

## **Aprovechamiento de lactosueros generados en queserías artesanales para la producción de proteína unicelular enriquecida (PUC+PP) y probióticos**

Alfonso Benítez de la Torre<sup>1</sup>\***iD**, Iván Lenin Montejo-Sierra<sup>2</sup> **iD**, Soley Berenice Nava-Galicia<sup>1</sup> **iD**, Martha Bibbins-Martínez<sup>1</sup>\*\***iD**.

<sup>1</sup> Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada, Instituto Politécnico Nacional, Ex-Hacienda San Juan Molino, Carretera Estatal Tecuexcomac-Tepetitla Km 1.5, Tlaxcala, México. C.P. 90700.

<sup>2</sup> Estación Experimental de Pastos y Forrajes “Indio Hatuey” Universidad de Matanzas, Cuba.

\*Email autores corresponsales: \*[cee.uiapuebla.alfonso@gmail.com](mailto:cee.uiapuebla.alfonso@gmail.com); \*\*[mbibbinsm@ipn.mx](mailto:mbibbinsm@ipn.mx)

**Recibido:** 15 septiembre 2021. **Aceptado:** 11 noviembre 2021

### **RESUMEN**

Con la finalidad aprovechar el lactosuero que se genera como parte de la producción de queso y reducir el impacto ambiental que esta actividad ocasiona, se estimó la cantidad de proteína unicelular (PUC) enriquecida con la proteína precipitada (PP) que se puede obtener durante la fermentación de sueros dulces y ácidos (enteros y descremados), los cuales son los que se generan en mayor cantidad en las queserías artesanales de México durante la producción de queso fresco (panela y aro) y quesillo (también conocido como queso de hebra o Oaxaca). Se hicieron análisis fisicoquímicos para caracterizarlos, y se inocularon con *Kluyveromyces marxianus* para cuantificar gravimétricamente la cantidad de proteína unicelular sumada a la precipitada (PUC+PP) y consumo de lactosa que se obtienen en fermentaciones de 48 y 72 horas. Finalmente se cuantificó la biomasa viable de bacterias y levaduras lácticas crecidas en consorcio en suero dulce por el método de recuento en placa. Los resultados obtenidos indican diferencias significativas de pH, contenido proteico, azúcares, sólidos totales ( $p < 0.05$ ) pero iguales en contenido graso. Se obtuvo la misma cantidad de proteína unicelular sumada a la precipitada (PUC+PP) de lactosueros enteros y descremados después de 60 horas, pero mejores rendimientos en sueros dulces que ácidos entre las 48 y 60 horas ( $p < 0.05$ ). No se observaron diferencias en el consumo de lactosa en ambos sueros. Se obtuvieron valores del orden de 15 g de PUC+PP por litro de suero con un consumo de lactosa del 50% en 60 horas utilizando tanto sueros dulces como ácidos y poblaciones de hasta  $1 \times 10^6$  unidades formadoras de colonia (UFC)/mL. De esta

manera se espera desarrollar una tecnología económica y sencilla para obtener un producto aprovechable en alimentación humana y animal además de contribuir a reducir la contaminación ambiental.

**Palabras clave:** biotratamiento; bacterias ácido-lácticas; *Kluyveromyces marxianus*; residuos de quesería.

## ABSTRACT

In aiming to exploit the whey generated by cheese production and reduce the environmental impact caused by this process, the present study estimated the amount of single-cell protein (SCP) and precipitated protein (PP) that can be obtained during fermentation of both acid and sweet whey (whole and skimmed), large quantities of which are generated by the artisanal cheese dairies of México dedicated to the production of fresh cheese (panela and hoop) and “quesillo cheese” (also known as string cheese or Oaxaca quesillo). Physicochemical analyzes were conducted to characterize them. After that, fermentations with *Kluyveromyces marxianus* were set to gravimetrically quantify the amount of SCP added to PP (SCP+PP) and lactose consumption during a period time of 48 and 72 hours. Finally, the viable biomass of bacteria and lactic yeasts grown in consortium in sweet whey was quantified by the plate count method. The physicochemical analysis revealed very different results in terms of pH levels, protein content, sugar content, and total solids ( $p < 0.05$ ), while the fat content was found to be equal. The same amount of SCP+PP was produced on the whole and skimmed whey after 60 hours of fermentation, although higher yields were obtained for the sweet whey between 48 and 60 hours of fermentation ( $p < 0.05$ ). No differences between both kinds of whey were observed for lactose consumption. Values of 15 g SCP+PP per liter of whey were obtained via the consumption of 50% lactose and up to  $1 \times 10^6$  CFU / mL in 60 hours, for both the sweet and acid whey. It is hoped that economical and simple technology can be developed to obtain a product that can be used for human nutrition and animal feed as well as helping to reduce environmental pollution.

