

Aislamiento y caracterización de bacterias autóctonas de la agroindustria azucarera con capacidad de producción de ácido láctico

Isolation and characterization of autochthonous bacteria from the sugar agroindustry with the capacity for lactic acid production

Jorge Francisco Castillo Martínez¹✉, Francisco Hernández Rosas¹✉, Dora Angélica Ávalos de la Cruz¹✉, Juan Antonio Pérez Sato¹✉, Sergio Valdivia Rivera²✉, Manuel Alejandro Lizardi Jiménez³✉, y Ricardo Hernández Martínez⁴✉

¹ Colegio de Postgraduados Campus Córdoba, Km 348 Carretera Federal Córdoba-Veracruz, Congregación Manuel León, Municipio de Amatlán de los Reyes, Veracruz, México, C.P. 94953.

² SECIHTI-Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIA-TEJ), A. C., subsele Sureste, Parque Científico Tecnológico de Yucatán, Carretera Sierra Papacal-Chuburná Puerto Km 5.5, Yucatán, 97302, Mérida, México.

³ SECIHTI-Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Sierra Leona 550, Lomas 2da Sec. San Luis Potosí, México, C.P. 78210.

⁴ SECIHTI-Colegio de Postgraduados, Campus Córdoba, Km 348, Carretera Federal Córdoba-Veracruz, Congregación Manuel León, Municipio de Amatlán de los Reyes, Veracruz, México, C.P. 94953.

RESUMEN

Existe un creciente interés en el aislamiento de microorganismos adaptados a fuentes de carbono de bajo costo, derivadas de recursos renovables, para la producción sustentable de metabolitos utilizados en diversas industrias. Este enfoque busca reducir la dependencia de materias primas químicas derivadas del petróleo, con alto impacto ambiental. En este contexto, la presente investigación evaluó la adaptación de 11 cepas bacterianas autóctonas del proceso de recuperación de sacarosa a diferentes fuentes de carbono: glucosa, sacarosa (comerciales) y melaza (subproducto renovable), para la producción de ácido láctico. Las cepas fueron caracterizadas mediante métodos macroscópicos y bioquímicos. Dos aislamientos de jugo de caña filtrado (JF3 y JF2) y dos de meladura (ML2 y ML1) demostraron capacidad de producir ácido láctico, lo cual fue respaldado por espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) coincidiendo estrechamente con las bandas (-C=O) 1720 cm^{-1} , (-OH) 1454 cm^{-1} , y (-C-O) 1375 cm^{-1} . La evaluación del efecto del sustrato reveló que la melaza generó los mayores rendimientos: JF3 ($10.40\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$), ML2 (6.82), JF2 (6.39) y ML1 (4.50). JF3 obtuvo la máxima producción en 28 horas. Estos resultados sugieren que las cepas podrían estar adaptadas a la melaza, ya que provienen del proceso de extracción de sacarosa, y la melaza es un recurso renovable prometedor para la producción sustentable de ácido láctico.

Palabras clave: Fermentación, Bacterias ácido lácticas, Fuente de carbono, Melaza, Fuentes renovables.

ABSTRACT

There is growing interest in isolating microorganisms adapted to low-cost carbon sources derived from renewable resources for the sustainable production of metabolites used in various industries. This approach aims to reduce dependence on petroleum-derived chemical feedstocks with high environmental impact. In this context, the present research

evaluated the adaptation of 11 autochthonous bacterial strains from the sucrose recovery process to different carbon sources: glucose, sucrose (commercial) and molasses (renewable by-product), to produce lactic acid. The strains were characterized by macroscopic and biochemical methods. Two isolates from filtered sugarcane juice (JF3 and JF2) and two from molasses (ML2 and ML1), demonstrated the ability to produce lactic acid, which was supported by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) coinciding closely with the bands (-C=O) 1720 cm^{-1} , (-OH) 1454 cm^{-1} , and (-C-O) 1375 cm^{-1} . The evaluation of the substrate effect revealed that molasses obtained the highest production: JF3 ($10.40\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$), ML2 (6.82), JF2 (6.39), and ML1 (4.50). JF3 obtained the highest production in 28 hours. These results suggest that these strains may be adapting to molasses, as they are autochthonous to the sucrose extraction process, and molasses is a promising renewable resource for sustainable lactic acid production.

Keywords: Fermentation, Lactic acid bacteria, Carbon source, Molasses, Renewable sources.

INTRODUCCIÓN

La producción de metabolitos de uso industrial es de interés para las industrias alimentarias, farmacéutica y química debido al incremento en la demanda de productos de base biológica que contribuyan a la sustentabilidad a partir del aprovechamiento de fuentes renovables (Plamada *et al.*, 2024).

El aprovechamiento de fuentes renovables (biomasa y subproductos) representa una alternativa sustentable para la gestión de residuos. Se estima que para 2050 la generación mundial de residuos alcanzará los 3.4 mil millones de toneladas anuales (International Solid Waste Association, ISWA, 2021); su valorización no solo contribuye a reducir la dependencia de fuentes no renovables, sino que también promueve un aprovechamiento eficiente de los recursos al

*Autor para correspondencia: Ricardo Hernández Martínez

Correo-e: odracirhema@gmail.com

Recibido: 5 de septiembre de 2025

Accepted: 23 de febrero de 2026

Published: 15 de abril de 2026

ser utilizados como sustrato en procesos microbianos disminuyendo la contaminación por residuos sólidos (Ramírez-Valencia *et al.*, 2023).

El uso de recursos renovables como sustrato en la fermentación del ácido láctico permite valorizar residuos agroindustriales, reduciendo la contaminación y los costos de producción los cuales dependen principalmente del precio de fuentes de carbono comerciales (glucosa, sacarosa, lactosa y maltosa) que son relativamente costosas, por lo que las industrias están cambiando su enfoque hacia la valorización de sustratos alternativos utilizando procesos microbianos (Krishna *et al.*, 2018).

Este proceso microbiano genera productos ópticamente puros (ácido láctico L-(+) o D-(-)), a diferencia de la síntesis química que produce mezclas racémicas (ácido DL-láctico) que requieren separación generando costos energéticos y depende de subproductos petroquímicos. Por ello se prefiere la producción microbiana para la obtención de ácido láctico, ya que aporta beneficios económicos y ambientales (Díaz-Orozco *et al.*, 2025).

El ácido láctico (2-hidroxipropanoico) es un metabolito con aplicaciones en las industrias química (precursor del ácido poliláctico), cosmética (exfoliante) y alimentaria (acidulante y conservador) (Balasubramanian *et al.*, 2023). Su mercado podría alcanzar los 5.02 mil millones de dólares en 2028, por lo que para suplir la demanda resalta la necesidad de una producción eficiente por vía microbiana, siendo fundamental para alcanzarla una selección adecuada de microorganismos con adaptaciones que les permitan prosperar en diversos entornos metabólicos y utilizar como fuente de carbono diferentes subproductos (Agrawal y Kumar, 2022; Rachwał y Gustaw, 2024).

Las cepas utilizadas en la selección de inóculos pueden tener orígenes diversos; sin embargo, en la mayoría de los estudios, aquellas de origen autóctono suelen proporcionar ventajas al estar previamente adaptadas al ambiente en el que serán inoculadas obteniendo una mayor producción de metabolitos (Carvalho *et al.*, 2020; Gu *et al.*, 2024).

Para evaluar la adaptación de cepas microbianas se suelen utilizar parámetros tales como producción de metabolitos y tiempo de latencia, entre otros (Li *et al.*, 2021).

Debido a lo anterior, la investigación tuvo como objetivo evaluar la adaptación de 11 cepas bacterianas autóctonas del proceso de extracción de sacarosa a diferentes fuentes de carbono (comerciales y subproductos) para la producción sustentable de ácido láctico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Aislamiento y conservación de material biológico

Las cepas bacterianas fueron aisladas tomando muestras en diferentes etapas del proceso de extracción de sacarosa (Figura 1) de dos ingenios azucareros de la región Córdoba-Golfo, Veracruz, México. Las muestras fueron trasladadas en frío (4°C), para el aislamiento se sembraron muestras diluidas (10^{-1} , 10^{-3} y 10^{-5}) en placas que contenían (g/L): agar de Man, Rogosa y Sharpe (MRS) (Difco™) (55) y fueron mantenidas a 37 °C durante 48 h. El procedimiento fue repetido hasta que se obtuvieron aislamientos puros que fueron verificados mediante tinción de Gram (Govindaraj *et al.*, 2021). Los microorganismos aislados fueron conservados en glicerol (Hycel™) al 30 % y 50 % (v/v) y fueron almacenados a 4 °C y -20 °C, hasta su uso (Vega-Vidaurri *et al.*, 2022).

