

## Producción de bioetanol a partir de suero de queso proveniente de la región central del estado de Veracruz

DE JESÚS-ANDRADE, Esmeralda\*†, OSORIO-GONZÁLEZ, Carlos, SANDOVAL-SALAS, Fabiola y ÁVALOS-DE LA CRUZ, Dora.

Recibido Octubre 5, 2016; Aceptado Noviembre 2, 2016

### Resumen

La producción de bioetanol se considera una alternativa energética que contribuye a la reducción de impactos ambientales negativos, provocados por el uso de combustibles fósiles. Con el fin de evaluar la producción de bioetanol a partir de suero de leche de bovinos (dulce y ácido) se optimizó el proceso de hidrólisis de la lactosa y la fermentación del hidrolizado. Los sueros se caracterizaron física y químicamente y se probaron dos tratamientos de hidrólisis: química con ácido clorhídrico al 0.01, 0.1 y 1M (30 y 90 minutos) y enzimática con 0.45, 0.9 y 1.8 mL/L de lactasa (15, 20 y 25 minutos). La eficiencia de la hidrólisis se cuantificó con el contenido de azúcares reductores por DNS y de glucosa por la técnica GOD-GOP (Trinder) y mediante fermentación de los mejores tratamientos. Los sueros (ácido y dulce) hidrolizados con la concentración de solución de HCl al 0.1 M, crudos y suplementados al 6 y 12 % fueron fermentados con una concentración de inóculo de  $1 \times 10^7$  cel/mL a una temperatura 28°C, bajo condiciones anaerobias, durante 92 horas. En estas condiciones, se obtuvieron 28.44 g/L en suero dulce suplementado (12% de azúcar total) y 30.02 g/L de bioetanol en suero ácido suplementado.

**Bioetanol, residuos agroindustriales, lactosuero, fermentación**

### Abstract

The production of bioethanol is considered an energy alternative that contributes to the reduction of negative environmental impacts caused by the use of fossil fuels. In order to evaluate the production of ethanol from whey of bovine (sweet and acid) the process of lactose hydrolysis and fermentation of the hydrolyzate was optimized. The sera were characterized physically and chemically and two hydrolysis treatments were tested: chemical with hydrochloric acid to 0.01, 0.1 and 1 M (30 to 90 minutes) and enzyme with 0.45, 0.9 and 1.8 mL / L lactase (15, 20 and 25 minutes). The efficiency of hydrolysis was quantified with the content of reducing sugars by DNS and glucose by the GOD-GOP (Trinder) technique and by fermentation of the best treatments. Sera (sour and sweet) hydrolyzed with the concentration of HCl solution 0.1 M, raw and supplemented to 6 and 12% were fermented at a concentration of inoculum of  $1 \times 10^7$  cel/mL at a temperature 28 ° C under anaerobic conditions for 92 hours. Under these conditions, 28.44 g / L were obtained in fresh serum-supplemented (12% total sugar) and 30.02 g / L in serum-supplemented bioethanol acid.

**Bioethanol, agro-industrial waste, whey fermentation**

**Citación:** DE JESÚS-ANDRADE, Esmeralda, OSORIO-GONZÁLEZ, Carlos, SANDOVAL-SALAS, Fabiola y ÁVALOS-DE LA CRUZ, Dora. Producción de bioetanol a partir de suero de queso proveniente de la región central del estado de Veracruz. Revista de Sistemas Experimentales 2016, 3-9: 42-50

\*Correspondencia al Autor (Correo electrónico: [investiga.itspe@gmail.com](mailto:investiga.itspe@gmail.com))

†Investigador contribuyendo como primer autor.

