería Económica</b>  |          |             |
| <b>3.1</b>   | <b>Análisis de costos directos</b>  |          |             |
| 3.1.1  | Costo materia prima   |          |             |
| 3.1.1.1  | Difinición de proceso de producción   |          |             |
| 3.1.1.2  | Cálculo de M.O  | 3 días   | 1.2.1.1.3   |
| 3.1.1.3  | Cotización equipos necesarios   | 5 días   | 2.1.1.1.1   |
| 3.1.1.4  | Obtención de costo por litro de producto  | 7 días   | 2.1.1.1.2   |
| 3.1.1.5  | TIR del proyecto  | 2 días   | 2.1.1.1.3   |
| <b>3.2</b>   | <b>Análisis de costos indirectos</b>  |          |             |
| 3.2.1  | Análisis de tamaño necesario de planta  |          |             |
| 3.2.1.1  | Costo indirectos de luz, agua etc.  |          |             |
| 3.2.1.1.1  | Análisis de costos extras u ocultos   | 2 días   | 2.1.1.1.4   |
| 3.2.1.1.2  | Determinación de gastos mensuales fijos   | 14 días  | 2.2.1.1.1   |
| <b>4</b>   | <b>Contacto grupos de interés</b>   |          |             |
| <b>4.1</b>   | <b>Contacto con grupos</b>  |          |             |
| 4.1.1  | Investigación de posibles contactos   |          |             |
| 4.1.1.1  | Investigación de fuentes  |          |             |
| 4.1.1.2  | Validación de problemática con grupos de interés  | 3 días   | 1.2.1.1.3   |
| 4.1.1.3  | Generar relación de confianza   | 5 días   | 2.1.1.1.1   |
| 4.1.1.4  | Mantener contacto para codiseño de producto   | 7 días   | 2.1.1.1.2   |
| 4.1.1.5  | Presentación de producto a los grupos de interés  | 2 días   | 2.1.1.1.3   |

**Figura 1.** Estructura desglosada de trabajo



- Desarrollo de propuesta de mejora

**Contacto a grupos de interés:** Se comenzó creando un catálogo de posibles grupos de interés de berries en Jalisco y alrededores, así como de aguacates en Jalisco y Michoacán, así como la creación de preguntas claves para el recabado de información. Se buscó empatizar con los grupos de interés llegando con un pensamiento jesuita con toda la disponibilidad de escuchar y aprender de los verdaderos conocedores del tema. Asimismo, con la información recabada por parte de los agricultores se comenzó la ideación de diferentes soluciones para tratar sus problemas y carencias, llegando a generar diferentes posibles ideas para su posterior prototipado y testeo.

Con esto definido, se estableció un diálogo con los agricultores para conocer sus necesidades y preocupaciones. A través de reuniones y llamadas, identificamos los principales desafíos que enfrentan los agricultores en el manejo de enfermedades en los cultivos y sus expectativas sobre el uso de productos de biocontrol.

A continuación, se muestran fotos de plagas en grupos de interés contactados interesados en el diseño y funcionamiento del producto.



**Figura 2.** Tomada en campo de producción de berries.

En estas fotos se muestra la validación de la problemática en los grupos de interés visitados, ya que, a lo largo de las llamadas y visitas, se pudo confirmar el interés mostrado por los agricultores. No solo esto, sino que se logró obtener una mejor perspectiva de la problemática y alcance.

**Pruebas experimentales:** A la par del contacto con los grupos de interés, se comenzó con la obtención de los insumos para el crecimiento de las cepas a usar a lo largo del proyecto (*B. subtilis*, *B. megaterium*, *T. harzianum*, *Fusarium oxysporum*, *Colletotrichum capsici*, *Alternaria alternata*.). De igual manera se estableció el producto Serenade ASO de Bayer (uso de *B. subtilis*) y TRI HB de Abiosa (uso de *T. harzianum*) como nuestra línea base y se comenzó con la investigación de metodologías para el futuro encapsulamiento de las cepas beneficiarias para los cultivos. Posterior a ello comenzaron pruebas de enfrentamiento *in vitro* tanto de las cepas crecidas *in vitro* como del producto línea base. A la par de los enfrentamientos *in vitro* se comenzó con la búsqueda de plantas modelo para enfrentamientos *in vivo*, con la esperanza de conseguir plántulas de tomate las cuales suelen tener un crecimiento relativamente rápido a comparación con otras plántulas, sin embargo, tras semanas de búsqueda conseguimos plántulas de fresas (35 total), posteriormente infectadas por grupos de cepas y repartidas entre el equipo.

**Generación de metodología de microencapsulamiento de cepas:** Una vez con metodologías de encapsulamiento investigadas, se comenzaron a evaluar las posibilidades y los diferentes compuestos que podríamos utilizar para lograr un encapsulamiento efectivo. Se comenzó encapsulando las cepas con maltodextrina-quitosano, alginato-quitosano, definiendo nuestra propia metodología con las cepas de interés y se desarrolló el prototipo inicial y las pruebas de enfrentamiento *in vivo*. Para desarrollar las pruebas se utilizó un secado por aspersión para obtener las microcápsulas las cuales serían caracterizadas posteriormente.

**Desarrollo de ingeniería económica, optimización y modelados:** Pasando las semanas, se comenzó el simulado y optimizado el proceso con la ayuda del software SuperPro Designer la cual más a futuro nos brindaría las herramientas necesarias para sustentar que el proyecto es viable respecto a la ingeniería financiera. Mientras tanto, se optimizaron los procesos de laboratorio como el medio, pruebas de azúcares, nitrógeno, cinéticas de las cepas, reformulación de compuestos para pasar de un macro encapsulamiento a un micro encapsulamiento y la propuesta de usar el secador por aspersión del CIATEJ para llegar a ello, así como el planteamiento del primer layout de la planta para el crecimiento, procesamiento, encapsulamiento y empaque del producto con la ayuda del software Flexsim.

**Inteligencia de mercados:** A la par de actividades de experimentación en laboratorio, optimización, etc. Se desarrolló la parte de inteligencia de mercados tomando en cuenta por su puesto al mercado mexicano. Para esto se inició haciendo un análisis de la demanda en el segmento de pequeños y medianos agricultores de hortalizas y berries, Jalisco siendo el principal productor de toneladas por año. Se catalogaron las competencias y sus precios y comenzó la búsqueda de información para la creación de un análisis PESTEL (*Político, Económico, Social, Tecnológico, Ambiental y Legal*) del mercado mexicano, concluyendo que México tiene potencial mercado presentando oportunidades y desafíos con sustento en todas las ramas que componen al PESTEL. Con los resultados se construyó un análisis competitivo para hacer más visual la rivalidad competitiva.

Posterior a estos análisis se creó una matriz de benchamrking comparando nuestro producto contra 3 del mercado (Serenade ASO de Bayer, TRI HB de Abiosa y Trisbutil), identificando el mercado meta correspondiente, diferenciadores, riesgos, etc. También se realizó un análisis VRIO (*Valor, Rareza, Imitabilidad y Organización*) donde pudimos analizar e identificar las ventajas y desventajas competitivas del producto. Por último, se desarrolló un modelo de negocio canvas para demostrar de manera más visual y dinámica el análisis y modelado global y simplificado del producto/empresa.

**Validación de solución por grupos de interés:** Se volvió a estar en contacto con los grupos de interés contactados para validar las soluciones a las que se llegaron, se realizaron más de 30 entrevistas donde se explicó los beneficios de cada una de las posibles presentaciones de nuestro producto, siendo la presentación en polvo la que más llamo la atención a los agricultores y la que en un futuro se convertirá en nuestro prototipo principal. Con estas interacciones nos dimos cuenta de la diferente visión, preparación y contexto que poseen los agricultores alrededor de la zona de Jalisco, por lo que el trabajo de campo seguirá siendo sumamente necesario para el desarrollo y mejoramiento de nuestras soluciones.

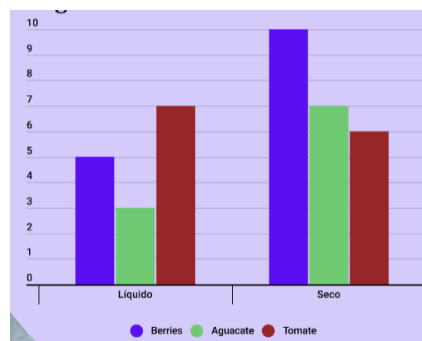
### 3. Resultados del trabajo profesional

#### A. Resultados del trabajo de campo

Se realizaron 2 principales interacciones con agricultores regionales de la Jalisco, alcanzando a generar más de 50 contactos con 15 de estos siendo contactos de confianza listos para otorgarnos el permiso de utilizar sus cultivos para las pruebas de campo, asimismo, se realizaron 3 visitas a diferentes campos de agricultores para poder empatizar de una manera mucho más directa con ellos. Con esto pudimos validar una cosa que todos los agricultores padecían, la alta incidencia de plagas, siendo las plagas de suelo las de mayor importancia debido a que la presencia de síntomas de estas plagas indica que en muchas ocasiones ya es demasiado tarde para el tratamiento de estas enfermedades, validando de este modo nuestra hipótesis inicial de la problemática.

Al poder validar la problemática se prosiguió a la generación de diferentes ideas de prototipo manteniendo como base el control biológico ya que este es una de las alternativas más viables para el control de plagas en suelo sin involucrar agroquímicos agresivos, se generaron y probaron estos prototipos para llegar a una solución en concreto.

Para validar esta solución se realizaron entrevistas a más de 30 agricultores para corroborar que la alternativa generada fuera de su agrado, obteniendo como resultado una grata sorpresa al escuchar a todos y cada uno de los agricultores entrevistados que estaban a bordo con la solución generada independientemente de la presentación de esta (líquido o polvo), de este modo validando la solución generada.



**Figura 2.1** Resultados a entrevistas a agricultores

## B. Resultados experimentales.

- a. Concentración y viabilidad celular de *B. subtilis*, *B. megaterium* y *T. harzianum* en MRS y MNM

Se realizaron diferentes experimentos para visualizar y poder comparar la viabilidad del medio no convencional generado a partir de malta cervecera gastada y nejayote para el crecimiento de las cepas de *Bacillus* (**Tabla 2**), para esto se tomo el medio de cultivo MRS como base debido a que es un medio altamente utilizado y estandarizado en la industria, se encontró que tanto nuestra producción como la viabilidad celular de las bacterias es menor a la línea base, por lo tanto, se concluye que el medio no convencional tiene un alto potencial una vez que se realicen las optimizaciones y estandarizaciones necesarias.

