IDEAS EN CIENCIAS DE LA INGENIERÍA

Tratamiento biotecnológico de lactosuero con *Kluyveromyces marxianus*: reducción de la carga orgánica y valorización de subproductos

Biotechnological treatment of cheese whey with *Kluyveromyces marxianus*: organic load reduction and by-product valorization

L. Conde-Báez[1] *, C. A. Gómez-Aldapa[2], J. Castro-Rosas[2], C. F. Pineda-Muñoz[1]
(*lcondebaez@gmail.com)

Recibido: 16 de septiembre de 2026 Aceptado: 13 de octubre de 2026

Resumen

El lactosuero dulce es un subproducto de la industria quesera, que constituye un vertido de elevada carga orgánica (DQO: 50,000-55,000 mg O_2/L; DBO: 30-50 g/L) excediendo ampliamente los límites de descarga establecidos por la normativa ambiental mexicana. En el Valle de Tulancingo, Hidalgo, se estima que se generan alrededor de 80,000 L diarios de este efluente que se vierte sin tratamiento sobre suelos y cuerpos de agua, provocando eutrofización y disminución del oxígeno disuelto en los ecosistemas acuáticos receptores. Este trabajo evalúa la fermentación de lactosuero crudo con la levadura *Kluyveromyces marxianus* como estrategia de tratamiento biotecnológico optimizada mediante Metodología de Superficie de Respuesta (MSR) con un Diseño Compuesto Central. Bajo condiciones óptimas (4.50 g/L de L-fenilalanina, 0.76 g/L de $(NH_4)_2SO_4$, 28 °C, pH 4.8), se alcanzó una remoción de DQO de hasta un 76 % en 96 horas y una remoción de lactosa del 99.4 %, transformando un efluente no apto para descarga, en un residuo ambientalmente manejable. El proceso genera simultáneamente 2-feniletanol (1.1 g/L), bioetanol (hasta 25.13 g/L) y acetato de isoamilo (0.923 g/L), subproductos de valor comercial que contribuyen a financiar el costo del tratamiento sin comprometer su función ambiental primaria. Los resultados demuestran que la fermentación con *K. marxianus* constituye una alternativa de tratamiento de bajo costo y alto co-beneficio para efluentes lácteos de elevada carga orgánica, con potencial de escalamiento en otras regiones queseras del país.

[1]Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Guerrero, Chilpancingo, Guerrero, México.
[2]Área Académica de Química, Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Mineral de la Reforma, Hidalgo, México.

Palabras clave: tratamiento de aguas residuales, demanda química de oxígeno, valorización de residuos

ABSTRACT

Sweet cheese whey is a by-product of the dairy industry characterized by a high organic load (COD: 50,000-55,000 mg O_2/L; BOD: 30-50 g/L), far exceeding the discharge limits set by Mexican environmental regulations. In the Tulancingo Valley, Hidalgo, an estimated 80,000 L per day of this effluent are discharged untreated onto soils and water bodies, causing eutrophication and a reduction in dissolved oxygen in receiving aquatic ecosystems. This study evaluates the fermentation of raw sweet whey with the yeast *Kluyveromyces marxianus* as a biotechnological treatment strategy, optimized through Response Surface Methodology (RSM) using a Central Composite Design. Under optimal conditions (4.50 g/L L-phenylalanine, 0.76 g/L $(NH_4)_2SO_4$, 28 °C, pH 4.8), a COD removal of up to 76 % was achieved within 96 hours, along with a 99.4 % lactose removal, converting a discharge unsuitable for release into an environmentally manageable residue. The process simultaneously yields 2- phenylethanol (1.1 g/L), bioethanol (up to 25.13 g/L) and isoamyl acetate (0.923 g/L), commercially valuable by-products that help offset the cost of treatment without compromising its primary environmental function. The results show that *K. marxianus* fermentation is a low-cost, high co-benefit treatment alternative for high-organic-load dairy effluents, with scale-up potential in other cheese-producing regions of Mexico.

Keywords: wastewater treatment, chemical oxygen demand, waste valorization

INTRODUCCIÓN

La industria quesera genera como subproducto el lactosuero dulce, un efluente de elevada carga orgánica cuya disposición inadecuada constituye uno de los principales pasivos ambientales del sector lácteo en México. Se estima que, en el Valle de Tulancingo, Hidalgo, una de las principales cuencas queseras del país, se producen anualmente 164.25 millones de litros de lactosuero, de los cuales aproximadamente 80,000 litros diarios se vierten sin tratamiento previo sobre suelos agrícolas y cuerpos de agua [1]. Este vertido presenta valores de la Demanda Química de Oxígeno (DQO) de entre 50,000 y 55,000 mg O_2/L y de la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) de entre 30 y 50 g/L, cifras que exceden ampliamente los límites máximos permisibles establecidos por la Norma Oficial Mexicana NOM-001-SEMARNAT-2021 para descargas de aguas residuales en cuerpos receptores nacionales [2]. Estos valores son consistentes con los reportados internacionalmente para lactosuero de quesería, incluyendo caracterizaciones recientes en el este de África que confirman perfiles composicionales comparables en términos de lactosa y carga orgánica [3]. Las consecuencias documentadas de esta

https://doi.org/10.36677/rici.v4i3.29710 ISSN: 2992-7447 Noviembre 2026 - Febrero 2027 págs. 106- 121