## Introducción

Actualmente los altos índices de contaminación ha llevado a los gobiernos de todo el mundo a exigir a las industrias una producción limpia, lo cual hace que las empresas planteen soluciones para disminuir sus cargas contaminantes (Panesar *et al.*, 2007; Koutinas *et al.*, 2009; Carvalho *et al.*, 2013), mediante la mejora de sus procesos o a través del aprovechamiento de los subproductos. El principal residuo que genera la industria láctea es el suero de leche, la producción mundial de este residuo por año es de 160 millones de ton, con un crecimiento de 1-2 % anual (Dragone *et al.*, 2009; Valencia y Ramírez, 2009; Guimaraes *et al.*, 2010; Ramírez Navas, 2012; Das *et al.*, 2015). Lo anterior provoca un daño al medio ambiente debido que contiene una alta concentración de sustancias orgánicas disueltas (Mukhopadhyay *et al.*, 2003), mismas que provocan una alta demanda bioquímica de oxígeno (DBO) de 35-45 mg/L, así como una alta demanda química de oxígeno (DQO) 80,000mg/L (Ergüder *et al.*, 2001; Ozmihci and Kargi, 2007; Dragone *et al.*, 2009; Das *et al.*, 2015), las variaciones en la demanda están determinadas directamente por el tipo de leche y del contenido de lactosa (Mukhopadhyay *et al.*, 2003; Das *et al.*, 2015). En la actualidad se han propuesto estudios con el fin de transformarlo en un producto útil de alto valor agregado, el cual representa una oportunidad para el desarrollo de nuevos productos (Bansal *et al.*, 2008; Bertin *et al.*, 2013).

Dragone *et al.*, 2011; Hernández-Ledesma *et al.*, 2010), debido a sus características, a la nueva cultura en la valorización de desechos agroindustriales y a la creciente combinación de nuevas metodologías, se podría aprovechar en otros procesos para la obtención de compuestos de interés industrial (Koutinas *et al.*, 2009), generando una oportunidad para el desarrollo de nuevos productos tales como biogás (Bertin *et al.*, 2013), enzimas (Bansal *et al.*, 2008), etanol Sin embargo a pesar de los múltiples usos del suero, el 47 % es descargado en el suelo, drenajes y cuerpos de agua, tornándose en un serio problema para el ambiente (Carrillo, 2006).

El estado de Veracruz ocupa el sexto lugar a nivel nacional en la producción de leche de bovino, con una producción de 695, 762 litros para el año 2015, (SAGARPA, 2016). Considerando que una parte de esta leche se destina a la producción de quesos, SAGARPA (2016), reporta una producción de 363,271 mil toneladas de queso para el mismo año, el cual genero una considerable cantidad de suero que no fue aprovechado, si se toma en cuenta que a partir de 10 litros de leche de vaca se puede producir de 1 a 2 kg de queso y un promedio de 8 a 9 kg de suero de leche (Parra, 2009; Guerra *et al.*, 2013).

Los sueros se caracterizaron física y químicamente y se probaron dos tratamientos de hidrólisis, ácida y enzimática. La eficiencia de la hidrólisis se cuantificó mediante el contenido de azúcares reductores y glucosa. La fermentación de los mejores tratamientos y la obtención de bioetanol se optimizo mediante la adición de suplemento (melaza) al 6 y 12% con la obtención de 28.44 g/L y 30.02 g/L de bioetanol para suero dulce y ácido suplementado respectivamente.

## Materiales y métodos

### a) Obtención del suero de queso

El suero fue colectado de dos diferentes micro queserías en la región centro del estado de Veracruz. El suero dulce fue obtenido de la coagulación de caseína vía enzimática (renina) y el suero ácido por la mezcla de renina y cultivos lácticos.

### b) Material biológico y medio de cultivo

Se utilizó una cepa etanolgenica de *Saccharomyces cerevisiae* ITPE01, aislada de caña de azúcar. La cepa fue conservada en medio agar papa-dextrosa a 4°C.

### c) Composición química

La composición química del suero ácido y dulce fue determinada bajo los siguientes criterios: la material seca se evaluó por secado en una estufa RIOSSA H-33 a 60°C hasta peso constante (A.O.A.C., 2005), la cenizas se realizaron por incineración en mufla (FURNACE 1300) a 550°C por 5 horas; la cuantificación de proteína se realizó por espectrofotometría (Lowry, *et al.*, 1951); la grasa butírica se realizó por el método de Gerber (NMX-F-155-SCFI-2003), el pH se determinó por medición directa con un potenciómetro Hanna modelo HI-8424 (NMX-F-317-S-1978); para la demanda química de oxígeno (DQO) se utilizó un kit HACH® basado en el método 800 para agua y aguas residuales, finalmente el contenido de lactosa se realizó utilizando un equipo Lactoscan. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado.