Asimismo, el hongo endófito a utilizar se creció solamente en la malta cervecera gastada previamente pasteurizada como única fuente de sustrato, se encontró una producción promedio para las esporas de *T. harzianum*. Se consideramos que el medio MNM no se optimizara, existen metodologías sencillas para realizar una concentración de las células obtenidas para aumentar la cantidad de microorganismo en el producto final y poder competir con los contratipos.

|                                  | MRS                  |                       | MNM                   |                       | Malta                |
|----------------------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------|
|                                  | <i>B. subtilis</i>   | <i>B. megaterium</i>  | <i>B. subtilis</i>    | <i>B. megaterium</i>  | <i>T. harzianum</i>  |
| <b>Concentración</b><br>[cel/mL] | 1.27x10 <sup>8</sup> | 8.76 x10 <sup>7</sup> | 9.89 x10 <sup>6</sup> | 7.85 x10 <sup>6</sup> | 1.3 x10 <sup>7</sup> |
| <b>Viabilidad</b><br>[UFC/mL]    | 2.3x10 <sup>7</sup>  | 1.21 x10 <sup>7</sup> | 3.25 x10 <sup>6</sup> | 7.85x10 <sup>5</sup>  | -                    |

**Tabla 2.** Evaluación de la concentración celular y viabilidad en los diferentes medios de cultivo para el consorcio propuesto

- b. Evaluación *in vitro* de la inhibición del consorcio frente a los hongos fitopatógenos.

A continuación, se muestran los diferentes ensayos de inhibición que se realizaron para corroborar la actividad antagonista de los microorganismos propuestos, el ensayo consiste en sembrar un hongo patógeno en medio de una placa Petri con medio de cultivo PDA, cultivarlo por 2 días y después sembrar los microorganismos antagonistas en 2 extremos opuestos de la caja, posteriormente se dejan crecer por un tiempo determinado para comparar el crecimiento contra los controles y determinar un porcentaje de inhibición.

Se concluyó que los microorganismos tienen una alta capacidad preventiva y correctiva de los hongos patógenos, cabe resaltar que los primeros experimentos de inhibición las cepas antagonistas y los hongos fueron sembrados al mismo tiempo y cultivados por 24h, encontrando una inhibición del 100% y no dando datos tan representativos, por lo tanto, se optó por esperar 2 días para la aplicación de los microorganismos. Una vez sabiendo que si existe esta actividad antagonista de nuestro consorcio, se procedió a realizar los ensayos en plantas.

i. Controles de hongos fitopatógenos

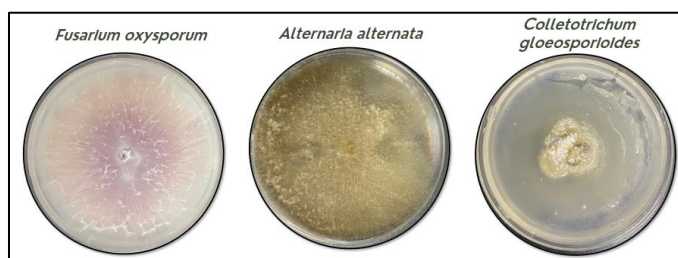


Fig 3. Controles de hongos fitopatógenos

ii. *Bacillus subtilis*

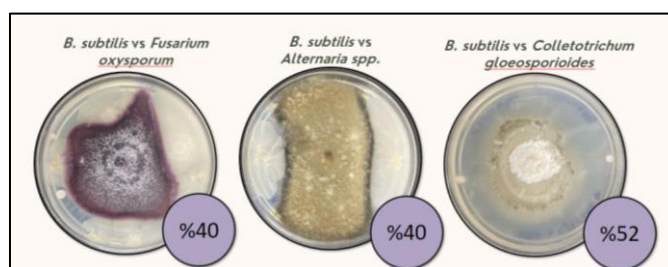
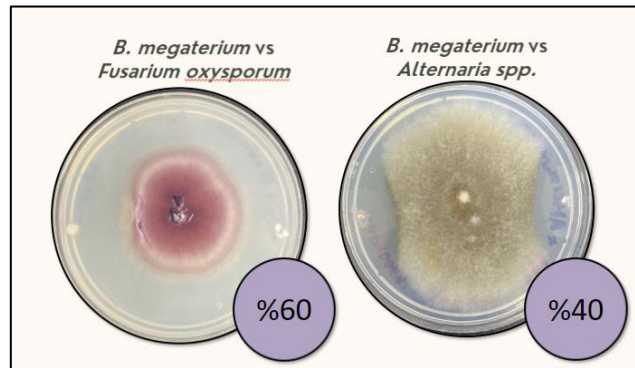


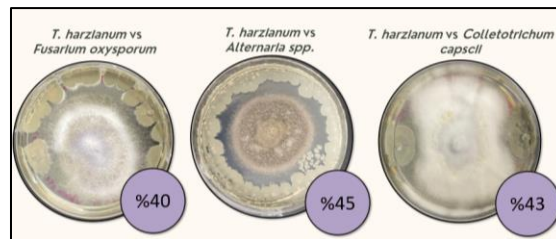
Fig 4. Ensayos de inhibición de *B. subtilis* vs. Hongos fitopatógenos

iii. *Bacillus megaterium*



**Fig 5.** Ensayos de inhibición de *B. megaterium* vs. Hongos fitopatógenos

iv. *Trichoderma harzianum*



**Fig 6.** Ensayos de inhibición de *B. megaterium* vs. Hongos fitopatógenos

c. Evaluación *in vivo* de la inhibición generada en plantas de Fresa.

Para realizar estos ensayos se buscaba evaluar la capacidad preventiva y sistémica de nuestro consorcio, para esto, se inocularon alrededor de 5mL de una solución de nuestro consorcio microbiano diluido 1:10mL una vez cada semana por 8 semanas, asimismo, los hongos fitopatógenos fueron inoculados a la segunda semana de comenzar el experimento, de este modo, esperábamos evaluar si nuestro consorcio inhibía el hongo y se obtenía una respuesta sistémica que mejorara la salud de la planta.

Como se puede observar en la **Figura 7**, los controles negativos (con los hongos patógenos) tuvieron la mayor afectación en las raíces, mientras que las plantas que fueron enfrentadas con los hongos y el tratamiento con el consorcio microbiano presentaron tanto una mejor calidad de la planta como una mejor calidad y densidad en las raíces. De este modo, comprobando nuestra hipótesis y demostrando la efectividad de nuestro producto en las plantas de fresa.



**Figura 7.** Evaluación *in vivo* del efecto del consorcio microbiano propuesto frente a diferentes patógenos en plantas de fresa

d. Optimización de medio de cultivo a partir de residuos agroindustriales.

Para la optimización del medio propuesta a partir de residuos agroindustriales se llevó a cabo un diseño de experimentos de superficie de respuesta, se obtuvieron las siguientes absorbancias después de que se dejara el crecimiento de microorganismos en los medios con diferentes concentraciones de melazas y sulfato de amonio.



**Tabla 3.** Diseño de experimentos de superficie de respuesta

| Concentración amonio (g/L) | Concentración carbohidratos (g/L) | OD <sub>600</sub> <i>B. megaterium</i> | OD <sub>600</sub> <i>B. subtilis</i> |
|----------------------------|-----------------------------------|--|--------------------------------------|
| 15                         | 12.5                              | 0.522                                  | 0.623                                |
| 7.5                        | 25                                | 0.709                                  | 0.785                                |
| 15                         | 25                                | 0.270                                  | 0.126                                |
| 7.5                        | 12.5                              | 0.142                                  | 0.114                                |
| 0                          | 12.5                              | 0.235                                  | 0.32                                 |
| 0                          | 0                                 | 0.182                                  | 0.289                                |
| 0                          | 25                                | 0.206                                  | 0.266                                |
| 7.5                        | 0                                 | 0.190                                  | 0.108                                |
| 15                         | 0                                 | 0.020                                  | 0.009                                |

Con estos datos se obtuvieron las gráficas de superficie de respuestas y gracias a el diseño se logró optimizar la concentración de sulfato de amonio y de carbohidratos en el medio para cada microorganismo. Los resultados del medio optimizado quedaron de la siguiente manera.

| Microorganismo       | Concentración sulfato de amonio (g/L) | Concentración carbohidratos (g/L) |
|----------------------|---------------------------------------|-----------------------------------|
| <i>B. Subtilis</i>   | 7.87                                  | 21.69                             |
| <i>B. Megaterium</i> | 10.56                                 | 25.00                             |

**Tabla 4.** Resultados optimización convencional.

- e. Comparación de las tasas de crecimiento ( $\mu_{max}$ ) para el medio no convencional y su respectiva optimización

Una vez con el medio optimizado se procedió a realizar una cinética microbiana para encontrar y comparar las diferentes tasas de crecimiento de las cepas que crecerán en los medios líquidos y de este modo poder concluir se vale la pena esta optimización.

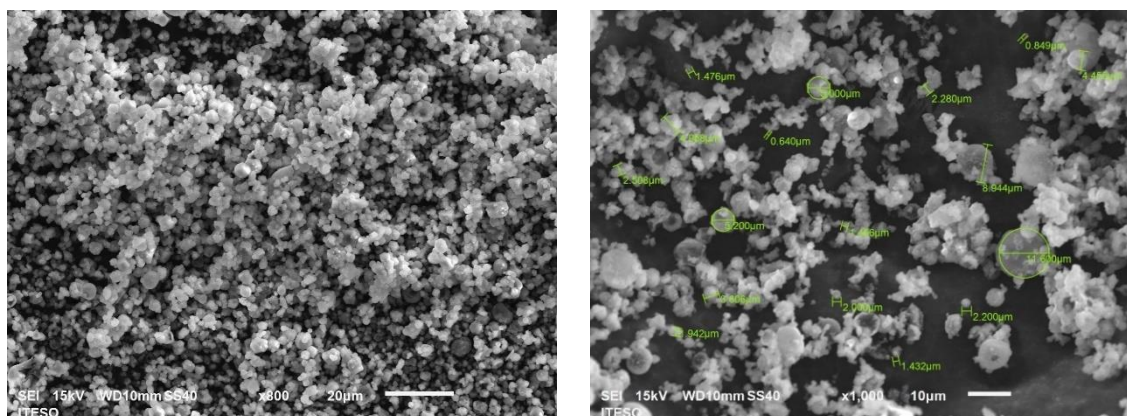
Al tratar los datos crudos obtenidos de las cinéticas se encontró que en ambas existía más del 35% de mejora, por lo tanto, se concluye que la optimización y el uso de melazas como una fuente extra de sustrato.

| Tasas de crecimiento             | <i>B. subtilis</i>    | <i>B. megaterium</i>  |
|----------------------------------|-----------------------|-----------------------|
| Medio no convencional            | 0.092 h <sup>-1</sup> | 0.05 h <sup>-1</sup>  |
| Medio no convencional optimizado | 0.205 h <sup>-1</sup> | 0.125 h <sup>-1</sup> |

**Tabla 5.** Comparación de las tasas de crecimiento de las cepas crecidas en medio convencional y no convencional

f. Generación y caracterización de las microcápsulas de maltodextrina-quitosano.