descarga no regulada incluyen consumo acelerado de oxígeno disuelto, eutrofización, formación de espumas y grasas flotantes, salinización de suelos y generación de olores desagradables, con impactos negativos sobre la biodiversidad acuática y la calidad de vida de las comunidades aledañas [4]. La diversidad de tratamientos convencionales desarrollados para los efluentes lácteos (lodos activados, lagunas de oxidación, tratamiento anaerobio, procesos electroquímicos, nanofiltración y el uso de nanomateriales avanzados) suelen generar elevados costos de operación sin generar ningún retorno económico, lo que impide su adopción por parte de productores queseros de pequeña y mediana escala. Cabe señalar que procesos convencionales como la digestión anaerobia pueden operar a menor costo relativo al no requerir la adición de oxígeno, incluso en lactosuero del mismo Valle de Tulancingo [5, 6]; sin embargo, no genera productos de valor comercial que retornen parte de la inversión operativa, a diferencia de las alternativas fermentativas dirigidas a la coproducción. Entre las alternativas de creciente interés se encuentra el tratamiento biotecnológico mediante fermentación microbiana, en el cual la remoción de carga orgánica ocurre como consecuencia directa del metabolismo microbiano, generando simultáneamente productos de valor comercial que pueden financiar parcial o totalmente el costo del tratamiento. La cepa de *Kluyveromyces marxianus* ITD00262 empleada en este trabajo expresa la enzima β-galactosidasa (LAC4) que le permite metabolizar directamente la lactosa del lactosuero sin pre-tratamientos costosos [7]. Trabajos previos del grupo de investigación han demostrado que esta levadura, al fermentar lactosuero dulce crudo bajo condiciones optimizadas, reduce significativamente la carga orgánica del efluente mientras genera 2-feniletanol, bioetanol y acetato de isoamilo como productos de valor añadido [8–10]. Otros microorganismos (microalgas, levaduras y bacterias) han sido igualmente explorados como plataformas de tratamiento biotecnológico del lactosuero mediante la acumulación de lípidos microbianos con potencial para biodiésel, lo que confirma el interés creciente por estrategias fermentativas que combinan remoción de carga orgánica con valorización de subproductos [11]. El objetivo del presente trabajo es evaluar el desempeño de la fermentación con *K. marxianus* como estrategia de tratamiento biotecnológico del lactosuero dulce del Valle de Tulancingo, cuantificando la remoción de carga orgánica (DQO) bajo condiciones optimizadas mediante Metodología de Superficie de Respuesta, y analizando la valorización de subproductos como mecanismo de sostenibilidad económica del tratamiento. El alcance del trabajo se limita a la etapa de fermentación y a la evaluación conceptual de la etapa de separación de subproductos, quedando la validación a escala piloto como línea de investigación futura.

Materiales y métodos

Preparación y caracterización del lactosuero

El lactosuero dulce empleado en los experimentos fue suministrado por empresas lácteas del Valle

de Tulancingo, Hidalgo. Se caracterizó fisicoquímicamente determinando la DQO, contenido de lactosa, proteínas, minerales, grasa y pH, conforme a métodos estándar reportados previamente [8, 12]: la DQO se determinó por digestión de reflujo cerrado con dicromato de potasio y sulfato de plata, con lectura colorimétrica a 620 nm tras 2 h de digestión a 150 °C; la lactosa residual se cuantificó por el método del ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS). El lactosuero dulce crudo empleado presentó una DQO de 51,833 $\pm$3,790.96 mgO_2/L, una concentración de lactosa de 52.90 $\pm$ 3.87 g/L, pH 5.9 $\pm$ 0.02, 0.80 $\pm$ 0.10 % de proteína, 0.59 $\pm$ 0.03 % de minerales y 0.3 $\pm$ 0.05 % de grasa.

La eficiencia de remoción del sistema para cada parámetro se calculó con la Ec. (1):

$$E = \frac{S_0 - S}{S_0} \times 100 \tag{1}$$

Donde E es la eficiencia de remoción de sistema (%), S es la carga contaminante de salida (mg DQO, DBO_5 o SST/L) y S_o es la carga contaminante de entrada (mg DQO, DBO_5 o SST/L) [13].

Se empleó la levadura *Kluyveromyces marxianus* ITD00262 en fermentaciones batch utilizando lactosuero dulce crudo (sin diluir) como único medio de cultivo, sin pre-tratamiento ni suplementos adicionales de costo elevado más allá del precursor L-fenilalanina y, en algunas formulaciones, sulfato de amonio como fuente nitrogenada suplementaria [8, 9].

Preparación del inóculo

Para la preparación del inóculo, la cepa se reactivó en medio LPY sólido (2 % lactosa, 2 % peptona de caseína, 1 % extracto de levadura, 1 % agar) incubado a 28 °C durante 24 h. Posteriormente, una asada de la colonia se transfirió a un matraz Erlenmeyer de 250 mL con 100 mL de caldo LPY a pH 4.8, incubado en agitación orbital durante 12 h. Las fermentaciones se realizaron bajo condiciones de microaerofilia (limitación de oxígeno), sin aireación forzada ni control de oxígeno disuelto, consistente con matraces y microbiorreactores cerrados en agitación orbital. Las condiciones empleadas en este estudio son consistentes con el metabolismo respiro-fermentativo de *K. marxianus*, que permite la coproducción simultánea de biomasa, etanol y 2-feniletanol observada. La densidad del inóculo se determinó por conteo directo en cámara de Neubauer, ajustando la concentración final a 1×10^6 células/mL en cada biorreactor. Todos los experimentos se realizaron por triplicado (desviación estándar). El análisis estadístico se realizó mediante ANOVA factorial con prueba post hoc Tukey (software Statistica®, nivel de confianza del 95 %), considerando diferencias significativas cuando $p < 0.05$.

Modelado cinético del crecimiento microbiano

El crecimiento celular se monitoreó mediante conteo directo en cámara de Neubauer cada 24 h durante

https://doi.org/10.36677/rici.v4i3.29710 ISSN: 2992-7447 Noviembre 2026 - Febrero 2027 págs. 106- 121

96 h. Los datos experimentales de biomasa (Log_{10} UFC/mL) se ajustaron de forma independiente a los modelos no lineales de Gompertz, Logístico y Richards [14, 15], mediante regresión no lineal con el algoritmo de Marquardt (OriginPro v8.1, Northampton, MA, EUA; intervalo de confianza del 95 %), obteniendo los parámetros de cada modelo a partir de los cuales se calcularon la velocidad específica máxima de crecimiento (μ_{max}), la fase de latencia (λ) y la asíntota superior (A). El tiempo de generación (t_g) se calculó de acuerdo con Garre et al. [15]: $tg = Log_{10}(2) / \mu_{max}$. Para la velocidad específica de crecimiento obtenida con el modelo Monod (μm, h^{-1}; Tabla 4), el tiempo de generación se calculó como $tg = \ln(2)/\mu m$.

Parámetros cinéticos de fermentación (modelo Monod)

Los parámetros cinéticos de la fermentación —velocidad específica de crecimiento (μ), rendimiento de biomasa sobre sustrato ($Y_{x/s}$), rendimiento de producto sobre sustrato ($Y_{p/s}$), velocidad de formación de producto (r_p), velocidad de crecimiento celular (r_g) y velocidad de consumo de sustrato ($-r_s$) — se determinaron considerando un reactor intermitente (batch) isotérmico de volumen constante, mediante balance molar diferencial. Dado que se ha reportado un efecto inhibitorio del 2-feniletanol sobre la velocidad de crecimiento [16], se empleó la Ec. (2) de Monod modificada para inhibición por producto:

$$r_g = \frac{K_{obs}\,\mu_m\,C_s\,C_x}{K_s + C_s} \tag{2}$$

Donde $K_{obs}=(1-C_p/C_p^*)^{n}$, siendo C_p^* la concentración de producto a la cual cesa el metabolismo. Mientras que K_s es la constante de saturación. El rendimiento $Y_{p/s}$ se calculó como la masa de producto formado por unidad de masa de sustrato consumido.