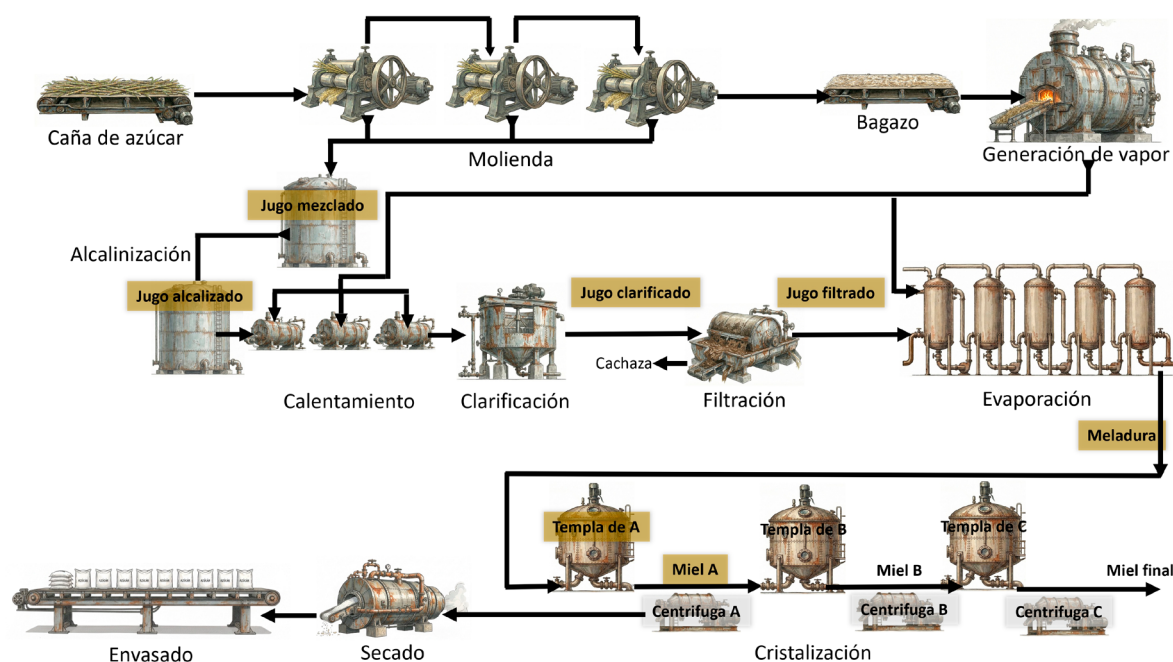


Figura 1. Diagrama de proceso de la producción de sacarosa.

Figure 1. Process diagram of sucrose production.

Caracterización morfológica y bioquímica de aislamientos bacterianos

Las cepas aisladas fueron caracterizadas macroscópicamente mediante la observación morfológica (forma, color, bordes y elevación) y microscópicamente realizando tinción de Gram (Sharma *et al.*, 2023).

Además, se realizaron caracterizaciones bioquímicas (catalasa, oxidasa y Hugh Leifson) (Figura 2). La actividad catalasa fue evaluada adicionando una gota de H_2O_2 al 3.5 % (Alcomex™) a un portaobjetos con un frotis bacteriano, donde la presencia de burbujas es indicativa de un resultado positivo (Abidin *et al.*, 2024).

La prueba de oxidasa se realizó colocando un frotis de los aislamientos sobre tiras reactivas (Bactident™). Un resultado positivo es indicado por un cambio de coloración de azul a violeta en la zona reactiva (Jostasie *et al.*, 2024).

Asimismo, se determinó la capacidad de los aislamientos para fermentar glucosa y sacarosa mediante el método de Hugh-Leifson. Se preparó medio de Hugh-Leifson que contenía (g/L): peptona de caseína (BD Bioxon™) (2), extracto de levadura (BD Bioxon™) (1), cloruro de sodio (J.T Baker™) (5), fosfato dipotásico (Fermont™) (0.3), azul bromotimol (Merck™) (0.08), agar (BD Bioxon™) (2.5), glucosa (Meyer™) (10). La prueba se realizó inoculando las cepas por picadura en tubos que contenían 8 mL de medio Hugh-Leifson estéril. Para asegurar anaerobiosis se realizó la prueba en presencia de 1 mL de parafina líquida (Merck™) en un tubo cerrado, mientras que también se realizó en un tubo abierto. El resultado se interpreta por un cambio de color de verde a amarillo en condiciones aeróbicas, indicando metabolismo oxidativo, mientras que, en condiciones anaeróbicas es indicativo de metabolismo fermentativo, y al reaccionar en ambos, indica un metabolismo anaerobio facultativo (Kumar *et al.*, 2022).

Inóculo

Cada cepa aislada se activó en tubos inclinados que contenían (g/L): agar MRS (Difco™) (55) y se mantuvo a 37 °C durante 24 h. Las cepas reactivadas se inocularon en matraces Erlenmeyer de 250 mL conteniendo 100 mL de medio compuesto por (g/L): caldo MRS (Difco™) (55). Los matraces se incubaron a 37 °C en una incubadora (Binder™ Modelo:9010-0164) durante 24 h a 150 rpm; la biomasa producida se consideró como inóculo (Gayosso-Sanchez *et al.*, 2024).

Cultivo en medio líquido para la producción de ácido láctico

La producción de ácido láctico se llevó a cabo en un sistema que consistió en recipientes de vidrio de 110 mL de geometría cilíndrica uniforme (diámetro 5.5 cm, altura 4.6 cm, operados al 70 %) que contenían (g/L): peptona (Hycel™) (5), $CaCO_3$ (Productos Químicos Monterrey™) (4), extracto de levadura (BD Bioxon™) (0.5) y como fuentes de carbono independientes para cada tratamiento glucosa (Meyer™) (20), sacarosa (BD Bioxon™) (20) y melaza obtenida del proceso de recuperación de sacarosa (20). La biomasa del inóculo se cosechó con 5 mL de Tween 80 (Hycel™) estéril al 0.01 % y el sistema se inoculó ajustando a 1×10^6 unidades formadoras de colonias UFC/mL. El cultivo se mantuvo a 150 rpm y 37 °C durante 48 h. Se evaluó el efecto de la fuente de carbono (glucosa (Meyer™), sacarosa (BD Bioxon™) y melaza obtenida del proceso de recuperación de sacarosa con una composición de (%): sacarosa (38.1), fructosa (8.45), glucosa (7.5), ceniza (5.35), aminoácidos (2), otros carbohidratos (21.05) y humedad (17.55)) sobre la producción de ácido láctico utilizando un diseño completamente al azar unifactorial y en intervalos de 4 h se cuantificó por triplicado la concentración de células/mL, concentración de ácidos orgánicos, ácido láctico, pH y azúcares reductores (Rodríguez-Rojas *et al.*, 2016; Cárdenas *et al.*, 2018; Khairul *et al.*, 2022).

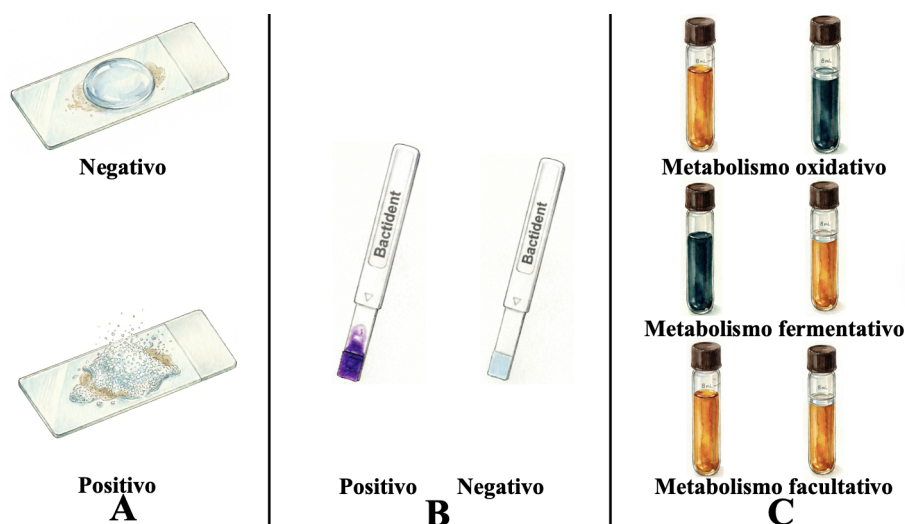


Figura 2. Ensayos bioquímicos. A) Prueba de catalasa, B) Prueba de oxidasa, C) Fermentación de azúcares (glucosa y sacarosa).

Figure 2. Biochemical tests. A) Catalase test, B) Oxidase test, C) Fermentation of sugars (glucose and sucrose).

Modelación del crecimiento celular vía parámetros de Gompertz

El crecimiento celular fue determinado mediante el uso de una cámara de Neubauer, siguiendo el método descrito por David *et al.* (2022). Se utilizó el modelo de Gompertz como método de ajuste (Ecuación 1) donde la respuesta microbiana en función del tiempo se representa como y (ln Células/L), se evaluaron parámetros clave del crecimiento, incluyendo la tasa máxima de crecimiento específica (μ_{max} (h⁻¹)) (Ecuación 2), la fase lag (λ (h)) (Ecuación 3) y el tiempo de inflexión (t_i (h)) (Ecuación 4), los parámetros biológicos se describen mediante los términos matemáticos a (capacidad de carga de biomasa del sustrato), b (dinámica de aceleración) y c (adaptabilidad inicial) (Lizardi-Jiménez *et al.*, 2019).

$$y = ae^{-(b-ct)} \quad (\text{Ecuación 1})$$

μ_{max} , λ y t_i se determinaron utilizando las ecuaciones 2, 3 y 4 respectivamente:

$$\mu_{max} = ac/e \quad (\text{Ecuación 2})$$

$$\lambda = (b-1)/c \quad (\text{Ecuación 3})$$

$$t_i = b/c \quad (\text{Ecuación 4})$$

Cuantificación de ácido láctico

El ácido láctico fue determinado utilizando el método espectrofotométrico reportado por Borshchevskaya (2016). Para lo cual se tomaron alícuotas de 50 μ L del cultivo fermentado, las cuales se añadieron a 2 mL de FeCl₃ (Fermont™) al 0.2 % m/v, la absorbancia fue determinada a 390 nm utilizando un espectrofotómetro tipo UV-visible (Thermo Scientific™ Modelo: Genesys 10uv). La concentración se determinó con una curva patrón de ácido láctico construida por este método con un estándar comercial (ácido láctico Meyer™ 85 % A.C.S.) (Ngouénam *et al.*, 2024).