Para generar y presentar nuestro prototipo final, se optó por solo generar microcápsulas de nuestro consorcio microbiano en una matriz de maltodextrina-quitosano a partir de un secado por aspersión. Con el fin de caracterizar el tamaño y morfología se realizó una microscopía por electrónico de barrido (**Fig 8.**). Con esta información gráfica podemos corroborar que el secado y la encapsulación se realizó correctamente obteniendo un tamaño de partículas con un promedio menor a 5µm.



**Figura 8.** Imágenes obtenidas del microscopio electrónico de barrido de las microcápsulas del consorcio microbiano.

Por otra parte, se realizaron diferentes pruebas que, según la literatura, nos indican la estabilidad de las capsulas a lo largo del tiempo aún sin pruebas de vida de anaquel acelerada, al comparar nuestros resultados de actividad de agua, solubilidad y humedad con la bibliografía encontramos que los resultados obtenidos son sumamente similares, indicando

que los experimentos fueron realizados con existe, además, de otorgar una potencial vida de anaquel de más de 500 días.

| Parámetros               | M1               | M2               | Literatura<br>(Fritzen, et al. 2012) |
|--------------------------|------------------|------------------|--------------------------------------|
| Tamaño de partícula (µm) | 2.650 ± 2.377    | 3.3663 ± 3.040   | 14.45± 3.96                          |
| Actividad de agua        | 0.251 ± 0.002    | 0.298 ± 0.003    | 0.263± 0.007                         |
| Solubilidad (s)          | 294.660 ± 16.850 | 312.770 ± 21.312 | 332.37±20.27                         |
| Humedad                  | 2.85 %           | 3.7 %            | 2.81 %                               |
| Tasa de supervivencia    | 83.5 %           | 73%              | -                                    |

**Tabla 6.** Caracterización y propiedades de las microcápsulas generadas

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

##### 4.1. Aprendizajes Profesionales

###### 4.1.1. Jorge Morfin.

Durante el proyecto de aplicación profesional generé competencias con las que no contaba anteriormente o no estaba desarrolladas en su totalidad. En este semestre desarrollé habilidades blandas que no tenía tan presentes en mi vida.

Estas habilidades blandas como el trabajo en equipo, la comunicación asertiva y el liderazgo jesuita no las tenía anteriores al PAP. Durante este proyecto aprendí a desarrollarlas de mejor manera y tener mejor comunicación con los que me rodean para tener un buen avance en los objetivos que se buscan cumplir. Desarrollé mi parte de resolución de problemas con mis conocimientos y como implementar la solución que se necesita dar en el momento.

Aprendí en todo momento lo que está pasando en el campo del cultivo de berries, aprendí cuáles son sus problemáticas, como están actualmente posicionados en el país y como dependen ellos del gobierno estadounidense y la empresa que exporta su producto, sobre todo

aprendí como algo que les descuadre la cosecha puede hacer que truene el cultivo y ya no puedan seguir comprando semillas para seguir sembrando.

Dentro de estos aprendizajes puedo decir que me puse a prueba de la mayoría de los conocimientos de mi carrera, sobre todo como buscaba innovar en el campo, tuve que realmente ponerme a pensar y buscar la forma en innovar. Una vez teniendo la forma, también me tuve que retar a mi mismo el diseño de los procesos y conocimientos de diseño de equipos y plantas, tuve que ir adquiriendo conocimientos para poder generar lo que se buscaba al final.

#### 4.1.2. David Martínez.

A lo largo del semestre logré pulir y adquirir demasiadas habilidades blandas y duras. Primero, sobre mis habilidades blandas aprendí a mejorar mi comunicación efectiva con mi equipo y con los maestros y asesores, así como con los grupos de interés, la adaptabilidad a tiempos de laboratorio y visitas fuera de la ciudad a agricultores, empatía con los grupos de interés, así como con mis compañeros de equipo y una autodisciplina para lograr los objetivos planteados para cada uno.

Aprendí bastante sobre el mercado mexicano y su posicionamiento, el cultivo y todo lo que rodea a las berries y sus cuidados para obtener un buen rendimiento de producción y como los agricultores y sus ventas dependen meramente del mercado internacional y las regulaciones de cada país.

Por último, tuve un aprendizaje bastante amplio técnico y de conocimientos con base biotecnológica y química. El ir a laboratorio y preguntar que era cada aparato que usábamos y su nombre, el para que funcionaba lo que estábamos haciendo y los pasos posteriores a pruebas y experimentos me hizo interesarme mucho en lo que rodea el ir a laboratorio y lo que implica estar ahí. De igual manera aprendí el uso y aplicaciones de un software con el que no estaba familiarizado y todas las herramientas que este puede traer, así como volver a usar un software ya conocido por mi para armar el layout de la posible planta.

Todo lo aprendido me pone los pies bastante bien sobre la tierra de como son los pasos para llevar a cabo un proyecto profesional y como en la vida solamente llegarás lejos y serás

exitoso con la disponibilidad de dialogar, comprender al otro y buscar soluciones en conjunto que beneficien a todos.

#### 4.1.3. Raúl Soto.

En el transcurso del proyecto se necesitó aplicar distintas competencias conforme los requerimientos para afrontar las adversidades que se presentaban; en cuestión de las habilidades de profesión, se requirió la de generar una metodología de investigación confiable para llegar a los objetivos propuestos para el proyecto, esto mediante la investigación y desarrollo que conlleva el método científico. Asimismo, se necesitó mejorar tanto habilidades blandas como duras a la hora de llevar a cabo un proyecto que fue realizado en co-diseño con distintas disciplinas; el posicionarte en ese contexto que asemeja a la vida laboral, hace que te vayas adaptando a las distintas situaciones que se puedan presentar.

En cuestión de las competencias que se desarrollaron a lo largo del semestre, se abre otro rubro para las habilidades que se clasifican hacia otras disciplinas. Se requirió que realizáramos distintas tareas que involucraban conocimientos con los que no cuenta alguien con el perfil de biotecnólogo. Debido a las pruebas que realizamos, utilizamos equipos como el microscopio electrónico de barrido (SEM) de los laboratorios de Ing. En nanotecnología del ITESO, así como elaborar distintos métodos de organización con los que se definió la planeación del proyecto, junto con las formas de escalamiento y llevar a cabo los costos de los procesos.

Al ser la agricultura un área tan importante para el desarrollo humano es un deber como biotecnólogo buscar alternativas que favorezcan a la regeneración de nuestro ambiente. Al buscar estas alternativas se está consciente de lo que se puede hacer para generar otro tipo de impacto positivo con la inspiración de la alternativa previa, por lo que el buscar ese tipo de soluciones en pro de la sustentabilidad es una parte fundamental para resolver los problemas

del contexto en el que vivimos. Para mi proyecto de vida profesional, me interesa ir conociendo esas soluciones o alternativas que propone la biotecnología para mejorar nuestro ambiente a la par que se produce una remuneración económica por el impacto positivo que se está generando.

Los saberes ingenieriles puestos a prueba a lo largo de este proyecto se basaron principalmente en recordar y reforzar las técnicas que se ven durante la carrera, esto en cuestión de las habilidades dentro de laboratorio. El tener la necesidad de ir resolviendo distintas situaciones, generó también la necesidad de investigar las mejores formas de aplicar nuestros conocimientos para llegar al mejor resultado.

#### 4.1.4. Adolfo Arteché.

Como ingeniero en biotecnología que lidero este proyecto puedo decir que se han desarrollado un sinnúmero de nuevas habilidades y competencias como la capacidad de trabajar en un equipo, la manera de comunicar ideas de manera efectiva, el pensamiento crítico y retórico, y la capacidad de resolver problemas complejos. También se desarrollaron y pulieron competencias de la profesión, como la capacidad de diseñar y llevar a cabo proyectos de base biotecnológica, la comprensión y aplicación de técnicas anteriormente no conocidas, la capacidad de analizar y sintetizar información compleja y la capacidad de aplicar principios éticos y regulatorios en la investigación y desarrollo de procesos y productos biotecnológicos.

En un gran número de ocasiones, nuestra profesión nos orienta a trabajar solamente en el laboratorio para el desarrollo de nuevos productos o soluciones, sin embargo, en el presente proyecto se cultivaron distintas competencias en los campos sociopolítico y económico, en este caso se concretó la importancia de la innovación de soluciones sostenibles en función de un sector vulnerable de la población mexicana como lo son los pequeños y medianos agricultores, asimismo, se estableció la importancia de una comunicación efectiva y continua con el público y los reguladores.

Como ingeniero en biotecnología y agente de cambio social, se estableció la importancia de la innovación sostenible y respetuosa con el medio ambiente en la industria agroalimentaria, así como la colaboración interdisciplinaria, la comunicación efectiva con los sectores de interés y la importancia de la ética y la responsabilidad social en la investigación y desarrollo de proyectos biotecnológicos.

#### 4.2 Aprendizajes sociales

A lo largo de este proyecto se fueron teniendo diferentes aprendizajes, de los diferentes tipos de aprendizajes que tuvimos los sociales fueron de los que más marcaron al equipo a lo largo del proyecto. Este equipo desde que se formó siempre tuvo espíritu emprendedor social, esto referido a que todos los integrantes buscábamos poder innovar en algo que trajera beneficio a la sociedad, no solo a nosotros. Ahora que el proyecto se acaba podemos decir que esto fue algo que siempre movió al proyecto y es parte de la razón que se obtuvieran buenos resultados al final.

Nosotros pudimos desplegar nuestras ideas de transformación desde un inicio y entre todos encontramos una problemática que nos llamara y que creímos poder aportar una solución biotecnológica al problema. Pudimos generar un producto que toma en cuenta a los grupos afectados y los jalamos al diseño del producto en todo momento, aprendimos a tenerlos cerca todo el tiempo y a preguntarles siempre si íbamos por el buen camino, esto para innovar conscientemente con ellos y no desviarnos a obtener algo que no les impactara a ellos de forma positiva.

Pudimos innovar en la manera en que se diseñan productos para los productores de hortalizas en el estado, tomando en cuenta a los agricultores en todo momento y diseñar el producto a sus necesidades, de la misma manera se pudo innovar en darle nueva utilidad a algo que se pensaba desecho y reutilizarlo en algo que ayude a alguien más. Cumpliendo dos objetivos, el de darle un nuevo uso a desechos y utilizarlos para generar un producto más económico que aporte a otro giro totalmente distinto.

