

# APROVECHAMIENTO INDUSTRIAL DE LACTOSUERO MEDIANTE PROCESOS FERMENTATIVOS

## INDUSTRIAL USE OF WHEY BY FERMENTATION PROCESSES



**Ramírez Navas Juan Sebastián**

*Escuela de Ingeniería de Alimentos, Universidad del Valle, Cali, Colombia,  
juan.sebastian.ramirez@correounivalle.edu.co*

*Recibido: 07/10/2011 • Aprobado: 15/12/2011*

### RESUMEN

El lactosuero, por ser altamente contaminante, se ha categorizado como un desperdicio, aunque, en la actualidad se realizan estudios (utilizando tecnologías como el fraccionamiento, la deshidratación, la fermentación, etc.) con el fin de transformarlo en producto útil de alto valor agregado. La tecnología que ha ganado importancia es la fermentación, ya que permite obtener una amplia gama de productos que van desde biomasa o proteína unicelular, hasta solventes e insecticidas. En este trabajo se presenta una revisión bibliográfica de los estudios más relevantes sobre la transformación del lactosuero por acción fermentativa, los cuales permiten comprobar que las transformaciones biotecnológicas son las más recomendadas para alcanzar el mayor potencial de esta materia prima.

**Palabras clave:** *aprovechamiento, fermentación, fraccionamiento, suero de leche*

### ABSTRACT

*For being highly polluting whey has been categorized as a waste, though, currently studies are performed (using technologies such as cracking or separation, dehydration, fermentation, etc.), in order to transform it into useful products with high added value. The technology that has gained more importance is the fermentation, as it allows a wide range of products from biomass or protein, to solvents and insecticides. This paper presents a literature review of relevant studies of whey transformation by means of fermentation. Concluding the widest variety of products derivatives from whey is obtained due to biotechnological transformations.*

**Keywords:** *whey, utilization, cracking, fermentation*



## I. INTRODUCCIÓN

El lactosuero es uno de los materiales más contaminantes de la industria alimentaria, debido a su elevado contenido en materia orgánica, siendo su riqueza en lactosa la principal responsable del mismo, por su capacidad para actuar como sustrato de fermentación microbiana [1]. La Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) del suero lácteo varía entre 20.000 y 50.000 mg de O<sub>2</sub>/L [2]. En otras palabras, cerca de 0,25 a 0,30 litros de suero sin depurar equivalen a las aguas negras producidas en un día por una persona [3]. Por esta razón, gobiernos de varios países exigen a las industrias de derivados lácteos una producción limpia [4]. Las políticas gubernamentales son cada vez más estrictas al respecto [5], [6]. Sin embargo, para Jelen [7] esta preocupación por la producción ecológica de los alimentos e ingredientes alimentarios puede ser una posible oportunidad para la revitalización de algunos procesos de transformación de lactosuero abandonados en el pasado, debido a la no viabilidad económica, en comparación con la síntesis química directa o el uso de otros sustratos fermentables.

El lactosuero contiene más de la mitad de los sólidos presentes en la leche, convirtiéndolo en una rica fuente de nutrientes. Se le han atribuido diversas propiedades, entre otras: depurativo, desintoxicante, regenerador de la flora intestinal y potenciador del sistema inmune. Adicionalmente, se considera que al utilizarlo fresco aporta al organismo nutrientes básicos para el equilibrio metabólico. Es el medio más suave, y al mismo tiempo eficaz, para mejorar el flujo libre de la bilis, la evacuación de las deposiciones y el vaciamiento de la vejiga.

Considerando los componentes del suero por su valor tecnológico, nutricional, farmacológico, fisiológico, etc., esta “materia prima” adquiere potencial riqueza para la industria de derivados lácteos [1], [8]. Esto motivó a cambiar su clasificación, y pasó de ser un “desecho” a ser un “co-producto”. De ahí la importancia de generar un portafolio de aplicaciones industriales, logrando con el fin de evitar la contaminación medio ambiental y recuperar, con creces, el valor monetario de este producto.

Se han realizado varios trabajos con el objetivo de encontrar alternativas de uso para este producto; así, se ha estudiado su composición y se han encontrado una gran cantidad de péptidos bioactivos derivados de las proteínas que este contiene. Según Allen et al [9], la elaboración de productos a base de suero lácteo representa un área en crecimiento dentro de la industria láctea. Baró et al [10] informan que el lactosuero representa una rica y variada mezcla de proteínas secretadas y que poseen amplio rango de propiedades químicas, físicas y funcionales. Estas proteínas no sólo juegan un importante papel nutritivo como una rica y balanceada fuente de aminoácidos, sino que además, en muchos casos, parecen ejercer determinados efectos biológicos y fisiológicos, in vivo.

El mercado de los productos a base de lactosuero ha tenido un incremento del 12% desde 1995; no obstante, a pesar de esto, su demanda no ha sido suplida [11].

Varios autores han reportado avances tecnológicos considerables que se realizan a escala comercial a fin de obtener una amplia gama de productos, varios de los cuales se revisan en este trabajo. Principalmente, se exponen los desarrollos tecnológicos surgidos a partir de la transformación de los componentes del lactosuero empleando procesos fermentativos como una alternativa para la industria láctea.

## II. LACTOSUERO

El lactosuero o suero de leche es un líquido claro, de color amarillo verdoso translúcido, o incluso, a veces, un poco azulado (el color depende de la calidad y el tipo de leche utilizada en su obtención). Es el coproducto más abundante de la industria láctea, resultante después de la precipitación y la remoción de la caseína de leche durante la elaboración del queso y la fabricación de caseína. Es de difícil aceptación en el mercado, ya que sus características no lo hacen apto para su comercialización directa como suero líquido.

Así mismo, es un excelente medio de cultivo debido a sus propiedades y composición y por ello se utiliza en gran número de procesos fermentativos [1], [12], [13], [14], [15].

En el Codex-Alimentarius [16] se define al suero como el fluido que se separa de la cuajada tras la coagulación de la leche, nata, leche desnatada o suero de mantequilla en la fabricación del queso, la caseína o productos similares. Debido a que en Colombia no se produce ni caseína ni productos similares, este documento se centrará en el lactosuero obtenido de la fabricación quesera.

### A. Composición

La cantidad y composición del lactosuero es muy variable ya que depende de muchos factores; por ejemplo:

- El tipo de queso (4L/kg de queso en quesos frescos y hasta 11,3 L/kg de queso para quesos madurados).
- El tratamiento térmico de la cuajada que puede disminuir el porcentaje de proteína del suero resultante
- La forma de coagulación (ácida o enzimática).
- El cuajo empleado (microbiano. quimosina o mezclas quimosina/pepsina), que aporta amargor residual al suero por inactivación incompleta de las enzimas proteolíticas [4].

Generalizando, la producción de queso da lugar a 9 kg de suero por 1 kg de queso partien-

do de 10 litros de leche. El lactosuero representa alrededor del 85-95% del volumen de la leche y retiene el 55% de sus nutrientes [17], [12], [18]. Contiene, además, los componentes solubles de la leche. En el caso del queso fresco: 4,9% de lactosa, 0,9% de proteína, 0,6% de cenizas y 0,3% de grasas [19], [20] de 6 a 7 g/Kg de proteínas, divididas en, aproximadamente: 55 – 65%  $\alpha$ -lactoglobulina, 15 – 25%  $\beta$ -lactoalbúmina, 10 – 15% inmunoglobulinas, 5 – 6 % seroalbúmina, 10 – 20 % proteosomas-peptonas, una pequeña cantidad de caseína soluble (1 – 2%), proteínas menores (<0,5%) y algunos péptidos.

### B. Tipos de lactosuero

De acuerdo con su origen se clasifica en:

1. *Lactosuero dulce*: líquido sobrante de la precipitación de las proteínas por hidrólisis específica de la k-caseína, por coagulación enzimática, con pH próximo al de la leche inicial y sin variación de la composición mineral.

