

ESTRATEGIAS BIOTECNOLÓGICAS PARA LA VALORIZACIÓN Y TRATAMIENTO DEL SUERO DE QUESO ÁCIDO

Biotechnological strategies for the valorization and treatment of acid cheese whey

Andrea Lizbeth FERIA-LARA^{1,2}, Paola Janet DELGADO-ESPITIA¹,
Durvel DE LA CRUZ-ROMERO² y Elías RAZO-FLORES^{1*}

¹ División de Ciencias Ambientales, Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, Camino a la Presa San José 2055, Lomas 4a Sección, 78183 San Luis Potosí, San Luis Potosí, México.

² División Académica de Ciencias Básicas, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, km 1 carretera Cunduacán-Jalpa de Méndez, apartado postal 24, 86690 Cunduacán, Tabasco, México.

*Autor para correspondencia: erazo@ipicyt.edu.mx

(Recibido: julio de 2025; aceptado: octubre de 2025)

Palabras clave: digestión anaerobia, ácidos carboxílicos, reactor continuo de tanque agitado, fermentación oscura, metano.

RESUMEN

El suero de queso es un subproducto agroindustrial que representa un riesgo ambiental considerable debido a su elevada demanda química de oxígeno (DQO). En México, el suero de queso no es tratado directamente y su manejo implica un proceso de autofermentación que afecta su posterior tratamiento. En este trabajo se usaron estrategias para valorizar el suero de queso fresco autofermentado, autofermentado-filtrado y doblemente fermentado mediante la fermentación oscura y la digestión anaerobia. En la fermentación oscura se operaron cuatro reactores continuos de tanque agitado para analizar el efecto del tiempo de retención hidráulico (TRH), la carga orgánica volumétrica (COV) y la presencia de sólidos sobre la producción de metabolitos e hidrógeno. Se alcanzaron concentraciones totales de ácidos carboxílicos y etanol de hasta 20 g/L, con una velocidad volumétrica de producción de hidrógeno de 2.42 L/L-d. Se determinó que los sólidos presentes en el suero de queso autofermentado influyen en la fermentación oscura y en sus rutas metabólicas. Dependiendo de los objetivos del proceso de valorización, es posible promover la producción de lactato o caproato, ajustando los valores de TRH y COV. La digestión anaerobia del suero de queso en sus distintas formas fue muy eficiente, alcanzando remociones de DQO superiores al 99 % y una velocidad volumétrica de producción de metano de 0.21 L/L-d. Estos resultados demuestran el potencial de valorización del suero de queso para la producción de ácidos carboxílicos o de metano, que constituyen alternativas sostenibles para la industria quesera en un esquema de economía circular.

Key words: anaerobic digestion, carboxylic acids, continuous stirred tank reactor, dark fermentation, methane.

ABSTRACT

Cheese whey is an agro-industrial by-product that poses a high environmental risk due to its high chemical oxygen demand (COD). In Mexico, cheese whey is not typically

treated directly, and its management generally involves autofermentation, which influences the treatment process. In this study, we assessed various strategies for valorizing different types of cheese whey: fresh, auto-fermented, auto-fermented-filtered, and double-fermented. These were used as the substrates for dark fermentation or anaerobic digestion. Four continuous stirred tank reactors were operated under dark fermentation conditions to determine how hydraulic retention time (HRT), volumetric organic loading rate (OLR), and solids content affected metabolite and hydrogen production. Total carboxylic acids and ethanol concentrations as high as 20 g/L, along with a volumetric hydrogen production rate of 2.42 L/L-d were obtained. The results showed that the content of solids in the autofermented cheese whey directly influenced the dark fermentation metabolic pathways and global outcome. The production of lactate or caproate can be enhanced by selecting appropriate HRT and OLR values. The anaerobic digestion of the cheese whey (auto fermented, auto fermented-filtered, and double-fermented) proved to be very efficient, achieving over 99% COD removal in all cases, with a volumetric methane production rate of 0.21 L-L-d. These findings underscore the potential of cheese whey to be valorized either through the production of high-value carboxylic acids or methane, suggesting that the cheese industry could become more sustainable within a circular economy framework.

INTRODUCCIÓN

El suero de queso es un subproducto generado durante la elaboración del queso, como resultado de la coagulación de la leche. Este líquido contiene una gran concentración de nutrientes como carbohidratos, proteínas, vitaminas y minerales, con un alto valor que lo hace idóneo para su uso como sustrato en tratamientos biológicos. Su composición puede variar en función del proceso de fabricación del queso de queso. Según su acidez, se clasifica en dos tipos: suero dulce, con pH superior a 7.0, obtenido mediante la coagulación enzimática, y suero ácido, con un pH menor a 7.0, generado a partir de la coagulación láctica (Osorio-González et al. 2018).

En México están registradas aproximadamente 130 empresas lácteas formalizadas, así como alrededor de 300 mil productores artesanales (Lizárraga-Chaidez et al. 2023). Durante el año 2023, la producción nacional de leche alcanzó los 13 mil 333 millones de L de leche y los principales estados productores fueron Jalisco, Coahuila, Durango, Chihuahua, Guanajuato y Veracruz (SIAP 2023a). En el mismo año, la producción de quesos sumó 617 mil 726 t, destacando los quesos Chihuahua, doble crema, fresco, manchego, Oaxaca y panela. El queso fresco fue el de mayor producción, con 125 mil 602 ton (SIAP 2023b). Se estima que por cada kg de queso producido se generan entre 9 y 10 L de suero (Osorio-González et al. 2018). Este dato, resalta la cantidad considerable de suero de queso producido, lo cual genera preocupación sobre su manejo y disposición adecuada. Mientras que las empresas formalizadas deben cumplir con normas

oficiales para la disposición final del suero, los productores artesanales no necesariamente se sujetan a estas regulaciones, y en muchos casos, vierten el suero directamente al ambiente, lo que representa un riesgo (Lizárraga-Chaidez et al. 2023).

El suero de queso es altamente contaminante si se vierte en cuerpos de agua sin tratamiento previo. Esto se debe a que puede alcanzar concentraciones de demanda química de oxígeno (DQO) de hasta 100 g/L. Su alta carga orgánica está compuesta principalmente por carbohidratos como lactosa y proteínas (Panghal et al. 2018, Sebastián-Nicolás et al. 2020, Lizárraga-Chaidez et al. 2023). La elevada carga orgánica del suero de queso promueve múltiples procesos microbiológicos que pueden desencadenar la eutrofización. Además, las proteínas presentes en el suero pueden degradarse y transformarse en compuestos inorgánicos como amonio, amoniaco, nitrato y nitrito. Este último, resultado del proceso incompleto de nitrificación, es especialmente relevante debido a su alta toxicidad para humanos y animales (Salas-Vargas et al. 2021, Lizárraga-Chaidez et al. 2023). Por tal motivo, resulta fundamental establecer estrategias viables para el aprovechamiento del suero de queso y su valorización mediante esquemas de economía circular alineados con los enfoques sostenibles que actualmente se buscan impulsar a nivel nacional e internacional.