Este impacto que está teniendo en el estado es a largo plazo, ya que nuestro producto a largo plazo va a ayudar a los agricultores en Jalisco a posicionarse a nivel mundial como los principales productores de berries en el mundo. Ayudándolos a reducir el costo de crecimiento y como prevención de sus cosechas.

Este proyecto apenas va empezando, se busca que a la larga tenga un gran impacto en la zona y que no solo se quedé en un proyecto PAP, sino que se está buscando crecer el proyecto y que llegue a más partes de la república. También se busca que se generen más productos que aumenten el valor del campo mexicano sin dañarlo, como las alternativas que antes se tenían.

#### 4.3 Aprendizajes éticos

A lo largo de este proyecto se tuvieron que ir tomando decisiones para ir formando el proyecto y dándole rumbo para llegar a donde queríamos llegar. Se tuvieron que ir tomando decisiones serias como a que grupo de agricultores se iba a apoyar. Se decidió empezar con las berries al ser el cultivo en mayor crecimiento en la región y que está cobrando mayor importancia a nivel mundial, también se tomó la decisión de apoyar en este momento a esas personas al descubrir que la mayoría de los agricultores de estos productos son pequeños y medianos agricultores que pidieron créditos para poder empezar y que necesitan la mayor ayuda posible para que sus cultivos salgan adelante y puedan seguir generando trabajos y creciendo la importancia del país en el mundo.

Esta experiencia nos marca a seguir innovando con y para los demás, nos invita a buscar problemáticas que tengan que ver con justicia social y que siempre vayan enfocadas a ayudar a alguien, si encontramos soluciones a problemáticas que tengan repercusiones en las personas que más lo necesitan seguiremos haciendo un gran trabajo de innovación y emprendimiento. Nos lanza a seguir el proyecto y no dejarlo en donde queda este PAP, sino que nos invita a buscar hasta donde tiene que llegar nuestra solución y no hasta donde queremos que llegue, estamos comprometidos a seguir buscando alternativas y a seguir generando productos que ayuden a nuestros grupos de interés.



Después de esta experiencia aprendimos que todo lo aprendido en la carrera debemos de utilizarlo para causar un bien mayor en nuestra sociedad, que todo lo que aprendimos a lo largo de la carrera sirva que nosotros sirvamos a los demás y podamos compartir los frutos del conocimiento encaminado en un buen camino. Por lo que así ejerceremos nuestras profesiones, siempre orgullosos de como lo aprendimos y lo que haremos con eso, buscando siempre ir más allá en todo lo que hagamos.

#### 4.4 Aprendizajes en lo personal

##### 4.4.1 Jorge Morfin

El PAP que llevé este semestre me ayudo a conocer varias cosas de mí, me ayudo a ver por donde quiero llevar mi perfil personal y profesional, esto debido a que en el proyecto logré ver todos los ámbitos que se necesitaron para llevarlo a cabo y decidir cuales me gustan más y cuales me gustan menos. Me ayudó mucho a conocer a todas las personas que se necesitan para que un proyecto salga adelante y a poder conocer a las personas que se dedican a cultivar las hortalizas en nuestro estado, ya que no hubiera habido manera en que yo las conociera de no ser por adentrarme gracias al PAP.

Aprendí que necesito vivir en pluralidad si quiero llegar a tener proyectos importantes en mi vida, porque sin la pluralidad no se pueden llegar a cosas que generen alto impacto en nuestra sociedad. Esto también lo aprendí para mi proyecto personal de vida, rodearse de personas que piensen igual que yo y estén buscando siempre el bien de la sociedad como proyecto primordial.

##### 4.4.2 David Martínez

Este proyecto de aplicación profesional me ayudó bastante para conocer mis aptitudes más fuertes y los logros que quiero tener a futuro. Me hizo tener una visión más clara de mi persona y de cómo puedo reaccionar a situaciones que me ponen a prueba tanto personales como profesionales y esto mismo me ayudó a reconocer al otro y a la sociedad en general,

ampliando mi entendimiento de otras perspectivas, contextos, situaciones personales, educaciones, maneras de pensar, etc. Esto mismo aplica en la convivencia de pluralidad y diversidad que se tuvo en el equipo, al ser de diferentes carreras, cada uno tenía sus propias expectativas y objetivos, los cuales a pesar de no haber sido los mismo a los míos, logré abrir mi mente para entender él porque del otro y sus reacciones, dejándome más tranquilo y abierto a situaciones futuras, sin guardar resentimientos, enojos, contradicciones o cosas por el estilo.

De igual manera, yo al estar en contacto directo con los grupos de interés, me involucré directamente con la comunidad o sociedad de las berries y aprendí de sus necesidades, preocupaciones y puntos de vista respecto al mercado y sus alcances, ayudándome a tomar decisiones más informadas para enriquecer el proyecto y mi persona. Todo esto se suma en un gran aprendizaje para mi proyecto de vida con bases como la identificación de habilidades, fortalezas y debilidades, gestión de mi tiempo y organización, colaboración en equipo y apertura a aprender, resolución de problemas y toma de decisiones individuales y en conjunto así como desarrollo de la creatividad y de la innovación, todo esto permitiéndome a pensar dentro y fuera de la caja para crear un compromiso y perseverancia ante todo lo que se me presente y me proponga hoy y a futuro.

#### 4.4.3 Raúl Soto Echevarría

El proyecto que se llevó a cabo hizo darme cuenta del rumbo que quisiera tomar para mi vida profesional, el generar soluciones que aporten para el beneficio del ambiente es el deber que siento como biotecnólogo; así también, el convivir con distintas áreas dentro de un mismo entorno en busca de un bien común son habilidades que se tienen que mejorar para poder mejorar como profesionista. El tema tratado en este proyecto es uno ya muy hablado durante las últimas décadas, ya que el impacto que han generado los agroquímicos y la agricultura intensiva en nuestro planeta es un tema muy delicado para tratar si se quiere seguir con nuestro ambiente como lo conocemos. El biocontrol y distintas áreas de la biotecnología me hacen interesarme sobre qué otras soluciones pudieran existir y cómo pudiera aplicar eso para los distintos intereses.

Estas habilidades desarrolladas también me hacen querer aprender más sobre las invenciones que se pudieran realizar en pro de la sustentabilidad, y, por lo tanto, de la humanidad; y sobre cómo las pudiera realizar desde el área en el que estoy interesado, como lo es la biotecnología marina aplicada a la acuicultura.

También me muestro interesado en temas agrícolas al ser proveniente de uno de los estados con más impacto en agricultura a nivel nacional, por lo que mezclar los temas agrícolas con acuícolas me genera ganas de poder influenciar positivamente en ese ámbito.

#### 4.4.4 Adolfo Arteche Torres

Uno de los principales conocimientos y habilidades que se trabajaron y pulieron a lo largo de este proyecto de aplicación fue el liderazgo, habilidad muy poco trabajada en mi persona pero que a sido necesaria en más de una ocasión, de mismo modo, en este proceso se aprendió que no existe un solo liderazgo para el desarrollo de proyectos o para la comunicación entre el equipo de trabajo. Asimismo, otro aprendizaje desarrollado es la adaptabilidad frente a situaciones externas e incertidumbre dentro del proyecto, habilidad que fue fundamental para lograr los objetivos del proyecto en tiempo y forma.

Con las herramientas utilizadas en el PAP no solo para los experimentos en laboratorio, sino que para el desarrollo y validación de problemática y solución ayudo a contextualizarme en un ámbito sociopolítico y ético para otorgar la solución adecuada y en base a las necesidades de nuestros grupos de interés. Asimismo, esta etapa me dio a conocer la accesibilidad y el compañerismo que existe en academia para el desarrollo de proyectos, gracias al apoyo que se tuvo no solo de los maestros de la asignatura, sino que existió un apoyo por parte de diferentes departamentos de la institución, como el Laboratorio de Nanotecnología ITESO o los Laboratorios de Alimentos ITESO para la obtención de resultados esenciales para el proyecto.

Al concluir con esta etapa de PAP quedo entusiasmado para el futuro, ya que el poder formular una idea desde cero y llevarla a cabo para generar una invención la cual podrá

apoyar a un sector vulnerable me motiva a seguir con mi formación y continuar con esta etapa de invención de soluciones sostenibles de base biotecnológica.

## 5. Conclusiones

- La utilización de residuos como medio de cultivo para producir agentes de biocontrol demuestra una ética ecológica y una responsabilidad social con el medio ambiente, valores que son fundamentales en la doctrina jesuita. Es fundamental mencionar que la reutilización de residuos y su transformación en un producto beneficioso para la agricultura también tiene un impacto positivo en la economía y el bienestar social de las comunidades locales.
- El trabajo en colaboración con los productores de berries y comercializadores de productos agrobiológicos es un ejemplo de la importancia de la solidaridad y el trabajo en equipo, valores que son fomentados por la doctrina jesuita. Este proyecto demuestra que la cooperación entre diferentes actores del sector agrícola es esencial para el desarrollo de soluciones sostenibles y socialmente responsables. Además, la colaboración con la industria permite que la innovación científica tenga un impacto más amplio y llegue a los consumidores finales.
- La microencapsulación en matriz de maltodextrina y quitosano, secado por aspersión, demuestra una búsqueda de excelencia y calidad en la investigación científica, valores que son promovidos por la doctrina jesuita. La aplicación de tecnologías innovadoras y de vanguardia es esencial para el desarrollo de soluciones sostenibles y la mejora continua de los procesos científicos. Además, el uso de técnicas avanzadas para la producción de biocontroladores aumenta la eficacia y la estabilidad del producto, lo que a su vez beneficia a los agricultores y al medio ambiente.

Además de estas conclusiones, es importante destacar que este proyecto contribuye al fortalecimiento de la seguridad y la soberanía alimentarias en México. La producción de hortalizas libres de plagas y la reducción del uso de agroquímicos son fundamentales para la salud pública y el bienestar social. También es importante mencionar que la investigación y

desarrollo de soluciones sostenibles y socialmente responsables es un compromiso de la universidad jesuita mexicana con su entorno y con la sociedad en general.