Diseño experimental y optimización

La optimización de las condiciones de fermentación para maximizar la remoción de DQO y la producción de 2-feniletanol se realizó mediante Metodología de Superficie de Respuesta (MSR) con un Diseño Compuesto Central (DCC) rotable [17], evaluando como variables independientes la concentración de L-fenilalanina (precursor) y de sulfato de amonio. El diseño contempló 12 tratamientos, incluyendo cuatro puntos centrales y puntos axiales a una distancia $\alpha = \pm 1.41$. La producción de 2-feniletanol se monitoreó cada 24 horas durante 96 horas mediante cromatografía de gases con detector de ionización de llama (FID; columna capilar DB-WAX de 60m x 0.25 mm x 0.25 μm, gas acarreador nitrógeno a 1 mL/ min, volumen de inyección de 2 μL, temperaturas de inyector y detector de 220 °C y 250 °C, respectivamente), con identificación y cuantificación por comparación con estándares de referencia [8]. La remoción de DQO y de lactosa residual se determinó a las 96 horas de fermentación. La lactosa residual y el etanol se cuantificaron mediante cromatografía de líquidos de alta resolución

(HPLC) en un equipo Agilent® 1100, provisto de un inyector automático y un detector de índice de refracción, equipado con una columna SEPAX Carbomix H-NP10:8 % (7.8 x 300 mm), con un flujo de 0.4 mL/min. Los compuestos se identificaron y cuantificaron por comparación con estándares de referencia. La inyección de las muestras se realizó por duplicado.

Adicionalmente, en una serie experimental independiente del DCC, se evaluaron seis formulaciones (F1-F6; pH 4.8, 30 °C, 180 rpm) variando las concentraciones de sulfato de amonio y L-fenilalanina para cuantificar la producción simultánea de bioetanol (Tabla 1), siguiendo la metodología reportada en [9]. La producción de acetato de isoamilo se determinó en fermentaciones batch de 96 horas a 28 °C y pH 4.8, monitoreando lactosa residual, biomasa, acetato de isoamilo y bioetanol cada 24 horas. El acetato de isoamilo se cuantificó por GC-FID (columna DB-WAX de 60m x 0.25 mm x 0.25 μm, gas acarreador nitrógeno a 1 mL/ min; rampa de temperatura de horno de 150 a 200 °C a 5 °C/min), identificando y cuantificando los compuestos por comparación con estándares de referencia [10, 18]. La identidad estructural del 2-feniletanol y la composición anomérica de la lactosa se confirmaron por espectroscopía de RMN de ^{1}H. Las muestras de lactosuero fermentado se centrifugaron a 6000 rpm por 6 min y se mantuvieron a 60 °C por 30 min para evaporar el exceso de humedad. Para la confirmación del 2-feniletanol, las muestras se disolvieron en 1 mL de cloroformo deuterado ($CDCl_3$); para el análisis de la composición anomérica de la lactosa, las muestras se disolvieron en óxido de deuterio (D_2O). Los espectros se obtuvieron en un espectrómetro de resonancia magnética nuclear Varian NMR de 400 MHz.

Tabla 1. Formulaciones evaluadas para la producción simultánea de bioetanol, variando las concentraciones de L-fenilalanina y sulfato de amonio.

Formulación	L-fenilalanina (g/L)	$(NH_4)_2SO_4$ (g/L)	Condiciones
F1	0	0	pH 4.8, 180 rpm, 30 °C
F2	0.50	0	pH 4.8, 180 rpm, 30 °C
F3	1.00	0	pH 4.8, 180 rpm, 30 °C
F4	1.00	0.45	pH 4.8, 180 rpm, 30 °C
F5	1.00	0.90	pH 4.8, 180 rpm, 30 °C
F6	1.00	1.35	pH 4.8, 180 rpm, 30 °C

Fuente: [9].

Diseño conceptual de la etapa de separación

Se retomó el diseño de proceso de separación desarrollado mediante simulación en Aspen Plus v.10 (modelo termodinámico UNIQUAC) reportado en [19], que contempla una columna de extracción líquido-líquido con acetato de etilo como solvente, seguida de dos columnas de destilación para la recuperación del producto y del solvente. Este diseño se retoma como referencia conceptual para dimensionar la etapa de recuperación de subproductos, sin que su validación experimental a escala piloto

https://doi.org/10.36677/rici.v4i3.29710 ISSN: 2992-7447 Noviembre 2026 - Febrero 2027 págs. 106- 121

forme parte del alcance del presente trabajo.

Resultados y discusión

Bajo las condiciones óptimas identificadas por el modelo de superficie de respuesta (4.50 g/L de L-fenilalanina, 0.76 g/L de $(NH_4)_2SO_4$, 28 °C, 245 rpm, pH 4.8), la fermentación con *K. marxianus* alcanzó una remoción de DQO de 76 % a las 96 horas y una remoción de lactosa de 99.4 % [8]. La composición anomérica de la lactosa presente en el lactosuero dulce se determinó por RMN de ^{1}H (400 MHz, D_2O) (Figura 1). La integración de las señales anoméricas características (un doblete en 5.06 ppm (J=3.5 Hz) para la α -lactosa y dobletes en 4.3 – 4.5 ppm (J=7.9 Hz) para la β -lactosa) indicó una proporción de 82.35 % de β -lactosa y 17.64 % de α -lactosa [18]. Esta predominancia de la forma β podría explicar, al menos parcialmente, la eficiencia del consumo de lactosa observada durante la fermentación con *K. marxianus*, dado que la β-D-galactosidasa (LAC4) de esta levadura hidroliza preferentemente el anómero β, mientras que el consumo del anómero α depende de su mutarrotación espontánea a la forma β del medio de cultivo.

