

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO



Escuela Superior de Apan

TESIS DE LICENCIATURA

Caracterización Físicoquímica del Lactosuero para la Formulación Óptima de Medios de Cultivo

**Para obtener el título de
Licenciada en Ingeniería en Biociencias**

P R E S E N T A
Jessica Ortiz López

Director de tesis
Dr. Pablo Antonio López Pérez

Co-Directora de tesis
Dra. Emma Gloria Ramos Ramírez

Apan, Hidalgo, México a 07 de noviembre del 2025





Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo

Escuela Superior de Apan

Campus Apan

Número de control: ESAP-023/2025

Asunto: Autorización de impresión de tesis

Jessica Ortiz López

P.D.L.I.B.C.

PRESENTE

Por este medio le comunico que, el jurado asignado a la pasante de la Licenciatura en Ingeniería en Biociencias **Jessica Ortiz López** (351850), a quienes les presentó el trabajo para su titulación en la modalidad de tesis con el título "**Caracterización Físicoquímica del Lactosuero para la Formulación Óptima de Medios de Cultivo**", después de la revisión ha autorizado la impresión.

A continuación, se presentan las firmas de conformidad de los miembros de este jurado:

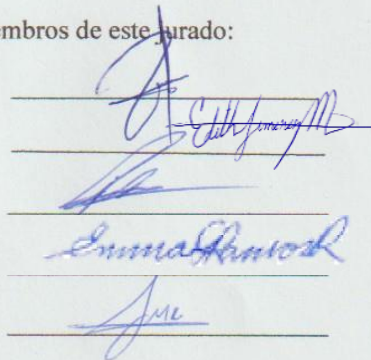
PRESIDENTE: Dr. Aldo Christiaan Jardínez Vera

SECRETARIO: Dra. Edith Jiménez Muñoz

PRIMER VOCAL: Dr. Pablo Antonio López Pérez

SEGUNDO VOCAL: Dra. Emma Gloria Ramos Ramírez

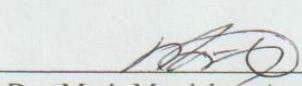
SUPLENTE: Ing. Ma. Rafaela Mohedano Juárez



ATENTAMENTE

"Amor, Orden y Progreso"

Chimalpa, Apan, Hgo., México a 7 de noviembre de 2025.


Dra. María Magdalena Armenta
Coordinadora de Ingeniería en Biociencias



"Amor, Orden y Progreso"



2025



Carretera Apan - Calpulapan Km. 8, Colonia Chimalpa
Tlalayote, Apan, Hidalgo, México C.P. 43900
Teléfono: 7717172000 Ext. 50901
esap@uaeh.edu.mx

uaeh.edu.mx

Dedicatoria

Este trabajo va dedicado con todo cariño a mis padres, el Sr. Isidro Ortiz Mascote y la Sra. Bertha López Aguirre y a mi hermana Nancy Ortiz López, que a lo largo de mi vida me han brindado su amor incondicional.

Agradecimientos

A mis padres por brindarme su apoyo para estudiar y concluir mi carrera universitaria, por sus palabras de aliento y por creer en mí, son mi mayor orgullo e inspiración y un gran ejemplo de vida, agradezco a mi hermanita Nancy Ortiz López por ser mi confidente, mi compañera y la persona con quien comparto mis alegrías y tristezas, gracias por estar en mi vida, los amo

A mi familia y amigos que me han visto crecer, por su apoyo, su preocupación, sus palabras de aliento y consejos, gracias por ser parte de este logro.

A mis amigos y compañeros de la Escuela Superior de Apan por los momentos que compartimos en la universidad, deseo que tengan mucho éxito, una vida plena y que cumplan con sus metas profesionales y personales, los aprecio mucho y les deseo lo mejor siempre.

A los doctores catedráticos del programa de Ingeniería en Biociencias por su labor compartiendo sus conocimientos y experiencias, guiando el aprendizaje de las ciencias biológicas, además de inspirarme a seguir adelante en mi formación profesional y laboral.

Al Dr. Pablo Antonio López Pérez por haber sido mi guía para la elaboración de este trabajo, por su apoyo, paciencia y comprensión.

Al Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV-IPN) Unidad Zacatenco especialmente al Departamento de Biotecnología y Bioingeniería por haberme permitido realizar mis prácticas profesionales en sus instalaciones, lo que permitió el desarrollo de esta tesis

Agradezco especialmente a la Dra. Emma Gloria Ramos Ramírez por permitirme desarrollar mi proyecto durante mi estadía en su laboratorio, por su guía en mis prácticas profesionales y por hacerme sentir parte de su grupo de trabajo, también agradezco al equipo de trabajo del laboratorio 28, Pilar Méndez y Alejandro Aranda, por su paciencia y su apoyo constante en la realización mis prácticas y a mis compañeros Yinian, Martha y Pablo, fue una experiencia de mucho aprendizaje.

Resumen

La Economía Circular promueve el desarrollo sostenible reintroduciendo residuos agroindustriales como materias primas valiosas, aprovechando su disponibilidad, bajo costo y alto contenido de biomoléculas (Anaya Villalpanda, 2025). En este contexto, el objetivo central de este trabajo fue valorizar el lactosuero, un subproducto clave de la producción de queso, utilizándolo directamente como un sustrato de enriquecimiento en medios de cultivo para el crecimiento de microorganismos de interés biotecnológico. Inicialmente, se realizó la caracterización fisicoquímica de dos muestras de suero de leche dulce (SL1 y SL2) proporcionadas por la empresa Prounilac, determinando cuantitativamente parámetros clave como pH, porcentaje de ácido láctico, lactosa, humedad, lípidos y proteínas mediante métodos basados en Normas Oficiales Mexicanas (NOM). Posteriormente, se evaluó el crecimiento de cuatro microorganismos seleccionados en cinco formulaciones sólidas diferentes que combinaban medio artificial con distintas proporciones de lactosuero líquido. El Análisis Descriptivo de Frecuencias (para cuantificar el porcentaje de éxito de crecimiento, resultado binario) validó que, si bien el medio artificial sin lactosuero (T1) ofreció el mejor crecimiento general, las formulaciones con lactosuero impactaron diferencialmente el desarrollo celular. Los resultados confirmaron un efecto promotor significativo en tres de los cuatro microorganismos ensayados: *Pichia anomala*, *Lactobacillus rhamnosus* y *Trichoderma harzianum*. El mayor porcentaje de éxito se concentró en las formulaciones con concentraciones de lactosuero menores o iguales al 50% (T2 y T3), lo que indica que estas diluciones fueron estadísticamente eficaces para estimular el desarrollo de *L. rhamnosus* y *P. anomala*. Por el contrario, las formulaciones con altas concentraciones (T4 al 75% y T5 al 100%) registraron un porcentaje de éxito notablemente inferior, limitando el crecimiento. La única excepción fue la levadura *P. anomala*, que demostró ser la cepa más robusta, manteniendo un crecimiento abundante hasta las 96 horas en la totalidad de las formulaciones, siendo capaz de utilizar el lactosuero como sustrato único. Se concluye que, dada su rica composición nutricional y la evidencia de su desempeño como sustrato efectivo en diluciones menores al 50% para cepas clave (*L. rhamnosus* y *T. harzianum*), el lactosuero es una materia prima viable y prometedora para ser empleada eficazmente como fuente de carbono para la producción de biomasa celular y metabolitos de relevancia industrial.

Palabras clave: residuos agroindustriales, lactosuero, economía circular, sustentabilidad, caracterización fisicoquímica, medio de cultivo, microorganismos

Abstract

The circular economy promotes sustainable development by reintroducing agro-industrial waste as valuable raw materials, making use of their availability, low cost and high biomolecular content (Anaya Villalpanda, 2025). In this context, the main aim of this study was to utilize whey, a key by-product of cheese production, as a direct enrichment substrate in culture media for the growth of biotechnologically relevant microorganisms. Initially, physicochemical characterization was performed on two sweet milk whey samples (SL1 and SL2) provided by Pronilac. Key parameters such as pH, lactic acid percentage, lactose, moisture, lipids and proteins were quantitatively determined using methods based on Mexican Official Standards (NOM). Subsequently, the growth of four selected microorganisms was evaluated in five different solid formulations combining artificial media with various liquid whey proportions. Descriptive frequency analysis (used to quantify the growth success rate as a binary outcome) showed that, although the artificial medium without whey (T1) promoted the best overall growth, the formulations with whey had a differential impact on cell development. The results confirmed a significant promoting effect in three of the four microorganisms tested: *Pichia anomala*, *Lactobacillus rhamnosus* and *Trichoderma harzianum*. The highest success rate was found in formulations with whey concentrations of less than or equal to 50% (T2 and T3), indicating that these dilutions were statistically effective in stimulating the development of *L. rhamnosus* and *P. anomala*. In contrast, formulations with high concentrations (T4 at 75% and T5 at 100%) recorded a significantly lower success rate, which limited growth. The only exception was the yeast *P. anomala*, which proved to be the most robust strain. It maintained abundant growth up to 96 hours in all formulations and was able to use whey as a sole substrate. In conclusion, given its rich nutritional composition and evidence of performance as an effective substrate at dilutions of less than 50% for key strains such as *L. rhamnosus* and *T. harzianum*, whey is a promising and viable raw material for the effective production of cellular biomass and industrially relevant metabolites.

Key words: agro-industrial waste, whey, circular economy, sustainability, physicochemical characterization, culture medium, microorganism

Índice

Dedicatoria	2
Agradecimientos	3
Resumen	4
Abstract	5
Lista de figuras.....	9
Lista de tablas	10
1. INTRODUCCIÓN.....	11
2. ANTECEDENTES.....	12
2.1 Definición de agroindustria.....	12
2.1.1 Industria del queso y la leche	12
2.1.1.1 Elaboración de queso fresco y madurado.....	14
2.2 Definición de residuo agroindustrial.....	16
2.2.1 Tipos de residuo agroindustrial	17
2.2.3 Lactosuero o suero de leche	19
2.2.3.1 Caracterización fisicoquímica del lactosuero.....	20
2.2.4 Impacto ambiental del lactosuero.....	24
2.3 Valorización y procesamiento de lactosuero	24
2.3.1 Sustrato para medios de cultivo	27
2.3.2 Producción de ácido láctico	28
2.3.2.1 Química.....	30
2.3.2.1 Biotecnológica	30
2.3.3 Uso en la industria alimentaria.....	31
2.3.4 Obtención de materiales y otras sustancias de interés.....	32
2.3.5 Obtención de biocombustibles	32
2.4 Importancia de los microorganismos en la industria biotecnológica	32
2.4.1 <i>Escherichia coli</i>	33
2.4.1.2 Aplicaciones y beneficios	34
2.4.2 Bacterias ácido lácticas (BAL).....	34
2.4.2.1 Características generales	34
2.4.2.3 Aplicaciones y beneficios	36
2.4.2.2 <i>Lactobacillus rhamnosus (L.rhamnosus)</i>	36
2.4.3 <i>Pichia anomala</i>	36
2.4.3.2 Aplicaciones y beneficios	37
2.4.4 <i>Trichoderma harzianum</i>	37
2.4.4.1 Aplicaciones y beneficios	37
2.5 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	38
2.6 JUSTIFICACIÓN	38
2.7 HIPÓTESIS.....	39
2.8 OBJETIVOS.....	39
2.8.1 Objetivo general.....	39
2.8.2 Objetivos específicos	39
3. METODOLOGÍA.....	39

3.1 Recolección de muestras.....	39
3.2 Caracterización de las muestras de lactosuero.....	40
3.2.1 Determinación de pH	40
3.2.2 Determinación de acidez titulable (% de ácido láctico)	40
3.2.3 Determinación de porcentaje de lactosa.....	41
3.2.4 Determinación de humedad	44
3.2.5 Determinación de porcentaje de lípidos	44
3.2.6 Determinación de porcentaje de proteínas	47
3.2.6.1 Tratamiento de las muestras.....	47
3.2.6.2 Cuantificación de proteínas por el método de Lowry (Peterson, 1997)	47
3.3 Propagación y crecimiento de microorganismos en medio artificial adicionado con lactosuero ..	48
3.3.1 Propagación de <i>Escherichia coli</i>	50
3.3.2 Propagación de <i>Lactobacillus rhamnosus</i> ATCC 11443™.....	50
3.3.3 Propagación de <i>Pichia anomala</i> ATCC 8168™	50
3.3.4 Propagación de <i>Trichoderma harzianum</i>	51
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	51
4.1 Resultados de la caracterización de la muestra de suero de leche dulce SL1	51
4.1.1 Determinación de pH	51
4.1.2 Determinación de acidez titulable en porcentaje de ácido láctico.....	51
4.1.3 Determinación de porcentaje de lactosa.....	52
4.1.4 Determinación de porcentaje de humedad	54
4.1.5 Determinación de porcentaje de lípidos	54
4.1.6 Determinación de porcentaje de proteínas	56
4.1.6.1 Cuantificación de proteínas por método de Lowry-Peterson (Peterson, 1997) para SL1.....	56
4.2 Resultados de la caracterización de la muestra de suero de leche dulce SL2	57
4.2.1 Determinación de pH	57
4.2.2 Determinación de acidez titulable en porcentaje de ácido láctico.....	57
4.2.3 Determinación de porcentaje de lactosa.....	57
4.2.4 Determinación de porcentaje de humedad	59
4.2.5 Determinación de porcentaje de lípidos	59
4.2.6 Determinación de porcentaje de proteínas.	60
4.2.6.1 Cuantificación de proteínas por el método de Lowry Peterson (Peterson ,1997) para SL2	60
4.2.7 Resultados finales de la caracterización de las muestras de lactosuero dulce SL1 y SL2.....	61
4.3 Crecimiento de microorganismos en distintas formulaciones de medio de cultivo artificial adicionado con lactosuero	62
4.3.1 <i>Escherichia coli</i>	62
4.3.2 <i>Lactobacillus rhamnosus</i>	63
4.3.3 <i>Pichia anomala</i>	66
4.3.4 <i>Trichoderma harzianum</i>	68
4.3.5 Análisis global	74
CONCLUSION.....	77
REFERENCIAS	78
APÉNDICES	93
Apéndice A: Información complementaria del marco teórico.....	97
Apéndice A.1 Tabla comparativa entre la coagulación enzimática y la coagulación ácida en el proceso de fabricación del queso (Rodiles <i>et al</i> , 2023).....	97
Apéndice A.2 Tabla descriptiva de las proteínas del lactosuero y sus aplicaciones	98

Apéndice B Metodologías complementarias a las determinaciones fisicoquímicas realizadas para las muestras de suero de leche	99
Apéndice B.1 Estandarización de una solución de NaOH 0.1 N con biftalato de potasio.	99
Apéndice B.2 Estandarización de una solución de tiosulfato de sodio	100
Apéndice B.3 Preparación de soluciones para la determinación de porcentaje de lactosa.....	102
Apéndice B.4 Tratamiento de las muestras de suero de leche para la determinación de porcentaje de lactosa	102
Apéndice B.5 Método (Bligh & Dyer, 1959) para la determinación de lípidos	103
Apéndice B.6 Cálculo de volúmenes de solventes a utilizar para las muestras de suero de leche para el método de Bligh & Dyer (1959)	104
Apéndice B.7 Elaboración de la curva patrón para la cuantificación de proteínas	104

Lista de figuras

Figura 1: Proceso de elaboración de queso fresco (LIPA, 2020; Rodiles López et al. ,2023)	15
Figura 2: Proceso de elaboración de queso madurado (LIPA, 2020 ; Maldonado Gómez, 2023).....	16
Figura 3: Diagramas del modelo de economía linear (A) (Zenil et al. ,2022) y economía circular (B) (Parlamento Europeo, 2023).....	18
Figura 4: Composición general del suero de leche (Lizárraga Chaidez et al. ,2023)	25
Figura 5: Ecuación general de transformación de lactosuero (Ramírez Nava, 2013).....	26
Figura 6: Estructura de la molécula de ácido láctico (Cvitanovic et al. ,2024 p.19)	29
Figura 7: Estructuras químicas de los enantiómeros de L-ácido láctico (A) y D-ácido láctico (B) (obtenido de NCBI, 2025 https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov)	30
Figura 8: Síntesis química del ácido láctico (Alcántara et al., 2011; p.311).....	30
Figura 9: Obtención biotecnológica del ácido láctico (Alcántara et al., 2011; p.311)	31
Figura 10: Diagrama de la metodología para la determinación de pH	40
Figura 11: Diagrama de la metodología para la determinación de acidez titulable.....	41
Figura 12: Diagrama de la metodología para determinar el porcentaje de lactosa	43
Figura 13: Diagrama de la metodología para la determinación de humedad.....	44
Figura 14: Diagrama de la metodología para la determinación de lípidos	46
Figura 15: Diagrama del proceso para la determinación de proteínas.....	48
Figura 16: Metodología para la prueba de crecimiento de microorganismos seleccionados en medio artificial adicionado con lactosuero	49
Figura 17: Crecimiento de E. coli a las 24 horas (A) y a las 96 horas (B).....	63
Figura 18: Crecimiento de L. rhamnosus en la formulación T2 a las 24 horas (A) y a las 96 horas (B)	64
Figura 19: Crecimiento de L.rhamnosus a las 48 horas	64
Figura 20: L.rhamnosus observada bajo el microscopio óptico a 40X.....	65
Figura 21: Crecimiento de P.anomala a las 24 horas	67
Figura 22: Crecimiento de P.anomala a las 96 horas	67
Figura 23: P. anomala vista desde el microscopio (40X)	68
Figura 24: Crecimiento de Trichoderma harzianum a las 24 horas.....	69
Figura 25: Crecimiento de T. harzianum a las 48 h	69
Figura 26: Crecimiento de T. harzianum a las 72 h (A) y a las 96 horas (B).....	70
Figura 27: Crecimiento de T.harzianum a las 120 horas	70
Figura 28: T.harzianum visto desde el microscopio (40X)	71
Figura 29: Gráfica de crecimiento radial de T. harzianum por 120 horas en las distintas formulaciones de medio PDA con lactosuero.....	71
Figura 30: Gráficas de crecimiento de T. harzianum en las diferentes formulaciones ensayadas por 120 horas	73
Figura 31: Comparación cualitativa del crecimiento de cada microorganismo en cada formulación de medio de cultivo con lactosuero.....	75
Figura B.1.1: Diagrama para la estandarización de NaOH con biftalato de potasio	99
Figura B.2.1: Diagrama de estandarización de la solución de tiosulfato de sodio	101
Figura B.7.2: Curva patrón obtenida de las absorbancias vs concentración de BSA 1mg/ml.....	105

Lista de tablas

Tabla 1: Composición general del lactosuero dulce y ácido	19
Tabla 2: Composición de lactosuero determinada por diferentes autores.....	21
Tabla 3: Tecnologías de separación por membrana para el procesamiento del lactosuero y su descripción (Lipnizki, 2010)	26
Tabla 4: Metabolismo homofermentativo y heterofermentativo de las BAL	35
Tabla 5: Volúmenes de muestra y reactivos utilizados en la cuantificación de proteínas	47
Tabla 6: Volúmenes establecidos para cada formulación de medio con lactosuero.....	49
Tabla 7: Peso y volúmenes para la determinación de porcentaje de acidez de la muestra SL1	51
Tabla 8: Volúmenes de solución de NaOH empleada en la determinación de lactosa para SL1	52
Tabla 9: Valores para la determinación de azúcares según Fehling (NMX-F-219-1972).....	53
Tabla 10: Datos para la determinación del porcentaje de humedad para el suero de leche	54
Tabla 11: Determinación de lípidos totales contenidos en la muestra SL1	55
Tabla 12: Absorbancias leídas a 740 nm para la muestra de suero de leche dulce SL1	56
Tabla 13: Concentración de proteínas por cada valor de absorbancia de la muestra SL1	56
Tabla 14: Porcentaje de acidez lactosa obtenido para la muestra SL2	57
Tabla 15: Volúmenes de solución de NaOH empleada en la determinación de lactosa para SL2.....	57
Tabla 16: Valores para la determinación de azúcares según Fehling muestra SL2 (NMX-F-219-1972).....	58
Tabla 17: Determinación de porcentaje de humedad para la muestra SL2	59
Tabla 18: Resultados obtenidos de la determinación de lípidos totales de la muestra SL2	59
Tabla 19: Absorbancias leídas a 740 nm para la muestra de suero de leche dulce SL2	60
Tabla 20: Concentración de proteínas por cada valor de absorbancia de la muestra SL2	60
Tabla 21: Resultados generales de la caracterización fisicoquímica del lactosuero para SL1 y SL2	61
Tabla 22: Parámetros obtenidos en el ajuste lineal y sigmoidal para el crecimiento de <i>T.harzianum</i> en las distintas formulaciones de lactosuero	72
Tabla 23: Parámetros que satisfacen el modelo de Boltzmann para las distintas formulaciones de lactosuero y medio	74
Tabla 24: Factor 1 Microorganismo (M.O.).....	74
Se establecieron cinco niveles de tratamiento (T1 a T5), variando la concentración de lactosuero y medio comercial.	74
Tabla 25: Factor 2 Formulación del Medio (Tratamientos T1-T5)	75
Tabla 26: Frecuencia de Éxito por Formulación (Columna).....	76
Tabla 27: Frecuencia de Éxito por Microorganismo (Fila).....	76
Tabla B.1.3: Parámetros de peso, volumen y normalidad para la estandarización de una solución de NaOH	100
Tabla B.2.3: Datos para calcular la normalidad de una solución de tiosulfato de sodio	101
Tabla B.7.1: Volúmenes para la elaboración de la curva patrón de BSA.....	104

1. INTRODUCCIÓN

La industria de elaboración de alimentos es una de las más relevantes y las más grandes a nivel global; entre ellas destaca la industria láctea que es una de las que mayor crecimiento presentan en el mundo y en México. En el año 2018, se estimó que la producción de leche a nivel mundial fue de 843 millones de toneladas, de la cual 683 millones de toneladas o el 81% corresponden a leche de vaca. De igual manera, el consumo per cápita de productos lácteos se ha incrementado, siendo que en 2018 alcanzó la cifra de 113.7 litros anuales (Tapia Cruz, 2020).

De acuerdo a las cifras presentadas por el Observatorio de la Cadena Láctea Argentina (OCLA), en 2020 la producción de leche se mantuvo en crecimiento constante, alcanzando un volumen de 910 millones de toneladas, de la cual la leche de vaca representó el 81% de la producción mundial total, obteniendo un volumen de 735 millones de toneladas para este año (Observatorio de la Cadena Láctea Argentina [OCLA], 2022).

En México, la producción de leche aumentó de 10,725 miles de toneladas en 2011 a 12,563 en 2020, generando una ganancia de 84,772 miles de pesos (Cubas, 2022). Así mismo en el año 2021, de acuerdo con las cifras del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) se informó que la producción nacional de leche de vaca fue de 13, 239,779 toneladas con un consumo per cápita de 124.3 litros. Para el año 2023, la leche cruda de ganado bovino alcanzó una cifra de producción de 13, 735,387 millones de toneladas en México (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO], 2025). Con estas cifras se puede visualizar el panorama actual de consumo de productos lácteos y derivados así como el crecimiento que la industria ha tenido durante los últimos años.

El queso representa uno de los productos lácteos derivados más importantes del mercado a nivel mundial con una producción mundial de 21.3 millones de toneladas al año (Torres Martínez & Romero León, 2020). En el año 2022, la producción de queso de leche de vaca entera en México fue de 172,239.77 toneladas. (FAO, 2025) Además, existen aproximadamente 2,000 diferentes tipos de queso en el mundo, que se diferencian por sus características, propiedades nutricionales y propiedades organolépticas. Para la producción de queso, se requiere una gran cantidad de leche; por cada 10 litros de leche se obtiene en promedio 1 kilogramo de queso y lo demás, aproximadamente el 90% se convierte en lactosuero, siendo el principal producto de desecho de la industria de fabricación de quesos, por lo que comúnmente es vertido al ambiente ocasionando contaminación principalmente de cuerpos de agua debido a su alta carga orgánica, contenido de lactosa y proteínas no biodegradables (Solís Oba *et.al.*, 2023).

El suero de leche es la fase acuosa que se separa de la cuajada en el proceso de elaboración del queso, es un líquido claro de color amarillo o verdoso que contiene lactosa, proteínas, grasas y minerales en su composición. Este se considera como una sustancia no deseable y de poco interés en la industria láctea y además se ha convertido en un problema ambiental debido a que con frecuencia las industrias arrojan grandes cantidades de suero de leche a cuerpos de agua provocando su contaminación, lo que representa un elevado costo de eliminación debido a los costos de construcción y operación de una planta de tratamiento de agua (Asas *et.al.*, 2021).

En este trabajo se busca plantear alternativas para la valorización del lactosuero obtenido como residuo agroindustrial de la elaboración de queso panela, por lo tanto se realiza una caracterización fisicoquímica para conocer sus propiedades (pH y humedad) y composición (ácido láctico, lactosa, lípidos y proteínas), para posteriormente utilizarse como una alternativa para el enriquecimiento de medios de cultivo empleados en la propagación de microorganismos de interés biotecnológico.

2. ANTECEDENTES

2.1 Definición de agroindustria

Se puede definir a la agroindustria como “la actividad económica que combina el proceso productivo agrícola con el industrial para obtener alimentos o materias primas destinadas al mercado” (Escalona Morales, 2022, p.10). Esta actividad comprende la producción, industrialización y comercialización de recursos naturales, agropecuarios y forestales (Fideicomiso de Riesgo Compartido [FIRCO], 2017). Se puede clasificar como: 1) las industrias alimentarias y no alimentarias y 2) proveedoras y consumidoras de materia prima (Vargas Corredor & Pérez Pérez, 2018). La primera clasificación toma como criterio el propósito final de las industrias: la industria alimentaria se encarga de la transformación de los recursos obtenidos de la agricultura, ganadería, actividad pesquera y forestal en productos destinados al consumo, este proceso incluye el control de calidad, clasificación, inocuidad, procesamiento, embalaje, almacenamiento y distribución de los productos alimenticios (FIRCO, 2017). Por otra parte, la industria no alimentaria engloba los procesos de obtención y elaboración de productos destinados a brindar otros beneficios fundamentales para el bienestar humano como: fibras textiles, materiales, fármacos, biocombustibles, colorantes, entre otros. La obtención de productos más especializados que son empleados en procesos de manufactura más compleja requiere una mayor inversión para el desarrollo de tecnología e investigaciones que permitan la transformación de materia prima, aumentando su valor en el mercado (Gonzáles, 2023; FIRCO, 2017).

La segunda clasificación se refiere al papel que desempeña cada agroindustria en la cadena productiva: una industria proveedora es aquella que participa en el procesamiento inicial de los productos obtenidos del sector primario, por ejemplo aquellas empresas dedicadas a la molienda de granos como el maíz o trigo, el desmotado del algodón, la ordeña de ganado o el aserrado de madera. Por otra parte, una empresa consumidora es aquella que fabrica artículos derivados de materias primas ya procesadas, algunos ejemplos son las fábricas de alimentos y bebidas, ropa, calzado y papel (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural [SADER], 2016).

El sector agroindustrial tiene una gran relevancia debido a que es el principal proveedor de alimentos y materias primas, además de que le brinda un valor agregado a productos obtenidos de la silvicultura, la pesca y la actividad agropecuaria mediante su transformación, en la cual se obtiene una amplia variedad de productos derivados con mayor durabilidad y disponibles en cualquier época del año, representando un beneficio directo en la vida cotidiana del ser humano (FIRCO, 2017; Gonzáles, 2023; Motta Machicado, 2024).

La agroindustria tiene la capacidad de fomentar el desarrollo económico y social sustentable siempre y cuando se mantenga un equilibrio entre el impacto ambiental y las actividades productivas, que abarcan desde la manipulación de la materia prima hasta la disposición final de los residuos generados, sin embargo estos residuos son desechados inadecuadamente, ocasionando alteraciones en el ambiente y sus factores bióticos y abióticos, así como en el entorno económico debido a las pérdidas que representan para las empresas (Vargas Corredor & Pérez Pérez, 2018).

Para el sector agroindustrial es fundamental el desarrollo de investigaciones acerca de la aplicación de tecnologías alternativas que posibiliten la minimización de su impacto ambiental y la posible sustitución de procesos contaminantes por otros más limpios, así mismo se deben desarrollar investigaciones sobre la utilización de los residuos agroindustriales en nuevos procesos (extracción y recuperación de compuestos bioactivos, producción de enzimas, antibióticos, ácidos orgánicos, hongos comestibles, biocombustibles, alimento para animales y composta) con la finalidad de minimizar la cantidad de desechos (Cortés Marín, 2007; Escalona Morales, 2022).

2.1.1 Industria del queso y la leche

La leche es una sustancia producida naturalmente en las glándulas mamarias de las hembras de los mamíferos, que sirve como el alimento único de los neonatos por un periodo de tiempo, su composición química tiene un

alto valor nutricional, por lo que se volvió una parte importante de la dieta humana. (Padilla Doval & Zambrano Arteaga, 2021). Este recurso alimenticio se obtiene higiénicamente del ordeño completo y regular principalmente de vacas, cabras y ovejas; así mismo en otras regiones también se consume la leche de búfala y camella, aunque en menor medida. La leche de vaca es la más producida a nivel mundial, tanto para consumo como para elaboración de otros alimentos, por lo que se han diseñado tecnologías y procesos para la producción de leche y sus derivados (Galván Díaz, 2005). La ganadería bovina productora de leche en México aporta un 24% al Producto Interno Bruto (PIB) agropecuario y es el quinceavo país productor de leche en el mundo (Rojas *et al.* ,2025).

La leche tiene características organolépticas específicas: es un líquido blanco y opaco con un sabor dulce y un aroma característico con una consistencia uniforme sin grumos. La leche bovina es una fuente importante de nutrientes principalmente carbohidratos, micronutrientes y proteínas de alta calidad (Padilla Doval & Zambrano Arteaga, 2021). Se compone de un 90% de agua, de 2.8-3.1% de proteína, de 2.9-3.3% de grasa de 3.6%-5.5% de lactosa, vitaminas (A, C, D, B1 y B2) y minerales como calcio, fósforo, potasio y magnesio (Galván Díaz, 2005).

Por otra parte, el queso es un producto derivado lácteo más comúnmente de origen bovino, que se obtiene debido a la separación parcial de la caseína de la leche mediante dos vías diferentes (Apéndice A.1): la coagulación enzimática de la quimosina (conocido como cuajo también llamada renina) o mediante la adición de ácidos orgánicos aptos para el consumo que provocan la precipitación isoelectrica de la caseína (Rodiles López *et al.* ,2023). El resultado de este proceso se combina con condimentos, aditivos y especias (Laboratorio de Investigación en Productos Agroindustriales [LIPA], 2020). El queso es un alimento con un valor nutricional relevante, debido a su contenido en proteínas, carbohidratos, lípidos, calcio, vitaminas A, B12 y riboflavina y minerales como zinc, calcio, magnesio, potasio y fósforo (Alonso Pesado & Rodríguez de Jesús, 2023).

Existen diversos tipos de queso, se estima que a nivel mundial existen aproximadamente 600 variedades, que se pueden clasificar de acuerdo a los siguientes criterios (Rodiles López *et al.* ,2023; LIPA, 2020).

- Según el tipo de leche: se elaboran quesos de leche de vaca, cabra, oveja, búfala y mezclas entre ellas
- Según la maduración: existen quesos de tipo fresco, que son aquellos que están listos para el consumo después del proceso de fabricación, y quesos de tipo madurado, que son los que han experimentado cambios físicos y químicos característicos de cada variedad. Para lograr esto se mantienen en almacenamiento durante cierto tiempo bajo condiciones determinadas de humedad y temperatura, hasta su consumo. Estos quesos pueden ser fermentados con mohos y levaduras.
- Según la humedad: El contenido de agua le da una textura diferente al queso; se dividen en: quesos blandos o suaves con un contenido de agua mayor al 55%, semiduros entre 40-55% y duros menor de 40%, La vida en anaquel del queso depende del contenido de humedad.
- Según su contenido graso: Se clasifican de acuerdo al porcentaje de extracto seco que contiene el queso en: extragrasso (mínimo de 60%), graso (60-45%), semigraso (45-25%), magros (25-10%) y descremados (máximo de 10%)

La industria quesera en México continúa en expansión; el tamaño de su mercado tuvo un valor de 3,070 millones de dólares en 2021 y se estima que alcanzará un valor de 4,950 millones de dólares para 2027. Por otra parte, la producción de queso en México alcanzó una cifra de 452,000 toneladas en 2022, de la cual la elaboración de quesos blandos representó del 75-80% del total de quesos producidos en ese año, lo que indica la preferencia alimentaria de los consumidores (Alonso Pesado & Rodríguez de Jesús, 2023).

La producción artesanal en la industria quesera se destaca en la cadena agroalimentaria mexicana y está integrada por productores lecheros que elaboran queso en unidades de producción familiar en sus hogares, lo

que representa su principal fuente económica (Gómez Antonio & Brunett Pérez, 2025). Estas empresas procesan y transforman diferentes volúmenes de leche: los pequeños productores de las queserías familiares transforman menos de 2000 litros de leche por día y los medianos de entre 2,000 a 20,00 litros por día. La producción de quesos artesanales es una actividad recurrente, cuya valoración se ha incrementado en los últimos años debido a su demanda y comercialización (Mazorra Manzano & Moreno Hernández, 2019).

En el caso de los quesos que se elaboran en México, la mayoría de ellos tienen su origen en la producción artesanal, que es un proceso manufacturero que emplea más mano de obra que maquinaria; se estima que el 25% del queso elaborado en México proviene de empresas mientras que el 75% deriva de la producción artesanal elaborado por plantas de escala pequeña para satisfacer las demanda local y regional (Alonso Pesado & Rodríguez de Jesús, 2023). Su elaboración implica tres procesos principales: coagulación o cuajado de la leche, deshidratación del coágulo o cuajada, y la maduración de esta a lo largo de cierto tiempo, bajo condiciones ambientales específicas según la variedad de queso. (SADER, 2016).

Se producen aproximadamente 40 variedades de quesos entre los que se encuentran el Oaxaca, Chihuahua, panela, asadero, cotija, sierra, adobera, trenzado, rueda, de cincho, jocoque, hoja, poro, bola, morral, epazote y requesón (SADER, 2016). La industria de elaboración de quesos en México, tanto artesanal como industrial, se encuentra principalmente ubicada en los estados de Jalisco, Chihuahua, Querétaro, San Luis Potosí, Michoacán, Guanajuato, Durango, Chiapas y Coahuila (Alonso Pesado & Rodríguez de Jesús, 2023).

2.1.1.1 Elaboración de queso fresco y madurado

La elaboración de queso fresco y de queso madurado difiere en cuanto a los procesos que se llevan a cabo para conferirle las características propias a cada variedad, depende de la materia prima empleada, forma, tamaño, agentes maduradores y aditivos que se emplean para cada proceso (Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo [CIAD], 2023).

Para la elaboración del queso fresco (Figura 1) primero se hace una estandarización de grasa de la leche; en este primer paso se determina la cantidad de grasa y proteína de la leche y se estandariza a través de la adición o la sustracción de grasa, mezclando volúmenes de leche descremada y entera. El siguiente paso es pasteurizar la leche, proceso que consiste en elevar la temperatura a 72°C durante 15 segundos para poder eliminar los microorganismos patógenos que pueden estar presentes en la leche. Posteriormente ocurre un enfriamiento a 35°C, para vaciarse en una tina y adicionar cloruro de calcio para favorecer la precipitación de la caseína. En seguida, se adiciona el cuajo animal o microbiano, que contiene enzimas modificadoras de las cadenas proteicas, que después de un tiempo genera una textura gelatinosa a la que se le denomina cuajada. Después se realizan cortes con unos instrumentos rectangulares de acero inoxidable denominados liras, con la finalidad de generar cubos de cuajada, se adiciona sal y en seguida se pasa al cocimiento con agitación, en la cual los cubos se convierten en granos de cuajada propiciando la eliminación de la humedad para lograr una consistencia específica. Una vez finalizado el cocimiento, se deja reposar y se retira el suero separándolo de la cuajada, para finalmente ser moldeado y empacado (Galván Díaz, 2005; Rodiles López *et al.*, 2023)



Figura 1: Proceso de elaboración de queso fresco (LIPA, 2020; Rodiles López *et al.*, 2023)

Por otro lado, el proceso de elaboración de un queso maduro (Figura 2) comienza con el análisis de la calidad de la leche en aspectos de composición, higiénicos y sanitarios. La leche debe tener una alta calidad, sin contaminantes químicos ni físicos además de una escasa cantidad de microorganismos; debe ser rica en grasa y proteína, por lo cual se debe determinar pH, acidez, contenido de grasa, cantidad y estado de las proteínas además de someterse a un análisis microbiológico. El siguiente paso es el acondicionamiento de la leche, que consiste en filtrar la leche para eliminar partículas y estandarizar la materia grasa, después se pasteuriza para eliminar patógenos. Una vez concluido este proceso, se deja enfriar la leche y se adiciona cloruro de calcio que es importante para lograr una coagulación adecuada de la leche. El siguiente paso es la maduración de la leche, etapa en la cual se le deja reposar para que desarrolle carga microbiana, que proporcionará propiedades organolépticas determinadas; durante este paso, se pueden agregar cultivos microbianos constituidos por una o varias especies denominadas fermento, que se emplean dependiendo del tipo de queso que se quiera elaborar. En la fermentación sucede una disminución del pH mediante la transformación de lactosa en ácido láctico, lo que favorece el proceso de coagulación y contribuye a las propiedades organolépticas (LIPA, 2020; Rodiles López *et al.*, 2023; Maldonado Gómez, 2023). El proceso continúa con la coagulación de la leche, que pasa de líquido a un semisólido gelatinoso debido a la acción enzimática del cuajo; en seguida el producto de la coagulación se somete a corte, agitación y cocción, procesos que regulan el contenido acuoso y la solidificación. En el proceso de corte, se rompe el coágulo para facilitar el desuerado, lo que influye en la consistencia del queso; la agitación tiene el objetivo de acelerar el desuerado y uniformizar la consistencia, y la cocción, mediante altas temperaturas, propicia la disminución de humedad. Una vez finalizados estos procesos se realiza el desuerado, moldeo, prensado y salación dependiendo del tipo de queso a elaborar. Al final el queso se madura bajo condiciones de temperatura, humedad e inocuidad específicas, lo que implica una serie de modificaciones que darán lugar al sabor, aroma, textura y aspecto característico (LIPA, 2020; Maldonado Gómez, 2023).

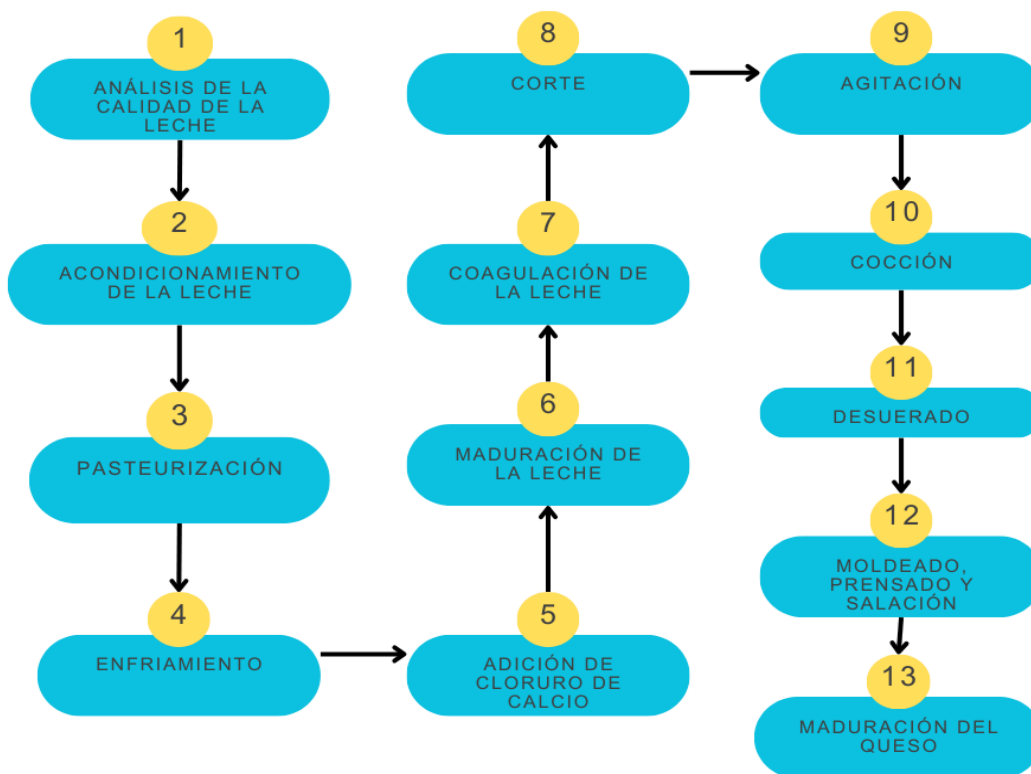


Figura 2: Proceso de elaboración de queso madurado (LIPA, 2020; Maldonado Gómez, 2023)

2.2 Definición de residuo agroindustrial

Un residuo agroindustrial es un “tipo de biomasa generada principalmente por el procesamiento de materiales orgánicos, que provienen del manejo de animales, cultivo de plantas o procesamiento de frutas y verduras” (Rojas González *et al.*, 2019, p. 1).

Estos residuos se generan en la producción agrícola encaminada a la obtención de materia prima o destinada al consumo directo de productos primarios y su procesamiento; pueden encontrarse en estado sólido, semisólido o líquido. Los residuos agroindustriales ya no son de utilidad para el proceso que los generó, sin embargo pueden aprovecharse y transformarse para la obtención productos con valor económico y comercial (Romero Sáez, 2022; Escalona Morales, 2022). Cada sector de la industria agrícola genera residuos específicos que presentan características óptimas para su aprovechamiento posterior en otra cadena de producción. Los residuos agroindustriales que más se aprovechan son: aquellos que provienen de frutas, el bagazo de agave y caña de azúcar, los desechos cítricos, la cáscara de plátano, lodos, suero y mosto residual (Vargas Corredor & Pérez Pérez, 2018).