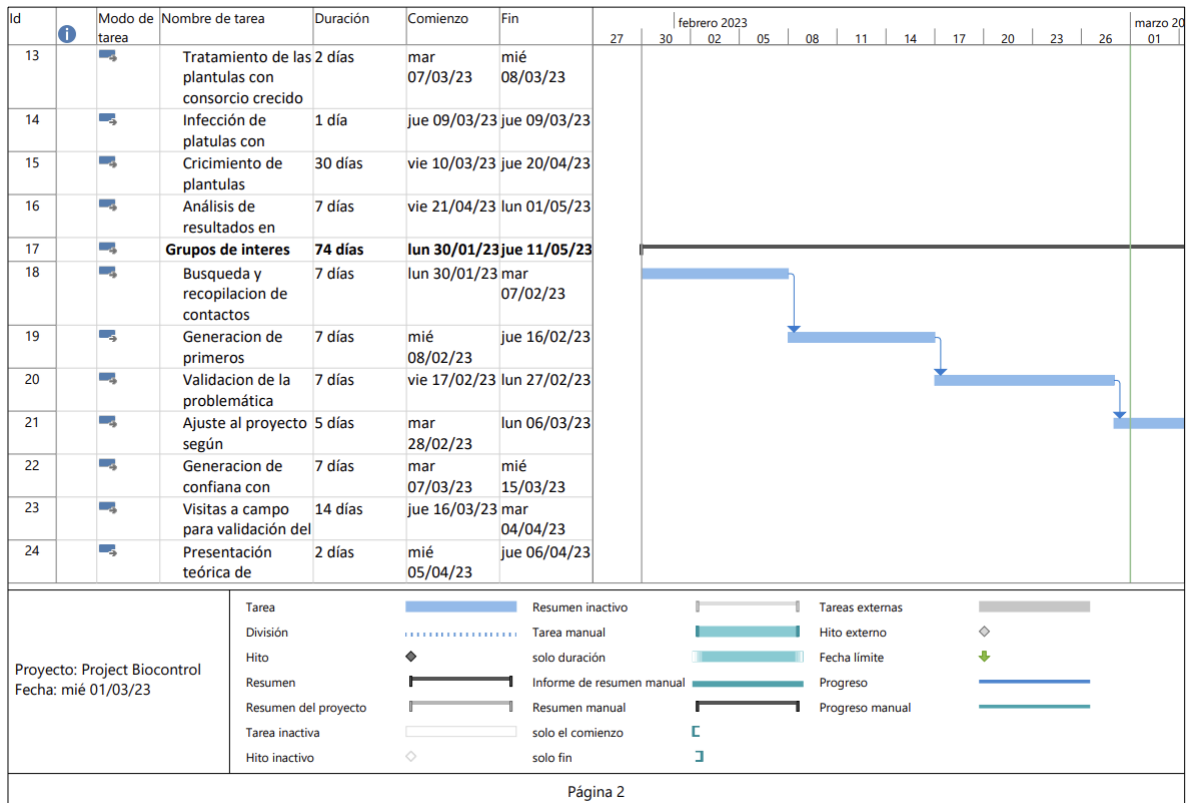
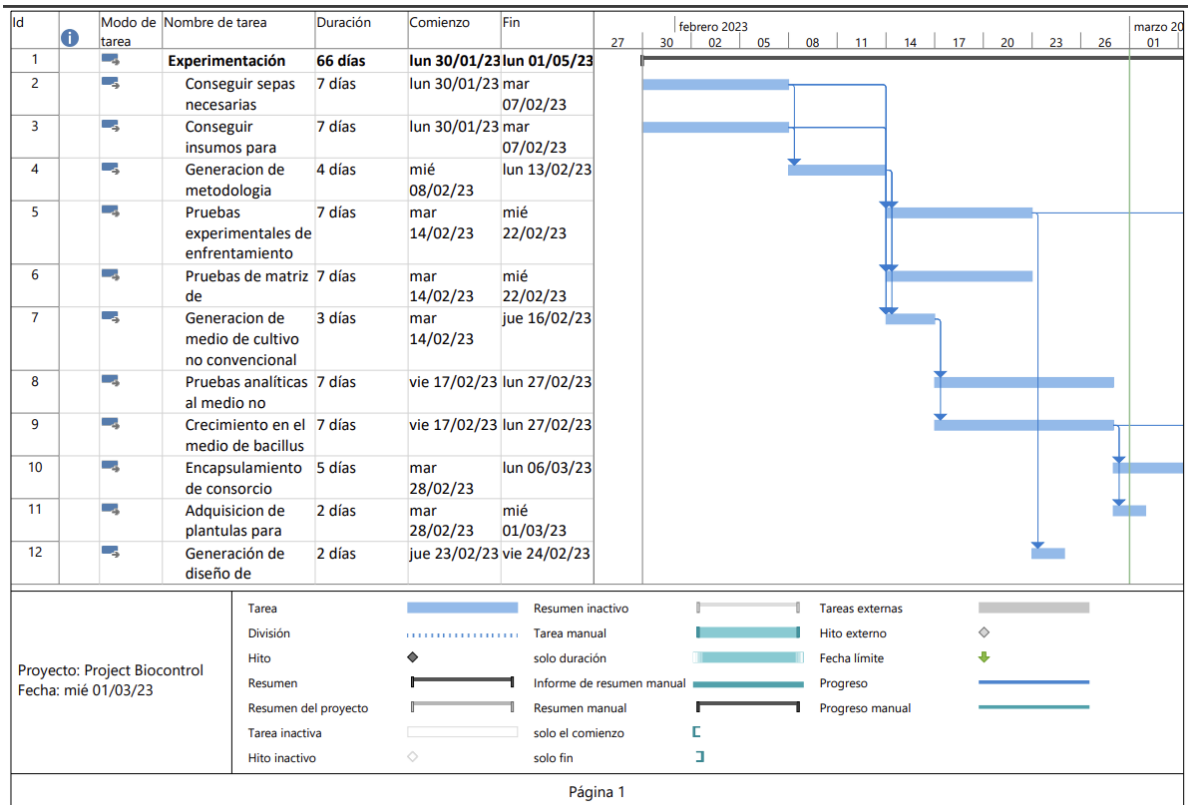
## 6. Bibliografía

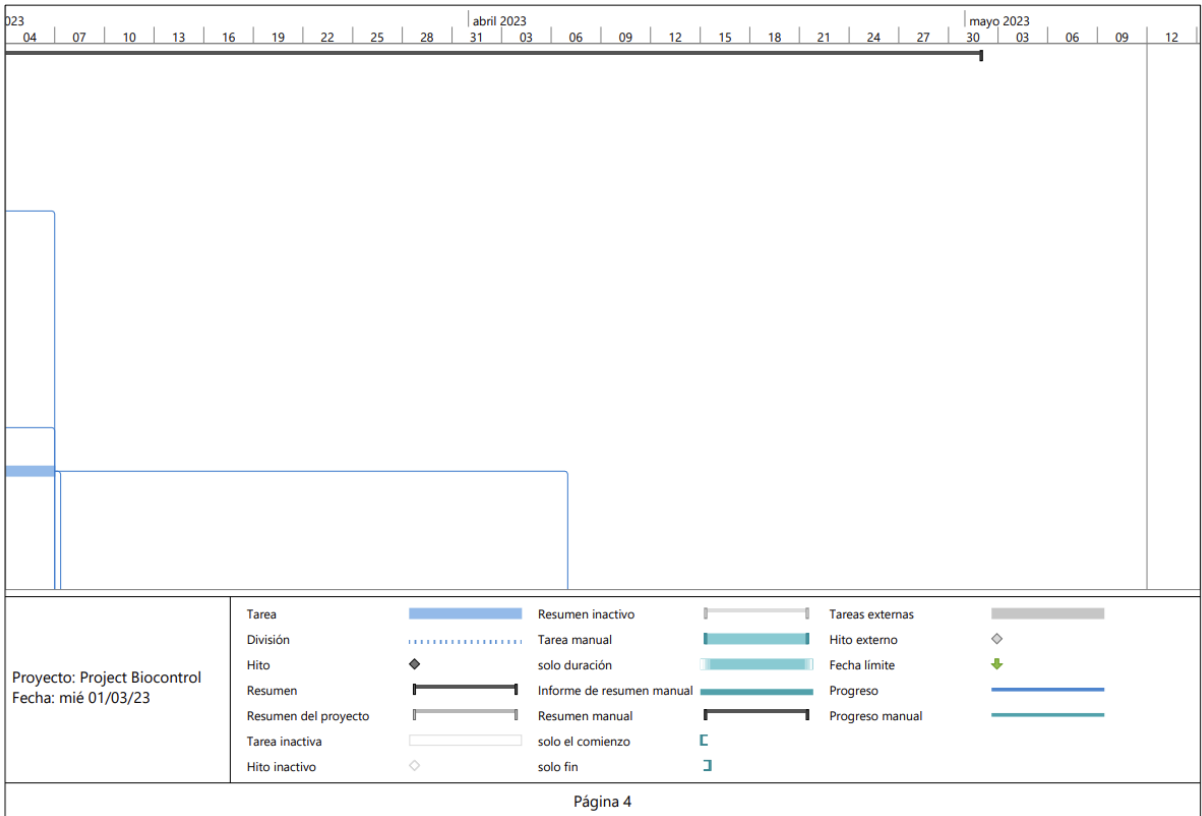
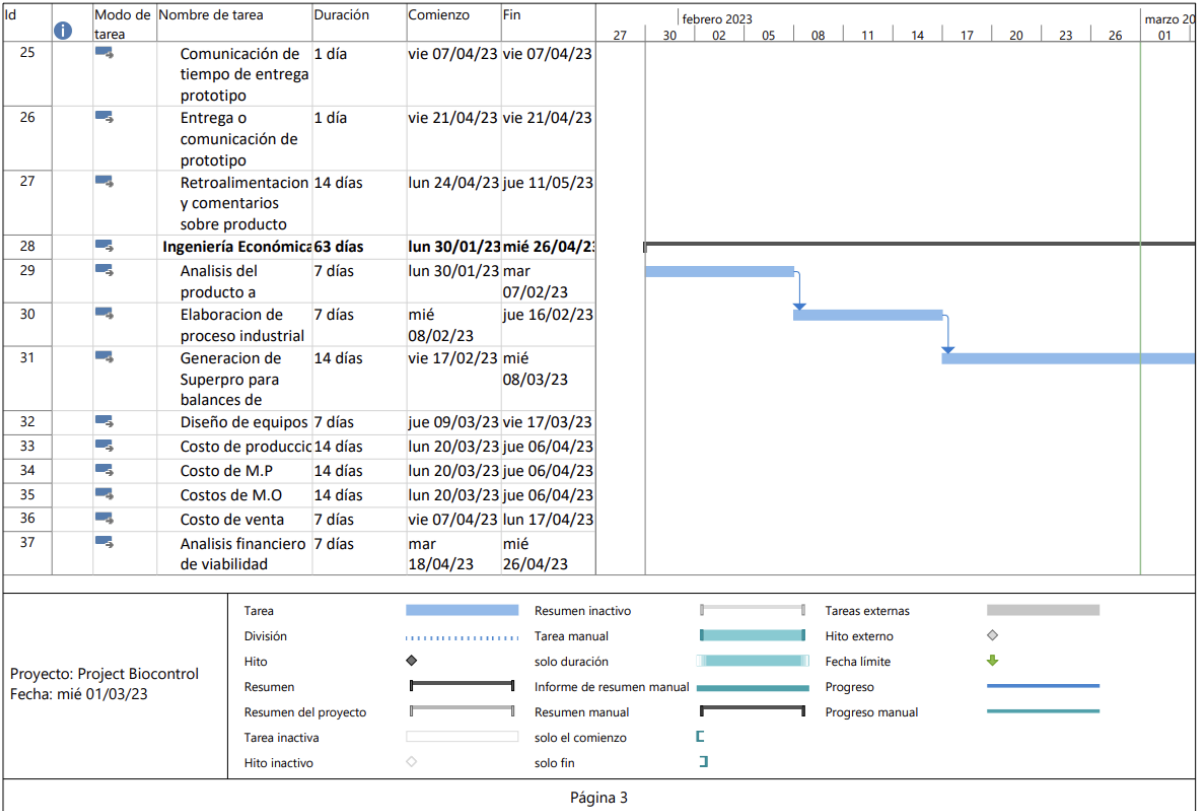
- Carrillo, A (2021). Inmersión alcalina: Método efectivo para la desinfección de pajas usando cal. Mi cosecha. Fungicultura profesional. Recuperado de: <https://www.micosecha.cl/post/inmersi%C3%B3n-alcalina-m%C3%A9todo-efectivo-para-la-desinfecci%C3%B3n-de-pajas-usando-cal>
- Da Silva, R., De Oliveira, C., Dos Santos, V., & De Menezes, C. (2015). Influence of sugarcane molasses on growth of *Bacillus subtilis* and *Bacillus megaterium*. *Annals of Microbiology*, 65(2), 981-987.
- Díaz-Montes, E., Castro-Muñoz, R., & Yáñez-Fernández, J. (2016). An overview of nejayote, a nixtamalization by product. *Ingeniería Agrícola y Biosistemas*, 8(2), 41-60. <http://dx.doi.org/10.5154/r.inagbi.2016.03.002>
- fermentation: a review. *Bioresour. Bioprocess.* 5, 1 (2018). <https://doi.org/10.1186/s40643-017-0187-z>
- Fernández, Y. D. V., Alemán, E. M. S., & García, R. M. (2012). Melazas: fuente de nutrientes y antioxidantes. *Revista de la Facultad de Agronomía*, 29(1), 31-40.
- Gaitán-Hernández, R., Salmones, D., Pérez-Merlo, R., & Mata, G. (2006). Manual práctico del cultivo de setas: aislamiento, siembra y producción. Instituto de Ecología, AC, Xalapa, México.
- González-Rocha, G., Rendón-Ramírez, A., Cruz-Sosa, F., & Plascencia-Jatomea, M. (2017). Microencapsulation of *Trichoderma harzianum* in a maltodextrin matrix by spray-drying. *Journal of Microencapsulation*, 34(6), 561-570. <https://doi.org/10.1080/02652048.2017.1381502>
- González-Rocha, G., Santos-López, E. M., García-Almendárez, B. E., Bautista-Rosales, P. U., & Martínez-Ruiz, A. (2017). Microencapsulation of *Trichoderma harzianum* in a hydrogel matrix: viability and formulation optimization. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 16(2), 505-514. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1665637117301045>
- Gupta, R., Mathur, N., & Bajpai, P. K. (2015). Optimization of medium composition for the production of *Trichoderma harzianum* using molasses as carbon source. *Journal of Microbiology and Biotechnology Research*, 5(2), 10-15.
- Lewis, J. A., & Papavizas, G. C. (1991). Biocontrol of plant diseases: the approach for tomorrow. *Crop protection*, 10(2), 95-105.
- Mahari, W. A. W., Peng, W., Nam, W. L., Yang, H., Lee, X. Y., Lee, Y. K., ... Lam, S. S. (2020). A
- Quintero, J. C., Feijoo, G. C., & Lema, J. M. (2006). Producción de enzimas ligninolíticas con hongos basidiomicetos cultivados sobre materiales lignocelulósicos. Obtenido de *Revista de la facultad de química farmacéutica*: <http://www.scielo.org.co/pdf/vitae/v13n2/v13n2a08.pdf>
- review on valorization of oyster mushroom and waste generated in the mushroom cultivation industry. *Journal of Hazardous Materials*, 123156. doi: 10.1016/j.jhazmat.2020.123156