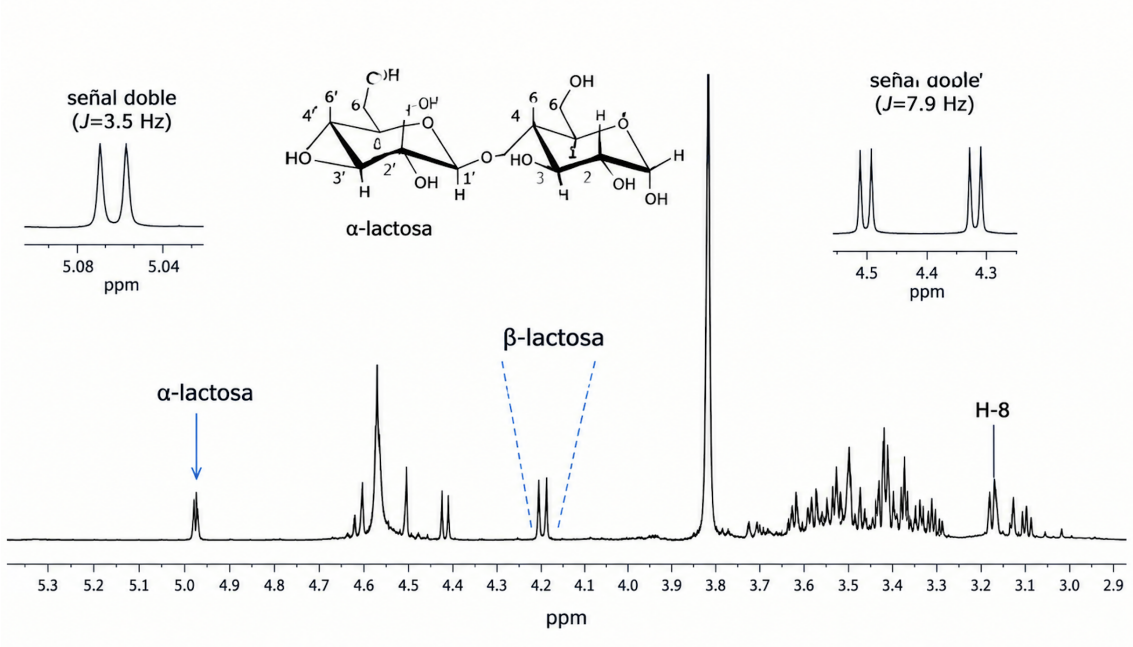


FIGURA 1. Espectro de RMN de ^{1}H a 400 MHz en D_2O de la lactosa del lactosuero dulce.

Los resultados mostraron que el efluente fermentado presenta una carga contaminante cuatro veces menor que el lactosuero sin tratamiento (Tabla 2), lo que reduce sustancialmente el costo y la complejidad de cualquier tratamiento posterior requerido antes de su descarga, y permite acercar el efluente tratado a los límites establecidos por la NOM-001-SEMARNAT-2021 [2]. En el proceso fermentativo aquí

evaluado, en cambio, la remoción y la generación de productos comercializables ocurren de forma simultánea [8, 9]. Los modelos polinomiales de segundo orden mostraron un buen ajuste (R^2 = 0.78 y 0.88), y el análisis de varianza confirmó que la concentración de L-fenilalanina influye de manera estadísticamente significativa ($p < 0.05$) sobre la producción del subproducto principal.

Tabla 2. Condiciones óptimas de fermentación y remoción de carga orgánica obtenidas mediante MSR-DCC.

Parámetro	Valor
L-fenilalanina (precursor)	4.50 ± 0.12 g/L
$(NH_4)_2SO_4$ (sal nitrogenada)	0.76 ± 0.09 g/L
Temperatura / pH de fermentación	28 °C / pH 4.8
Remoción de DQO	76 % a 96 h
Remoción de lactosa	99.4 % a 96 h
Producción máxima de 2-feniletanol	1.1 ± 0.07 g/L (48–72 h)

Tabla 3. Remoción de la DQO a las 96 h en el control sin suplementos (F1) y en las formulaciones con 1.00 g/L de L-fenilalanina y distintas concentraciones de $(NH_4)_2SO_4$ (F4–F6).

Formulación	$(NH_4)_2SO_4$ (g/L)	L-fenilalanina (g/L)	DQO inicial (mgO_2/L)	DQO final 96 h (mgO_2/L)	Eficiencia de remoción (%)
F1	0	0	51,833 ± 3790.96	16,472 ± 277.31	68.22
F4	0.45	1.00	41,344 ± 994.32	5,083 ± 1184.06	87.72
F5	0.90	1.00	50,583 ± 3033.21	1,222 ± 45.36	97.58
F6	1.35	1.00	37,027 ± 622.58	10,750 ± 1784.34	70.97

El grupo evaluó seis formulaciones en total. En tres de ellas (F4-F6) se varió únicamente la concentración de sulfato de amonio (0.45, 0.90 y 1.35 g/L), manteniendo fija la concentración de L-fenilalanina en 1.00 g/L, y se compararon con el control sin suplementos (F1) [9] (Tabla 3). La relación entre la dosis de sulfato de amonio y la eficiencia de remoción de la DQO no fue monotónica: con 0.90 g/L (F5) se obtuvo la máxima remoción (97.58 %), mientras que la dosis más alta evaluada (1.35 g/L, F6) redujo la eficiencia a 70.97 % un valor incluso menor que el obtenido con 0.45 g/L (87.72 %, F4). Este comportamiento sugiere un efecto de inhibición a concentraciones elevadas de sulfato de amonio sobre la actividad metabólica de *K. marxianus*, consistente con lo reportado en [9, 20] para la producción de bioetanol bajo condiciones similares.

Entre las formulaciones orientadas a maximizar la producción de bioetanol como coproducto, F3 (1.00 g/L de L-fenilalanina, sin sulfato de amonio, 48 h) alcanzó una remoción de DQO de 76.5 % superando incluso a la formulación de mayor rendimiento en bioetanol (F6: 70.97 % de remoción a 96 h;

https://doi.org/10.36677/rici.v4i3.29710 ISSN: 2992-7447 Noviembre 2026 - Febrero 2027 págs. 106- 121

Tabla 3) [9]. Estos resultados muestran que existe un margen de optimización específico para maximizar simultáneamente la remoción de la carga orgánica y la producción de subproductos, considerando el tiempo de fermentación y la formulación nutricional empleada, lo que resulta relevante para el diseño de un proceso de tratamiento orientado a la remoción de contaminación. Bajo las condiciones evaluadas, la misma plataforma simultáneamente produjo 2-feniletanol (hasta 1.1 g/L a 48-72 h), bioetanol (hasta 25.13 g/L) y acetato de isoamilo (0.923 g/L a 96 h) [8–10]. Estos rendimientos son consistentes con lo reportado para *K. marxianus* en sustratos de lactosuero: el título de 2-feniletanol se ubica dentro del rango medio reportado en la literatura para esta levadura, que va de valores cercanos a 1 g/L hasta 2.55 g/L bajo condiciones de co-cultivo optimizadas [21], mientras que el bioetanol obtenido (25.13 g/L) es comparable con el reportado recientemente para levaduras del género *Kluyveromyces* en lactosuero dulce (24.85 g/L) [22]. Destaca particularmente la producción de acetato de isoamilo (923 mg/L), muy superior a los 160 mg/L reportados por el grupo utilizando la misma cepa ITD00262 en otros tipos de lactosuero [18], lo que sugiere que la composición específica del lactosuero dulce crudo del Valle de Tulancingo favorece la síntesis del éster.