**Keywords:** biotreatment; cheese-making waste; *Kluyveromyces marxianus*; lactic acid bacteria.

## INTRODUCCIÓN

Diversas investigaciones se han enfocado al estudio del aprovechamiento de los recursos naturales y subproductos para elaborar alimentos de origen vegetal, animal y microbiano. La producción de proteína microbiana o proteína unicelular (PUC) por vía biotecnológica ha contribuido desde la segunda guerra mundial a cubrir las demandas alimenticias de la humanidad, lográndose rendimientos aceptables, utilizando subproductos agroindustriales como mieles finales de la refinación de azúcar, licor sulfítico de papel, bagazo de café, vinazas de destilerías y el lactosuero que se genera durante la elaboración de queso; subproducto que al disponerse de forma inadecuada, causa un daño severo al ambiente debido a su alta cantidad de materia orgánica [1, 2].

El lactosuero es uno de los materiales orgánicos más contaminantes que existen en la industria alimenticia: cada año entre 110 y 115 millones de toneladas métricas de suero de leche se generan a nivel mundial y actualmente más de la mitad se tira directamente a los hábitats acuáticos, lo que ha ocasionado un deterioro ambiental severo [3], por lo que es necesario investigar opciones social y ambientalmente viables para su manejo y aprovechamiento. El problema de la contaminación ocasionado por la disposición de lactosuero en países

desarrollados ha sido atacado mediante su aprovechamiento utilizando diferentes tecnologías y desarrollando productos con diferentes aplicaciones, lo que no sucede en México.

Una industria quesera media que produce diariamente 40 mil L de suero sin depurar genera una contaminación diaria similar a la de una población de más de un millón de habitantes [4]. Por su parte Jelen [5] equipara la fuerza contaminante de un litro de lactosuero a la de las aguas negras producidas en un día por 0.45 personas mientras que Ramírez [6] estima el mismo parámetro de 2.5 a 3 L de suero sin depurar. Tan sólo en México se estima que existen alrededor de 11 mil unidades económicas de producción de derivados lácteos, [7], lo que da una idea de la magnitud del problema y de los pocos avances que se han hecho a la fecha para solucionarlo, tanto por instituciones de investigación como por el gobierno.

El lactosuero, por su alta disponibilidad y contenido en lactosa, proteínas y vitaminas, es ideal para ser utilizado como medio nutritivo en la producción de PUC [8, 9]. Tradicionalmente se le ha utilizado para la producción de levaduras forrajeras como *Kluyveromyces* sp. y *Candida* sp. así como bacterias ácido-lácticas (BAL), microorganismos reconocidos como benéficos por su inocuidad, su valor nutritivo

rico en proteínas y vitaminas, y por tener propiedades probióticas. Estas especies, a diferencia de otras, son capaces de aprovechar la lactosa y los nutrientes del lactosuero para su desarrollo. Además de la proteína celular que se genera como crecimiento microbiano a partir del consumo de la lactosa del lactosuero, las bacterias ácido-lácticas modifican el pH del medio y por lo tanto el punto isoelectrico de las proteínas del lactosuero (lactoalbúminas); las cuales precipitan incrementando los contenidos en sólidos totales y proteína. El precipitado obtenido (PUC+PP) tiene un alto contenido proteico (50%) del cual el 85% son de alto valor biológico (considerando su contenido en aminoácidos esenciales) con potencial para utilizarse tanto en alimentación animal como humana [10]. Una de las principales dificultades para implementar este procedimiento en condiciones reales es la alta variabilidad de las características de la materia prima, principalmente acidez, contenido de sales y antibióticos, que depende del tipo de producto que se elabora y de la calidad de la leche utilizada.

Se han publicado diversos trabajos para evaluar el lactosuero como sustrato para la producción de PUC en condiciones controladas: con sueros sintéticos elaborados a partir de suero y/o leche en polvo, adicionando nutrientes [10], o con el

uso de sueros desproteinizados [11], pero se sabe poco sobre la producción de PUC con sueros naturales. En este trabajo se estimaron rendimientos de producción utilizando lactosueros frescos generados en queserías artesanales con la finalidad de evaluar la factibilidad para utilizarlos como materia prima en la producción de PUC+PP y probióticos.

## METODOLOGÍA

Los experimentos que a continuación se describen se realizaron en los laboratorios del Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada del Instituto Politécnico Nacional en Tlaxcala México (CIBA-IPN).

### Material biológico

Se utilizaron las bacterias *Lactobacillus acidophilus* y *Streptococcus thermophilus*, y la levadura *Kluyveromyces marxianus* NRRLY 1109; donadas por el Bioterio de la UAM Xochimilco, así como *Sacharomyces* sp., comercial. Todas las cepas se conservaron durante la etapa de experimentación por resiembra sucesiva en medio Man Rogosa Sharpe (MRS) y extracto de levadura peptona lactosa (YPL) respectivamente, a temperatura controlada a 20 °C.