La digestión anaerobia es un proceso sostenible, ya que a partir de la conversión de residuos orgánicos se puede obtener energía en forma de biogás, lo que proporciona una solución adecuada para la gestión del suero de queso. Este proceso biológico aprovecha el metabolismo de los microorganismos anaerobios

para llevar a cabo la descomposición de la materia orgánica en ausencia de oxígeno, y así obtener biogás, que se compone de metano y dióxido de carbono (Hasan et al. 2024). El proceso de digestión anaerobia se divide en cuatro etapas: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis. Asimismo, la fermentación oscura es un proceso metabólico que forma parte de la digestión anaerobia y puede incluir las tres primeras etapas, en las que se elimina la etapa de metanogénesis, para obtener subproductos como ácidos carboxílicos (acetato y butirato, principalmente) e hidrógeno (Dávila-Vázquez et al. 2008).

Debido a su alta carga orgánica, el suero de queso es un sustrato atractivo para su valorización por fermentación oscura. No obstante, tiene la particularidad de autofermentarse de manera natural, lo que reduce su concentración de carbohidratos e incrementa la de lactato, alterando las rutas metabólicas predominantes durante la fermentación oscura (Wang et al. 2021, Helal et al. 2023). Ante esta situación, diversas investigaciones se han enfocado en comprender el efecto del lactato en la fermentación oscura, con el fin de identificar rutas metabólicas más eficientes. Por ejemplo, García-Depraect et al. (2019) observaron que, a partir de la ruta del lactato-acetato para la fermentación oscura, existe una correlación positiva entre las bacterias productoras de hidrógeno y las bacterias ácido-lácticas (BAL) presentes de manera natural en el sustrato. En otros estudios se ha investigado el efecto del lactato en las rutas metabólicas de la fermentación oscura partiendo de la ruta lactato-acetato (Fuentes-Santiago et al. 2023). Se ha reportado una velocidad volumétrica de producción de hidrógeno (VVPH) de 123 mL/L-h en suero de queso, atribuida a las interacciones microbianas de las BAL presentes en el sustrato real, que coadyuvan a una mayor productividad, a diferencia de los sustratos simulados, donde tales microorganismos no están presentes. En el sistema en cuestión, los ácidos carboxílicos predominantes fueron ácido láctico, ácido acético y ácido butírico (Fuentes-Santiago et al. 2023).

Con el fin de ampliar los estudios mediante sustratos reales en condiciones controladas de laboratorio y lograr un mayor entendimiento de la variabilidad en las características y la composición, en el presente estudio se empleó un sustrato real de suero de queso, obtenido directamente de una empresa quesera. El uso de un sustrato real permite evaluar con precisión el comportamiento de un proceso en condiciones cercanas a una posible aplicación a escala piloto o industrial.

El objetivo de la presente investigación fue aplicar estrategias biotecnológicas para valorizar el suero de

queso autofermentado, evaluando en primera instancia su efectividad en la fermentación oscura para la producción de ácidos carboxílicos e hidrógeno y, en segunda instancia, el proceso de digestión anaerobia para la producción de metano. En conjunto, los resultados de la presente investigación permitirán definir o delimitar posibles estrategias para la valorización del suero de queso o bien establecer rutas complementarias de tratamiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

Inóculo y sustrato

Como inóculo se usó lodo granular de un reactor anaerobio de flujo ascendente a escala industrial que trata vinazas de la producción de tequila en Casa Herradura, ubicada en Amatitán, Jalisco, México. En el caso de los experimentos en reactores de digestión anaerobia, se utilizó lodo granular anaerobio fresco, el cual presentó una concentración de sólidos suspendidos totales (SST) de 0.06 g/g lodo húmedo y sólidos suspendidos volátiles (SSV) de 0.05 g/g lodo húmedo. Para los reactores de fermentación oscura, el lodo granular anaerobio se sometió a un pretratamiento térmico que consistió en un secado a 105 °C durante 24 h, siguiendo el protocolo descrito por Montoya-Rosales et al. (2022). La concentración de sólidos totales fue de 0.98 g/g lodo seco y de sólidos volátiles de 0.87 g/g lodo seco.

Como sustrato se usó suero de queso ácido fresco, recolectado de la empresa Quesería Carol ubicada en El Marqués, Querétaro, México, el cual se dejó fermentar naturalmente a temperatura ambiente (22 °C) durante 15 días (Mazorra-Manzano et al. 2020). La autofermentación se detuvo una vez que el consumo de azúcares totales (AT) se mantuvo estable. El suero de queso fresco y autofermentado se caracterizaron mediante la determinación de SST, SSV, DQO, AT y perfil de ácidos carboxílicos.

Con el objetivo de evaluar la influencia de la comunidad microbiana de las BAL autóctonas del suero de queso sobre la eficiencia del proceso de fermentación oscura, una fracción del volumen recolectado del suero autofermentado se centrifugó a 6000 rpm durante 20 min y posteriormente se filtró tres veces mediante una tela de algodón. El suero de queso autofermentado-filtrado se caracterizó mediante la determinación de SST, SSV, DQO, AT y perfil de ácidos carboxílicos.

Fermentación oscura

La **figura 1** presenta la estrategia experimental utilizada, así como el esquema de los reactores ope-

rados en este estudio, especificando en cada fase la naturaleza del suero utilizado como sustrato tanto para la fermentación oscura como para la digestión anaerobia. El medio mineral utilizado en la evaluación de los reactores de fermentación oscura fue el reportado por Fuentes-Santiago et al. (2023).

Para la fermentación oscura se operaron cuatro reactores de tanque agitado continuo (CSTR) de la marca Applikon Biotechnologies (Países Bajos), cada uno con un volumen total de 1.3 L y un volumen de trabajo de 1 L. Los reactores F1-F4 (**Fig. 1**) se inocularon con lodo anaerobio pretratado térmicamente a una concentración de 4.5 g SSV/L y se operaron en modo lote durante 24 h, alimentados con suero de queso (autofermentado y autofermentado-filtrado) a una concentración de 10 g DQO_{soluble}/L.

Después de su inoculación, los reactores fueron purgados con nitrógeno (5 min) para establecer una atmósfera anaerobia y se operaron en lote durante 24 h. Posteriormente, se operaron en modo continuo, a una

temperatura de 37 °C, agitación continua de 300 rpm y pH controlado de 6.0 mediante adición de NaOH 5 M. Los reactores F1 y F3 se alimentaron con suero de queso autofermentado, mientras que en los reactores F2 y F4 se usó suero de queso autofermentado-filtrado. Los reactores F1 y F2 se operaron a un TRH de 10 h y una carga orgánica volumétrica (COV) de 16.6 g DQO/L-d, mientras que en los reactores F3 y F4 el TRH fue de 18 h y la COV de 9.25 g DQO/L-d. Los cuatro reactores se operaron al menos por 20 ciclos de TRH, considerando el tiempo efectivo para alcanzar el estado estable (Montoya-Rosales et al. 2022). Una vez que los reactores alcanzaron el estado estable, se recolectaron tres muestras de efluente de cada reactor en intervalos de 24 h.