Cuantificación de ácidos orgánicos

Se realizó una cuantificación de ácidos orgánicos utilizando el método de acidez titulable total reportado por Nielsen, (2024), donde la concentración de ácidos orgánicos fue calculada usando la Ecuación 5

$$AL \left(\frac{g}{L} \right) = \frac{V_1 \cdot C \cdot 100}{V_2 \cdot Meq} \quad (\text{Ecuación 5})$$

Donde: V_1 es el gasto de NaOH (mL); V_2 es el volumen de muestra (mL); C es la concentración de NaOH, Meq es el miliequivalente del ácido láctico y AL es la concentración de ácidos orgánicos.

Determinación de azúcares reductores

Los azúcares reductores fueron cuantificados utilizando el método reportado por Miller (1959), con las siguientes modificaciones: se preparó el reactivo DNS añadiendo (g/L) hidróxido de sodio (Macron™) (16), tartrato de sodio y potasio tetrahidratado (J.T. Baker™) (300), y ácido 3,5-dinitrosalicílico (Sigma-Aldrich™) (10). La determinación se realizó en oscu-

ridad mezclando 1 mL de reactivo DNS a un tubo de ensayo que contenía 1 mL de muestra. Como control se empleó agua destilada. La mezcla fue mantenida en baño maría a 100 °C durante 15 min y posteriormente enfriada en un baño de agua con hielo por 15 min. Finalmente, se añadieron 5 mL de agua desionizada a cada tubo, y la absorbancia fue determinada a 575 nm en un espectrofotómetro (Thermo Scientific™ Modelo: Genesys 10uv). La concentración de azúcares reductores fue determinada con una curva estándar de glucosa (Meyer™) (rango de concentración: 0.166 - 10.63 g/L).

Caracterización por FTIR

El cultivo fermentado de cada aislamiento se centrifugó y se recuperó el sobrenadante el cual fue caracterizado por espectroscopia infrarroja (FT-IR) con un espectrofotómetro infrarrojo (Bruker™ Modelo: Vertex 70) con el que se realizó un barrido en la región (4000 - 400 cm⁻¹) y se comparó con un estándar comercial (ácido láctico Meyer™ 85 % A.C.S.). Los espectros resultantes se analizaron con el programa Origin™ 6.1 (Kumar *et al.*, 2022).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Aislamiento y conservación de material biológico

Un total de 11 cepas bacterianas puras fueron aisladas a partir de muestras recolectadas en diferentes etapas del proceso de extracción de sacarosa de dos ingenios azucareros de la región Córdoba-Golfo, Veracruz, México (Figura 1). De estas, cuatro se aislaron del jugo filtrado (etiquetadas como JF1, JF2, JF3 y JF4), dos de la meladura (etiquetadas como ML1 y ML2), una de la miel A (etiquetada como MA1), una del jugo mezclado (etiquetada como JM1), una del jugo alcalizado (etiquetada como JA1), una de la temple de A (etiquetada como TA1) y una del jugo clarificado (etiquetada como JC1). Todas las cepas aisladas crecieron en medio MRS.

Caracterización de aislamientos bacterianos

Los resultados de la caracterización (tinción Gram positiva, actividad catalasa negativa y ausencia de la enzima citocromo oxidasa) de los aislamientos bacterianos que se muestran en la Tabla 1, indicaron que los aislados etiquetados como JF2, ML1, ML2 y JF3 tenían características representativas del grupo de las bacterias ácido-lácticas (Meruvu y Harsa, 2022).

Por otro lado, las pruebas de Hugh-Leifson indicaron que estos aislamientos tienen la capacidad de fermentar la glucosa y sacarosa a través de un metabolismo anaerobio facultativo. Estos resultados son indicativos de que pueden tratarse de bacterias ácido-lácticas, ya que en la literatura se indica que este tipo de bacterias son anaerobias facultativas (Sivani *et al.*, 2023).

En condiciones anaerobias estrictas, las bacterias ácido-lácticas realizan la fermentación láctica, cuyo producto principal es el lactato (Rosenbaum *et al.*, 2021). En este proceso, la glucosa es metabolizada a través de la vía glucolítica para generar piruvato, el cual es posteriormente reducido a lactato por la enzima lactato deshidrogenasa (Kang *et al.*, 2024). Este mecanismo es característico de las bacterias homofer-

Tabla 1. Características bioquímicas de los aislamientos autóctonos de la agroindustria azucarera.

Table 1. Biochemical characteristics of native isolates of the sugar agroindustry.

Aislamiento bacteriano	Característica				
	Catalasa	Oxidasa	HL-G	HL-S	Tinción de Gram
JF2	-	-	AF	AF	+
ML1	-	-	AF	AE	+
MA1	+	-	AF	AE	+
ML2	-	-	AF	AF	+
JM1	+	-	AF	AF	-
JF3	-	-	AF	AF	+
JA1	-	-	AF	AF	-
JF1	-	+	AF	AF	+
JF4	-	+	AF	AF	-
TA1	+	-	AF	AF	+
JC1	-	+	O	AE	+

HL-G=Prueba de Hugh-Leifson con glucosa; HL-S=Prueba de Hugh-Leifson con sacarosa; AF=Anaerobio facultativo; AE=Anaerobio estricto; O=Oxidativo; - = Resultado negativo; +=Resultado positivo.

mentativas, que convierten los azúcares casi exclusivamente en lactato a diferencia de las bacterias heterofermentativas que además de ácido láctico producen etanol, ácido acético y CO₂ (Stephen y Saleh, 2023).

En contraste, cuando presentan condiciones facultativas, las bacterias ácido-lácticas pueden sobrevivir y crecer en presencia de oxígeno, a pesar de que su metabolismo principal se lleva a cabo en condiciones anaerobias, al exponerse al oxígeno, pueden cambiar su metabolismo, utilizando rutas que no están activas en condiciones anaeróbicas (Pinillos-Miñano *et al.*, 2022). Por ejemplo, la producción de lactato puede seguir ocurriendo, pero el balance de productos se ve modificado ya que el acetato reemplaza al lactato como el principal producto final de la fermentación de glucosa, por lo que en procesos de producción de ácido láctico es conveniente utilizar bacterias homofermentativas y establecer condiciones anaeróbicas para favorecer la producción de lactato, el cual es el precursor del ácido láctico (Bryukhanov *et al.*, 2022; Rao *et al.*, 2023).

Los resultados de la caracterización morfológica (colonias circulares de color blanco, con margen entero y elevación convexa) (Figura 3) de los aislamientos JF2, ML1, ML2 y JF3 revelaron que coincidían con las características correspondientes al grupo de bacterias ácido-lácticas (Abidin *et al.*, 2024).

Con el objetivo de evaluar el efecto de la fuente de carbono sobre la producción de ácido láctico, los aislamientos JF2, ML1, ML2 y JF3 fueron seleccionados preliminarmente debido a que cumplen con las características representativas de este grupo de bacterias.

Evaluación del efecto de la fuente de carbono sobre la producción de ácido láctico

La evaluación de diversas fuentes de carbono comerciales (glucosa Meyer™ grado reactivo, sacarosa BD Bioxon™ grado

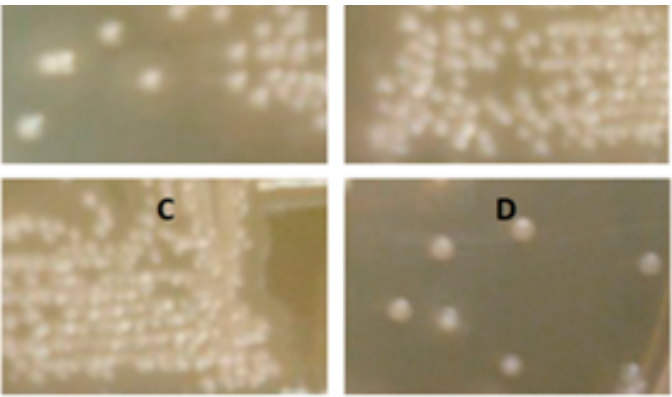


Figura 3. Caracterización morfológica de cepas bacterianas. A) Cepa JF2, B) Cepa ML1, C) Cepa ML2, D) Cepa JF3.