- Rodríguez, A. T., Dávila, J. F. R., Siclán, M. L. S., Vildózola, Á. C., Zamora, F. I. M., & Díaz, A. V. L. (2020). Distribución espacial de antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz) en aguacate en el Estado de México, México. *Revista argentina de microbiología*, 52(1), 72-81.
- Sadh, P.K., Duhan, S. & Duhan, J.S. Agro-industrial wastes and their utilization using solid state  
 Sahu, A. K., Pramanik, K., Mishra, S. R., & Dubey, R. C. (2020). Microencapsulation of *Bacillus megaterium* in maltodextrin using spray drying and freeze drying: a comparative study. *Journal of Microencapsulation*, 37(6), 534-546.  
<https://doi.org/10.1080/02652048.2020.1818822>
- Sahu, A. K., Pramanik, P., & Basak, P. (2020). Microencapsulation of *Megaterium*: Enhanced shelf life and storage stability. *International Journal of Biological Macromolecules*, 147, 546-556.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.12.157>
- Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. (2017). Maíz Grano Blanco y Amarillo Mexicano. Recuperado de:  
[https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/256429/B\\_sicoMa\\_z\\_Grano\\_Blanco\\_y\\_Am\\_ arillo.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/256429/B_sicoMa_z_Grano_Blanco_y_Am_ arillo.pdf)
- Shivaji, S., Rao, N. S., Saisree, L., Shyamala, R., & Singh, S. (2009). *Bacillus megaterium* strain BRS55: an effective biocontrol agent against tomato spotted wilt virus. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 116(5), 193-198.
- Torkashvand, M., Sharafi, H., Mousavi, S. M., & Asadzadeh, M. (2018). Microencapsulation of *Bacillus subtilis* in alginate-maltodextrin matrix using spray drying technique. *Journal of Applied Microbiology*, 125(2), 565-575. <https://doi.org/10.1111/jam.13923>
- Torkashvand, M., Sharafi, H., Mousavi, S. M., & Asadzadeh, M. (2018). Microencapsulation of *Bacillus subtilis* in alginate-maltodextrin matrix using spray drying technique. *Journal of Applied Microbiology*, 125(2), 565-575. <https://doi.org/10.1111/jam.13923>
- Zhao, H., Zhang, X., Lu, X. (2018). Advances in polysaccharide-based bionanocomposites for food packaging applications. *Trends in Food Science & Technology*, 71, 120-132.  
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.11.015>

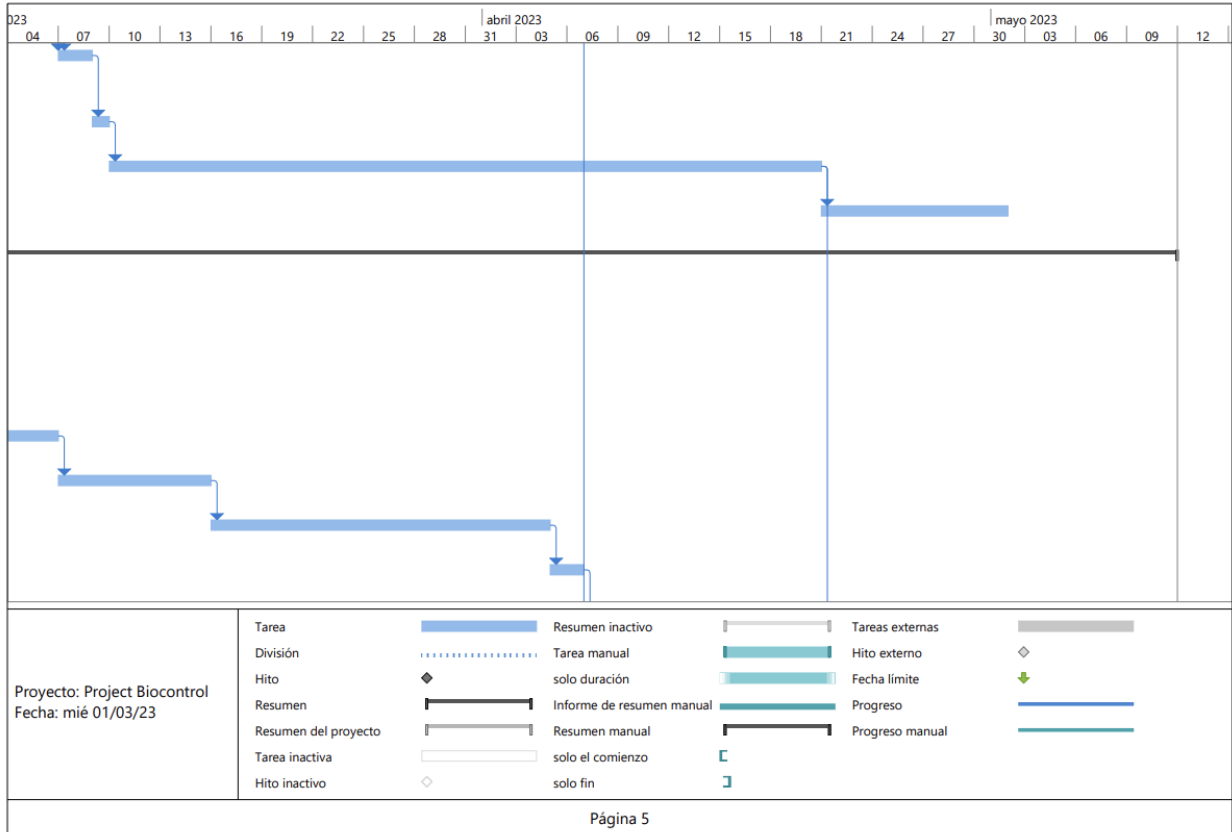
Anexos (en caso de ser necesarios)