La determinación del perfil de ácidos carboxílicos y alcoholes se realizó por triplicado. En el caso de la producción de hidrógeno, el volumen producido se midió con un contador de gas por desplazamiento de agua (Prendo MVG-10, Puebla, México). Para el

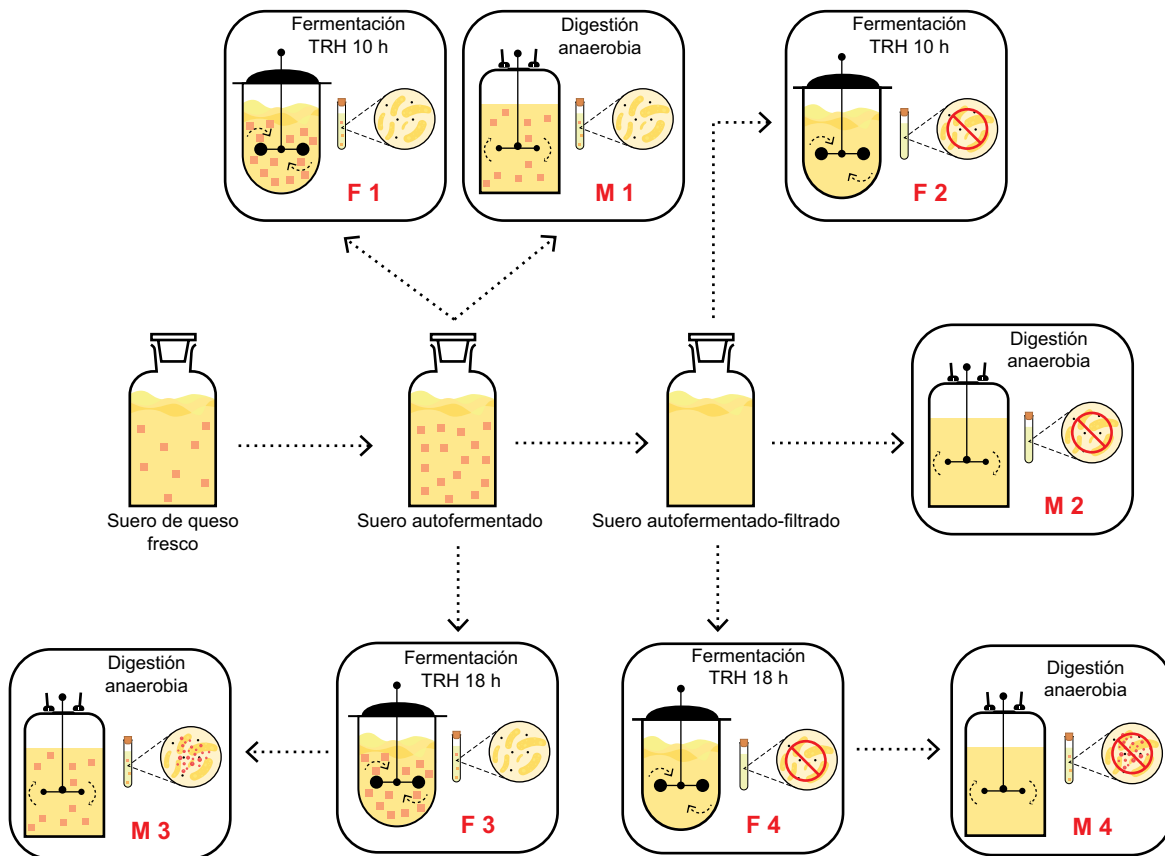


Fig. 1. Esquema de tratamientos para la valorización del suero de queso autofermentado. F1: suero de queso autofermentado con un tiempo de retención hidráulico (TRH) de 10 h; F2: suero autofermentado-filtrado con TRH de 10 h; F3: suero autofermentado con TRH de 18 h; y F4: suero autofermentado-filtrado con TRH de 18 h. Los experimentos F1 a F4 consistieron en fermentación oscura en tanque agitado continuo, mientras que los experimentos M1 a M4 fueron de digestión anaerobia en lote.

análisis de las VVPH se consideraron únicamente los datos correspondientes al estado estable de los reactores.

Digestión anaerobia

Con el fin de determinar el potencial de producción de metano, se utilizó el protocolo previamente establecido por Angelidaki y Sanders (2004). La configuración experimental incluyó los tratamientos M1-M4 (Fig. 1). Los reactores se alimentaron con los siguientes sustratos: M1 con suero de queso autofermentado; M2 con suero de queso autofermentado-filtrado; M3 con el efluente del reactor de fermentación F3; y M4 con el efluente del reactor de fermentación F4. La alimentación de estos dos últimos tuvo la finalidad de evaluar posibles diferencias en la producción de metano al emplear sustratos doblemente fermentados. Para tal efecto se recolectaron tres muestras frescas de 800 mL de los efluentes de los reactores de fermentación F3 y F4 en estado estable, a intervalos de 24 h. Posteriormente, las muestras fueron homogeneizadas y centrifugadas a 3000 rpm durante 10 min para su uso como sustrato en los reactores de digestión anaerobia.

Los experimentos se realizaron en un equipo automático de potencial de metano (AMPTS II, Bioprocess Control, Lund, Suecia). El volumen total de los reactores fue de 600 mL con un volumen de operación de 360 mL, utilizando el medio mineral reportado por Angelidaki y Sanders (2004). Todos los reactores se inocularon con lodo granular anaerobio, sin pretratamiento térmico, a una relación sustrato/inóculo (S/I) de 2 g SSV/g DQO considerando una concentración de sustrato de 5 g DQO/L. Se ajustó la alcalinidad de cada reactor a 3 g CaCO₃/L y el pH inicial se ajustó a 7.5, con soluciones de HCl 5 N o NaOH 5 N. Antes de la operación en lote, los reactores fueron purgados con nitrógeno (5 min) para establecer una atmósfera anaerobia. Posteriormente se incubaron a 37 °C y 120 rpm con agitación intermitente, 1 min de agitación con 3 min de pausa. Se incluyeron dos tratamientos adicionales como control: uno endógeno, con lodo granular anaerobio sin sustrato, y otro con glucosa como sustrato a una concentración de 5 g DQO/L. El tratamiento endógeno se realizó en un solo reactor, el control positivo con glucosa por duplicado, y los tratamientos M1, M2, M3 y M4 se realizaron por triplicado.

La producción de metano se cuantificó automáticamente por medio de las celdas de flujo y se registró en tiempo real en el software del equipo. Una vez que la producción de metano se estabilizó, se detuvo el sistema y se recolectaron muestras de

40 mL de cada reactor para determinar el perfil de ácidos carboxílicos y DQO.

Los datos sobre la producción acumulada de metano se trataron a partir del modelo cinético de Gompertz modificado, de acuerdo con la ecuación 1, donde H_{max} es la producción acumulativa de metano (NmL), R_{max} es la tasa máxima de producción de metano, λ es la duración de la fase de retardo y t es el tiempo de incubación para la producción de metano en días (Regueira-Marcos et al. 2023).

$$H = H_{max} * \exp \left(- \exp \left(\frac{R_{max} * e}{H_{max}} * (\lambda - t) + 1 \right) \right) \quad (1)$$

Métodos analíticos

Las concentraciones de SST y SSV se cuantificaron según el método estándar de la APHA (1997). La DQO se cuantificó de acuerdo con el método estándar de la APHA (1998). Las concentraciones de AT se determinaron mediante el método ácido sulfúrico-fenol (Dubois et al. 1956). La composición de hidrógeno y dióxido de carbono se cuantificó por cromatografía de gases (Agilent Technologies 6890 N, Waldbronn, Alemania) con detector de conductividad térmica, en las condiciones descritas anteriormente (Montoya-Rosales et al. 2022).