2. *Lactosuero ácido*: líquido sobrante obtenido después de la coagulación ácida o láctica de la caseína. Presenta un pH cercano a 4,5 debido a la producción de ácido láctico y alto contenido de minerales (más del 80% de los minerales de la leche de partida).

En la tabla 1 se presenta la composición media de algunos tipos de lactosuero y se los generalizan como lactosuero dulce y ácido.

TABLA I  
COMPOSICIÓN MEDIA DE LACTOSUERO

Propiedad	pH (20°C)	Lactosa	Proteínas	Materia grasa	Minerales
Leche	6,6 - 6,9	4.2 – 5.5	2.5 - 3.5	3.0 – 5.0	0.7 – 1.0
Lactosuero dulce	6,4 - 6,6	5,1	0,6 - 0,7	0,02	0,4 - 0,5
Emmental		5,5	0,9	1	0,5
Camembert		5,1	0,9	0,3	0,6
Cheddar		4,9	0,8	0,5	0,5
Cottage		4,9	0,8	0,1	0,5
Feta		4,7	0,8	0,3	0,5
Fresco		4,7	0,9	0,3	0,7
Lactosuero ácido	4,4 - 4,6	4,2	0,6 - 0,7	0,1	0,7 - 0,8

Jelen [7] señala que las principales diferencias entre los dos tipos de lactosuero se encuentran en el contenido de minerales, acidez y composición de la fracción de proteína de suero. Castillo et al. [1], indican que la cantidad y composición del lactosuero son los condicionantes de la elección del proceso adecuado para su transformación, el tipo de productos obtenidos, así como las características nutritivas y el destino de los subproductos derivados del tratamiento tecnológico del suero.

### C. Aprovechamiento industrial

El lactosuero es un producto rico en nutrientes; por ejemplo, 1.000 litros de lactosuero contienen más de 9 kg de proteína de alto valor biológico, 50 kg de

lactosa y 3 kg de grasa de leche. Esto equivale a los requerimientos diarios de proteína de cerca de 130 personas y a los requerimientos diarios de energía de más de 100 personas [3]. Lamentablemente, en la mayoría de las fábricas queseras en Latinoamérica, una pequeña cantidad de lactosuero se emplea para alimentar cerdos o terneros y el resto se vierte en efluentes, originando la contaminación del suelo y el medio ambiente. No usar el lactosuero como alimento es un enorme desperdicio de nutrimentos. Recientemente se ha tomado conciencia de su importancia por su elevado valor nutricional, tanto para el hombre como para el ganado [21]. En la Fig. 1 se presenta un cuadro sinóptico del aprovechamiento industrial del suero fraccionado.

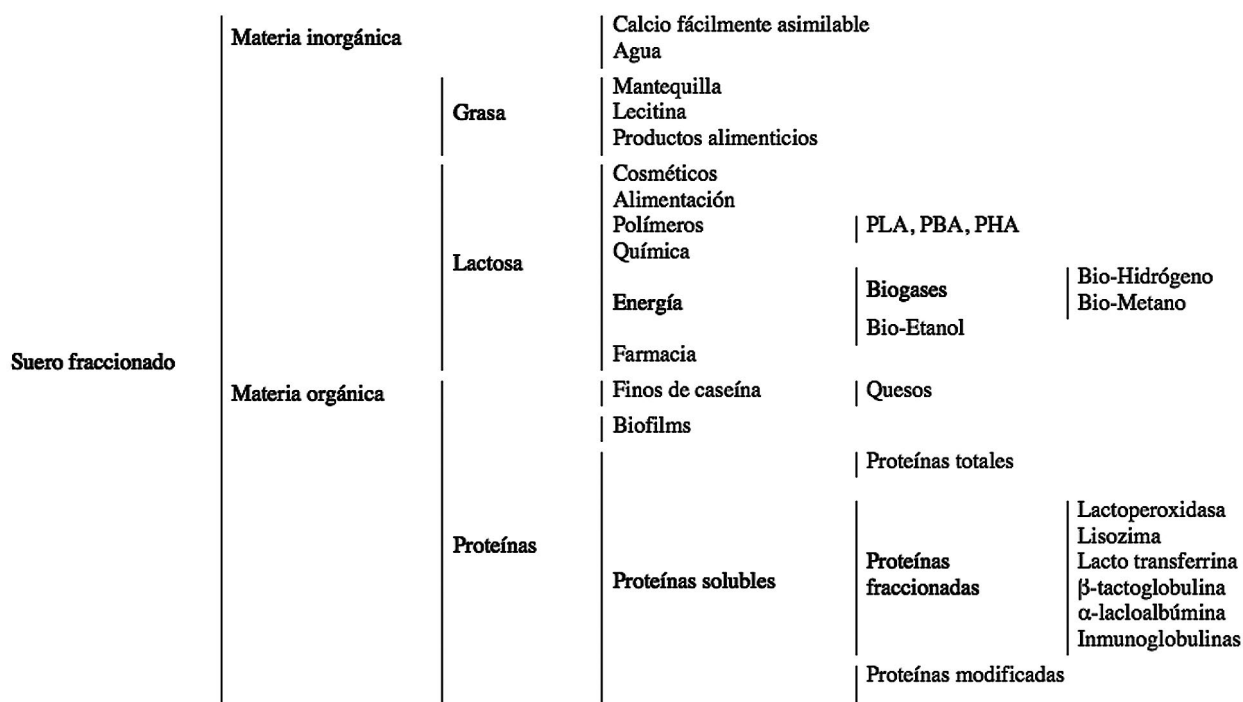


Fig. 1 Aprovechamiento integral del lactosuero. Adaptado y modificado para esta investigación de: Kosikowski (1979), González Siso (1996), Castillo et al. (1996), Ramírez-Navas (2008)

## III. PROCESOS FERMENTATIVOS

### A. Etapa preliminar: fraccionamiento

El fraccionamiento (cracking) corresponde a la separación de fracciones individualizadas de una materia original compleja. La separación de fracciones individuales purificadas de alto valor añadido (lactoalbúmina, lactoglobulina, inmunoglobulinas,

lactoferrina, lactoperoxidasa, lactosa, etc.) ha sido posible por la puesta en marcha de procedimientos de fraccionamiento y extracción sofisticados, usando técnicas separativas tales como microfiltración, ultrafiltración, nanofiltración, ósmosis inversa, diafiltración, electrodiálisis y

cromatografía asociadas o no a tratamientos químicos [22]. Se puede realizar el fraccionamiento combinado con transformación por vía enzimática sobre un reactor de membrana.

Para llevar a cabo los procesos de obtención de diversos productos basados en la fermentación del lactosuero es conveniente realizar un fraccionamiento previo total o parcial, con el fin de extraer y/o concentrar los componentes que han de ser utilizados como sustrato. El fraccionamiento convierte al lactosuero en una materia prima útil, logrando lactosueros desproteinizados, desmineralizados, y con altas concentraciones de lactosa.

De acuerdo con Jelen [7], la tecnología ha avanzado con el fin de adaptar correctamente los procesos para convertir la lactosa proveniente del lactosuero en un sustrato útil para la fermentación microbiana. Yang y Silva [6] informan que se han realizado varios intentos con el fin de acondicionar el lactosuero para la fermentación, entre estos:

- Hidrólisis de sus proteínas, logrando obtener una fuente de nitrógeno adecuado para promover el crecimiento, y eliminar o reducir la necesidad de costosos suplementos.
- Desmineralizado, que favorece solamente a algunas levaduras
- Hidrólisis de la lactosa, que por ser difícilmente fermentable, aumenta los costos de proceso....

## B. Fermentación

La fermentación, en su acepción estricta, se refiere a la obtención de energía en ausencia de oxígeno y generalmente lleva agregado el nombre del producto final de la reacción. Pasteur la denominó la *vie sans l'air* o "la vida sin aire" [23]. De acuerdo con Steinkraus [24], sirve para cinco propósitos generales: 1) Diversificación de sabores, aromas y texturas. 2) Preservación de cantidades sustanciales de alimentos a través de ácido láctico, etanol, ácido acético y fermentaciones alcalinas. 3) Enriquecimiento de sustratos alimenticios con proteína, aminoácidos, ácidos grasos esenciales y vitaminas. 4) Detoxificación durante el proceso de fermentación alimenticia. 5) Disminución de los tiempos de cocinado y de los requerimientos de combustible.