### Colecta de sueros

Las muestras de suero se obtuvieron directamente de la cuba de proceso de la quesería “Sabores Galeazzi” localizada en Chipilo Puebla. Se envasaron 6 L de suero dulce y ácido en botellas de vidrio estériles, de los cuales 3 L de cada uno se descremó en una centrífuga Westfalia® para obtener 3 L de cada tratamiento: suero dulce entero, dulce descremado, ácido entero y ácido descremado, y se refrigeraron a 4 °C hasta su uso. Se trabajó con estos sueros considerando que son los que se producen en mayor cantidad durante la elaboración de queso fresco y quesillo en México, y debido a que en muchos talleres el suero se descrema para obtener grasa que posteriormente se utiliza como producto comercializable o para reintegrarse en la leche en la elaboración de queso doble crema.

### Análisis de sueros

Para caracterizar fisicoquímicamente a los sueros se utilizó un analizador automático Lactoscan® SLP60 7165 y se obtuvieron los principales parámetros de su composición. Los análisis se complementaron con la determinación de pH con un potenciómetro Hanna® y se determinó el contenido de lactosa por el método colorimétrico de Dinitrosalicílico (DNS) con un espectrofotómetro Bausch and

Lomb Spectronic 20® a 570 nm; utilizando una curva de calibración con diluciones conocidas de lactosa conforme al método propuesto por Miller [12].

### Producción de PUC+PP y consumo de lactosa

El experimento se hizo por triplicado en matraces Erlenmeyer de 500 mL adicionando a cada uno un volumen de 100 mL de suero pasteurizado para cada tratamiento (60 °C por 30 min), inoculado con la levadura *K. marxianus* al 10% activada en agar Luria Bertani (LB) durante 24 h, centrifugada y resuspendida en agua destilada estéril hasta obtener una densidad óptica de 0.5 a 460 nm [13]. Los matraces se incubaron a una temperatura de 28 °C en agitación orbital (180 rpm) obteniendo una muestra de 40 mL de cada matraz (12 en total) a las 48 horas. La biomasa obtenida, denominada como PUC, así como las proteínas precipitadas durante la fermentación (PP) se cuantificaron en conjunto considerando que ambas son una fuente de proteína de alta calidad. El valor de PUC+PP se obtuvo centrifugando cada una de las alícuotas de 40 mL de cada muestra a 12,000 g/5 min., separando el sobrenadante para la determinación de lactosa por el método de DNS [6]. El pellet precipitado se lavó con agua destilada estéril 2 veces, se secó a 40 °C hasta

peso constante para obtener el valor de PUC+PP expresado en  $\text{gL}^{-1}$ . En un segundo experimento sólo se evaluaron sueros dulces y ácidos enteros para determinar la producción de PUC+PP y el consumo de lactosa a las 0, 24, 60 y 72 horas bajo las mismas condiciones que el experimento anterior y se obtuvo la ecuación que mejor describió el comportamiento cinético utilizando el modelo polinómico de tercer grado [16].

### Producción de probióticos

Para evaluar la factibilidad del aprovechamiento de suero dulce en la producción de probióticos se evaluó el uso de bacterias y levaduras lácticas solas y en consorcio. Se hicieron fermentaciones en tubos Falcon de 50 mL con 38 mL de lactosuero dulce esterilizado, al cual previamente se le eliminó la proteína precipitable por coagulación térmica y centrifugación a 12,000 g/5 min. El medio se enriqueció con 4% de sacarosa y los tubos se inocularon con 2 mL de cada cepa: mezcla al 50% de *L. acidophilus* y *S. termophilus*, (BAL), *K. marxianus* (Kluy) y la mezcla de las 3 cepas (BAL-Kluy) (tres tratamientos en total) previamente enriquecidas y crecidas en medios Man Rogosa Sharpe (MRS) para BAL y extracto de levadura peptona lactosa (YPL) para levaduras. Se determinó por triplicado la producción de ácidos orgánicos por titulación

potenciométrica [14] y los resultados se expresaron como ácido láctico en gramos por 100 ml de lactosuero (%). Paralelamente se hizo un conteo de microorganismos viables (UFC) por la técnica de goteo en placa por diluciones seriadas (base 10) [8], sembrando cuatro cajas Petri por tratamiento con medio YPL seleccionando únicamente las cajas que cumplieron con las siguientes condiciones: a) colonias definidas morfológicamente por observación macroscópica considerando color, forma, tamaño, textura, elevación y forma del borde [15]; b) valores de dilución lógicos, es decir, que en la mayor dilución las colonias se pudieran contar y que en la dilución anterior hubiera más de 70 colonias. Al no cumplirse las condiciones descritas anteriormente, algunas cajas se descartaron, quedando entre 2 y 4 réplicas por tratamiento. Finalmente se ajustó el comportamiento cinético utilizando ajustes lineales y polinómicos de tercer grado.

### Análisis estadístico

Con los valores obtenidos en cada experimento se obtuvo la media y desviación estándar de cada variable y se compararon con la prueba estadística *t*-Student utilizando el paquete Sigma Plot® a un nivel de significancia del 95% ( $p < 0.05$ ) asumiendo normalidad y homogeneidad de varianzas.