Los ácidos carboxílicos y alcoholes se cuantificaron a partir de muestras filtradas mediante HPLC equipado con un detector de índice de refracción (1260 Infinity, Agilent Technologies) en las condiciones de operación descritas por Ordóñez-Frías et al. (2024). Las concentraciones de los ácidos carboxílicos y alcoholes se transformaron a gramos de DQO por medio de los siguientes factores de conversión: acetato (1.07 g DQO/g), propionato (1.51 g DQO/g), butirato (1.82 g DQO/g), lactato (1.07 g DQO/g), etanol (2.04 g DQO/g) y caproato (2.04 g DQO/g).

Análisis estadísticos

Se determinaron las diferencias significativas entre los distintos tratamientos en relación con la productividad de hidrógeno, ácidos carboxílicos y metano mediante un análisis de varianza (ANDEVA). Posteriormente, se realizó una comparación por pares utilizando el método de diferencia significativa de Tukey, utilizando los programas Origin Pro-2024 e IBM SPSS Statistics 21.

RESULTADOS

Caracterización del suero de queso

El suero de queso se caracterizó fresco, después de la fermentación natural o autofermentación y después

de la eliminación de sólidos (autofermentado-filtrado). En el **cuadro I** se muestra la caracterización. Como se esperaba, la concentración de DQO en el suero de queso fresco fue de 51 g/L, lo que confirma que es un efluente altamente contaminante. En general, los únicos parámetros que mostraron cambios importantes después de la autofermentación y filtración del suero de queso fresco fueron el pH, las concentraciones de AT, acetato y lactato. En el suero de queso fresco, la concentración de acetato fue cercana a 1 g/L y la de lactato de 5 g/L. En cambio, no se detectó acetato después de la autofermentación y la concentración de lactato se incrementó a 17 g/L en el suero de queso autofermentado y autofermentado-filtrado. Esta diferencia se atribuye a la actividad homoláctica durante la autofermentación. Como resultado, se observó una disminución de la concentración de AT debido a su consumo durante la autofermentación.

Fermentación oscura del suero de queso autofermentado

El suero de queso autofermentado y autofermentado-filtrado se sometió a un proceso de fermentación oscura en reactores CSTR (**Fig. 1**, F1-F4) durante al menos 20 TRH para alcanzar una operación estable. La **figura 2** muestra las concentraciones de ácidos carboxílicos y alcoholes cuantificadas al final del periodo de operación.

Las concentraciones más altas de metabolitos se obtuvieron en el reactor F1, operado con suero de queso autofermentado y un TRH de 10 h, alcanzando 14.29 g DQO/L de lactato y 6.46 g DQO/L de butirato, además de caproato, etanol, acetato y propionato, en menores concentraciones (< 2 g DQO/L). En contraste, el reactor F2, operado con suero de queso autofermentado-filtrado con el mismo TRH, produjo 7.99 g DQO/L de lactato y 4.04 g DQO/L de butirato,

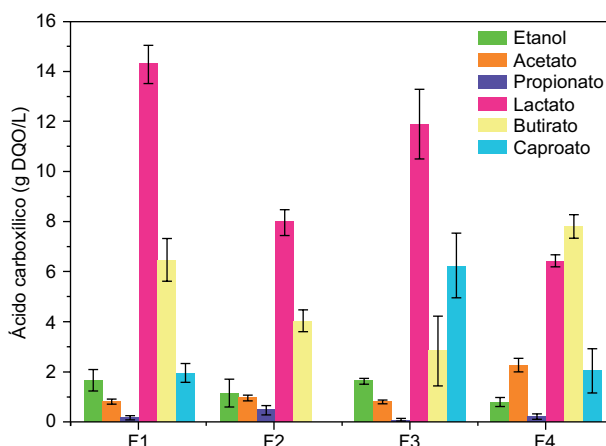


Fig. 2. Concentración de los ácidos carboxílicos y del etanol producidos en reactores continuos de fermentación oscura bajo diferentes condiciones del suero de queso autofermentado.

además de concentraciones menores de etanol, acetato y propionato (< 1.2 g DQO/L), sin caproato. Esta diferencia en la distribución de los metabolitos indica una selección de la comunidad microbiana en cada reactor en función de las condiciones operacionales, lo que demuestra que las BAL autóctonas del suero de queso y otros sólidos presentes de forma natural influyen en los productos de la fermentación.

El reactor F3, operado con suero de queso autofermentado y un TRH de 18 h, alcanzó concentraciones de 11.92 g DQO/L de lactato, 6.25 g DQO/L de caproato, 2.85 g DQO/L de butirato y en menores concentraciones (< 2 g DQO/L) acetato, etanol y propionato. En comparación, en el reactor F4 se obtuvieron concentraciones de 7.81 g DQO/L de butirato, 6.42 g DQO/L de lactato, 2.28 g DQO/L de acetato, 2.05 g DQO/L de caproato y en menores concentraciones (< 1 g DQO/L) propionato y etanol.

CUADRO I. CARACTERIZACIÓN FÍSICA Y QUÍMICA DEL SUERO DE QUESO FRESCO, AUTOFERMENTADO Y AUTOFERMENTADO-FILTRADO.

Parámetros	Fresco	Autofermentado	Autofermentado-filtrado
pH	5.8	3.6	3.8
DQO (g/L)	51.10 ± 0.14	51.60 ± 0.07	50.23 ± 0.05
AT (g/L)	28.6 ± 0.19	6.35 ± 0.10	6.46 ± 0.30
SST (g/L)	1.42 ± 0.01	1.58 ± 0.36	1.16 ± 0.49
SSV (g/L)	0.94 ± 0.01	1.15 ± 0.40	0.79 ± 0.34
Acetato (g/L)	1.1 ± 0.01	0	0
Lactato (g/L)	5.1 ± 0.01	16.47 ± 0.02	17.50 ± 0.01

DQO: demanda química de oxígeno; AT: azúcares totales; SST: sólidos suspendidos totales; SSV: sólidos suspendidos volátiles.

En general, los resultados evidencian que los sólidos presentes en el suero de queso autofermentado influyen en la fermentación oscura, en la selección de la comunidad microbiana y en las rutas metabólicas, al igual que el TRH de operación de los reactores. Los resultados indicaron que la variación en el TRH afecta directamente las concentraciones de los ácidos carboxílicos, ya que los reactores operados con TRH de 18 h (F3 y F4) produjeron mayores concentraciones de caproato que los reactores (F1 y F2) operados con un TRH menor (10 h). Lo anterior sugiere que TRH más prolongados favorecen la elongación de la cadena de los ácidos carboxílicos, promoviendo la generación de metabolitos de mayor valor agregado, como el caproato.