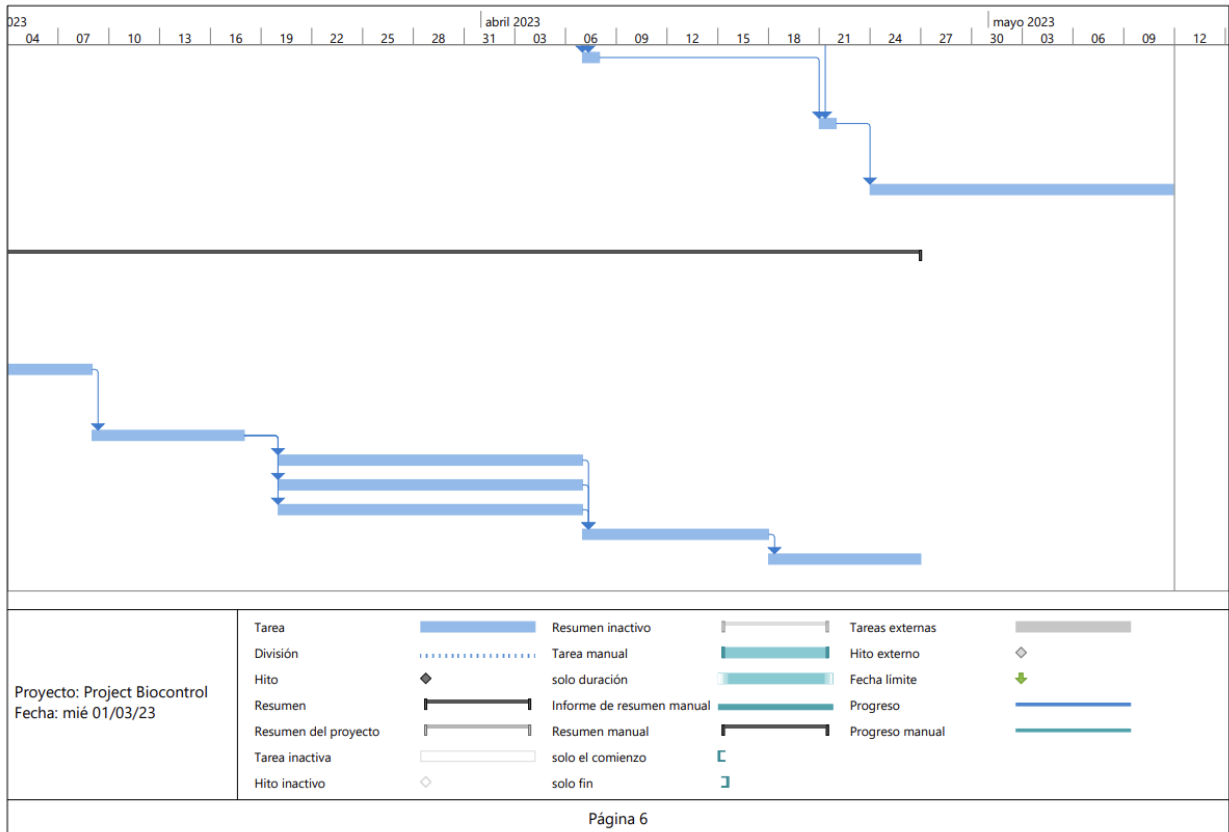
Anexo 1. Cronograma de actividades (MS Project)











Anexo X. Gráficas resultados diseño de experimento de superficie de respuesta.

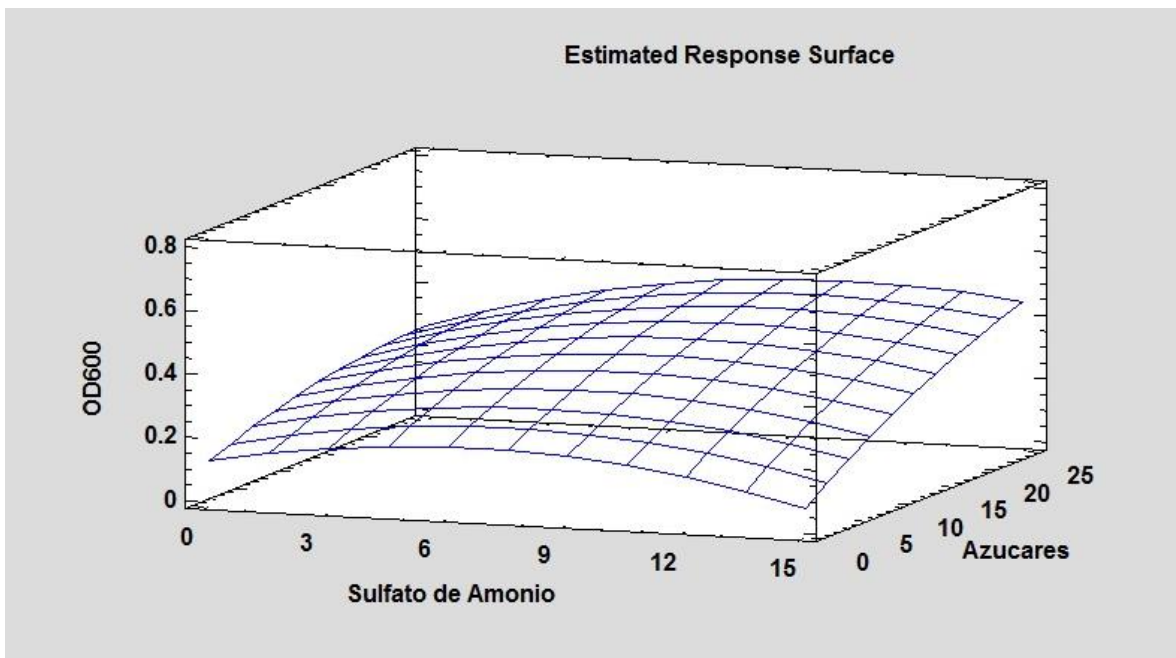


Figura. Superficie de respuesta optimización de medio *B. Megaterium*

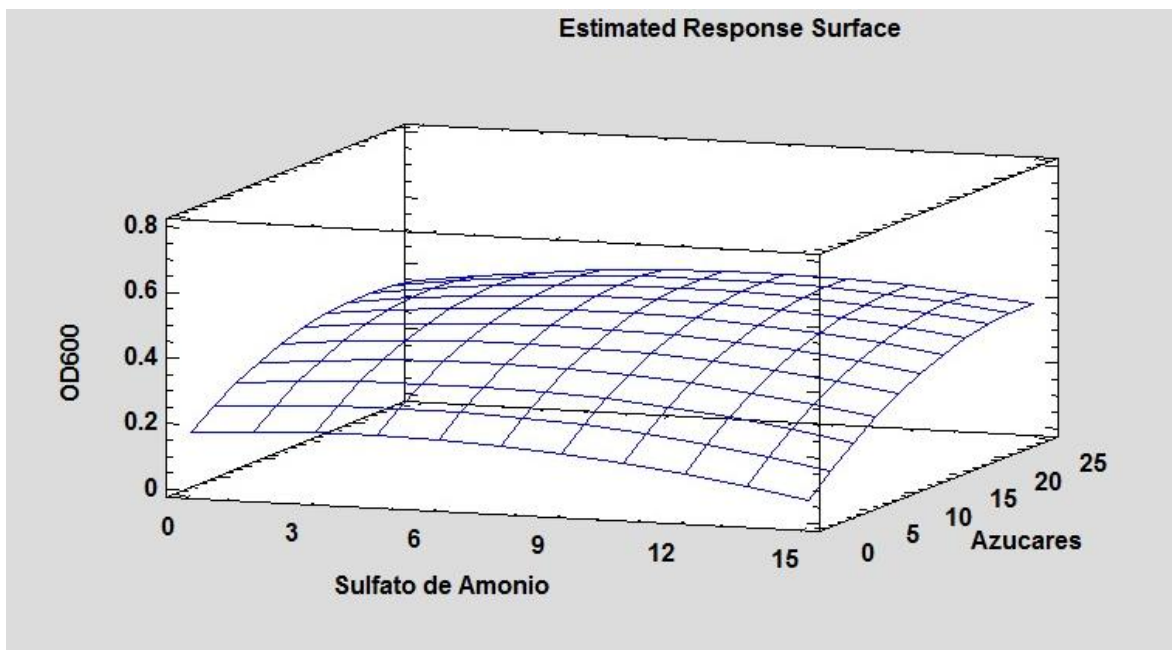


Figura. Superficie de respuesta optimización de medio *B. Subtilis*.