La generación de residuos agroindustriales sólidos, líquidos y gaseosos representan focos de contaminación y de riesgo para la salud si estos no son dispuestos o procesados de forma adecuada. Algunas prácticas incorrectas de manejo de residuos biodegradables son la quema de basura y el vertido de desechos en rellenos sanitarios, lo que provoca contaminación de agua, aire y suelo, con la generación de gases de efecto invernadero principalmente de dióxido de carbono (CO_2), lixiviados, proliferación de plagas, malos olores y enfermedades (Vargas Corredor & Pérez, 2018; Romero Sáez, 2022).

Los residuos agroindustriales son de gran interés debido a que poseen componentes biológicos que pueden emplearse para la elaboración de diversos materiales y/o productos con valor agregado debido a su composición química y propiedades físicas, lo que le confiere un alto potencial de aprovechamiento mediante procesos biotecnológicos, que representan un menor impacto ambiental, utilizando materias primas de bajo costo y alta disponibilidad (Escalona Morales, 2022; Motta Machicado, 2024). Se ha planteado una economía circular que se basa en que los residuos generados de un proceso puedan emplearse como materia prima para la obtención de nuevos productos. Esta acción traería beneficios como: la disminución de la extracción de recursos naturales, reducción de emisiones de gases de efecto invernadero, la innovación de los procesos industriales, generación de energía más limpia, extracción de compuestos bioactivos y producción de biomateriales (Romero Sáez, 2022)

2.2.1 Tipos de residuo agroindustrial

Los residuos agroindustriales pueden clasificarse en dos grandes grupos según su origen (Romero Sáez, 2022):

- 1) Residuos de campo, que son aquellos que se generan después de la cosecha, pueden ser hojas, tallos, semillas entre otros.
- 2) Residuos de proceso, que se originan una vez se procesó la materia prima para la obtención del producto final o para el consumo.

Otras dos clasificaciones de residuos agroindustriales se plantean en Gómez Mesías *et al.* (2023). La primera clasificación tiene que ver con la fuente de la cual provienen: animal (cárnicos, pescados y mariscos y lácteos) o vegetal (cereales, raíces y tubérculos, oleaginosas y frutas y verduras); mientras que la segunda clasificación tiene que ver con el uso que se les da a estos residuos: elaboración de productos energéticos, compostaje, uso para la alimentación animal, remoción de contaminantes y fabricación de otro tipo de productos.

Los residuos agrícolas y alimenticios se han perfilado como una fuente sustentable de materia prima, porque pueden emplearse sin arriesgar la seguridad alimentaria, es una manera integral de manejo de residuos agroindustriales con la finalidad de producir sustancias químicas de forma redituable y no contaminante (Son *et al.*, 2022).

2.2.2 Economía circular y aprovechamiento de residuos agroindustriales

La economía circular se puede definir como “un sistema económico que utiliza un enfoque de sistemas para mantener un flujo circular de recursos, regenerando, reteniendo o agregando valor, mientras contribuye al desarrollo sostenible” (Anaya Villalpanda, 2025 p. 4). Es un modelo de producción y consumo alternativo que implica reutilizar, reparar, renovar y reciclar materiales existentes con el objetivo de crear un valor añadido y extender su ciclo de vida el mayor tiempo posible, con el fin de minimizar la extracción de recursos y la generación de desechos (Parlamento Europeo, 2023; Anaya Villalpanda, 2025; García Velázquez, 2025)

La economía circular puede ser un modelo de crecimiento sostenible, que contribuya a la restauración del medio ambiente sólo si se utiliza energía proveniente de fuentes renovables y se basa en tres principios fundamentales según Anaya Villalpanda (2025):

- ✦ Preservar los recursos naturales y regenerar los ecosistemas, mediante un uso más eficiente de los recursos finitos, y un uso equilibrado de los recursos renovables.
- ✦ Optimizar el uso de materias primas y productos, mantener su circulación al límite de su capacidad, aumentando así su utilidad
- ✦ Gestionar y minimizar los residuos para disminuir el volumen de desechos, evitando efectos negativos en los ecosistemas.

La transición de la industria basada en la economía lineal a una basada en la economía circular (Figura 3) requiere de una utilización óptima de residuos aplicando bioprocesos con la finalidad de obtener productos que pueden ser utilizados en diversos procesos industriales (Son *et al.*, 2022). Esta transición representa beneficios a largo plazo como la reducción de las emisiones contaminantes, regeneración de los ecosistemas, menor consumo de energía y recursos, mayor crecimiento económico y desarrollo social, creación de empleos e impulsar la innovación tecnológica (Parlamento Europeo, 2023; Motta Machicado, 2024).

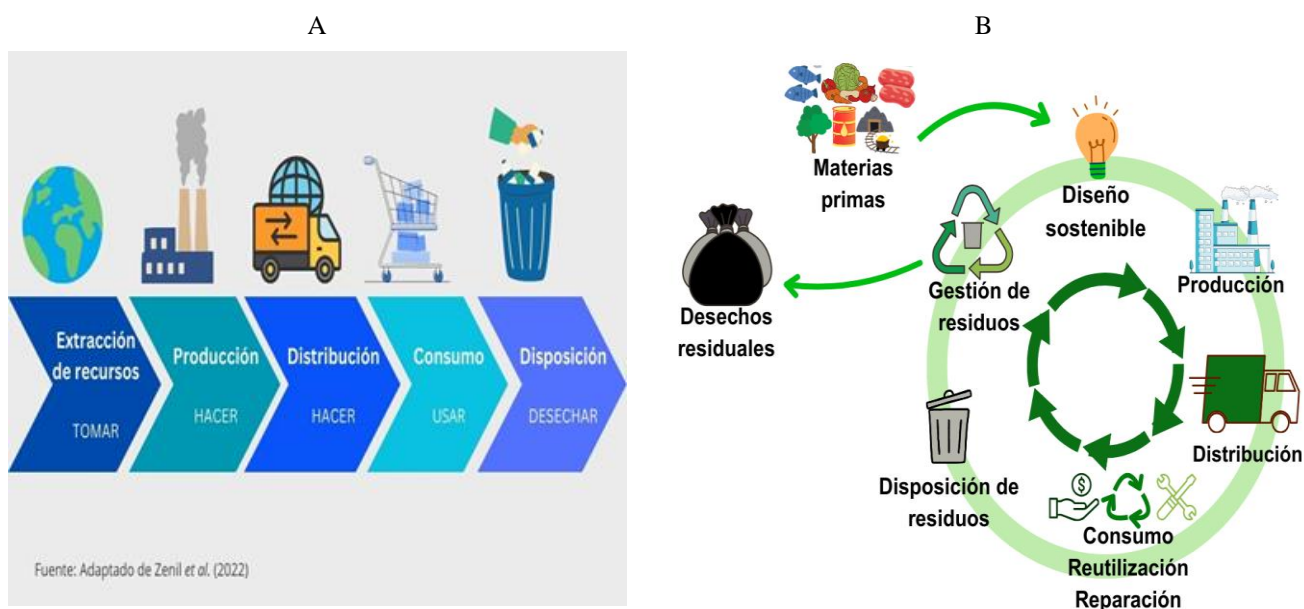


Figura 3: Diagramas del modelo de economía lineal (A) (Zenil *et al.*, 2022) y economía circular (B) (Parlamento Europeo, 2023)

Se plantea la economía circular como un modelo de producción con potencial de implementación en la agroindustria, debido a que se generan una gran cantidad de subproductos que pueden aprovecharse para elaborar nuevos productos con importancia comercial (Valdez & Canobbio, 2025); se hace una revalorización de los residuos generados, convirtiéndolos en materia prima para obtener fibras, biocombustibles, biomateriales y bioproductos, que contribuyan a satisfacer las necesidades de la población, mediante el desarrollo de investigaciones y tecnologías que ayuden al procesamiento de la biomasa residual (Rojas *et al.*, 2025; Motta Machicado, 2024). Se relaciona con la sostenibilidad, con el objetivo de conservar durante el mayor tiempo posible los recursos no renovables y energéticos, reducir al mínimo los residuos y sobre todo mitigar el impacto ambiental (Rojas *et al.*, 2025). Se plantea como un nuevo modelo económico en el cuál las materias primas y la energía se deriva de recursos biológicos renovables, que surgen como alternativas para la diversificación productiva y la producción de empleo (Zenil *et al.*, 2022).

La transición a la economía circular aún representa desafíos, entre los más relevantes se encuentran la inversión en tecnologías novedosas, la innovación en los procesos establecidos y el desarrollo de investigaciones, con la finalidad de reutilizar y aprovechar residuos; además de que se requiere plantear, diseñar y poner en práctica estrategias que garanticen prácticas redituables que representen una disminución significativa en el coste operativo y que provoquen de igual forma un beneficio social y ecológico (Valdez & Canobbio, 2025; Zenil *et al.*, 2022).

2.2.3 Lactosuero o suero de leche

El suero de leche es un subproducto que se obtiene durante la fabricación de quesos, gracias a la adición de agentes ácidos o enzimáticos que precipitan la caseína y separan la leche en dos fases: la fase sólida (cuajada), que contiene proteínas y lípidos insolubles que se procesa y consume, y la fase acuosa (lactosuero) que comúnmente se descarta (Poveda, 2013).

El lactosuero es un líquido claro o blanquecino translúcido color amarillo verdoso que se compone de sustancias biológicas-funcionales: contiene en promedio 4.9% de lactosa, 0.9% de proteína, 0.6% de minerales y 0.3% de grasas y otros componentes (Asas *et.al.*, 2021). En Lizárraga Chaidez *et al.* (2023) se menciona que este subproducto tiene el 55% del contenido nutricional total de la leche y que está constituido por un 93% de agua, 4% a 5% de lactosa, 1% de minerales así como minerales como fósforo, calcio, hierro y potasio (Williams Zambrano & Dueñas Rivadeneira, 2021), 0.5% de proteínas, 0.7% de ácido láctico y 0.3% de grasas; también se compone de vitaminas como la A,D,E, C y K y del complejo B (B2, B-12, ácido fólico y niacina), además de contar con proteínas específicas (Apéndice A.2) como la β -lactoglobulina, α -lactoalbúmina, inmunoglobulinas, albúmina de suero bovino (BSA), lactoferrina, proteasa-peptona, lactoperoxidasa y osteopontinas (Cruz Guerrero *et al.*, 2023; Delgado Macuil *et al.*, 2025). La composición del lactosuero (Tabla 1) puede variar dependiendo de factores como: la fuente animal de la que proviene la leche y su composición, tipo de alimentación del animal, la etapa de lactancia, el método para la elaboración del queso y el periodo de almacenamiento (Aponte Colmenares *et al.*, 2023).

El lactosuero se clasifica de acuerdo al nivel de acidez que posee en suero ácido y suero dulce. El suero ácido tiene un pH de 5.0 y se obtiene después de la fermentación con cultivos lácticos o de la adición de ácidos orgánicos o minerales para la elaboración de quesos como el cheddar o el suizo, mientras que el suero dulce cuenta con un pH entre 6.0 y 7.0 y se genera por la adición de enzimas proteolíticas (coagulación enzimática) para la elaboración de quesos como el mozzarella y panela (Torres Martínez & Romero León, 2020; Lizárraga Chaidez *et al.*, 2023).

El lactosuero posee compuestos bioactivos específicos que influyen en el funcionamiento de los órganos y sistemas del cuerpo humano, lo que impacta positivamente la salud humana, además de que posee otras sustancias con el potencial de transformarse, a través de la biotecnología, en productos que pueden utilizarse en la industria alimenticia, química, cosmética, farmacéutica, energética y de materiales (Poveda, 2013) .

Tabla 1: Composición general del lactosuero dulce y ácido

Lactosuero		Dulce	Ácido	Referencias
Agua		93-95%	93-95%	(Guerrero Rodríguez <i>et al.</i> , 2010; Valtierra Méndez <i>et al.</i> , 2024; Pérez Sánchez <i>et al.</i> , 2025)
pH		6.45-7.0	4.6-5.0	
Lactosa		4.5-5.3%	3.8-5.2%	
Ácido láctico		0.050%	0.2%	
Proteínas		0.6-1.1%	0.2-1.1%	
Grasa		0.1-0.4%	0.1-0.5%	
Minerales	Calcio	0.4-0.6 g/L	1.2-1.6 g/L	(Poveda,2013)
	Fósforo	0.7 g/L		(Mazorra Manzano & Moreno Hernández, 2019) (Delgado Macuil <i>et al.</i> ,2025)
	Magnesio	0.17 g/L		
	Sodio	0.3 g/L		
	Potasio	1.0 g/L		
Vitaminas	Tiamina	0.38 mg/ml		(Poveda,2013)

	Riboflavina	1.2 mg/ml	
	Ácido ascórbico	2.2 mg/ml	
	Ácido pantoténico	3.4 mg/ml	

2.2.3.1 Caracterización fisicoquímica del lactosuero

El lactosuero se ha planteado como una materia prima importante desde el punto de vista biotecnológico debido a las sustancias de alto valor biológico que lo componen, por este motivo, se han hecho caracterizaciones fisicoquímicas que permiten determinar, mediante diversos métodos cuantitativos, el contenido de moléculas relevantes con la finalidad de obtener nuevos productos y evaluar el rendimiento y rentabilidad de su producción (Tabla 2).

Tabla 2: Composición de lactosuero determinada por diferentes autores

Lactosuero	Composición	Valores	Método	Procesamiento	Producto	Referencia
Dulce	Carbohidratos	4.96±0.27 %	Fracción Nifext (extracto libre de nitrógeno)	-	-	(de Meneses, 2020)
	Proteína	0.76±0.01 %	AOAC,2012			
	Lípidos	0.28±0.03%	Bligh & Dyer, 1959			
	Humedad	93.53±0.46 %	AOAC,2012			
	pH	6.36±0.05	Potenciómetro digital DM-23 Digimed			
	Acidez titulable	0.21±0.01%	Titulación con NaOH 0.1 N (AOAC,2012)			
	Materia grasa	0.622%	Equipo de análisis MilkoScan FT 6000	-	-	(Guerrero Rodríguez <i>et al.</i> , 2010)
	Proteína	0.118%				
	Lactosa	4.648%				
	Sólidos totales	6.788%				
	pH	5.95-6.59	Equipo Oakton pH5/6.			
	Lactosa	4.5%	Equipo Milkotester	Esterilización, filtración y fermentación con <i>Streptococcus thermophilus</i>	Surfactante biológico para biorremediación	(Chumi Pasato <i>et al.</i> ,2025)
	Proteína	3%				
	Lípidos	0%				
	pH	6.8				
	Lactosa	4.2 ± 0.07%	Equipo Lactoscan MCC Milkotronic®	Hidrólisis química y fermentación con <i>Cryptococcus laurentii</i>	Biomasa y lípidos	(Osorio González, 2017)
	Proteína	0.022 ± 0.05%	Método de Lowry			
	pH	6.60 ± 0.02	Potenciómetro (NMX-F-317-S-1978)			
	Ácido láctico	0.50 ± 0.00%	-			
	Lípidos	0.23 ± 0.58%	Método de Gerber (NOM-F-155-SCFI-2003)			
	pH	6.43 ± 0.21	Potenciómetro por inmersión directa	Fermentación con <i>Lactobacillus</i>	Películas comestibles	(Contreras López, 2021)

	Grasa	0.54 ± 0.21%		Analizador ultrasónico LACTOSCAN	<i>rhamnosus</i> y <i>Lactobacillus</i> <i>acidophilus</i>		
	Lactosa	2.88 ± 0.22%					
	Proteína	3.04 ± 0.23%					
		Antes de pasteurizar	Después de pasteurizar	-	Pasteurización y fermentación con <i>Neochloris</i> <i>oleoabundans</i>	Exopolisacáridos que pueden ser empleados como biofloculante para tratamiento de aguas residuales	(Paredes Molina <i>et al.</i> ,2025)
	Lactosa	2.83±0.03 %	18.25±.147 %	Método de Miller			
	Proteínas	0.66±0.02%	0.33±0.06%	Método Bradford			
	Lípidos	0.64±0.08%	0.24±0.019 %	Norma Oficial Mexicana NOM-AA-5-1980			
	pH	6.27±0.001 %	5.31±0.01%	Potenciómetro HANNA® HI 2030–01			
	Sólidos totales	6.19±0.07%	27.52±1.15 %	Norma Mexicana NMX-AA- 034-SCFI-2015			
	DQO	40.5±4.73 g/L		Método 5220 (APHA ,2005)			
	pH	6.4		Electrodo selectivo			
	Proteínas	9.90±0.69 g/L		Método de Bradford			
	Acidez titulable	0.3±0.2%		Valoración volumétrica de NaOH 1N			
	Azúcares totales	49.34 g/L		Método de ácido sulfúrico y espectrofotometría UV-Vis a 490 nm			
Ácido	Lactosa	4.29±6.66 g/L		Lactoscan Milk Analizar	Fermentación con <i>Lactobacillus</i> <i>acidophilus</i>	Bebida fermentada adicionada con menta	(Valtierra Méndez <i>et al.</i> , 2024)
	Proteína	2.88±5.91 g/L					
	pH	4.21±0.00					
	Lactosa	3.52±0.14%		Equipo Lactoscan MCC Milkotronic®	Hidrólisis química y fermentación con <i>Cryptococcus</i> <i>laurentii</i>	Biomasa y lípidos	(Osorio González, 2017)
	Proteína	0.023±0.00%		Método de Lowry			
	pH	4.42±0.18%		Potenciómetro (NMX-F-317-S- 1978)			
	Ácido láctico	5.03±1.24%		-			

	Lípidos	0.7±0.00%	Método de Gerber (NOM-F-155-SCFI-2003)			
	Lactosa	47.6±0.1120 g/L	-	Fermentación con <i>Lactobacillus casei</i>	Ácido láctico	(Ortiz López, 2024)
	Proteínas	1.40±0.0023 %	-			
	Ácido láctico	0.27±0.0062 %	Determinación de acidez titulable COVENIN (658:1997)			
	Humedad	97.46±0.1800 %	Determinación de humedad COVENIN (1077:1997)			
	pH	5.65±0.0015	-			
	Calcio	0.42±0.0016 g/L	-	Desproteínización, suplementación y fermentación con <i>Lactobacillus helveticus</i> ATCC 8018	Ácido láctico	(Urribarí <i>et al.</i> , 2004)
	Proteínas	1.34%	Método Kjeldahl			
	Lactosa	44.20±0.1290 kg/m ³	Método de Dubois y colaboradores			
	Fosforo	0.34%	Método espectrofotométrico del molibdo-vanadato de amonio			
	pH	5.45	-			

2.2.4 Impacto ambiental del lactosuero

En la industria quesera el lactosuero se obtiene como principal subproducto, representa del 80%-90% del volumen total de la leche procesada para la elaboración de queso (Quille *et al.*, 2021; Williams Zambrano & Dueñas Rivadeneira, 2021). El suero generado durante la producción de queso es altamente contaminante si se vierte en cuerpos de agua; causando graves daños a los ecosistemas acuáticos, a razón de que posee valores de demanda química de oxígeno (DQO) y demanda bioquímica de oxígeno (DBO) cercanos a 100 mg O_2 /L debido a su alto contenido en lactosa, grasa y proteínas, además de que se afecta la calidad del agua provocando alteraciones como turbidez, pH ácido y una alta cantidad de sólidos disueltos (Delgado Macuil *et al.*, 2025; Lizárraga Chaidez *et al.*, 2023).

En el mundo se desechan al año alrededor de 4 a 11 millones de toneladas de subproducto lácteo, especialmente suero, lo que provoca daños a los ecosistemas debido a que tiende a degradarse rápidamente provocando un crecimiento descontrolado de maleza acuática y eutrofización, en el cual ya no puede pasar la luz a través de los cuerpos de agua y se agota el oxígeno disuelto (O.D), generando condiciones anaeróbicas que provocan la muerte de flora y fauna acuática, la generación de malos olores y reproducción de plagas nocivas como los mosquitos transmisores de enfermedades graves como el dengue, fiebre amarilla, malaria y zika (Lizárraga Chaidez *et al.*, 2023).

En México, la producción de queso se lleva a cabo por empresas artesanales y transnacionales, en las cuales se produce lactosuero como subproducto principal y poco aprovechado, considerado como un desecho. Las queserías artesanales producen entre 2,000-10,000 litros de suero de leche, de los cuales la mayor parte se desecha a suelos y mantos acuíferos sin tratamiento previo, lo que propicia un problema de contaminación, debido a su alta carga biológica y sus propiedades físicas y químicas (Torres Martínez & Romero León, 2020). Por cada 10L de leche procesada, se generan 9L de suero que en su mayoría son desechados en las alcantarillas, lo que provoca que se contaminen los afluentes hídricos y el suelo (Aponte Colmenares *et al.*, 2023). En el estudio realizado por Uribe Velázquez *et al.* (2025) se evalúa la sustentabilidad de los métodos de disposición del suero y se plantean soluciones enfocadas en las necesidades de pequeños y medianos productores lácteos en Jalisco, México; para ello se realiza una caracterización fisicoquímica de diferentes muestras de lactosuero provenientes de la elaboración de quesos, en la cual se obtuvieron altas concentraciones de fósforo, nitrógeno y azúcares totales, presentando una alta DBO, que al ser desechado de manera incorrecta, afecta la composición del suelo además que reduce el oxígeno disuelto en los cuerpos de agua, lo que conlleva a una proliferación excesiva de microorganismos y una producción de gases como metano (CH_4) y dióxido de carbono (CO_2).

2.3 Valorización y procesamiento de lactosuero

La industria quesera aún no cuenta con un adecuado manejo y procesamiento de los subproductos que genera. Se estima que anualmente se producen 2.4 millones de toneladas de lactosuero y que solo la mitad se aprovecha en forma limitada para la preparación de requesón, alimentación de ganado bovino o porcino (Mazorra Manzano & Moreno Hernández, 2019) y en menor medida para la obtención de lactosa, aislados y concentrados de proteína de suero (Torres Martínez & Romero León, 2020).

El lactosuero es uno de los compuestos de mayor importancia en la industria láctea en cuestión de desarrollo de tecnologías y obtención de nuevos compuestos debido su calidad nutricional (Figura 4) y propiedades bioactivas (Aponte Colmenares *et al.*, 2023).

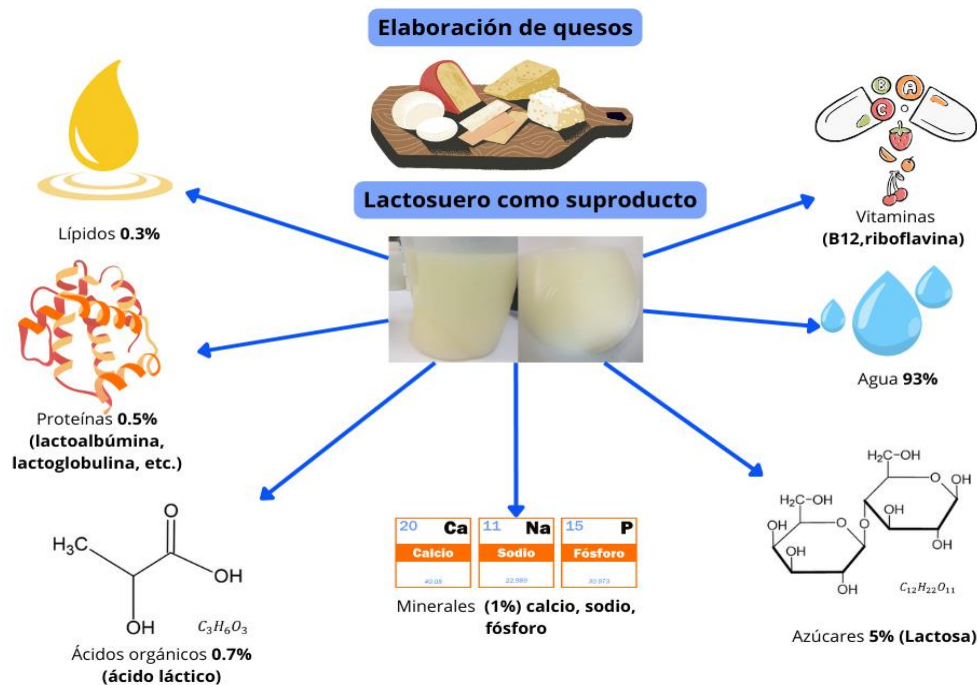


Figura 4: Composición general del suero de leche (Lizárraga Chaidez *et al.*, 2023)

El lactosuero es empleado principalmente en la industria alimenticia, sin embargo también puede utilizarse como materia prima en la industria farmacéutica, cosmética, agrícola, química y energética, debido a que a partir de este se puede producir: ácido láctico, biocombustibles, bioplásticos, polisacáridos, prebióticos, ácidos grasos, péptidos bioactivos y bacteriocinas (Aponte Colmenares *et al.*, 2023; Lizárraga Chaidez *et al.*, 2023; Velázquez de Lucio *et al.*, 2024).

Para el aprovechamiento y manejo del lactosuero se han planteado procesos fisicoquímicos, enzimáticos y microbianos como la hidrólisis química y enzimática, la fermentación y tratamientos térmicos (Aponte Colmenares *et al.*, 2023; Velázquez de Lucio *et al.*, 2024), sin embargo algunos procesos son especializados y requieren equipo e instalaciones especiales que tienen un costo elevado, por lo tanto para que los procesos sean rentables para las empresas, se requiere elevar la efectividad de la producción, aprovechar los equipos existentes y utilizar recursos accesibles (Escobar Cano, 2008). En el trabajo realizado por Torres Martínez & Romero León (2020) se plantean cuatro alternativas de tratamiento para el suero de leche: la primera alternativa es el tratamiento biológico sin valorización que consiste en la digestión aeróbica del lactosuero; como segunda alternativa se tiene el tratamiento biológico con valorización, en el cual se incluyen procesos de digestión anaeróbica, hidrólisis de lactosa y fermentación para la producción de etanol, ácido láctico e hidrógeno; la tercera alternativa tiene que ver con el tratamiento fisicoquímico (Tabla 3), que consiste en la separación del lactosuero en fracciones individuales mediante tecnologías de extracción sofisticadas, entre las cuales se pueden mencionar ósmosis inversa, cromatografía, electrodiálisis, la separación por membrana (microfiltración, nanofiltración, ultrafiltración), la precipitación térmica o isoelectrica y la precipitación de proteínas (Lipnizki, 2010; Ramírez Navas, 2013 ;Torres Martínez & Romero León, 2020).

Tabla 3: Tecnologías de separación por membrana para el procesamiento del lactosuero y su descripción (Lipnizki, 2010)

Método de separación	Descripción	Procesamiento del lactosuero
Microfiltración	Proceso de separación de fase líquida en la cual las partículas disueltas mayores a 1µm son retenidas en la membrana	<ul style="list-style-type: none"> • Remoción de bacterias y grasa • Obtención de proteínas
Ultrafiltración	Separación de fase líquida en la que se retienen en una membrana las partículas disueltas que son más pequeñas que 1µm y más grandes que 2nm	<ul style="list-style-type: none"> • Concentración de proteínas • Recuperación de lactosa
Nanofiltración	Proceso de separación de fase líquida en la cual se retienen en una membrana las partículas disueltas más pequeñas de 2 nm	<ul style="list-style-type: none"> • Desmineralización parcial
Ósmosis inversa	Separación de membrana en fase líquida en la cual la presión transmembranal ocasiona movimiento selectivo del solvente en contra de su diferencia de presión osmótica	<ul style="list-style-type: none"> • Concentración de permeado para la producción de lactosa
Electrodialísis	Separación de fase líquida en la cual los iones pasan a través de una membrana selectiva bajo la influencia de un campo eléctrico	<ul style="list-style-type: none"> • Purificación de β-lactoglobulina • Concentración de ácido láctico

En Ramírez Navas (2013) se plantea una ecuación general de transformación de lactosuero mediante la ruta de la lactosa. El proceso inicia con la extracción o concentración de lactosa y una posterior hidrólisis de la misma, con lo cual se logra obtener una amplia gama de productos de interés industrial (Figura 5).

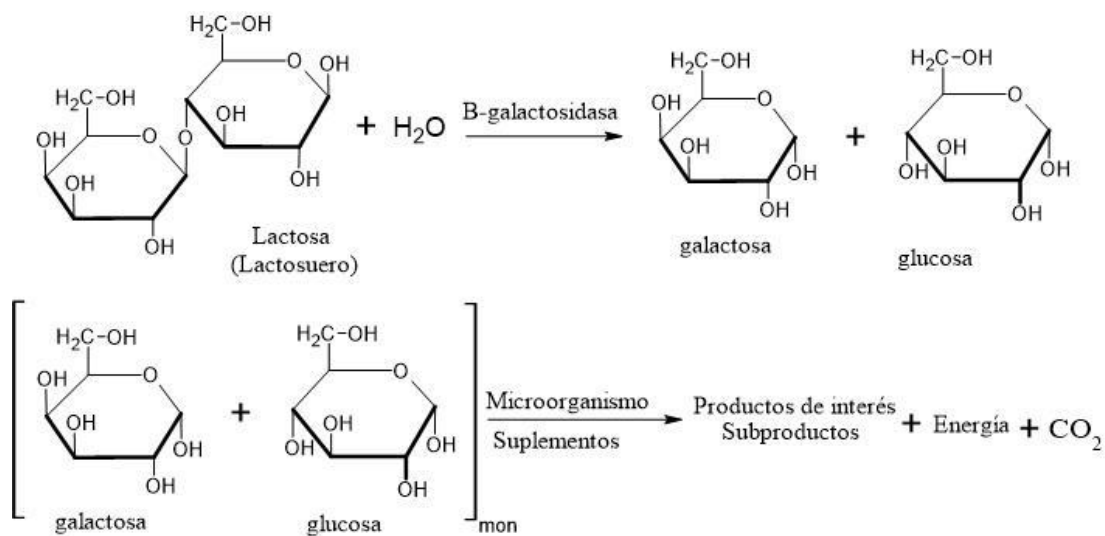


Figura 5: Ecuación general de transformación de lactosuero (Ramírez Navas, 2013)

2.3.1 Sustrato para medios de cultivo

Un medio de cultivo es un conjunto de sustancias orgánicas e inorgánicas que permiten que las células (microbianas, fúngicas, vegetales, animales) obtengan los nutrientes necesarios para su crecimiento y conservación en un ambiente aislado y controlado, con la finalidad de recrear un entorno óptimo que permita su desarrollo y propagación, además de poder ser identificadas. Los medios de cultivo son utilizados principalmente en el ámbito de la microbiología, biología molecular, biotecnología, farmacéutica, medicina clínica, análisis de calidad, industria alimenticia y agrícola, control ambiental e investigación. (Rodríguez Martínez & Zhurbenko, 2018).

Un medio de cultivo se compone generalmente por nutrimentos orgánicos e inorgánicos y pueden requerirse en niveles macro y micro; las células en crecimiento pueden sintetizar proteínas a partir de fuentes de nitrógeno y carbohidratos contenidos en el medio de cultivo, además de sustancias adicionales que a pesar de que se requieren en menor cantidad son fundamentales para el desarrollo de las células (Bonnet *et al.*, 2020; Rodríguez Martínez & Zhurbenko, 2018; Serrano Berríos & Gutiérrez Ilabaca, 2018)

- Agua: Medio en el que se disuelven los componentes del medio, solubiliza y transporta los nutrientes y activa las reacciones de hidrólisis.
- Bases nutritivas: Compuestos orgánicos nitrogenados que se extraen de material biológico, entre estos podemos destacar las peptonas e hidrolizados que son compuestos orgánicos hidrosolubles formados por cadenas de aminoácidos que se obtienen mediante la hidrólisis enzimática o ácida de materia proteica (tejidos animales, vegetales, levaduras), por otra parte también se incluyen en su composición extractos e infusiones que son sustancias solubles que se obtienen a través de la extracción en medio acuoso y que aportan nutrientes esenciales y factores de crecimiento.
- Carbohidratos: Es el componente que brinda energía a las células además de diferenciar a determinados organismos fermentadores, entre estos se encuentran los azúcares y almidones
- Factores de crecimiento: Elementos específicos que requieren ciertos microorganismos para desarrollarse, en ocasiones estos elementos son necesarios en cantidades pequeñas debido a que no pueden ser sintetizados por las células del medio. Estos factores pueden ser vitaminas que funcionan como coenzimas necesarias en el metabolismo, bases nitrogenadas para la síntesis de ácidos nucleicos y sales minerales que brindan grupos funcionales al medio y regulan su acidez.
- Colorantes e indicadores: Agentes que permiten visualizar cambios de color debido a reacciones bioquímicas presentes en el medio.
- Antibióticos y antifúngicos: Sustancias selectivas con un espectro de acción conocido que eliminan microorganismos específicos.

Los tipos de medios de cultivo que existen pueden clasificarse por su estado físico, por su aplicación y por su composición (Pérez Reyes *et al.*, 2021). Por su estado físico se pueden encontrar tres tipos: líquidos, sólidos y semisólidos; el medio líquido también llamado caldo, es aquel que tiene sus componentes disueltos en agua y se puede emplear para el crecimiento de hongos y la producción de metabolitos, por otra parte los medios semisólidos y sólidos son aquellos que en su composición tienen agentes gelificantes, los semisólidos permiten el movimiento de las células y se emplean para siembra en profundidad o suspensión de esporas mientras que los sólidos permiten el aislamiento, propagación e identificación de microorganismos (Andreu Espinosa *et al.*, 2023; Rodríguez Martínez & Zhurbenko, 2018)

Por su aplicación se pueden clasificar en medios de cultivos generales, selectivos, de enriquecimiento y diferenciales. Los medios generales son aquellos en los que pueden crecer la mayoría de los microorganismos y que no poseen condiciones nutricionales específicas, por otra parte los selectivos contienen en su formulación

sustancias que inhiben el desarrollo de microorganismos contaminantes o que no poseen ciertas características (resistencia a antibióticos), los medios de enriquecimiento contienen sustancias que promueven el crecimiento de organismos de interés, finalmente los medios diferenciales son aquellos que permiten el crecimiento de diversos tipos de bacterias y tienen compuestos indicadores que al interactuar con los microorganismos ocurre un cambio visible en el medio, lo que permite una rápida identificación y diferenciación (Prinzi & Rohde, 2020; Rodríguez Martínez & Zhurbenko, 2018).

Por su composición los medios de cultivo pueden ser naturales, sintéticos o semisintéticos. Los medios naturales son aquellos que se componen principalmente por sustancias de origen animal y vegetal de las cuales no se conocen con exactitud sus componentes y las concentraciones de sus nutrientes; los semisintéticos son aquellos en los que se combinan compuestos químicos definidos con componentes naturales y los medios sintéticos son los medios que poseen una composición definida con proporciones exactas de sustancias altamente purificadas (Andreu Espinosa *et al.*, 2023 ; Reynoso *et al.*, 2015; Serrano Berríos & Gutiérrez Ilabaca, 2018)

Los residuos agroindustriales son una alternativa viable para ser ocupados en nuevas formulaciones de medios de cultivo debido a su bajo costo y a su composición, que satisface los requerimientos nutricionales de diversos microorganismos de interés para la industria. Por tal motivo el suero de leche se ha utilizado como una base nutritiva o sustrato alternativo en ensayos de crecimiento de bacterias ácido lácticas y en ocasiones se suplementa con sustancias que mejoran el desarrollo bacteriano (Benaissa *et al.*, 2017). Se ha utilizado suero de queso suplementado con carbohidratos, sales minerales y extracto de levadura para la producción de *Lactobacillus paracasei* HA9-2, se obtuvieron resultados favorables debido a que hubo un aumento considerable de biomasa comparado con la obtenida en el medio MRS (de Man Rogosa y Sharpe) que es específico para el desarrollo de *Lactobacillus*; por otra parte el pH ácido del medio (6.0) influyó positivamente en su desarrollo (Vázquez *et al.* 2009). Así mismo, se ha empleado con la finalidad de producir sustancias de interés como las bacteriocinas; se ha formulado un medio de cultivo a base de lactosuero líquido al 10%, adicionado con extracto de levadura, fosfato monopotásico y sulfato de magnesio (Andrade *et al.*, 2015) y un medio económico que contiene suero de leche, melaza y aguamiel, en el cuál se ha logrado su producción empleando las especies *Enterococcus faecium* y *Streptococcus infantarius*, presentando un crecimiento y actividad antimicrobiana significativos (Díaz Sánchez, 2024). Por otra parte, se han realizado ensayos con otros microorganismos y se destaca al suero de leche como un sustrato adecuado para el cultivo de microalgas heterótrofas presentando un crecimiento rápido (17 días); estos organismos tienen una gran importancia debido a que se pueden extraer biocombustibles, proteínas y aceites (Ramírez Hernández *et al.*, 2025). También se ha probado el lactosuero como un sustrato para levaduras y hongos, alcanzando valores adecuados de productividad y contenido proteico (Zumbado Rivera *et al.*, 2006).

2.3.2 Producción de ácido láctico

El ácido láctico ($C_3H_6O_3$) también conocido como ácido 2-hidroxipropanoico ($CH_3CHOHCOOH$) es una sustancia perteneciente a los alfa-hidroxiácidos, que son compuestos orgánicos formados por grupos funcionales hidroxilo (OH) y carboxilo (COOH) (Figura 6). Este compuesto fue descubierto por el químico sueco Karl Wilhelm Scheele en 1780, y se comenzó a producir de forma comercial por Charles E. Avery en Massachusetts, Estados Unidos en 1881. Avery patentó y aplicó un proceso de fermentación de azúcares provenientes de fuentes vegetales (Groot *et al.* ,2010; Mena Beltrán *et al.*, 2025; Rodríguez Durán *et al.*, 2012).

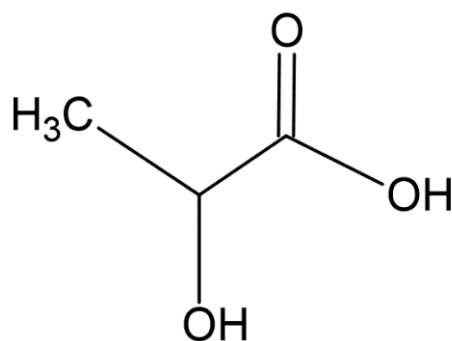


Figura 6: Estructura de la molécula de ácido láctico (Cvitanovic *et al.*, 2024 p.19)

Esta sustancia tiene un peso molecular de 90.08 g/mol, con punto de fusión bajo, soluble en éter, miscible en agua y alcohol e insoluble en cloroformo y éter de petróleo, al purificarse se encuentra en estado sólido, tiene un aspecto cristalino color blanco, altamente higroscópico; sin embargo comúnmente se encuentra en solución acuosa del 80%-90%, tiene un aspecto viscoso, transparente, no volátil e incoloro (García *et al.*, 2010).

Es un ácido orgánico que tiene aplicaciones en la farmacéutica como electrolito, fuente de minerales, regulador de pH y sistema de entrega de fármacos, en la industria de materiales es un precursor del ácido poliláctico (PLA), que es un polímero biodegradable que puede emplearse en empaques y textiles, en la cosmética como pH buffer, antimicrobiano y rejuvenecedor de la piel, en la química como neutralizante, solvente y agente limpiador y en la industria alimenticia como acidulante, conservador y emulsificante. La aplicación de procesos de separación, concentración y secado permiten obtener ácido L-láctico purificado, el cual posee una gran demanda mundial (Mena Beltrán *et al.*, 2025; Rodríguez Durán *et al.*, 2012; Victorelli, 2011).

En su estructura se conforma por un átomo de carbono quiral asimétrico que le confiere actividad óptica. El ácido láctico puede encontrarse en diferentes formas: dos isómeros ópticos puros, también llamados enantiómeros que son ácido láctico dextrógiro, D-ácido láctico o (R)-ácido láctico y el ácido láctico levógiro, L- ácido láctico o (S)-ácido láctico, y una forma racémica constituida por fracciones equimolares de ambos isómeros (Figura 7), sin embargo el isómero (D) se utiliza principalmente en la industria química, debido a que su consumo es perjudicial para el metabolismo humano y puede generar descalcificación y acidosis. Por otra parte, el isómero (L) es clasificado por la Food and Drug Administration (FDA) como una sustancia GRAS (Generalmente Reconocido como Seguro) para uso alimenticio y farmacéutico (Díaz Orozco *et al.*, 2025; Mena Beltrán *et al.*, 2025; Nanfra *et al.*, 2021; Piassi Bernardo *et al.*, 2016).

organismos que realizan esta fermentación se inactivan en continua presencia de grandes cantidades de oxígeno (García *et al.*, 2010; Groot *et al.*, 2010; Serna Cock & Rodríguez de Stouvenel, 2005).

La síntesis de los enantiómeros (D) o (L) se determina por la presencia de la enzima D-lactato deshidrogenasa o L-lactato deshidrogenasa respectivamente, que realiza la reacción final de reducción de ácido pirúvico a ácido láctico en la vía glucolítica (García *et al.*, 2010; Vittorelli, 2011; Wang *et al.*, 2021).

Para obtener ácido láctico vía fermentativa, se utilizan bacterias y hongos principalmente. Entre los organismos más utilizados se encuentran los hongos del género *Rhizopus* y bacterias del género *Lactobacillus*; los *Lactobacillus* tienen una alta productividad, sin embargo tienen requerimientos nutrimentales especiales y costosos. Por otra parte *Rhizopus* requiere menos nutrientes para crecer, pero tiene un rendimiento menor y necesita oxígeno (Groot *et al.*, 2010). Entre las ventajas se puede destacar que existe una gran variedad de microorganismos que pueden utilizarse en rutas fermentativas, y se puede dirigir la selectividad de los isómeros separados o la mezcla racémica lo que permite obtener de forma más pura los isómeros de ácido láctico (Piassi Bernardo *et al.*, 2016); además de que la fermentación puede alcanzar altos rendimientos utilizando sustratos económicos y renovables como los residuos orgánicos, contribuyendo a la economía circular y al desarrollo de nueva tecnología para el procesamiento y obtención de productos de interés (Gómez Castro *et al.*, 2025).; sin embargo aún presenta algunas desventajas como la obtención de subproductos no deseados que dependen de las condiciones de la fermentación, por lo que debe ser un proceso controlado para alcanzar mayor eficiencia; la recuperación y purificación costosa de isómeros, y la escalabilidad que aún representa un desafío para su implementación industrial. Con la finalidad de mejorar el proceso de obtención de ácido láctico, se han desarrollado tecnologías como extracción, adsorción, separación por membranas y electrodiálisis (Piassi Bernardo *et al.*, 2016).