Figure 3. Morphological characterization of bacterial strains. A) JF2 strain, b) ML1 strain, C) ML2 strain, d) JF3 strain.

reactivo) y subproductos (melaza obtenida del proceso de extracción de sacarosa) en la producción de ácido láctico permitió evidenciar un efecto significativo de la fuente de carbono en la producción de este metabolito. Se observó que al utilizar melaza se obtuvo la mayor producción de ácido láctico (g/L) en los aislamientos JF3 (10.40), ML2 (6.82), JF2 (6.39) y ML1 (4.50) posiblemente debido a que son nativos de la agroindustria azucarera; en investigaciones similares se ha utilizado melaza de caña de azúcar como fuente de carbono alcanzando producciones máximas de ácido láctico (g/L) de 52.4 y 14.2 al utilizar *Limosilactobacillus fermentum* y *Kosakonia cowanii*, así como también, pretratamientos en la melaza y estrategias de optimización numérica como los diseños de Box-Behnken y de compuestos centrales (Figura 4) (Mabia *et al.*, 2025; Salatein *et al.*, 2025).

La producción de metabolitos, como el ácido láctico, es influenciada por la fuente de carbono utilizada, constituyendo un factor determinante en el rendimiento del proceso (Castro *et al.*, 2018). No obstante, dicho proceso suele requerir fuentes de carbono relativamente costosas, como glucosa, sacarosa, lactosa y maltosa, lo que resalta la necesidad de investigar sustratos alternativos más económicos para su producción (Krishna *et al.*, 2018).

Se ha reportado que es posible producir de manera eficiente ácido láctico a partir de varios sustratos alternativos como fuente de carbono tales como: periódico hidrolizado, suero, bagazo de yuca, almidón, jugo de sorgo dulce y biomasa lignocelulósica (Abedi y Hashemi, 2020). Por lo que explorar la búsqueda de microorganismos adaptaciones evolutivas para utilizar fuentes de carbono alternativas como la melaza para la producción de ácido láctico es de interés (Alrefaey *et al.*, 2020).

La Figura 4 muestra que el aislamiento JF3 produjo los mejores resultados en la producción de ácido láctico 10.4 g/L a las 28 horas utilizando melaza, probablemente debido a la adaptación evolutiva a las fuentes de carbono del proceso industrial de obtención de sacarosa de donde fue aislada. De acuerdo con Agrawal y Kumar (2022), la evolución adaptativa en los microorganismos es fundamental, dado que permite

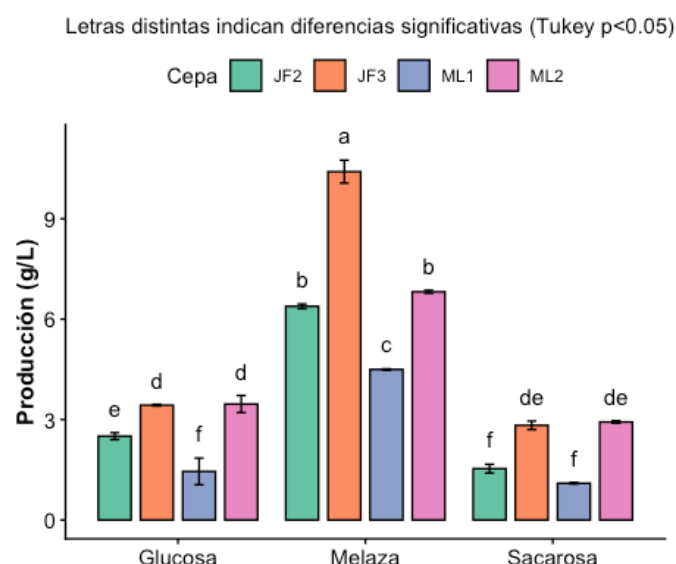


Figura 4. Efecto de la fuente de carbono sobre la producción de ácido láctico (Letras distintas indican diferencias significativas (Tukey $p < 0.05$), barras de error indican error estándar).

Figure 4. Effect of carbon source on lactic acid production (Distinct letters indicate significant differences (Tukey $p < 0.05$), Error bars indicate standard error).

que los microorganismos logren prosperar en distintos entornos metabólicos.

Una de las ventajas de la evolución adaptativa es la adaptación a diferentes entornos metabólicos como por ejemplo, el uso de sustratos no preferidos (Tan *et al.*, 2022). Además, las mejoras en el rendimiento de las cepas causadas por la adaptación son a largo plazo e invariables ya que la estabilidad a largo plazo suele estar causada por la mutación genética y estos rasgos producidos por la adaptación de los microorganismos pueden heredarse de manera perdurable durante varias generaciones (Bagamery *et al.*, 2020; Lee *et al.*, 2020).

Estos resultados evidenciaron la posible adaptación al sustrato (melaza) que tienen las cepas al ser autóctonas de la agroindustria azucarera.

Modelación del crecimiento celular vía parámetros de Gompertz

Los datos de crecimiento celular de las cepas bacterianas seleccionadas fueron ajustados al modelo de Gompertz con el objetivo de complementar los criterios de selección de bacterias y fuente de carbono utilizando parámetros cinéticos de crecimiento, ya que de acuerdo con lo reportado por Montesdeoca-Tacoronte (2020), este modelo se emplea para analizar la respuesta microbiana en función del tiempo y la producción de metabolitos, describiendo la cinética de crecimiento con un mínimo de parámetros, sin considerar el consumo de sustrato.

Los parámetros obtenidos al ajustar el crecimiento celular al modelo de Gompertz se presentan en la Tabla 2.

Los resultados mostraron que ML1 presentó la mayor tasa de crecimiento específico (μ_{max}) en melaza (4.6904 h^{-1}),

Tabla 2. Parámetros cinéticos obtenidos con el modelo de Gompertz.
Table 2. Kinetic parameters obtained with the Gompertz model.

Fuente de carbono	Parámetro estimado				
	$\mu_{max} (\text{h}^{-1})$	$\lambda (\text{h})$	$Ti (\text{h})$	R^2	RMLA(g/L)
JF2					
Glucosa	2.5751	0.4	1.4	0.9990	2.50 ± 0.10
Sacarosa	2.5751	0.4	1.4	0.9973	1.53 ± 0.12
Melaza	2.5162	1.6666	2.77	0.9968	6.39 ± 0.07
ML1					
Glucosa	2.5751	0.3000	1.3	0.9996	1.45 ± 0.39
Sacarosa	2.7590	2.8666	3.53	0.9563	1.10 ± 0.02
Melaza	4.6904	2.6666	3.33	0.9966	4.50 ± 0.01
ML2					
Glucosa	2.6855	1	2	0.9994	3.46 ± 0.25
Sacarosa	2.7223	2.2	3.2	0.9856	2.93 ± 0.03
Melaza	2.7223	1	2.72	0.9985	6.82 ± 0.04
JF3					
Glucosa	2.7590	1	2	0.9983	3.43 ± 0.02
Sacarosa	1.5450	0.8333	2.5	0.9871	2.83 ± 0.12
Melaza	1.6333	0.8333	2.5	0.9918	10.40 ± 0.34

RMLA (g/L)= Rendimiento máximo de ácido láctico; $\mu_{max} (\text{h}^{-1})$ = Tasa específica de crecimiento máximo; R^2 = Coeficiente de determinación; $\lambda (\text{h})$ = Fase lag; $\pm$ Error estándar.

seguida de ML2 (2.7223 h^{-1}), JF2 (2.5162 h^{-1}) y JF3 (1.6333 h^{-1}). Por otro lado la fase de latencia en melaza de JF3 fue la más corta (0.8333 h), seguida de ML2 (1 h), JF2 (1.66 h) y ML1 (2.66 h). Se analizó que la cepa que tuvo la fase de latencia más corta en melaza (JF3 $\lambda=0.8333 \text{ h}$) fue la que tuvo la mayor producción de ácido láctico (10.40 g/L), investigaciones similares utilizando melaza como fuente de carbono complementaria y *Lactiplantibacillus pentosus*, reportan fases de latencia ($0-8 \text{ h}$) además de efectos inhibitorios al agregar más del 3 % de melaza al medio de cultivo (Chen *et al.*, 2025). De acuerdo con Popova-Krumova *et al.* (2024), una fase lag corta permite a los microorganismos iniciar la producción de ácido láctico más rápidamente, lo que podría mejorar la eficiencia del proceso fermentativo. En este contexto, la corta fase lag observada en JF3 favoreció un comienzo rápido de la fermentación y aprovechamiento de la melaza como sustrato.

Se observó que no hay una correlación significativa ($-0.8934 \text{ p} = 0.1066$) entre la tasa específica de crecimiento máximo y la producción máxima de ácido láctico probablemente debido a que el ácido láctico, aunque es producido en el interior de la célula, es excretado a través de su membrana celular por difusión considerándose un producto extracelular (Ojo y de Smidt, 2023).

Los productos extracelulares son excretados sin necesidad de una disrupción celular, su producción es influenciada por factores de tipo ambiental (temperatura, el pH y nutrientes) por lo que no se relacionan directamente con la producción de biomasa, a diferencia de los metabolitos intracelulares cuya cuantificación y uso requieren la ruptura celular, estando estrechamente vinculados al crecimiento celular (Mora-Villalobos *et al.*, 2020).

Producción de ácido láctico y ácidos orgánicos

Se determinó la cinética de la fermentación para visualizar el comportamiento de la cepa más productiva (JF3 en melaza) en términos de producción, crecimiento y consumo de azúcares a través del tiempo. Como se muestra en la Figura 5B, y derivado de la información obtenida con el modelo de Gompertz, se estima que la cepa JF3 alcanzó la fase lag a las 0.8333 h, posteriormente a las 2.5 h llegó al tiempo de inflexión (T_i) en donde la máxima aceleración del crecimiento microbiano ocurrió, seguido de una marcada disminución en la concentración de biomasa entre las 16 y 20 h, Figura 5A.

