

Aprovechamiento de suero de leche para producción de celulosa microbiana

M. Salazar-Manzanares, J. Márquez-Reyes, B. Rodríguez-Romero, G. Méndez-Zamora, A. Luna-Maldonado y M. Treviño-Garza

1 Facultad de Agronomía, UANL. Av. Francisco Villa S/N, Col. Ex Hacienda el Canadá. 2 Facultad de Ciencias Biológicas, UANL. Cd. Universitaria S/N, San Nicolás de los Garza. Tel. (81) 1340 4399. Email:

*martha.salazarma@uanl.edu.mx

RESUMEN

Uno de los principales sectores de la industria que genera gran cantidad de aguas residuales con alta concentración de carga orgánica es el sector lácteo. El suero de leche es el residuo más representativo, ya que ha sido categorizado como un desperdicio por sus elevados volúmenes generados, ocasionando problemas severos de contaminación. El objetivo de la presente investigación fue utilizar un consorcio de microorganismos aislados de Kombucha capaz de reducir la carga orgánica del efluente utilizándolo como fuente de carbono para la producción de celulosa microbiana. Las características fisicoquímicas del suero se monitorearon durante 12 días de fermentación. Las variables respuestas fueron: % acidez titulable (At); pH; azúcares totales (AT); sólidos totales (ST); sólidos totales volátiles (STV); demanda química de oxígeno (DQO); proteínas (P) y peso de la celulosa bacteriana (PCB). Se observaron diferencias significativas para % At, pH, DQO, P. El tratamiento que presentó mayor remoción de carga contaminante del efluente fue el T1 (100;0) v/v, incrementando en él % de At; el pH disminuyó de 5.5 a 3.5; las concentraciones (At) disminuyeron de 32.7 a 7.2 g/L⁻¹ finalmente la DQO descendió de 172.25 a 63.75 g/L⁻¹, además de presentar aumento de la PCB.

Palabras clave: Suero de leche, celulosa microbiana, kombucha, carga orgánica

ABSTRACT

One of the main sectors of the industry which generates a large amount of wastewater, with high content of organic matter is the dairy sector. Whey is the most representative residue, since it has been categorized as a waste due to its high volumes generated, causing severe pollution problems. The objective of this research is to use a consortium of isolated Kombucha microorganisms capable of reducing the pollutant load of the effluent, at the same time that it produces microbial cellulose which can be used for other production processes. The physicochemical characteristics of the whey were monitored during 12 days of fermentation. The response variables were: % titratable acidity (At); pH; total sugars (AT); total solids (TS); total volatile solids (TVS); chemical oxygen demand (COD); protein (P) and bacterial cellulose weight (PCB). Significant differences were observed for % At, pH, COD, P. The treatment that showed the greatest removal of pollutant load from the effluent was T1 (100;0) v/v, increasing in it % At; pH decreased from 5.5 to 3.5; concentrations (At) decreased from 32.7 to 7.2 g/L⁻¹ and finally COD decreased from 172.25 to 63.75 g/L⁻¹, in addition to presenting an increase in PCB.

Keywords: Whey, microbial cellulose, kombucha.

INTRODUCCIÓN

Dentro de los sectores más importantes de la economía de países industrializados es el sector lácteo por su variedad de productos y procesos, generando principalmente residuos líquidos, los cuales podemos encontrar mayormente a la leche diluida, crema, suero, grasas, aceites, sólidos suspendidos totales y nitrógeno, cuya eliminación demanda gran parte de inversión de capital (Panesar *et al.*, 2007). Alrededor del 90% de la leche total utilizada en la industria del queso es descartada como suero, que es un subproducto obtenido durante el proceso de fabricación de queso, que retiene aproximadamente el 55% de las sustancias totales de la leche, incluyendo proteínas solubles, lactosa, lípidos y sales minerales. Debido a las grandes cantidades de queso que son producidas a nivel mundial, la generación de aguas residuales se convierte en el aspecto ambiental más significativo en la industria láctea, tanto por los elevados volúmenes generados, como por las altas cargas contaminantes, esto en medida que incrementa el mejoramiento de productividad, calidad y sanidad del proceso (Aider *et al.*, 2009). El suero de leche es un líquido claro de color verdoso translúcido que se separa del coágulo de la leche para la obtención de queso. Contiene principalmente lactosa, proteínas como sustancias de importante valor nutritivo, minerales, grasa y vitaminas responsables de los elevados valores de demanda bioquímica de oxígeno (DQO) presentes en el mismo (Valencia y Ramírez, 2009). Está compuesto por proteínas como la Beta-lactoglobulina, la Alfa-lactoalbúmina que es la segunda proteína más abundante encontrada en el suero de leche, constituyendo aproximadamente 20 a 25% de la proteína de suero y las inmunoglobulinas que constituyen aproximadamente el 10 a 15% de la proteína de suero. Así mismo se conforma de minerales y vitaminas donde podemos encontrar el fósforo, magnesio, zinc, hierro y cobre con alto grado de disponibilidad, los cuales pueden favorecer a ser utilizado como un medio de cultivo enriquecido para el crecimiento de microorganismos. También contiene cantidades pequeñas, pero bastante apreciables de las vitaminas A, C, D, E y complejo B (Paulino & Zare, 2013).