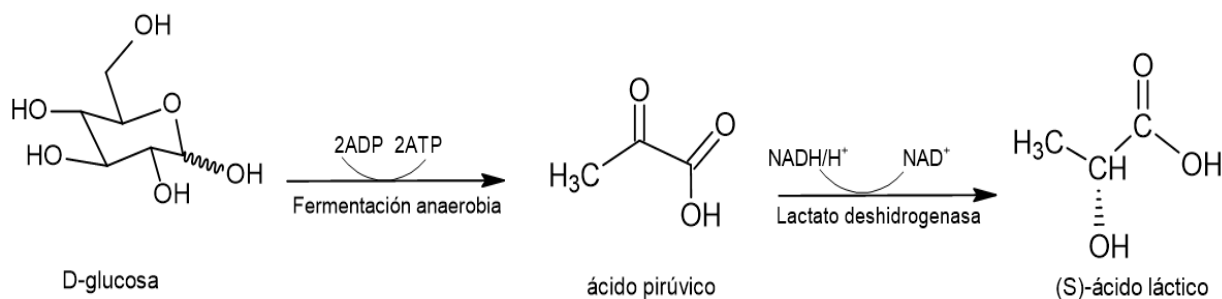


Figura 9: Obtención biotecnológica del ácido láctico (Alcántara *et al.*, 2011; p.311)

2.3.3 Uso en la industria alimentaria

Debido a su composición, el lactosuero se ha procesado para emplearse como materia prima en la industria alimentaria; se han planteado diversas opciones de aprovechamiento entre las que se encuentra la elaboración de queso de suero, la obtención de suero deshidratado que se puede emplear como un aditivo en panadería, repostería y cárnicos, mejorando la textura y retención de humedad del producto final. De igual manera se emplean procedimientos fisicoquímicos como la centrifugación, clarificación y separación por membranas para poder fraccionar el suero de leche y obtener sustancias más puras como sales minerales, aislados de proteína y lactosa. La lactosa ($C_{12}H_{22}O_{11}$) es un disacárido con un peso molecular de 342.297 g/mol que se encuentra naturalmente en la leche y sus derivados, se compone principalmente por glucosa y galactosa empleándose como un edulcorante relevante para la elaboración de alimentos y una materia prima para la producción de otros sustancias de interés industrial, especialmente ácidos orgánicos (Pais Chanfrau *et al.*, 2020). Por otra parte, los aislados (WPI) y concentrados (WPC) proteicos presentan propiedades emulsionantes y espumantes brindando estabilidad en la consistencia final de productos de repostería y lácteos como postres, helados y margarinas (Aponte Colmenares *et al.*, 2023; Delgado Macuil *et al.*, 2025). También se han elaborado alimentos

funcionales, dietéticos y nutraceuticos a base de lactosuero como bebidas para deportistas, bebidas a las cuales se les agrega fruta o son fermentadas, bebidas alcohólicas, fórmulas infantiles, recubrimientos comestibles y agentes antimicrobianos (Jiménez Robles *et al.*, 2025; Mazorra Manzano & Moreno Hernández, 2019; Aponte Colmenares *et al.*, 2023; Lipnizki, 2010).

2.3.4 Obtención de materiales y otras sustancias de interés

Además de la variedad de productos alimenticios que pueden elaborarse utilizando el lactosuero como materia prima, también puede usarse en la industria farmacéutica, cosmética, agrícola, química y energética, debido a que a partir de este se pueden producir bioplásticos, polisacáridos, prebióticos, ácidos grasos, péptidos bioactivos y bacteriocinas (Aponte Colmenares *et al.*, 2023; Lizárraga Chaidez *et al.*, 2023; Velázquez de Lucio *et al.*, 2024). El lactosuero puede fermentarse y procesarse para obtener biofertilizantes utilizando BAL con propiedades promotoras del crecimiento vegetal, debido a su capacidad para fijar nitrógeno y solubilizar fósforo mediante la producción de ácidos orgánicos, lo que representa una alternativa viable garantizando un buen rendimiento de los cultivos (Caballero *et al.*, 2024). De igual manera se ha planteado como materia prima para la producción de polisacáridos y polímeros biodegradables como el ácido poliláctico (PLA) que es un polímero biodegradable con gran importancia en medicina y los polihidroxialcanoatos (PHAs), obtenidos mediante la fermentación con algunos microorganismos como: *Bacillus megaterium*, *Bacillus cereus* y *Escherichia coli* (Delgado Macuil *et al.*, 2025; Serna Cock & Rodríguez de Stouvenel, 2005).

2.3.5 Obtención de biocombustibles

Para la obtención de biocombustibles, se ha llevado a cabo la fermentación de lactosuero en biodigestores. A través de la digestión anaeróbica, se puede obtener biogás, una fuente de energía renovable que se compone principalmente por dióxido de carbono y metano que se utiliza para generar calor y electricidad, presentando una alternativa efectiva y renovable (Blandón Navarro *et al.*, 2014). Por otra parte, se ha empleado lactosuero como un sustrato alternativo para la producción de etanol, utilizando principalmente bacterias y levaduras (Delgado Macuil *et al.*, 2025). De igual manera se ha producido biohidrógeno, una fuente energética limpia que se utiliza como combustible y que puede obtenerse a través de la fermentación anaeróbica del suero utilizando bacterias de los géneros *Clostridium sp.*, *Bacillus sp.* y *Enterobacter sp.*, aunque también se han evaluado cultivos mixtos de microalgas con bacterias y la ingeniería metabólica de bacterias con la finalidad de aumentar el rendimiento de producción a partir de lactosa (Paredes Godoy *et al.*, 2025). Las microalgas principalmente de los géneros *Chlamydomonas*, *Chlorella* y *Scenedesmus*, son estudiadas para la producción de biocombustibles utilizando como sustrato principal los subproductos de la industria láctea, además de que pueden acumular 40% de lípidos (Ozcelik *et al.*, 2024).

2.4 Importancia de los microorganismos en la industria biotecnológica

El mundo microscópico posee una amplia variedad de seres vivos con características únicas que han sido descubiertos y ampliamente utilizados por los seres humanos a lo largo de la historia; entre los organismos más importantes se encuentran las bacterias y los hongos.

Las bacterias son microorganismos unicelulares procariontes, su tipo de nutrición puede ser autótrofo (fotosintéticas o quimiosintéticas) o heterótrofo (obtiene energía y nutrientes de fuentes orgánicas externas); llevan a cabo la respiración celular aerobia (presencia de oxígeno) o anaerobia (ausencia de oxígeno) estricta o facultativa (Reynoso *et al.*, 2015; Tortora *et al.*, 2007); son células sin orgánulos con un tamaño de entre 0.5 hasta 10 μm , con reproducción mediante fisión binaria de forma rápida en condiciones óptimas y que pueden agruparse en colonias. En cuanto a su morfología pueden tener varias formas: esférica (cocos), cilíndrica o bastones (bacilos), espiral (espirilos) comas (vibrios) y filamentosas; también pueden formar agrupamientos como duplas, cadenas o racimos, dependiendo de la especie (Pérez & Mota, 2006; Sánchez Contreras 2017; Stanier *et al.*, 2024), por otra parte los organismos bacterianos tienen un comportamiento denominado *quorum sensing* que se refiere a la capacidad de las bacterias de comunicarse entre ellas y producir sustancias químicas de señalización denominadas inductores para formar matrices poliméricas extracelulares conocidas como

biopelículas (Tortora *et al.*, 2007). Algunas bacterias pueden presentar organelos de movilidad como cilios y flagelos; cuentan con una pared celular que las protege de las condiciones ambientales extremas no favorables para su desarrollo, además de permitir el tránsito selectivo de nutrientes externos al interior de la célula y de productos de desecho de la célula al medio externo. La composición de la pared celular consiste en peptidoglicano, polisacáridos, proteínas, lípidos, lipoproteínas y liposacáridos que dan lugar a dos tipos principales de paredes celulares que permite clasificar a las bacterias en Grampositivas y Gramnegativas. Para identificar las bacterias pertenecientes a cada grupo se realiza una tinción de Gram, que permite diferenciarlas de acuerdo a la coloración en la célula (Menéndez Gutiérrez, 2000; Sánchez Contreras *et al.*, 2017; Tortora *et al.*, 2007).

Por otra parte, los hongos son organismos eucariontes, unicelulares o multicelulares que pueden encontrarse de forma natural y abundante en el suelo, agua, árboles y residuos vegetales y animales. Entre sus características se puede mencionar que son heterótrofos debido a que requieren carbohidratos para obtener energía, por lo que toman sus nutrientes por absorción mediante la degradación enzimática de compuestos complejos; tienen la capacidad de crecer en una amplia variedad de sustratos interviniendo en el ciclo de carbono y nitrógeno. Respecto a su crecimiento, la mayoría se desarrolla bajo condiciones aerobias estrictas, sin embargo también existen aquellos que son anaerobios facultativos; en su desarrollo también influyen otras condiciones como la temperatura, humedad y luz. Los hongos no poseen movilidad y tienen una reproducción sexual y asexual. Durante su ciclo de vida, su fase somática puede ser unicelular como las levaduras, o filamentosa como los mohos; además cuentan con núcleos haploides y una pared celular constituida por polisacáridos (quitina), proteínas y lípidos. La forma de vida natural de los organismos fúngicos es principalmente saprófita debido a que descomponen materia orgánica y algunos otros establecen relaciones simbióticas mutualistas como las micorrizas y los líquenes, aunque también pueden ser parásitos de plantas y animales (Cepero de García *et al.*, 2012; Tortora *et al.*, 2007)

A través de la biotecnología, se han empleado diversas especies de microorganismos para la producción de alimentos, bebidas y fármacos así como para la obtención de metabolitos, enzimas y compuestos orgánicos que tienen aplicaciones en la agricultura, biorremediación, la industria química y energética (Ostos Ortiz *et al.*, 2019). Para un aprovechamiento óptimo del proceso de fermentación, se debe hacer una adecuada elección del microorganismo además de tomar en cuenta factores como el sustrato de crecimiento, los nutrientes, el pH y la temperatura, condiciones que permiten un desarrollo adecuado del microorganismo y que influyen en la rentabilidad y eficiencia del proceso. Para la elección del microorganismo más adecuado pueden tomarse en cuenta algunas consideraciones (Groot *et al.*, 2010).

- Microorganismos no patógenos ni contaminantes, que se mantengan estables a pesar de los cambios de condiciones en el medio para una producción eficiente
- Alta productividad para reducir el tiempo de fermentación
- Alto rendimiento de conversión de sustrato
- Fuentes de carbono y nutrientes con un bajo costo
- Baja cantidad de subproductos para incrementar el rendimiento de obtención del producto de interés y que sea más sencilla su purificación

2.4.1 *Escherichia coli*

La especie *Escherichia coli* (*E.coli*) fue descubierta y aislada por primera vez en 1885 por Theodor Escherich, pertenece al género *Escherichia* de la familia *Enterobacteriaceae* que es un grupo homogéneo de microorganismos de rápido crecimiento con forma bacilar, Gram-negativos, con una pared celular delgada que contiene una o dos capas de peptidoglicano, no esporulados, anaerobios facultativos y mayormente motiles, que naturalmente se encuentran presentes en el suelo, agua y en la mucosa epitelial cubriendo el tracto digestivo

humano y de otros mamíferos, con la función de evitar la proliferación de patógenos y sintetizar vitaminas esenciales como la vitamina K y complejo B que participan en el proceso de coagulación de la sangre y que contribuyen al metabolismo energético y el funcionamiento del sistema nervioso respectivamente; sin embargo algunas cepas pueden causar diarrea, infecciones urinarias y gastrointestinales (Beeckmans, 2009; Basavaraju & Gunashree, 2022; Chen *et al.*, 2025; Yu *et al.*, 2021).

Son células de que miden aproximadamente 1.0 μm de largo y 0.35 μm de ancho, que metabolizan glucosa para producir acetato, su temperatura óptima de crecimiento es de 37°C con pH de 7.0, sin embargo puede crecer desde 10°C a 40°C y un pH de 4.5-9.5. Para su crecimiento en laboratorio tiene requerimientos nutricionales simples: medio de cultivo líquido o sólido que contenga glucosa como fuente de energía, además de sales de amonio como fuente de nitrógeno (Son & Taylor, 2022; Basavaraju & Gunashree, 2022).

2.4.1.2 Aplicaciones y beneficios

E.coli es un organismo modelo primordial que se ha sido utilizado en procesos biotecnológicos debido a su fácil adaptabilidad en medios de cultivo simples, a sus requerimientos nutrimentales sencillos, su crecimiento rápido y su capacidad para producir compuestos como etanol y ácidos orgánicos (ácido succínico, láctico, fórmico y acético) a través de su metabolismo fermentativo de hexosas y pentosas (Díaz Orozco *et al.*, 2025). Por su versatilidad y eficiencia, se han modificado algunas cepas de *E.coli* para emplearse a una escala industrial, empleando investigación microbiológica e innovación de tecnologías en los campos de la ingeniería genética y biología molecular para la clonación y expresión de genes de interés; además se ha estudiado completamente su código genético y se han desarrollado técnicas moleculares para la modificación genética, ADN recombinante, plásmidos y mecanismos de regulación, expresión de genes y vías metabólicas, con la finalidad de producir moléculas de interés (insulina humana, péptidos, proteínas, ácidos grasos, enzimas, aditivos alimentarios, pigmentos) y biosensores para el monitoreo de compuestos tóxicos, degradación de contaminantes y detección de metales pesados; también puede emplearse para el desarrollo de vacunas y producción de biocombustibles (Basavaraju & Gunashree, 2022; Ostos Ortíz *et al.*, 2019; Son & Taylor, 2022; Vargas Maya & Franco, 2017).

2.4.2 Bacterias ácido lácticas (BAL)

Las bacterias ácido lácticas (BAL) son un grupo de bacterias Gram positivas, catalasa negativas, no formadoras de esporas, sin citocromos, no motiles, acidófilas, anaerobias facultativas o microaerófilas, que obtienen energía celular por fosforilación y que forman ácido láctico como producto principal de la fermentación de azúcares. Fueron descubiertas por primera vez de por Joseph Lister en 1837, aisladas de una muestra de leche (Akpogheli *et al.*, 2025; Contreras López, 2021; Freire *et al.*, 2021; Guzmán Delgado, 2024).

La mayoría de estas bacterias son tolerantes a las concentraciones salinas y a las temperaturas altas así como a un pH debajo de 5.0; son organismos de rápido crecimiento, con genomas pequeños, un metabolismo simple y relevancia en la industria principalmente de los alimentos (Sánchez & Tromps, 2014). Estos organismos pueden encontrarse de forma natural en lácteos, cereales, frutas, vegetales, productos cárnicos, pesqueros, bebidas alcohólicas como vino y cerveza y la microbiota humana de la boca, el tracto vaginal e intestinal (Thongwai, 1999).

2.4.2.1 Características generales

En el año de 1919 Orla-Jensen clasificó por primera vez el grupo BAL, basándose en características fenotípicas, morfológicas, metabólicas y fisiológicas para establecer su diferenciación taxonómica (Freire *et al.*, 2021). Las BAL en su mayoría presentan un crecimiento óptimo a un pH de entre 5.0-6.0, a una temperatura mesófila (30-37°C) o termófila (42-50°C), y requieren desarrollarse en ambientes complejos ricos en azúcares, aminoácidos, vitaminas y bases nitrogenadas. Su morfología se encuentra dividida en dos formas celulares principales: bacilos y cocos Gram positivos. Algunos de los principales géneros que presentan forma bacilar son *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, mientras que géneros como *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus* y *Weissella* presentan forma cocoide (Mena Beltrán *et al.*, 2025). Pueden

encontrarse como células simples, duplas o tétradas, incluso formando pequeñas o grandes cadenas; la morfología influye en la capacidad de adherirse a sustratos, formar biopelículas y resistir el estrés ambiental (Freire *et al.*, 2021; Vinocunga Pillajo, 2025). Por otra parte, pueden clasificarse en función de los productos obtenidos a partir de su metabolismo de glucosa en homofermentativas y heterofermentativas (Akpogheli *et al.*, 2025; Sánchez & Tromps, 2014; Santander Cortés & Castro Rojas, 2024; Vinocunga Pillajo, 2025). (Tabla 4).

Tabla 4: Metabolismo homofermentativo y heterofermentativo de las BAL

	Homofermentativa	Heterofermentativa
Metabolismo	Metabolismo de hexosas por la vía de la glucólisis o Embden-Meyerhoff-Parnas	Vía de las pentosas-fosfato
Enzima	Aldolasa y hexosa isomerasa	Fosfocetolasa
Subproductos	Ácido láctico	Ácido láctico, etanol, dióxido de carbono, ácido acético
Beneficios	Mejora la estabilidad microbiológica del producto	Aportan un perfil organoléptico más complejo y atractivo para los fermentados.
Géneros	<i>Lactococcus</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Bifidobacterium</i> <i>Enterococcus</i>	<i>Lactobacillus</i> , <i>Leuconostoc</i> , <i>Weissella</i>

Homofermentativos obligados: Estos microorganismos producen únicamente ácido láctico, fermentan las hexosas a través de la vía de la glucólisis; no pueden fermentar pentosas ya que no producen la enzima fosfocetolasa (Thongwai, 1999; Akpogheli *et al.*, 2025). En la vía de la glucólisis, los azúcares se convierten en piruvato vía enzimática, generando energía química en forma de ATP y NADH; el ácido láctico se produce principalmente para mantener en función los procesos celulares, en los cuales la energía se utiliza para el crecimiento y mantenimiento del microorganismo. Algunas especies BAL como *Lactococcus lactis*, que no tienen fosfocetolasa, bajo ciertas condiciones pueden producir acetato o etanol mediante la vía de la glucólisis (Groot *et al.*, 2010).

Heterofermentativos obligados: Estas bacterias fermentan hexosas mediante la vía de las pentosas fosfato (también llamada vía del 6-fosfogluconato), usando la enzima fosfocetolasa dando como productos ácido láctico, etanol, ácido acético y dióxido de carbono en proporciones equimolares (Thongwai, 1999). Las cepas que pertenecen a este grupo no poseen la enzima fructosa-1,6-difosfato aldolasa, que es fundamental para la vía homofermentativa, los productos de esta fermentación pasan por un proceso de mayor oxidación que el ácido láctico, dando como resultado la producción acetato, acetoina o diacetil y dióxido de carbono (Ibrahim, 2016). En la vía de la fosfocetolasa, un azúcar con seis carbonos (C_6) se transforma en un azúcar con cinco carbonos (C_5) y una molécula de dióxido de carbono (CO_2) que posteriormente se divide en: una molécula de dos carbonos (C_2) que da como subproducto acetato o etanol y otra de tres carbonos (C_3) que posteriormente produce ácido láctico (Groot *et al.*, 2010).

Heterofermentativos facultativos: En este tipo de metabolismo, las hexosas se transforman en ácido láctico mediante la glucólisis, estas bacterias poseen tanto aldolasa como fosfocetolasa y en ausencia de glucosa fermentan pentosas mediante la vía pentosa-fosfato (Thongwai, 1999). Bajo condiciones en las que la glucosa es limitada, las hexosas se fermentan y se produce ácido láctico (en su mayoría), ácido acético, etanol y ácido fórmico. Incluso algunos microorganismos que fermentan pentosas pueden producir exclusivamente ácido láctico (Ibrahim, 2016; Groot *et al.*, 2010). En el proceso de fermentación la glucosa se transforma en ácido pirúvico, liberando energía; no requiere de oxígeno y utiliza una molécula orgánica como aceptor final de electrones, por consiguiente gran parte de la energía original de la glucosa permanece almacenada en los productos finales (Tortora *et al.*, 2007).

2.4.2.2 Aplicaciones y beneficios

Las BAL tienen una gran importancia en la industria de los alimentos fermentados como el queso y el yogurt, también en el procesamiento de carnes y bebidas alcohólicas, para la mejora, conservación y desarrollo de características sensoriales y la producción de compuestos bioactivos (Mena Beltrán *et al.*, 2025; Ponce Zambrano, 2022; Santander Cortés & Castro Rojas, 2024). Estas bacterias al producir ácido láctico provocan acidificación del medio e inhiben el crecimiento de otros microorganismos que pueden ser patógenos (bacterias Gram negativas, mohos y levaduras), aunado a que algunas pueden generar otras sustancias como alcoholes, ácidos orgánicos, exopolisacáridos (EPS) ésteres, compuestos azufrados, aldehídos, bacteriocinas y factores antimicrobianos. Por su amplia presencia y sus numerosas aplicaciones algunas cepas han sido designadas como organismos Generalmente Reconocidos como Seguros (GRAS por sus siglas en inglés Generally Recognized As Safe), debido a que al consumirse no representa toxicidad para las células eucariotas, e incluso algunas cepas BAL son consideradas probióticos: microorganismos vivos que al administrarse en la cantidad correcta, influyen de manera positiva en la nutrición y en la salud gastrointestinal humana, otorgando beneficios como la inhibición de crecimiento de patógenos, el fortalecimiento de la barrera epitelial del intestino, mejoramiento de la digestión y modulación del sistema inmune (Freire *et al.*, 2021; Roy, 2019; Gobbetti & Minervini, 2014), incluso algunas cepas se han mostrado como una alternativa potencial para la prevención del asma y atenuación de alergias (Dębińska & Sozańska, 2022); sin embargo hay algunas excepciones como el género *Enterococcus*, en el que algunas cepas presentan factores de virulencia y genes de resistencia a antibióticos causando enfermedades (Freire *et al.*, 2021; Mena Beltrán *et al.*, 2025; Vinocunga Pillajo, 2025).

2.4.2.3 *Lactobacillus rhamnosus* (*L.rhamnosus*)

Es una especie del género *Lactobacillus*, propuesto por Beijerinck en 1901, pertenece al phylum *Firmicutes*, clase *Bacilli*, orden *Lactobacillales* y familia *Lactobacillaceae*, este género es el más grande perteneciente a las BAL (Ibrahim, 2016). Son microorganismos estrictamente fermentativos, mesófilos, con forma de bastón larga y redondeada que puede formar cadenas; producen ácido láctico como compuesto metabólico exclusivo o mayoritario y se desarrollan en sustratos ricos en carbohidratos, su crecimiento es desfavorable en presencia de oxígeno y favorable en presencia de dióxido de carbono, su temperatura óptima de crecimiento es de 30-40°C con un pH de 5.5 a 5.8. Estos organismos pueden disminuir el pH de alimentos que contengan azúcar fermentable. Las colonias presentan un tamaño de 2 a 5 mm, forma convexa, opacas y con bordes suaves (Contreras López, 2021; Guzmán Delgado, 2024; Pérez Pérez & Trinidad Díaz, 2022).

La especie *L.rhamnosus* es heterofermentativa facultativa, microaerófila, fermentadora de hexosas para producir L-ácido láctico como producto principal por la ruta Embden-Meyerhoff, en la cual también se obtienen ácido acético, ácido fórmico y etanol en situaciones de limitación de glucosa; además pueden fermentar pentosas para producir ácido láctico, ácido acético y gluconato (Pérez Pérez & Trinidad Díaz, 2022); es capaz de fermentar galactosa, lactosa, arabinosa, maltosa, ribosa, sorbitol, sacarosa y particularmente rhamnosa; mide entre 0.8-1.0µm de ancho y 2.0-4.0 µm de longitud y pueden encontrarse como células únicas o agrupadas en cadenas cortas. Esta especie crece a una temperatura de 15 y 45°C en un pH ácido de 4.5-6.4 (Contreras López, 2021; Ibrahim, 2016; Minervini & Calasso, 2022). Taxonómicamente está estrechamente relacionada con *Lactobacillus casei* y *Lactobacillus paracasei*, lo que ha hecho que sea difícil distinguirlas usando métodos tradicionales (Gobbetti & Minervini, 2014; Roy, 2019). Entre las cepas más empleadas se encuentran *L.rhamnosus* GG (ATCC 53103) aislada por primera vez del intestino humano por Gorbach y Goldin en 1983 considerada un probiótico; además de otras cepas como *L. rhamnosus* ATCC 11443, ATCC 10863, y ATCC 7469, que han sido evaluadas para la producción exclusiva de L- ácido láctico (Sun *et al.*, 2018).

2.4.3 *Pichia anomala*

Las levaduras son organismos modelo unicelulares, fáciles de cultivar, con un tamaño de aproximadamente 10µm, de forma ovalada y pueden ser incoloras o blancas. El género *Pichia* pertenece a la familia *Saccharomycetaceae* y está conformado por aproximadamente 94 especies; es una levadura perteneciente a los ascomicetos cuyas colonias presentan una forma de elipse o esfera color blanca; se reproduce asexualmente

mediante gemación multilateral y pueden crecer bajo condiciones ambientales extremas como presión osmótica alta y en amplios rangos de temperatura y de pH. Su metabolismo consiste en la fermentación de azúcares y la asimilación de nitratos, amonio y otros compuestos nitrogenados; es facultativa debido a que puede desarrollarse en condiciones aerobias y anaerobias, sin embargo en condiciones aerobias se favorece su crecimiento, puede producir etanol en condiciones de oxígeno limitado, mientras en condiciones aerobias produce acetato (Calderón Ordaz *et al.*, 2024; Passoth *et al.*, 2005; Walker, 2011)

2.4.3.2 Aplicaciones y beneficios

La especie *Pichia anomala* ha sido aislada del suelo, agua residual, aceite contaminado y de árboles dañados por insectos; se ha utilizado en la industria alimentaria en bajas concentraciones para la elaboración de vinos debido a que contribuye positivamente a su aroma mediante la producción de compuestos volátiles, mayormente es un organismo no patógeno, sin embargo en pacientes inmunocomprometidos puede causar infecciones (Passoth *et al.*, 2005). Este organismo se ha reportado como antagonista de hongos filamentosos que provocan daño post cosecha en frutas y cereales principalmente, al producir compuestos antifúngicos como etil-acetato y α -glucanasa; de igual manera puede utilizarse para biorremediación debido a que degrada químicos recalcitrantes, metales pesados e hidrocarburos aromáticos presentes en suelos contaminados y aguas residuales. Así mismo se ha demostrado acción antimicrobiana de amplio espectro que puede emplearse para el control biológico, además de tener potencial para la producción de biofarmacéuticos, biocombustibles y polioles (Calderón Ordaz *et al.*, 2024; Walker, 2011).

2.4.4 *Trichoderma harzianum*

El género *Trichoderma*, perteneciente al orden *Hypocreales*, fue postulado en 1794 por Persoon; son hongos de fácil aislamiento y cultivo que se pueden encontrar en el ambiente, principalmente en el suelo, raíces y hojas de las plantas. Este género crece sobre desechos orgánicos y actúa como descomponedor y presenta un rápido crecimiento a una temperatura óptima entre 20-28°C y un contenido mínimo de humedad del 92%. Las colonias tienen un aspecto algodonoso o aterciopelado de color blanco y conidios color verde oscuro después de la esporulación (Cepero de García *et al.*, 2012; Romero Arenas *et al.*, 2009).

Las especies que pertenecen a *Trichoderma*, presentan un crecimiento favorable en diversos sustratos y ambientes, desarrollando una regulación metabólica que responde a los cambios ambientales y la disponibilidad de nutrientes; algunas especies pueden producir antibióticos y toxinas que permiten su supervivencia (Nascimento Silva *et al.*, 2014). Por otra parte cuentan con tres mecanismos fundamentales para desplazar fitopatógenos: 1) competencia directa por el espacio y/o nutrientes, 2) producción de metabolitos antifúngicos como quitinasas, proteasas y glucanasas, que provocan la desintegración del citoplasma y lisis celular y 3) parasitismo directo (Cortés Hernández *et al.*, 2023; Ezziyyani *et al.*, 2004; Suarez Medina *et al.*, 2024).

2.4.4.1 Aplicaciones y beneficios

El género *Trichoderma* se utiliza principalmente como agente de control biológico de enfermedades en plantas causadas por hongos patógenos del suelo que pueden pertenecer a los géneros *Phytophthora*, *Phytium* y *Fusarium* (Ezziyyani *et al.*, 2004). Algunas especies producen metabolitos secundarios para control de factores abióticos y la reducción de fitopatógenos lo que favorece el desarrollo vegetal, incluso se han reportado como potenciales promotores de crecimiento vegetal, debido a la producción de fitohormonas que estimulan la germinación, el crecimiento de raíces y el aumento de altura y grosor del tallo (Cortés Hernández *et al.*, 2023). Por otra parte, algunas especies pueden degradar compuestos orgánicos tóxicos como pesticidas, además que pueden sobrevivir en presencia de altas concentraciones de metales como cadmio, cobre y zinc (Nascimento Silva *et al.*, 2014;).

La especie *Trichoderma harzianum* puede colonizar la superficie de las plantas inhibiendo el crecimiento de bacterias patógenas y cuenta con genes relevantes para el metabolismo de aminoácidos, lípidos y carbohidratos. Principalmente se ha utilizado como promotor de crecimiento vegetal, fungicida, biofertilizante, agente de biorremediación y productor de metabolitos secundarios de interés para las industrias agrícola y farmacéutica,

como péptidos no ribosomales, antioxidantes, enzimas, antifúngicos, ácido hialurónico y terpenos (Cortés Hernández *et al.*, 2023; Geng *et al.*, 2025; Nascimento Silva *et al.*, 2014; Suarez Medina *et al.*, 2024).

2.5 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La industria láctea es una parte extensa del total de producción de alimentos a nivel global, y al mismo tiempo, genera una gran cantidad de residuos líquidos, como suero, leche diluida, grasas, aceites, sólidos suspendidos y nitrógeno; sin embargo la mayoría de fábricas productoras no cuenta con un manejo y tratamiento adecuado de estos residuos, lo que provoca contaminación principalmente en los cuerpos de agua debido a que se vierten en ellos los desechos que presentan una alta carga de materia orgánica, lo que propicia el crecimiento de microorganismos y un cambio drástico en la composición química del agua. (Valencia Denicia & Ramírez Castillo, 2009). Se estima que por cada 1000 litros de lactosuero se genera alrededor de 35 kilogramos de demanda biológica de oxígeno (DBO) y 68 kilogramos de demanda química de oxígeno (DQO), lo que equivaldría a las aguas residuales que producen 450 personas en un día. Así mismo, el vertimiento de lactosuero en fuentes fluviales representa alrededor de 49.5 a 51.75 millones de toneladas métricas; esta cantidad es vertida en ríos, lagos y aguas residuales así como en el suelo, lo que contribuye a los diversos problemas de contaminación (Asas *et al.*, 2021).

En la industria dedicada a la elaboración de quesos, actualmente se producen aproximadamente de 110-115 millones de toneladas métricas de lactosuero a nivel mundial, sin embargo sólo el 55% se procesa para elaborar otros productos alimenticios. De este porcentaje, el 45% se usa de forma líquida, el 30% en polvo, el 15% como lactosa y subproductos y 10% como concentrados de proteína de lactosuero (Asas *et al.*, 2021).

Lo que se pretende lograr con este trabajo es plantear una forma de disminuir el impacto ambiental de la industria láctea, específicamente del proceso de elaboración de quesos, a través de la reutilización del lactosuero, empleándolo como sustrato para el crecimiento de diferentes microorganismos utilizados comúnmente en procesos biológicos e industriales. Al realizar la caracterización bromatológica del lactosuero, se obtiene información sobre sus propiedades físicas y su composición bioquímica, lo que favorece su valorización como sustrato principal o complementario que se emplea directamente en la formulación de medios de cultivo para organismos bacterianos o fúngicos. De este modo, se presenta una alternativa sencilla para darle un valor agregado a una sustancia considerada como desecho, disminuyendo la cantidad que se vierte al medio natural, evitando así el deterioro de cuerpos de agua y al mismo tiempo, aprovechando de manera más eficiente los recursos orgánicos disponibles. De igual manera se describe ampliamente la conversión de lactosuero en sustancias de interés y las diversas aplicaciones que puede tener en las industrias alimenticia, cosmética, textil, química y agrícola.

2.6 JUSTIFICACIÓN

La economía circular tiene como principal objetivo el aprovechamiento de los recursos renovables disponibles y la revalorización de residuos de los procesos industriales, con el fin de utilizarse como materia prima para la elaboración de nuevos productos, disminuyendo el impacto ambiental que representa su incorrecta disposición (Anaya Villalpanda, 2023). El lactosuero es un residuo agroindustrial con características fisicoquímicas específicas y una composición rica en biomoléculas, que permite que sea considerado un sustrato potencial para la producción de metabolitos de interés a través de procesos biotecnológicos innovadores, en los cuales se emplean diversos microorganismos con la capacidad de producir distintos compuestos mediante su metabolismo (Williams Zambrano & Dueñas Rivadeneira, 2021). Por otra parte, existen tratamientos químicos y físicos para el lactosuero, que permiten el aislamiento y purificación de sus componentes sin necesidad de emplear algún proceso fermentativo (Lipnizki, 2010). Los procesos de purificación, aislamiento y concentración de sustancias específicas del lactosuero pueden requerir de métodos de pretratamiento y extracción costosos debido a los equipos y reactivos que se emplean, lo que impide que sea accesible y rentable

para todas las empresas que se interesan en el procesamiento del lactosuero (Poveda, 2013). Por tal motivo en este trabajo se ha determinado el pH, porcentaje de humedad, acidez, lactosa, lípidos y proteínas que contiene el lactosuero obtenido de la elaboración de queso panela y posteriormente se ha evaluado su uso como un sustrato efectivo para el desarrollo de microorganismos de interés biotecnológico; representando esta una alternativa viable para su aprovechamiento, debido a que no es necesario que se realicen pretratamientos o post-tratamientos complejos al lactosuero para poder emplearse como un sustrato.

2.7 HIPÓTESIS

Se presenta un crecimiento más rápido y abundante para los microorganismos que se desarrollaron en las formulaciones de medio de cultivo con una proporción mayor de lactosuero

2.8 OBJETIVOS

2.8.1 Objetivo general

- Evaluar el lactosuero obtenido de la producción de queso panela como un sustrato alternativo o complementario para el enriquecimiento de medios de cultivo utilizados en laboratorio favoreciendo el crecimiento de microorganismos de interés biotecnológico.

2.8.2 Objetivos específicos

- Analizar cuantitativamente la composición del lactosuero mediante pruebas fisicoquímicas.
- Elaborar cuatro distintas formulaciones proporcionales de medio de cultivo y lactosuero.
- Comparar cualitativamente el desarrollo de cuatro microorganismos de interés en cuatro distintas formulaciones de medio de cultivo y lactosuero a través del tiempo.

3. METODOLOGÍA

3.1 Recolección de muestras

Se recolectaron dos muestras de 2 L de suero de leche dulce, obtenido como subproducto al final del proceso de elaboración de queso fresco tipo panela, ambas muestras proporcionadas por la Productora Universitaria de Lácteos (Prounilac), perteneciente al Instituto de Ciencias Agropecuarias (ICAp) de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo (UAEH), ubicada en Camino a Rancho Universitario Km 1 Exhacienda Aquetzalpa, en el municipio de Tulancingo, Hidalgo, México con coordenadas geográficas 20.06243481670374, -98.38020049261492. Ambas muestras se almacenaron en un recipiente de plástico, se etiquetaron y se transportaron en una hielera hasta el Departamento de Biotecnología y Bioingeniería del Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV-IPN) y se mantuvieron en congelación hasta su caracterización. La primera muestra (SL1) se obtuvo el 31 de julio de 2023, mientras que la segunda muestra (SL2) se obtuvo el día 20 de noviembre del 2023. A ambas muestras se les realizaron las mismas técnicas de caracterización.

3.2 Caracterización de las muestras de lactosuero

3.2.1 Determinación de pH

Para esta prueba, se realizó el procedimiento que se indica en la Norma Mexicana NMX-F-317-S-1978 (Figura 10). Se utilizó un potenciómetro con electrodo de bulbo desnudo de HANNA Instruments. Como primer paso, una porción de la muestra se descongeló a baño maría y se llevó a una temperatura de $20 \pm 1^\circ\text{C}$. Posteriormente se homogeneizó agitando la muestra levemente con movimientos circulares y se vertió un volumen aproximado de 50 ml en un vaso de precipitados para realizar la medición de pH.

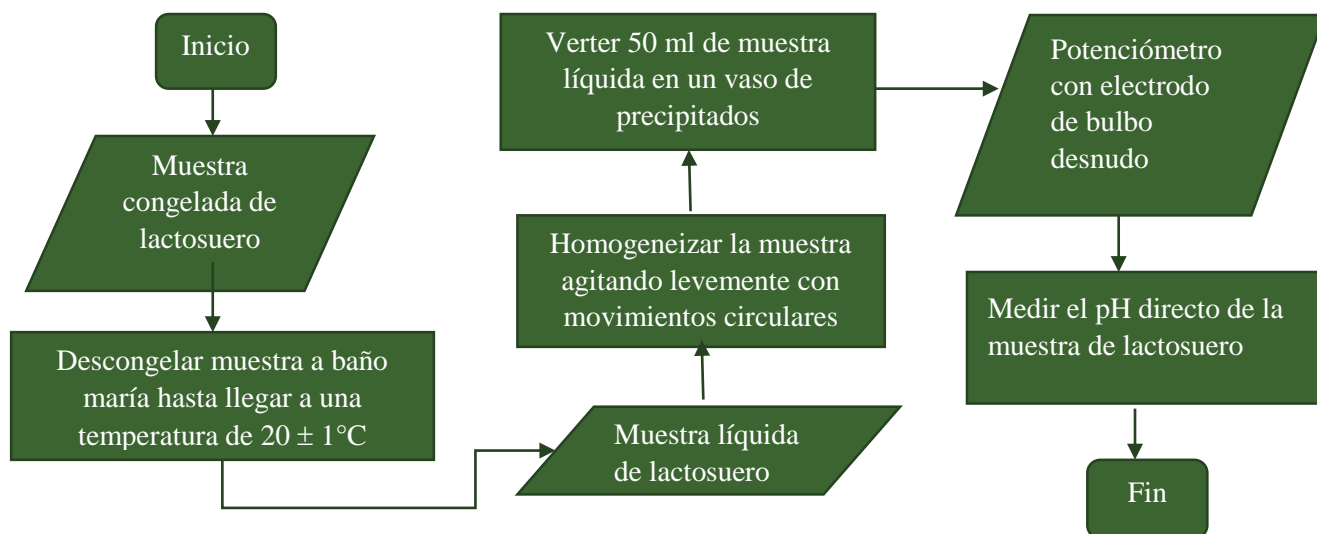


Figura 10: Diagrama de la metodología para la determinación de pH

3.2.2 Determinación de acidez titulable (% de ácido láctico)

Para este método se preparó una solución 0.1 N de hidróxido de sodio (NaOH) que posteriormente se estandarizó utilizando biftalato de potasio (Apéndice B.1). Una vez estandarizada la solución de NaOH, se determinó la acidez utilizando el método descrito en la Norma Mexicana NMX-F-721-COFOCALEC-2012 (Figura 11). Para esta determinación se pesaron 5 g de suero de leche líquido que se mezcló en un matraz Erlenmeyer con 50 ml de agua destilada, a esta mezcla se le agregaron 2 gotas de solución de fenolftaleína al 1% como indicador. Se realizó la valoración de la muestra utilizando la solución de NaOH 0.109014 N, hasta que la muestra del matraz presentó un viraje color rosa claro y se registró el volumen gastado de la solución. Esta prueba se realizó por triplicado para ambas muestras SL1 y SL2.