### d) Pre-tratamientos del suero de queso

#### -Hidrolisis enzimática de suero queso

Se utilizó una enzima en forma líquida ( $\beta$ -galactosidasa) obtenida de ENMEX con el nombre comercial de Lactoset®, la cual fue almacenada a 4°C hasta el momento de su utilización. La actividad de la enzima es de 10,000 u/g de enzima (1 mol de o-nitrofenol/min, en condiciones óptimas). La hidrolisis de lactosa se realizó bajo los siguientes parámetros: temperatura (35-40 °C), pH (6.5-7.5), tiempo (10-20 min) y concentración de enzima (0.46, 1, 1.5  $\mu$ L/L).

#### -Hidrolisis química de suero de queso

La hidrolisis química se realizó bajo las siguientes condiciones: autoclave a 120°C/15 psi y 100°C/1 atm, por 30 y 90 minutos y una concentración de ácido de 0.01, 0.1 y 1 M respectivamente.

### e) Producción de alcohol

Una vez hidrolizadas las muestras se centrifugaron a 10 000 rpm por 10 minutos a 4°C, el sobrenadante fue filtrado en papel filtro Whatman No. 1, el pH se ajustó a 4.5 y la cuantificación de azúcares reductores en el hidrolizado se realizó mediante el método de DNS (Miller, 1959). Se inocularon matraces de 1000 mL con un volumen de trabajo de 500 mL de suero hidrolizado, con una concentración de inóculo de  $1 \times 10^7$  cel/mL, la temperatura y el tiempo de la fermentación fueron de 28°C y 92 horas como tiempo máximo. Las muestras fueron destiladas y el porcentaje de etanol se estimó con base a la ecuación de Gay-Lussac para fermentación alcohólica.

### f) Análisis estadístico

Para evaluar el efecto de los diferentes parámetros en la hidrólisis química se utilizó un factorial de dos niveles y tres factores ( $2^3$ ) así como un análisis de varianza (ANOVA) y un comparativo de medias (LSD). La evaluación de la hidrólisis enzimática se realizó utilizando un diseño de optimización (Box-Benkhen), todas las corridas se hicieron por duplicado, (Cuadro 1). Todos los análisis se realizaron con el paquete estadístico Minitab® 17.1.0.

Corrida	Tiempo	Enzima	Temperatura
1	15	0.45	40
2	25	0.45	40
3	15	1.8	40
4	25	1.8	40
5	15	1.125	35
6	25	1.125	35
7	15	1.125	45
8	25	1.125	45
9	20	0.45	35
10	20	1.8	35
11	20	0.45	45
12	20	1.8	45
13	20	1.125	40
14	20	1.125	40
15	20	1.125	40

**Tabla 1** Diseño de Box-Benkhen

### Resultados

#### Composición química

Los resultados obtenidos para la composición química se presentan en el Cuadro 2. Para materia seca y pH del suero dulce son similares a los reportados por Boudjema *et al.* (2015), la cantidad de cenizas presente en ambos sueros es menor respecto a lo reportado por Yadav *et al.* (2015), lo anterior se debe principalmente a la cantidad adicionada de cloruro de calcio en cada uno de los diferentes procesos de elaboración del queso (Malcata *et al.*, 2001); la cantidad de proteína es menor, y la cantidad de ácido láctico es mayor a lo reportado por Anand *et al.* (2013), el contenido de lactosa es mayor a la reportada por Panesar *et al.* (2007), la cantidad grasa presente es menor a lo reportado por Yadav *et al.* (2015), esto se debe principalmente a las características física y químicas de la leche, a la especie bovina específica, la época estacional en la que se recolecta la leche, en la alimentación proporcionada al animal y al proceso de coagulación utilizado para la separación de la caseína (Park *et al.*, 2007), la demanda química de oxígeno es similar a lo reportado por Smithers *et al.* (2015), lo cual se debe principalmente a la composición física y química de la leche (Navas 2015).