La fermentación del lactosuero, uno de los procesos que ha permitido valorizar este coproducto, es una interesante área de investigación para la industria láctea. Yang y Silva [6], proveen diversas posibilidades de transformación, principalmente del lactosuero permeado. El lactosuero posee todos los macro y micronutrientes y elementos traza que los microorganismos (M.O.) necesitan para realizar el proceso fermentativo. El componente más utilizado en estos procesos es la lactosa. En la Fig. 2 se presenta, de forma simplificada, la ecuación de obtención de diversos productos a partir de lactosuero, siguiendo la ruta de la lactosa.

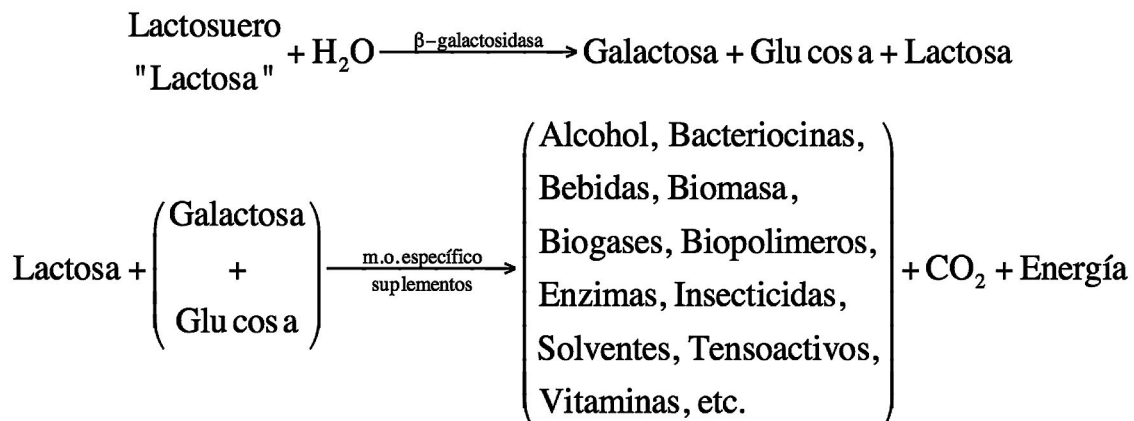
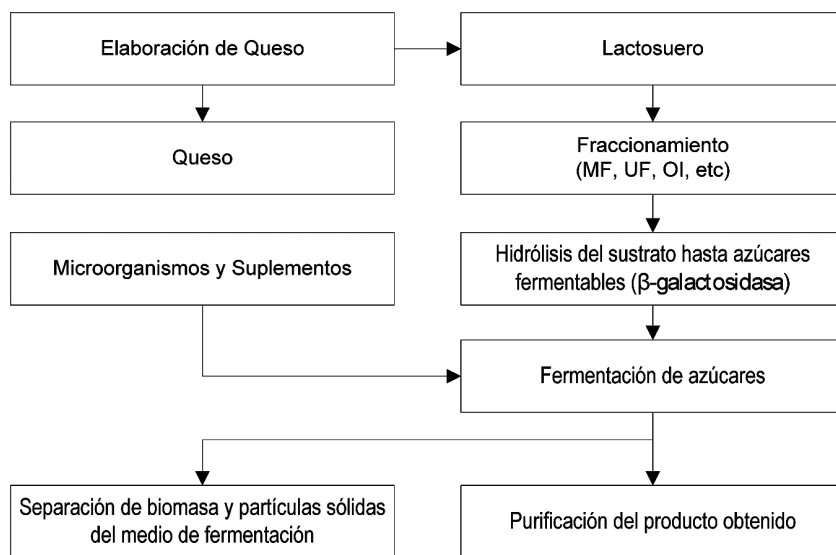


Fig. 2 Ecuación general de transformación de lactosuero siguiendo la ruta de la lactosa

El proceso comienza con la extracción o concentración de la lactosa por alguna de las técnicas del fraccionamiento; a continuación, generalmente, se realiza la hidrólisis de esta, total o parcial, dependiendo del tipo de fermentación

microbiana y del producto por obtener. Con la hidrólisis de la lactosa se logra incrementar notablemente el número de bioproductos [17]. En la Fig. 3 se observa el diagrama generalizado del proceso.

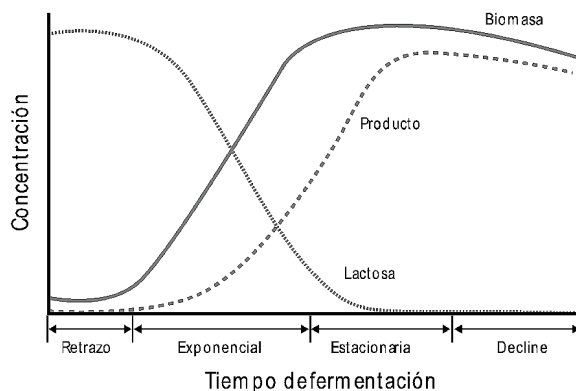


**Fig. 3** Diagrama de bloques simplificado de la transformación lactosuero mediante fermentación

En la Fig. 4 se presentan las cinéticas de la fermentación; dentro de la curva de crecimiento se pueden distinguir cuatro etapas:

- Fase de retraso o adaptación, al inocular una población microbiana en medio fresco; tiempo de retraso en el crecimiento inicial, que puede ser corto o largo dependiendo de las condiciones del medio.
- Fase exponencial o de reproducción asexual de la célula; se caracteriza por el rápido crecimiento celular.
- Fase estacionaria: el crecimiento cesa por el agotamiento de los nutrientes o por la acción inhibitoria del exceso de producto de desecho fabricado en el medio. La concentración de células producidas en la fase anterior se mantiene constante; sin embargo, todas las funciones celulares continúan. En esta fase se produce la mayor parte de los metabolitos secundarios.
- Fase de decline o muerte: el conteo microscópico directo puede permanecer constante, pero la

viabilidad de las células disminuye lentamente debido al agotamiento total de nutrientes.



**Fig. 4** Cinética simplificada de la transformación lactosuero mediante fermentación

### C. Productos de transformación

De acuerdo con Yang y Silva [6], el lactosuero no es siempre una buena materia prima para la industria de fermentación debido a los inconvenientes económicos. El lactosuero y, principalmente, el desproteinizado, no es una buena fuente de nitrógeno orgánico, necesario para el crecimiento

de muchos microorganismos industriales. Para lograr crecimientos microbianos satisfactorios es conveniente suplementarlo y esto implica un costo adicional. Aun así, se han realizado varios trabajos con células inmovilizadas que han logrado alta productividad, incluso en lactosuero desproteinizado, debido a su alta densidad celular y reducida necesidad de crecimiento.

Nueva Zelanda, Brasil y Estados Unidos han avanzado tecnológicamente, transformando al lactosuero en alcohol; Irlanda cuenta con una industria pionera con la crema de licor Bailey's [7].

Una amplia gama de productos, tales como, ácidos grasos, ácidos orgánicos, alcoholes, bacteriocinas, bebidas, biomasa, biogases, biopolímeros, enzimas, insecticidas, solventes, tensoactivos, vitaminas y otros [1], [12], [25] se pueden obtener a partir de la fermentación de lactosuero [6] usándolo preferiblemente desproteinizado y suplementado, gama que a futuro se incrementará debido los avances en Ingeniería Genética.

La adecuada modificación de proteínas de lactosuero, sobre todo la microparticulación, permite obtener una variedad de productos de alto valor agregado, utilizados principalmente como reemplazantes de la grasa y, en un menor grado, para solucionar algún requerimiento en propiedades organolépticas y/o de textura de un alimento; sin embargo, su principal utilidad es nutricional ya que no aportan colesterol, a diferencia de las grasas [26].