El **cuadro II** muestra las concentraciones de los metabolitos determinados en los reactores de fermentación oscura, así como las VVPH. Se observa que la mayor VVPH se obtuvo en el reactor F1, mientras que, al modificar el tipo de sustrato y/o el TRH, se observó una disminución de la VVPH. Este comportamiento se atribuye tanto al efecto de la COV como al del TRH, ya que los reactores F3 y F4 se operaron con una COV menor (9.25 g DQO/L-d) y un TRH mayor (18 h). Aunque el reactor F2 operó con un TRH de 10 h y una COV de 16.6 g DQO/L-d al igual que el reactor F1, la VVPH fue inferior, lo que se atribuye al uso del suero de queso autofermentado-filtrado, evidenciando que los sólidos (BAL autóctonas del suero de queso) también contribuyen a la producción de hidrógeno mediante el metabolismo lactato-acetato.

Se realizó un análisis ANDEVA para evaluar las diferencias en la producción de hidrógeno entre los cuatro reactores (F1-F4). Los resultados indicaron

diferencias significativas entre los tratamientos ($p = 0.00260$), lo que sugiere que al menos uno de los reactores presentó un comportamiento distinto al de los demás. La prueba de Tukey reveló que los reactores F1, F2 y F3 no difieren significativamente entre sí, y todos se agrupan en el mismo grupo estadístico (a). En contraste, el reactor F4 se ubicó en un grupo distinto (b), mostrando diferencias significativas respecto a los demás reactores. Estos resultados sugieren que el tratamiento aplicado en el reactor F4 fue menos eficiente para la producción de hidrógeno que el resto de los reactores.

Producción de metano

El suero de queso autofermentado y el autofermentado-filtrado, así como los efluentes de los procesos de fermentación oscura a un TRH de 18 h, con y sin sólidos, se sometieron a un proceso de digestión anaerobia en el sistema automatizado AMPTS II, con sus respectivos controles endógeno y positivo con glucosa. Los resultados se muestran en la **figura 3**, donde se presenta la producción acumulada de metano de los reactores M1 a M4, junto con los controles.

Se utilizó suero de queso autofermentado en el reactor M1, que mostró una mayor producción de metano en comparación con el reactor M2, en el cual se utilizó suero de queso autofermentado-filtrado; por lo tanto, la diferencia puede atribuirse a la ausencia de los sólidos en el reactor M2. Por otro lado, en los reactores M3 y M4, que utilizaron el efluente de los reactores de fermentación oscura a un TRH de 18 h, se evidenció un comportamiento diáuxico en la producción de metano, lo que indica la degradación secuencial de los sustratos presentes en los reactores.

CUADRO II. CONCENTRACIONES FINALES DE METABOLITOS, CONDICIONES DE OPERACIÓN Y VELOCIDADES VOLUMÉTRICAS DE PRODUCCIÓN DE HIDRÓGENO EN REACTORES CSTR DE FERMENTACIÓN OSCURA (F1-F4).

Reactor	TRH (h)	COV (g DQO/L-d)	VVPH (L H ₂ /L-d)	Metabolitos (g/L)					
				Ace	Prop	Lac	But	Cap	EtOH
F1	10	16.6	2.42 ± 0.12	0.76 ± 0.10 ^a	0.10 ± 0.07 ^a	13.36 ± 0.72 ^a	3.55 ± 0.48 ^a	0.74 ± 0.14 ^a	0.80 ± 0.20 ^a
F2	10	16.6	1.94 ± 0.43	0.89 ± 0.10 ^a	0.31 ± 0.12 ^b	7.47 ± 0.51 ^c	2.22 ± 0.24 ^b	0 ^a	0.55 ± 0.27 ^a
F3	18	9.25	1.72 ± 0.44	0.75 ± 0.04 ^a	0.05 ± 0.03 ^a	11.14 ± 0.24 ^b	1.42 ± 0.51 ^b	2.35 ± 0.49 ^b	0.78 ± 0.05 ^a
F4	18	9.25	0.30 ± 0.06	2.13 ± 0.26 ^b	0.14 ± 0.07 ^b	6.02 ± 0.24 ^c	4.29 ± 0.26 ^a	0.77 ± 0.33 ^a	0.38 ± 0.09 ^a

Nota: los superíndices en las concentraciones finales de cada compuesto corresponden a los grupos determinados por la prueba de Tukey. La comparación de letras se realiza únicamente entre los reactores evaluados para el mismo compuesto: valores que comparten la misma letra no presentan diferencias significativas entre sí ($p > 0.05$), mientras que aquellos con letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0.05$). Las letras no deben compararse entre compuestos diferentes.

CSTR: reactores de tanque agitado continuo; TRH: tiempo de retención hidráulico; COV: carga orgánica volumétrica; VVPH: velocidad volumétrica de producción de hidrógeno; DQO: demanda química de oxígeno; Ace: acetato; Prop: propionato; Lac: lactato; But: butirato; Cap: caproato; EtOH: etanol.