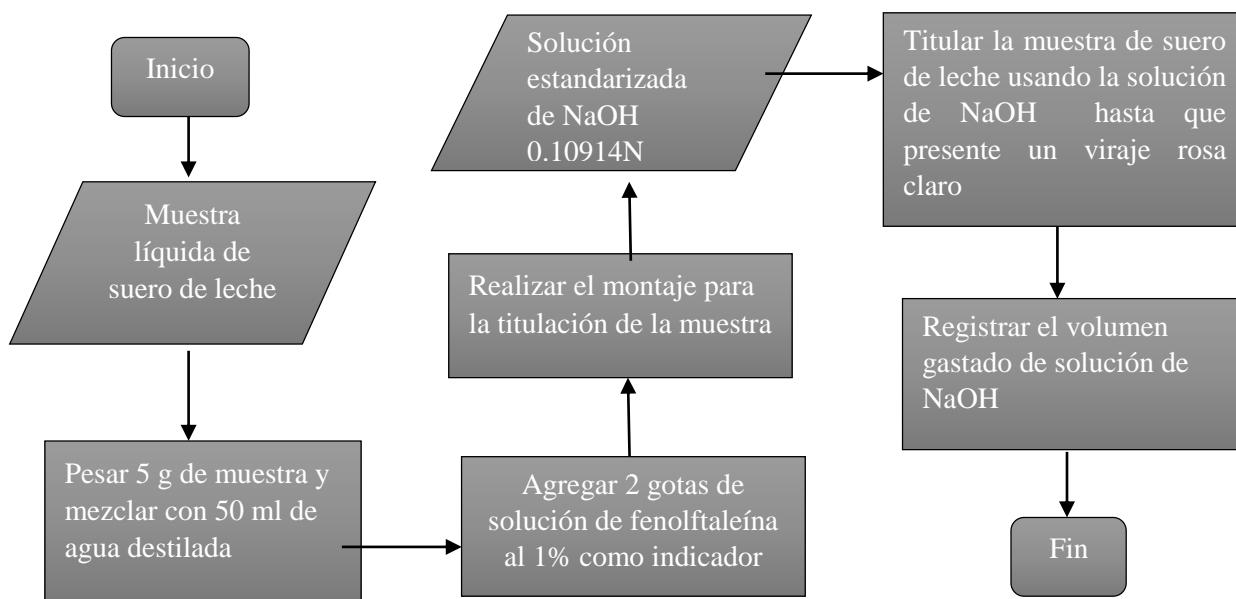


Figura 11: Diagrama de la metodología para la determinación de acidez titulable

3.2.3 Determinación de porcentaje de lactosa

Para este método se utilizó una solución de tiosulfato de sodio con una concentración de 0.1006 N que se estandarizó previamente a utilizarse (Apéndice B.2). Así mismo, se prepararon los reactivos que se ocuparían en esta determinación: soluciones de Fehling (A y B), solución de yoduro de potasio al 30%, solución de hidróxido de sodio 0.25N y solución de almidón de maíz al 1% (Apéndice B.3). Así mismo se le hizo un tratamiento previo a las muestras de suero de leche dulce (Apéndice B.4). El método de determinación de porcentaje de lactosa se realizó mediante el método de Fehling descrito en la Norma Mexicana NMX-F-219-1972 con algunas modificaciones respecto a los instrumentos ocupados para este ensayo (Figura 12)

- 1) Se utilizaron filtros Gooch de vidrio con una cama de celita que fueron lavados una vez con una solución de ácido nítrico 1:1 caliente y tres veces con agua destilada caliente antes de usarse. Los lavados se filtraron con un matraz Kitazato al vacío y posteriormente se desechó el filtrado.
- 2) En un vaso de precipitado de 600 ml se añadieron 25 ml de reactivo de Fehling A, 25 ml de reactivo de Fehling B con 50 ml de agua destilada.
- 3) Se calentó la solución en una parrilla y se tapó con un vidrio de reloj
- 4) Una vez que comenzó la ebullición, se agregaron 50 ml de la muestra tratada de lactosuero
- 5) Se dejó en ebullición por 6 minutos exactos sin quitar el vidrio de reloj
- 6) Se retiró el vaso de la parrilla y se hicieron tres lavados al vidrio de reloj con agua destilada caliente, dejando caer los lavados en el vaso de 600 ml.
- 7) Se filtró la solución al vacío utilizando un filtro Gooch y un matraz Kitazato, una vez filtrada se hicieron tres lavados con agua caliente al vaso de precipitado pasando los lavados por el filtro. En el filtro se retuvo un precipitado de cobre color rojo intenso.
- 8) Al terminar el filtrado y los lavados, se colocó el filtro Gooch con el precipitado color de cobre sobre otro matraz Kitazato limpio

- 9) Se prepararon 5 ml de una solución 1:1 de ácido nítrico con agua, en la que se añadieron 2.5 ml de ácido nítrico y 2.5 ml de agua destilada
- 10) En la campana de extracción se calentó la solución de ácido nítrico 1:1 en un matraz de 100 ml, hasta la formación de vapores y se retiró de calentamiento
- 11) Se vertieron 2.5 ml de la solución caliente 1:1 de ácido nítrico sobre el precipitado retenido del filtro Gooch y se vertieron otros 2.5 ml en el vaso de precipitado de 600 ml, para realizar un lavado final que también se vertió en el filtro Gooch. La filtración se realizó al vacío y se realizaron tres lavados con agua destilada caliente hasta llegar a un volumen máximo de 70 ml
- 12) El ácido nítrico, al reaccionar con el precipitado de cobre, dio lugar a una solución cristalina color azul pálido; esta solución se vertió en un matraz Erlenmeyer de 250 ml y se calentó hasta el comienzo de la ebullición.
- 13) Se pesaron 1.5g de urea y se añadieron en el matraz con la solución de cobre
- 14) Se dejó en ebullición por 1 minuto
- 15) La solución se dejó enfriar hasta temperatura ambiente y posteriormente se le añadieron 10 ml de solución de yoduro de potasio al 30% y 10 ml de indicador de almidón al 1%.
- 16) Se hizo la titulación utilizando la solución de tiosulfato de sodio 0.1N
- 17) La titulación terminó hasta que la solución adquirió un color blanco
- 18) Se anotó el volumen de la solución de tiosulfato de sodio que se gastó en la titulación
- 19) Se realizó la determinación de lactosa por duplicado para ambas muestras de suero de leche

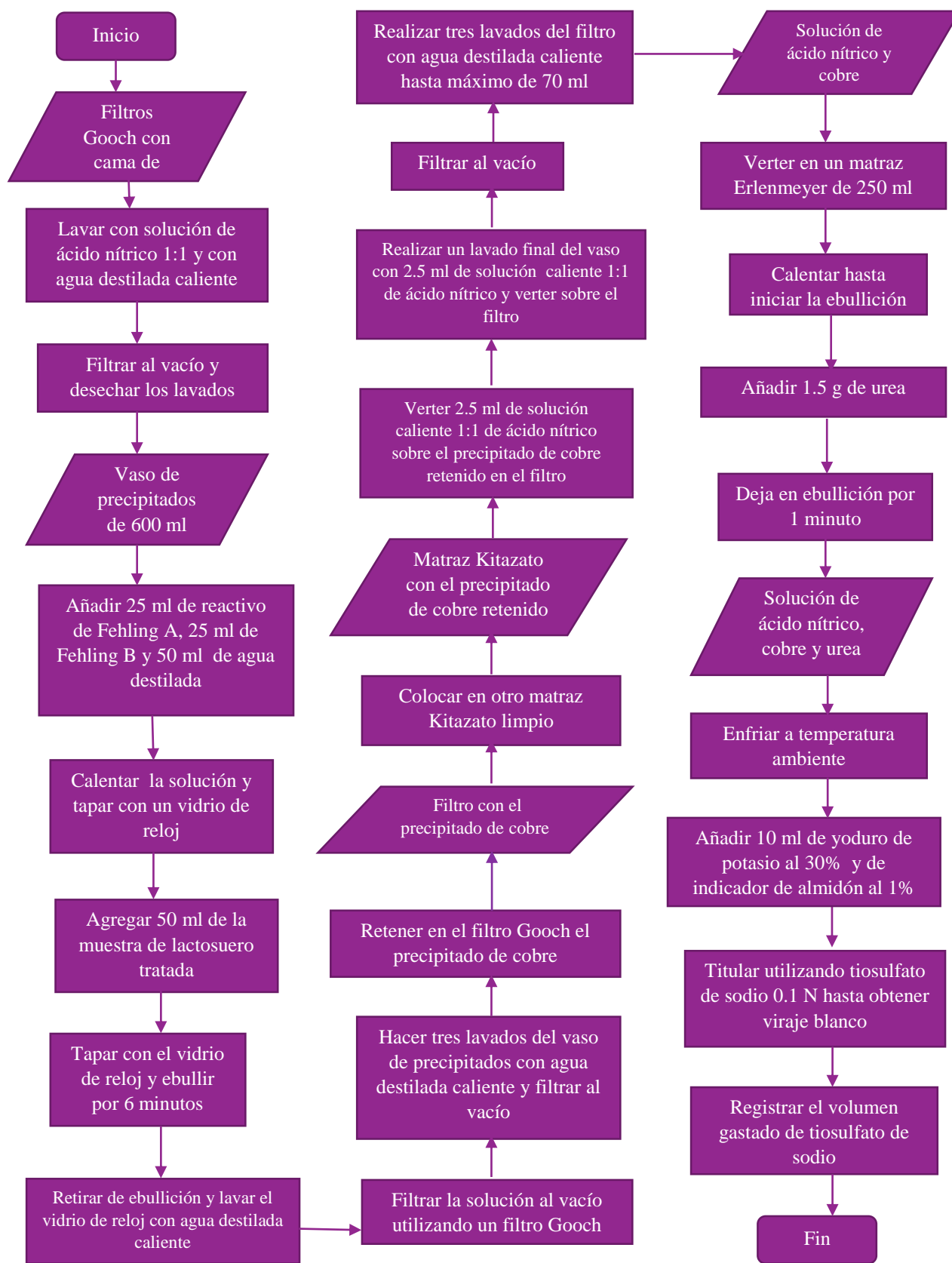


Figura 12: Diagrama de la metodología para determinar el porcentaje de lactosa

3.2.4 Determinación de humedad

Esta determinación se realizó siguiendo la metodología planteada en la Norma Oficial Mexicana NOM-243-SSA1-2010 (Figura 13). Este método se realizó por triplicado para ambas muestras de lactosuero. SL1 y SL2. Se utilizaron tres crisoles de porcelana que previamente se ingresaron en una estufa a una temperatura de 110°C por 20 horas. Pasado el tiempo se extrajeron de la estufa y se llevaron a un desecador para enfriarse por 1 hora. Cada uno de los crisoles vacíos se pesó en una balanza analítica y se registraron sus respectivos pesos a cuatro decimales. Posteriormente a cada crisol se le agregaron 2.5 ml de la muestra de lactosuero y se registró el peso, para después determinar el peso de la muestra mediante la diferencia de pesos. Los crisoles con muestra se ingresaron nuevamente en la estufa a 110°C y se dejaron por 4 horas. Pasado el tiempo, se colocaron los crisoles dentro de un desecador y se dejaron enfriar a temperatura ambiente; después cada crisol se pesó en una balanza analítica y se registró el peso con la muestra seca.

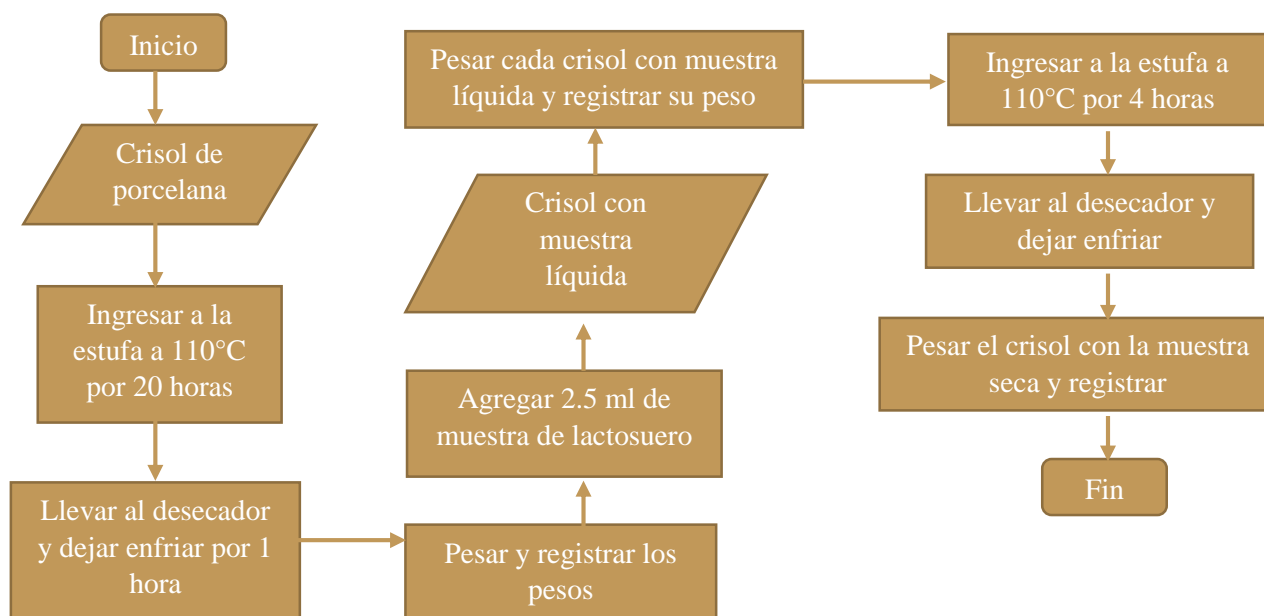


Figura 13: Diagrama de la metodología para la determinación de humedad

3.2.5 Determinación de porcentaje de lípidos

Para la determinación de lípidos se utilizó el método descrito por Bligh & Dyer (1959) (Apéndice B.5). Para este método se calcularon los volúmenes de solventes a ocupar respecto a la muestra que se iba a utilizar. Los volúmenes de cloroformo, metanol y agua a ocupar se calcularon dependiendo del porcentaje de humedad obtenido de cada una de las muestras (Apéndice B.6). Esta prueba se realizó por duplicado para cada muestra SL1 y SL2 (Figura 14).

1. Se pesaron 8.5 ± 0.1 g de muestra líquida de suero de leche, dicha muestra se vertió en un embudo de separación
2. Se agregaron 8.5 ± 0.1 ml de cloroformo y 17.1 ± 0.1 ml de metanol al embudo con muestra y se agitó suavemente por 2 minutos
3. Se agregaron 8.5 ± 0.1 ml de cloroformo y se agitó el embudo por 30 segundos y finalmente se agregaron 10 ml de agua destilada y se agitó por 30 segundos más.
4. La mezcla se filtró al vacío utilizando papel filtro Whatman y un embudo de vidrio y posteriormente se hizo un lavado del papel filtro con 15 ml de cloroformo

5. El filtrado se vertió en una probeta graduada de 50 ml, se dejó asentar hasta la formación de fases y se registró el volumen total y el volumen de cada fase.
6. Se descartó la fase superior (metanol) y se registró el volumen de la capa inferior restante (cloroformo).
7. Se pesó un matraz Erlenmeyer de 50 ml y se registró su peso
8. De la capa inferior restante (capa de lípidos) se tomó una alícuota de 2 ml
9. Se vertió la alícuota en el matraz de 50 ml y se registró el peso
10. El matraz se llevó a baño maría de 40°C- 50°C para la volatilización del cloroformo, una vez seco el matraz se llevó al desecador
11. Posteriormente se registró el peso seco del matraz

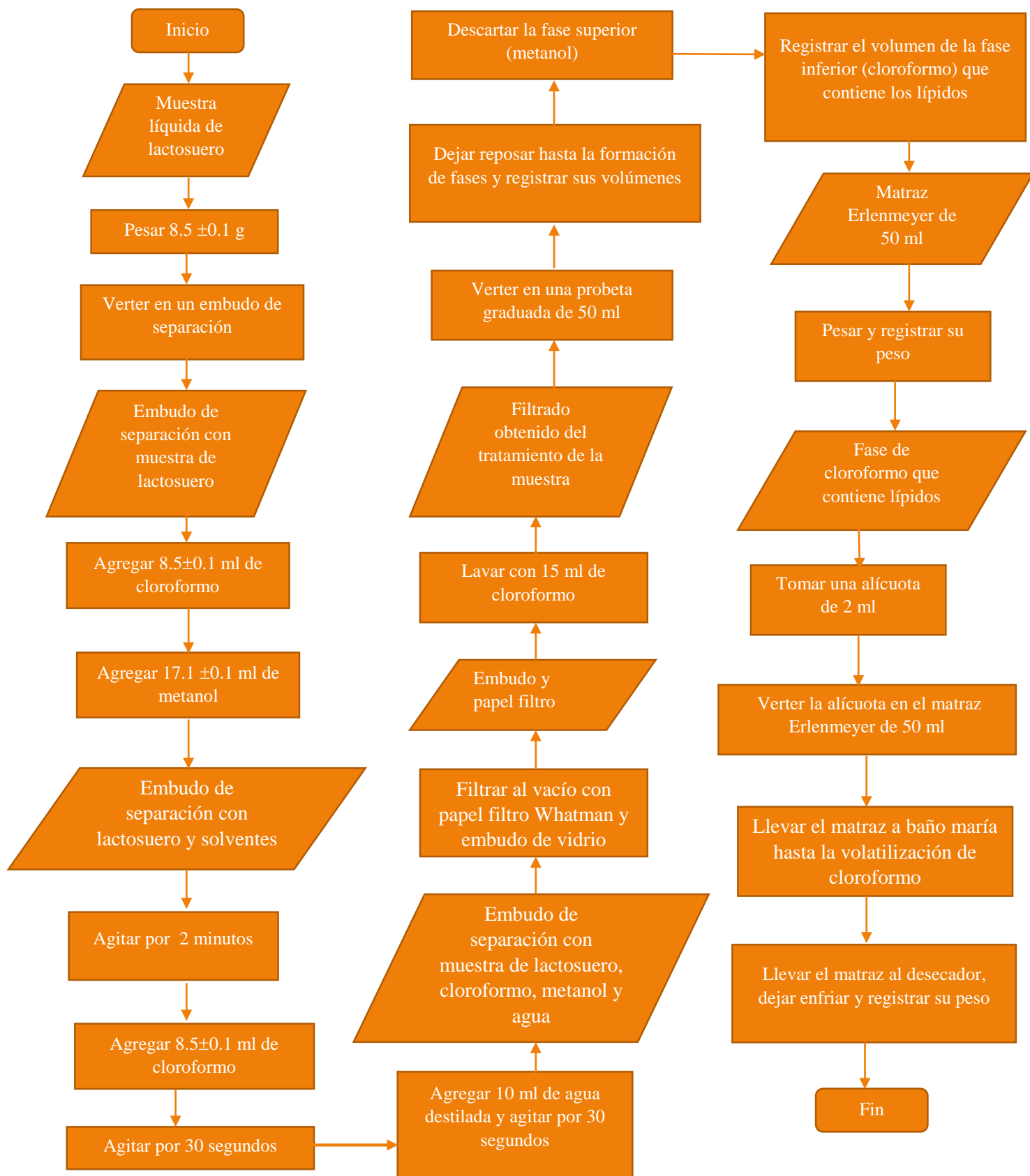


Figura 14: Diagrama de la metodología para la determinación de lípidos

3.2.6 Determinación de porcentaje de proteínas

3.2.6.1 Tratamiento de las muestras

Para el tratamiento de la muestra se tomaron 5 ml de suero de leche dulce a temperatura ambiente y posteriormente se le añadieron 5ml de una solución de NaOH con concentración 1N, se calentó a baño maría a 100°C por 5 minutos. Una vez terminado el proceso de calentamiento la muestra adquirió un color café claro y se dejó enfriar a temperatura ambiente para después aforarse hasta 10 ml con agua destilada. Posteriormente se realizó una filtración y el líquido filtrado se aforó nuevamente con agua destilada a un volumen final de 25 ml. Este procedimiento se hizo para cada muestra SL1 y SL2.

3.2.6.2 Cuantificación de proteínas por el método de Lowry (Peterson, 1997)

Esta determinación se realizó por triplicado para ambas muestras de suero lácteo dulce SL1 y SL2 (Figura 15). Se rotularon 6 tubos de ensayo con tapa y se le agregaron dos volúmenes diferentes de muestra tratada (100 µl y 250 µl) y agua destilada para completar el volumen final de 1 ml (900µl y 750 µl respectivamente), como se indica en la Tabla 5. Una vez que los 6 tubos contaran con el volumen final de 1 ml, a cada uno se le agregaron 5 ml de reactivo de Lowry, se agitaron levemente y se dejaron reposar por 15 minutos; concluido el tiempo se agregaron igualmente 0.5 ml del reactivo de Folin-Ciocalteau, y se dejaron reposar en oscuridad por 30 minutos. Se leyó la absorbancia de cada tubo en un espectrofotómetro UV-Vis utilizando una longitud de onda de 740 nm y se registraron los datos obtenidos.

Tabla 5: Volúmenes de muestra y reactivos utilizados en la cuantificación de proteínas

Tubo	Muestra (µL)	Agua (µL)	Lowry (ml)	Folin(ml)
1	100	900	5	0.5
2	100	900	5	0.5
3	100	900	5	0.5
4	250	750	5	0.5
5	250	750	5	0.5
6	250	750	5	0.5

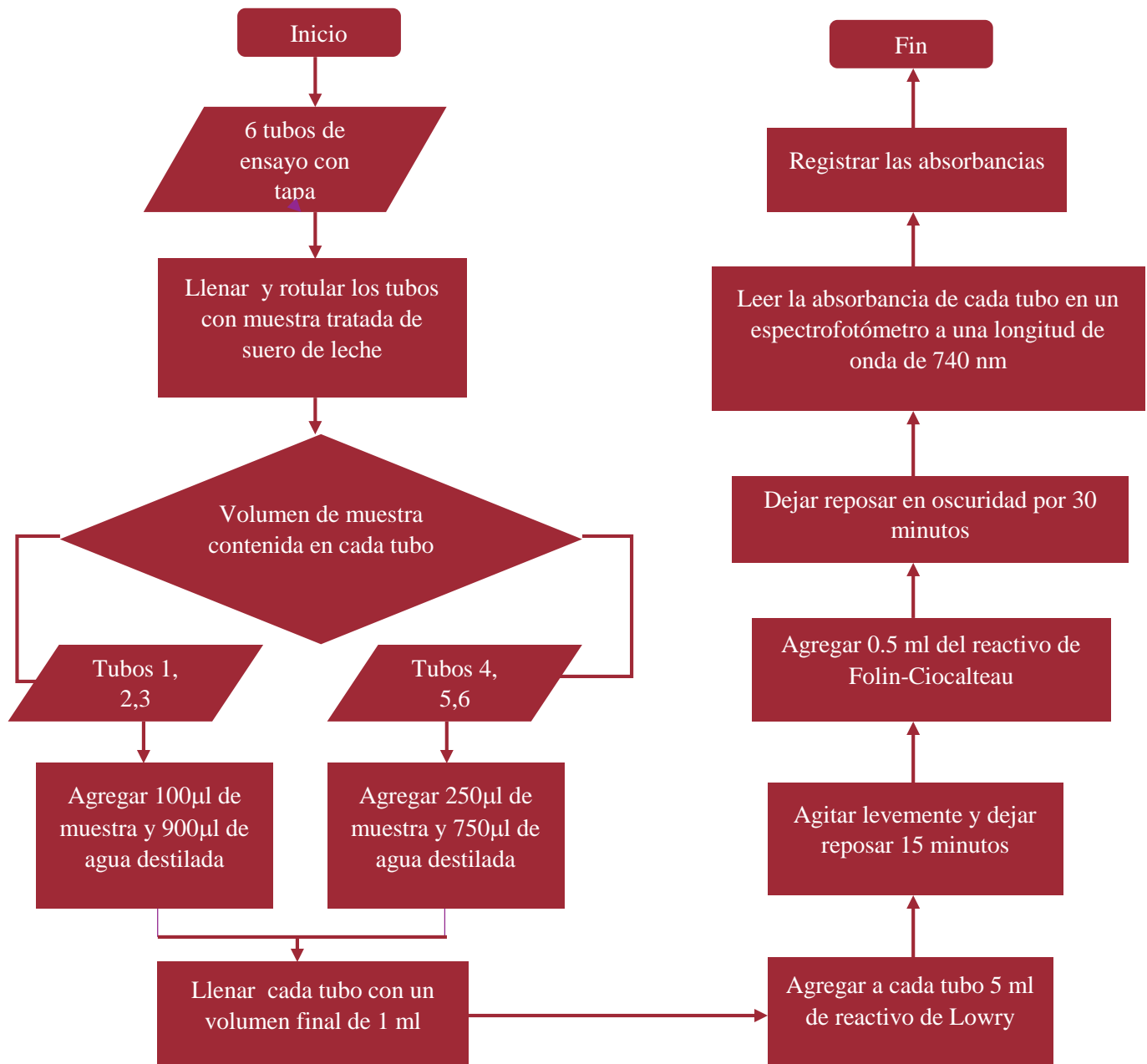


Figura 15: Diagrama del proceso para la determinación de proteínas

3.3 Propagación y crecimiento de microorganismos en medio artificial adicionado con lactosuero

Para el ensayo de crecimiento se utilizaron cuatro especies de microorganismos: se seleccionaron dos especies bacterianas: *Lactobacillus rhamnosus* y *Escherichia coli*, y dos especies fúngicas: *Pichia anomala* y *Trichoderma harzianum*.

Para la siembra de cada especie se seleccionó el medio más adecuado para promover su desarrollo: para *L. rhamnosus* se empleó el medio de Man, Rogosa y Sharpe (MRS), para *E. coli* el medio Luria- Bertani (LB),

para *T. harzianum* se utilizó el medio de Papa Dextrosa Agar (PDA) y para *P.anomala* el medio de extracto de levadura y malta (YM). De igual forma, una tercera muestra de 3L de suero de leche proveniente de la fabricación de queso panela fue proporcionada por la empresa de lácteos Prounilac perteneciente al ICAp de la UAEH. Se establecieron para el experimento un control y cinco formulaciones: la formulación T1 que consiste en 100% medio 0% lactosuero, la formulación T2 que contiene un 75% de medio y 25% lactosuero, la formulación T3 que se compone de 50% medio 50% lactosuero, la formulación T4 que consta de 25% medio 75% lactosuero y la formulación T5 que contiene 100% lactosuero (Figura 16). Estas proporciones se establecieron para los cuatro medios de cultivo y el ensayo de crecimiento se realizó por triplicado.

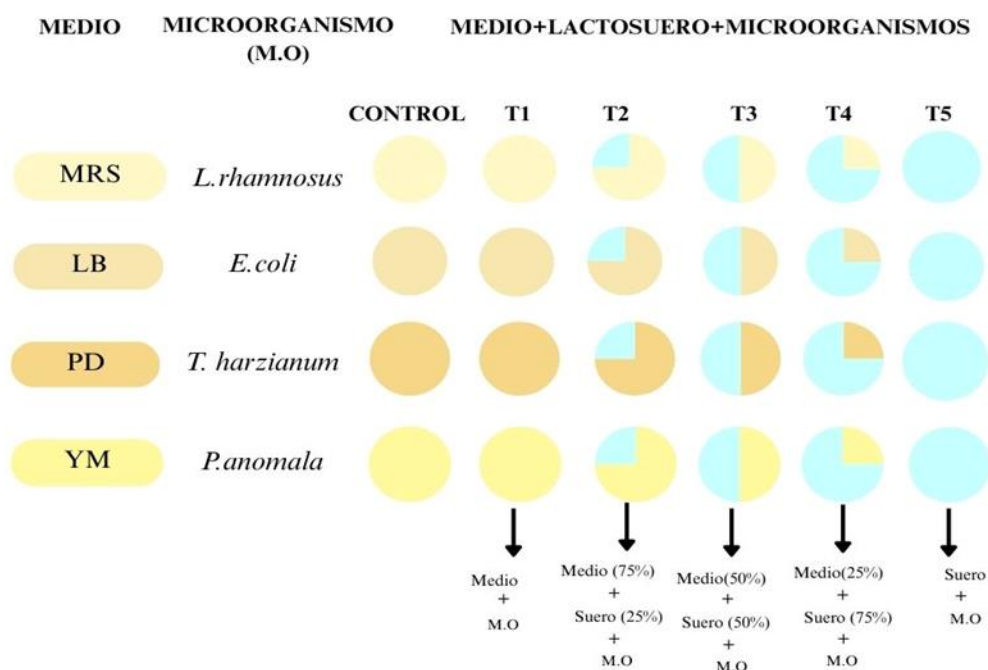


Figura 16: Metodología para la prueba de crecimiento de microorganismos seleccionados en medio artificial adicionado con lactosuero

Se estableció el volumen de medio de cultivo a preparar y de lactosuero que se emplearía para cada formulación y se esterilizó en autoclave a 120°C con una presión de 15 psi por un tiempo de 20 minutos antes de emplearse en la metodología. Posteriormente se realizó el llenado de las cajas Petri con un volumen total aproximado de 25 ml para cada una. Se llenaron 18 cajas Petri con medio de cultivo y lactosuero en diferentes volúmenes de acuerdo a los porcentajes de las distintas formulaciones T1, T2, T3, T4 y T5 para los cuatro medios de cultivo empleados (Tabla 6), obteniendo un total de 72 cajas Petri. Posteriormente se dejaron solidificar y se realizó la siembra de *L. rhamnosus*, *E. coli* y *P.anomala* por extensión en superficie de placa, mientras que para *T. harzianum* se tomó parte del micelio y se colocó en el centro de las cajas Petri en contacto con la superficie del medio de cultivo.

Tabla 6: Volúmenes establecidos para cada formulación de medio con lactosuero

Volumen por caja	Control	T1	T2	T3	T4	T5
Medio	25 ml	25 ml	18.75 ml	12.5 ml	6.25 ml	0 ml
Lactosuero	0 ml	0 ml	6.25 ml	12.5 ml	18.75 ml	25ml

Volumen por triplicado	Control	T1	T2	T3	T4	T5
Medio	75 ml	75 ml	56.25≈57 ml	37.5≈38ml	18.75≈19 ml	0ml
Lactosuero	0 ml	0ml	18.75≈19 ml	37.5≈38ml	56.25≈57 ml	75 ml

3.3.1 Propagación de *Escherichia coli*

La cepa de *Escherichia coli* fue proporcionada por el grupo de trabajo de la Escuela Superior de Apan (ESAp) perteneciente a la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo (UAEH); se propagó empleando medio LB, un medio de cultivo artificial de fácil elaboración y rico en nutrientes que se usa generalmente para realizar experimentos de bioquímica molecular y para el aislamiento y crecimiento rápido de una gran variedad de cepas de hongos, parásitos y bacterias, especialmente *E. coli*. Este medio no contiene glucosa añadida o almidón, siendo el extracto de levadura, proveniente de la digestión de *Saccharomyces cerevisiae*, la fuente principal de energía. Entre sus demás componentes se encuentran el cloruro de sodio (NaCl) y la triptona, que es un digerido pancreático de la caseína de la leche de vaca (Garboza *et al.*, 2011; Sezonov *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2023). Se sembró la cepa por extensión en placa: se agregaron 100 µl de una solución de *E.coli* conservada a -80°C a cada una de las 18 cajas Petri que contenían medio LB y lactosuero, se sellaron y se almacenaron a temperatura ambiente (21°C), se monitoreó su crecimiento durante 4 días.

3.3.2 Propagación de *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 11443™

La cepa de *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 11443™ fue proporcionada por la Colección Nacional de Cepas Microbianas y Cultivos Celulares (CDBB) perteneciente al Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV-IPN). Esta cepa se emplea en la producción de L (+) ácido láctico y para la determinación enzimática de isómeros ópticamente activos de ácido láctico; es tolerante a medio ácido y presenta mejoras en la producción de L- ácido láctico después de una mutagénesis causada por radiación y mezcla genómica (*genome shuffling*) (Sun *et al.*, 2018; American Type Culture Collection [ATCC], 2024). Para la propagación de la cepa se empleó el medio MRS que es un medio de cultivo artificial que permite el crecimiento de BAL; la formulación de este medio cuenta con macro y micronutrientes como glucosa, peptona, extracto de levadura y extracto de carne con la función de aportar nitrógeno, carbono, vitaminas y minerales; así mismo, contiene acetato de sodio, sales de magnesio y manganeso, polisorbato 80 que facilita el crecimiento de las bacterias ácido lácticas; también incluye citrato de amonio que actúa como inhibidor del crecimiento de bacterias Gram negativas. Para la siembra se tomaron 100 µl de una solución de *L.rhamnosus*, conservada a -80°C y se sembró por extensión en placa en cada una de las 18 cajas Petri con medio MRS y lactosuero, se sellaron y se almacenaron a temperatura ambiente (21°C) por 4 días.

3.3.3 Propagación de *Pichia anomala* ATCC 8168™

La cepa de *Pichia anomala* ATCC 8168™ fue proporcionada por la CDBB, es tolerante a condiciones alcalinas (pH 10), crece a una temperatura de 24-26°C y puede asimilar galactosa. Se emplea principalmente para el biocontrol de las enfermedades post-cosecha en frutas y vegetales (ATCC, 2024); por otra parte, puede producir β-fructofuranosidasa, también conocida como invertasa, que es una enzima que hidroliza sacarosa en fructosa y glucosa y se emplea principalmente en la industria de alimentos para la elaboración de dulces, confiterías y edulcorantes artificiales, así como en la industria cervecera (Veana *et al.*, 2011). El medio de cultivo YM es empleado especialmente para el aislamiento y crecimiento de mohos y levaduras, entre sus componentes se encuentra la peptona, que sirve como fuente de carbono, nitrógeno y de aminoácidos, el extracto de levadura que es la fuente de vitaminas del complejo B y otros factores de crecimiento y extracto de malta que proporciona una fuente de carbono adicional (HiMedia Laboratories, 2019). Para la siembra en placa, se utilizó una solución de *P.anomala* conservada a -80°C, de la cual se tomaron 100µl para cada una de las 18 cajas Petri con medio YM y lactosuero, posteriormente se sembró por extensión en superficie, se sellaron y se almacenaron a temperatura ambiente (21°C) durante 4 días, para monitorear su crecimiento.

3.3.4 Propagación de *Trichoderma harzianum*

La cepa de *Trichoderma harzianum* fue proporcionada por el Departamento de Edafología de Colegio de Posgraduados (COLPOS) Campus Montecillo y para su crecimiento se seleccionó el medio PDA, un medio simple que contiene dextrosa como fuente de carbono, infusión de papa como estimulante de crecimiento y agar como solidificante (Aryal, 2022), que es utilizado para el desarrollo y conteo en placa de una gran variedad de hongos y levaduras. Antes de la siembra, la cepa de *T. harzianum* fue conservada en medio PDA en una caja Petri, durante la siembra se tomó una pequeña sección del micelio más fresco de las orillas de la caja y se sembró por contacto en el centro de cada una de las cajas Petri con medio PDA y lactosuero, posteriormente se sellaron las cajas y se almacenaron a 21°C en condiciones de oscuridad monitoreando su crecimiento por 5 días, además de medir su crecimiento radial cada 24 horas.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Resultados de la caracterización de la muestra de suero de leche dulce SL1

4.1.1 Determinación de pH

Para la muestra SL1 se obtuvo un pH de 7.34, esta medida de pH se encuentra en los valores de alcalinidad de una sustancia.

4.1.2 Determinación de acidez titulable en porcentaje de ácido láctico

Se registraron los datos obtenidos en la titulación de la muestra SL1 utilizando una solución de NaOH 0.109014 N (Tabla 7), posteriormente se calculó el porcentaje de ácido láctico de esta muestra con la ecuación (1).

$$\text{Acidez (\%)} \text{ de ácido láctico} = \frac{VxNx0.090}{M}(100) \quad (1)$$

Donde

V=Cantidad de hidróxido de sodio gastado en la titulación de la muestra (ml)

N=Normalidad de NaOH

0.090= miliequivalente de ácido láctico

M=peso de la muestra

Tabla 7: Peso y volúmenes para la determinación de porcentaje de acidez de la muestra SL1

Muestra por triplicado (SL1)	Peso	Volumen inicial	Volumen final	Volumen gastado	%Acidez (Ácido láctico)
1	5.124 g	23.7 ml	23.1 ml	0.6 ml	0.11487
2	5.113 g	23.1 ml	22.4 ml	0.7 ml	0.13430
3	5.289 g	22.4 ml	21.7 ml	0.7 ml	0.12983
Promedio de porcentajes obtenidos					0.12633%

Al promediar se obtuvo que el porcentaje de ácido láctico contenido en la muestra de suero de leche dulce SL1 es de 0.12633%

4.1.3 Determinación de porcentaje de lactosa

Para la determinación de porcentaje de lactosa de la muestra de suero de leche SL1, se realizó una titulación utilizando una solución de tiosulfato de sodio 0.1006 N, el procedimiento se realizó por duplicado y se obtuvieron los resultados descritos en la Tabla 8

Tabla 8: Volúmenes de solución de NaOH empleada en la determinación de lactosa para SL1

Determinación de lactosa	Volumen inicial	Volumen final	Volumen gastado
1	24.9 ml	13.5 ml	11.4 ml
2	19.2 ml	8.1 ml	11.1 ml
Promedio del volumen gastado en la titulación			11.25 ml

Se realizaron los cálculos correspondientes a la lactosa tomando como referencia la Norma Mexicana NMX-F-219-1972 en el que se ocupan las ecuaciones (2) y (3):

$$m_{de_{Cu_2O}} = V_{titulante}(N)(63.54) \quad (2)$$

Donde:

$m_{de_{Cu_2O}}$: miligramos de óxido de cobre

$V_{titulante}$: Volumen de tiosulfato de sodio gastado en la titulación

N: Normalidad de la solución de tiosulfato de sodio

63.54: Miliequivalentes de cobre

$$\%Lactosa = \frac{m_{LAC}(5)(100)}{P} \quad (3)$$

Donde:

5: Factor de dilución de la alícuota empleada para la determinación de lactosa. Para obtener este factor de dilución se tomó en cuenta que la muestra de suero de leche se aforó a 250 ml y para realizar las titulaciones se tomaron 50 ml de muestra, por lo tanto el factor de dilución se obtiene dividiendo el volumen total de la solución preparada entre el volumen que se ocupó para los ensayos de determinación de lactosa lo que sería igual a: $250 \text{ ml} / 50 \text{ ml} = 5$

m_{LAC} =Peso en gramos de lactosa

P= Peso en gramos de la muestra

En el primer ensayo de determinación de lactosa para la muestra SL1 se obtuvieron los miligramos de óxido de cobre Cu_2O empleando la ecuación (2) donde se sustituyeron los valores de volumen gastado y normalidad de tiosulfato de sodio

$$m_{de_{Cu_2O}} = 11.4 \text{ ml}(0.1006 \text{ N})(63.54)$$

$$m_{de_{Cu_2O}} = 72.8702 \text{ mg de } Cu_2O$$

Para obtener los miligramos de lactosa que corresponden a los mg de Cu_2O calculados se toma como referencia la tabla de valores que se encuentra anexa al documento de la Norma Mexicana NMX-F-219-1972 (Tabla 9)

Tabla 9: Valores para la determinación de azúcares según Fehling (NMX-F-219-1972)

Cu_2O (mg)	Hidrato de lactosa (mg)
70	44.0
71	44.6
72	45.3
73	45.9
74	46.6

De acuerdo con los datos, se obtienen los miligramos de lactosa que corresponden a los miligramos de óxido de cobre (I) (Cu_2O) mediante una interpolación utilizando las ecuaciones (4) y (5), en las cuales se sustituyen los valores para obtener la pendiente, el valor de b y los miligramos de lactosa correspondientes

$$m = \frac{y_2 - y_1}{x_2 - x_1} \quad (4)$$

$$b = y - mx \quad (5)$$

$$m = \frac{45.9 - 45.3}{73 - 72} = 0.6$$

$$b = 2.1$$

$$y = mx + b$$

$$y = 0.6(72.8702) + 2.1$$

$$y = 45.8221 \text{ mg de lactosa}$$

Posteriormente se utiliza la ecuación (3) para calcular el porcentaje de lactosa de la muestra en donde se sustituyen los valores de masa de hidrato de lactosa en y el peso de la muestra en gramos.

$$\%Lactosa = \frac{0.0458221 \text{ g}(5)(100)}{6.264 \text{ g}} = 3.6576\%$$

Finalmente para la primera prueba se obtuvo un total de 3.6576% de lactosa.

Para el duplicado de determinación de lactosa se obtuvieron los siguientes resultados.

$$m \text{ de } Cu_2O = 11.1 \text{ ml}(0.1006 \text{ N})(63.54)$$

$$m \text{ de } Cu_2O = 70.9525 \text{ mg de } Cu_2O$$

De acuerdo con los datos de la Tabla 9, se obtienen los miligramos de hidrato de lactosa que corresponden a los miligramos de Cu_2O y se sustituyen los valores en las ecuaciones (4) y (5) para obtener la pendiente, el valor de b y los miligramos de lactosa correspondientes

$$m = \frac{44.6 - 44.0}{71 - 70} = 0.6$$

$$b = 2$$

$$y = mx + b$$

$$y = 0.6(70.9525) + 2$$

$$y = 44.5715 \text{ mg de lactosa}$$

Se utiliza la ecuación (3) para calcular el porcentaje de lactosa en donde se sustituyen los valores de masa de hidrato de lactosa en y el peso de la muestra en gramos.

$$\%Lactosa = \frac{0.0445715 \text{ g}(5)(100)}{6.264 \text{ g}} = 3.5577\%$$

En esta segunda prueba se obtuvo un total de 3.5577% de lactosa.

Finalmente al promediar los resultados obtenidos por duplicado, se tiene que el porcentaje de lactosa que tiene la muestra de suero de leche dulce (SL1) es de 3.6076%.

4.1.4 Determinación de porcentaje de humedad

Para calcular el porcentaje de humedad de la muestra SL1 se utilizó la ecuación (6) en donde se sustituyeron los valores de masa registrados en la Tabla 10 para cada triplicado

$$\% \text{ humedad} = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \times 100 \quad (6)$$

Donde

m_0 = masa del crisol (g)

m_1 =masa del crisol con la muestra húmeda

m_2 = masa del crisol con la muestra seca

Tabla 10: Datos para la determinación del porcentaje de humedad para el suero de leche

Crisol	(m_0)	(m_1)	Masa de muestra húmeda	(m_2)	Masa de muestra seca	% de humedad
1	38.1900 g	40.6734 g	2.4834 g	38.3430 g	0.1530 g	93.839
2	43.5909 g	46.0504 g	2.4595 g	43.7410	0.1501 g	93.897
3	29.7481 g	32.2414 g	2.4933 g	29.9007	0.1526 g	93.879

Al promediar el porcentaje de humedad obtenido en el ensayo por triplicado se obtuvo que la muestra de suero de leche SL1 tiene un porcentaje de humedad de 93.871%

4.1.5 Determinación de porcentaje de lípidos

Este método se llevó a cabo por duplicado y se hizo un registro del peso de la muestra, el volumen de solventes utilizados, el volumen final de cloroformo, y el volumen, peso y peso seco de la alícuota empleada para la determinación (Tabla 11). Con los valores registrados se hicieron los cálculos correspondientes para determinar el porcentaje de lípidos de la muestra SL1.

Los datos registrados se utilizaron para calcular los lípidos totales obtenidos empleando la ecuación (7).

$$LT = \frac{P_{LA} \times V_C}{V_A} \quad (7)$$

Donde:

LT: Lípidos totales

P_{LA} : Peso de lípidos en alícuota

V_C : Volumen de la capa de cloroformo

V_A : Volumen de la alícuota

Tabla 11: Determinación de lípidos totales contenidos en la muestra SL1

Muestra	1	2
Peso	8.532 g	8.673 g
Volumen de cloroformo (V_C)	8 ml	11.9 ml
Volumen de alícuota (V_A)	2 ml	2 ml
Peso alícuota seca (P_{LA})	0.069 g	0.033 g
Lípidos totales(LT)	0.276 g	0.19635 g

Para una muestra de 8.532 g de suero de leche se determinaron una cantidad de 0.276 g de lípidos, para obtener los gramos de lípidos contenidos en 1 g de muestra se emplea la ecuación (8)

$$gL = \frac{LT}{m_{SL}} \quad (8)$$

Donde

gL: gramos de lípidos contenidos en 1g de muestra de lactosuero

LT: lípidos totales contenidos en la muestra

m SL: Masa de la muestra de lactosuero empleada para determinación de lípidos

$$gL = \frac{0.276 \text{ g lípidos}}{8.532 \text{ g}} = 0.03234 \text{ g de lípidos}$$

Para 1 g de suero se tiene una cantidad de 0.03234 g de lípidos, lo que representaría el 3.234% de lípidos en el suero.