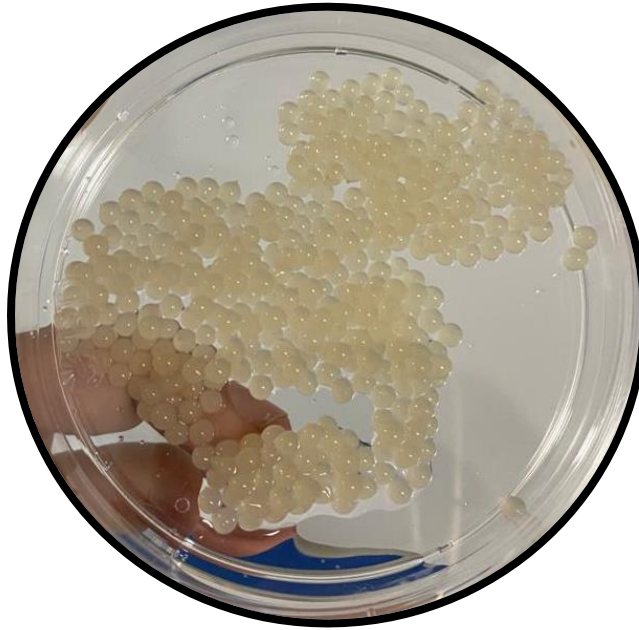
Anexo X. Serenade ASO de Bayer



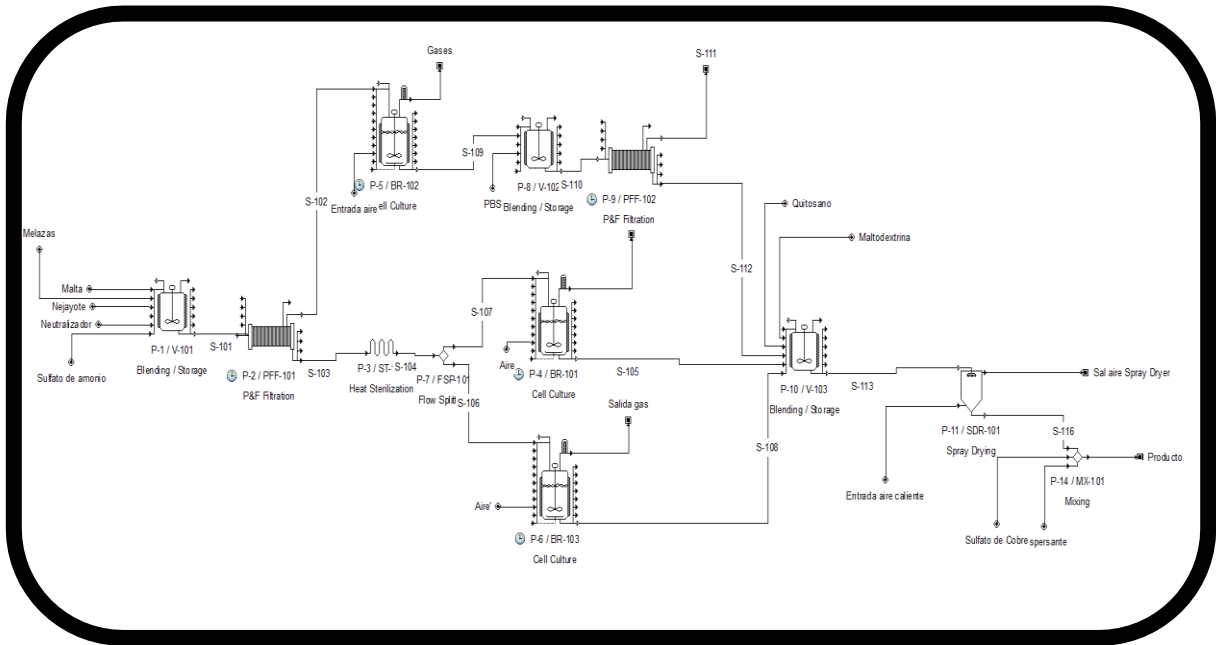
Anexo X. TRI HB de Abiosa



## Anexo X. Plántulas de fresa



## Anexo X. Prototipo inicial macro capsulas



## Anexo X. Escalamiento SuperPro Designer

|                                  |            |               |
|----------------------------------|------------|---------------|
| <b>Inversión inicial</b>         | 9,230,818  | <b>Dls</b>    |
| <b>Utilidad anual</b>            | 16,456,282 | <b>Dls</b>    |
| <b>Costo de producción</b>       | 7.53       | <b>Dls/kg</b> |
| <b>Precio de venta</b>           | 13.00      | <b>Dls/kg</b> |
| <b>Margen de utilidad</b>        | 42.06      | <b>%</b>      |
| <b>ROI</b>                       | 61.19      | <b>%</b>      |
| <b>Período de Recuperación</b>   | 0.63       | <b>años</b>   |
| <b>Valor Presente Neto (10%)</b> | 27,724,276 | <b>años</b>   |

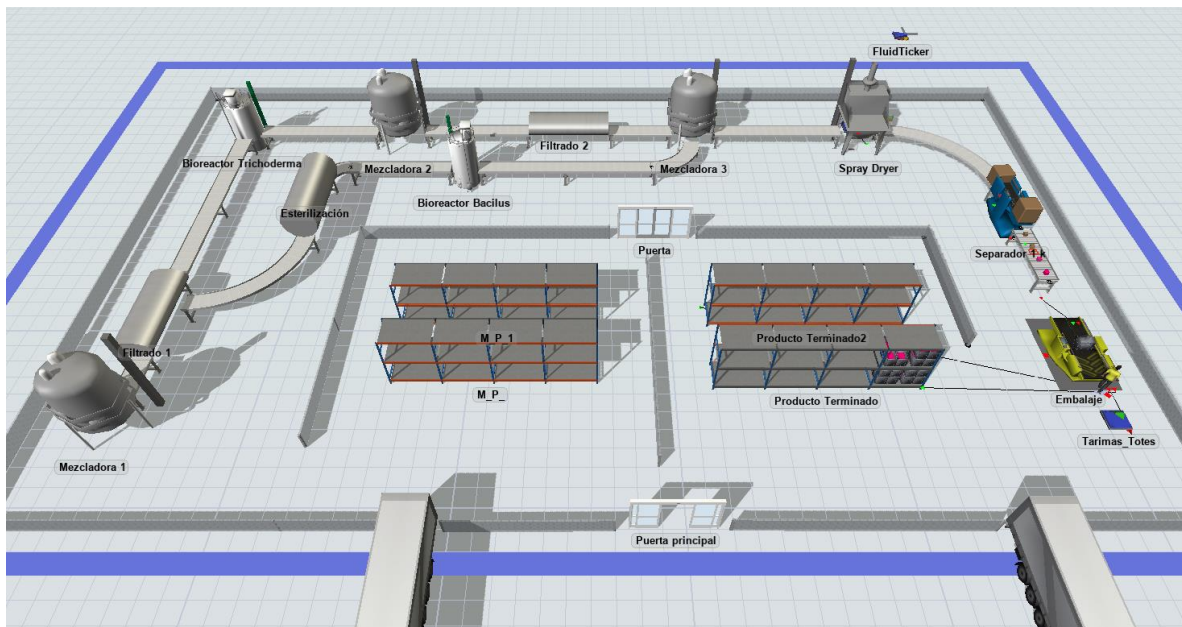
Anexo X. Ingeniería Financiera SuperPro Designer

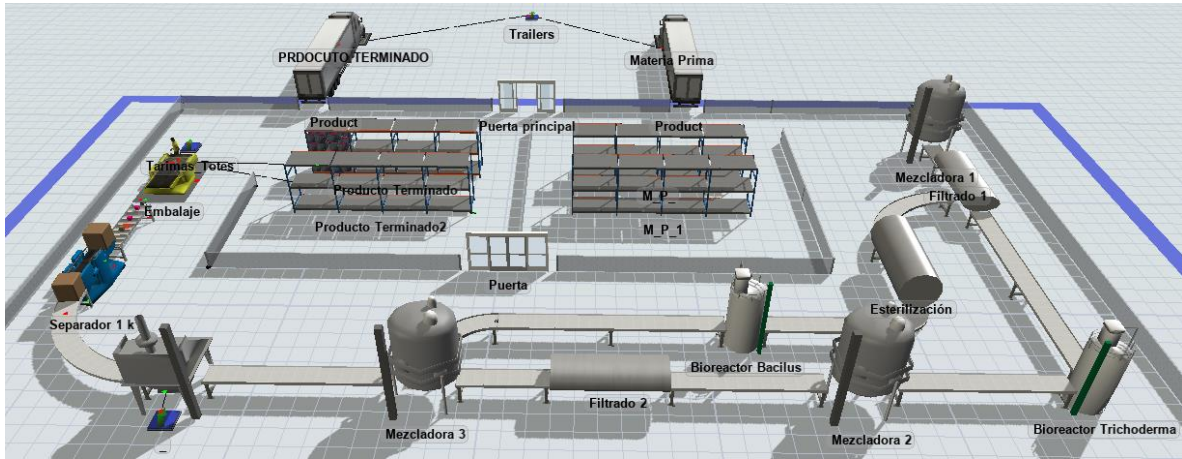


Anexo X. Prototipo final micro capsulas



Anexo X. Secado por aspersión CIATEJ



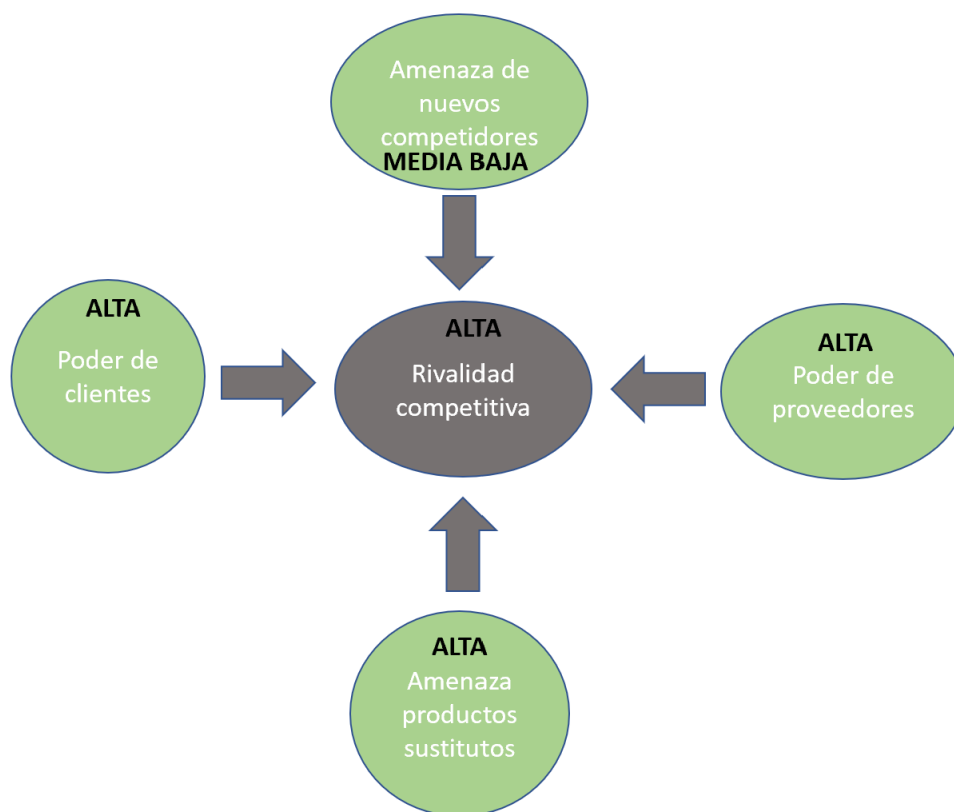


Anexo X. Layout Flexsim diferentes ángulos



Anexo X. Análisis PESTEL





Anexo X. Análisis competitivo

| Proyecto /Empresa | Producto /Proceso | Mercado meta                  | Mértio innovador-diferenciación | Forma de uso o aplicación | Medios de distribución           | Tipos de presentación | Riesgos identificados            |
|-------------------|-------------------|-------------------------------|---------------------------------|---------------------------|----------------------------------|-----------------------|----------------------------------|
| PAP               | Producto          | Agricultores hortalizas PYMES | Malta, Nejayote, medio y        | En el suelo o foliar      | Mayoristas/ minoristas           | Bolsa 1 k             | Viabilidad                       |
| Bayer/ Serenade   | Producto          | Agricultores varios           | Amplio espectro de control      | Foliar                    | En línea, mayoristas/ minoristas | Botella 1 L           | No combate enfermedades de suelo |
| ABIOSA / TRI HB   | Producto          | Agricultores varios           | 45°C max                        | En el suelo               | Mayoristas/ minoristas           | Bolsa 1 k             | Vida de anaquel                  |
| TRISUBTIL         | Producto          | Agricultores varios           | 2 cepas de trichodermas         | En el suelo o foliar      | En línea, mayoristas/ minoristas | Bolsa 1 k y 300 g     | Residuos sólidos grandes         |

Anexo X. Matriz de benchmarking



Anexo X. Modelo de negocio canvas