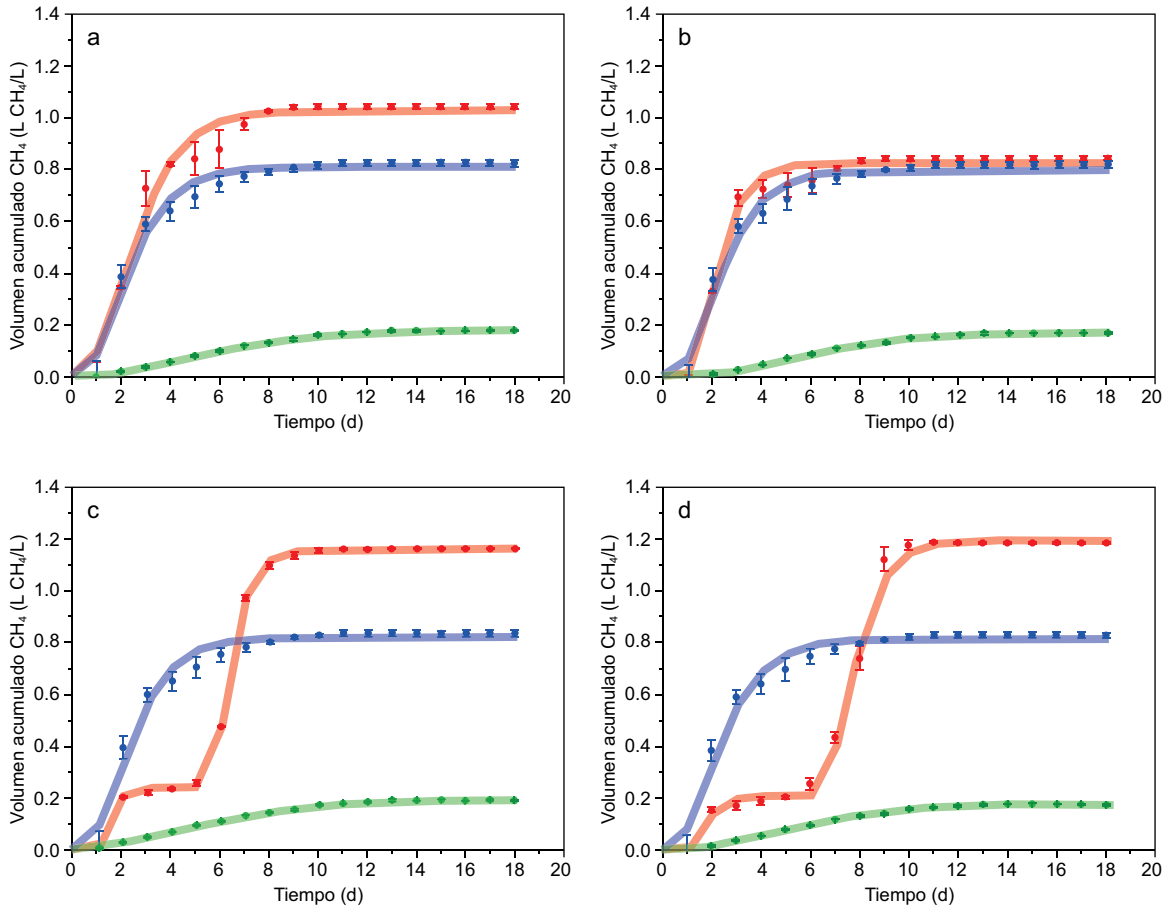


Fig. 3. Producción acumulada de metano en las diferentes condiciones de operación, normalizada al control endógeno. (a) M1, (b) M2, (c) M3 y (d) M4. Los datos corresponden a los reactores M1-M4 (rojo), control de glucosa (azul) y control endógeno (verde). La línea continua representa el ajuste del modelo de Gompertz modificado para cada caso.

Previsiblemente, en la primera fase los microorganismos degradaron el acetato presente en el efluente y, en una segunda fase, utilizaron compuestos asociados a procesos de hidrólisis y acetogénesis. No obstante, en las dinámicas observadas en la producción de metano en los reactores M3 y M4 se alcanzaron producciones acumuladas de metano ligeramente mayores que las obtenidas en los reactores M1 y M2.

El **cuadro III** presenta los parámetros cinéticos obtenidos a partir de los datos experimentales de la producción de metano en los reactores M1-M4 mediante el modelo de Gompertz modificado. Los reactores M3 y M4 presentan las mayores velocidades volumétricas de producción de metano (VVPM), mientras que en los reactores M1 y M2 disminuyen. No obstante, la producción máxima de metano (H_{max}) fue similar en los reactores M1, M3 y M4, siendo el reactor M2 el único que mostró una producción menor.

En cuanto al tipo de sustrato utilizado, ya sea suero de queso autofermentado (M1) o el efluente de la fermentación oscura (M3), no se observaron diferencias apreciables en la producción de metano. Esto indica que el uso del suero de queso autofermentado o doble fermentado (autofermentación seguida de fermentación oscura) produce resultados comparables. Además, la remoción de DQO fue mayor al 99 % en todos los reactores, evidenciando una alta eficiencia del proceso de metanogénesis. En todos los casos, la correlación (R^2) de los datos experimentales con el modelo de Gompertz fue de 0.98 a 1, tal como se aprecia en la **figura 3**.

El análisis estadístico de los resultados de los reactores para la producción de metano (M1-M4) mostró diferencias entre los tratamientos ($p < 0.05$). Los valores de H_{max} de los reactores fluctuaron entre 0.83 y 1.19 L CH₄/L (**Cuadro III**). La prueba de

CUADRO III. PARÁMETROS CINÉTICOS A PARTIR DE LOS DATOS EXPERIMENTALES DEL MODELO DE GOMPERTZ MODIFICADO PARA LA PRODUCCIÓN DE METANO.

Reactor	Consumo DQO (%)	H_{max} (L CH ₄ /L)	λ (d)	R_{max} (L CH ₄ /d)	R ²	VVPM (L CH ₄ /L-d)
M1	99.27	1.03 ± 0.03	0.90	0.31 ± 0.01	0.98	0.11 ± 0.02
M2	99.38	0.83 ± 0.02	1.18	0.42 ± 0.01	0.99	0.15 ± 0.01
M3	99.24	1.15 ± 0.04	6.74	0.86 ± 0.02	1.00	0.21 ± 0.08
M4	99.02	1.19 ± 0.54	7.59	0.58 ± 0.19	1.00	0.21 ± 0.01

DQO: demanda química de oxígeno; H_{max} : producción acumulativa de metano; λ : fase de retardo; R_{max} : tasa máxima de producción de metano; VVPM: velocidad volumétrica de producción de metano.

Tukey demostró que los cuatro reactores se ubicaron en grupos completamente distintos (a, b, c y d, respectivamente), lo que indica que cada uno presentó un comportamiento significativamente distinto.

DISCUSIÓN

La industria de derivados lácteos en México es muy importante y, para hacerla más sostenible, se deben tratar de manera adecuada los residuos líquidos y sólidos que genera. En este estudio se encontró que el suero de queso fresco de la Quesería Carol (El Marqués, Querétaro, México) tiene una concentración de DQO de 51 g/L. Considerando que por cada kg de queso producido se generan hasta 10 L de suero (Osorio-González et al. 2018), se puede tener una idea de lo contaminante que resulta este efluente sin un tratamiento adecuado. Entre las opciones disponibles para su tratamiento, destaca la digestión anaerobia, ya que usando reactores de alta tasa se pueden reducir de manera eficiente las altas cargas orgánicas típicas de la industria de lácteos, produciendo metano. Tal como se demostró en este estudio, en los reactores en lote de digestión anaerobia, alimentados con suero de queso autofermentado, se alcanzó una remoción del 99 % de la DQO. No obstante, el contenido de azúcares, principalmente del suero de queso, se podría explotar aún más mediante la producción de compuestos de alto valor agregado. Una forma de aprovechar al máximo este tipo de efluentes es mediante la fermentación oscura, en la cual la materia orgánica es transformada en productos de valor agregado tales como ácidos carboxílicos, alcoholes e hidrógeno. Estos compuestos presentan un mayor valor comercial en comparación con el metano. Por ejemplo, el ácido láctico industrial alcanza un precio aproximado de 4 USD/kg (Garrido et al. 2023); el ácido caproico sin refinar se cotiza en

alrededor de 1.18 USD/kg, lo que representa un valor cinco veces mayor que el del metano (0.24 USD/kg) y casi el doble del etanol, estimado en 0.61 USD/kg (Villegas-Rodríguez et al. 2025).

Valorización del suero de queso mediante la producción de ácidos carboxílicos e hidrógeno

La fermentación oscura del suero de queso autofermentado y autofermentado-filtrado, en las condiciones evaluadas, fue adecuada, ya que en todos los casos se produjo una amplia variedad de ácidos carboxílicos y etanol en diferentes proporciones, dependiendo de las condiciones. Adicionalmente se produjo hidrógeno. La producción de ácidos carboxílicos presentó variaciones en sus concentraciones. Estos resultados reflejan el efecto de la COV, la TRH y la presencia de sólidos en el suero de queso autofermentado sobre la selectividad de las comunidades microbianas durante la fermentación.