La identidad del 2-feniletanol producido se confirmó mediante espectroscopía de RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) (Figura 2). El espectro mostró señales características del anillo aromático monosustituido entre 7.15 y 7.36 ppm, consistentes con los cinco hidrógenos aromáticos de la molécula. Los hidrógenos alifáticos se observaron como dos señales triples (J= 6.4 Hz) en 2.88 ppm, correspondientes a los hidrógenos del metileno unido al anillo aromático (CH_2-Ar, H-7), y en 3.87 ppm, correspondientes a los hidrógenos del metileno unido al grupo hidroxilo (CH_2-OH, H-8). El patrón de acoplamiento triple-triple entre ambos metilenos confirma la estructura de cadena hidroxietílica característica del 2-feniletanol.

Estos compuestos poseen aplicaciones industriales consolidadas permitiendo reforzar la viabilidad económica del proceso. El 2-feniletanol es ampliamente utilizado como aditivo alimentario, en productos cosméticos y de limpieza del hogar, así como perfumería, debido a su característico aroma a rosas [16, 23]. El acetato de isoamilo, de aroma a plátano, se emplea principalmente en las industrias alimentaria y farmacéutica como saborizante; su producción por vía fermentativa responde a la creciente preferencia del mercado por aromas etiquetados como “naturales” frente a la síntesis petroquímica convencional [10, 18]. El bioetanol producido, además de su potencial como biocombustible, es apto para su uso en las industrias alimentaria, de bebidas, farmacéutica y cosmética [9, 20]. El 2-feniletanol, con valor de mercado superior a USD 1,000/kg [16, 23], junto con el bioetanol y el acetato de isoamilo como coproductos adicionales, constituye un mecanismo de recuperación de costos que puede hacer económicamente más atractiva la adopción del tratamiento por parte de productores queseros, para quienes los tratamientos convencionales representan únicamente un costo neto; una evaluación económica preliminar del proceso integrado estima un costo de producción de USD 144.46/kg de 2-

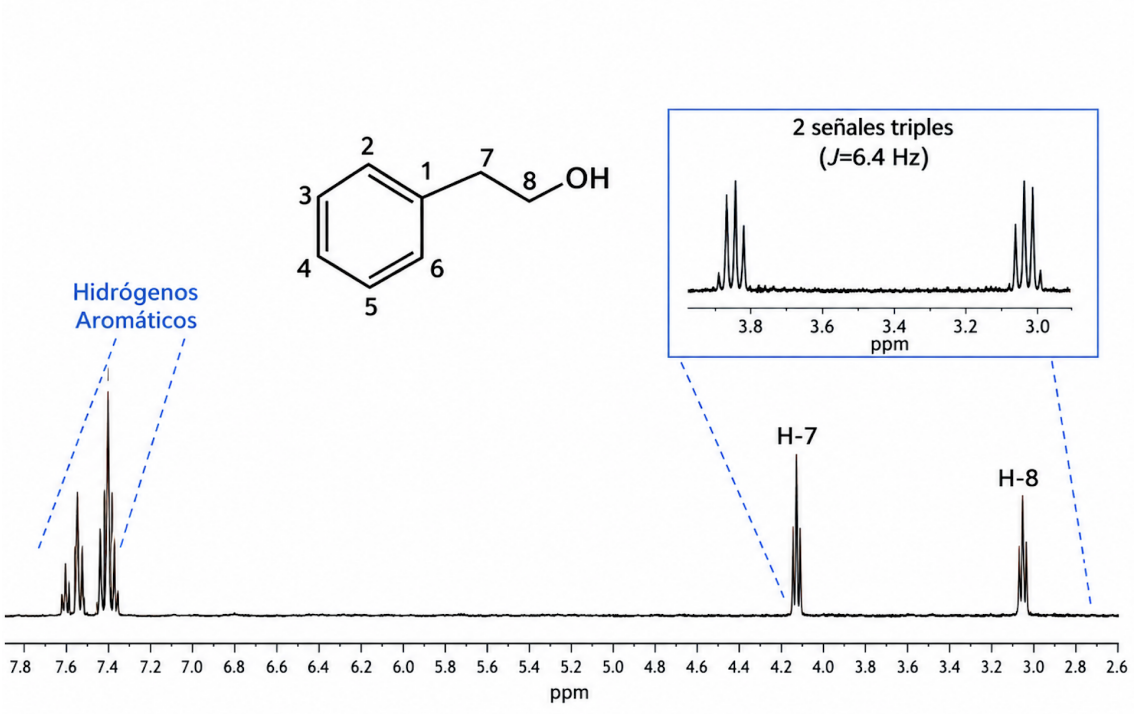


FIGURA 2. Espectro de RMN de ^{1}H a 400 MHz en $CDCl_3$ del compuesto 2-feniletanol en cinéticas de lactosuero dulce en la formulación F5 (0.90 g/L de $(NH_4)_2SO_4$ y 1.00 g/L de L-fenilalanina) a 30 °C/180 rpm.

https://doi.org/10.36677/rici.v4i3.29710 ISSN: 2992-7447 Noviembre 2026 - Febrero 2027 págs. 106- 121

feniletanol frente a un precio de mercado de USD 1,000/kg [1, 19]. Como limitación, los coeficientes R^2 de los modelos (0.78-0.88) dejan margen de mejora incorporando variables adicionales (pH, aireación) en futuras etapas de optimización, y la validación del proceso a escala piloto.