## RESULTADOS

### Análisis de sueros

En la Tabla 1 se presentan los resultados de los análisis realizados para determinar la composición de los sueros utilizados, donde se

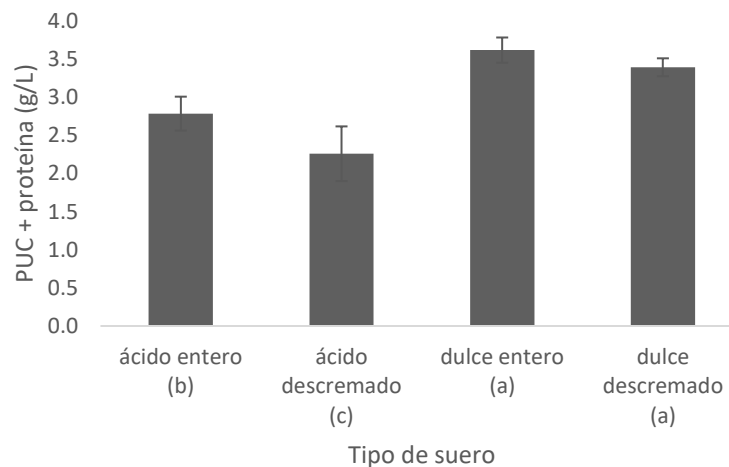
puede observar una clara diferencia en el pH, azúcares y proteínas entre ambos sueros, destacándose mayor contenido en el suero dulce ( $p < 0.05$ ).

**Tabla 1.** Análisis fisicoquímicos de lactosueros.

	Suero dulce	Suero ácido
Sólidos no grasos (%)	10.54 ± 0.02 a	3.24 ± 0.03 b
Densidad	35.93 ± 0.06 b	42.33 ± 0.02 a
Lactosa (%)	5.79 ± 0.025 a	3.76 ± 0.03 b
Grasa (%)	0.44 ± 0.04 a	0.4 ± 0.03 a
Proteína (%)	3.41 ± 0.06 a	2.2 ± 0.1 b
pH*	6.54 ± 0.2 a	4.5 ± 0.33 b
Azúcares reductores (g/L)**	38.64 ± 0.45 a	24.84 ± 0.56 b

Letras diferentes por renglón indican diferencia significativa t-Student ( $p < 0.05$ ), n=3.

Valores de Lactoscan SLP60; \*Potenciómetro y \*\*con espectrofotómetro.



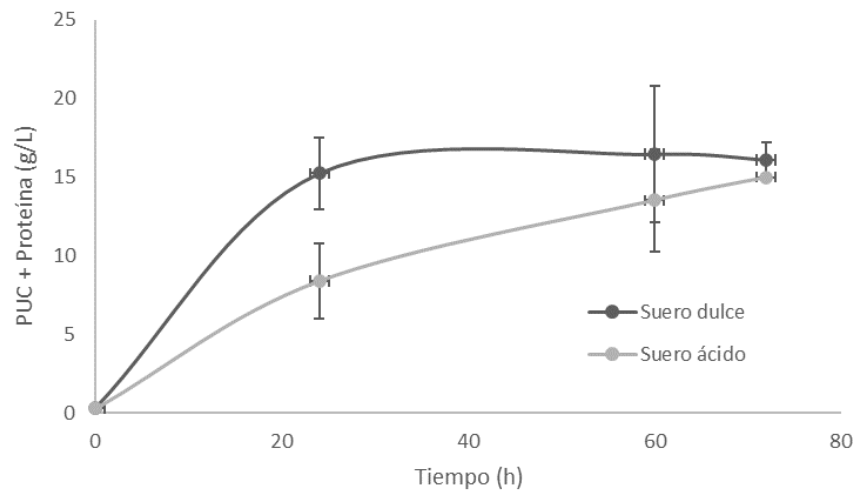
**Figura 1.** Proteína unicelular de *K. marxianus* NRRLY 1109 y proteína precipitable obtenida a las 48 horas en sueros dulce y ácido entero y descremado, n=3. Letras diferentes bajo columnas indican diferencia significativa según t-Student ( $p < 0.05$ ).

### Producción de PUC+PP y consumo de lactosa

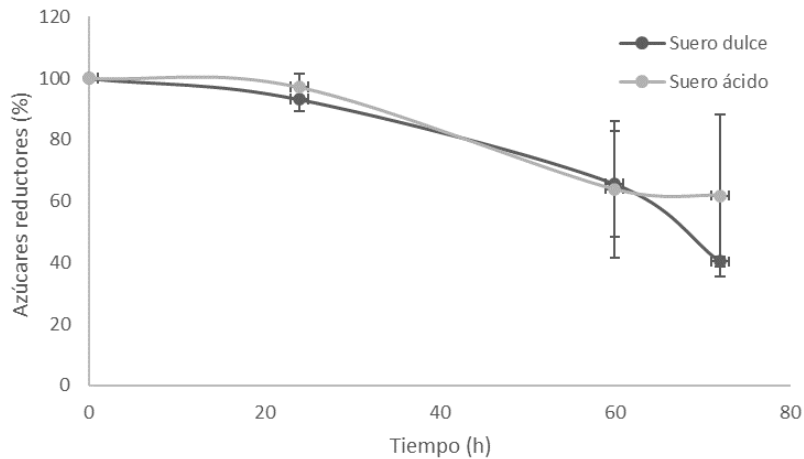
Como se observa en la figura 1, a las 48 horas de fermentación se obtuvo la misma cantidad de PUC+PP utilizando sueros enteros o descremados, pero mejores rendimientos con el suero dulce en comparación al ácido ( $p < 0.05$ ), que se puede atribuir al mayor contenido en lactosa y proteína del suero dulce y que resultaría ventajoso en la producción de PUC+PP en las primeras 48 horas de fermentación. El consumo de lactosa fue bajo (menor al 40% en promedio) y similar para todos los tratamientos (datos no presentados)