Dependiendo de las condiciones operacionales aplicadas, en cada reactor se enriquecieron distintas comunidades microbianas, lo que definió la vía para la producción de hidrógeno y ácidos carboxílicos. La mayor concentración de ácido láctico que presentó el reactor F1 se debe precisamente al TRH corto y a la presencia de sólidos (BAL autóctonas del suero de queso) en el suero de queso autofermentado. Utilizar TRH más prolongados, como en el caso de los reactores F3 y F4, facilitó la elongación de cadena para la producción de butirato y caproato. Estos resultados son consistentes con los reportados por Regueira-Marcos et al. (2024), quienes obtuvieron una producción de lactato de 11.4 g/L, que representó el 95 % del total de ácidos carboxílicos generados. Aunque en el estudio previo y el nuestro, la vía metabólica predominante fue la del lactato-acetato (consumo de acetato y lactato para la producción de butirato e hidrógeno), es importante destacar que los autores mencionados emplearon residuos orgánicos

sintéticos como sustrato. Los resultados de ambos estudios refuerzan la idea de que tanto la composición del sustrato como las condiciones de operación influyen de manera directa en la distribución y concentración de los productos fermentativos.

La máxima VVPH (2.42 L H₂/L-d) observada en el presente estudio en el reactor F1 resultó tres veces más baja que la reportada en estudios previos en los que se utilizó suero de leche en polvo a una COV de 60 g AT/L-d y un TRH de 6 h (Montoya-Rosales et al. 2022). Esto puede explicarse principalmente por la limitada disponibilidad de carbohidratos en el suero de queso autofermentado, así como por la alta concentración de lactato, producto de la autofermentación. Diversos estudios han reportado que, aunque el suero de queso puede ser utilizado para la producción de hidrógeno mediante fermentación oscura, los rendimientos suelen ser bajos debido a la competencia entre las bacterias productoras de hidrógeno y las BAL, presentes de manera natural en el sustrato. Palomo-Briones et al. (2017) utilizaron suero de queso en polvo para evaluar el efecto del TRH sobre la producción de hidrógeno a una concentración fija de lactosa en la alimentación de 20 g/L. Sus resultados demostraron que con TRH de 6 a 12 h, la VVPH promedio se incrementa (2.2 L H₂/L-d), mientras que con TRH de 18 a 24 h, la VVPH promedio se reduce (0.85 L H₂/L-d). En el presente estudio se alcanzó una VVPH de 2.42 L H₂/L-d, la

cual puede considerarse adecuada para las condiciones operacionales aplicadas y las características intrínsecas del suero de queso autofermentado, tales como baja concentración de carbohidratos y presencia de lactato. En el **cuadro IV** se presenta una comparación de algunos procesos en los que se emplea suero de queso autofermentado en reactores continuos.

Metanización del suero de queso autofermentado y doblemente fermentado

La digestión anaerobia del suero de queso autofermentado, autofermentado-filtrado o doble fermentado (autofermentación seguida de fermentación oscura) fue exitosa en todos los casos, ya que la eficiencia de remoción de DQO fue superior al 99 % con producciones máximas de metano (H_{max}) similares (~1 L CH₄/L).

Considerando lo anterior y debido a que la fase de retardo (λ) más corta se obtuvo en el reactor M1, la estrategia más factible para la metanogénesis del suero de queso es el uso directo del suero de queso autofermentado sin filtrar. No obstante, la completa acidificación del suero de queso autofermentado puede tener ventajas operacionales si se considera un proceso de dos etapas (doble fermentado seguido de metanogénesis), principalmente relacionado con aspectos de estabilidad operacional en la segunda etapa (metanogénesis), ya que el pH idóneo para que ocurra

CUADRO IV. COMPARACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE HIDRÓGENO Y ÁCIDOS CARBOXÍLICOS A PARTIR DE SUERO DE QUESO FERMENTADO.

	Ordóñez-Frías et al. (2024)	Aranda-Jaramillo et al. (2025)	Este estudio
Sustrato	Suero de queso ácido fermentado	Suero de queso fermentado	Suero de queso ácido fermentado
Composición	16 g AT/L, 12.9 g lactato/L, 1.32 g acetato/L	9 g AT/L, 17 g lactato/L, 6.7 g acetato/L, 21 g butirato/L.	6.35 g AT/L, 16.47 g lactato/L
Tipo de reactor	EGSB	EGSB	CSTR
Condiciones de operación	Volumen de trabajo 2.2 L, 35°C, pH 5, TRH 4.5 h, COV 91 g DQO/L-d	Volumen de trabajo 1 L, 35°C, pH 5.8, TRH 18 h, COV 138.5 g DQO/L-d	Volumen de trabajo 1 L, 37°C, pH 6, TRH 10 h, COV 16.6 g DQO/L-d
Inóculo	Lodo anaerobio granular	Inóculo especializado (ATCC) PTA-124,566	Lodo anaerobio granular
VVPH (L H ₂ /L-d) en estado estable	3.2	3.2	2.42
Ácidos carboxílicos (g/L)	Butirato 3.43, caproato 1.87	Acetato 16.7, butirato 5.6, lactato 37.5.	Acetato 0.76, propionato 0.10, lactato 13.36, butirato 3.55, caproato 0.74, etanol 0.8

COV: carga orgánica volumétrica; CSTR: reactor de tanque agitado continuo; DQO: demanda química de oxígeno; EGSB: reactor de lecho de lodo granular expandido; TRH: tiempo de retención hidráulico; VVPH: velocidad volumétrica de producción de hidrógeno.

eficientemente es de 6.5 a 7.5 (Toledo-Cervantes et al. 2018). En resumen, si la industria productora de queso opta por la digestión anaerobia como estrategia de tratamiento de sus efluentes líquidos, aun después de pasar por un proceso de autofermentación, con certeza tendrá un proceso metanogénico estable y producirá un vector energético como el metano.

CONCLUSIONES

Usar suero de queso como sustrato para procesos biotecnológicos es una alternativa eficiente para valorizarlo y obtener productos de valor agregado. En este sentido, la fermentación oscura del suero de queso autofermentado es un proceso viable y factible para su aprovechamiento, ya que se obtuvieron resultados satisfactorios en la producción de ácidos carboxílicos y etanol, alcanzando concentraciones totales de hasta 20 g/L. Dependiendo de los objetivos del proceso, se puede dirigir la fermentación hacia la elongación de cadena para la producción de caproato o bien hacia altas concentraciones de lactato, en condiciones operacionales seleccionadas como COV y TRH.

Por otro lado, la digestión anaerobia del suero de queso, ya sea directamente después de la autofermentación o después de haber pasado por un proceso de fermentación oscura previo, resultó en remociones de DQO superiores al 99 % y una producción estable de metano (~1 LCH₄/L). Esto indica que es una alternativa sostenible para aprovechar y valorizar al máximo este residuo de la industria quesera mediante la obtención de productos de valor agregado y biogás.

AGRADECIMIENTOS

La investigación fue financiada por el proyecto CONACYT A1-S-37174. Andrea L. Feria Lara agradece la beca de maestría otorgada por la SECIHTI. Los autores agradecen el apoyo técnico brindado por Guillermo Vidriales-Escobar y Juan Pablo Rodas-Ortiz, así como el respaldo técnico recibido de Julián Carrillo-Reyes y José de Jesús Montoya-Rosales, del Instituto de Ingeniería, UNAM, Unidad Académica Juriquilla.