Adicional a la remoción de la DQO, se determinaron los parámetros cinéticos de la fermentación para las formulaciones F2-F6 (Tabla 1), monitoreando 2-feniletanol, lactosa residual, etanol y biomasa cada 24 h durante 96 h (Tabla 4). Bajo el esquema de separación descrito en la metodología [19] (Figura 3), el 2-feniletanol se recupera como producto de fondo de la primera columna de destilación con una pureza de 96.9 % en peso y una recuperación de 99.99 %, mientras que la segunda columna recupera el solvente con 95 % de recuperación y 88.1 % de pureza, de modo que el acetato de etilo fresco requerido representa solo 1.16 % del solvente total tras la recirculación. El costo operativo estimado para esta etapa de separación fue de USD 22.70 por kilogramo de 2-feniletanol [19], que sumado al costo de producción por fermentación reportado previamente por el grupo (USD 121.76 kg^{-1}), arroja un costo total estimado de USD 144.46 kg^{-1} considerablemente menor al precio de mercado del 2-feniletanol natural (USD 1000 Kg^{-1}), lo que sugiere un potencial económico favorable para la valorización de este subproducto de la fermentación de lactosuero, en línea con desarrollos recientes que reducen los costos y el consumo energético de la recuperación del 2-feniletanol mediante esquemas de destilación intensificada [24].

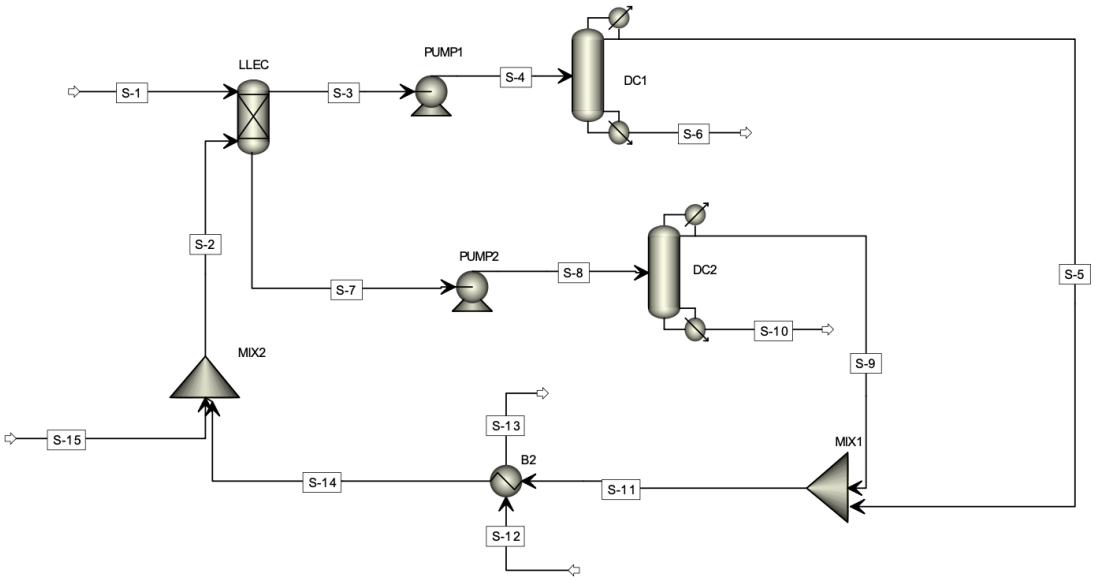


FIGURA 3. Diagrama de flujo de proceso de separación de 2-feniletanol propuesto. Reproducido de Puga-Córdova et al. [19].

El mayor rendimiento de biomasa ($Y_{x/s}$) y la mayor tasa de formación de producto (r_p) se observaron en F5 (0.90 g/L de $(NH_4)_2SO_4$), consistente con la máxima remoción de la DQO (97.58 %) reportada

para esta misma formulación. En F6 (1.35 g/L de $(NH_4)_2SO_4$) se observó una disminución en r_p y μm, lo que refuerza la hipótesis de inhibición metabólica por exceso de amonio ya discutida. Con el fin de caracterizar matemáticamente la cinética de crecimiento de *K. marxianus* en lactosuero dulce, los datos experimentales de biomasa (Log_{10} UFC/mL) se ajustaron a los modelos no lineales de Gompertz, Richards y Logístico (Figura 4).

Tabla 4. Parámetros cinéticos de la fermentación de lactosuero dulce en las formulaciones F2–F6 (Tabla 1) a pH 4.8, 30 °C y 180 rpm.

Parámetro	F4 (0.45 g/L $(NH_4)_2SO_4$)	F5 (0.90 g/L $(NH_4)_2SO_4$)	F6 (1.35 g/L $(NH_4)_2SO_4$)	F2 (0.5 g/L L-fenilalanina)	F3 (1.00 g/L L-fenilalanina)
2-FE (mg/L)	780	995	718	320	437
Etanol (g/L)	24	14	25.13	19	24
r_p (g L^{-1} h^{-1})	0.72	1.14	0.32	0.24	0.34
$-r_s$ (g L^{-1} h^{-1})	1.07	1.26	1.35	1.34	1.27
μ_m (h^{-1})	0.098	0.27	0.11	0.19	0.21
t_g (h)	7.07	2.57	6.30	3.65	3.30
$Y_{x/s}$ (g/g)	0.30	0.22	0.42	0.28	0.44
Lactosa residual (g/L)	0.30	0.45	0.70	0.81	1.72

El modelo de Richards presentó el mejor ajuste (R^2=0.98), seguido del modelo Logístico (R^2=0.96) y Gompertz (R^2=0.95). De acuerdo con el modelo de Richards, la velocidad específica máxima de crecimiento (μ_{max}) fue de 0.18 h^{-1}, con una fase de latencia (λ) de 0.29 h y un tiempo de generación (tg) de 1.67 h, consistentes con una adaptación rápida de la levadura al sustrato y una fase exponencial de crecimiento bien definida entre las 24 y 48 h de fermentación, en concordancia con la máxima velocidad de remoción de la DQO observada en este mismo intervalo.