Por otra parte, para la muestra de 8.673 g de suero de leche se determinaron una cantidad de 0.19635 g de lípidos, se sustituyen los valores en la ecuación (8)

$$gL = \frac{0.19635 \text{ g lípidos}}{8.673 \text{ g}} = 0.02263 \text{ g de lípidos}$$

El porcentaje de lípidos de la muestra de suero de leche se determinó de la siguiente manera:

Porcentaje de lípidos de la prueba 1

$$\% \text{ lípidos} = 0.03234(100\%)$$

$$\% \text{ lípidos} = 3.234\%$$

Porcentaje de lípidos de la prueba 2

$$\% \text{ lípidos} = 0.02263(100\%)$$

$$\% \text{ lípidos} = 2.263 \%$$

En promedio se obtuvo que SL1 tiene un porcentaje de lípidos de 2.749%

4.1.6 Determinación de porcentaje de proteínas

4.1.6.1 Cuantificación de proteínas por método de Lowry-Peterson (Peterson, 1997) para SL1

Para cada tubo se registraron las absorbancias leídas en el espectrofotómetro UV-Vis a una longitud de onda de 740 nm (Tabla 12)

Tabla 12: Absorbancias leídas a 740 nm para la muestra de suero de leche dulce SL1

Tubo	Muestra (μL)	Agua (μL)	Lowry (ml)	Folin(ml)	Absorbancia (740nm)
1	100	900	5	0.5	0.428
2	100	900	5	0.5	0.447
3	100	900	5	0.5	0.458
4	250	750	5	0.5	0.753
5	250	750	5	0.5	0.810
6	250	750	5	0.5	0.780

Para hacer los cálculos correspondientes a la cuantificación de proteínas se toma en cuenta la ecuación lineal obtenida de la curva patrón de la solución de BSA [1mg/ml] a 740nm (Apéndice B.7) y se emplea la ecuación (9) para obtener los valores de concentración de proteínas en la muestra (μl) sustituyendo los valores de absorbancia en y.

$$x = \frac{y-0.11572}{0.00115} \quad (9)$$

Tabla 13: Concentración de proteínas por cada valor de absorbancia de la muestra SL1

Tubo	Muestra SL1 (μl)	Absorbancia (740nm)	Concentración muestra(μl)
1	100	0.428	271.548
2	100	0.447	288.070
3	100	0.458	297.635
Promedio			285.751
4	250	0.753	554.157
5	250	0.810	603.722
6	250	0.780	577.635
Promedio			578.505

Ya que se obtuvieron los valores de concentración de proteínas para cada valor de absorbancia (Tabla 13) se determinó la cantidad de proteínas de la muestra SL1 tomando en cuenta el proceso de tratamiento y dilución; por lo tanto se determinó que los tubos 1-3 tenían una concentración de suero de 0.02 g/ml (20 mg/ml) mientras que para los tubos 4-6 la concentración era de 0.05 g/ml (50 mg/ml)

Se hizo la conversión del promedio de concentración de proteínas para ambas diluciones a mg/ml de la manera descrita a continuación

$$Proteínas_{1-3} = 285.751 \frac{\mu g}{ml} \left(\frac{1 \text{ mg}}{1000 \mu g} \right) = 0.285751 \frac{mg}{ml}$$

$$Proteínas_{4-6} = 578.505 \frac{\mu g}{ml} \left(\frac{1 \text{ mg}}{1000 \mu g} \right) = 0.578505 \frac{mg}{ml}$$

Para calcular el porcentaje de proteínas contenidas en la muestra de suero SL1 se toma como el 100% la concentración en miligramos de la muestra de suero (20 mg y 50 mg) por lo que se obtiene un porcentaje igual a:

$$\% \text{ proteínas}_{1-3} = \frac{0.285751 \text{ mg/ml (100\%)}}{20 \text{ mg/ml}} = 1.428755\%$$

$$\% \text{ proteínas}_{4-6} = \frac{0.578505 \text{ mg/ml (100\%)}}{50 \text{ mg/ml}} = 1.15701\%$$

Para la muestra SL1 se determinó en promedio un porcentaje de proteínas de 1.29288%

4.2 Resultados de la caracterización de la muestra de suero de leche dulce SL2

4.2.1 Determinación de pH

Para esta muestra de suero de leche dulce SL2 se determinó un pH de 7.43, lo que indica que el suero de leche es una sustancia alcalina.

4.2.2 Determinación de acidez titulable en porcentaje de ácido láctico

Se registraron los datos obtenidos en la titulación de la muestra SL2 utilizando una solución de NaOH 0.1070 N, esta determinación se realizó por triplicado. Se calculó el porcentaje de ácido láctico de SL2 utilizando la ecuación (1), los resultados obtenidos se resumen en la Tabla 14

Tabla 14: Porcentaje de acidez lactosa obtenido para la muestra SL2

Muestra por triplicado (SL2)	Peso	Volumen inicial	Volumen final	Volumen gastado	%Acidez (Ácido láctico)
1	5.001 g	25 ml	24.7	0.3	0.05778%
2	5.002 g	24.6	24.2	0.4	0.07703%
3	5.011 g	24.2	23.9	0.3	0.05766%
% de acidez promedio.					0.064156%

Se obtuvo que la muestra de suero presentaba un porcentaje promedio de ácido láctico de 0.06415%

4.2.3 Determinación de porcentaje de lactosa

Al terminar la determinación de lactosa por duplicado se registraron los volúmenes de solución de NaOH gastada en la titulación para la muestra SL2 (Tabla 15).

Tabla 15: Volúmenes de solución de NaOH empleada en la determinación de lactosa para SL2

Determinación de lactosa	Volumen inicial	Volumen final	Volumen gastado
1	25 ml	11.5 ml	13.5 ml
2	24.9 ml	11.5 ml	13.4 ml
Promedio del volumen gastado en la titulación			13.45 ml

Se realizaron los cálculos correspondientes a la lactosa empleando la ecuación (2) para obtener los miligramos de óxido de cobre Cu_2O en la cual se sustituyeron los valores de volumen gastado en la titulación y normalidad de tiosulfato de sodio

$$m_{de_{Cu_2O}} = 13.5 \text{ ml}(0.1019 \text{ N})(63.54)$$

$$m_{de_{Cu_2O}} = 87.408801 \text{ mg de } Cu_2O$$

Para obtener los miligramos de lactosa que corresponden a los miligramos de Cu_2O calculados se toma como referencia la tabla de valores que se encuentra anexa al documento de la Norma Mexicana NMX-F-219-1972 (Tabla 16)

Tabla 16: Valores para la determinación de azúcares según Fehling muestra SL2 (NMX-F-219-1972)

Cu_2O (mg)	Hidrato de lactosa (mg)
85	53.7
86	54.4
87	55.0
88	55.7
89	56.3

Se utilizan las ecuaciones (3) y (4) para obtener la pendiente (m), el valor de b y los miligramos de hidrato de lactosa.

$$m = \frac{55.7 - 55.0}{88 - 87} = 0.7$$

$$b = -5.9$$

$$y = mx + b$$

$$y = 0.7(87.408801) - 5.9$$

$$y = 55.38616 \text{ mg de lactosa}$$

Se sustituye en la ecuación (5) la masa de lactosa y el peso de la muestra en gramos para calcular el porcentaje de lactosa

$$\%Lactosa = \frac{0.05528616 \text{ g}(5)(100)}{6.253 \text{ g}} = 4.42077\%$$

Finalmente para la primera prueba se obtuvo un total de 4.42077% de lactosa.

Para el duplicado de determinación de lactosa se obtuvieron los siguientes resultados.

$$m_{de_{Cu_2O}} = 13.4 \text{ ml}(0.1019 \text{ N})(63.54)$$

$$m_{de_{Cu_2O}} = 86.76132 \text{ mg de } Cu_2O$$

De acuerdo con los datos de la Tabla 16, se obtienen los miligramos de hidrato de lactosa que corresponden a los miligramos de Cu_2O y se emplea la ecuación (3) y (4) para obtener la pendiente (m), el valor de b y los miligramos de hidrato de lactosa.

$$m = \frac{55.0 - 54.4}{87 - 86} = 0.6$$

$$b = 2.8$$

$$y = mx + b$$

$$y = 0.6(86.76132) + 2.8$$

$$y = 54.856797 \text{ mg de lactosa}$$

Se emplea la ecuación (5) para determinar el porcentaje de lactosa

$$\%Lactosa = \frac{0.0548567 \text{ g}(5)(100)}{6.253 \text{ g}} = 4.3864\%$$

En esta segunda prueba se obtuvo un total de 4.3864% de lactosa.

Finalmente al promediar los resultados obtenidos por duplicado, se tiene que el porcentaje de lactosa que tiene el suero de leche dulce es de 4.403604%

4.2.4 Determinación de porcentaje de humedad

Una vez que se determinó la humedad para la muestra SL2 se registraron los resultados de los pesos que se obtuvieron como se indica en la Tabla 17 y utilizando la ecuación (6) se determinó un porcentaje de humedad de la muestra de suero de 93.2208%

Tabla 17: Determinación de porcentaje de humedad para la muestra SL2

Crisol	Masa (m_0)	Masa crisol con muestra húmeda (m_1)	Masa de muestra húmeda	Masa crisol con muestra seca (m_2)	Masa de muestra seca	% de humedad
1	29.7478 g	32.1795 g	2.4317 g	29.9139 g	0.1661 g	93.1693%
2	43.5907 g	46.0576 g	2.4669 g	43.7540 g	0.1633 g	93.3803%
3	38.1900 g	40.6700 g	2.48 g	38.3608 g	0.1708 g	93.1129%
Promedio de humedad de la muestra						93.2208%

4.2.5 Determinación de porcentaje de lípidos

El método para la determinación de los lípidos totales se llevó a cabo por duplicado y se hizo un registro del peso de la muestra, el volumen de solventes utilizados, el volumen final de cloroformo, y el volumen, peso y peso seco de la alícuota (Tabla 18). Los valores registrados se sustituyeron en la ecuación (7) para calcular los lípidos totales de la muestra SL2.

Tabla 18: Resultados obtenidos de la determinación de lípidos totales de la muestra SL2

Prueba	1	2
Peso de la muestra	8.587 g	8.578 g
Volumen de cloroformo (V_C)	12 ml	12 ml
Volumen de alícuota (V_A)	2 ml	2 ml
Peso alícuota	2.811 g	2.779 g
Peso seco de alícuota (P_{LA})	0.01 g	0.016
Lípidos totales (LT)	0.06 g	0.096 g

Para una muestra de 8.587 g de lactosuero se determinaron una cantidad de 0.06 g de lípidos totales, para obtener los gramos de lípidos contenidos en 1 g de muestra se utiliza la ecuación (8), sustituyendo los valores

$$gL = \frac{0.06 \text{ g lípidos}}{8.587 \text{ g}} = 0.0069873 \text{ g de lípidos}$$

Por otra parte, para la segunda prueba se tomó una muestra de 8.578g de lactosuero con 0.096g de lípidos totales, para calcular los gramos de lípidos contenidos en 1g de muestra nuevamente se sustituyen los valores en la ecuación (8)

$$gL = \frac{0.096 \text{ g lípidos}}{8.578 \text{ g}} = 0.011191 \text{ g de lípidos}$$

El porcentaje de lípidos de la muestra de suero de leche se determinó de la siguiente manera:

Porcentaje de lípidos de la prueba 1

$$\% \text{ lípidos} = 0.0069873(100\%)$$

$$\% \text{ lípidos} = 0.69873\%$$

Porcentaje de lípidos de la prueba 2

$$\% \text{ lípidos} = 0.011191(100\%)$$

$$\% \text{ lípidos} = 1.1191 \%$$

En promedio se obtuvo un porcentaje de lípidos de 0.908915% para la muestra SL2

4.2.6 Determinación de porcentaje de proteínas.

4.2.6.1 Cuantificación de proteínas por el método de Lowry Peterson (Peterson ,1997) para SL2

Se registraron los volúmenes de reactivos y de muestra que se emplearon en este ensayo, así como las absorbancias que se obtuvieron (Tabla 19).

Tabla 19: Absorbancias leídas a 740 nm para la muestra de suero de leche dulce SL2

Tubo	Muestra (μL)	Agua (μL)	Lowry (ml)	Folin(ml)	Absorbancia (740nm)
7	100	900	5	0.5	0.451
8	100	900	5	0.5	0.484
9	100	900	5	0.5	0.469
10	250	750	5	0.5	0.81
11	250	750	5	0.5	0.791
12	250	750	5	0.5	0.778

Para los resultados obtenidos para la muestra SL2, se toma en cuenta la ecuación lineal de la curva patrón de BSA a 740nm (Apéndice B.7) y se utiliza la ecuación (9) para obtener la concentración de proteínas en muestra (Tabla 20)

Tabla 20: Concentración de proteínas por cada valor de absorbancia de la muestra SL2

Tubo	Muestra SL2 (μl)	Absorbancia (740nm)	Concentración muestra(μl)
7	100	0.451	291.548
8	100	0.484	320.243
9	100	0.469	307.200
	Promedio		306.330
10	250	0.81	603.721
11	250	0.791	587.200
12	250	0.778	575.895
	Promedio		588.939

Se determinó que para los tubos 7-9 la concentración de suero fue de 0.02 g/ml (20 mg/ml) mientras que para los tubos 10-12 tuvo un valor de 0.05 g/ml (50 mg/ml) y se hizo la conversión del promedio de concentración de proteínas para ambas diluciones a mg/ml

$$Proteínas_{7-9} = 306.330 \frac{\mu g}{ml} \left(\frac{1 \text{ mg}}{1000 \mu g} \right) = 0.306330 \frac{mg}{ml}$$

$$Proteínas_{10-12} = 588.939 \frac{\mu g}{ml} \left(\frac{1 \text{ mg}}{1000 \mu g} \right) = 0.588939 \frac{mg}{ml}$$

Para calcular el porcentaje de proteínas contenidas en la muestra de suero SL2 se toma como el 100% la concentración en miligramos de la muestra de suero (20 mg y 50 mg) por lo que se obtiene:

$$\% \text{ proteínas}_{7-9} = \frac{0.30633 \text{ mg/ml} (100\%)}{20 \text{ mg/ml}} = 1.53165\%$$

$$\% \text{ proteínas}_{10-12} = \frac{0.588939 \text{ mg/ml} (100\%)}{50 \text{ mg/ml}} = 1.17787\%$$

Para la muestra SL2 se determinó en promedio un porcentaje de proteínas de 1.354764%.

4.2.7 Resultados finales de la caracterización de las muestras de lactosuero dulce SL1 y SL2.

En la Tabla 21 se comparan los resultados obtenidos de la caracterización realizada a las muestras de suero de leche dulce SL1 y SL2 con otros resultados reportados por distintos autores

Tabla 21: Resultados generales de la caracterización fisicoquímica del lactosuero para SL1 y SL2

Parámetro	SL1	SL2	Resultado reportado	Referencia
pH	7.34	7.43	6.43 ± 0.21	(Contreras López, 2021)
Ácido láctico (%)	0.12633	0.06415	0.21±0.01	(de Meneses, 2020)
Lactosa (%)	3.6076	4.4036	4.5	(Chumi Pasato <i>et al.</i> , 2025)
Humedad (%)	93.871	93.220	97.46±0.1800	(Ortiz López, 2024)
Lípidos (%)	2.749	0.909	0.28±0.03	(de Meneses, 2020)
Proteínas (%)	1.29288	1.354764	0.022 ± 0.05	(Osorio González, 2017)

Para ambas muestras se obtuvo un pH alrededor de 7.0, siendo mayor el medido para SL2 que fue de 7.43, mientras que para SL1 fue de 7.34, lo que muestra una mayor alcalinidad que lo reportado por Contreras López (2021) que midió un pH de 6.43 y Osorio González (2017) donde se reportó un pH de 6.60 ± 0.02 utilizando el método descrito en la Norma Mexicana NMX-F-317-S-1978. Por otra parte, el porcentaje de ácido láctico obtenido fue mayor en la muestra SL1 con 0.1263%, mientras que para SL2 se obtuvo 0.0641%. En los resultados reportados por de Meneses (2020) el porcentaje de ácido láctico tuvo un valor de 0.21% empleando el mismo método de titulación con NaOH 0.1 N. Para la determinación de lactosa, la muestra SL1 presentó un porcentaje de 3.6076%, mientras que para SL2 se obtuvo un porcentaje de 4.4036%, una cantidad muy cercana a la reportada en el trabajo realizado por Chumi Pasato *et al.* (2025), en el cual se determinó un 4.5% de lactosa; por otra parte en la caracterización realizada por Montesdeoca Párraga & Piloso Chávez (2020), el porcentaje de lactosa fue de 3.71% siendo un resultado cercano a lo obtenido para SL1, así mismo en Solís Oba *et al.* (2023) obtuvieron un porcentaje intermedio con 4.28±0.39 para suero de queso panela. Respecto a la

determinación de humedad, ambas muestras presentaron valores alrededor de 93% siendo mayor el porcentaje de SL1 con 93.871%, sin embargo se obtuvo un porcentaje menor que el reportado por Ortiz López (2024) que fue de 97.46%. Por otra parte, en de Meneses (2020) se reporta una humedad de 93.53 ± 0.46 % similar al obtenido para SL1 y SL2. El porcentaje de lípidos para ambas muestras difiere entre sí siendo mayor en SL1 con 2.749%, mientras que para SL2 se obtuvo 0.909%; en esta caracterización se obtuvo el mayor porcentaje de lípidos que lo reportado por de Meneses (2020) en donde se determinó 0.28% de contenido lipídico utilizando el método Bligh & Dyer (1959) y en Paredes Molina *et al.* (2025) donde se determinó un porcentaje de lípidos de 0.64 ± 0.08 % mediante el método Soxhlet. En la determinación de proteínas no hubo grandes diferencias entre SL1 y SL2, se obtuvo un mayor porcentaje en la muestra SL2 con 1.3547% mientras que para SL1 se determinó un 1.2928% lo que fue una cantidad similar a lo reportado por Solís Oba *et al.* (2023) donde se midió un porcentaje de 1.26 ± 0.12 % para suero de queso panela; sin embargo fue superior a lo reportado por Osorio González (2017) que obtuvo un porcentaje proteico de 0.022 utilizando el método de Lowry, por otra parte fue inferior al 3.04 ± 0.23 % reportado por Contreras López (2021) que fue determinado mediante un analizador ultrasónico.

4.3 Crecimiento de microorganismos en distintas formulaciones de medio de cultivo artificial adicionado con lactosuero

4.3.1 *Escherichia coli*

Para la cepa de *E. coli* se realizó un monitoreo de su crecimiento por 96 horas a una temperatura de 21°C. Durante las primeras 24 horas se observó crecimiento uniforme en las formulaciones T1, T2 y T3 mostrando un crecimiento más abundante en las concentraciones T2 y T3 a las 48 horas. Por otra parte las cajas que contenían la formulación T4 y T5 presentaron un crecimiento bajo y uniforme de microorganismos a las 48 horas, manteniéndose sin mayores cambios durante las 96 horas.

En el trabajo realizado por Rivera Pastrana & de León Rodríguez (2005) se empleó un medio mínimo con una concentración de 10g/L de suero de leche bovino como única fuente de carbono y como sustrato sustituto en la expresión de proteínas recombinantes en una cepa de *E.coli* W3110, modificada con un vector de expresión para producir la enzima penicilino-acilasa. El crecimiento bacteriano se llevó a cabo en agitación y a una temperatura de 29°C, iniciando su crecimiento a las 4.5 horas y concluyendo su fase exponencial después de 12 horas. La temperatura de crecimiento para *E.coli* en el presente experimento (21°C) fue menor que en lo reportado por Rivera Pastrana & de León Rodríguez (2005), sin embargo la concentración de lactosuero para el medio fue mayor, ensayando concentraciones superiores al 10%; además de que el lactosuero no fue la única fuente de carbono, debido a que el medio LB contenía glucosa.

Por otra parte, en Passotti *et al.* (2017) se utilizó como sustrato de crecimiento un permeado de lactosuero sin suplementar, que fue obtenido mediante la separación de la fracción proteica a través de un proceso de ultrafiltración manteniendo el contenido de lactosa. Posteriormente el permeado se utilizó para la producción de etanol mediante ocho cepas de *E.coli* modificadas genéticamente, reportando que las cepas ensayadas crecieron con éxito presentando un tiempo de duplicación en la fase exponencial de 0.4-0.75 horas, además que se alcanzó una densidad celular máxima a las 21 horas a una temperatura de 30°C y pH de 7.0.

En el trabajo realizado por Vélchez Cáceda *et al.* (2023) se optimizó la productividad de un medio de cultivo para *E.coli* ATCC 25922 a base de miel de abeja; se probaron medios en placa con agar y base miel a dos distintas concentraciones 10% y 20% ensayando dos tiempos de incubación de 12 y 24 horas y una temperatura de 37°C; además se realizaron pruebas químicas de caracterización para detectar metabolitos secundarios presentes en la miel. El medio de cultivo a base de miel de abeja que presentó una mejor productividad fue aquel con una concentración de 20% e incubación por 24 horas. En este trabajo no se ocupó un residuo agroindustrial para el cultivo de *E. coli*, sin embargo se planteó un modelo experimental similar a lo realizado en este trabajo.

En la Figura 17 se muestra el crecimiento de *E.coli* a las 24 horas (A) y a las 96 horas (B); se puede observar el control (C) y las formulaciones T1, T2 y T3 que fueron las que presentaron un mejor desarrollo del microorganismo.

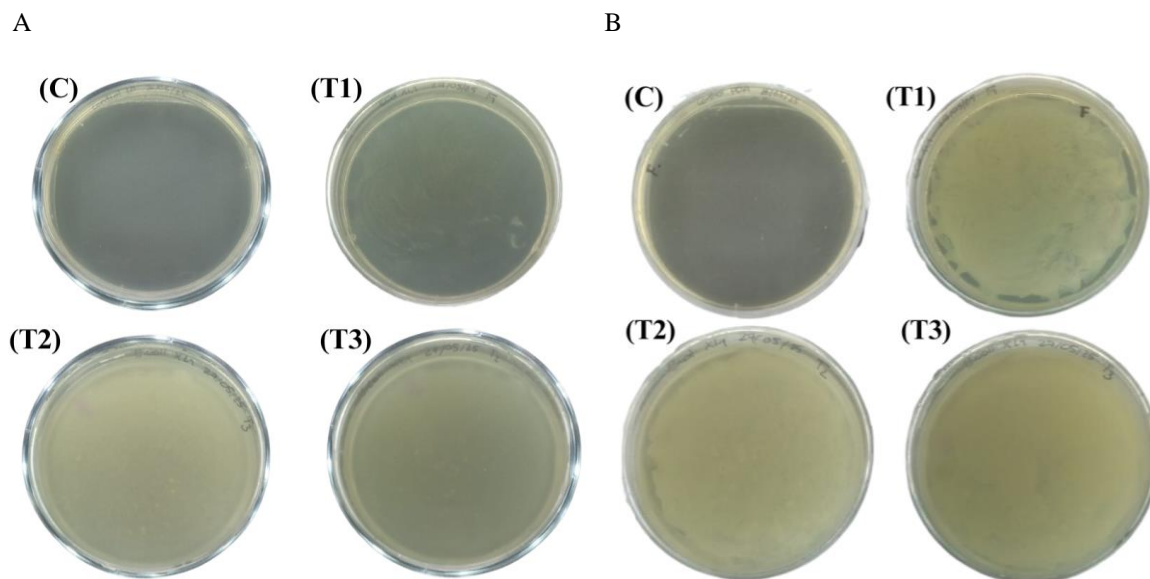


Figura 17: Crecimiento de *E. coli* a las 24 horas (A) y a las 96 horas (B)

4.3.2 *Lactobacillus rhamnosus*

El crecimiento de *Lactobacillus* se ha probado más comúnmente utilizando lactosuero como sustrato, en algunos trabajos se le hace un tratamiento previo o bien es suplementado para utilizarse como un medio de cultivo.

En Barrios *et al.* (2016) se utilizó lactosuero para optimizar el crecimiento de *L.rhamnosus* y producir metabolitos secundarios a través de fermentación a una temperatura de 25.7°C y un pH de 4.5 por 14 horas en condiciones de agitación y oscuridad, obteniendo una concentración bacteriana mínima para la producción de un bioinsumo. Así mismo en Pimentel Gonzáles *et al.* (2007) se utilizó lactosuero dulce estéril sin suplementar, proveniente de la elaboración de queso panela en la región de Tulancingo, Hidalgo como medio de cultivo para realizar la cinética de crecimiento de *L.rhamnosus*; este cultivo se incubó a 37°C, sin agitación ni control de pH; obteniendo la concentración máxima a las 48 horas de fermentación.

Por otro lado en Batistela *et al.* (2021) se optimizó la producción de biomasa de *Lactobacillus rhamnosus* L73 en un medio de cultivo a base de permeado de suero de leche que se suplementó con extracto de levadura, sulfato de manganeso ($MnSO_4$) y sulfato de magnesio ($MgSO_4$) y se incubó a 37°C por 24 horas, alcanzando niveles máximos de biomasa en el recuento de microorganismos con una concentración deseable de 12.875 g/100ml de permeado de lactosuero y 0.3529 g/100ml de extracto de levadura. De igual forma en el trabajo de Alvarez *et al.* (2010) se realizó una caracterización cinética de la producción de biomasa de *Lactobacillus casei rhamnosus* que fue cultivada en suero de leche seco por aspersión y deproteinizado, que se reconstituyó a diferentes concentraciones de lactosa (35 a 70 g/L), la fermentación se llevó a cabo a una temperatura de 37°C y pH de 5.5, alcanzando la etapa de crecimiento exponencial a las 12 horas. De forma similar en la investigación realizada por Torres Rodelo (2018) se evaluó el crecimiento de *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 9469 durante 24 horas bajo condiciones de 37°C de temperatura en cinco medios de cultivo formulados con lactosuero liofilizado, deproteinizado y suplementado con inulina (2.0g/L), extracto de levadura (4.9g/L) y minerales, siendo el extracto de levadura el suplemento que más favoreció el crecimiento de *L.rhamnosus* siendo muy cercano al crecimiento obtenido en medio comercial MRS.

La cepa de *L.rhamnosus* se monitoreó por 96 horas; presentó 3 colonias visibles a las 24 horas en T1, mientras que en la formulación T2 se presentó un abundante crecimiento de colonias (Figura 18). A las 48 horas tanto la formulación T1 y T2 presentaron un crecimiento saturado de microorganismos, mientras que en las formulaciones con mayor cantidad de lactosuero (T3, T4, T5) se presentó un crecimiento uniforme leve que no tuvo mayores cambios de las 72 a las 96 horas (Figura 19). Las colonias que se observaron eran de color blanco, de forma redonda y con bordes lisos, en las formulaciones que presentaron crecimiento uniforme no se pudo distinguir la formación de colonias. Por último a las 96 horas se tomó una muestra de *L.rhamnosus* y se observó bajo el microscopio a 40X, en donde se puede observar su forma bacilar y alargada (Figura 20).

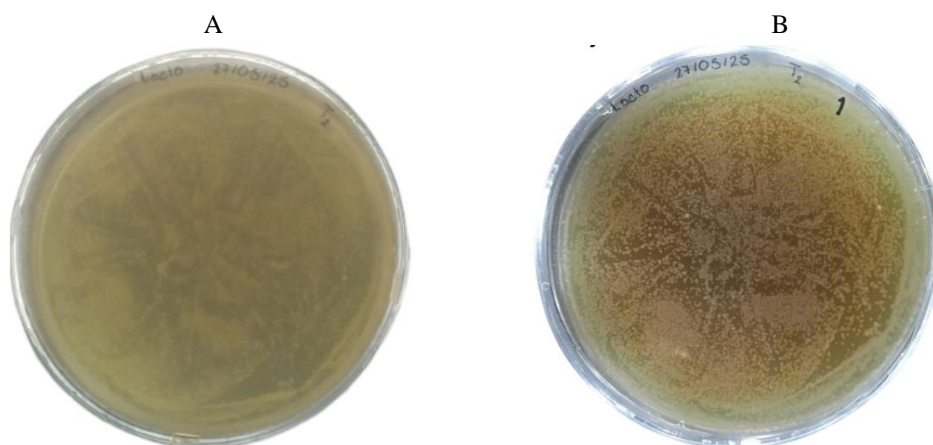


Figura 18: Crecimiento de *L. rhamnosus* en la formulación T2 a las 24 horas (A) y a las 96 horas (B)

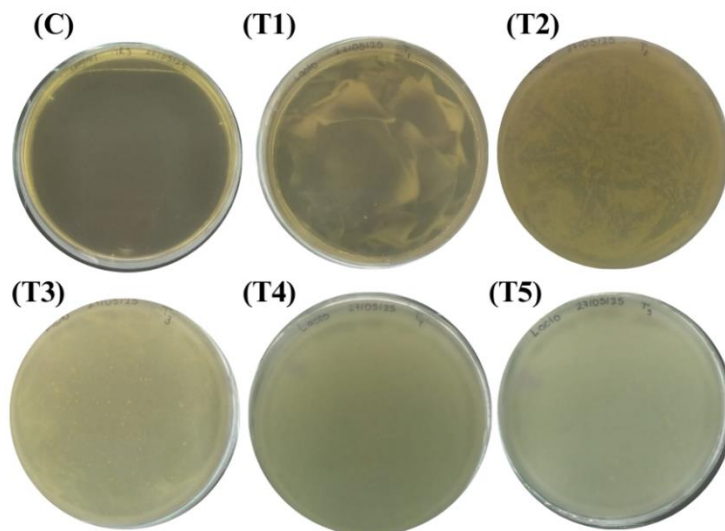


Figura 19: Crecimiento de *L.rhamnosus* a las 48 horas

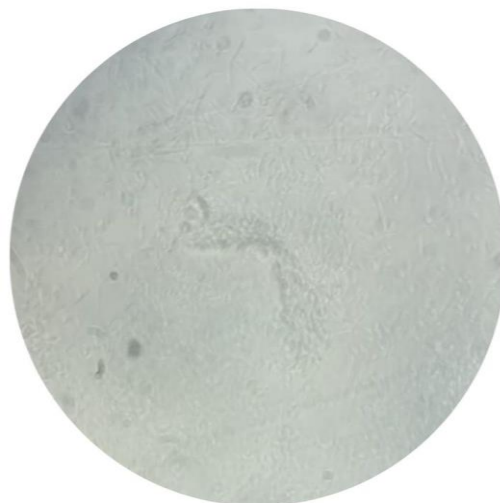
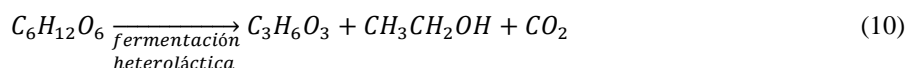


Figura 20: *L.rhamnosus* observada bajo el microscopio óptico a 40X

En el trabajo desarrollado por Alvarez *et al.* (2010) se menciona que *Lactobacillus casei* es una bacteria heterofermentativa facultativa cuyo producto mayoritario es el ácido láctico, sin embargo también se producen otras sustancias como dióxido de carbono, etanol y acetato. De igual forma se menciona que en los experimentos de crecimiento realizados en lactosuero, no hubo acumulación de glucosa, lo que podría indicar que la glucosa derivada de la hidrólisis de la lactosa se utiliza inmediatamente por el microorganismo, mientras que la galactosa se acumula en el medio de cultivo durante la primer etapa de la fermentación, en la cual existe una rápida producción de biomasa. Así mismo en Parra Huertas (2010), se menciona que las bacterias ácido lácticas pueden metabolizar la D-galactosa a través de la ruta tagatosa-6-fosfato también llamada ruta Leloir. La fermentación heteroláctica es característica de varias especies de *Lactobacillus*, en esta fermentación se metabolizan las hexosas a través de la vía Embden-Meyerhoff, además de que ocurre el metabolismo de pentosas por la vía de la fosfocetalosa y a partir de una molécula de lactosa se obtiene ácido láctico, etanol y dióxido de carbono en una relación molar de 1:1:1 (Carbonero Zaldegui, 1975 p.31; Parra Huertas, 2010). De manera que, en base a la información anterior el metabolismo de *Lactobacillus rhamnosus* para producir ácido láctico puede describirse a través de la ecuación estequiométrica general (10)



De acuerdo a Sun *et al.* (2017) la producción más alta de L- ácido láctico que se ha alcanzado con la cepa *L.rhamnosus* ATCC 1143 ha sido de 184 g/L por cada 200 g/L de glucosa, lo que representa un 92% de ácido láctico. En base a esto, puede realizarse una estimación de la cantidad máxima de ácido láctico que se puede obtener utilizando *L. rhamnosus* ATCC 1143 a partir de la cantidad de lactosa determinada para las muestras de lactosuero SL1 y SL2, asumiendo que la lactosa se hidroliza en galactosa y glucosa en partes iguales y que ambos monosacáridos son metabolizados por la bacteria. Por lo tanto podría calcularse que para la muestra SL1, con un porcentaje de lactosa determinado de 3.6076%, a partir de su fermentación el máximo porcentaje de ácido láctico alcanzado sería 3.318992%, mientras que para la muestra SL2 con un porcentaje de lactosa de 4.4036%, el máximo porcentaje de ácido láctico que se podría obtener sería 4.051313%. Con estos datos se puede inferir que la producción de ácido láctico utilizando la cepa *L.rhamnosus* ATCC 11443 en lactosuero no tendría altos rendimientos, por lo tanto sería necesario el realizar algún pretratamiento para concentrarlo o deproteinizarlo, así como suplementarlo con alguna fuente de nitrógeno, lo que permitiría un aumento en el rendimiento de producción de ácido láctico (Alvarez *et al.*, 2010)

4.3.3 *Pichia anomala*

No se encontró un trabajo en donde se utilizara lactosuero dulce como sustrato específico para el crecimiento de *P. anomala*, sin embargo se encontraron trabajos en donde se ha ensayado el crecimiento de diversas especies de levaduras empleando distintos residuos agroindustriales como sustratos.

En Benítez de la Torre *et al.* (2021) se utilizaron lactosuero dulce y ácido proveniente de la elaboración artesanal de queso como medios nutritivos para la producción de proteínas unicelulares empleando la levadura *Kluyveromyces marxianus*, obteniendo un rendimiento de 6 g/L en lactosuero dulce a las 48 horas de fermentación, sin embargo a las 60 horas se obtiene el mismo rendimiento de producción de proteínas unicelulares tanto en suero dulce como en suero ácido. Las colonias de esta levadura se describen como pequeñas, forma lisas con borde circular definido y de color crema.

Así mismo, en el trabajo realizado por Khalil *et al.* (2008) se utilizaron cinco cepas de levadura (entre ellas *Pichia anomala*) para la producción de proteínas de una sola célula, además se probaron cuatro residuos agroindustriales como sustrato de crecimiento (entre ellos lactosuero). Para los cultivos de las levaduras se empleó un medio basal de sales minerales con un pH de 7.2 y una concentración del 10% de residuo agroindustrial, que posteriormente fue esterilizado e inoculado con 1ml de suspensión de levadura e incubado por 5 días a una temperatura de $28\pm 2^{\circ}\text{C}$ y en condiciones de agitación. Se reportó que *Pichia anomala* presentó un mejor crecimiento en cáscara de naranja que en lactosuero, mientras que el lactosuero fue un sustrato favorable para la cepa *Kluyveromyces lactis*, obteniendo el mayor rendimiento de proteína (6.78 g/L).

Por otra parte, en la investigación realizada por Bansfield *et al.* (2023) se probó el crecimiento y la actividad metabólica de siete especies de hongos y tres especies de levadura, empleando cinco diferentes residuos de la industria alimenticia como sustratos de crecimiento. Los organismos se dejaron crecer por 14 días a una temperatura de 24°C y se monitoreó su progreso a los 2, 7 y 14 días. Se obtuvo que el mejor sustrato de producción de biomasa fue el suero de queso, en el cual se presentó a los 2 días un crecimiento abundante de material filamentoso para cinco especies de hongo y formación rápida de colonias para dos especies de levadura de las cuales la que presentó un mejor desarrollo fue *Geotrichum candidum*. Adicionalmente en este estudio se probó el añadir agar a los sustratos para evitar la producción de pellets, sin embargo esto ocasionó una disminución de la actividad metabólica celular de los organismos que crecieron en suero de queso.

La cepa de *P. anomala* presentó crecimiento desde las 24 horas en todas las formulaciones, principalmente en T1 y T2 (Figura 21). A las 48 horas tuvo un crecimiento abundante, incluso en las formulaciones con mayor proporción de lactosuero, finalmente a las 96 horas se mostró un muy buen crecimiento en las formulaciones T2, T3, T4 y T5 (Figura 22). A las 96 horas se tomó una muestra de *P. anomala* y se observó bajo el microscopio a 40X, se pudo distinguir la forma esférica de la levadura (Figura 23).

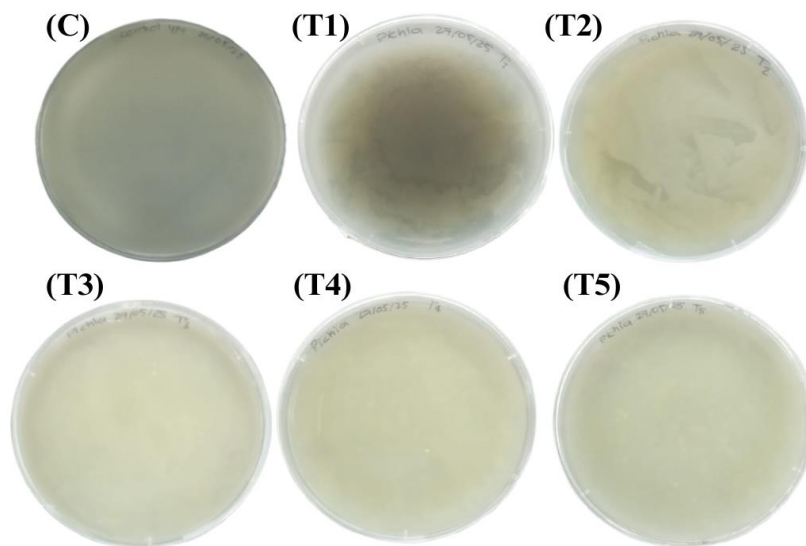


Figura 21: Crecimiento de *P.anomala* a las 24 horas

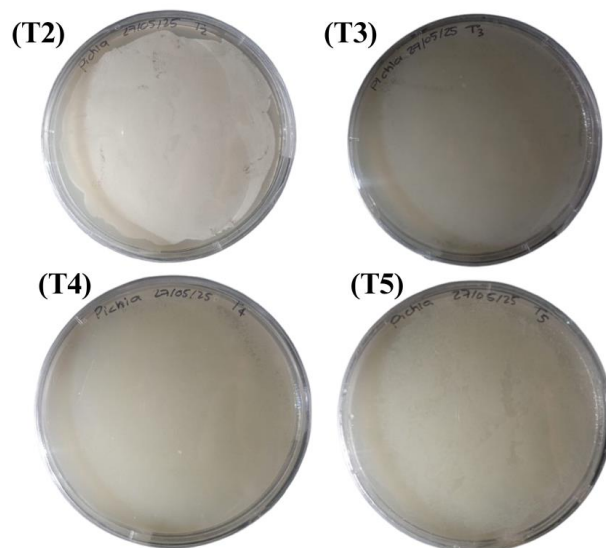


Figura 22: Crecimiento de *P.anomala* a las 96 horas

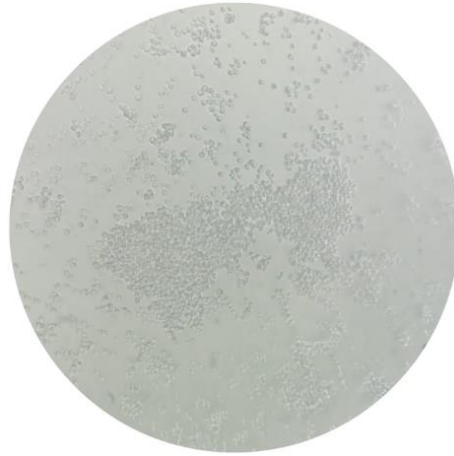


Figura 23: *P. anomala* vista desde el microscopio (40X)

4.3.4 *Trichoderma harzianum*

No se encontraron trabajos que reportaran el crecimiento de *T. harzianum* específicamente en lactosuero, sin embargo en Antomarchi Obregón *et al.* (2023) se reportó el crecimiento de la cepa *T. harzianum* A-34 en cuatro subproductos sólidos, bagazo de caña y aserrín de pino blanco como fuentes de carbono y bagazo de malta y cascarilla de arroz como fuentes de nitrógeno; se formularon combinaciones entre estos y la mejor de ellas fue el aserrín de pino blanco con bagazo de malta, aportando una cantidad de 104.23% de carbono y 4.7% de nitrógeno respectivamente.

Por otra parte en Martínez Cervantes *et al.* (2018) se utilizó cascarilla de café, fibra de coco y bagazo de caña de azúcar como soporte-sustrato para el crecimiento de *T. harzianum*, y se determinó como el mejor sustrato al bagazo de caña de azúcar debido a que se produjo un mayor número de esporas por hora, sin embargo en la cascarilla de café se obtuvo un máximo nivel de esporulación a las 24 horas.

Así mismo, en el trabajo realizado por Díaz Vela *et al.* (2024) se determinó la capacidad de reproducción de esporas de *Trichoderma spp.* empleando residuos agroindustriales lignocelulósicos como pulpa de café y bagazo de caña en una fermentación del estado sólido a 32°C, siendo un mejor sustrato el bagazo de caña al final de 20 días. En Ceballos Chávez *et al.* (2025) se ensayó el crecimiento de cuatro cepas de *Trichoderma asperelloides* en ocho diferentes medios de cultivo y seis sustratos orgánicos por 7 días con un rango de pH de 5.5- 7.0 y en condiciones de luz y oscuridad a diferentes temperaturas (17.5°C y 7°C); destacando un valor alto de crecimiento en el medio papa dextrosa agar (PDA), agar bacteriológico y PDA+trigo, además que se presentó una reproducción viable en semillas de trigo y granos de arroz que se emplearon como sustrato.