La producción de péptidos a partir de la hidrólisis enzimática de las proteínas de lactosuero amplía la posibilidad de aplicaciones, sobre todo, en el área de alimentos funcionales (nutracéuticos). Algunos ejemplos de estos son: galactooligosacáridos, lactulosa, lactitol, ácido lactobiónico, lactosucrosa, lactoferrina, lactoferricina [27]. De la misma manera, acciones antimicrobianas, disminución de la presión arterial y actividad antitumoral son algunas de las propiedades atribuidas a los productos obtenidos.

#### **D. Ácidos grasos**

Mediante la fermentación de lactosuero permeado con las variedades *Apiostrichum curvatum*, *Candida curvata* y/o *Trichosporon cutaneum* se pueden obtener ácidos grasos específicos o mezclas de estos (oleico, palmítico, esteárico, linoléico y triglicéridos). Moon et al. [28] señalan que la producción óptima de ácidos grasos se logra en rangos de 28 a 33°C y pH entre 5.4 y 5.8. Es importante recalcar la importancia de la relación carbono – nitrógeno (C/N), ya que de esta depende el porcentaje de producción de estos ácidos. Ykema et al. [29] reportaron que las tasas de producción máxima de lípidos se obtienen con una relación 30-35 C/N en permeado de lactosuero. Por su parte, Floetenmeyer et al. [30] indican que la tasa de dilución del lactosuero es un factor importante en la composición de ácidos grasos producidos.

#### **E. Ácidos orgánicos**

González Siso [12] informa que se puede obtener gran variedad de ácidos orgánicos a partir del lactosuero, tales como: acético, cítrico, glucónico, itacónico, láctico, lactobiónico y propiónico.

En la producción de ácido acético a partir de lactosuero se ha trabajado con variedades *Streptococcus lactis*, *Clostridium formicoaceticum* y *Lactobacillus delbrueckii*; los mejores resultados se han obtenido con las dos primeras [31], [32].

En el caso del ácido cítrico se ha trabajado con *Aspergillus carbonarius*, *A. niger* y *Metschnikowia pulcherrima*, alcanzando mayores concentraciones al usar lactosuero desproteinizado, evaporado e hidrolizado [33], [4], [18]. Sánchez Toro et al [20] reportaron que *A. carbonarius* produjo concentraciones promedio de ácido cítrico, mayores que las encontradas para *A. niger*. El proceso se optimiza al trabajar entre rangos de temperatura de 25 a 35°C y pH de 4.5 a 6.5.

La producción de ácido láctico ha ganado mayor atención en la actualidad [34], [35], [12], [36], [37], [38], [31], [39]. Serna Cock y Rodríguez de Stouvenel [40], manifiestan que la producción de

ácido láctico, ópticamente activo, a partir de lactosuero, puede realizarse por vía biotecnológica. En su producción se han utilizado las variedades *Lactobacillus Rhamnosus*, *Lb. Casei* (42 °C y pH 6.0, rendimiento promedio 1,409 kg/m<sup>3</sup>.h), *Lb. Helveticus*, (40°C y a pH 5,9, rendimiento de 1,83 kg/m<sup>3</sup>.h), *Lb. Bulgaricus*, *Lb. Delbrueckii* (ssp. *lactis*, y *bulgaricus*), siendo *Helveticus* y *Casei* las principales. Previamente a su obtención, es necesario suplementar el lactosuero con extracto de levadura y minerales.

El ácido propiónico se utiliza en la fabricación de herbicidas, productos químicos intermedios, sabores artificiales de frutas, productos farmacéuticos, propionato acetato de celulosa, y conservantes de alimentos (piensos y granos). En 2006 se reportó, únicamente en EE.UU, un consumo estimado de 107 mil toneladas anuales, con un crecimiento del 4% anual [41]. Esto ha motivado la realización de estudios de obtención de ácido propiónico a partir de lactosuero permeado, utilizando *Propionibacterium acidi propionici*. Los mejores resultados los consiguieron Boyaval y Corre [42], en un biorreactor continuo de tanque agitado con reciclaje de células por ultrafiltración, con una productividad volumétrica promedio de 14,3 kg/m<sup>3</sup>.h. Goswami y Srivastava [43] reportan que un pH 6.5 y 30°C son condiciones adecuadas para incrementar el rendimiento en el proceso.

### F. Alcoholes

En el caso del lactosuero como fuente de bioetanol, se utiliza suero líquido (comúnmente dulce), generalmente permeado, desproteinizado, hidrolizado y/o suplementado con extracto de levadura. Las especies utilizadas en el proceso son del tipo: *Candida pseudotropicalis*, *Escherichia coli*, *Kluyveromyces marxianus*, *K. fragilis*, *K. bulgaricus*, *K. lactis*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Bulgaricus*, *Saccharomyces cerevisiae* (normal y mutante), *Zymomonas mobilis* [44], [45], [46], [47], [48], [31], [49], [50], [51]. Entre *Saccharomyces/Kluyveromyces* – *Zymomonas* se observa sinergia, consiguiendo mayores producciones de

etanol. Las condiciones para optimizar el proceso fermentativo dependen del tipo de M.O, pero se encuentran en rangos promedio de temperatura 30 a 35°C, pH 4,5 a 5,5, concentración de lactosa entre 40 a 120 g/l, además de mínimas concentraciones de O<sub>2</sub>, y una correcta relación entre concentración inicial de M.O. y cantidad de lactosa por fermentar.

El proceso de obtención de etanol, tiene como base el indicado en el diagrama de flujo de la figura 4. Comienza con: 1) recolección del lactosuero, 2) desproteinización por U.F. con el fin de optimizar el proceso y aprovechar las proteínas, 3) concentración de azúcares y sales por O.I. a niveles óptimos para evitar las inhibiciones de los M.O. por elevadas concentraciones (osmolaridad), 4) tratamiento térmico para eliminar cargas microbianas que podrían competir con los cultivos específicos durante la fermentación, 5) enfriamiento hasta la temperatura de fermentación. 6) propagación de M.O. con buenos sistemas de aireación, dado que es en presencia de oxígeno cuando se produce la máxima reproducción celular, 7) fermentación mediante un proceso anaeróbico, 8) separación del “mosto” etílico del concentrado de M.O., 9) destilación y rectificación para obtener etanol de 95% y 10) deshidratación (opcional), para obtener etanol puro anhidro.

Otro alcohol que se obtiene a partir de lactosuero permeado es glicerol, a partir de *Kluyveromyces fragilis*, en la presencia de 1% de Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>, con un rendimiento óptimo de 11,6 kg/m<sup>3</sup> [44]. Rapin et al.[48] reportan que, a partir de *K. marxianus*, las condiciones óptimas para obtener un rendimiento del 9,5% de glicerol (en peso de lactosa) son de 30 a 37 °C y pH de 6 a 7.

### G. Bacteriocinas

La nisina (polipéptido) es una bacteriocina, que actúa como antibiótico. Generalmente, se usa en la producción de los quesos y como conservante actuando en contra de las bacterias Gram-positivas que deterioran los alimentos. Al ser una proteína, es tratada por el cuerpo como tal y digerida



en el intestino delgado. Liu y colaboradores [52] obtuvieron nisina (30 kg/m<sup>3</sup>) a partir de *Lactococcus lactis*, en un biorreactor de lecho empacado (pH 5,5, 31 ° C), utilizando lactosuero permeado. Su estudio ilustra la posibilidad de producción continua de alta concentración de bacteriocinas por bacterias ácido láctico para uso como bioconservantes alimentarios. Otro caso de obtención de bacteriocinas, a partir de lactosuero permeado, lo reportan Cladera-Olivera et al. [53], quienes trabajaron con *Bacillus licheniformis* a pH inicial entre 6,5 y 7,5 y temperatura entre 26 y 37 ° C.