REFERENCIAS

APHA (1997). Standard methods for examination of water and wastewater. Total, fixed and volatile solids in

- solid and semisolid samples. American Public Health Association, Washington D.C., EUA, 59 pp.
- APHA (1998). Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater. Chemical oxygen demand closed reflux colorimetric method. American Public Health Association, Washington D.C., Estados Unidos de América.
- Angelidaki I. y Sanders W. (2004). Assessment of the anaerobic biodegradability of macropollutants. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology* 3 (2), 117-129. <https://doi.org/10.1007/s11157-004-2502-3>
- Aranda-Jaramillo B., García-Depraect O., Aguilar-Juárez O., Archundia-Amador M. y León-Becerril E. (2025). Continuous hydrogen production from cheese whey in a single-stage lactate-driven dark fermentation reactor. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers* 2025, 106307. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2025.106307>
- Davila-Vazquez G., Alatríste-Mondragón F., León-Rodríguez A. y Razo-Flores E. (2008). Fermentative hydrogen production in batch experiments using lactose, cheese whey and glucose: Influence of initial substrate concentration and pH. *International Journal of Hydrogen Energy* 33 (19), 4989-4997. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2008.06.065>
- Dubois M., Gilles K.A., Rebers P.A. y Smith F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry* 28 (3), 350-356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>
- Fuentes-Santiago V., Valdez-Vázquez I., Vital-Jácome M., Zavala-Méndez M., Razo-Flores E. y Carrillo-Reyes J. (2023). Carbohydrates/acid ratios drives microbial communities and metabolic pathways during biohydrogen production from fermented agro-industrial wastewater. *Journal of Environmental Chemical Engineering* 11, 110302. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2023.110302>
- García-Depraect O., Valdez-Vázquez I., Rene E., Gómez-Romero J., López-López A. y León-Becerril E. (2019). Lactate- and acetate-based biohydrogen production through dark co-fermentation of tequila vinasse and nixtamalization wastewater: Metabolic and microbial community dynamics. *Bioresource Technology* 282, 236-244. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.02.100>
- Garrido R., Cabeza L.F. y Falguera V. (2023). Lactic acid production from cow manure: Technoeconomic evaluation and sensitivity analysis. *Fermentation* 9 (10), 901. <https://doi.org/10.3390/fermentation9100901>
- Hasan M.M., Mofijur M., Uddin M.N., Kabir Z., Badruding I.A. y Khan T.M. (2024). Insights into anaerobic digestion of microalgal biomass for enhanced energy recovery. *Frontiers in Energy Research* 12, 1355686. <https://doi.org/10.3389/fenrg.2024.1355686>

- Helal A., Nasuti C., Sola L., Sassi G., Tagliazucchi D. y Solieri L. (2023). Impact of spontaneous fermentation and inoculum with natural whey starter on peptidomic profile and biological activities of cheese whey: A comparative study. *Fermentation* 9 (3), 270. <https://doi.org/10.3390/fermentation9030270>
- Lizárraga-Chaidez M., Mendoza-Sánchez M., Abadía-García L. y García-Pérez J. (2023). El inocente impacto ambiental del suero de la leche. *Epistemus* 18 (35), 88-9
- Mazorra-Manzano M. A., Robles-Porchas G. R., González-Velázquez D. A., Torres-Llanez M. J., Martínez-Porchas M., García-Sifuentes C. O., González-Córdova A. F. y Vallejo-Córdoba B. (2020). Cheese whey fermentation by its native microbiota: Proteolysis and bioactive peptides release with ACE-inhibitory activity. *Fermentation* 6 (1), 19. <https://doi.org/10.3390/fermentation6010019>
- Montoya-Rosales J.J., Palomo-Briones R., Celis L.B., Etchebehere C., Cházaro-Ruiz L.F., Escobar-Barrios V. y Razo-Flores E. (2022). Coping with mass transfer constrains in dark fermentation using a two-phase partitioning biorreactor. *Chemical Engineering Journal* 445, 136749. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.136749>
- Ordoñez-Frías E.J., Muñoz-Paez K.M. y Buitrón G. (2024). Biohydrogen production from fermented acidic cheese whey using lactate: Reactor performance and microbial ecology analysis. *International Journal of Hydrogen Energy* 52 (D), 389-403. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2023.06.307>
- Osorio-González C.S., Sandoval-Salas F., Hernández-Rosas F., Hidalgo-Contreras J.V., Gómez-Merino F. y Ávalos de la Cruz D.A. (2018). Potencial de aprovechamiento del suero de queso en México. *Agro Productividad* 11 (7), 101-106. <https://revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/922>
- Palomo-Briones R., Razo-Flores E., Bernet N. y Trably E. (2017). Dark-fermentative biohydrogen pathways and microbial networks in continuous stirred tank reactors: Novel insights on their control. *Applied Energy* 198, 77-87. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2017.04.051>
- Panghal A., Patidar R., Jaglan S., Chhikara N., Khatkar S.K., Gat Y. y Sindhu N. (2018). Whey valorization: current options and future scenario – a critical review. *Nutrition and Food Science* 48 (3), 520-535. <https://doi.org/10.1108/NFS-01-2018-0017>
- Regueira-Marcos L., García-Depraect O. y Muñoz R. (2023). Elucidating the role of pH and total solids content in the co-production of biohydrogen and carboxylic acids from food waste via lactate-driven dark fermentation. *Fuel* 338, 127238. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2022.127238>
- Regueira-Marcos L., García-Depraect O. y Muñoz R. (2024). Continuous two-stage lactate-driven dark fermentation process for enhanced biohydrogen production from food waste. *Journal of Water Process Engineering* 67, 106116. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2024.106116>
- Salas-Vargas C., Brunett-Pérez L., Espinosa-Ortiz V.E. y Martínez-García C.G. (2021). Environmental impact of Oaxaca cheese production and wastewater from artisanal dairies under two scenarios in Aculco, State of Mexico. *Journal of Cleaner Production* 311, 127586. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.127586>
- Sebastián-Nicolás J.L., González-Olivares L.G., Vázquez-Rodríguez G.A., Lucho-Constantino C.A., Castañeda-Ovando A. y Cruz-Guerrero A.E. (2020). Valorization of whey using a biorefinery. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining* 14 (5), 1010-1027. <https://doi.org/10.1002/bbb.2100>
- SIAP (2023a). Boletín de leche. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. Ciudad de México, México, 4 pp.
- SIAP (2023b). Panorama de la lechería en México. Secretaría de Agricultura y Desarrollo rural. Ciudad de México, México, 3 pp.
- Toledo-Cervantes A., Guevara-Santos N., Arreola-Vargas J., Snell-Castro R. y Mendez-Acosta H.O. (2018). Performance and microbial dynamics in packed-bed reactors during the long-term two-stage anaerobic treatment of tequila vinasses. *Biochemical Engineering Journal* 138, 12-20. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2018.06.020>
- Villegas-Rodríguez S., Arreola-Vargas J. y Buitrón G. (2025). Influence of pH and temperature on the performance and microbial community during the production of medium-chain carboxylic acids using winery effluents as substrate. *Environmental Science and Pollution Research* 32, 16617-16626. <https://doi.org/10.1007/s11356-024-33103-5>
- Wang Y., Wu J., Lv M., Shao Z., Hungwe M., Wang J., Bai X., Xie J., Wang Y. y Geng W. (2021). Metabolism characteristics of lactic acid bacteria and the expanding applications in food industry. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* 9, 612285. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.612285>