Para *T.harzianum* se monitoreó el crecimiento por 120 horas; se tomaron fotografías del progreso de las cepas en las distintas formulaciones de medio de cultivo con lactosuero cada 24 horas y además se midió el radio de crecimiento en cada caja. El hongo presentó un crecimiento favorable en todas las formulaciones, sin embargo fue más lento en aquellas con mayor contenido de lactosuero. A las 24 horas se inició el crecimiento en las formulaciones T1 y T2 (Figura 24).A las 48 horas se observó mayor crecimiento en T1 y T2, mientras que en las formulaciones T3, T4 y T5 se comenzó a presentar un leve crecimiento fúngico (Figura 25)

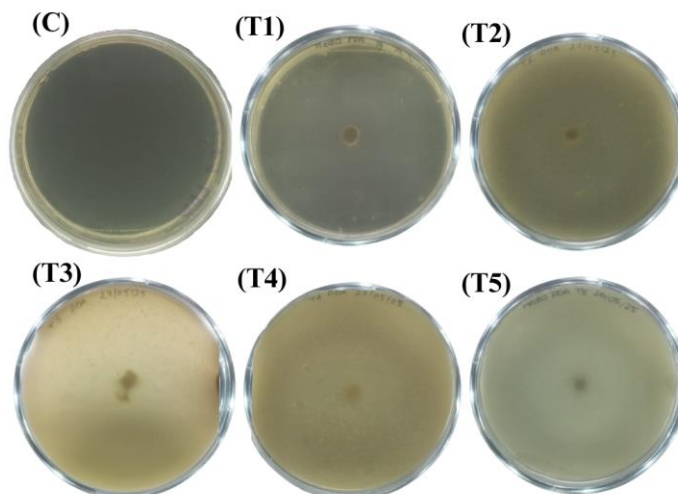


Figura 24: Crecimiento de *Trichoderma harzianum* a las 24 horas

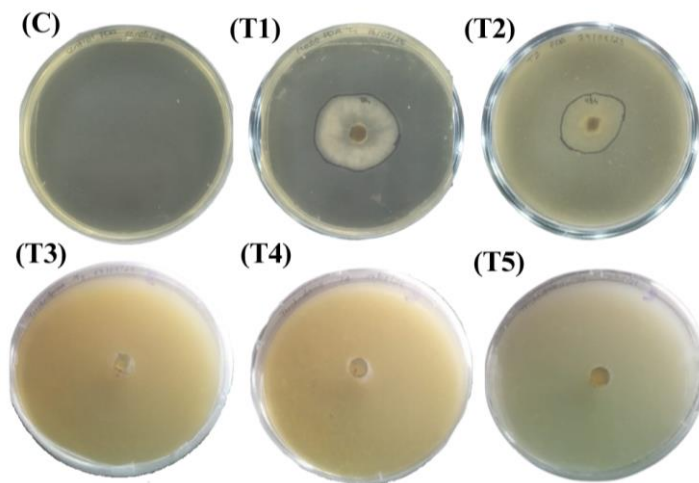


Figura 25: Crecimiento de *T. harzianum* a las 48 h

La Figura 26 muestra el desarrollo del hongo a las 72 (A) y 96 (B) horas. A las 72 horas en T1 y T2 se muestra una mayor expansión de micelio, presentando esporulación en T1. Por otra parte a las 96 horas en la formulación T1 alcanza el crecimiento máximo y mayor presencia de esporas, mientras que en T2 y T3 se muestra un crecimiento constante de micelio que casi abarca la totalidad de la caja Petri, sin embargo aún no se muestra esporulación. Para las formulaciones T4 y T5 el crecimiento de micelio es más lento que en aquellas formulaciones con menor contenido de lactosuero, sin embargo en T4 el micelio se muestra más desarrollado, aunque no cuenta con una amplia área de expansión.

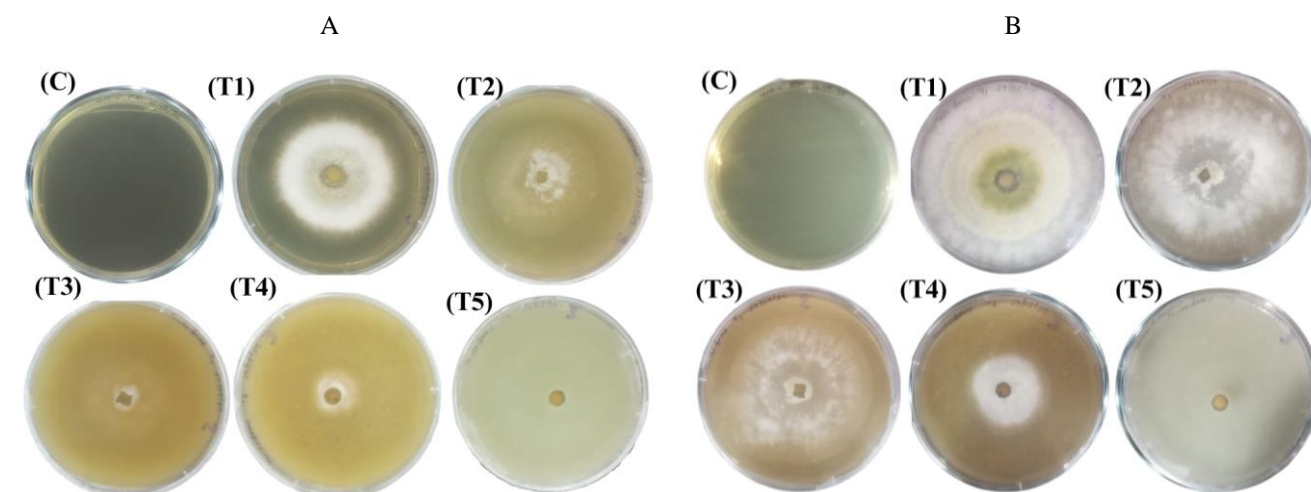


Figura 26: Crecimiento de *T. harzianum* a las 72 horas (A) y a las 96 horas (B)

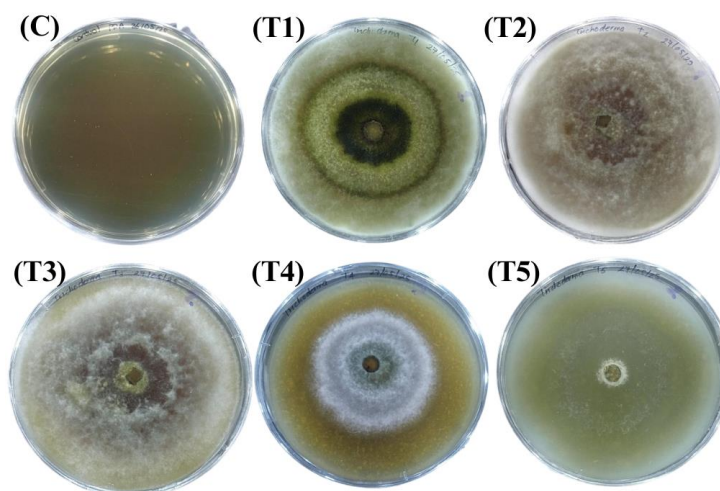


Figura 27: Crecimiento de *T. harzianum* a las 120 horas

En la Figura 27 se ilustra el desarrollo de *T. harzianum* a los 5 días (120 horas) en las cuatro formulaciones ensayadas; se presentó un crecimiento total en las formulaciones T1, T2 y T3, mientras que para T4 y T5 el crecimiento fue más lento y no cubrió la totalidad de la caja Petri, en T5 el hongo presentó desarrollo leve de micelio, sin embargo tuvo una mayor expansión que en T4, por otra parte T4 tuvo una expansión menor pero un mejor desarrollo de micelio y la aparición de esporas. Finalmente se tomó una muestra de *T. harzianum* y se observó en un microscopio óptico con un objetivo de 40X (Figura 28)

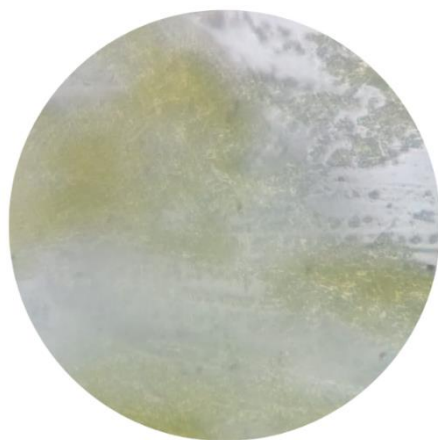


Figura 28: *T.harzianum* visto desde el microscopio (40X)

Con el registro del crecimiento radial de *T. harzianum* se calculó el área de crecimiento (cm^2) y se realizó una gráfica de barras en el programa Microcal Origin 6.0 comparando el desarrollo durante 120 horas (5 días) en las diferentes formulaciones de medio de cultivo con lactosuero (Figura 29).

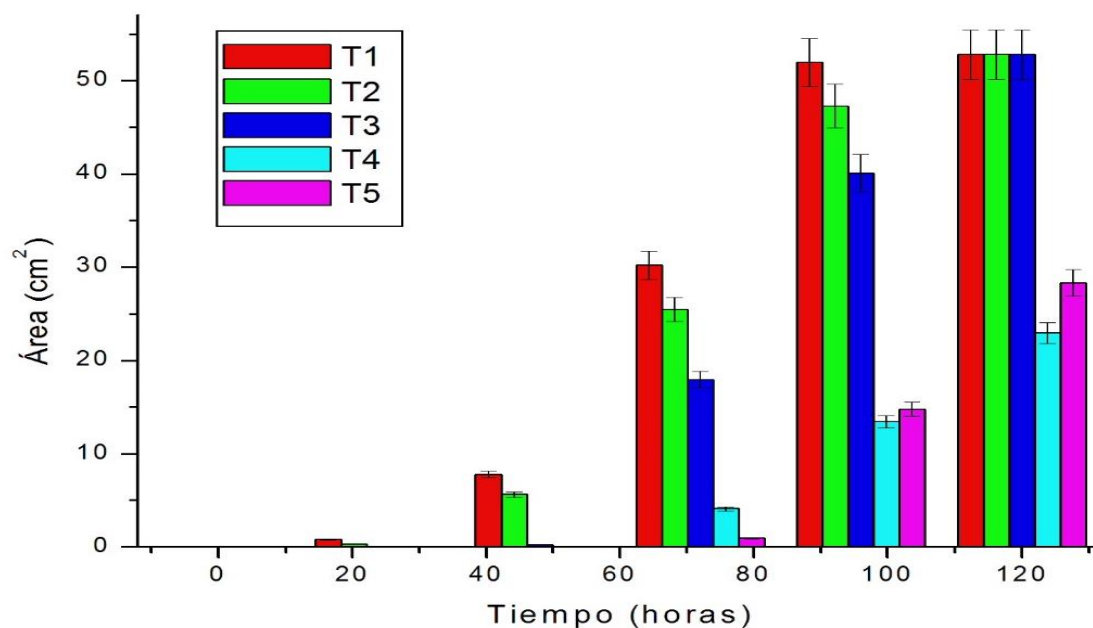


Figura 29: Gráfica de crecimiento radial de *T. harzianum* por 120 horas en las distintas formulaciones de medio PDA con lactosuero

Se puede observar que *T. harzianum* tuvo un mejor crecimiento en T1 y T2 empezando su desarrollo desde el día 1, por otra parte la formulación T3, presentó crecimiento hasta el día 2, sin embargo en las formulaciones T1, T2 y T3 se alcanzó el máximo crecimiento en placa a los 5 días. Al día 3 hubo crecimiento en todas las formulaciones de lactosuero, para las formulaciones T4 y T5 el crecimiento del hongo fue más lento, iniciando el día 3 y para el día 5, los cultivos fúngicos no alcanzaron el crecimiento máximo, siendo T5 la formulación que presentaría una mayor área de crecimiento. Se ha determinado que las colonias de *Trichoderma harzianum* crecen y maduran rápidamente a los cinco días de incubación en medio de cultivo agar de dextrosa y papa

(PDA) a 25°C, presentando un crecimiento radial máximo de 45 mm (Romero Arenas *et al.*, 2009; Sarkar *et al.*, 2010) un radio ligeramente superior al máximo alcanzado en este trabajo que fue de 4.1 cm

Posteriormente se realizaron gráficas de dispersión en el que se presenta la relación entre Área de crecimiento radial (cm²) de *T. harzianum* vs Tiempo (horas) para cada una de las formulaciones, utilizando el programa Microcal Origin 6.0 (Figura 30). Se realizó un ajuste lineal (se muestra en color rojo) en el cuál se obtuvo la ecuación de la recta ($y=mx+b$) y el coeficiente de correlación (R) para cada una; sin embargo se observó que el comportamiento del crecimiento de *T. harzianum* no se ajustaba completamente al modelo lineal, por lo cual se empleó el modelo sigmoideal de Boltzmann (mostrado en color azul).

Las gráficas de crecimiento de *T. harzianum* en la formulación T1 (Figura 30A) y la formulación T2 (Figura 30B) presentaron un buen ajuste para ambos modelos lineal y sigmoideal, siendo la gráfica T2 la que presentaría un mayor coeficiente de correlación ($R=0.9572$) y coeficiente de determinación ($R^2=0.9999$) lo que indica un mejor ajuste para ambos modelos. La gráfica T5 (Figura 30E) presentó el coeficiente de correlación más bajo ($R=0.8452$) lo que indica que no se ajusta de forma lineal, mientras que para el ajuste sigmoideo, presentó el coeficiente de determinación más alto ($R^2=1$), sin embargo cabe mencionar que para las formulaciones T4 y T5, *T. harzianum* no alcanzó el crecimiento máximo. En la Tabla 22 se detallan los parámetros obtenidos para cada ajuste lineal y sigmoideal correspondientes a las formulaciones de lactosuero ensayadas.

Tabla 22: Parámetros obtenidos en el ajuste lineal y sigmoideal para el crecimiento de *T.harzianum* en las distintas formulaciones de lactosuero

Formulación	Ajuste lineal	Ajuste sigmoideal
T1	$y = 0.52322x - 7.51135$ $R = 0.9556$	$R^2 = 0.9992$
T2	$y = 0.50228x - 8.3907$ $R = 0.95727$	$R^2 = 0.99996$
T3	$y = 0.47854x - 10.21568$ $R = 0.93115$	$R^2 = 0.99493$
T4	$y = 0.18948x - 4.662$ $R = 0.8954$	$R^2 = 0.99921$
T5	$y = 0.22217x - 6.00144$ $R = 0.84527$	$R^2 = 1$

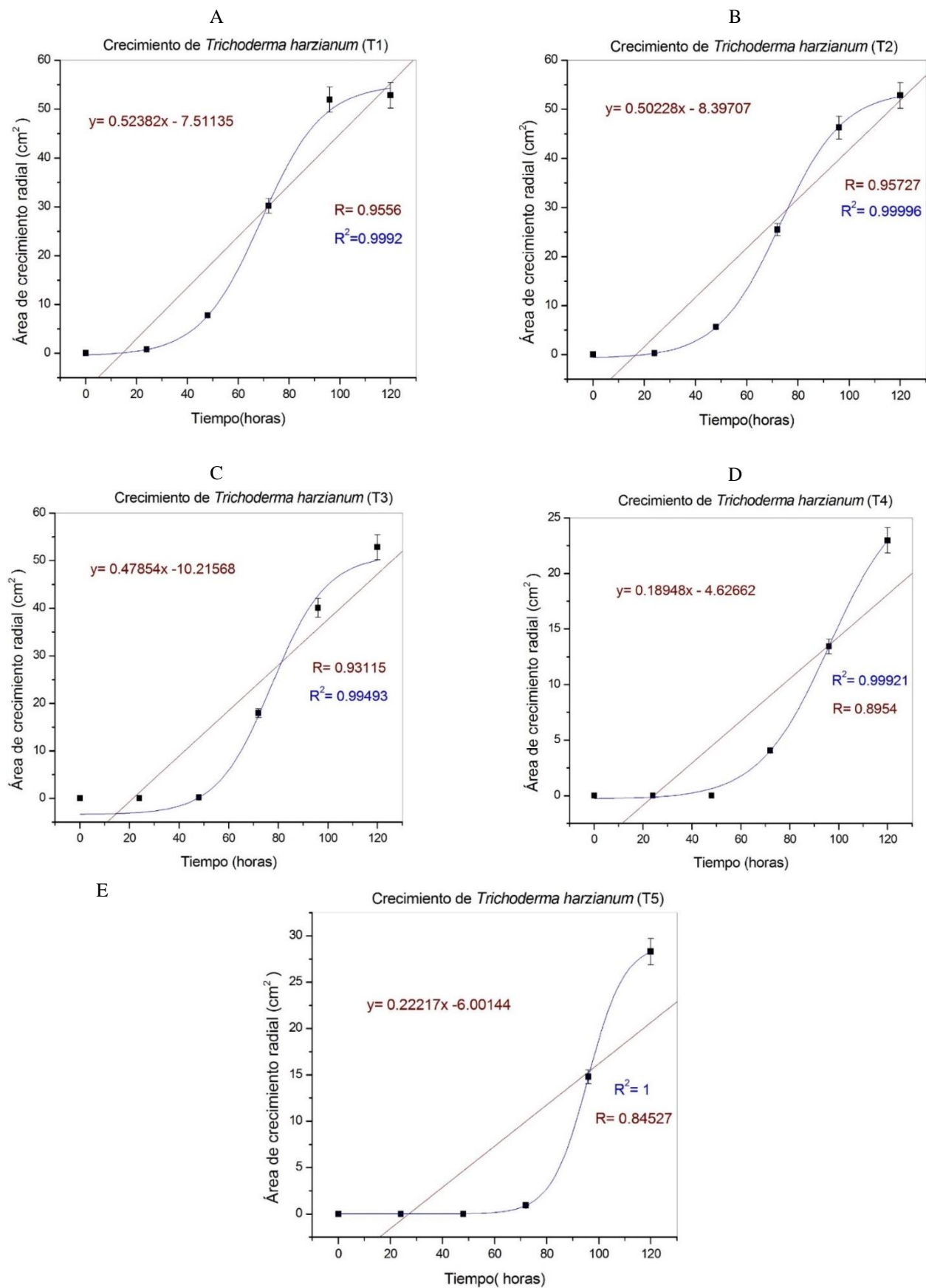


Figura 30: Gráficas de crecimiento de *T. harzianum* en las diferentes formulaciones ensayadas por 120 horas

De acuerdo a Dubois *et al.* (2009) el modelo sigmoidal de Boltzmann puede utilizarse para describir la proliferación celular durante el ciclo de crecimiento, en el cual se mantiene una masa o volumen constante, sin embargo la proliferación y el tamaño de las células se verá disminuido a través del tiempo. Este modelo se puede representar matemáticamente como se indica en la ecuación (11) (OriginLab, 2025). En Chambi Rodríguez & Torres Jiménez (2021) se menciona que los modelos y las curvas de crecimiento sigmoidales se adecuan mejor a la elaboración de una cinética microbiana que los modelos de regresión lineal simple, debido a que en los modelos no lineales pueden determinarse las fases del crecimiento de diversos microorganismos y que además es necesario para el desarrollo de maquinarias. En la Tabla 23 se desglosan los parámetros que satisfacen el modelo de Boltzmann para cada formulación de medio artificial con lactosuero; con estos datos es posible obtener una aproximación que describe el crecimiento radial de *T. harzianum* a través del tiempo.

$$y = \frac{A_1 - A_2}{1 + e^{(x - x_0)/dx}} + A_2 \quad (11)$$

Donde:

A_1 =Valor inicial

A_2 = Valor final

x_0 = Centro

dx =Constante de tiempo

Tabla 23: Parámetros que satisfacen el modelo de Boltzmann para las distintas formulaciones de lactosuero y medio

Formulación	T1	T2	T3	T4	T5
Parámetro	Valor				
A_1	-0.49476	-0.71023	-3.3701	-0.30889	-0.010178
A_2	55.089	53.781	51.141	27.387	29.157
x_0	69.063	72.999	77.325	96.166	95.806
dx	12.025	12.290	11.005	14.411	6.9783

4.3.5 Análisis global

La utilización del lactosuero como sustrato alternativo de enriquecimiento en medios de cultivo artificiales demostró ser factible, ya que los cuatro microorganismos empleados en el estudio presentaron crecimiento.

Tabla 24: Factor 1 Microorganismo (M.O.)

Nivel	Microorganismo	Tipo	Medio de Referencia
1	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	Bacteria (Probiótico)	MRS
2	<i>Escherichia coli</i>	Bacteria (Modelo/Indicador)	LB
3	<i>Trichoderma harzianum</i>	Hongo/Moho (Biológico)	PD
4	<i>Pichia anomala</i>	Levadura (Industrial)	YM

Se establecieron cinco niveles de tratamiento (T1 a T5), variando la concentración de lactosuero y medio comercial.

Tabla 25: Factor 2 Formulación del Medio (Tratamientos T1-T5)

Tratamiento	Medio Comercial (Concentración)	Lactosuero (Concentración)	Tipo de Ensayo
T1	100%	0%	Control Positivo (Crecimiento máximo)
T2	75%	25%	Sustitución Parcial Baja
T3	50%	50%	Sustitución Media
T4	25%	75%	Sustitución Parcial Alta
T5	0%	100%	Lactosuero Puro (Sustitución Total)

El Análisis Descriptivo de Frecuencias, utilizado para cuantificar el porcentaje de éxito de crecimiento (resultado binario), validó que si bien el medio artificial sin lactosuero (T1) ofreció el mejor crecimiento general para todas las cepas, las formulaciones con lactosuero impactaron diferencialmente en el desarrollo. Los resultados confirmaron un efecto promotor significativo en tres de los cuatro microorganismos ensayados: *Pichia anomala*, *Lactobacillus rhamnosus* y *Trichoderma harzianum* (Tablas 26 y 27). El mayor porcentaje de éxito de crecimiento se concentró en las formulaciones con concentraciones de lactosuero menores o iguales al 50% (T2 y T3). Esto indica que estas diluciones fueron estadísticamente eficaces para estimular el desarrollo de *L. rhamnosus* y *P. anomala*. Por el contrario, el Análisis de Frecuencias reveló que las formulaciones con altas concentraciones de lactosuero (T4 al 75% y T5 al 100%) registraron un porcentaje de éxito notablemente inferior, limitando el desarrollo de las cepas a un crecimiento lento y mínimo en comparación con T2 y T3. La única excepción a esta tendencia fue *P. anomala*, la cual mantuvo un crecimiento abundante en la totalidad de las formulaciones probadas hasta las 96 horas de incubación. Finalmente, la Figura 31 ilustra la comparación cualitativa del crecimiento para cada microorganismo, correlacionando visualmente las condiciones (verde para crecimiento abundante, rojo para mínimo) con los resultados arrojados por el análisis estadístico. La levadura *P. anomala* fue la más robusta, siendo capaz de utilizar el lactosuero como único sustrato. Las bacterias y el hongo (*E. coli*, *L. rhamnosus* y *T. harzianum*) mostraron diferentes niveles de sensibilidad a la alta concentración de lactosuero.

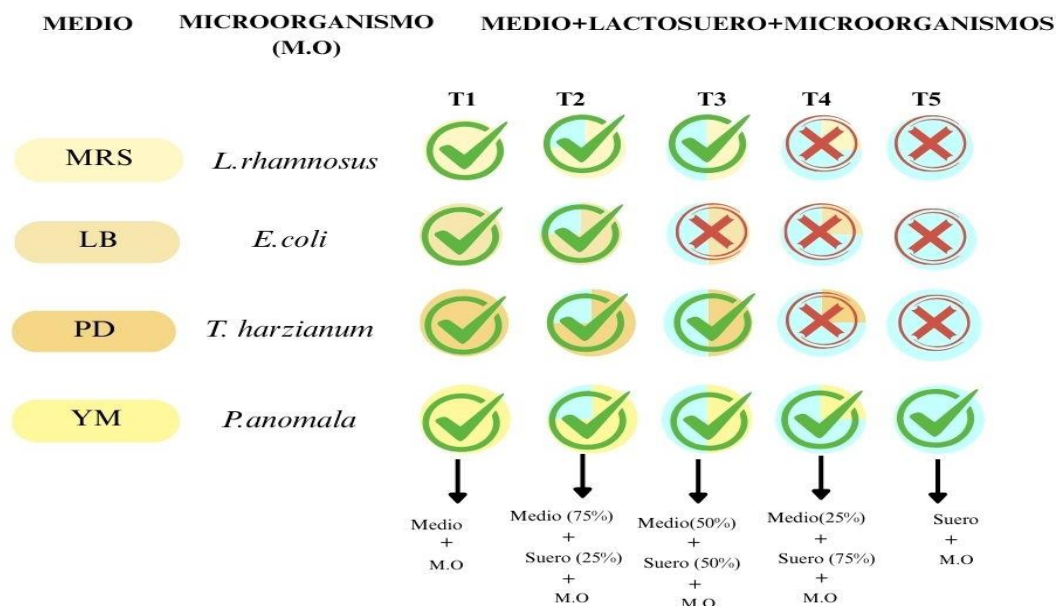


Figura 31: Comparación cualitativa del crecimiento de cada microorganismo en cada formulación de medio de cultivo con lactosuero

Tabla 26: Frecuencia de Éxito por Formulación (Columna)

Formulación	Microorganismos que Crecieron (✓)	Frecuencia de Éxito	Porcentaje de Éxito	Observación
T1 (0% Lactosuero - Control)	4	4 de 4	100%	Control de crecimiento máximo.
T2 (25% Lactosuero)	4	4 de 4	100%	Formulación óptima con sustitución de lactosuero.
T3 (50% Lactosuero)	3	3 de 4	75%	Muestra el punto de fallo para <i>E. coli</i> .
T4 (75% Lactosuero)	1	1 de 4	25%	Muestra el punto de fallo para <i>L. rhamnosus</i> y <i>T. harzianum</i> .
T5 (100% Lactosuero)	1	1 de 4	25%	Solo <i>P. anomala</i> soporta el lactosuero puro.

Tabla 27: Frecuencia de Éxito por Microorganismo (Fila)

Microorganismo	Formulaciones Exitosas (✓)	Frecuencia de Éxito	Porcentaje de Éxito	Observación
<i>P. anomala</i>	5	5 de 5	100%	Mayor adaptabilidad; creció en 100% de lactosuero.
<i>L. rhamnosus</i>	3	3 de 5	60%	Falla en las concentraciones altas (T4 y T5).
<i>T. harzianum</i>	3	3 de 5	60%	Falla en las concentraciones altas (T4 y T5).
<i>E. coli</i>	2	2 de 5	40%	Menor adaptabilidad; falla a partir del 50% de lactosuero (T3, T4, T5).

CONCLUSIÓN

El presente trabajo confirmó la viabilidad del lactosuero como un sustrato potencial para el enriquecimiento y formulación de medios de cultivo microbiológicos, cumpliendo con el objetivo de su valorización. Mediante metodologías de caracterización fisicoquímica, se determinó que el suero de leche dulce (subproducto de la elaboración de queso Panela) presenta una composición naturalmente rica en biomoléculas, aunque esta composición puede variar según las condiciones específicas del proceso industrial. El diseño factorial experimental demostró que el uso directo del lactosuero como sustrato complementario es altamente factible para el desarrollo de bacterias y hongos; sin embargo, se encontró que su máxima eficiencia en términos de éxito de crecimiento para el conjunto de cepas se logra en concentraciones $\leq 50\%$. La formulación T2 (25% lactosuero) fue la más exitosa al permitir el desarrollo de los cuatro microorganismos, destacando la adaptabilidad superior de *Pichia anomala*, la cual creció satisfactoriamente incluso en lactosuero puro. Se concluye que, para la propagación de microorganismos con necesidades nutricionales más específicas (como *E. coli*), el lactosuero requiere obligatoriamente suplementación o pretratamiento. Para investigaciones futuras, se recomienda determinar cuantitativamente los parámetros cinéticos de crecimiento para las cepas con mejor desempeño (*P. anomala*, *L. rhamnosus* y *T. harzianum*) bajo condiciones de pH (6.0-7.0) y temperatura controladas ($> 25^{\circ}\text{C}$, $\leq 37^{\circ}\text{C}$), a fin de complementar los resultados cualitativos obtenidos y explorar la utilidad de este subproducto a escala industrial.

REFERENCIAS

- Akpogheli, P. O., Edo, G. I., Ali, A. M., Yousif, E., Zainulabdeen, K., Owheru, J. O., . . . Alamiery, A. A. (2025). Lactid Acid Bacteria: Nature, characterization, mode of action, products and applications. *Process Biochemistry*, 152, 1-28. doi:<https://doi.org/10.1016/j.procbio.2025.02.010>
- Alcántara, A. R., Hernaiz, M. J., & Sinisterra, J. V. (2011). Biocatalyzed Production of Fine Chemicals. En M.-Y. Murray, *Comprehensive Biotechnology* (págs. 309-331). Madrid: Academic Press.
- Alonso Pesado, F. A., & Rodríguez de Jesús, E. (29 de Junio de 2023). *Algunos aspectos de la industria del queso en México*. Obtenido de BM Editores: <https://bmeditores.mx/ganaderia/algunos-aspectos-de-la-industria-del-queso-en-mexico/>
- Alvarez, M. M., Aguirre Ezkauriatza, E. J., Ramírez-Medrano, A., & Rodríguez-Sánchez, Á. (2010). Kinetic analysis and mathematical modeling of growth and lactic acid production of *Lactobacillus casei* var. *rhamnosus* in milk whey. *Journal of Dairy Science*, 93(12), 5552-5560. doi:<https://doi.org/10.3168/jds.2010-3116>
- American Type Culture Collection [ATCC]. (2024). *Lactocaseibacillus rhamnosus (Hansen) Zheng et al.* Obtenido de ATCC: <https://www.atcc.org/products/11443>
- American Type Culture Collection [ATCC]. (2024). *Wickerhamomyces anomalus (Hansen) Kurtzman et al.* Obtenido de ATCC: <https://www.atcc.org/products/8168#product-references>
- Anaya Villalpanda, M. (2023). La economía circular para la seguridad alimentaria y el procesamiento agroindustrial de alimentos. *Revista Cubana de Administración Pública y Empresarial*, 7(2), 1-16. doi:<https://doi.org/10.5281/zenodo.8241446>
- Andrade, T., Chávez, A., García, F., & Ocaranza, E. (21 a 26 de junio 2015). *Aprovechamiento de suero lácteo en el desarrollo de un medio de cultivo para la producción de una bacteriocina de interés comercial a partir de una bacteria ácido láctica*. [Presentación de cartel]. XVI Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería. Guadalajara, Jalisco, México. Obtenido de <https://smbb.mx/congresos%20smbb/guadalajara15/PDF/XVI/trabajos/III/IIIC-62.pdf>
- Andreu Espinosa, A., Dos Santos Mendes, A., Berlanga Rubio, N., Franco Sánchez, M., & Borao Pérez, S. (23 de Marzo de 2023). *Medios de cultivo*. Obtenido de RSI Revista Sanitaria de Investigación: <https://revistasanitariadeinvestigacion.com/medios-de-cultivo/>
- Antomarchi Obregón, Y., Tamayo Rosales, E., Guerra Buenaño, J. L., Mas Diego, S. M., & Barrera Antomarchi, A. L. (2023). Producción de hongo *Trichoderma harzianum* A-34 en sustratos sólidos alternativos. *Revista Científica Arbitrada Multidisciplinaria PENTACIENCIAS*, 5(1), 259-267. Obtenido de <https://editorialalema.org/index.php/pentaciencias/article/view/440/572>
- Aponte Colmenares, A. P., Prieto Suárez, G. A., Castellanos Báez, Y. T., Muvdi Nova, C., & Yurievich Sakharov, I. (2023). Review. Aplicaciones del lactosuero y sus derivados proteínicos. *Ciencia en Desarrollo*, 14(2), 139-155. doi:<https://doi.org/10.19053/01217488.v14.n2.2023.15002>
- Aryal, S. (02 de Enero de 2022). *PDA Composition, principle, preparation, results, uses*. Obtenido de Microbe Notes: <https://microbenotes.com/potato-dextrose-agar-pda/>
- Asas, C., Llanos, C., Matavaca, J., & Verdezoto, D. (2021). El lactosuero impacto ambiental, usos y aplicaciones vía mecanismos de la biotecnología. *Agroindustrial Science*, 11(1), 105-116. Obtenido de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=8085141>
- Baeza, J. J. (2016). *Introducción al análisis volumétrico*. Obtenido de Universitat de Valencia: https://www.uv.es/baeza/Tema_5_An%C3%A1lisis%20volum%C3%A9trico_esq_2016.pdf

- Bansfield, D., Spilling, K., Mikola, A., & Piiparinen, J. (2023). Growth of fungi and yeasts in food production waste streams: a feasibility study. *BMC Microbiology*, 23(328), 1-11. doi:<https://doi.org/10.1186/s12866-023-03083-6>
- Barrios, J. R., Castilla, G., & Upegui, P. (2016). Evaluación in vitro de la actividad antifúngica de *Lactobacillus casei* var. *rhannosus* sobre hongos fitopatógenos. *Revista de Investigación Agropecuaria y Desarrollo Sostenible*, 51-57. Obtenido de <https://revistas.sena.edu.co/index.php/riads/article/view/426>
- Basavaraju, M., & Gunashree, B. S. (2022). *Escherichia coli*: An Overview of Main Characteristics. En M. Starčič Erjavec, *Escherichia coli: Old and New Insights* (págs. 3-21). Londres: IntechOpen. doi:<http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.105508>
- Batistela, M. E., Peralta, G. H., Hynes, E. N., & Bergamini, C. V. (04 a 06 de agosto 2021). Permeado de suero como medio de cultivo para la producción de fermentos. En P. Darío Zapata, & A. E. Alvarenga, *SAPROBIO Transfiriendo biotecnología para el desarrollo* (págs. 72-73). [Libro de resúmenes]. 6° Simposio Argentino de Procesos Biotecnológicos. Argentina: Posadas Universidad Nacional de Misiones.
- Bauer Estrada, K., Caldas Abril, M., Bonilla Bravo, V., Ruiz, M., & Quintanilla Carvajal, M. X. (2022). Whey as Food-Grade Culture Medium on an Industrial Scale That Protects Probiotics During In Vitro Digestion. *Frontiers in Food Science and Technology*, 2, 1-9. doi:<https://doi.org/10.3389/frfst.2022.894761>
- Beeckmans, S. (2009). Glyoxylate cycle. *Academic Press*, 159-179. doi:<https://doi.org/10.1016/B978-012373944-5.00075-4>.
- Bello Gutiérrez, J. (2014). *Ciencia bromatológica: Principios generales de los alimentos*. España: Díaz de Santos.
- Benaissa, M., Zadi-Karam, H., & Karam, N. E. (2017). Development of a sweet whey-based medium for culture of *Lactobacillus*. *African Journal of Biotechnology*, 16(30), 1630-1637. doi:10.5897/AJB2017.16088
- Benítez de la Torre, A., Montejo Sierra, I. L., Nava Galicia, S. B., & Bibbins Martínez, M. (2021). Aprovechamiento de lactosueros generados en queserías artesanales para la producción de proteína unicelular enriquecida (PUC+PP) y probióticos. *Alianzas y Tendencias BUAP*, 6(24), 128-142. doi:<http://doi.org/10.5281/zenodo.5711952>
- Biology Online. (16 de Junio de 2022). *Facultative anaerobe*. Obtenido de BiologyOnline.com: <https://www.biologyonline.com/dictionary/facultative-anaerobe>
- Blandón Navarro, S. L., Zelaya Lanuza, D. S., Arranz Ramírez, J. C., & Zamora Calero, J. A. (2014). Evaluación de la producción de biogás a partir de suero lácteo a escala de laboratorio. *El Higo: Revista de Ciencia y Tecnología*, 4(1), 29-35. doi:<http://dx.doi.org/10.5377/elhigo.v4i1.8633>
- Bonnet, M., Lagier, J. C., Raoult, D., & Khelaifia, S. (2019). Bacterial culture through selective and non-selective conditions: the evolution of culture media in clinical microbiology. *New Microbes and New Infections*, 34, 1-11. doi:<https://doi.org/10.1016/j.nmni.2019.100622>
- Breil, C., Abert Vian, M., Zemb, T., Kunz, W., & Chemat, F. (2017). "Bligh and Dyer" and Folch Methods for Solid-Liquid-Liquid Extraction of Lipids from Microorganisms. Comprehension of Solvation Mechanisms and towards Substitution with Alternative Solvents. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(4), 1-21. doi:<https://doi.org/10.3390/ijms18040708>

- Bush, L. M., & Vazquez Pertejo, M. T. (Junio de 2023). *Generalidades sobre las bacterias anaerobias*. Obtenido de Manual MSD: <https://www.msdmanuals.com/es/professional/enfermedades-infecciosas/bacterias-anaerobias/generalidades-sobre-las-bacterias-anaerobias>
- Caballero, A., Orts Gómez, J. M., López Rodríguez, J., Parrado Rubio, J., & Martín Presas, L. (2024). Economía circular del suero de leche: bioproceso para su conversión en bioestimulantes y biofertilizantes agronómicos. *C3-BIOECONOMY: Circular and Sustainable Bioeconomy*, (5), 53-68. doi:<https://doi.org/10.21071/c3b.vi5.17754>
- Calderón Ordaz, A. K., González Hernández, J. C., & Chávez Parga, M. (2024). Levaduras del género *Pichia* y su uso potencial en el desarrollo biotecnológico. *Ciencia Nicolaita*(91), 125-135. doi:<https://doi.org/10.35830/cn.vi91.802>
- Carbonero Zalduegui, P. (1975). *Bioquímica de las fermentaciones*. Madrid: Universidad Politécnica de Madrid.
- Casasola Bado, M. J. (2022). La importancia de realizar una correcta tinción de Gram en la identificación bacteriana. *Revista Colegio de Microbiología y Química Clínica de Costa Rica*, 27(2), 89-98. Obtenido de <https://revista.microbiologos.cr/wp-content/uploads/2023/11/Volumen-27-No2-Articulo-3-89-98.pdf>
- Castañeda, M. T. (2019). *Enzimas de interés biotecnológico*. Buenos Aires: Universidad Tecnológica Nacional, Facultad Regional La Plata. Obtenido de http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/89649/Apunte_de_c%C3%A1tedra.pdf-PDFA.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Ceballos Chávez, Á. R., López Valenzuela, B. E., Valenzuela Escoboza, F. A., López Bautista, E., Marquez Lujan, H. A., & Chávez García, L. E. (2025). Reproducción conidial de *Trichoderma asperelloides* en medios de cultivo y sustratos orgánicos. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 16(1), 1-13. doi:<https://doi.org/10.29312/remexca.v16i1.3510>
- Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo. (02 de Junio de 2023). *Quesos artesanales: un alimento insustituible en la gastronomía mexicana*. Obtenido de Ciencia y Tecnología: <https://www.ciad.mx/quesos-artesanales-un-alimento-insustituible-en-la-gastronomia-mexicana/>
- Cepero de García, M. C., Restrepo Restrepo, S., Franco Molano, A. E., Cárdenas Toquica, M., & Vargas Estupiñán, N. (2012). *Biología de hongos*. Bogotá: Ediciones Uniandes. Obtenido de https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=pS2RDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA145&dq=hongos&ots=SWvU-KT_H2&sig=HYCI6f6USVqADJM4yLd6M-bHdkxo#v=onepage&q&f=false
- Chambi Rodriguez, A. D., & Torres Jiménez, A. M. (2021). Modelos cinéticos sigmoidales aplicados al crecimiento de *Saccharomyces boulardii*. *Revista de Investigaciones Altoandinas*, 23(1), 47-54. doi:<https://doi.org/10.18271/ria.2021.213>
- Chen, H., Zhao, Y., Yan, Z., Zhao, T., Liu, Y., Zhang, L., & Zeng, P. (2025). Dual Nature of *Escherichia coli*: Useful Biological Tool versus Notorious Pathogen. En P. Zeng, *Escherichia coli - From Normal Intestinal Bacteria to Lethal Microbes (Working Title)* (págs. 1-18). InTech Open. doi:<http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.1012282>
- Chumi Pasato, A., Rueda Vincas, M., Larriva, G., & Pinos Vélez, V. (2025). Bioremediation of water contaminated with motor oil by biological surfactants produced by *Streptococcus thermophilus*, using cheese whey as a carbon source. *Enfoque UTE*, 16(1), 17-25. doi:<https://doi.org/10.29019/enfoqueute.1094>