La tendencia de disminución de biomasa ocurrida entre las 16 y 20 h se puede explicar incluyendo la posibilidad de un metabolismo endógeno en la cepa JF3. De acuerdo con Monteagudo *et al.* (1997), en el metabolismo endógeno, las bacterias utilizan sus propias reservas de nutrientes y compuestos celulares para obtener energía y mantenerse activos en condiciones de escasez de sustratos externos. Este fenó-

meno ocurre cuando los nutrientes disponibles en el medio se agotan, lo que obliga a la bacteria a degradar sus propias macromoléculas para sobrevivir.

La tendencia anterior en la disminución de biomasa coincide con el comportamiento de los azúcares reductores, ya a partir de las 12 h se observa una marcada disminución en la concentración de azúcares reductores alcanzando la concentración más baja a las 20 h, seguido de un incremento entre las 20 y 24 h debido a la posible hidrólisis de los disacáridos presentes en la melaza. Cuando se utiliza como fuente de carbono melaza, esta contiene algunos disacáridos que las bacterias hidrolizan liberando azúcares simples y posteriormente los asimilan observándose una disminución en los mismos (Felis y Dellaglio, 2007).

Como se observa en la Figura 5A, la mayor concentración de ácido láctico (10.4 g.L^{-1}) calculada por el método espectrofotométrico se obtuvo a las 28 h y de ácidos orgánicos (18.14 g.L^{-1}) cuantificados por el método de acidez total titulable

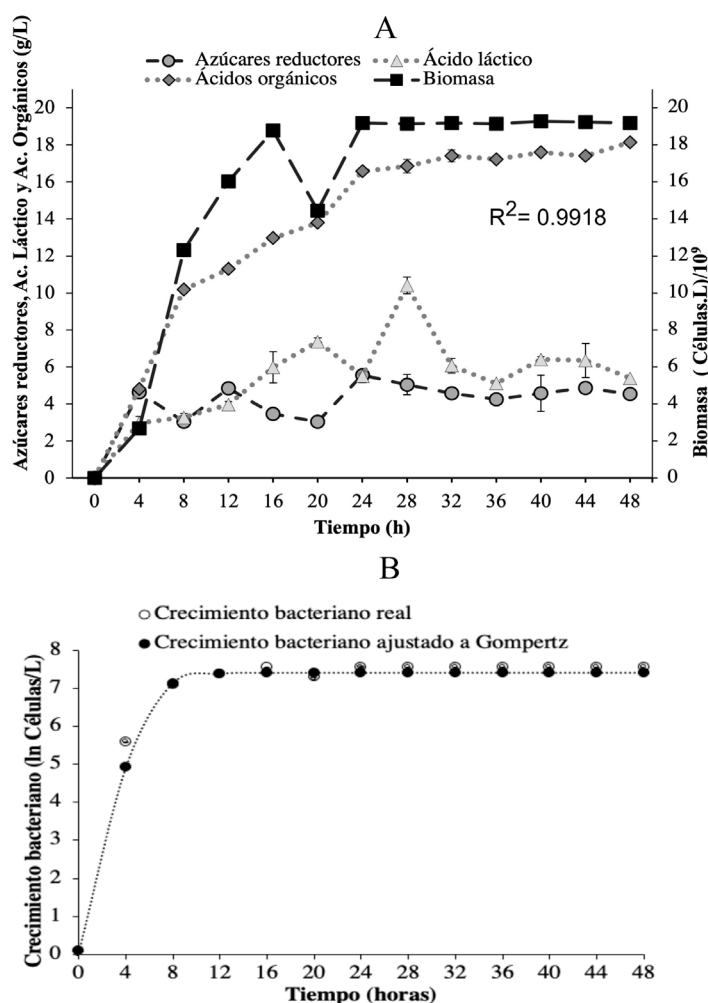


Figura 5. A) Cinética de producción de ácido láctico y ácidos orgánicos durante 48 h de fermentación sumergida por el aislamiento bacteriano JF3 utilizando melaza. B) Modelación del crecimiento celular de JF3 vía parámetros de Gompertz (Barras de error indican error estándar).

Figure 5. A) Kinetics of lactic acid and organic acid production during 48 h of fermentation submerged by the bacterial isolate JF3 using molasses. B) Modeling of JF3 cell growth via Gompertz parameters (Error bars indicate standard error).

se obtuvo a las 48 h. Se observó que existe una diferencia significativa en la producción de ambos metabolitos, siendo mayor la producción de ácidos orgánicos totales que de ácido láctico, por lo que se corroboró el metabolismo facultativo de la cepa JF3, ya que en las bacterias ácido lácticas al estar en presencia de oxígeno se activan rutas metabólicas que no están presentes en condiciones de anaerobiosis lo que modifica el balance de productos y el ácido acético reemplaza al ácido láctico como producto principal (Giacon *et al.*, 2022; Rao *et al.*, 2023).

Por otra parte, se observó una relación directa entre la producción de ácidos orgánicos y el pH. Las condiciones de pH para la fermentación de la cepa JF3 se ajustaron a pH de 7 al iniciar la fermentación disminuyendo a pH de 4.62 a las 48 h debido a la producción de ácidos orgánicos. La producción y acumulación de ácido láctico puede producirse en un entorno ácido con un pH menor a 4 (Saboya y Serrato, 2024).

De acuerdo con Escobar *et al.* (2020), esta disminución de pH muestra un estado metabólico activo en las bacterias ácido lácticas. El valor del pH desempeña un papel crucial en la hidrólisis, la acidogénesis, además la producción de ácido láctico puede variar en función del pH inicial, así como del tipo y la concentración del sustrato, el pH más adecuado para la fermentación láctica suele estar entre 5.0 y 6.0 (Pau *et al.*, 2021).

El rendimiento teórico de la producción de ácido láctico fue calculado a partir de la composición de la melaza (%): sacarosa (38.1), fructosa (8.45) y glucosa (7.5) reportada por Khairul *et al.* (2022), obteniendo un rendimiento de conversión de carbono contenido en azúcares fermentables (sacarosa, glucosa y fructosa) de 23%. A pesar de que la máxima producción de la cepa JF3 (10.4 g/L) se encuentra por debajo a lo reportado en otras investigaciones al utilizar melaza (36.79 g/L), donde se optimizó la producción aplicando la metodología de superficie de respuesta y pretratando la melaza con EDTA (Abdel-Rahman *et al.*, 2020); (83 g/L), donde se pretrató la melaza para eliminar compuestos inhibitorios y se controló el pH a 6.5 durante la fermentación (Vidra *et al.*, 2017); y (112.34 g/L), donde se utilizó un consorcio microbiano para la fermentación y licor de maíz en polvo como fuente de nitrógeno (Sun *et al.*, 2019), se resalta la relevancia de la adaptación del microorganismo al sustrato, ya que se evidenció que la cepa JF3, al ser autóctona del proceso de extracción de sacarosa, tuvo un mejor desempeño al utilizar melaza obtenida de la agroindustria cañera con respecto a las otras fuentes de carbono evaluadas (glucosa y sacarosa) grado reactivo.

El azúcar en su forma pura (sacarosa, lactosa y glucosa) es la fuente preferida de carbono, pero su uso resulta costoso, por lo que utilizar microorganismos con adaptaciones que les permitan utilizar fuentes de carbono como la melaza con un mejor desempeño a comparación de los azúcares en su forma pura es relevante para la disminución de costos de producción y así promover la valorización de coproductos y subproductos (Abdel-Rahman *et al.*, 2020; Gali *et al.*, 2021).

Caracterización por FTIR

El ácido láctico producido por la fermentación de las cepas bacterianas (JF3, JF2, ML2 y ML1) fue caracterizado mediante espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR). Los espectros obtenidos del producto de la fermentación láctica de JF3, JF2, ML2 y ML1 fueron comparados con el espectro de un estándar comercial de ácido láctico. Los resultados de la caracterización del ácido láctico por FT-IR se presentan en la Figura 6. Los espectros FT-IR obtenidos evidenciaron que las cuatro cepas bacterianas analizadas tienen la capacidad de producir ácido láctico. Las bandas características de los espectros mostraron que los grupos funcionales ($\text{C}=\text{O}$) 1720 cm^{-1} , (OH) 1454 cm^{-1} , y ($\text{C}-\text{O}$) 1375 cm^{-1} observados para las cuatro cepas bacterianas coincidieron estrechamente con los resultados del estándar comercial de ácido láctico (Păucean *et al.*, 2017; Alwan y Khalaf, 2019).