### **H. Bebidas**

Se han realizado diversos trabajos con el fin de convertir al lactosuero, generalmente dulce, en una bebida apta para consumo humano- Especies ácido lácticas termófilas y mesófilas del tipo: *Acetobacter acetii*, *Brettanomyces bruxelensis*, *Candida kefir*, *Gluconobacter oxydans* ssp, *Gluconoacetobacter xylinus*, *Kluyveromyces marxianus*, *Lactobacillus casei*, *Lb. delbrueckii*, *Lb. Kefir*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Streptococcus salivarius*, y *Sc. lactis*, *Sc. lactis* ssp, se han empleado para obtener bebida láctea saborizada, tipo refresco [54], [55], bebida agria tipo “kombucha”[56], bebida fermentada [57] y bebida alcohólica de 11,46±0,81 °GL [58] y de 35.4% v/v etanol [59]. El limitante, al transformar al lactosuero en una bebida, es del tipo sensorial, provocando una reducción en su consumo.

### **I. Biomasa**

Se denomina proteína unicelular, bioproteína o biomasa microbiana, a aquella obtenida de algas, bacterias, levaduras y hongos filamentosos, cultivados en condiciones fermentativas apropiadas y controladas, que garanticen una adecuada tasa de crecimiento, por medio del aprovechamiento de sustratos baratos compuestos por o enriquecidos con carbono, nitrógeno y fósforo. El término proteína unicelular deriva de la contracción de “proteína de organismos unicelulares”, que sería el término más adecuado. La literatura científica se refiere a la proteína unicelular empleando el término SCP, el cual deriva del término anglosajón single cell protein [5].

Con el fin de satisfacer la escasez en la producción de proteínas para alimentación humana y animal en los países en desarrollo, se han establecido en las últimas décadas varios procesos para la producción de SCP. Se han estudiado numerosos sustratos, siendo el lactosuero uno de los más importante debido a su bajo precio y a su considerable disponibilidad. Aunque algunas investigaciones al respecto han utilizado suero entero, la importancia que han adquirido los concentrados proteicos ha hecho que la producción de SCP se desarrolle utilizando suero desproteínizado, para incrementar el atractivo económico del proceso. Es así que se ha propuesto su empleo como sustrato de fermentación para M.O., capaz de asimilar la lactosa, tal como la levadura *Kluyveromyces marxianus*. El producto obtenido tiene un contenido proteico que oscila entre 40 y 80% en base seca y su calidad la asemeja más a la proteína animal que a la vegetal [60], [6].

El lactosuero posee un contenido elevado de vitaminas y macronutrientes que algunos M.O. pueden utilizar como fuente de carbono y energía para producir biomasa [8]. Utilizando *K. fragilis* se puede obtener biomasa siguiendo el procedimiento descrito por Pauletti et al. [61] o el recomendado por [5]. Con [60] dan a conocer la metodología para obtener biomasa a partir de *K. marxianus* var. *marxianus*.

### **J. Biogases**

Aunque la viabilidad técnica de producción de metano no es muy conveniente, debido a lo extenso del proceso y a las sugerencias para que la producción de metano (biogás) sea el último recurso obtenido en el aprovechamiento del lactosuero, varias plantas comercializadoras de metano, producido a partir de lactosuero, están funcionando en EE.UU [6]. En el campo de la investigación, se han realizado avances en la producción de metano [62], [63], [64] e hidrógeno renovable [65], [66], [64], [6]. Bacterias anaerobias mesófilas y termófilas (*Clostridium*, *Lactobacillus* *Bacillus*) se han recibí la información, empleado en la producción de biogases.

### K. Biopolímeros

Por biopolímeros se entiende aquellos polímeros que provienen de fuentes de energía renovable y sostenible, que son total o parcialmente reciclables y que no generan sustancias tóxicas durante su producción. Son completamente degradados en compuestos que no dañan el medio ambiente: agua, dióxido de carbono y humus [67], [68]. Para la Asociación Española de Industriales de Plásticos (<http://www.anaip.es/>) suponen una solución desde el origen del problema, por ser materiales biodegradables; pueden procesarse mediante las mismas tecnologías de procesado que los materiales termoplásticos convencionales, tales como extrusión, inyección o soplado.

Utilizando el suero lácteo como materia prima, los biopolímeros que se pueden obtener son: 1) ácido poliláctico, polilactato (PLA). 2) La familia de los polihidroxialcanoatos (PHA) y 3) Films y recubrimientos de proteínas del suero. En la industria, para la obtención de estos productos (PLA, PHA), se han empleado M.O. como: *Alcaligenes*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Nocardia*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* y *E. coli recombinante* [69], [70].

El PLA es un compuesto generado por la polimerización del ácido láctico obtenido de la fermentación de azúcares. El doble proceso de fermentación y polimerización es llevado a cabo por diferentes bacterias homolácticas con rendimientos de más del 95% de conversión del azúcar en ácido láctico (baja [O<sub>2</sub>], pH 5,4-6,4 y T 38-42 °C). Su síntesis ha sido objeto de numerosas investigaciones, aunque en los años 60 fue cuando se demostró su utilidad en aplicaciones biomédicas en hilos de sutura, clavos empleados en la recomposición de fracturas óseas, como soporte de ciertos medicamentos administrados en forma de parches de dosificación controlada, etc. Los PLA han mostrado propiedades físico-mecánicas excelentes, comparables a las de los plásticos convencionales. Su temperatura de transición vítrea está en el rango de 50°C a 80 °C mientras que la de fusión está en el rango de 130°C a 180°C [67]. El inconveniente que presenta su producción son los altos costos.

Los PHA – PHB son una familia de biopolímeros que diversos M.O. acumulan en forma de gránulos intracitoplasmáticos, como reserva de energía, cuando experimentan ciertas condiciones ambientales. Se obtienen directamente por fermentación del lactosuero. Han despertado gran interés en la sustitución de plásticos provenientes del petróleo [72]. Tienen una gran variedad de propiedades físicas en función de la longitud de los grupos de unidades de monómero en el polímero. Son termoplásticos, elastómeros, insolubles en agua, enantiómeros puros, no tóxicos, biocompatibles, piezoeléctricos, y muestran un alto grado de polimerización y pesos moleculares de hasta varios millones de Da.

La investigación del uso de proteínas como biofilms comienza a principios de los 90. Los productos obtenidos se destacan por ser excelentes barreras para el oxígeno y los olores, solubles al agua (aunque pueden tratarse para ser insolubles y formar buenas barreras contra el vapor), contar con superficies transparentes y brillantes, y no proporcionar olores o sabores extraños. Los más utilizados son los recubrimientos aplicados en líquido a productos tales como snacks, frutas y verduras, chocolatinas, filetes de pescado, etc. Actualmente, se trabaja en la creación de biofilms con buenas propiedades mecánicas y que puedan ser extruidos para formar bolsas [70].

### L. Enzimas

$\beta$ -D-galactosidasa también llamada lactasa (E.C. 3.2.1.23) es ampliamente utilizada en la industria láctea para la hidrólisis de la molécula de lactosa en sus correspondientes monosacáridos: glucosa y galactosa [75]. *Candida pseudotropicalis* [75] y *Kluyveromyces marxianus* [76] han sido empleadas en la fermentación de lactosuero desproteínizado y suplementado, para obtener  $\beta$ -D-galactosidasa, que obtenida por este medio posee estatus GRAS, es decir, se considera segura para su aplicación en la industria alimenticia.

### M. Otros productos

Entre otros productos que se pueden obtener a partir de lactosuero están: insecticidas, como Endotoxina [77] o Toxina Mosquitocidal [78]; Solventes como el Acetano-Butanol [79], Acetona-Butanol-Etanol (ABE) [80], [81], [82]; Tensoactivos, como los Soforolípidos [83], [84], [85] y Vitaminas,

como Vitamina C o Ácido L-Ascórbico [86] y Vitamina B12 [87], [88].

En la tabla 2 se presenta un resumen de varios de los productos obtenidos por vía fermentativa, a partir de componentes de lactosuero.