con una alta variabilidad atribuible a interferencia por la complejidad en la composición de los sueros.

Al comparar la producción de PUC+PP entre el suero dulce y ácido se corroboró que en las primeras 48 horas se obtienen mejores rendimientos con el suero dulce, sin embargo, después de 60 horas se alcanza el mismo nivel tanto en suero dulce como ácido (Figura 2). Como en el primer experimento, no se observaron diferencias en cuanto al consumo de lactosa, llegando hasta un 50% a las 72 horas (Figura 3).



**Figura 2.** Cinética de producción de proteína unicelular de *K. marxianus* (PUC) y proteína precipitable (PP) en lactosuero dulce ( $y=0.0001x^3-0.0197x^2+1.0262x+0.3307$ ;  $R^2=1$ ) y ácido ( $y=0.0025x^2+0.3772x+0.4377$ ;  $R^2=0.995$ ),  $n=3$ .



**Figura 3.** Consumo de lactosa por *K. marxianus* en lactosuero dulce y ácido, n=3.

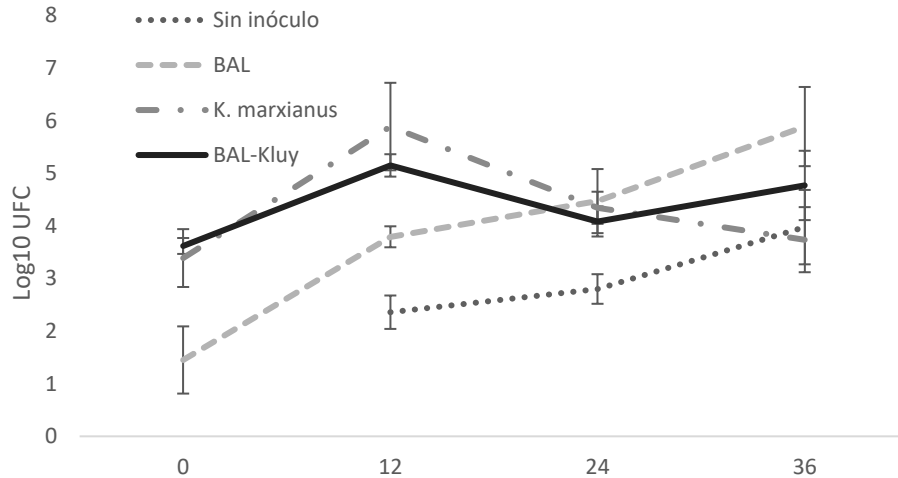
### Producción de probióticos

En la producción de probióticos, a diferencia de la obtención de PUC, es importante garantizar la viabilidad microbiana. En los resultados obtenidos durante la presente investigación se observaron claras diferencias entre las colonias de ambas especies: colonias pequeñas color crema, lisas y levantadas con borde circular bien definido y de crecimiento lento para *K. marxianus*, y colonias extendidas, color blanco lechoso, aplanadas y borde irregular para las BAL.

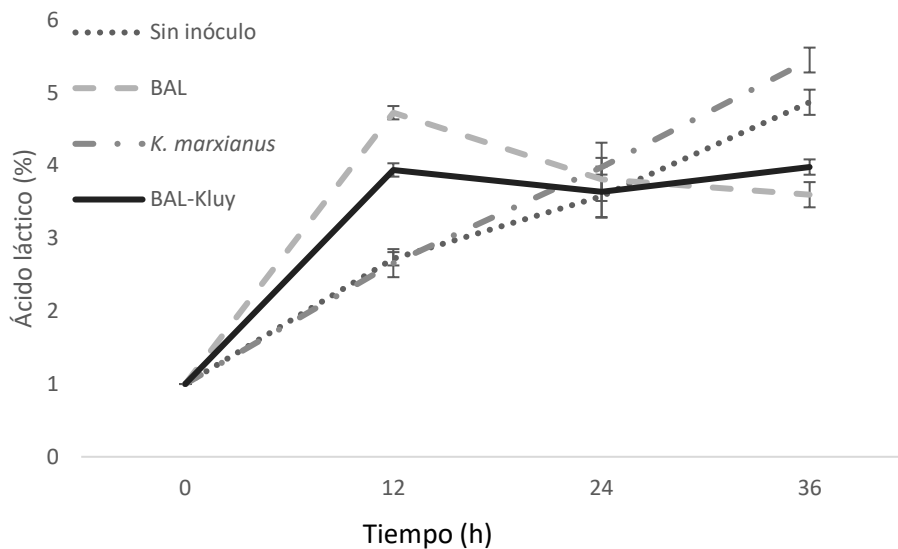
Se obtuvieron poblaciones de hasta  $1 \times 10^6$  unidades formadoras de colonia (UFC)/mL para *K. marxianus* de manera individual y en consorcio con las bacterias ácido-lácticas *L.*