Se observó que en los espectros obtenidos de la caracterización por FT-IR del ácido láctico producido por las cepas bacterianas (ML2, ML1, JF3 y JF2) se presentaron bandas (región: $1700\text{--}1500\text{ cm}^{-1}$) que no se observan en el estándar de comparación, posiblemente debido a la producción de otros

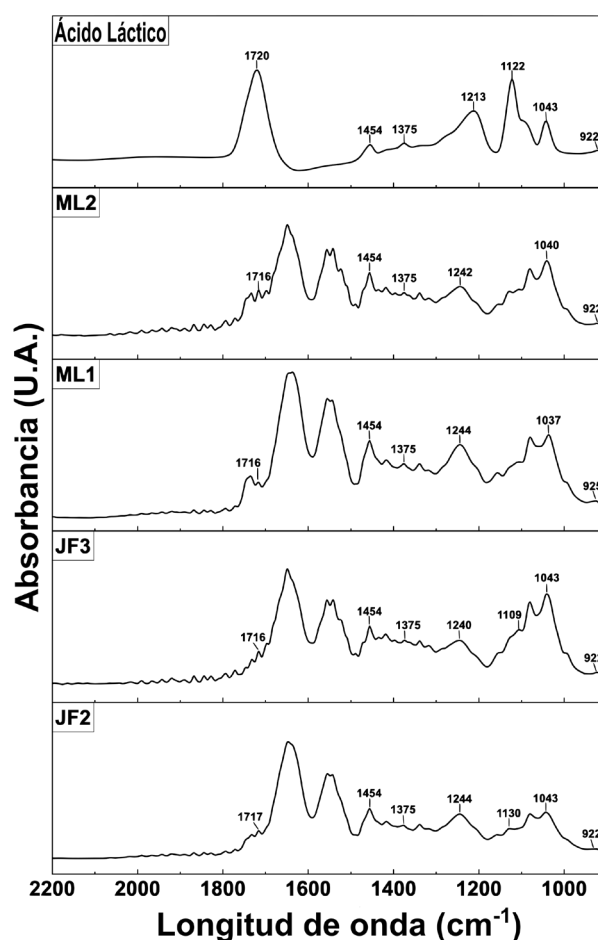


Figura 6. Espectros infrarrojos por transformada de Fourier del ácido láctico producido por las cepas bacterianas aisladas ML2, ML1, JF3 y JF2, y de la referencia comercial de ácido láctico.

Figure 6. Fourier transform infrared spectra of lactic acid produced by bacterial strains ML2, ML1, JF3, JF2 and commercial reference of lactic acid.

ácidos orgánicos como el ácido acético. De acuerdo con Ibrahim y Koglin (2004), la banda característica del espectro infrarrojo del ácido acético corresponde al estiramiento del grupo acetato (-C=O) 1709 cm^{-1} , así como la vibración asimétrica del grupo carboxilato (-COO) $1570\text{-}1590\text{ cm}^{-1}$. Estas bandas coinciden con las que se observan en los espectros de ML2, ML1, JF3 y JF2 (Ibrahim *et al.*, 2005; Pem *et al.*, 2023).

Estos resultados corroboraron la capacidad de las cuatro cepas (JF3, ML2, JF2 y ML1) para la producción de ácido láctico y fueron similares a lo reportado por estudios anteriores (Cuervo-Garcés y Echeverry-Vargas, 2017).

Este estudio evidenció el potencial de cepas bacterianas autóctonas de la agroindustria azucarera para la valorización de subproductos como la melaza; no obstante, los resultados están condicionados por ciertas limitaciones metodológicas. La identificación bacteriana se basó en perfiles bioquímicos, por lo que requiere validación posterior mediante secuenciación del gen 16S rRNA (Ramos *et al.*, 2025). Asimismo, la cuantificación del ácido láctico mediante métodos colorimétricos solo permitió estimar la producción total, sin diferenciar isómeros ópticos, lo cual limita la evaluación de aplicaciones específicas y hace necesario el uso de técnicas analíticas más precisas, como el HPLC (Beitel *et al.*, 2020). Finalmente, el empleo de un sistema de fermentación por lotes con tamponamiento de carbonato de calcio restringe el control de pH y la transferencia de masa, lo que podría subestimar la capacidad productiva de la cepa JF3, potencialmente optimizable en biorreactores controlados de lote alimentado o continuos (Kim *et al.*, 2022).

CONCLUSIONES

Esta investigación logró el aislamiento y la caracterización fenotípica de cuatro cepas bacterianas autóctonas (JF3, ML2, JF2 y ML1) provenientes de las etapas de jugo filtrado y meladura de la agroindustria azucarera. Se demostró que la cepa JF3 posee la mayor capacidad fermentativa entre los aislamientos evaluados, alcanzando una concentración máxima de ácido láctico de 10.40 g/L en 28 h en un sistema de fermentación por lote. El estudio evidenció que la fuente de carbono es un factor determinante en el rendimiento del bioproceso. La melaza de caña resultó ser un sustrato superior a la glucosa y sacarosa comerciales para la cepa JF3, induciendo una fase de latencia significativamente reducida ($\lambda = 0.83\text{ h}$) y un rendimiento de conversión de carbono contenido en azúcares fermentables de 23 %. Estos parámetros cinéticos, modelados mediante la ecuación de Gompertz, evidencian una adaptación metabólica preexistente de la cepa JF3 a las condiciones complejas de la melaza. Finalmente, el análisis por espectroscopía infrarroja (FTIR) validó la identidad química del metabolito, confirmando la presencia de los grupos funcionales característicos del ácido láctico (bandas 1720 cm^{-1} , 1454 cm^{-1} y 1375 cm^{-1}) en el sobrenadante de fermentación, lo que respalda la viabilidad técnica del uso de la cepa autóctona JF3 para la valorización de melazas en la producción de ácido láctico.

AGRADECIMIENTOS

Al SECIHTI mediante el proyecto 331 del programa IxM: Desarrollo de Innovaciones Sustentables en la Agroindustria Azucarera: subproductos y coproductos y por la beca No.1030958.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaramos que no existen conflictos de intereses relacionados con la publicación de este artículo de investigación.

REFERENCIAS

- Abdel-Rahman, M.A., Hassan, S.E., Alrefaey, H.M., El-Belely, E.F., Elsakhawy, T., Fouda, A., Desouky, S.G. y Khattab, S.M. 2020. Subsequent improvement of lactic acid production from beet molasses by *Enterococcus hirae* ds10 using different fermentation strategies. *Bioresource Technology Reports*. 13: 100617. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2020.100617>
- Abedi, E. y Hashemi, S.M.B. 2020. Lactic acid production - producing microorganisms and substrates sources-state of art. *Heliyon*. 6(10): e04974. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04974>
- Abidin, Z., Rusmini, L.M., Hidayat, N., Mentari, S.D., Daryono, D. y Prima, D. 2024. Isolation and characterization of lactic acid bacteria from rice washing water waste. *International Journal of Science Technology & Management*. 5(1): 184–191. <https://doi.org/10.46729/ijstm.v5i1.1031>
- Agrawal, D. y Kumar, V. 2022. Recent progress on sugarcane-bagasse based lactic acid production: Technical advancements, potential and limitations. *Industrial Crops and Products*. 193: 116132. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.116132>
- Alrefaey, H.M.A., Abdel-Rahman, M.A., Hassan, S.E., El-Din, M.N. y Azab, M.S. 2020. Sequential optimization of the fermentation factors with integrating seed culture adaptation for increased biorefinery of beet molasses to lactic acid. *Biomass Conversion and Biorefinery*. 11(3): 1013–1028. <https://doi.org/10.1007/s13399-020-00773-3>
- Alwan, A.F. y Khalaf, H.I. 2019. Synthesis of polylactic acid using Zn powder under microwave irradiation. *IOP Conference Series Materials Science and Engineering*. 571(1): 012085. <https://doi.org/10.1088/1757-899x/571/1/012085>
- Bagamery, L.E., Justman, Q.A., Garner, E.C. y Murray, A.W. 2020. A putative bet-hedging strategy buffers budding yeast against environmental instability. *Current Biology*. 30(23): 4563–4578.e1–e4. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2020.08.092>
- Balasubramanian, V.K., Muthuramalingam, J.B., Chen, Y. y Chou, J. 2023. Recent trends in lactic acid-producing microorganisms through microbial fermentation for the synthesis of polylactic acid. *Archives of Microbiology*. 206(1): <https://doi.org/10.1007/s00203-023-03745-z>
- Beitel, S.M., Coelho, L.F. y Contiero, J. 2020. Efficient conversion of agroindustrial waste into D(-) Lactic acid by *Lactobacillus delbrueckii* using fed-batch fermentation. *BioMed Research International*. 2020(1): 4194052. <https://doi.org/10.1155/2020/4194052>
- Borshchevskaya, L.N., Gordeeva, T.L., Kalinina, A.N. y Sineokii, S.P. 2016. Spectrophotometric determination of lactic acid. *Journal of Analytical Chemistry*. 71(8): 755–758. <https://doi.org/10.1134/s1061934816080037>