CONCLUSIONES Y LÍNEAS ABIERTAS

Bajo condiciones optimizadas mediante Metodología de Superficie de Respuesta, la fermentación de lactosuero dulce crudo con *Kluyveromyces marxianus* removió hasta 76 % de la DQO y 99.4 % de lactosa en 96 horas. Esto convierte un efluente que excede ampliamente los límites normativos mexicanos y de alta carga orgánica, en un residuo ambientalmente manejable, posicionando al proceso como una alternativa de tratamiento biotecnológico viable. La generación simultánea de 2-feniletanol, bioetanol y acetato de isoamilo como subproductos de valor comercial, ofrece un mecanismo de recuperación de costos que puede facilitar la adopción de este tratamiento por parte de productores lácteos de pequeña y mediana escala, para quienes los tratamientos convencionales representan únicamente un costo. Quedan pendientes al menos tres líneas de trabajo futuro. Primero, la validación del proceso de fermentación y

https://doi.org/10.36677/rici.v4i3.29710 ISSN: 2992-7447 Noviembre 2026 - Febrero 2027 págs. 106- 121

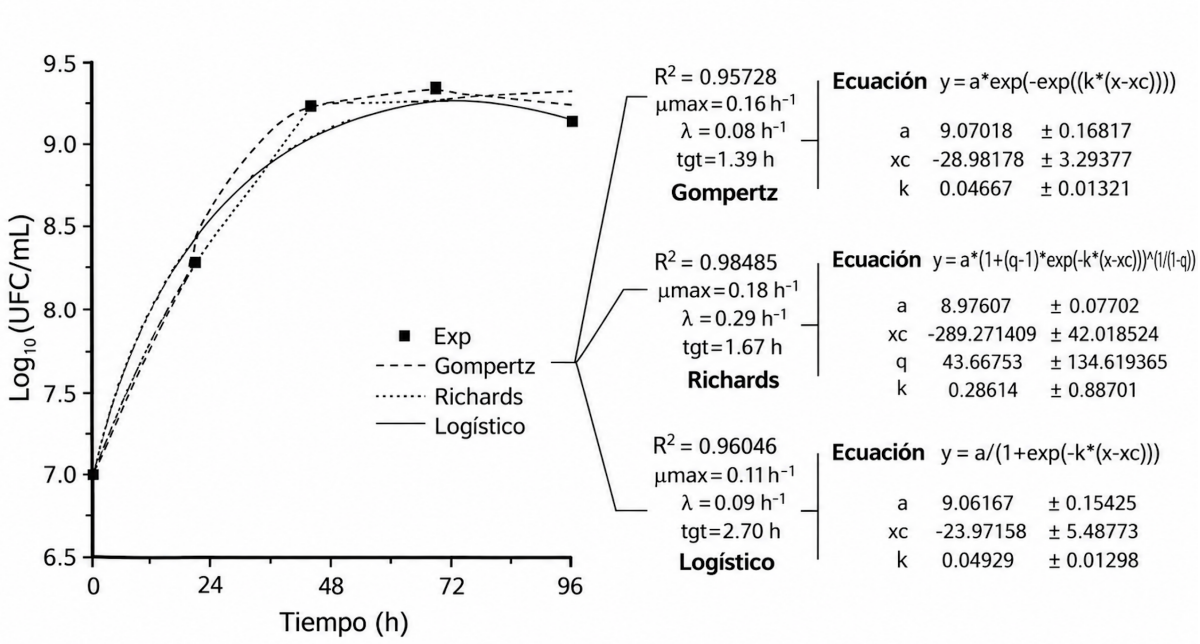


FIGURA 4. Ajuste de los modelos Gompertz, Richards y Logístico al crecimiento de *K. marxianus* en lactosuero dulce a pH 4.8, 30 °C, 180 rpm.

separación a escala piloto. Segundo, la incorporación de variables adicionales (pH, aireación) al diseño experimental, con el fin de mejorar la capacidad predictiva de los modelos. Y tercero, la búsqueda de fuentes alternativas o de menor costo para la L-fenilalanina, precursor que concentra la mayor parte del costo operativo del proceso.

Declaración de contribución de autores y colaboradores

L. Conde-Báez: Conceptualización, Metodología, Investigación, Redacción. C.A. Gómez Aldapa: Análisis formal, Curación de datos, Redacción – revisión y edición. J. Castro Rosas: Recursos, Supervisión, Validación. C.F. Pineda-Muñoz: Conceptualización, Metodología, Investigación, Redacción.

DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores declaran no tener conflictos de intereses financieros ni relaciones personales conocidos que pudieran haber influido en el trabajo presentado en este artículo.

REFERENCIAS

[1] F. T. A. Jorge et al., "Biotechnological production of 2-phenylethanol from agroindustrial byproducts: Experimental evaluation, techno-economic analysis, and life cycle assessment," *Biofuels, Bioprod. Biorefining*, vol. 19, no. 4, pp. 1190-1203, 2025, DOI: 10.1002/bbb.2815.

[2] Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, "NOM-001-SEMARNAT-2021, que establece los límites permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en cuerpos receptores propiedad de la nación," *Diario Oficial de la Federación*, México, 2022.

[3] S. L. M. A. Omollo, J. M. Nduko, S. Bolwig, P. R. Jensen, and B. O. Bebe, "Quality characteristics of cheese whey from Kenyan dairy processors and their suitability for downstream valorisation," *J. Food Compos. Anal.*, vol. 157, Art. no. 109369, 2026, DOI: 10.1016/j.jfca.2026.109369.

[4] M. P. Giulianetti de Almeida, G. Mockaitis, and D. G. Weissbrodt, "Got whey? Sustainability endpoints for the dairy industry through resource biorecovery," *Fermentation*, vol. 9, no. 10, Art. no. 897, 2023, DOI: 10.3390/fermentation9100897.

[5] W. J. Guerrero-Rodríguez, P. Castilla-Hernández, K. N. Cárdenas-Medina, C. A. Gómez-Aldapa, and J. Castro-Rosas, "Degradación anaerobia de dos tipos de lactosuero en reactores UASB," *Tecnol. Quím.*, vol. 32, no. 1, pp. 99–106, 2012. [En línea]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-61852012000100012

[6] A. R. Azkarahman, D. Cysneiros, A. Chatzifragkou, and K. A. G. Karatzas, "From waste to resource: A review on advancing whey permeate valorization through anaerobic digestion," *J. Environ. Manage.*, vol. 395, Art. no. 127695, 2025, DOI: 10.1016/j.jenvman.2025.127695.

[7] M. Bilal, L. Ji, Y. Xu, S. Xu, Y. Lin, H. M. N. Iqbal, and H. Cheng, "Bioprospecting Kluyveromyces marxianus as a robust host for industrial biotechnology," *Front. Bioeng. Biotechnol.*, vol. 10, Art. no. 851768, 2022, DOI: 10.3389/fbioe.2022.851768.