*acidophilus* y *S. termophilus* (Figura 4). El mejor crecimiento se obtuvo con las BAL en suero dulce al observarse un desarrollo constante con respecto al tiempo y significativo con respecto al control a las 12, 24 y 36 horas ( $p=0.41$ ), sin diferencias significativas en cuanto a la producción de ácidos y por consiguiente, en el aprovechamiento de suero dulce (Figura 4).

En la figura 5 se muestra la producción de ácido láctico en suero dulce por *K. marxianus* y las bacterias lácticas. Se observaron niveles máximos de producción de ácido láctico de hasta 5 y 4 % para BAL y el consorcio BAL+ *K. marxianus* después de 12 horas de crecimiento, respectivamente.



**Figura 4.** UFC de *K. marxianus* sola y en consorcio con BAL en lactosuero dulce, n=2-4. BAL: Bacterias ácido-lácticas; BAL-Kluy: Consorcio de bacterias ácido-lácticas y *K. marxianus*.



**Figura 5.** Cinética de producción de ácido láctico de *K. marxianus* sola y en consorcio con BAL en lactosuero dulce, n=3. Sin inóculo ( $y=1.247x-0.075$ ;  $R^2=0.98$ ) BAL: Bacterias ácido-lácticas ( $y=0.8917x^3-7.6717x^2+20.5x-12.72$ ;  $R^2=1$ ); BAL-Kluy: Consorcio de bacterias ácido-lácticas y *K. marxianus* ( $y=0.6467x^3-5.5x^2+14.913x-9.06$ ;  $R^2=1$ ); *K. marxianus* ( $y=1.467x-0.395$ ;  $R^2=0.99$ ).

## DISCUSIÓN

El lactosuero, subproducto generado durante la producción de queso, es uno de los residuos más contaminantes de la industria

agroalimentaria. Su manejo inadecuado ocasiona un problema económico, social y ambiental no obstante de ser un recurso con alto potencial biotecnológico considerando su

contenido de nutrientes. El problema de la contaminación ocasionado por la disposición de lactosuero en países desarrollados ha sido atacado mediante su aprovechamiento utilizando diferentes tecnologías y desarrollando productos con diferentes aplicaciones, ejemplo que deberíamos seguir en nuestro país antes de que se convierta en un problema irreversible.

En este trabajo se observó una clara diferencia entre la composición fisicoquímica de suero dulce y ácido, principalmente en el contenido de azúcares, lactosa, proteínas, pH y sólidos no grasos, lo que concuerda con los resultados publicados por Londoño *et al.* [17] en experimentos realizados para la elaboración de bebidas fermentadas a base de lactosuero, y quienes concluyen que el contenido de lactosa es determinante en el crecimiento de microorganismos, por lo que se esperaría que en los sueros dulces, que contienen mayor cantidad de lactosa (5.79% en comparación a 3.76% de los sueros ácidos) ( $p < 0.05$ ), la producción de PUC fuera mayor. Por otra parte, el contenido de proteína es mayor en los sueros dulces ( $p < 0.05$ ) (3.41% en comparación con 2.20 del suero ácido), así como los sólidos no grasos (10.54 en comparación a 3.24 del suero ácido), parámetros que indican mayor potencial para la obtención de PUC y PP en los sueros dulces que en los ácidos. El pH observado en

nuestros experimentos corresponde a valores similares reportados por Juliano [18] de 6.6 y 5.8 respectivamente, y no se observaron diferencias para el contenido de grasa. Con respecto a la densidad, ésta es significativamente mayor en los sueros ácidos, no obstante, el contenido de sólidos es menor. Este comportamiento se puede explicar por la viscosidad que desarrolla el suero al acidificarse debido a la modificación de las proteínas séricas al acercarse a su punto isoeléctrico aunado a la producción de gomas extracelulares [19].

En relación a la producción de biomasa de *K. marxianus* utilizando suero dulce, se obtuvo una biomasa máxima de 6 g/L en 48 horas. Abad *et al.* [10] obtuvieron valores máximos de producción de biomasa en tan sólo 24 horas, utilizando la misma cepa de *Kluyveromyces* en sueros enteros desproteinizados. Una posible explicación a la diferencia observada es que en el trabajo citado se utilizaron fuentes adicionales de nitrógeno, lo que tendría que valorarse para nuestro caso considerando que lo que se busca es no incrementar los costos de producción y no generar un nuevo problema de contaminación.