Parámetro	Dulce	Ácido
Materia seca	7.44±1.27	6.80±0.20
Grasa	0.4±0.00	0.86±0.05
Proteína	0.19±0.59	0.18±0.64
Cenizas	1.18±0.03	0.87±0.03
Lactosa	4.215±0.078	3.525±0.148
pH	6.60±0.02	4.42±0.18
Ácido láctico	0.50±0.00	5.03±1.24
DQO (g/L)	56.76±0.00	74.58±0.02

**Tabla 2** Composición química (%) de suero de queso bovino (dulce y ácido).

Pre-tratamientos del suero de queso

Hidrólisis enzimática

El resultado de la optimización de la hidrólisis enzimática por Box-Benhken no mostró diferencia significativa ( $P=0.208$  y  $0.709$  respectivamente) para ambos sueros (ácido y dulce). Después del tratamiento de hidrólisis en suero dulce y ácido, el análisis indica que no hubo un cambio significativo en el contenido de azúcares reductores, lo cual se debe principalmente a la inhibición competitiva que ejercen los productos de reacción, glucosa y galactosa, ya que van en incremento y la galactosa ocupa el sitio activo de la enzima evitando que la lactosa se una al mismo (Beltrán y Acosta, 2014).

Hidrólisis química

En el ANOVA, los factores evaluados, concentración de la solución de HCl y el contenido de azúcares reductores ( $P$ -Value:  $0.502$ ) señala que no existe diferencia significativa entre dichos factores (Gráfico 1), por lo que se procedió a utilizar, la concentración más baja de la solución de HCl para efectuar la hidrólisis.

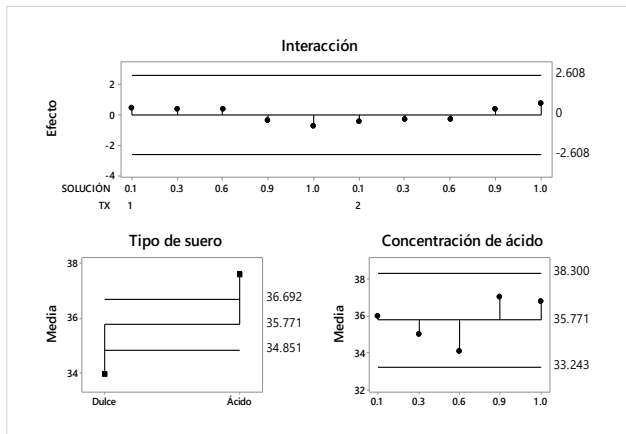


Gráfico 1 Gráfico de efectos principales, tipo de suero y concentración de ácido.

Fermentación de los hidrolizados de suero

El monitoreo de los azúcares reductores presentes en el medio de fermentación del tratamiento de suero suplementado con melaza (12%; gráfico 2 y 3) mostró consumo acelerado de azúcares durante las primeras 12 horas (50%) y una reducción notable después de este periodo con tendencia a un comportamiento asintótico para ambos tipos de suero (dulce y ácido). Se observó que a pesar de haber mantenido la fermentación hasta 92 horas, a partir de las 40 horas el consumo es prácticamente nulo, lo que indica la posibilidad de que se esté agotando otro nutriente que actúa como sustrato limitante. Cruz *et al.* (2003) encontraron que la concentración y tipo de la fuente de nitrógeno afecta el consumo de galactosa cuando se usan cepas de panificación y cerveceras.

El consumo de azúcar en el tratamiento de suero suplementado al 6% de azúcares mostro un comportamiento lineal hasta las 40 horas, equivalente a 6 g/h. Al igual que el tratamiento de 12% la curva tiende hacerse asintótica.

El consumo de azúcares en el sustrato no suplementado con melaza fue mínimo (12 g/L) hasta las 92 horas.