[8] M. Alonso-Vargas, A. Téllez-Jurado, C. A. Gómez-Aldapa, M. del R. Ramírez-Vargas, L. Conde-Báez, J. Castro-Rosas, and A. Cadena-Ramírez, "Optimization of 2-phenylethanol production from sweet whey fermentation using Kluyveromyces marxianus," *Fermentation*, vol. 8, no. 2, Art. no. 39, 2022, DOI: 10.3390/fermentation8020039.

[9] L. Conde-Báez, C. F. Pineda-Muñoz, C. Conde-Mejía, E. Mas-Hernández, and A. López-Molina, "Conversion of sweet whey to bioethanol: A bioremediation alternative for dairy industry," *Biomass*, vol. 4, no. 2, pp. 507–517, 2024, DOI: 10.3390/biomass4020026.

[10] C. A. Gómez-Aldapa, J. Castro-Rosas, A. López-Molina, C. Conde-Mejía, C. F. Pineda-Muñoz, A. Jiménez-González, S. A. Medina-Moreno, M. P. Falcón-León, and L. Conde-Báez, "Best conditions for the production of natural isopentyl acetate (banana aroma) from cheese industry waste: An experimental precursor approach," *Processes*, vol. 9, no. 11, Art. no. 1880, 2021, DOI: 10.3390/pr9111880.

[11] A. Cantarini, S. Papanikolaou, A. Chatzifragkou, V. Milanović, A. Osimani, L. Aquilanti, and C. Garofalo, "Biodiesel production using wild-type oleaginous microorganisms grown on whey: A state-of-the-art review," *Sustain. Mater. Technol.*, vol. 48, Art. no. e02011, 2026, DOI: 10.1016/j.susmat.2026.e02011.

[12] O. Mohiuddin, A. P. Harvey, S. Tabraiz, M. T. Ameen, and S. Velasquez-Orta, "Kinetic modelling of yeast growth and pollutant removal in secondary effluent," *J. Water Process Eng.*, vol. 50, Art. no. 103244, 2022, DOI: 10.1016/j.jwpe.2022.103244.

[13] C. Conde-Mejía and L. Conde-Báez, "Biorefinery, an integrated concept: Analysis of bioethanol and aromas production from whey," in *Biofuels and Biorefining, Volume 1: Current Technologies for Biomass Conversion*, F. I. Gómez-Castro and C. Gutiérrez-Antonio, Eds. Amsterdam, Netherlands: Elsevier, 2022, pp. 447–467, DOI: 10.1016/B978-0-12-824116-5.00007-6.

[14] J. Wang and X. Guo, "The Gompertz model and its applications in microbial growth and bioproduction kinetics: Past, present and future," *Biotechnol. Adv.*, vol. 72, Art. no. 108335, 2024, DOI: 10.1016/j.biotechadv.2024.108335.

[15] A. Garre, J. Koomen, H. M. W. den Besten, and M. H. Zwietering, "Modeling population growth in R with the biogrowth package," *J. Stat. Softw.*, vol. 107, no. 1, pp. 1–51, 2023, DOI: 10.18637/jss.v107.i01.

[16] A. R. S. Bernardino, C. A. V. Torres, J. G. Crespo, and M. A. M. Reis, "Biotechnological 2-phenylethanol production: Recent developments," *Molecules*, vol. 29, no. 23, Art. no. 5761, 2024, DOI: 10.3390/molecules29235761.

[17] K. Khorsheed, F. Asadi, R. Asadi, E. Aydoğmuş, B. Erzen, M. Karataş, Ş. Deniz, and R. Orhan, "Process optimization with response surface methodology: A comprehensive approach by experimental design types," *Int. J. Adv. Nat. Sci. Eng. Res.*, vol. 9, no. 12, pp. 546–558, 2025. as-proceeding.com

[18] M. A. Hernández-Cruz, A. Cadena-Ramírez, J. Castro-Rosas, J. B. Páez-Lerma, M. R. Ramírez-Vargas, E. Rangel-Vargas, C. Romo-Gómez, A. B. Lara-Gómez, L. Conde-Báez, and C. A.

Gómez-Aldapa, "Comparative analysis of three types of whey as substrate for fermentation by Kluyveromyces marxianus and its influence on isoamyl acetate synthesis," *Waste Biomass Valorization*, vol. 15, pp. 3413–3424, 2024, DOI: 10.1007/s12649-023-02380-5.

[19] L. E. Puga-Córdova, Z. A. Pérez-Sánchez, A. López-Molina, L. Conde-Báez, A. Jiménez-Gutiérrez, and C. Conde-Mejía, "Design of a separation process for natural 2-phenylethanol with economic and safety considerations," *Processes*, vol. 8, no. 12, Art. no. 1570, 2020, DOI: 10.3390/pr8121570.

[20] J. Zou and X. Chang, "Past, present, and future perspectives on whey as a promising feedstock for bioethanol production by yeast," *J. Fungi*, vol. 8, no. 4, Art. no. 395, 2022, DOI: 10.3390/jof8040395.

[21] M. Valdez Castillo, V. L. Pachapur, S. K. Brar, S. Arriaga, J.-F. Blais, and A. Avalos Ramirez, "Effect of the concentration of L-phenylalanine and lactose on 2-phenylethanol production by whey fermentation using the yeasts Kluyveromyces marxianus and Debaryomyces hansenii under co-culture mode," *Bioresour. Technol. Rep.*, vol. 18, Art. no. 100994, 2022, DOI: 10.1016/j.biteb.2022.100994.

[22] A. M. Ohstrom, A. E. Buck, X. Du, and J. Wee, "Evaluation of Kluyveromyces spp. for conversion of lactose in different types of whey from dairy processing waste into ethanol," *Front. Microbiol.*, vol. 14, Art. no. 1208284, 2023, DOI: 10.3389/fmicb.2023.1208284.

[23] S. Mitri, M. Koubaa, R. G. Maroun, T. Rossignol, and J.-M. Nicaud, "Bioproduction of 2-phenylethanol through yeast fermentation on synthetic media and on agro-industrial waste and by-products: A review," *Foods*, vol. 11, no. 1, Art. no. 109, 2022, DOI: 10.3390/foods11010109.

[24] T. Janković, A. J. J. Straathof, and A. A. Kiss, "Advanced downstream process design for recovery of 2-phenylethanol and 2-phenylethyl acetate after biotransformation," *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, vol. 100, no. 10, pp. 2019–2028, 2025, DOI: 10.1002/jctb.70027.