TABLA II  
 PRODUCTOS OBTENIDOS POR FERMENTACIÓN DE COMPONENTES DE LACTOSUERO

Producto(S)	Microorganismo	Medio	Sustrato
<b>Insecticidas</b>			
Endotoxina	Bacillus thuringiensis	Lactosuero dulce sin suplementar	
Toxina Mosquitocidal	Bacillus sphaericus	Lactosuero permeado	
<b>Solventes</b>			
Acetano-Butanol	Clostridium acetobutylicum	Lactosuero permeado y extracto de levadura	Glucosa y galactosa
Acetona, Butanol, Etanol (ABE)	Clostridium acetobutylicum P262	Lactosuero permeado	Lactosa
		Lactosuero permeado e hidrolizado	Glucosa y galactosa
		Lactosuero permeado suplementado con extracto de levaduras	Lactosa
<b>Tensoactivos</b>			
Soforolípidos	Candida bombicola ATCC 22214, Cryptococcus curvatus ATCC 20509	Lactosuero desproteinizado concentrado y aceite de colza	Lactosa y lípidos
	Cryptococcus curvatus ATCC 20509, Candida bombicola ATCC 22214	Lactosuero desproteinizado concentrado	
		Lactosuero desproteinizado concentrado y diferentes lípidos	
<b>Vitaminas</b>			
Vitamina C	Candida norvegensis (CBS 2145) cepa mutante	Lactosuero dulce permeado	Lactosa
Vitamina B12	Propionibacterium shermanii	Lactosuero suplementado con extracto de levaduras y sales minerales	

## IV. CONCLUSIONES

El co-producto lactosuero es una fuente rica de nutrientes. Éste presenta un interesante panorama para la industria de extracción y transformación debido al valor de sus componentes. Las posibilidades de obtener derivados a partir de él son numerosas: desde sus componentes originales como lactosa, proteínas, grasas y minerales, hasta nuevos productos a partir de la fermentación.

Para convertir al lactosuero en una materia prima útil para la fermentación es necesario realizar un fraccionamiento previo.

La lactosa es el principal componente del lactosuero para realizar procesos fermentativos. La hidrólisis de la lactosa y el uso de microorganismos específicos correctamente suplementados permite incrementar el rendimiento de la producción de productos de fermentación.

Las transformaciones biotecnológicas del lactosuero, principalmente las fermentativas, son las más recomendadas para alcanzar el mayor potencial de este insumo.

## REFERENCIAS

- [1] M. Castillo, M. J. Jordán, A. Abellán, J. Laencina and M.B. López. "Tecnología de aprovechamiento de lactosuero." *Revista Española de Lechería*, marzo, 24-30, 1996.
- [2] E. Valencia Denicia y M.L. Ramírez Castillo. La industria de la leche y la contaminación del agua. *Elementos*, Vol 73(1), pp. 27 – 31, 2009.
- [3] A.E. Inda. *Queso*. México: Organización de los Estados Americanos, OEA, 2000.
- [4] C.A. López Ríos, A. Zuluaga Meneses, S.N. Herrera Penagos, A.A. Ruiz Colorado and V.I. Medina de Pérez, "Production of citric acid with *Aspergillus niger* NRRL 2270 from milk whey." *DYNA*, Vol. 73(150), pp. 39-57, 2006.
- [5] A. Chacón Villalobos. "Perspectivas actuales de la proteína unicelular (SCP) en la agricultura y la industria." *Agronomía Mesoamericana*, vol 15(1), pp. 93-106, 2004.
- [6] S.T. Yang y E.M. Silva, E. M. "Novel products and new technologies for use of a familiar carbohydrate, milk lactose." *Journal of Dairy Science*, vol. 78(11), pp. 2541-2562, 1995.
- [7] P. Jelen, P. "Whey processing—Utilization and products. En Roginski (Ed.);" *Encyclopedia of Dairy Sciences*, Oxford: Elsevier, pp. 2739-2745., 2002.
- [8] I. Chinappi, y J.A. Sánchez Crispín. "Producción de biomasa de *Kluyveromyces fragilis* en suero de leche desproteinizado." *Acta Científica Venezolana*, 51(4), 223–230, 2000.
- [9] K.E. Allen, C.E. Carpenter y M.K. Walsh, M. K. "Influence of protein level and starch type on an extrusion-expanded whey product." *International Journal of Food Science & Technology*, vol. 42(8), pp.953-960, 2007.
- [10] L. Baró, J. Jiménez, A. Martínez-Ferez y J.J. Bouza, J. J. "Péptidos y proteínas de la leche con propiedades funcionales." *Ars Pharmaceutica*, vol. 42(3-4), pp. 135-145, 2001.
- [11] K. Posada, D.M. Terán y J.S. Ramírez-Navas, J. S. Empleo de lactosuero y sus componentes en la elaboración de postres y productos de confitería. *La Alimentación Latinoamericana*, 292, 66-75, 2011.
- [12] M. I. González Siso. "The biotechnological utilization of cheese whey: A review." *Bioresource Technology*, 57(1), 1-11, 1996.
- [13] N. Imbeault, N. *Production d'acides gras par biodégradation anaérobie du perméat de lactosérum dans un bioréacteur en continu*. Maîtrise en Ressources Renouvelables, Université du Québec, Québec, Canada, 1997.
- [14] J. Valencia, M. d. C. "El Suero de quesería y sus posibles aplicaciones (1 parte)." *Mundo Lácteo y Cárnico*, 3-4(1), 4-6, 2008.
- [15] P.S: Panesar, J.F. Kennedy, D.N. Gandhi y K. Bunko. "Bioutilisation of whey for lactic acid production." *Food Chemistry*, 105(1), 1-14, 2007.
- [16] [16] Codex-Alimentarius. (1995). General Standard for Food Additives CODEX STAN (Vol. 192-1995).
- [17] M. Becerra Fernández, M. *Secreción de la β-galactosidasa de Kluyveromyces Lactis*. Doutoramento, Universidade da Coruña, Coruña, España, 1999.
- [18] R. Singh, B.S. Sooch, K. Kaur y J. Kennedy, J. "Optimization of parameters for citric acid production from cheddar cheese whey using *Metschnikowia pulcherrima* NCIM 3108." *Journal of Biological Sciences*, vol 4(6), pp. 700-705, 2004.
- [19] J.L. Audic, B. Chaufer y G. Daufin. (2003). "Non-food applications of milk components and dairy co-products: A review." *Le Lait*, 83(6), pp. 417-438, 2003.
- [20] O-J. Sánchez Toro, M.C. Ortiz Buriticá y A.L. Betancourt Garcés. "Obtención de ácido cítrico a partir de suero de leche por fermentación con *Aspergillus spp*." *Revista Colombiana de Biotecnología*, VI(1), pp. 43-54, 2004.