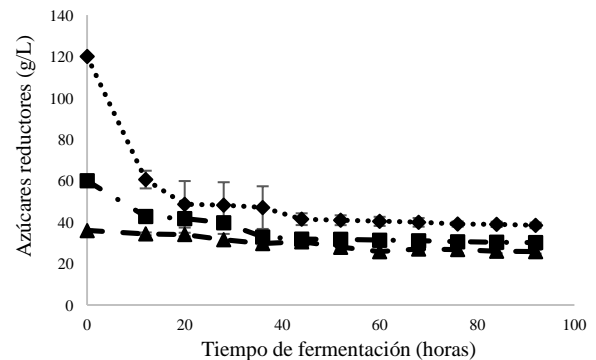
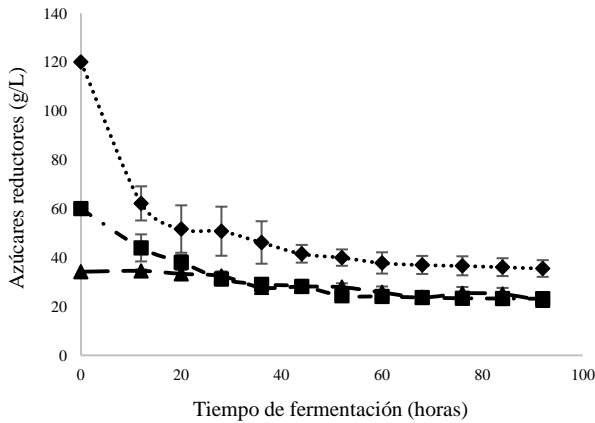


Gráfico 2 Cinética de consumo de azúcares reductores en suero ácido de bovino. Suero crudo (▲), suero suplementado al 6% (■), suero suplementado al 12% (◆).



**Gráfico 3** Cinética de consumo de azúcares reductores en suero dulce de bovino. Suero crudo (▲), suero suplementado al 6% (■), suero suplementado al 12% (◆).

*Producción de alcohol*

Los rendimientos de alcohol obtenidos de las tres diferentes fermentaciones (suero crudo y suero suplementado con melaza en 6 y 12%) se muestran en la tabla 3.

Tipo de suero	Suero dulce		Suero Ácido	
	Etanol (g/L)	Rendimiento teórico	Etanol (g/L)	Rendimiento teórico
Suero hidrolizado	0.316±0.00	18.35±0.00	0.632±0.00	17.45±0.00
Suero suplementado (6%)	15.8±0.00	30.66±0.00	15.8±0.00	30.66±0.00
Suero suplementado (12%)	28.44±0.129	61.33±0.00	30.02±0.129	61.33±0.00

**Tabla 3** Rendimiento de alcohol obtenido a partir de suero de queso

La producción de bioetanol en suero ácido y dulce hidrolizado sin suplementar es acorde a lo esperado considerando que el contenido de azúcar (lactosa) es cercano al 40%, y coincide con estudios previos donde se utilizó suero solo para la producción de etanol, en los que se encontraron bajos rendimientos (Coughlin y Charles, 1980; Moulin y Galzy, 1984; Parashar, *et al.* 2016).

La evaluación de la producción de bioetanol en suero ácido y dulce suplementado con melaza al 6 y 12% muestra un rendimiento del 50% con respecto al rendimiento teórico, en el que 1 mol de glucosa produce 2 mol de etanol, 2 moles CO<sub>2</sub> y energía (Sánchez y Cardona, 2005). Los resultados obtenidos coinciden con lo esperado, ya que se detectó que la levadura solo consume una parte del sustrato principal (fuente de carbono y energía-azúcares), lo que indica la posibilidad de que se esté agotando otro nutriente y que actúe como sustrato limitante. Sin embargo en este trabajo no se evaluó la evolución de otros nutrientes. Trigueros *et al.* (2016) encontraron que *S. cerevisiae* consume rápido la glucosa y metaboliza con mayor lentitud la galactosa, debido a que célula está lista para metabolizar glucosa. Ocasionado que su sistema de síntesis enzimática, necesario para asimilar la segunda fuente de carbono dependa de su estado de energía asociado con la concentración de glucosa en el medio. Regulando el sistema en diferentes mecanismos tales como la represión de catabolitos y la inactivación catabólica, lo que resulta, en fermentaciones prolongadas. No obstante *S. cerevisiae* posee una buena capacidad fermentativa y tolerancia al etanol, lo que permite producir hasta 20% (v / v) (Antoni *et al.*, 2007; Cot *al.*, 2007; Guimarães *et al.*, 2010), convirtiéndola en la levadura más usada para la generación de este producto.