- Consejo Nacional de Humanidades Ciencias y Tecnología [CONAHCYT]. (2025). *Biomasa: ¿a qué nos referimos con biomasa?* Obtenido de Plataforma Nacional de Energía, Ambiente y Sociedad: <https://energia.conahcyt.mx/planeas/biomasa>
- Contreras López, M. F. (2021). *Elaboración de películas comestibles a partir de suero de leche fermentado por bacterias ácido lácticas*. [Tesis de licenciatura; Benemérita Universidad Autónoma de Puebla]. Obtenido de <https://repositorioinstitucional.buap.mx/server/api/core/bitstreams/a7b05ed1-97d5-4f57-9d91-0dd763d96e67/content>
- Cortés Hernández, F., Alvarado Castillo, G., & Sánchez Viveros, G. (2023). *Trichoderma spp.*, una alternativa para la agricultura sostenible: una revisión. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 25(2), 73-87. doi:10.15446/rev.colomb.biote.v25n2.111384
- Cortés Marín, E. A. (2007). La agroindustria y viabilidad del sector agropecuario. *Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 2(1), 74-80. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/3214/321428097010.pdf>
- Cruz Guerrero, A. E., Gómez Ruiz, L., & Patlan Velazquez, L. F. (2023). Lactosuero: características, propiedades nutraceuticas y aplicaciones. *CienciaAcierta*(73), 6-50.
- Cruz López, A. O., Escareño Ramírez, C. F., Ramírez Martínez, J. A., Villegas Gómez, C., & Cruz Cruz, D. (2023). Espejos moleculares: descifrando la quiralidad. *XXVIII Verano de la Ciencia*, 21, 1-6. Obtenido de <http://repositorio.ugto.mx/bitstream/20.500.12059/9755/1/214Espejos%20moleculares%20descifrando%20la%20quiralidad.pdf>
- Cubas, I. (25 de Junio de 2022). *Datos sobre la industria de lácteos en México: producción, consumo y economía*. Obtenido de The Food Tech: <https://thefoodtech.com/tendencias-de-consumo/datos-sobre-la-industria-de-lacteos-en-mexico-produccion-consumo-y-economia/>
- Cvitanovic, M., Leal, T., Pierotti, D., Ruggiero, J., & Zabala, M. (2024). *Planta de producción de ácido láctico*. [Tesis de licenciatura, Universidad Nacional de Mar del Plata]. Obtenido de <http://rinfi.fi.mdp.edu.ar/handle/123456789/984>
- De Angelis, M., & Gobbetti, M. (2016). *Lactobacillus spp.*: General Characteristics. *Reference Module in Food Science*, 1-11. doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.00851-9>.
- de Meneses, R. B., Maciel, L. F., da Rocha-Leão, M. M., & Conte Junior, C. A. (2020). Physicochemical characteristics of milk by-products. *Chemical Engineering Transactions*, 37-42. doi:10.3303/CET2079007
- Dębińska, A., & Sozańska, B. (2022). Fermented Food in Asthma and Respiratory Allergies—Chance or failure? *Nutrients*, 14(7), 1-22. doi:<https://doi.org/10.3390/nu14071420>
- Delgado Macuil, R. J., Pérez Armendariz, B., Cardoso Ugarte, G., Martínez Tolibia, S. E., & Benítez Rojas, A. C. (2025). Recent Biotechnological Applications of Whey :Review and Perspectives. *Fermentation*, 11(4), 217. doi:<https://doi.org/10.3390/fermentation11040217>
- Díaz Orozco , L., Moscota Santillán , M., Delgado Portales, R. E., Rosales Colunga , L. M., Leyva Porras, C., & Saavedra Leos, Z. (2025). Advances in L-Lactic Acid Production from Lignocellulose Using Genetically Modified Microbial Systems. *Polymers*, 17(3), 322. doi:<https://doi.org/10.3390/polym17030322>
- Díaz Sánchez, M. S. (2024). *Formulación de medios de cultivo para la producción de bacteriocinas por bacterias ácido-lácticas, aisladas de alimentos artesanales*. [Tesis de maestría, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo]. Obtenido de <http://dgsa.uaeh.edu.mx:8080/bibliotecadigital/handle/231104/6596>

- Díaz Vela , J., Contreras Romero, B., Mirón Cortes, M. F., Vázquez Rodríguez, A., Martínez Martínez, N., Sánchez Hernández, J. L., & López Escobar, L. A. (2024). Revalorización de residuos agroindustriales para la reproducción de esporas de *Trichodermaspp.* en sistemas a pequeña escala. *Brazilian Journal of Animal and Environmental Research*, 7(1), 621-632. doi:10.34188/bjaerv7n1-047
- Dubois, J. M., Ouanounou, G., & Rouzaire-Dubois, B. (2009). The Boltzmann equation in molecular biology. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 99, 87-93. doi:10.1016/j.pbiomolbio.2009.07.001
- Escalona Morales, I. J. (2022). *Producción de enzimas a partir de residuos agroindustriales. Análisis bibliográfico*. [Tesis de licenciatura, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco]: Repositorio UAM Xochimilco.
- Escobar Cano, A. (2008). *Comportamiento poblacional de Lactobacillus casei subsp rhamnosus en un medio a base de suero de leche*. [Tesis de licenciatura, Universidad de Nariño]. Obtenido de <https://sired.udenar.edu.co/12291/1/75863.pdf>
- Ezziyyani , M., Pérez Sánchez, C., Sid Ahmed, A., Requena, M. E., & Candela, M. E. (2004). *Trichoderma harzianum* como biofungicida para el biocontrol de *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum annuum* L.). *Anales de Biología*, 26, 35-45. Obtenido de <https://revistas.um.es/analesbio/article/view/30441/29631>
- Fernández Fernández, S. (2022). Caracterización de bacterias ácido lácticas (BAL) para la producción de ácido láctico (AL) escala de planta piloto. [Tesis de Licenciatura., *Universidad de Costa Rica*].
- Fernández Olmos, A., García de la Fuente, C., Saéz Nieto, J. A., & Valdezate Ramos, S. (2010). Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología. En E. Cercenado, & R. Cantón, *Procedimientos en Microbiología Clínica* (págs. 1-28). España: SEIMC. Obtenido de <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia37.pdf>
- Fideicomiso de Riesgo Compartido. (08 de Mayo de 2017). *Agroindustria en México*. Obtenido de Gobierno de México: <https://www.gob.mx/firco/articulos/agroindustria-en-mexico>
- Figueiras, S. (12 de Noviembre de 2021). *¿Qué es la fermentación?* Obtenido de CEUPE European Business School: <https://www.ceupe.mx/blog/que-es-la-fermentacion.html>
- Freire , T. T., Silva, A. L., Ferreira, B. K., & Santos, T. M. (2021). Bacterias ácido lácticas sus características e importancia: revisión. *Research, Society and Development*, 10(11), 1-19. doi:http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i11.19964
- Gallegos Daniel, C., Taddei Bringas, C., & González Córdova, A. F. (2023). Panorama de la industria láctea en México. *Revista de Alimentación contemporánea y desarrollo regional*, 33(61), 3-28. doi:<https://doi.org/10.24836/es.v33i61.1251>
- Galván Díaz, M. (2005). Proceso básico de la leche y el queso. *Revista Digital Universitaria UNAM*, 6(9), 1-17.
- Garboza, F., Frontado, R., Noguera, N., Ávila , H., Ojeda, L., Ramírez, N., . . . Triana, F. (2011). Uso de medios alternativos a base de hidrolizado de caseína y extracto de *Aspergillus niger* y su efecto sobre la expresión genética de una cepa de *Escherichia coli*. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 31(2), 138-143. Obtenido de https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562011000200010
- García Miranda, F. G., & Miranda Rosales, V. (2018). Eutrofización, una amenaza para el recurso hídrico. En E. Pérez Campuzano, & V. E. Mota Flores, *Impacto socio-ambiental, territorios sostenibles y*

- desarrollo regional desde el turismo* (págs. 353-367). México: UNAM. Obtenido de <https://ru.iiec.unam.mx:80/id/eprint/4269>
- García Velázquez, A. (2025). Economía circular y gestión sostenible: Un enfoque teórico para abordar los problemas ambientales. *Revista Veritas de Difusión Científica*, 478-496. doi:<https://doi.org/10.61616/rvdc.v6i1.417>
- García, C. A., Arrázola, G. S., & Durango, A. M. (2010). Producción de ácido láctico por vía biotecnológica. *Temas Agrarios*, 15(2), 9-26.
- Garric, M. P. (2024). *Química general*. Barcelona: Editorial Reverté S.A. Obtenido de <https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=HMZHEQAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR5&dq=isomer%C3%ADa&ots=CjKAclaUBU&sig=CeS8dVV23OQ8JNwu7oDEy1UsmEc#v=onepage&q=isomer%C3%ADa&f=false>
- Geng, Y., Chen, S., Lv, P., Li, Y., Li, J., Jiang, F., . . . Zhou, R. (2025). Positive Role of *Trichoderma harzianum* in Increasing Plant Tolerance to Abiotic Stresses: A Review. *Antioxidants*, 14(7), 1-13. doi:<https://doi.org/10.3390/antiox14070807>
- Gobbetti, M., & Minervini, F. (2014). LACTOBACILLUS | *Lactobacillus casei*. En C. A. Batt, & M. L. Tortorello, *Encyclopedia of Food Microbiology (Second Edition)* (págs. 432-438). Italia: Academic Press. doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00180-4>.
- Gómez Antonio, B. S., & Brunett Pérez, L. (2025). La industria láctea en México: los sistemas de producción en pequeña escala, un desafío en el marco del Objetivo 9 de la Agenda 2030. *Enfoque Rural*, 3(1), 17-20.
- Gómez Castro, F. I., Villagómez Ibarra, J., Martínez Cortés, O. I., Gamiño Arroyo, Z., Hernández, S., González Guerra, G. M., & García García, J. C. (2025). Ácidos orgánicos y su importancia en el desarrollo sostenible. *Digital Ciencia@UAQRO*, 18(1), 10-34. doi:<https://doi.org/10.61820/dcuaq.2395-8847.v18n1.1393>
- Gómez Mesías, D. A., Muñoz Paredes, J. F., & Villota Paz, J. M. (2023). Generalidades del aprovechamiento de residuos agroindustriales, en la generación de productos con valor agregado. *CEI Boletín Informativo*, 10(2), 182-185. Obtenido de <https://revistas.umariana.edu.co/index.php/BoletinInformativoCEI/article/view/3676/3886>
- Gonzáles, R. (17 de Septiembre de 2023). *Descubriendo la variedad: Tipos de agroindustria que impulsan el futuro*. Obtenido de AgroEnlace: <https://agroenlace.co/tipos-de-agroindustria/>
- González, Á. D., Kafarov, V., & Guzmán Monsalve, A. (2009). Desarrollo de métodos de extracción de aceite en la cadena de producción de biodiésel a partir de microalgas. *PROSPECTIVA*, 7(2), 53-60.
- Groot, W., van Krieken, J., Sliekersl, O., & de Vos, S. (2010). Production and Purification of lactic acid, lactide and poly(lactic acid). En R. Auras, L. T. Lim, S. E. Selke, & H. Tsuji, *Poly(Lactic Acid): Synthesis, Structures, Properties, Processing and Applications*. Canada: WILEY.
- Guerrero Rodríguez, W. J., Gomez Aldapa, C. A., Castro Rosa, J., González Ramírez, C., & Santos López, E. M. (2010). Caracterización fisicoquímica del lactosuero en el Valle de Tulancingo. *XII Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 321-328.
- Guzmán Delgado, J. E. (2024). *Evaluación del efecto inhibitorio de bacterias ácido lácticas nativas del lactosuero residual sobre Escherichia coli*. [Tesis de licenciatura, Universidad Católica de Santa María]. Obtenido de <https://repositorio.ucsm.edu.pe/items/27cb3349-8022-4db7-af8f-92d6e0cb3021>
- Harvey, D. (2022). *Estandarización de métodos analíticos*. California: LibreTexts. Obtenido de https://espanol.libretexts.org/Quimica/Qu%C3%ADmica_Anal%C3%ADtica/Qu%C3%ADmica_An

al%ADtica_2.1_(Harvey)/05%3A_Estandarizaci%C3%B3n_de_m%C3%A9todos_anal%C3%ADticos

- HiMedia Laboratories. (2019). *Yeast Malt Agar (YM Agar) (ISP Medium No. 2) M424*. India. Obtenido de https://exodocientifica.com.br/_technical-data/M424.pdf
- Ibrahim, S. A. (2016). Lactic acid bacteria spp.: Other species. *Reference Module in Food Science*, 1-7. doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.00857-X>.
- Jaime Vasconcelos, M. Á. (17 de Marzo de 2020). *Sistemas Químicos en Ingeniería: Titulación ácido-base*. Obtenido de DCB-FI UNAM: [https://basicas.fi-c.unam.mx/dcb_sii/public/files/productos_cerafin/IDR_412_Cl08_SQI_\(2\)_Titulaci%C3%B3n_%C3%A1cido-base.pdf](https://basicas.fi-c.unam.mx/dcb_sii/public/files/productos_cerafin/IDR_412_Cl08_SQI_(2)_Titulaci%C3%B3n_%C3%A1cido-base.pdf)
- Jiménez Robles, B. D., Mendoza Sánchez, M., Abadía García, L., Hernández López, M. S., Amaya Cruz, D., & Huerta Manzanilla, E. L. (2025). Sustentabilidad e innovación: aprovechando el potencial de los residuos agroindustriales suero de leche y orujo de uva en el auge de las bebidas deportivas. *Agroindustrial Science*, 15(2), 183-193. doi:<http://doi.org/10.17268/agroind.sci.2025.02.10>
- Juaristi, E. (2010). *Introducción a la estereoquímica y al análisis conformacional*. México: El Colegio Nacional.
- Khalil, A. I., Hasounna, M. S., & Zaanon, R. H. (2008). Utilization of Food Industries Wastes for The Production of Single Cell Protein by Yeasts. *Alexandria Science Exchange Journal*, 29(4), 315-324. doi:10.21608/ASEJAIQJSAE.2008.3213
- Kuklinski, C. (2003). *Nutrición y Bromatología*. Barcelona: Omega.
- Laboratorio de Investigación en Productos Agroindustriales [LIPA]. (29 de Marzo de 2020). *Introducción a la elaboración de quesos*. Obtenido de Universidad Nacional de la Plata.: <https://lipa.agro.unlp.edu.ar/wp-content/uploads/sites/29/2020/03/Guia-QUESOS.pdf>
- León Becerril, E. (15 de Diciembre de 2023). *Innovación en bioeconomía: biohidrógeno y ácidos orgánicos a partir de residuos agroindustriales*. Obtenido de Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A.C (CIATEJ): <https://ciatej.mx/el-ciatej/comunicacion/Noticias/Innovacion-en-Bioeconomia--Biohidrogeno-y-Acidos-Organicos-a-partir-de-Residuos-Agroindustriales/365>
- Lipnizki, F. (2010). Basic Aspects and Applications of Membrane Processes in Agro-Food and Bulk Biotech Industries. En E. Drioli, & L. Giorno, *Comprehensive Membrane Science and Engineering* (págs. 165-194). Copenhagen, Dinamarca: Elsevier. doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-08-093250-7.00035-9>.
- Lizárraga Chaidez, M., Mendoza Sánchez, M., Abadía García, L., & García Pérez, J. (2023). El inocente impacto ambiental del suero de la leche. *EPISTEMUS Ciencia Tecnología y Salud*, 18(35), 1-25. doi:<https://doi.org/10.36790/epistemus.v18i35.316>
- López Jácome, L. E., Hernández Durán, M., Colín Castro, C. A., Ortega Peña, S., Cerón González, G., & Franco Cendejas, R. (2014). Las tinciones básicas en el laboratorio de microbiología. *Investigación en Discapacidad*, 3(1), 10-18. Obtenido de https://www.medigraphic.com/pdfs/invis/ir-2014/ir141b.pdf?fbclid=IwAR3z9_ljzoGBF2taww_xeAuX2t1CkN
- Maldonado Gómez, R. J. (2023). Introducción a la tecnología de elaboración de quesos. *Revista de la Facultad de Agronomía*, 1(77). Obtenido de http://saber.ucv.ve/ojs/index.php/rev_agro/article/view/27546

- Malos, I. G., Ghizdareanu, A. I., Vidu, L., Matei, C. B., & Pasarin, D. (2025). The Role of Whey in Functional Microorganism Growth and Metabolite Generation: A Biotechnological Perspective. *Foods*, 14(9), 1488. doi:<https://doi.org/10.3390/foods14091488>
- Martínez Cervantes, M. A., Wong Paz, J. E., Zárate, P. A., & Muñiz Márquez, D. B. (2018). Evaluación de residuos agroindustriales para la producción de agentes de control biológico. *TECTZAPIC*, 4(1), 8-12. Obtenido de <https://www.eumed.net/rev/tectzapic/2018/01/residuos-agroindustriales.html>
- Mazorra Manzano, M. Á., & Moreno Hernández, J. M. (2019). Propiedades y opciones para valorizar el lactosuero de la quesería artesanal. *Ciencia UAT*, 14(1), 133-144. doi:<https://doi.org/10.29059/cienciauat.v14i1.1134>
- Mazorra Manzano, M. A., Ramírez Montejó, H., Lugo Sánchez, M. E., González Córdova, A. F., & Vallejo Córdova, B. (2019). Caracterización del lactosuero y requesón proveniente del proceso de elaboración de queso cocido (asadero) región Sonora. *Ciencias Naturales e Ingeniería*. doi:<https://doi.org/10.21640/ns.v11i23.2072>
- Mena Beltrán, D. E., Navas Zambrano, J. C., De la Cruz Díaz, D. J., & Granda Morocho, O. A. (2025). Revisión bibliográfica sobre las bacterias lácticas productoras de ácido láctico: Características y aplicaciones biotecnológicas. *INNOVARIUM International Journal*, 3(2), 1-26. Obtenido de <https://revinde.org/index.php/innovarium/article/view/46>
- Menéndez Gutiérrez, C. (2000). *Microbiología Aplicada*. Obtenido de Academia.edu: https://www.academia.edu/download/36487179/MICROBIOLOGIA_APLICADA.pdf
- Mérida Lira, E. (2007). *Efecto de la bacteria Lactobacillus rhamnosus en los parámetros fermentativos de un ensilaje de sorgo forrajero con lactosuero*. [Tesis de licenciatura, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo]. Repositorio UAEH.
- Minervini, F., & Calasso, M. (2022). Lactobacillus casei Group. En P. L. McSweeney, & J. P. McNamara, *Encyclopedia of Dairy Sciences* (Vol. 4, págs. 275-286). Italia: Academic Press. doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.00853-2>.
- Moldoveanu, S. C., & David, V. (2017). Properties of Analytes and Matrices Determining HPLC Selection. En S. C. Moldoveanu, & V. David, *Selection of the HPLC Method in Chemical Analysis* (págs. 189-230). Elsevier. doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803684-6.00005-6>.
- Mondragón Preciado, G., Escalante Minakata, P., Osuna Castro, J. A., Ibarra Junquera, V., Morlett Chávez, J. A., Aguilar González, C. N., & Rodríguez Herrera, R. (2013). Bacteriocinas: características y aplicación en alimentos. *Investigación y Ciencia*, 21(59), 64-70. Obtenido de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=67430113008>
- Montesdeoca Párraga, R. R., & Piloso Chávez, K. (2020). Evaluación fisicoquímica del lactosuero obtenido del queso fresco pasteurizado producido en el taller de procesos lácteos en la ESPAM "MFL". *El Higo Revista de Ciencia y Tecnología*, 10(1), 1-9. Obtenido de <http://portal.amelica.org/ameli/jatsRepo/230/2301351001/index.html>
- Morán Torres, J. P. (2017). *Construcción de vectores para la expresión de un gen sintético de proquimosina de búfalo (Bubalus bubalis) por Aspergillus niger*. [Tesis de maestría, Universidad Autónoma de Querétaro].
- Motta Machicado, L. A. (2024). Aprovechamiento de residuos sólidos de la agroindustria en la remoción de contaminantes, un estudio de revisión. *Revista Biodiversidad Amazónica*, 3(1). doi:<https://doi.org/10.55873/rba.v3i1.295>
- Nascimento Silva, R., Stecca Steindorff, A., & Neves Monteiro, V. (2014). Metabolic Diversity of Trichoderma. En V. K. Gupta, M. Schmoll, A. Herrera Estrella, R. S. Upadhyay, I. Druzhinina, & M.

- G. Tuohy, *Biotechnology and Biology of Trichoderma* (págs. 363-376). Elsevier.
doi:<https://doi.org/10.1016/C2012-0-00434-6>
- National Center for Biotechnology Information [NCBI]. (27 de Agosto de 2025). *L-Lactic Acid*. Obtenido de PubChem Compound Summary for CID 107689: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/L-Lactic-Acid>.
- National Center for Biotechnology Information [NCBI]. (27 de Agosto de 2025). *D-Lactic Acid*. Obtenido de PubChem Compound Summary for CID 61503: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/D-Lactic-Acid>.
- OCLA. (17 de Enero de 2022). *Situación de la Lechería Mundial durante el año 2020*. Obtenido de Informes Observatorio de la Cadena Láctea Argentina: <https://www.ocla.org.ar/contents/news/details/21526508-situacion-de-la-lecheria-mundial-durante-el-ano-2020>
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). (02 de Marzo de 2025). *Productos por país : México*. Obtenido de FAOSTAT: https://www.fao.org/faostat/es/#rankings/commodities_by_country
- OriginLab. (2025). *30.1.16 Boltzmann*. Obtenido de Ayuda de Origin: <https://www.originlab.com/doc/origin-help/boltzmann-fitfunc>
- Ortiz López, D. J. (2024). Evaluación de los parámetros cinéticos de la producción de ácido láctico a partir de lactosuero empleando *Lactobacillus casei*. *Revista Científica Agroindustria, Sociedad y Ambiente*, 22(1), 44-57. doi:<http://doi.org/10.5281/zenodo.12787873>
- Osorio González, C. S. (2017). Producción de lípidos del suero de leche mediante sistemas microbianos. *[Tesis de maestría] Colegio de Postgraduados*. Obtenido de <http://colposdigital.colpos.mx:8080/jspui/handle/10521/3901>
- Ostos Ortiz, O. L., Rosas Arango, S. M., & González Devia, J. L. (2019). Aplicaciones biotecnológicas de los microorganismos. *NOVA*, 17(31), 129-163. Obtenido de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794-24702019000100129
- Ozcelik, D., Suwal, S., Ray, C., Tiwari, B. K., Jensen, P. E., & Poojary, M. M. (2024). Valorization of dairy side-streams for the cultivation of microalgae for value added food products. *Trends in Food Science & Technology*, 146, 1-13. doi:<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2024.104386>
- Padilla Doval, J., & Zambrano Arteaga, J. C. (2021). Estructuras, propiedades y genética de las caseínas de la leche: una revisión. *CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 16(3), 62-95. doi:<https://doi.org/10.21615/cesmvz.5231>
- Pais Chanfrau, J. M., Núñez Pérez, J., Espin Valladares, R., Lara Fiallos, M. V., & Trujillo Toledo, L. E. (2020). Bioconversion of lactose from cheese whey to organic acids. En N. Gutiérrez Méndez, *Lactose and Lactose Derivatives*. Ecuador: InTech Open Ltd. doi:<http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.92766>
- Paredes Godoy, M. M., Vaca Barahona, B. R., Chávez Macay, K. M., Llangari Arellano, V. M., & Maurat Lucero, L. J. (2025). Biohidrógeno a partir del suero de leche: avances recientes y perspectiva futuristas de energía alternativa. *Polo del Conocimiento*, 10(2), 1690-1703. doi:<https://doi.org/10.23857/pc.v10i2.8989>
- Paredes Molina, D. M., Cervantes López, M. A., Orona Tamayo, D., Lozoya Pérez, N. E., Beltrán Ramírez, F. I., Vázquez Martínez, J., . . . Quintana Rodríguez, E. (2025). Lactic whey as a potencial feedstock for exopolysaccharide production by microalgae strain *Neochloris oleoabundans* UTEX 1185.

Biotechnology for Biofuels and Bioproducts, 18(17), 1-16. doi:<https://doi.org/10.1186/s13068-024-02595-1>

Parlamento Europeo. (24 de Mayo de 2023). *Economía circular: definición, importancia y beneficios*.

Obtenido de Temas:

<https://www.europarl.europa.eu/topics/es/article/20151201STO05603/economia-circular-definicion-importancia-y-beneficios>

Parra Huertas, R. A. (2009). Lactosuero Importancia en la industria de los alimentos. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 62(1), 4967-4982. Obtenido de

http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0304-28472009000100021&script=sci_arttext

Parra Huertas, R. A. (2010). Review. Bacterias ácido lácticas: papel funcional en los alimentos. *Facultad de Ciencias Agropecuarias*, 8(1), 93-105. Obtenido de

<http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v8n1/v8n1a12.pdf>

Pasotti, L., Zucca, S., Casanova, M., Micoli, G., Cusella De Angelis, M. G., & Magni, P. (2017).

Fermentation of lactose to ethanol in cheese whey permeate and concentrated permeate by engineered *Escherichia coli*. *BMC Biotechnology*, 17(48), 1-12. doi:<https://doi.org/10.1186/s12896-017-0369-y>

Passoth, V., Fredlund, E., Druvefors, U. A., & Schnürer, J. (2006). Biotechnology, physiology and genetics of the yeast *Pichia anomala*. *FEMS Yeast Research*, 6(1), 3-13. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1567-1364.2005.00004.x>

Pérez Pérez, R., & Trinidad Díaz, R. E. (2022). *Manual para el aislamiento y caracterización de bacterias ácido lácticas*. [Tesis de licenciatura, Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas]: Repositorio UNICACH.

Pérez Reyes, M. J., Sánchez Hernández, G., Martínez Flores, R., Garza Rivera, J. L., & Espinosa Rodríguez, J. (2021). *Medios de cultivo*. Obtenido de Mohos productores de micotoxinas:

https://masam.cuautitlan.unam.mx/mohos_toxigenos_unigras/medios_cultivo.html

Pérez Sánchez, A., Marrero Rodríguez, Y., González Ibarra, N., Segura Silva, R. M., & Alcalá Galiano Morell, D. D. (2025). Composición química, pretratamiento, valorización y empleo de suero de queso y sus subproductos como sustrato en fermentaciones: Una revisión global. *Multidisciplinary Collaborative Journal*, 3(2), 24-73. doi:<https://doi.org/10.70881/mcj/v3/n2/50>

Peterson, G. L. (1997). A Simplification of the Protein Assay Method of Lowry et al. which is more generally applicable. *Analytical Biochemistry*, 83, 346-356.

Piassi Bernardo, M., Fontes Coelho, L., Sass, D. C., & Contiero, J. (2016). L-(+)-lactic acid production by *Lactobacillus rhamnosus* B103 from dairy industry waste. *Brazilian Journal of Microbiology*, 47(3), 640-646. doi:<https://doi.org/10.1016/j.bjm.2015.12.001>

Pimentel González, D. J., Caro Canales, I., Meza Nieto, A. M., Campos Montiel, R., & Jaime Vernon-Carter, E. (25 a 29 de junio 2007). *Crecimiento de la bacteria probiótica L. rhamnosus en lactosuero dulce*. [Presentación de cartel]. XII Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería. Morelia, Michoacán. Obtenido de

https://smbb.mx/congresos%20smbb/morelia07/TRABAJOS/Area_III/Carteles/CIII-30.pdf

Pérez, M., & Mota, M. (2006). Morfología y estructura bacteriana. *Temas de bacteriología y virología médica*, 23-42.

Ponce Zambrano, I. G. (2022). *Incidencia de las bacterias ácido lácticas provenientes del mucílago del cacao (Theobroma cacao L.) en las características sensoriales de los quesos*. [Tesis de licenciatura, Universidad Agraria del Ecuador]: CIA UAGRARIA.

- Poveda, E. (2013). Suero lácteo, generalidades y potencial uso como fuente de calcio de alta biodisponibilidad. *Revista Chilena de Nutrición*, 40(4), 397-403. doi:<https://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182013000400011>
- Prinzi, A., & Rohde, R. (25 de Septiembre de 2020). *Why differential & selective media remain invaluable tools*. Obtenido de American Society for Microbiology: <https://asm.org/articles/2020/september/why-differential-selective-media-are-invaluable-to>
- Quille Quille, L., Luque Vilca, O. M., & Aruhuanca Ordoñez, F. P. (2021). Potencialidades del lactosuero generado por la industria quesera y su valorización. *Revista científica I+D Aswan Science*, 1(2), 16-24. doi: <https://doi.org/10.51892/rcidas.v1i2.10>
- Ramírez Hernández, A., Caltzontzin Rabell, V., Guzmán Martínez, C. E., & Gutiérrez Antonio, C. (2025). Cultivo de microalgas: estrategia sustentable para la valorización del suero de queso. *Naturaleza y Tecnología*, 17-35.
- Ramírez Navas, J. S. (2013). Uso de la fermentación para el aprovechamiento del lactosuero. *Tecnología Láctea Latinoamericana*(77), 52-61. Obtenido de https://www.academia.edu/28353059/Uso_de_la_fermentaci%C3%B3n_para_el_aprovechamiento_del_lactosuero
- Reynoso, M., Magnoli, C., Barros, G., & Demo, M. (2015). *Manual de microbiología general*. Argentina: UniRío Editora. Obtenido de <http://www.unirioeditora.com.ar/wp-content/uploads/2018/10/978-987-688-124-1.pdf>
- Rivera Pastrana, D., & de León Rodríguez, A. (2005). *Producción de penicilino acilasa en E.coli recombinante a partir de suero de leche bovino*. [Presentación de cartel]. XI Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería, San Luis Potosí, México. Obtenido de https://smbb.mx/congresos%20smbb/merida05/TRABAJOS/AREA_X/OX-06c.pdf
- Rodiles López, J. O., Ochoa Manzo, G. M., & Zamora Vega, R. (2023). El queso y sus variedades. *Milenaria Ciencia y Arte*(21), 19-23. doi:<https://doi.org/10.35830/mcya.vi21.355>
- Rodríguez Durán, N. L., Bustos Vázquez, M. G., Durán, R., N. A., & del Ángel, J. A. (2012). Producción biotecnológica de ácido láctico. En M. G. Bustos Vázquez, & G. Velazquez de la Cruz, *Aprovechamiento biotecnológico de recursos agropecuarios III* (págs. 181-193). México D.F: Plaza y Valdés Editores.
- Rodríguez Martínez, C., & Zhurbenko, R. (2018). *Manual de Medios de Cultivo* (4° ed.). Cuba: Centro Nacional de Biopreparados (BioCen). Obtenido de <https://www.biocen.cu/wp-content/uploads/2021/05/Manual-MC-2018.pdf>
- Rojas González, A. F., Floréz Montes, C., & López Rodríguez, D. F. (2019). Prospectivas de aprovechamiento de algunos residuos agroindustriales. *Revista Cubana de Química*, 31(1), 1-21. Obtenido de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-54212019000100031
- Rojas Rojas, M. M., Valencia Sandoval, K., & Brambila Paz, J. J. (2025). Bioeconomía circular, una oportunidad para agregar valor y aumentar la competitividad de la cadena de valor leche-queso en México. *Nova Scientia*, 16(33), 1-12. doi:<https://doi.org/10.21640/ns.v16i33.3455>
- Romero Arenas, O., Huerta Lara, M., Damián Huato, M. Á., Domínguez Hernández, F., & Arellano Victoria, D. A. (2009). Características de *Trichoderma harzianum*, como agente limitante en el cultivo de hongos comestible. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 11(2), 143-151. Obtenido de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-34752009000200015&lng=en&tlng=es.

- Romero Sáez, M. (2022). Los residuos agroindustriales, una oportunidad para la economía circular. *Tecnología, 25*(54). Obtenido de <https://www.redalyc.org/journal/3442/344271354013/html/>
- Rosales López, C. (2019). Los bioprocesos en la biotecnología: uso de biorreactores para la producción y el escalamiento de productos de interés comercial. *Tecnología en Marcha*, 41-46.
- Roy, D. (2019). Probiotics. En M.-Y. Murray, *Comprehensive Biotechnology* (págs. 591-602). Quebec, Canadá: Elsevier. Obtenido de https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780444640468002457?fr=RR-2&ref=pdf_download&rr=92eb37a3ac519a4d
- Saini, R. K., Prasad, P., Shang, X., & Keum, Y. S. (2021). Advances in lipid extraction methods- A review. *International Journal of Molecular Science*, 22(24). doi:<https://doi.org/10.3390/ijms222413643>
- Salazar Manzanares, M., Márquez Reyes, J., Rodríguez Romero, B., Méndez Zamora, G., Luna Maldonado, A., & Treviño Garza, M. (2023). Aprovechamiento de suero de leche para la producción de celulosa microbiana. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 8, 339-348.
- Sánchez Contreras, M. d., González Flores, T., Ayora Talavera, T. d., Evangelista Martínez, Z., & Pacheco López, N. A. (2017). ¿Qué son los microbios? *Ciencia*, 68(2), 10-17. Obtenido de http://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/68_2/PDF/QueSonMicrobios.pdf
- Sánchez Montero, J. M. (2011). Biotecnología: presente y futuro. *Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia*, 77(4), 52-59. Obtenido de <https://core.ac.uk/reader/230311000>
- Sánchez, L., & Tromps, J. (2014). Caracterización in vitro de bacterias ácido lácticas con potencial probiótico. *Revista de Salud Animal*, 36(2), 124-129.
- Santander Cortés, A. I., & Castro Rosas, J. (2024). Aislamiento de bacterias ácido lácticas con potencial probiótico de alimentos fermentados típicos de México: una revisión. *Pädi Boletín científico de Ciencias Básicas e Ingeniería del ICBI*, 11(22), 59-68. doi:<https://doi.org/10.29057/icbi.v11i22.11072>
- Sarkar, S., Narayanan, P., Dlivakaran, A., Balamurugan, A., & Premkumar, R. (2010). The in vitro effect of certain fungicides, insecticides, and biopesticides on mycelial growth in the biocontrol fungus *Trichoderma harzianum*. *Turkish Journal of Biology*, 34(4), 399-403. doi:<https://doi.org/10.3906/biy-0812-4>
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER). (22 de Septiembre de 2016). *Quesos mexicanos genuinos, delicias que nos distinguen*. Obtenido de Gobierno de México: <https://www.gob.mx/agricultura/es/articulos/quesos-mexicanos-genuinos-delicias-que-nos-distinguen>
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. (04 de Octubre de 2016). *¿Ya conoces los tipos de agroindustria?* Obtenido de Gobierno de México: <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/ya-conoces-los-tipos-de-agroindustria>
- Serna Cock, L., & Rodríguez de Stouvenel, A. (2005). Producción biotecnológica de ácido láctico: Estado del arte. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 5(1), 54-65.
- Serrano Berríos, C., & Gutiérrez Ilabaca, R. (2018). *Manual de microbiología*. Chile: Ediciones UC.
- Sezonov, G., Joseleau-Petit, D., & D'Ari, R. (2007). *Escherichia coli* physiology in Luria-Bertani broth. *Journal of Bacteriology*, 189(23), 8746-8749. doi:<https://doi.org/10.1128/jb.01368-07>
- Silva Vargas, M. C., & Soler Londoño, J. F. (2024). *Producción de ácido láctico a partir de la fermentación de biomasa celulósica del afrecho de malta mediante bacterias lácticas*. [Tesis de licenciatura,

- Fundación Universidad de América]. Obtenido de <https://repository.uamerica.edu.co/server/api/core/bitstreams/69f71030-71bd-4839-92f8-818879212ce8/content>
- Solís Oba, A., Solís Oba, M. M., Teniza García, O., & Martínez Cásares, R. M. (2023). Proposal for taking advantage of whey. *EN PRENSA Revista Bio Ciencias*, 10. doi:<https://doi.org/10.15741/revbio.10.e1392>
- Son, J., Baritugo, K. A., Lim, S. H., Lim, H. J., Jeong, S., Lee, J. Y., . . . Park, S. J. (2022). Microbial cell factories for the production of three-carbon backbone organic acids from agro-industrial wastes. *Bioresource Technology*, 349. doi:<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.126797>
- Son, M. S., & Taylor, R. K. (2022). Growth and Maintenance of Escherichia coli Laboratory Strains. *Current Protocols*, 1(1), 1-13. Obtenido de <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8006063/pdf/nihms-1657202.pdf>
- Stanier, R. Y., Ingraham, J. L., Wheelis, M. L., & Painter, P. R. (2024). *Microbiología*. Barcelona: Editorial Reverté. Obtenido de https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=ZE8oEQAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR5&dq=microbiolog%C3%ADa&ots=BvluV1_Mkj&sig=V5klZ07cmwTsAdMBNnPs35HP6Gw#v=onepage&q=microbiolog%C3%ADa&f=false
- Suarez Medina, L., Murcia Torrejano, V., Rivas López, M., Pinto Antonio, A., Muñoz Otero, N., Valencia Payán, J., . . . Moreno Ortega, D. (2024). Metabolitos secundarios de Trichoderma spp.: importancia en la industria agrícola y farmacéutica y alimentaria. *Revista Agropecuaria y Agroindustrial La Angostura*, 10(3), 35-55. Obtenido de <https://revistas.sena.edu.co/index.php/raaa/article/view/7045/6602>
- Sun, L., Lu, Z., Li, J., Sun, F., & Huang, R. (2018). Comparative genomics and transcriptome analysis of Lactobacillus rhamnosus ATCC 11443 and the mutant strain SCT-10-10-60 with enhanced L-lactic acid production capacity. *Molecular Genetics and Genomics*, 293(1), 265-276. doi:<https://doi.org/10.1007/s00438-017-1379-0>
- Tan, T., Yu, J., & Shang, F. (2011). Biorefinery Engineering. En M.-Y. Murray, *Comprehensive Biotechnology* (págs. 815-828). Beijing: Academic Wordpress. doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-08-088504-9.00138-0>
- Tapia Cruz, B. (2020). *Situación de la industria láctea: producción, precios y comercio exterior*. Chile: Odepa Ministerio de Agricultura.
- Teniza García, O. (2008). *Estudio del suero de queso de leche de vaca y propuesta para el reuso del mismo*. [Tesis de maestría, Instituto Politécnico Nacional]: Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada.
- Thongwai, N. (1999). *Production of L-(+) Lactic Acid from Blackstrap Molasses by Lactobacillus casei Subspecies Rhamnosus ATCC 11443*. [Tesis de doctorado: Universidad del Estado de Louisiana]. Obtenido de https://repository.lsu.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=8018&context=gradschool_disstheses
- Torres Martínez, Q., & Romero León, K. (2020). Alternativas tecnológicas para uso del lactosuero: valorización económica de residuos. *Estudios Sociales. Revista de alimentación contemporánea y desarrollo regional*, 30(55), 2-26. doi:<https://doi.org/10.24836/es.v30i55.908>
- Torres Rodelo, M. (2018). *Evaluación tecnológica del proceso de obtención de biomasa de microorganismos probióticos en medio de cultivo formulado con suero lácteo suplementado*. [Tesis de

Maestría, Universidad Nacional de Colombia]. Repositorio Institucional UNAL. Obtenido de <https://repositorio.unal.edu.co/items/64c77872-7cab-4182-904c-8ffab572749e>

- Tortora, G. J., Funke, B. R., & Case, C. L. (2007). *Introducción a la microbiología* (9 ed.). Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana.
- Tsai, M. D., Zhao, L., & Lamarche, B. J. (2004). Enzyme Reaction Mechanisms: Stereochemistry. En W. J. Lennarz, & M. D. Lane, *Encyclopedia of Biological Chemistry* (Vol. 2, págs. 45-50). Ohio: Elsevier. doi:<https://doi.org/10.1016/B0-12-443710-9/00636-0>
- Uribe Velázquez, T., Díaz Vázquez, D., Barajas Álvarez, P., González López, M. E., Gradilla Hernández, M. S., García Amezcuita, L. E., . . . García Cayuela, T. (2025). From waste to value: Mitigating the environmental impact of whey in Jalisco, México. *Journal of Cleaner Production*, 501, 1-12. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2025.145334>.
- Urribarí, L., Vielma, A., Paéz, G., Ferrer, J., Mármol, Z., & Ramones, E. (2004). Producción de ácido láctico a partir de suero de leche utilizando *Lactobacillus helveticus* en cultivo continuo. *Revista Científica Universidad de Zulia*, 14(4). Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/959/95914403.pdf>
- Valdez, I., & Canobbio, C. (2025). Economía circular en empresas exportadoras agroindustriales en Sinaloa, México: grado de implementación y desafíos. *Estudios de la Gestión*(17), 111-136. Obtenido de <https://revistas.uasb.edu.ec/index.php/eg/article/view/4571/5227>
- Valencia Denicia, E., & Ramírez Castillo, M. L. (2009). La industria de la leche y la contaminación del agua. *Elementos: Ciencia y Cultura*, 16(73), 27-31. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/294/29411996004.pdf>
- Valtierra Méndez, A. J., Hernández Valencia, G. L., Robles Medina, Y. L., & Rodríguez Hernández, G. (2024). Lactosuero adicionado con menta y fermentado con *Lactobacillus acidophilus*, evaluación microbiológica, fisicoquímica y nutrimental. *Ciencia e Innovación Agroalimentaria*, 6(1), 34-43.
- Varela, G., & Grotiuz, G. (2008). *Fisiología y metabolismo bacteriano*. Uruguay: Cefa.
- Vargas Corredor, Y. A., & Pérez Pérez, L. I. (2018). Aprovechamiento de residuos agroindustriales para el mejoramiento de la calidad del ambiente. *Revista de la Facultad de Ciencias Básicas*, 14(1), 59-72.
- Vargas Maya, N. I., & Franco, B. (2017). *Escherichia coli* as a model organism and its application in biotechnology. En A. Samie, *Escherichia coli - Recent Advances on Physiology, Pathogenesis and Biotechnological Applications* (págs. 253-274). InTech. doi:<http://dx.doi.org/10.5772/67306>
- Vázquez, S., Crosa, M. J., Rey, F., & Lopretti, M. (2009). Viabilidad del uso de suero de quesería como base del medio de cultivo de la cepa nativa probiótica *Lactobacillus paracasei* HA9-2. *INNOTECH*(4), 10-14. Obtenido de <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=606166693002>
- Veana, F., Aguilar, C. N., Viader-Salvadó, J. M., & Rodríguez Herrera, R. (2011). Invertasa del Género *Aspergillus* y su Impacto Biotecnológico. *Revista de la Sociedad Mexicana de Biotecnología y Bioingeniería A.C.*, 15(1), 11-29. Obtenido de https://smbb.mx/wp-content/uploads/2017/10/BioTecnologia_2011_Vol.15_No.pdf
- Vega, R. (08 de Diciembre de 2020). *¿Qué es la biotecnología?* Obtenido de FUSADES: <https://fusades.org/contenido/que-es-la-biotecnologia>
- Velázquez de Lucio, B. S., Mastranzo Pérez, L. A., Hernández, E. M., & Álvarez Cervantes, J. (2024). Valorización de residuos de la industria alimentaria: oportunidades y retos para lograr una economía circular. En C. R. Menéndez Gámiz, *Bioeconomía en Latinoamérica: desafíos para la sostenibilidad y el desarrollo*. (Vol. Volumen 3. Mentefactura bioeconómica, págs. 5-22). Guadalajara: Universidad de Guadalajara. Obtenido de

https://www.researchgate.net/publication/389714873_VALORIZACION_DE_RESIDUOS_DE_LA_INDUSTRIA_ALIMENTARIA_OPORTUNIDADES_Y_RETOS_PARA_LOGRAR_UNA_ECONOMIA_CIRCULAR

- Victorelli, R. (2011). *Producción de L-ácido láctico a partir de células bacterianas inmovilizadas*. [Tesis de maestría, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho]. Obtenido de <https://repositorio.unesp.br/server/api/core/bitstreams/bd06fd53-3b52-48a8-8580-527acf806bf2/content>
- Vilchez Cáceda, H. A., Olortegui Quispe, A. R., Chu Estrada, W. E., & Alvia Saldarriaga, C. A. (2023). Optimización de un medio de cultivo para *Escherichia coli* base de miel de abeja. *Revista Cubana de Medicina Militar*, 52(3), e02302821. Obtenido de <https://revmedmilitar.sld.cu/index.php/mil/article/view/2821>
- Vinocunga Pillajo, R. D. (2025). Caracterización de las bacterias ácido lácticas y sus aplicaciones en la industria alimentaria. *Revista PRISMA Amazónico*, 1(1), 1-13. Obtenido de <https://prismaamazonico.com/index.php/revista-prisma/article/view/2>
- Walker, G. M. (2011). *Pichia anomala*: cell physiology and biotechnology relative to other yeasts. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 99(1), 25-34. Obtenido de <https://rke.abertay.ac.uk/ws/portalfiles/portal/8520972/WalkerAntVanLeuwInPress2010.pdf>
- Wang, H., Guo, J., Chen, X., & He, H. (2023). The metabolomics changes in Luria-Bertani broth medium under different sterilization methods and their effects on *Bacillus* growth. *Metabolites*, 13(958), 1-14. doi:<https://doi.org/10.3390/metabo13080958>
- Wang, Y., Wu, J., Lv, M., Shao, Z., Hungwe, M., Wang, J., . . . Geng, W. (2021). Metabolism Characteristics of Lactic Acid Bacteria and the Expanding Applications in Food Industry. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9, 612285. doi:10.3389/fbioe.2021.612285
- Williams Zambrano, M. B., & Dueñas Rivadeneira, A. A. (2021). Alternativas para el aprovechamiento del lactosuero: antecedentes investigativos y usos tradicionales. *La Técnica: Revista de agrociencias*(26), 39-49. doi: <https://doi.org/10.33936/latécnica.v0i0.3490>
- Yu, D., Banting, G., & Neumann, N. F. (2021). A review of the taxonomy, genetics, and biology of the genus *Escherichia* and the type species *Escherichia coli*. *Canadian Journal of Microbiology*, 67(8), 553-571. doi:<https://doi.org/10.1139/cjm-2020-0508>
- Zenil Alba, J. L., Gutiérrez del Valle, A., Soberanis Acosta, D. G., García Gamboa, M. J., Álvarez Espinosa, S. E., Reséndiz Pérez, J., & Longares Baza, D. A. (2022). *Estrategia de Bioeconomía Circular y Social del Estado de Puebla*. [Archivo PDF]. Obtenido de https://smadsot.puebla.gob.mx/images/Estrategia%20de%20Bioeconom%C3%ADa%20Circular%20y%20Social_Final.pdf
- Zumbado Rivera, W., Esquivel Rodríguez, P., & Wong González, E. (2006). Selección de una levadura para la producción de biomasa: crecimiento en suero de queso. *Agronomía Mesoamericana*, 17(2), 151-160. Obtenido de <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=43717202>

APÉNDICES

Glosario

Anaerobio facultativo: Organismo capaz de producir energía a través de la respiración aeróbica y cambiar a respiración anaeróbica dependiendo de la cantidad de oxígeno y material fermentable presente en el medio (Biology Online, 2022; Bush & Vazquez Pertejo, 2023)

ATP: Adenosin trifosfato, molécula formada por adenosina y ribosa con tres grupos fosfato, es la principal molécula transportadora de energía de todas las células, es indispensable debido a que almacena y proporciona energía para que se lleven a cabo las reacciones químicas necesarias para el desarrollo celular (Tortora *et al.*, 2007)

Bacteriocinas: Péptidos con actividad antimicrobiana que actúan sobre la membrana celular, producidos por bacterias para inhibir el crecimiento de microorganismos competidores (Mondragón Preciado *et al.*, 2013)

Biomasa: Materia orgánica producida por organismos vivos y medida por el peso, es todo material orgánico que proviene de un proceso biológico (Tortora *et al.*, 2007; Consejo Nacional de Humanidades Ciencias y Tecnología [CONAHCYT], 2025)

Biosensores: Dispositivo basado en una parte biológica (célula, tejido o proteína) vinculado a un receptor analítico que proporciona una señal medible (Vargas Maya & Franco, 2017)

Biotecnología: Es una disciplina multidisciplinar que junta conocimientos científicos, técnicas, métodos y procesos tecnológicos en donde se utilizan organismos vivos y sus sistemas biológicos, enfocados en la mejora de sus características y desarrollo. Se emplean plantas, animales, microorganismos entre otros seres vivos y se les brinda un uso específico con el objetivo de obtener, elaborar y/o modificar sustancias y productos que son de interés humano (Sánchez Montero, 2011; Tan *et al.*, 2011; Vega, 2020).