- [21] A. Abaigar. "El lactosuero en la alimentación del ganado porcino". *ITG ganadero*, 1982.
- [22] M.I. Berruga Fernández. ("Desarrollo de procedimientos para el tratamiento de efluentes de quesería". Doctoral, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España, 1999.
- [23] [L.o. Cholota Palate y Ó.L. Mora Ruiz. *Diseño, construcción y pruebas de un sistema prototipo para la producción de etanol a partir de papa, zanahoria, remolacha y lactosuero*. Ingeniero Mecánico, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador, 2010.
- [24] K.H. Steinkraus. *Handbook of indigenous fermented foods*, 2nd ed. New York: Marcel Dekker, 1995.
- [25] F.V. Kosikowski. "Whey utilization and whey products". *Journal of Dairy Science*, vol 62(7), pp. 1149-1160, 1979.
- [26] V. Engler. Reciclando los desechos de la leche, *Noticias Breves de la FCEyN*, 2003.
- [27] E.R. Silva Hernández & I. Verdalet Guzmán. Revisión: alimentos e ingredientes funcionales derivados de la leche. *ALAN*, 53(4), 333-347, 2003.
- [28] N.J. Moon, E.G. Hammond y B.A. Glatz. "Conversion of cheese whey and whey permeate to oil and single-cell protein". *Journal of Dairy Science*, 61(11), pp. 1537-1547, 1978.
- [29] A. Ykema, E.C. Verbree, M.M. Kater y H. Smit, H. ("Optimization of lipid production in the oleaginous yeast *Apiotrichum curvatum* in whey permeate". *Applied Microbiology and Biotechnology*, 29(2-3), pp. 211-218, 1998.
- [30] M.D. Floetenmeyer, B.A. Glatz y E.G. Hammond. "Continuous culture fermentation of whey permeate to produce microbial oil". *Journal of Dairy Science*, vol 68(3), pp 633-637, 1985.
- [31] C. Shene and S. Bravo, S. "Whey fermentation by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* for exopolysaccharide production in continuous culture". *Enzyme and Microbial Technology*, 40(6), pp. 1578-1584, 2007.
- [32] Y. Tamura, T. Mizota, S. Shimamura and M. Toraita. (1993). "Lactulose and its application to the food and pharmaceutical industries". *Bulletin of the International Dairy Federation*, 289(1), 43, 1993.
- [33] Y.A. El-Samragy, M.A. Khorshid, M.I. Foda and A.E. Shehata. "Effect of fermentation conditions on the production of citric acid from cheese whey by *Aspergillus niger*". *International Journal of Food Microbiology*, vol. 29(2-3), pp. 411-416, 1996.
- [34] T.M. Bolumar, Vicente & G. Pérez Martínez. *Aprovechamiento del permeato de lactosuero para la obtención de ácido L láctico en un reactor de células inmovilizadas*. Paper presented at the 20 Congreso de la Sociedad Española de Microbiología, Cáceres, España, 2005.
- [35] J.J. Fitzpatrick, M. Ahrens and S. Smith, S. "Effect of manganese on *Lactobacillus casei* fermentation to produce lactic acid from whey permeate". *Process Biochemistry*, vol.36(7), pp. 671-675, 2001.
- [36] B. Lund, B. Norddahl and B. Ahring. "Production of lactic acid from whey using hydrolysed whey protein as nitrogen source". *Biotechnology Letters*, 14(9), pp. 851-856, 1992.
- [37] N.A. Mostafa. "Production of lactic acid from whey with agar immobilized cells in a continuous packed tubular reactor". *Energy Conversion and Management*, vol 37(3), pp.253-260, 1996.
- [38] T. Pauli and J.J. Fitzpatrick, J. J. (2002). "Malt combing nuts as a nutrient supplement to whey permeate for producing lactic by fermentation with *Lactobacillus casei*". *Process Biochemistry*, vol. 38(1), pp. 1-6, 2002.
- [39] E.M. Silva and S.T. Yang. "Kinetics and stability of a fibrous-bed bioreactor for continuous production of lactic acid from unsupplemented acid whey". *Journal of Biotechnology*, vol.41(1), pp. 59-70, 1995.
- [40] L. Serna Cock y A. Rodríguez de Stouvenel. "Producción biotecnológica de ácido láctico: Estado del Arte". *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, vol. 5(1), pp. 54-65, 2005.
- [41] S. Kumar and A.B.V. Babu. "Brief review on propionic acid: A renewal energy source." Paper presented at the Proceedings of National Conference on Environmental Conservation (NCEC-2006), Pilani, Rajasthan, India.
- [42] P. Boyaval, P and C. Corre. "Production of propionic acid". *Le Lait*, 75(4-5), pp. 453-461, 1995.
- [43] V. Goswami and A.K. Srivastava. "Fed-batch propionic acid production by *Propionibacterium acidipropionici*". *Biochemical Engineering Journal*, vol. 4(2), pp. 121-128, 2000.
- [44] W. Jenq, R.A. Speckman, R.E. Crang and M.P. Steinberg, M. P. "Enhanced conversion of lactose to glycerol by *Kluyveromyces fragilis* utilizing whey permeate as a substrate". *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 55(3), pp. 573-578, 1989.
- [45] Y. Kourkoutas, S. Dimitropoulou, M. Kanellaki, R. Marchant, P. Nigam, I.M. Banat and A.A. Koutinas. (2002). "High-temperature alcoholic fermentation of whey using *Kluyveromyces marxianus* IMB3 yeast immobilized on delignified cellulosic material". [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Bioresour Technol*, vol. 82(2), pp. 177-181, 2002.
- [46] A. R. Leite, W. Vieira Guimarães, E. Fernandes de Araújo and D.O. Silva. "Fermentation of sweet whey by recombinant *Escherichia coli* K011". *Brazilian Journal of Microbiology*, vol. 31, 211, 2000.
- [47] M.M. Mahmoud and F.V. Kosikowski. "Alcohol and single cell protein production by *kluyveromyces* in concentrated whey permeates with reduced ash". *Journal of Dairy Science*, vol. 65(11), pp. 2082-2087, 1982.
- [48] J.D. Rapin, I.W. Marison, U. von Stockar and P.J. Reilly. "Glycerol production by yeast of whey permeate". *Enzyme and Microbial Technology*, vol. 16(2), pp. 143-150, 1994.