## Conclusiones

Los parámetros fisicoquímicos del suero dulce y ácido de bovino provenientes de la región central del estado de Veracruz se encuentran dentro de los intervalos aceptables, con respecto a la de otros autores.

La optimización de la hidrólisis enzimática mediante el diseño de Box-Benhenk no mostró diferencia significativa en el contenido de azúcares, mientras que la aplicación de tratamiento termo-ácidos (hidrólisis química) incremento el rendimiento de azúcares totales mediante la adición de soluciones de HCl a bajas concentraciones, permitiendo llevar a cabo procesos fermentativos.

La concentración de azúcares totales en suero de queso hidrolizado ejerció gran influencia en la producción de etanol por *Saccharomyces cerevisiae* ITPE01 siendo la formación de producto máxima de 28.44 y 30.02 para suero dulce y ácido respectivamente, cuando se utiliza una concentración de suplemento (melaza) al 12 %. Por último, el uso de suero de leche como sustratos representa una oportunidad importante que puede permitirnos mejorar el valor añadido de los procesos agroindustriales, reduciendo temporalmente los costos de eliminación ayudando a mitigar la contaminación, de cuerpos de agua y suelos.

## Agradecimiento

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) y al Tecnológico Nacional de México (TNM) por brindar los fondos para la realización de esta investigación.

## Referencias

- Anand, S., Som Nath, K., & Chenchaiyah, M. (2013). Whey and whey products. *Milk and Dairy Products in Human Nutrition: Production, Composition and Health*, 477-497.
- Beltran, L. J., & Acosta, A. (2014). Empleo de una  $\beta$ -galactosidasa comercial de *Kluyveromyces lactis* en la hidrólisis de lactosuero. *Hechos Microbiológicos*, 3(2), 25-35.
- Bertin, L., Grilli, S., Spagni, A., & Fava, F. (2013). Innovative two-stage anaerobic process for effective codigestion of cheese whey and cattle manure. *Bioresource technology*, 128, 779-783.
- Boudjema, K., Fazouane-Naimi, F., & Hellal, A. M. I. N. A. (2015). Optimization of the Bioethanol Production on Sweet Cheese Whey by *Saccharomyces cerevisiae* DIV13-Z087C0VS using Response Surface Methodology (RSM). *Romanian Biotechnological Letters*, 20(5), 10814-10825.
- Carrillo, A. J. L. (2006). Tratamiento y reutilización del suero de leche. *Rev Mundo Lácteo y Cárnico* (6), 28-30.
- Carvalho, F., Prazeres, A. R., & Rivas, J. (2013). Cheese whey wastewater: characterization and treatment. *Science of the total Environment*, 445, 385-396.
- Cruz, S. H., Batistote, M., & Ernandes, J. R. (2003). Effect of sugar catabolite repression in correlation with the structural complexity of the nitrogen source on yeast growth and fermentation. *Journal of the Institute of Brewing*, 109(4), 349-355.