- Bryukhanov, A.L., Klimko, A.I., Netrusov, A.I., Pleiades Publishing, Ltd., The Author(s), y Moscow State University, Moscow. 2022. Antioxidant properties of lactic acid bacteria. In *Microbiology* (Vol. 91, Issue 5, pp. 463–478). Pleiades Publishing, Ltd. <https://doi.org/10.1134/S0026261722601439>
- Cárdenas, L.M., Gómez, J.A., Arenas, M. y Serna-Jiménez, J. 2018. Evaluación de melaza como medio de cultivo para la producción de bacterias ácido-lácticas. *UGciencia*. 23: 17–22.
- Carvalho, B., Sales, G., Schwan, R. y Ávila, C. 2020. Criteria for lactic acid bacteria screening to enhance silage quality. *Journal of Applied Microbiology*. 130(2): 341–355. <https://doi.org/10.1111/jam.14833>
- Castro, R., Guerrero-Legarreta, I. y Bórquez, R. 2018. Chitin extraction from *Allopetrolisthes punctatus* crab using lactic fermentation. *Biotechnology Reports*. 20: e00287. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2018.e00287>
- Chen, X., Wei, Z., Feng, Z., Che, Y., Wang, X., Long, H., Cai, X., Ren, W. y Xie, Z. 2025. Large-scale fermentation of *Lactiplantibacillus pentosus* 292 for the production of lactic acid and the storage strategy based on molasses as a preservative. *BMC Microbiology*. 25(1): 125. <https://doi.org/10.1186/s12866-025-03837-4>
- Cuervo-Garcés, L.V. y Echeverry-Vargas, J.C. 2017. Síntesis de ácido poliláctico proveniente del suero de quesería a nivel laboratorio. *Rev. Iberoam. Polímeros y Materiales*. 18(4): 193–214. <https://reviberpol.org/wp-content/uploads/2019/06/2017-18-4-cuervo-y-col.pdf>
- David, A.N., Sewsynker-Sukai, Y. y Kana, E.G. 2022. Co-valorization of corn cobs and dairy wastewater for simultaneous saccharification and lactic acid production: Process optimization and kinetic assessment. *Bioresource Technology*. 348: 126815. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.126815>
- Díaz-Orozco, L., Santillán, M.M., Portales, R.E.D., Rosales-Colunga, L.M., Leyva-Porras, C. y Saavedra-Leos, Z. 2025. Advances in L-lactic acid production from lignocellulose using genetically modified microbial systems. *Polymers*. 17(3): 322. <https://doi.org/10.3390/polym17030322>
- Escobar-Ramírez, M.C., Jaimez-Ordaz, J., Escorza-Iglesias, V.A., Rodríguez-Serrano, G.M., Contreras-López, E., Ramírez-Godínez, J., Castañeda-Ovando, A., Morales-Estrada, A.I., Felix-Reyes, N. y González-Olivares, L.G. 2020. *Lactobacillus pentosus* ABHEAU-05: An in vitro digestion resistant lactic acid bacterium isolated from a traditional fermented Mexican beverage. *Revista Argentina De Microbiología*. 52(4): 305–314. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2019.10.005>
- Felis, G.E. y Dellaglio, F. 2007. Taxonomy of lactobacilli and bifidobacteria. In *Curr. Issues Intestinal Microbiol.* (Vols. 8–8, pp. 44–61). <https://www.caister.com/backlist/ciim/v/v8/05.pdf>
- Gali, K.K., Murugesan, M., Tadi, S.R.R., Mohan, N., Swaminathan, N., Katiyar, V. y Sivaprakasam, S. 2021. Bioprospecting of cassava fibrous waste as a precursor for stereospecific lactic acid production: inhibition insights for value addition and sustainable utilization. *Biomass Conversion and Biorefinery*. 13(3): 2255–2265. <https://doi.org/10.1007/s13399-020-01272-1>
- Gayosso-Sánchez, A., Hernández-Martínez, R., Pacheco-López, N., Herrera-Corredor, J., Valdivia-Rivera, S. y Herrera-Pool, I. 2024. Effect of the carbon-nitrogen ratio on the co-production of polyhydroxyalkanoates and exopolysaccharides by *Enterobacter soli*. *Revista Mexicana De Ingeniería Química*. 23(2): 1–17. <https://doi.org/10.24275/rmiq/bio24211>
- Giacon, T.G., De Gois E Cunha, G.C., Eliodório, K.P., De Souza Oliveira, R.P. y Basso, T.O. 2022. Homo- and heterofermentative lactobacilli are distinctly affected by furanic compounds. *Biotechnology Letters*. 44(12): 1431–1445. <https://doi.org/10.1007/s10529-022-03310-6>
- Govindaraj, K., Samayanpaulraj, V., Narayanadoss, V. y Uthandakalaipandian, R. 2021. Isolation of lactic acid bacteria from intestine of freshwater fishes and elucidation of probiotic potential for aquaculture application. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. 13(6): 1598–1610. <https://doi.org/10.1007/s12602-021-09811-6>
- Gu, Q., Li, Y., Lou, Y., Zhao, Y., Feng, X., Li, P., Laaksonen, O., Yang, B., Capozzi, V. y Liu, S. 2024. Selecting autochthonous lactic acid bacteria for co-inoculation in Chinese bayberry wine production: Stress response, starter cultures application and volatilomic study. *Food Research International*. 178: 113976. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.113976>
- Ibrahim, M. y Koglin, E. 2004. Vibrational spectroscopic study of acetate group. *Acta Chimica Slovenica*. 51: 453–460.
- Ibrahim, M., Nada, A. y Kamal, D.E. 2005. Density functional theory and FTIR spectroscopy study of carboxyl group. *Indian Journal of Pure & Applied Physics*. 43: 911–917. <https://nopr.niscpr.res.in/bitstream/123456789/8906/1/IJPAP%2043%2812%29%20911-917.pdf>
- ISWA. 2021. The future of the waste management sector. Retrieved March 4, 2025, from <https://www.iswa.org/wp-content/uploads/2022/06/ISWA-Digital-Future-of-Waste-Management-Sector.pdf>
- Jostasie, D.K.G., Christelle, A.N.M., Clément, K.K. y Théodore, D.N. 2024. Biomolecular characterization of lactic acid bacteria (lactobacilli and cocci) isolated from nonnonkoumou, a artisanal milk curd in Daloa, Côte D’Ivoire. *Biotechnology Journal International*. 28(1): 9–20. <https://doi.org/10.9734/bji/2024/v28i1710>
- Kang, J.Y., Lee, M., Song, J.H., Choi, E.J., Mun, S.Y., Kim, D., Lim, S.K., Kim, N., Park, B.Y. y Chang, J.Y. 2024. Intracellular pyruvate as one of the major bioactive substances of lactic acid bacteria isolated from kimchi. *Journal of Food Science*. 89(9): 5594–5604. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.17307>
- Khairul, S.M., Mahyudin, N.A., Abas, F., Jamaludin, N. y Rashid, N.K.M.A. 2022. The proximate composition and metabolite profiling of sugarcane (*Saccharum officinarum*) molasses. *Malaysian Applied Biology*. 51(2): 63–68. <https://doi.org/10.55230/mabjournal.v51i2.2259>
- Kim, J., Kim, Y., Lebaka, V.R. y Wee, Y. 2022. Lactic acid for green chemical industry: Recent advances in and future prospects for production technology, recovery, and applications. *Fermentation*. 8(11): 609. <https://doi.org/10.3390/fermentation8110609>
- Krishna, B.S., Gantala, S.S.N., Tarun, B. y K Saibaba, N.V. 2018. Industrial production of lactic acid and its applications. *International Journal of Biotech Research*. 1: 42–54. <https://www.researchgate.net/publication/330292057>
- Krishna, B.S., Nikhilesh, G. S. S., Tarun, B., Saibaba, N., y Gopinadh, R. 2018. Industrial production of lactic acid and its applications. *International Journal of Biotech Research*, 1(1), 42–54. <https://www.researchgate.net/publication/330292057>