- [49] W.B. Silveira, F.J.V. Passos, H.C. Mantovani and F.M.L. Passos. "Ethanol production from cheese whey permeate by *Kluyveromyces marxianus* UFV-3: A flux analysis of oxido-reductive metabolism as a function of lactose concentration and oxygen levels" *Enzyme and Microbial Technology*, vol. 36(7), pp. 930-93, 2005.
- [50] M. Staniszewski, W. Kujawski and M. Lewandowska. "Ethanol production from whey in bioreactor with co-immobilized enzyme and yeast cells followed by pervaporative recovery of product – Kinetic model predictions" *Journal of Food Engineering*, vol. 82(4), pp. 618-625, 2007.
- [51] S.L. Terrell, A. Bernard and R.B. Bailey. "Ethanol from Whey: Continuous Fermentation with a Catabolite Repression-Resistant *Saccharomyces cerevisiae* Mutant" *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 48(3), pp. 577-580, 1984.
- [52] Liu y colaboradores (2003).
- [53] F. Cladera-Olivera, G.R. Caron and A. Brandelli. "Bacteriocin production by *Bacillus licheniformis* strain P40 in cheese whey using response surface methodology" *Biochemical Engineering Journal*, vol. 21(1), pp. 53-58, 2004.
- [54] A.C.E. Caselles y A.E. Vega.. (2003). "Transformación del lactosuero con microorganismos del kéfir para obtener una bebida refrescante de tipo lácteo" *Mundo Microbiológico*, vol. 2(2), pp. 15-23, 2003.
- [55] R. Gómez Cárdenas, G.H. González Velásquez, A.I. Mejía Gallón y A. Ramírez Pérez. "Proceso biotecnológico para la obtención de una bebida refrescante y nutritiva" *Inteciencia*, vol. 24(2), pp. 205-210, 1999.
- [56] G. Belloso-Morales and H. Hernández-Sánchez. "Manufacture of a beverage from cheese whey using a "tea fungus" Fermentation" *Revista Latinoamericana de Microbiología*, vol. 45(1-2), pp. 5-11, 2003.
- [57] M.M. Londoño Uribe, J.U. Sepúlveda Valencia, A. Hernández Monzón y J.E. Parra Suescún.. "Bebida fermentada de suero de queso fresco inoculada con *Lactobacillus casei*." *Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín*, vol. 61, pp. 4409-4421, 2008.
- [58] G.R. Córdor, C.V. Meza y U.F. Ludeña. "Obtención de una bebida fermentada a partir de suero de queso utilizando células inmovilizadas de *Kluyveromyces marxianus*" *Revista Peruana de Biología*, vol. 7(2), pp. 72-87, 2000.
- [59] G. Dragone, S.I. Mussatto, J.M. Oliveira and J.A. Teixeira. "Characterisation of volatile compounds in an alcoholic beverage produced by whey fermentation" *Food Chemistry*, 112(4), 2009.
- [60] M.E. Cori de Mendoza, N. Rivas, B. Dorta, E. Pacheco de Delahaye y A. Bertsch. "Obtención y caracterización de dos concentrados proteicos a partir de biomasa de *Kluyveromyces marxianus* var. *marxianus* cultivada en suero lácteo desproteinizado" *Revista Científica, FCV-LUZ*, vol. 16(3), pp. 315-324, 2006.
- [61] M. Pauletti, A. Venier, N. Sabbag and D. Stechina.. "Rheological characterization of sulce de leche, a confectionery dairy product" *Journal of Dairy Science*, vol. 73(3), pp. 601-603, 1990.
- [62] C.B. Cota-Navarro, J. Carrillo-Reyes, G. Davila-Vazquez, F. Alatraste-Mondragon and E. Razo Flores. "Continuous hydrogen and methane production in a two-stage cheese whey fermentation system" [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Water Sci Technol*, 64(2), 367-374, 2011.
- [63] T.H. Ergüder, U. Tezel, E. Güven and G.N. Demirer, G. N. "Anaerobic biotransformation and methane generation potential of cheese whey in batch and UASB reactors" *Waste Management*, 21(7), pp. 643-650, 2001.
- [64] N. Venetsaneas, G. Antonopoulou, K. Stamatelatu, M. Kornaros and G. Lyberatos, G. (2009). "Using cheese whey for hydrogen and methane generation in a two-stage continuous process with alternative pH controlling approaches" [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Bioresour Technol*, 100(15), pp. 3713-3717, 2009.
- [65] G. Antonopoulou, K. Stamatelatu, S. Bebelis and G. Lyberatos. "Electricity generation from synthetic substrates and cheese whey using a two chamber microbial fuel cell" *Biochemical Engineering Journal*, vol. 50(1-2), pp. 10-15, 2010.
- [66] G. Davila-Vazquez, F. Alatraste-Mondragón, A. de León-Rodríguez and E. Razo-Flores. "Fermentative hydrogen production in batch experiments using lactose, cheese whey and glucose: Influence of initial substrate concentration and pH" *International Journal of Hydrogen Energy*, vol. 33(19), pp. 4989-4997, 2008.
- [67] D. Bello Gil. Plásticos biodegradables, una alternativa verde, *Ecositio*, 2009.
- [68] M. Demicheli. Plásticos biodegradables a partir de fuentes renovables. *The IPTS Report*, 10(1), 1-10, 1996.
- [69] P. Suriyamongkol, R. Weselake, S. Narine, M. Moloney and S. Shah, S. "Biotechnological approaches for the production of polyhydroxyalkanoates in microorganisms and plants — A review" *Biotechnology Advances*, vol. 25(2), pp. 148-175, 2007.
- [70] M.G.A. Vieira, M.A. da Silva, L.O. dos Santos and M.M. Beppu. Natural-based plasticizers an biopolymer films: A review" *European Polymer Journal*, vol. 47(3), pp. 254-263, 2011.
- [71] A. Södergård and M. Stolt, M. "Properties of lactic acid based polymers and their correlation with composition" *Progress in Polymer Science*, vol. 27(6), pp. 1123-1163, 2002.
- [72] Koller, M., Bona, R., Chiellini, E., Fernandes, E. G., Horvat, P., Kutschera, C.,... Braunegg, G. (2008). Polyhydroxyalkanoate production from whey by *Pseudomonas hydrogenovora*. *Bioresource Technology*, 99(11), 4854-4863.

- [73] M. Koller, P. Hesse, R. Bona, C. Kutschera, A. Atli and G. Braunnegg, G. "Potential of Various Archae- and Eubacterial Strains as Industrial Polyhydroxyalkanoate Producers from Whey." *Macromolecular Bioscience*, vol 7(2), pp. 218-226, 2007.
- [74] R: Li, H. Zhang and Q. Qi. "The production of polyhydroxyalkanoates in recombinant *Escherichia coli*." *Bioresource Technology*, vol 98(12), pp. 2313-2320, 2007.
- [75] K. Araujo, G. Páez, Z. Mármol, J. Ferrer, E. Ramones, C. Aiello Mazzarri y M. Rincón. "Efecto de la concentración de lactosa sobre la cinética de crecimiento de *Kluyveromyces marxianus* var. *marxianus* y la producción de b-D-galactosidasa (E.C. 3.2.1.23)." *Revista Técnica de la Facultad de Ingeniería Universidad del Zulia*, vol30(1), pp. 64-67, 2007.
- [76] A. Gomez and F.J. Castillo. "Production of biomass and beta-D-galactosidase by *Candida pseudotropicalis* grown in continuous culture on whey." *Biotechnol Bioeng*, vol 25(5), pp. 1341-1357, 1983.
- [77] H. S. Salama, M.S. Foda, A. El-Sharaby and M.H. Selim. "A novel approach for whey recycling in production of bacterial insecticides." *Entomophaga*, vol 28(2), pp. 151-160, 1983.
- [78] M.A. El-Bendary, M.E: Moharam and M.S. Foda." Efficient mosquitocidal toxin production by *Bacillus sphaericus* using cheese whey permeate under both submerged and solid state fermentations." *J Invertebr Pathol*, vol 98(1), pp. 46-53, 2008.
- [79] B.M. Ennis and I.S: Maddox. "Use of *Clostridium acetobutylicum* P262 for production of solvents from whey permeate." *Biotechnology Letters*, vol 7(8), pp. 601-606, 1985.
- [80] B.M. Ennis and I.S. Maddox. "Production of solvents (ABE fermentation) from whey permeate by continuous fermentation in a membrane bioreactor." *Bioprocess Engineering*, vol 4(1), pp. 27-34, 1989.
- [81] N. Qureshi and I.S. Maddox. (1990). "Integration of continuous production and recovery of solvents from whey permeate: use of immobilized cells of *Clostridium acetobutylicum* in a fluidized bed reactor coupled with gas stripping." *Bioprocess Engineering*, vol 6(1-2), pp. 63-69, 1990.
- [82] N. Qureshi and I.S: Maddox. "Application of novel technology to the ABE fermentation process." *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 34-35(1), 441-448, 1992.
- [83] H.J. Daniel, M. Reuss and C. Syldatk. "Production of sophorolipids in high concentration from deproteinized whey and rapeseed oil in a two stage fed batch process using *Candida bombicola* ATCC 22214 and *Cryptococcus curvatus* ATCC 20509." *Biotechnology Letters*, vol 20(12), pp. 1153-1156, 1998.
- [84] H.J. Daniel, R.T. Otto, M. Binder, M. Reuss and C. Syldatk. "Production of sophorolipids from whey: development of a two-stage process with *Cryptococcus curvatus* ATCC 20509 and *Candida bombicola* ATCC 22214 using deproteinized whey concentrates as substrates." *Appl Microbiol Biotechnol*, vol 51(1), pp. 40-45, 1999.
- [85] R.T. Otto, H.J. Daniel, G. Pekin, K. Muller-Decker, G. Furstenberger, M. Reuss, M and C. Syldatk. "Production of sophorolipids from whey. II. Product composition, surface active properties, cytotoxicity and stability against hydrolases by enzymatic treatment." *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol 52(4), pp. 495-501, 1999.
- [86] T. Cayle, J. Roland, D. Mehnert, R. Dinwoodie, R. Larson, J. Mathers and R. Saunders, R. "Production of L- ascorbic acid from whey. En Harlander & Labuza (Eds.)," *Biotechnology in food processing*. Bracknell, Berkshire, U.K.: Noyes Publications, 1986.
- [87] E.C: Berry and L.B. Bullerman. "Use of cheese whey for vitamin B12 production. II. Cobalt, precursor, and aeration levels." *Appl Microbiol*, vol 14(3), pp. 356-357, 1966.
- [88] L.B. Bullerman and E.C. Berry. "Use of cheese whey for vitamin B12 production. 3. Growth studies and dry-weight activity." *Appl Microbiol*, vol 14(3), pp. 358-360, 1966.