Bromatología: Es una ciencia que se enfoca en el estudio de los alimentos, teniendo en cuenta factores como su composición, estructura, función, valor nutritivo, fabricación y análisis para control de calidad (Bello Gutiérrez, 2014; Kuklinski, 2003)

Caseína: Fosfoproteína láctea mayoritaria (78-80%) fuente de aminoácidos, que forma agregados moleculares con fosfato de calcio (micelas) con tamaños variables. En la leche bovina se encuentran cuatro tipos principales; α_{s1} caseína, α_{s2} caseína, β -caseína y κ -caseína. Estas proteínas se precipitan a un pH ácido de 4.4-5.8, su desnaturalización permite su transformación en diversos productos lácteos (Padilla Doval & Zambrano Arteaga, 2021).

Catalasa: Enzima que hidroliza el peróxido de hidrógeno y lo transforma en agua y oxígeno gaseoso, está presente en la mayoría de los microorganismos que poseen citocromos (Fernández Olmos *et al.*, 2010)

Centros estereogénicos: Es el centro asimétrico de una molécula, que puede ser un átomo tetraédrico con cuatro sustituyentes distintos (Cruz López *et al.*, 2023)

Citocromo: Proteína con anillos porfirínicos y hierro (grupo hemo), que se oxida y reduce alternativamente; sus tipos se distinguen por sus potenciales de reducción y se presentan en organismos con respiración aerobia, actuando como transporte de electrones (Varela & Grotiuz, 2008)

Demanda Biológica de Oxígeno (DBO): Parámetro para determinar la calidad de agua mediante la medición de la cantidad de oxígeno disuelto consumido durante la descomposición de compuestos orgánicos en el agua (Lipnizki, 2010).

Demanda Química de Oxígeno(DQO):Parámetro para determinar la calidad del agua mediante la medición de la cantidad de oxígeno disuelto consumido durante la descomposición de compuestos orgánicos y la oxidación de compuestos inorgánicos en el agua (Lipnizki, 2010).

Enantiómeros: Moléculas con propiedades físicas y termodinámicas idénticas, cuyas estructuras son imágenes especulares no superponibles entre sí (Cruz López *et al.*, 2023; Juaristi, 2010)

Enzima:Moléculas biocatalizadoras que aumentan la velocidad de una reacción mediante la disminución de su barrera energética e interactúa con los sustratos para dar lugar a productos, son proteínas de elevado peso molecular que actúan de forma altamente específica en reacciones bioquímicas del metabolismo de los seres vivos y posteriormente se libera sin alteraciones en su función, lo que permite que pueda emplearse en reacciones sucesivas (Castañeda, 2019)

Estandarización: Es el proceso de determinación exacta de la concentración de una disolución; generalmente se realiza una valoración utilizando una cantidad conocida de una sustancia patrón primario (Baeza, 2016).

Estereoespecificidad enzimática: Las interacciones exclusivas o preferenciales de enzimas con algunos estereoisómeros sobre otros debido a su estructura tridimensional; las enzimas convierten un sustrato estereoisomérico en un producto específico (Tsai *et al.*, 2004)

Estereoisómeros: Dos compuestos los cuales tienen una misma secuencia en sus enlaces y una misma constitución química, pero tienen una distinta distribución tridimensional (Cruz López *et al.*, 2023; Juaristi, 2010)

Eucarionte: Célula que posee un núcleo definido con membrana nuclear, que contiene el material genético (Tortora *et al.*, 2007)

Eutrofización: Fenómeno de deterioro de los cuerpos de agua en el cuál se disminuye la cantidad de oxígeno disuelto (O.D), que se origina por la presencia excesiva de nitrógeno, fósforo y materia orgánica, ocasionando la proliferación de algas, bacterias y la muerte de flora y fauna acuática. Este proceso ocurre naturalmente de forma lenta, sin embargo las actividades humanas como el uso frecuente de fertilizantes, la incorrecta disposición de residuos y la quema de combustibles fósiles, han propiciado el desarrollo acelerado de este fenómeno y por ende un desequilibrio ecológico (García Miranda & Miranda Rosales, 2018)

Fermentación: Es un proceso de catabólico simple generador de energía que se presenta en algunos microorganismos en condiciones anaerobias en el cual tanto los dadores como los aceptores de electrones son compuestos orgánicos; en este proceso, el sustrato se descompone y da lugar a una mezcla de productos finales más simples., se puede clasificar en fermentación de estado sólido y fermentación de estado líquido, además que existen cuatro tipos principales: fermentación alcohólica, láctica, butírica y acética (Carbonero Zaldegui, 1975 ; Figueiras,2021)

Genome shuffling: Es un proceso en el que ocurre una mezcla de múltiples genes en el ADN e incluso de genomas enteros, sirve como un método para la recombinación homóloga *in vitro* de genes mutantes seleccionados y utiliza principalmente la fragmentación al azar y reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Es una aproximación eficiente para la producción de una cepa de interés, esta tecnología se ha aplicado para mejorar la tolerancia de algunas cepas microbianas así como su aprovechamiento de sustrato y su rendimiento de producción (Tan *et al.*, 2011 p. 821)

Glucólisis: También conocida como vía Embden-Meyerhoff, es la oxidación de la glucosa para formar ácido pirúvico y representa el primer paso del catabolismo de los carbohidratos, en este proceso las enzimas catalizan el rompimiento de la glucosa, dando como resultado la liberación de energía (Tortora *et al.*, 2007)

Isómeros: Sustancias que tienen la misma fórmula general y composición, pero cuya estructura espacial y propiedades fisicoquímicas difieren entre ellas (Garric , 2024)

Metabolismo: Conjunto de reacciones químicas producidas por acción enzimática que se producen en la célula y tiene la función de obtener energía química del entorno y almacenarla para poder usarla en diferentes funciones celulares; los nutrientes obtenidos se convierten en precursores de los componentes de la célula, para así formar y degradar moléculas necesarias para cumplir funciones celulares específicas. El metabolismo se divide en dos: anabolismo, que es el proceso por el cual la célula sintetiza sus componentes y catabolismo que son las reacciones de degradación de los nutrientes con el fin de obtener precursores y/o energía (Tortora *et al.*, 2007; Varela & Grotiuz, 2008)

Microaerófilo: Organismos que requieren una mínima concentración de oxígeno (de 2 a 10%) y, en muchos casos, una concentración elevada de dióxido de carbono para crecer (Bush & Vazquez Pertejo, 2023)

Patrón primario: Es un reactivo que se utiliza para dispensar una cantidad de analito con precisión, y que garantice la exactitud en las mediciones en estandarizaciones y valoraciones volumétricas; debe ser una sustancia estable, con alta pureza y composición conocida (Harvey, 2022; Baeza, 2016)

pH: Potencial de Hidrógeno, es la medida del grado de acidez o alcalinidad de una sustancia, se mide en una escala de 0-14, se toma el valor de 7 como un valor neutro, los valores menores a 7.0 como ácidos y mayores a 7.0 como alcalinos. Se puede definir como la concentración de iones de hidrógeno (Tortora *et al.*, 2007)

Punto isoelectrico: Valor de pH en el que las cargas de una proteína son neutras y donde normalmente precipitan (Moldoveanu & David, 2017)

Procarionte: Célula que no posee un núcleo verdadero, por lo cual su material genético se encuentra en el citoplasma (Tortora *et al.*, 2007)

Quimosina o renina: Enzima proteasa de origen animal para la coagulación láctea, que gelifica la caseína al agregarse a la leche en el proceso de elaboración de queso; naturalmente se encuentra en el estómago de los mamíferos neonatos, su acción incrementa el tiempo de retención de la fracción nutritiva de la leche y mejora su absorción, la quimosina bovina es la más caracterizada, sin embargo ya se produce de manera biotecnológica utilizando microorganismos modificados genéticamente (Morán Torres, 2017).

Quiralidad: Propiedad geométrica de ciertas moléculas de ser asimétricas en su estructura tridimensional, las moléculas quirales presentan una imagen especular no superponible (Cruz López *et al.*, 2023; Juaristi, 2010)

Tinción de Gram: Método de clasificación bacteriana desarrollado en 1884 por el bacteriólogo danés Hans Cristian Gram, es una tinción diferencial que permite clasificar a las bacterias en dos grupos: Gram positivas que son aquellas que en la pared celular tienen una capa gruesa de peptidoglicano y ácido teicoico, y Gram negativas, aquellas que tienen una pared celular delgada de peptidoglicano y una membrana externa compuesta de lípidos y proteínas. Esta técnica, basada en la estructura y las características de la pared celular de las bacterias, consiste en añadir a una muestra cristal violeta como colorante primario que presenta afinidad con el peptidoglicano de la pared celular, luego se añade lugol que actúa como fijador del colorante formando un complejo cristal violeta-yodo impidiendo su salida al saturar los espacios de la pared bacteriana, posteriormente se agrega una mezcla de alcohol-acetona que disuelve la membrana lipídica de las bacterias Gram negativas, que provoca que el complejo cristal violeta-yodo salga de la célula, mientras tanto las bacterias Gram positivas retienen el colorante, finalmente se añade safranina o fucsina como contrastante para teñir las bacterias Gram negativas (Casasola Bado, 2022 ; López Jácome *et al.*, 2014; Reynoso *et al.*, 2015)

Valoración o titulación: Procedimiento de análisis químico que se usa para determinar la concentración en una muestra de forma volumétrica. Se emplea una reacción entre el analito (sustancia la cual se desea conocer su concentración) y el agente titulante (sustancia de concentración conocida). Para este proceso se coloca en un

matraz Erlenmeyer el analito además de una sustancia indicadora que cambia de color bajo condiciones diferentes de pH; mientras que el agente titulante se vierte dentro de una bureta. El proceso continua al agregar gota a gota el agente titulante dentro del matraz que contiene el analito, se debe conocer con precisión la concentración del titulante para una medición adecuada. Al reaccionar el agente titulante con el analito de forma estequiométrica se alcanza el punto de equivalencia de la titulación (Jaime Vasconcelos, 2020).

Vía metabólica: Secuencia de reacciones químicas controladas y catalizadas por enzimas que tiene lugar en la célula, es la forma en la cual los organismos liberan y almacenan energía proveniente de moléculas orgánicas a través del transporte de electrones de un compuesto a otro, mediante reacciones de oxidación y reducción (Tortora *et al.*, 2007)

WPC: Whey Protein Concentrate; es el concentrado de las proteínas de lactosuero que se obtiene a partir de la eliminación de constituyentes no proteicos mediante un proceso de ultrafiltración que consiste en una membrana selectiva semipermeable que retiene moléculas de alto peso molecular. Posteriormente se realiza una evaporización y liofilización obteniendo al final un producto seco con un contenido proteico mayor a 25% (Parra Huertas, 2009).

WPI: Whey Protein Isolate, es el aislado de proteínas de lactosuero que tiene un contenido de 90% de proteína y una alta pureza, se usa como suplemento alimenticio, particularmente en el ámbito deportivo, tiene propiedades hidratantes, gelificantes y emulsificantes (Parra Huertas, 2009).

Apéndice A: Información complementaria del marco teórico

Apéndice A.1 Tabla comparativa entre la coagulación enzimática y la coagulación ácida en el proceso de fabricación del queso (Rodiles *et al*, 2023)

COAGULACIÓN	ENZIMÁTICA		ÁCIDA	
Principio general	Al agregar enzimas proteolíticas se provoca la coagulación de la leche, agregación de las micelas de caseína		Se alcanza el punto isoelectrico de las caseínas al agregar ácidos a la leche	
Descripción del proceso	1)Proceso enzimático	2)Proceso de agregación	Se acidifica el pH de la leche hasta 4.6 para que el complejo formado por caseínas-calcio-fósforo se transforme en caseína ácida y sales de calcio y fosfato insolubles	
	Hidrólisis de la κ -caseína y se generan: paracaseína y macro péptido	Se forma el coágulo por la precipitación de las caseínas debido a la acción del calcio		
Sustancia usada para la coagulación	Se utiliza la enzima quimosina también llamada cuajo o renina		Mediante la adición directa de ácidos	Vía fermentativa en la que se agregan microorganismos, que metabolizan lactosa y generan ácido láctico
Uso convencional	Se utiliza la renina proveniente del estómago de los rumiantes, sin embargo, actualmente se emplean sustitutos microbianos o vegetales		Ácido láctico, ácido cítrico, ácido acético	<i>Streptococcus lactis</i> <i>Lactobacillus bulgaricus</i> <i>Lactobacillus lactis</i>
Características del queso	Tiene un sabor dulce, la lactosa no se convierte en ácido láctico		Disminuye el pH, sabor ácido	Disminuye pH, genera propiedades organolépticas distintivas

Apéndice A.2 Tabla descriptiva de las proteínas del lactosuero y sus aplicaciones

Proteína del lactosuero	Descripción	Aplicación	Referencia
α-lactoalbúmina	20% de las proteínas del suero 123 aminoácidos (aa) Forma globular compacta Regula la síntesis de lactosa Transporte de calcio Fuente de aminoácidos esenciales lisina, cisteína y triptófano	Actividad antiviral, antitumoral e inmunomoduladora Produce péptidos bioactivos y aminoácidos libres	(Aponte Colmenares <i>et al.</i> , 2023) (Cruz Guerrero <i>et al.</i> , 2023) (Malos <i>et al.</i> , 2025)
β-lactoglobulina	Proteína más abundante del lactosuero (50% del total) 162 aa Proteína globular pequeña y soluble en agua Unión y transporte de vitaminas, fosfolípidos y compuestos aromáticos hidrofóbicos Fácil de aislar y purificar	Emulsionante Fuente de péptidos bioactivos Efecto regulador sobre metabolismo de fosfatos Inhibe el crecimiento de ciertos patógenos <i>Staphylococcus</i>	(Aponte Colmenares <i>et al.</i> , 2023) (Contreras López, 2021) (Malos <i>et al.</i> , 2025)
Lactoperoxidasa	Representa el 0.25-0.5% de las proteínas del suero lácteo Glicoproteína Produce hipotiocianito (antimicrobiano selectivo)	Efecto bactericida contra <i>Escherichia coli</i> y <i>Staphylococcus aureus</i>	(Malos <i>et al.</i> , 2025)
Proteasas-peptonas	Glucoproteína Fracción compleja de polipéptidos Estabilidad térmica	Efecto antibacteriano	(Cruz Guerrero <i>et al.</i> , 2023; Teniza García, 2008)
Lactoferrina	1% de las proteínas del suero Glucoproteína globular y monomérica Transportadoras de hierro 600-700 aa Solubilidad en agua	Antimicrobiano Antioxidante Desarrolla la actividad neuronal Promueve el crecimiento de bacterias benéficas y modula la microbiota intestinal	(Aponte Colmenares <i>et al.</i> , 2023) (Cruz Guerrero <i>et al.</i> , 2023) (Malos <i>et al.</i> , 2025)
Albúmina de suero bovino	6% de las proteínas del suero Proteína globular con puentes disulfuro Transporte de ácidos grasos, hormonas, iones y metales	Propiedades antimutagénicas y moduladoras del sistema inmune	(Cruz Guerrero <i>et al.</i> , 2023) (Teniza García, 2008) (Malos <i>et al.</i> , 2025)
Inmunoglobulinas	5-8% de las proteínas del suero Proteínas globulares glicosiladas Anticuerpos	Actividad antibacteriana y neutraliza toxinas Favorece la respuesta inmune Desarrollo de alimentos funcionales	(Cruz Guerrero <i>et al.</i> , 2023) (Malos <i>et al.</i> , 2025)

Apéndice B Metodologías complementarias a las determinaciones fisicoquímicas realizadas para las muestras de suero de leche

Apéndice B.1 Estandarización de una solución de NaOH 0.1 N con biftalato de potasio.

- 1) Preparar una solución 0.1 N de hidróxido de sodio para ello se debe de pesar 1g de NaOH, disolver en agua destilada y después aforar en un matraz volumétrico de 250 ml
- 2) Pesar 0.2 g de biftalato de potasio y posteriormente disolverlo en 10 ml de agua destilada en un matraz Erlenmeyer
- 3) Añadir 3 gotas de solución indicadora de fenolftaleína al 1%
- 4) En una bureta verter la solución preparada de NaOH
- 5) Añadir gota a gota la solución de NaOH dentro del matraz con biftalato de potasio y fenolftaleína, hasta lograr un viraje color rosa persistente, que indica el fin de la estandarización
- 6) Registrar el volumen gastado de solución de NaOH

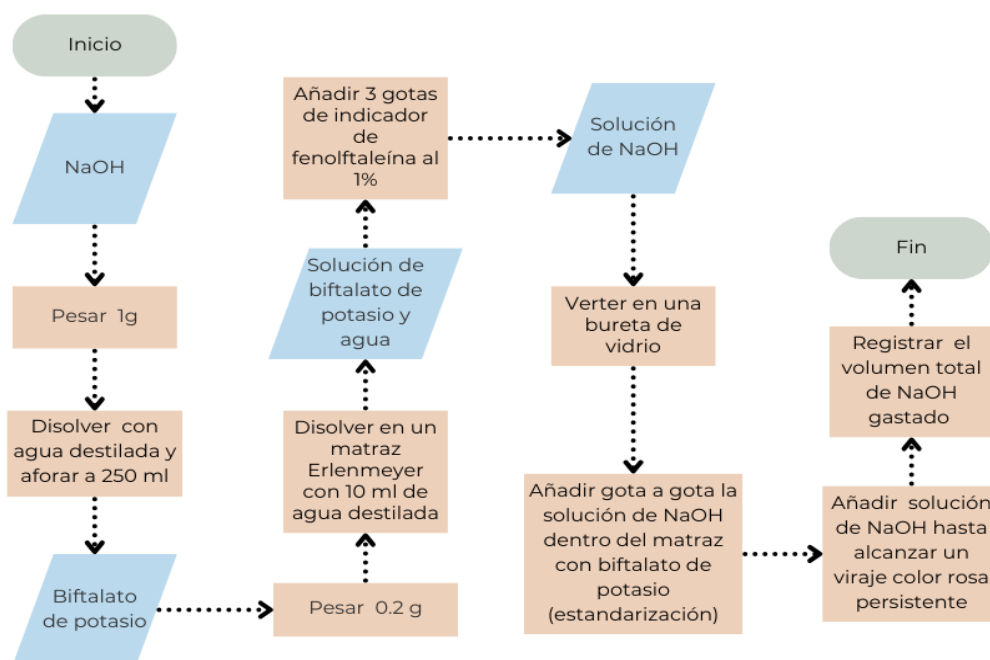


Figura B.1.1: Diagrama para la estandarización de NaOH con biftalato de potasio

Se pesaron 1.0618g de NaOH, se disolvió y se aforó con agua destilada a 250 ml en un matraz volumétrico; la estandarización se llevó a cabo por triplicado (Tabla B.1.3)

Con los datos obtenidos, se calculó la normalidad real de la solución de NaOH preparada, utilizando la ecuación (B.1.2)

$$N = \frac{g_{\text{estándar}}}{(ml)(m_{\text{eq estándar}})} \quad (\text{B.1.2})$$

Donde:

$g_{estandar}$ = La cantidad de estándar que se ocupó para la titulación (biftalato de potasio)

$m_{eq\ estandar}$ = El valor de los miliequivalentes del estándar que se ocupó (biftalato de potasio)

ml = Cantidad de solución de NaOH que se ocupó en la titulación.

Para obtener los miliequivalentes del estándar (biftalato de potasio) se tomó en cuenta su peso equivalente (P_{eq}), que es de 204.22g/eq. Al hacer la conversión de este valor a miliequivalentes se obtuvo 0.20422 miliequivalentes. Se determinó que la solución preparada de NaOH tenía una normalidad de **0.109014 N**

Tabla B.1.3: Parámetros de peso, volumen y normalidad para la estandarización de una solución de NaOH

Parámetros	Prueba 1	Prueba 2	Prueba 3
Peso de Biftalato de potasio (g)	0.2000g	0.2009g	0.2010g
Volumen gastado de NaOH (ml)	8.5 ml	9.0 ml	9.6 ml
Normalidad calculada	0.115216 N	0.109304 N	0.102524 N
Normalidad promedio para la solución de NaOH	0.109014 N		

Apéndice B.2 Estandarización de una solución de tiosulfato de sodio

El procedimiento de estandarización de tiosulfato de sodio se llevó a cabo previo a la determinación de lactosa y se realizó por triplicado

- 1) Se estandariza una solución de tiosulfato de sodio ($Na_2S_2O_3$) preparada previamente con una normalidad calculada de 0.0995 N
- 2) En un matraz Erlenmeyer se adicionaron 10 ml de solución 0.1 N de yodato de potasio (KIO_3) y 1 g de yoduro de potasio (KI)
- 3) Posteriormente se preparó una solución 1:8 de ácido sulfúrico (H_2SO_4), de la que se tomaron 3 ml y se le agregaron al matraz; al reaccionar la solución se tornó color ámbar
- 4) Se inició la estandarización de la solución de tiosulfato de sodio 0.0995 N hasta que la solución del matraz cambie de color ámbar a un color amarillo claro. Una vez alcanzado el viraje, se añadieron 5 gotas de indicador de almidón de maíz y la solución en el matraz cambió de color amarillo a violeta oscuro.
- 5) Se continuó con la estandarización de tiosulfato hasta la desaparición del color (solución transparente)
- 6) Se registró el volumen de solución de tiosulfato de sodio que se utilizó para cada repetición.

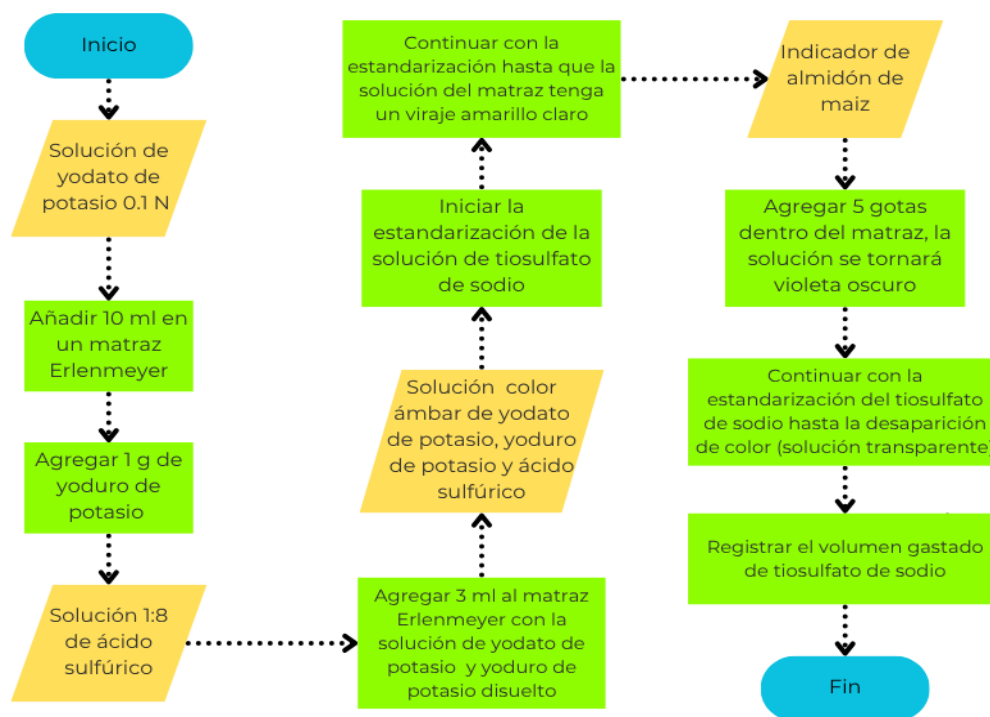


Figura B.2.1: Diagrama de estandarización de la solución de tiosulfato de sodio

Para calcular la normalidad se empleó la ecuación (B.2.2) en la que sustituyeron los datos obtenidos (Tabla B.2.3) y se determinó que la solución de tiosulfato de sodio tiene una normalidad de **0.1006 N**.

$$N_1 V_1 = N_2 V_2 \quad (\text{B.2.2})$$

Donde

N_1 = Normalidad de la solución de yodato de potasio (KIO_3)

V_1 = Volumen agregado de KIO_3

N_2 = Normalidad real de tiosulfato de sodio (desconocida)

V_2 = Volumen de tiosulfato gastado en el experimento

Tabla B.2.3: Datos para calcular la normalidad de una solución de tiosulfato de sodio

Parámetros	Prueba 1	Prueba 2	Prueba 3
(N_1)	0.1 N	0.1 N	0.1 N
(V_1)	10 ml	10 ml	10 ml
(V_2)	9.9 ml	9.9 ml	10 ml
(N_2)	0.1010 N	0.1010 N	0.10 N
Promedio de N_2	0.1006 N		

Apéndice B.3 Preparación de soluciones para la determinación de porcentaje de lactosa

Para la determinación de lactosa se prepararon previamente los reactivos

- **Solución de Fehling A:** Se pesaron 7.0037 g de sulfato de cobre ($CuSO_4$) y se disolvió con agua destilada caliente, posteriormente se aforó a 100 ml con agua destilada.
- **Solución de Fehling B:** Se pesaron 10.0025 g de hidróxido de sodio (NaOH) y 34.97 g de tartrato de sodio y potasio ($C_4H_4KNaO_6 \cdot 4H_2O$), que posteriormente se disolvieron en agua destilada y la solución se aforó a 100 ml
- **Solución de yoduro de potasio al 30%:** Se pesaron 7.5061 g de yoduro de potasio (KI) y se disolvieron en 25 ml de agua destilada
- **Solución de hidróxido de sodio 0.25 N:** Se pesaron 0.5622 g de hidróxido de sodio (NaOH) y se disolvieron en agua destilada y se aforó a 50 ml, se calculó una normalidad de 0.28 N
- **Solución indicadora de almidón al 1%:** Se pesaron 0.4671 g de almidón de maíz y se disolvieron en 25 ml de agua, posteriormente en 25 ml de agua caliente, se añadió la solución de almidón de maíz y se dejó en ebullición por 3 minutos, se retiró la solución de calentamiento y se dejó enfriar a temperatura ambiente

Apéndice B.4 Tratamiento de las muestras de suero de leche para la determinación de porcentaje de lactosa

Para la determinación de lactosa, se describe el tratamiento previo de las muestras de suero de leche, indicado en la Norma Mexicana NMX-F-219-1972.

- 1) Pesar 6.264 g de suero de leche líquido y se vertió en un matraz aforado de 250 ml
- 2) Agregar en el matraz 30 ml de agua destilada y se agitó
- 3) Añadir 7.5 ml de solución de Fehling A y posteriormente 5 ml de solución de NaOH 0.28 N
- 4) Aforar con agua destilada a temperatura ambiente ($20^\circ \pm 1^\circ C$), agitar levemente y filtrar con un embudo de vidrio y papel filtro Whatman en un matraz Erlenmeyer de 500 ml

Apéndice B.5 Método (Bligh & Dyer, 1959) para la determinación de lípidos

MÉTODO BLIGH Y DYER

PARA LA PURIFICACIÓN Y EXTRACCIÓN DE LÍPIDOS

INFORMACIÓN GENERAL DEL MÉTODO

Este es un método desarrollado por E.G. Bligh y W.J. Dyer en 1959. Es una forma simple y rápida para la extracción y purificación de lípidos ; es eficiente, reproducible y versátil debido a que mediante este procedimiento se pueden extraer lípidos neutros y polares (Breil *et al.* ,2017).

DESCRIPCIÓN

Para la extracción con este método se utilizan cloroformo, metanol y agua para separar los componentes lipídicos de los no lipídicos (Saini *et al.*, 2021)

METANOL

Es miscible en agua, se emplea para romper las fuerzas electrostáticas que unen a las proteínas y los lípidos mediante enlaces de hidrógeno (Breil *et al.* ,2017).

CO

CLOROFORMO

Es un mediador en la difusión y la transferencia de masa de los lípidos, al no ser miscible en agua, permite la formación de un sistema bifásico (Breil *et al.* ,2017).

ClC(Cl)Cl

En este método de extracción de lípidos, existe la formación de dos capas diferenciadas: la capa superior compuesta por metanol y agua, contiene las sustancias no lipídicas de la muestra, mientras que la capa inferior de cloroformo contiene la fracción lipídica disuelta (Breil *et al.* , 2017).

PROCEDIMIENTO (BLIGH & DYER, 1959).

- Una muestra de 100 g de tejido fresco o congelado se homogeneiza por dos minutos con una mezcla de 100 ml de cloroformo y 200 ml de metanol.
- Luego a la mezcla se le añaden 100 ml de cloroformo, homogeneizar por 30 segundos y seguido se añaden 100 ml de agua destilada y la agitación continúa por 30 segundos.
- La mezcla homogénea se filtra a través de un papel filtro Whatman y un embudo Buchner con filtración al vacío.
- El filtrado se vierte en una probeta graduada de 500 ml y se deja reposar unos minutos para permitir la separación y clarificación de fases.
- Al formarse las dos fases de solvente, se registra el volumen de la capa inferior de cloroformo y se conserva , mientras que la capa superior de metanol se remueve por medio de aspiración.
- Un pequeño volumen de la capa de cloroformo se remueve para asegurar que el metanol sea removido completamente. La capa de cloroformo contiene el lípido purificado.

El procedimiento es aplicado directamente para tejidos que contengan un contenido de agua del 80%, sin embargo cuando una muestra tiene un mayor o menor contenido de agua se necesitan ajustar los volúmenes de los solventes para mantener una proporción antes y después de la dilución de la muestra. Antes de la dilución los volúmenes correspondientes de cloroformo, metanol y agua mantienen una proporción de 1:2:0.8 (v/v/v), después de la dilución los volúmenes se modifican a 2:2:1.8 (v/v/v) respectivamente (Bligh & Dyer, 1959).

VENTAJAS

- Método rápido y eficiente
- Extrae lípidos polares y no polares
- Es reproducible y se adapta al tipo de muestra

DESVENTAJAS

- Utiliza solventes dañinos para la salud del ser humano y para el medioambiente
- Método laborioso
- Contiene un margen de error

CONTENIDO DE LÍPIDOS

Para determinar el contenido de lípidos, se toma una porción del extracto de lípido obtenido y se evapora el solvente en un matraz utilizando baño maria a una temperatura de 40°C-50°C y se deja secar en un desecador (Bligh & Dyer, 1959). Posteriormente se determina el peso seco del extracto lipídico obtenido mediante la ecuación:

$$\text{Lípidos totales} = \frac{(\text{peso de lípido en alícuota}) (\text{volumen de capa de cloroformo})}{\text{volumen de la alícuota}}$$

REFERENCIAS

- Bligh, E. G., & Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. Canadian Journal of Biochemistry and Physiology, 37(8), 911-917.
- Breil, C., Abert Vian, M., Zemb, T., Kunz, W., & Chemat, F. (2017). "Bligh and Dyer" and Folch Methods for Solid-Liquid-Liquid Extraction of Lipids from Microorganisms. Comprehension of Solvation Mechanisms and towards Substitution with Alternative Solvents. International Journal of Molecular Sciences, 18(4), 1-21. doi:https://doi.org/10.3390/ijms18040708
- Saini, R. K., Prasad, P., Shang, X., & Keum, Y. S. (2021). Advances in lipid extraction methods- A review. International Journal of Molecular Science, 22(24). doi:https://doi.org/10.3390/ijms222413643

Apéndice B.6 Cálculo de volúmenes de solventes a utilizar para las muestras de suero de leche para el método de Bligh & Dyer (1959)

Para las muestras de lactosuero se determinó que el contenido de humedad era de 93.87%. Las proporciones de solventes que se consideran para la extracción de lípidos son de 1:2:0.8 (v/v/v) para cloroformo, metanol y agua respectivamente, considerando que el contenido de agua de la muestra sea del 80%. Para una muestra de 10 g que contenga 8 g de agua, le corresponde un volumen de 10 ml de cloroformo y 20 ml de metanol.

En base a estos datos se calculan los volúmenes de solventes a ocupar así como el volumen de muestra que se requiere respecto al contenido de agua del lactosuero. La cantidad de lactosuero que se ocupó fue de 8.5225 g. El cálculo se hizo como sigue:

$$\left(\frac{10 \text{ g de lactosuero}}{93.87\% \text{ contenido de agua}} \right) \left(\frac{80\% \text{ de contenido de agua}}{8 \text{ g de lactosuero}} \right) = 8.5225 \text{ g de lactosuero}$$

Para mantener las proporciones en los volúmenes de solvente, se ocuparon 8.5225 ml de cloroformo y 17.0449 ml de metanol.

Apéndice B.7 Elaboración de la curva patrón para la cuantificación de proteínas

Se realizó una curva patrón utilizando una solución de lactoalbúmina de suero bovina (BSA) con concentración de 1 mg/ml. La solución se preparó pesando 0.01 g de BSA y aforando a 10 ml con agua destilada. Se utilizaron 8 tubos de ensayo en los que se depositaron diferentes volúmenes de solución BSA que iban desde 0 a 1 ml, a continuación se le agregaron volúmenes de agua que fueron de 1 ml a 0 ml como se detalla en la Tabla B.7.1; posteriormente se le agregó a cada tubo 5 ml del reactivo de Lowry, se agitó y se dejó reposar por 15 minutos, pasado el tiempo se preparó reactivo de Folin-Ciocalteu, y se le agregó 0.5 ml a cada tubo, se agitó y se dejó reposar en oscuridad por 30 minutos. Finalmente se leyó la absorbancia de cada tubo en un espectrofotómetro UV-Vis a una longitud de onda de 740 nm y se registraron los datos obtenidos. (Tabla B.7.1).

Tabla B.7.1: Volúmenes para la elaboración de la curva patrón de BSA

Tubo	BSA (μl)	Agua (μl)	Lowry (ml)	Folin (μl)	Absorbancia (740nm)
1	0	1000	5	500	0
2	50	950	5	500	0.135
3	100	900	5	500	0.273
4	200	800	5	500	0.426
5	400	600	5	500	0.667
6	600	400	5	500	0.851
7	800	200	5	500	0.939
8	1000	0	5	500	1.270

Se registraron los valores de absorbancia obtenidos y utilizando el programa Microcal Origin 6.0, se realizó una gráfica de concentración de solución de BSA (μl) vs Absorbancia a una longitud de onda de 740 nm (Figura B.7.2). Se obtuvo una curva patrón con un $R^2 = 0.98387$ y la ecuación lineal $y = 0.00115x + 0.11572$

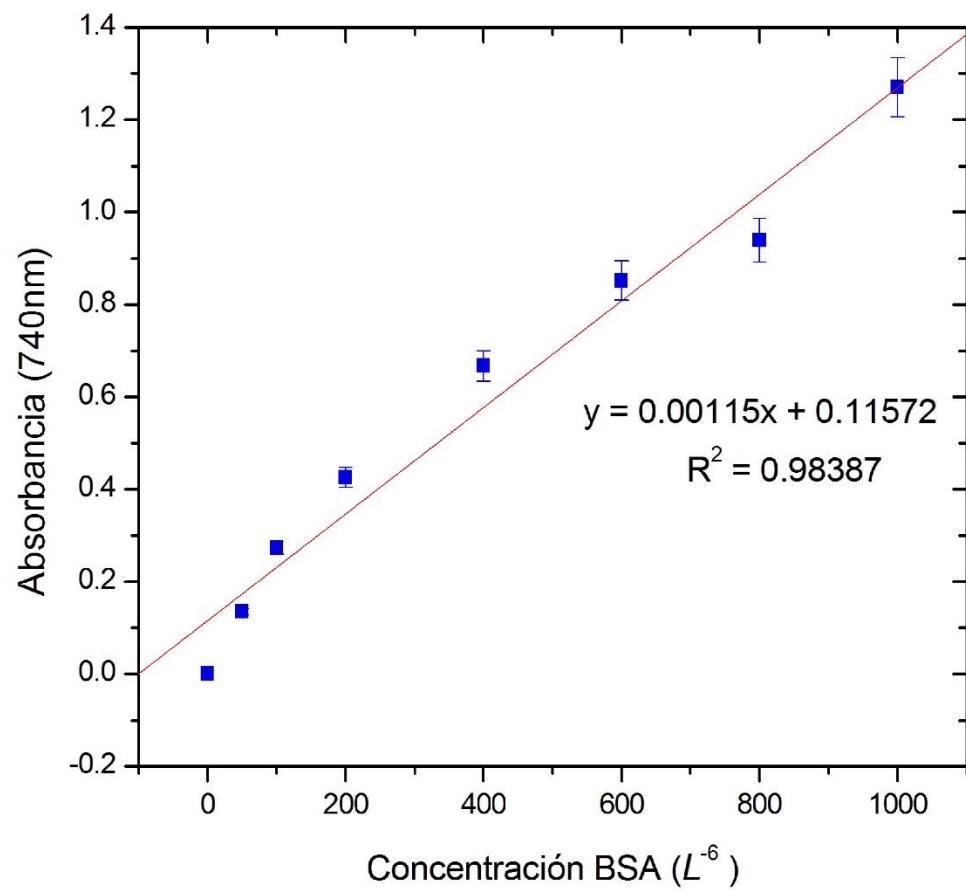


Figura B.7.2: Curva patrón obtenida de las absorbancias vs concentración de BSA 1mg/ml