Se observó que el suero dulce, por su mayor contenido en lactosa y proteína, es mejor que el suero ácido como sustrato para la producción de PUC+PP en las primeras 48 horas de

fermentación. Comparando los resultados de PUC+PP y consumo de lactosa en un tiempo de 48 y 60 horas, no se observó diferencia significativa, por lo que se deduce que se pueden aprovechar ambos residuos si las posibilidades de almacenamiento lo permiten, en caso contrario, es preferible el uso de lactosuero dulce para obtener resultados positivos desde las 48 horas de fermentación. Una posible explicación a este comportamiento es que el lactosuero ácido no ofrece inicialmente las condiciones óptimas de crecimiento de *K. marxianus*, pero al agotarse la lactosa como fuente principal de carbono, la levadura utiliza al ácido láctico como sustrato (crecimiento diáuxico) [20], mientras que durante la fermentación del suero dulce, este tiende a acidificarse y por lo tanto a igualar el pH del suero ácido.

El aprovechamiento del suero en la producción de biomasa, probióticos y cultivos iniciadores para procesos industriales (starters), es una de las opciones que proponemos en este trabajo para reducir los problemas de contaminación generados por la industria láctea. La presencia de lactosa y de otros nutrientes esenciales en el suero permite el crecimiento microbiano y hacen del suero de leche una materia prima potencial para la producción de diversos bioproductos [21-24]. En los resultados obtenidos durante la presente investigación se

obtuvieron  $1 \times 10^6$  unidades formadoras de colonia (UFC)/mL, de *K. marxianus* y bacterias ácido lácticas, estos resultados coinciden con lo reportado por Roukas y Kotzekidou [25] quienes observaron efectos sinérgicos con el uso de cepas bacterianas y levaduras en consorcio. En este sentido, Plessas *et al.*, y Canon *et al.*, [26] [27] atribuyen la sinergia observada a la simbiosis positiva que se establece entre ambas especies cuando las levaduras proveen de ciertas vitaminas y aminoácidos esenciales que benefician a las BAL, las cuales al verse favorecidas producen metabolitos secundarios, entre ellos ácido láctico, que las levaduras utilizan como fuente energética y que favorece su pH óptimo de crecimiento.

Derivado de los resultados y experiencias anteriores, se deduce que es posible aprovechar el lactosuero generado en las queserías en lugar de desecharlo para elaborar complementos alimenticios de aves de corral, conejos, cerdos y terneros. Se sugiere recuperar el lactosuero en tambos de 200 L, inocularlo al 10% con *K. marxianus* y/o bacterias ácido-lácticas (yogurt) y dejarlo fermentar por 48 horas, si se usa lactosuero dulce, y por más de 48 horas si es lactosuero ácido; recuperar el sedimento (PUC+PP) por decantación del sobrenadante y utilizarlo directamente como alimento, mezclándolo con salvado, salvadillo, rastrojo,

pasto, o secarlo en condiciones higiénicas y utilizarlo sólo o mezclado.

## CONCLUSIONES

Por su contenido en azúcares fermentables y proteína precipitable se concluye que es factible utilizar el lactosuero como materia prima en la producción de complementos alimenticios. En este trabajo se obtuvieron hasta 15 gL<sup>-1</sup> de proteína unicelular (PUC) de *K. marxianus* junto con proteína precipitada de lactosuero dulce (PP) en fermentaciones en lote, con una reducción hasta del 50% en el contenido de lactosa. En la producción de probióticos con lactosuero dulce se obtuvieron mejores resultados con bacterias ácido-lácticas que con el uso de consorcios microbianos. Se demuestra que es factible aprovechar el lactosuero generado en queserías artesanales en la elaboración de complementos alimenticios para uso agropecuario, contribuyendo a disminuir el problema de contaminación ocasionado por su inadecuada disposición

## CONFLICTO DE INTERESES

Se declara que no existe ningún conflicto de intereses por parte de los autores.

## AGRADECIMIENTOS

Al Instituto Politécnico Nacional, proyectos

SIP20211385 y SIP20211794.

A Samuel Rosales Galeazzi de la quesería “Sabores Galeazzi” por proporcionarnos las muestras de lactosuero y por su apoyo con el Lactoscan.

## REFERENCIAS

- [1]. Bainotti AE, Basílico JC, Carrasco de Mendoza MS. Optimizing conditions for the discontinuous production of unicellular protein using whey. *Rev Argent Microbiol.* 1987;19(1): 1–7.
- [2]. Moeini H, Nahvi I, Tavassoli M. Improvement of SCP production and BOD removal of whey with mixed yeast culture. *Electron. J. Biotechnol.* 2004; 7(3): 249–255.
- [3]. Guerrero-Rodríguez W, Castilla-Hernández P, Cárdenas-Medina K, Gómez-Aldapa C, Castro-Rosas J. Degradación anaerobia de dos tipos de lactosuero en reactores UASB. *Tecnol. Química.* 2012; 32 (1): 115–125.
- [4]. Valencia-Dencia E, Ramírez-Castillo M. La industria de la leche y la contaminación del agua. *Elementos: Ciencia y cultura, México.* 2009; 16(73): 27–31.
- [5]. Jelen P. Whey processing: utilization and products. in *Encyclopedia of Dairy Sciences: Second Edition.* 2011: 731–737.
- [6]. Ramírez-Navas J. Aprovechamiento

industrial de lactosuero mediante procesos fermentativos. Publicaciones e Investig. 2012; (6): 69–83.