- Kumar, B.V., Muthumari, B., Kavitha, M., Kumar, J.K.J.P., Thavamurugan, S., Arun, A. y Basu, M.J. 2022. Studies on optimization of sustainable lactic acid production by *Bacillus amyloliquefaciens* from sugarcane molasses through microbial fermentation. *Sustainability*. 14(12): 7400. <https://doi.org/10.3390/su14127400>
- Kumar, M., Karthika, S., Anjitha, N., Varalakshmi, P. y Ashokkumar, B. 2022. Screening for probiotic attributes of lactic acid bacteria isolated from human milk and evaluation of their anti-diabetic potentials. *Food Biotechnology*. 36(3): 234–265. <https://doi.org/10.1080/08905436.2022.2092494>
- Lee, B., Jeong, S., Jin, S.H., Mishra, R., Peter, M., Lee, C. y Lee, S.S. 2020. Quantitative analysis of yeast MAPK signaling networks and crosstalk using a microfluidic device. *Lab on a Chip*. 20(15): 2646–2655. <https://doi.org/10.1039/d0lc00203h>
- Li, S., Tao, Y., Li, D., Wen, G., Zhou, J., Manickam, S., Han, Y. y Chai, W. S. 2021. Fermentation of blueberry juices using autochthonous lactic acid bacteria isolated from fruit environment: Fermentation characteristics and evolution of phenolic profiles. *Chemosphere*. 276: 130090. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130090>
- Lizardi-Jiménez, M.A., Ricardo-Díaz, J., Quiñones-Muñoz, T.A., Hernández-Rosas, F. y Hernández-Martínez, R. 2019. Fungal strain selection for protease production by solid-state fermentation using agro-industrial waste as substrates. *Chemical Papers*. 73(10): 2603–2610. <https://doi.org/10.1007/s11696-019-00814-w>
- Mabia, A.G., Andrianisa, H.A., Danielli, C., Ouattara, L.Y., Kouadio, N.E., Kouassi, E.K.A., Gardossi, L. y Yao, K.B. 2025. Exploring the synthesis of lactic acid from sugarcane molasses collected in Côte d'Ivoire using *Limosilactobacillus fermentum* ATCC 9338 in a batch fermentation process. *Bioengineering*. 12(8): 817. <https://doi.org/10.3390/bioengineering12080817>
- Medina, J., García, F., Paricaguán, B., Rojas, J., Castro, X. y Lugo, F. 2014. Obtención de ácido láctico por fermentación del mosto del fruto de cují (*Prosopis juliflora*) y su posterior poli-condensación con zinc metálico a poli (ácido láctico) (pla). *Revista Ingeniería UC*. 21(2): 1316–6832. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=70732656007>
- Meruvu, H. y Harsa, S.T. 2022. Lactic acid bacteria: isolation–characterization approaches and industrial applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 63(26): 8337–8356. <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2054936>
- Miller, G.L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*. 31(3): 426–428. <https://doi.org/10.1021/ac60147a030>
- Monteagudo, J.M., Rodríguez, L., Rincón, J. y Fuertes, J. 1997. Kinetics of lactic acid fermentation by *Lactobacillus delbrueckii* grown on beet molasses. *J. Chem. T Ech. Biotechnol*. 68: 271–276. [https://scijournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/\(sici\)1097-4660\(199703\)68:3%3C271::aid-jctb640%3E3.0.co;2-9](https://scijournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/(sici)1097-4660(199703)68:3%3C271::aid-jctb640%3E3.0.co;2-9)
- Montesdeoca-Tacoronte, E.L. 2020. Predictive micology in food industry. In Dr. Fernando Perestelo Rodríguez & Universidad de La Laguna, Máster en Seguridad y Calidad de los Alimentos.
- Mora-Villalobos, J.A., Montero-Zamora, J., Barboza, N., Rojas-Garbanzo, C., Usaga, J., Redondo-Solano, M., Schroedter, L., Olszewska-Widdrat, A. y López-Gómez, J.P. 2020. Multi-product lactic acid bacteria fermentations: A review. *Fermentation*. 6(1): 23. <https://doi.org/10.3390/fermentation6010023>
- Ngouénam, R.J., Nofal, G., Patra, S., Njapndounke, B., Kouam, E.M.F., Kaktcham, P.M. y Ngoufack, F.Z. 2024. Characterization of lactic acid bacteria isolated from rotting oranges and use of agropastoral processing by-products as carbon and nitrogen sources alternative for lactic acid production. *BioMed Research International*. 2024(1). <https://doi.org/10.1155/2024/4264229>
- Nielsen, S.S. 2024. Standard solutions and titratable acidity. In *Food science text series* (pp. 177–182). https://doi.org/10.1007/978-3-031-44970-3_22
- Ojo, A.O. y De Smidt, O. 2023. Lactic acid: A comprehensive review of production to purification. *Processes*. 11(3): 688. <https://doi.org/10.3390/pr11030688>
- Pau, S., Tan, L.C. y Lens, P.N. 2021. Effect of pH on lactic acid fermentation of food waste using different mixed culture inocula. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*. 97(4): 950–961. <https://doi.org/10.1002/jctb.6982>
- Păucean, A., Vodnar, D., Mureșan, V., Fetea, F., Ranga, F., Man, S., Muste, S. y Socaci, C. 2017. Monitoring lactic acid concentrations by infrared spectroscopy: A new developed method for *Lactobacillus* fermenting media with potential food applications. *Acta Alimentaria*. 46(4): 420–427. <https://doi.org/10.1556/066.2017.0003>
- Pem, B., Brkljača, Z., Philippe, A., Schumann, G.E., Vazdar, M. y Bakarić, D. 2023. FTIR spectroscopy and molecular level insight of diluted aqueous solutions of acetic acid. *Spectrochimica Acta Part a Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 302: 123135. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2023.123135>
- Pinillos-Miñano, R.M., Rodríguez-Portilla, L.M.I., Hatta-Sakoda, B.A. y Estela-Escalante, W.D. 2022. Isolation of lactic acid bacteria from the feces of ring-tailed coati (*Nasua nasua*), biochemical and fermentative aspects related to coffee fermentation. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 58(S1): S102–S112. <https://doi.org/10.1134/s0003683822100180>
- Plamada, D., Nemes, A.S., Teleky, B.E., Pascuta, M.S., Odocheanu, R., Mitrea, L., Calinoiu, L.F., Szabo, K. y Vodnar, D.C. 2024. Microbial production of aromatic phenolic compounds. In *Springer eBooks* (pp. 1–24). https://doi.org/10.1007/978-3-030-81403-8_53-1
- Popova-Krumova, P., Danova, S., Atanasova, N. y Yankov, D. 2024. Lactic acid production by *Lactiplantibacillus plantarum* AC 115—Kinetics and modeling. *Microorganisms*. 12(4): 739. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12040739>
- Rachwał, K. y Gustaw, K. 2024. Lactic acid bacteria in sustainable food production. *Sustainability*. 16(8): 3362. <https://doi.org/10.3390/su16083362>
- Ramírez-Valencia, L.D., Moral-Rodríguez, A.I., Carrasco-Marín, F., Pérez-Cadenas, A.F. y Bailón-García, E. 2023. Waste and biomass valorization via its transformation into advanced materials for energy applications. In *Elsevier eBooks* (pp. 275–326). <https://doi.org/10.1016/b978-0-443-21430-1.00011-9>
- Ramos, J.N., Da Costa, L.V., Vieira, V.V. y Brandão, M.L.L. 2025. Challenges in the identification of environmental bacterial isolates from a pharmaceutical industry facility by 16S rRNA gene sequences. *DNA*. 5(3): 33. <https://doi.org/10.3390/dna5030033>

- Rao, N.S., Lundberg, L.E., Tomasson, J., Tullberg, C., Brink, D.P., Palmkron, S.B., Van Niel, E.W.J., Håkansson, S. y Carlquist, M. 2023. Non-inhibitory levels of oxygen during cultivation increase freeze-drying stress tolerance in *Limosilactobacillus reuteri* DSM 17938. *Frontiers in Microbiology*. 14: 1152389. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1152389>
- Rodriguez-Rojas, M.C., Morales-Rodriguez, R. y Rodriguez-Gomez, D. 2016. Producción de ácido láctico a partir de bagazo de caña residual de la industria azucarera. In *Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, Departamento de Ingeniería Química, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato, & Coordinación de Ingeniería Bioquímica, Instituto Tecnológico Superior de Irapuato, Verano De La Investigación Científica* (pp. 1594–1596).
- Rosenbaum, F.P., Poehlein, A., Egelkamp, R., Daniel, R., Harder, S., Schlüter, H. y Schoelmerich, M.C. 2021. Lactate metabolism in strictly anaerobic microorganisms with a soluble NAD⁺-dependent l-lactate dehydrogenase. *Environmental Microbiology*. 23(8): 4661–4672. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.15657>
- Saboya, D.S.P., Lacheros, S. y Serrato, J.C. 2024. Evaluación de la producción de ácido láctico a partir de un clúster de microorganismos nativos de una biorrefinería colombiana. *Revista Colombiana De Biotecnología*: 26(2): 8–20. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v26n2.112366>
- Salatein, N.M., Hassan, R.K., Ibrahim, R.A., Desouky, S.E., El-Belely, E.F., Abdel-Rahman, M.A. y Fahim, I. 2025. Sustainable lactic acid production: Optimization yield from sugarcane and beet molasses through fermentation. *Results in Engineering*. 26: 105161. <https://doi.org/10.1016/j.rineng.2025.105161>
- Sharma, N., Sharma, N., Sharma, S., Sharma, P. y Devi, B. 2023. Identification, morphological, biochemical, and genetic characterization of microorganisms. In *Elsevier eBooks* (pp. 47–84). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-816109-8.00003-9>
- Sivani, K., Geetha, R., Lejaniya, A. y Sathian, C. 2023. Evaluation of the suitability of lactic acid bacterial isolates from natural sources for the preparation of fermented milk. *Taiwanese Journal of Agricultural Chemistry and Food Science*. 61(3): 137–152. [https://doi.org/10.6578/TJACFS.202309_61\(3\).0004](https://doi.org/10.6578/TJACFS.202309_61(3).0004)
- Stephen, J.M. y Saleh, A.M. 2023. Homofermentative Lactobacilli isolated from organic sources exhibit potential ability of lactic acid production. *Frontiers in Microbiology*. 14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1297036>
- Sun, Y., Xu, Z., Zheng, Y., Zhou, J. y Xiu, Z. 2019. Efficient production of lactic acid from sugarcane molasses by a newly microbial consortium CEE-DL15. *Process Biochemistry*. 81: 132–138. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2019.03.022>
- Tan, Y., Zhang, R., Liu, Z., Li, B. y Yuan, Y. 2022. Microbial adaptation to enhance stress tolerance. *Frontiers in Microbiology*. 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.888746>
- Vega-Vidaurre, J.A., Hernández-Rosas, F., Ríos-Corripio, M.A., Loeza-Corte, J.M., Rojas-López, M. y Hernández-Martínez, R. 2022. Coproduction of polyhydroxyalkanoates and exopolysaccharide by submerged fermentation using autochthonous bacterial strains. *Chemical Papers*. 76(4): 2419–2429. <https://doi.org/10.1007/s11696-021-02046-3>
- Vidra, A., Tóth, A.J. y Németh, Á. 2017. Lactic acid production from cane molasses. *Waste Treatment and Recovery*. 2(1): 13–16. <https://doi.org/10.1515/lwr-2017-0003>