- Das, B., Roy, A. P., Bhattacharjee, S., Chakraborty, S., & Bhattacharjee, C. (2015). Lactose hydrolysis by  $\beta$ -galactosidase enzyme: optimization using response surface methodology. *Ecotoxicology and environmental safety*, 121, 244-252.
- Dragone, G., Mussatto, S. I., e Silva, J. B. A., & Teixeira, J. A. (2011). Optimal fermentation conditions for maximizing the ethanol production by *Kluyveromyces fragilis* from cheese whey powder. *Biomass and bioenergy*, 35 (5), 1977-1982.
- Guerra, Á. V. A., Castro, L. M. M., & Tovar, A. L. Q. (2013). Aprovechamiento del lactosuero como fuente de energía nutricional para minimizar el problema de contaminación ambiental/Utilization of whey as a source of nutritional energy to minimize the problem of environmental pollution/Aproveitamento do soro de leite coalhado como fonte de energia nutricional para minimizar o problema de contaminação ambiental. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 4(2), 55.
- Guimarães, P. M., Teixeira, J. A., & Domingues, L. (2010). Fermentation of lactose to bio-ethanol by yeasts as part of integrated solutions for the valorisation of cheese whey. *Biotechnology Advances*, 28(3), 375-384.
- Koutinas, A. A., Papapostolou, H., Dimitrellou, D., Kopsahelis, N., Katechaki, E., Bekatorou, A., & Bosnea, L. A. (2009). Whey valorisation: A complete and novel technology development for dairy industry starter culture production. *Bioresource Technology*, 100(15), 3734-3739.
- Lowry, O.H., Rosenbrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J (1951). Protein measurement with the Folin Phenol Reagent. *J Biol chem.* Pp 256-275.
- Malcata, F. X., Macedo, A. C., & Pintado, M. E. (2001). Technology, chemistry and microbiology of whey cheeses: Review. *Food science and technology international. Ciencia y tecnología de alimentos internacional*, 7(2), 105-116.
- Miller, G.L. (1959). Determination of reducing sugar by DNS method. *Analytical Chemistry*, 31, 426-428.
- Mukhopadhyay, R., Talukdar, D., Chatterjee, B. P., & Guha, A. K. (2003). Whey processing with chitosan and isolation of lactose. *Process Biochemistry*, 39(3), 381-385.
- Navas, J. S. R. (2015). Aprovechamiento Industrial de Lactosuero Mediante Procesos Fermentativos. *Publicaciones e Investigación*, 6, 69-83.
- NMX-F-317-S-1978. Determinación de pH en alimentos. Determination of pH in foods. Normas Mexicanas. Dirección general de normas.
- NOM-155-SCFI-2012. Leche-denominaciones, especificaciones fisicoquímicas, información comercial y métodos de prueba. Normas Mexicanas. Dirección general de normas.
- Padín González, C., & Díaz Fernández, M. (2009). Fermentación alcohólica del lactosuero por *Kluyveromyces marxianus* y solventes orgánicos como extractantes. *Rev. Soc. Venez. Microbiol*, 29(2), 110-116.
- Panesar, P. S., Kennedy, J. F., Gandhi, D. N., & Bunko, K. (2007). Bioutilisation of whey for lactic acid production. *Food Chemistry*, 105(1), 1-14.
- Park, Y. W., Juárez, M., Ramos, M., & Haenlein, G. F. W. (2007). Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small ruminant research*, 68 (1), 88-113.



Parashar, A., Jin, Y., Mason, B., Chae, M., & Bressler, D. C. (2016). Incorporation of whey permeate, a dairy effluent, in ethanol fermentation to provide a zero waste solution for the dairy industry. *Journal of dairy science*, 99 (3), 1859-1867.

Sánchez, Ó. J., & Cardona, C. A. (2005). Producción biotecnológica de alcohol carburante I: obtención a partir de diferentes materias primas. *Interciencia*, 30(11), 671-678. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). 2016. Boletín de leche (abril-junio 2016). Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). México, D. F. <http://www.siap.sagarpa.gob.mx> (consultado el 7 de septiembre del 2016).

Smithers, G. W. (2015). Whey-ing up the options—Yesterday, today and tomorrow. *International Dairy Journal*, 48, 2-14.

Trigueros, D. E. G., Fiorese, M. L., Kroumov, A. D., Hinterholz, C. L., Nadai, B. L., & Assunção, G. M. (2016). Medium optimization and kinetics modeling for the fermentation of hydrolyzed cheese whey permeate as a substrate for *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*. *Biochemical Engineering Journal*, 110, 71-83.

Yadav, J. S. S., Yan, S., Pilli, S., Kumar, L., Tyagi, R. D., & Surampalli, R. Y. (2015). Cheese whey: A potential resource to transform into bioprotein, functional/nutritional proteins and bioactive peptides. *Biotechnology advances*, 33 (6), 756-774.