[7]. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. El sector alimentario en México 2014. Serie estadísticas sectoriales, INEGI, 2014.

[8]. Michel A, Jacob F, Perrier J, Poncet S. Yeast production from crude sweet whey. Biotechnol. Bioeng. 1987; 30: 780–783.

[9]. Cristiani-Urbina E, Netzahuatl-Muñoz A, Manriquez-Rojas J, Juárez-Ramírez C, Ruiz-Ordaz N, Galíndez-Mayer J. Batch and fed-batch cultures for the treatment of whey with mixed yeast cultures. Process Biochem. 2000; 35:649–657

[10]. Flores A, Bautista M, Woolcott J, Patiño A, De, La Torre M. Optimización de parámetros fermentativos para producción de biomasa forrajera con levaduras desarrolladas en cultivos batch sobre suero lácteo crudo y desproteinizado. Rev. Per. Quím. Ing. Quím. 2008; 11(1)36–49.

[11]. Hernández E, Meza E, Lozano N. Producción de proteína unicelular mediante cultivo continuo de levadura en suero de leche desproteinizado. Rev. la Fac. Agron. la Univ. del Zulia. 1979; 5(2): 468-477

[12]. Miller G. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar.

Anal. Chem. 1959; 31(3): 426–428.

[13]. Jenq W, Speckman R, Crang R, Steinberg M. Enhanced conversion of lactose to glycerol by *Kluyveromyces fragilis* utilizing whey permeate as a substrate. Appl. Environ. Microbiol. 1989; 55(3): 573–578.

[14]. Association of Official Analytical Chemists. Manual of official methods of analysis, 15th ed. Washington. 1995.

[15]. Kandler O, Weis N. Regular Nonsporing Gram-Positive Rods, in Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2nd ed., vol. IV, Springer. 2005: 1208–1231.

[16]. Ibarra U, Trinidad J, Rodríguez-Carrillo A. El modelo logístico: Una alternativa para el estudio del crecimiento poblacional de organismos, REDVET. Rev. Electrónica Vet. 2010; 11(3): 1–12.

[17]. Londoño MM, Sepúlveda JU, Hernández A. Utilización del suero de queso fresco en la elaboración de bebida fermentada con cultivos probióticos. 2010; 20(2)

[18]. Muset G, Catells ML. Valorización del lactosuero, 1a ed. 2017.

[19]. Jovanovic S, Barac MB, Maćej O. Whey proteins-properties and possibility of application. Mljekarstvo. 2005; 55(3):215–233.

[20]. Mejía-Barajas J, Montoya-Pérez R, Cortés-Rojo C, Saavedra-Molina A. Levaduras termotolerantes: aplicaciones industriales,

estrés oxidativo y respuesta antioxidante. *Informacion Tecnologica*. 2016; 27(4): 3–16.

[21]. Cortés-Sánchez AD, Valle-González ER, Salazar-Flores RD, Ashutosh S. Biotechnological alternatives for the utilization of dairy industry waste products. *Adv. Biosci. Biotechnol*. 2015; 6(3):223–235.

[22]. Mahmood KT. Biomass production from *Kluyveromyces* spp. by using cheese whey. *J. Zankoy Sulaimani - Part A*. 2015;17(4):85–94.

[23]. Pais J, Serafim LS, Freitas F, Reis MA. Conversion of cheese whey into poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) by *Haloferax mediterranei*. *N. Biotechnol*. 2016;33(1): 224–230.

[24]. Koutinas AA, Papapostolou H, Dimitrellou D, Kopsahelis N, Katechaki E, Bekatorou A, Bosnea LA. Whey valorisation: A complete and novel technology development for dairy industry starter culture production.

*Bioresour. Technol*. 2009;100(15):3734–3739.

[25]. Roukas T, Kotzekidou P, Lactic acid production from deproteinized whey by mixed cultures of free and coimmobilized *Lactobacillus casei* and *Lactococcus lactis* cells using fedbatch culture. *Enzyme Microb. Technol*. 1998;22(3).

[26]. Plessas S, Bosnea L, Psarianos C, Koutinas A, Marchant R, Banat, I. Lactic acid production by mixed cultures of *Kluyveromyces marxianus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* and *Lactobacillus helveticus*, *Bioresour. Technol*. 2008; 99(13): 5951–5955.

[27]. Canon F, Nidelet T, Guédon E, Thierry A, Gagnaire V. Understanding the mechanisms of positive microbial interactions that benefit lactic acid bacteria co-cultures. *Frontiers in Microbiology*. 2020;11:1-16.