Las aguas residuales de la industria láctea son el problema ambiental de mayor importancia en su operación ya que se caracterizan por tener una gran cantidad de material orgánico, alta biodegradabilidad, presencia de aceites y grasas, fósforo, nitratos, sólidos en suspensión (especialmente las productoras de queso), y gran variabilidad de pH (Lucas & García, 2018). La finalidad de los sistemas de tratamiento de las aguas residuales es remover los contaminantes que sean perjudiciales al medio ambiente y en general, a los seres vivos mediante una combinación de procesos físicos, químicos y biológicos (Valencia y Ramírez, 2009). Con el propósito de poder aminorar los problemas ambientales asociados a la producción de suero de leche, numerosas alternativas han sido propuestas para transformar este problema ecológico en una fuente de generación de recursos económicos con un valor agregado al mismo. Ramírez-Navas (2012), señala que el suero de leche se cataloga como un desperdicio por ser altamente contaminante en Latinoamérica, una pequeña cantidad se emplea para alimento animal y el resto es vertido como efluente. Así mismo menciona que actualmente existen estudios que emplean tecnologías con la finalidad de transformar el suero en un producto de valor y ha ganado importancia en este sector como proceso fermentativo, ya que es un excelente medio de cultivo debido a sus propiedades y composiciones que le permite obtener una amplia gama de productos que van desde biomasa hasta la creación de nuevos productos.

La kombucha es una bebida de origen de Manchuria obtenido a partir de té dulce que son fermentados por una colonia simbiótica de bacterias y levaduras (SCOBY por sus siglas en inglés) compuesta por bacterias de ácido acético y levaduras osmofílicas. (Amarasekara *et al.*, 2020). Se utilizan diferentes fuentes de azúcares (sacarosa, lactosa, glucosa y fructosa) para realizar la fermentación, influyendo directamente en el metabolismo del hongo del té y en el contenido de ácidos producidos (láctico,

acético, glucónico y glucurónico) (Reiss-J, 1994). De acuerdo con Santos *et al.* (2015), durante la fermentación del té de kombucha, se forma una película polimérica sólida de celulosa microbiana en la interfaz del medio de cultivo. Por lo anterior, el objetivo de la presente investigación fue utilizar el efluente generado en la producción de queso como medio de fermentación para producir celulosa microbiana y disminuir la carga orgánica en el medio.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Consorcio de trabajo

Se trabajó con un consorcio de microorganismos aislada de una Kombucha artesanal. De la bebida se tomaron 200 mL los cuales se mezclaron con 500 mL de una infusión de té verde (25°C) en recipientes de vidrio de 2 L, se taparon con gasa y se mantuvieron a 25 °C por 20 días bajo condiciones de oscuridad. La infusión de té se preparó a base de 1 L de agua destilada previamente calentada a 85°C a la cual se le adicionó 3.6 g de té verde (marca Hill Country) por 15 min y 50 g de dextrosa anhidra. Se realizó recambio de la infusión de té al recipiente original eliminado el 50% de la solución y reponiéndolo por nueva infusión. Esto con la finalidad de generar un hotel de CM o SCOBY.

2. Residuo lácteo

El residuo lácteo se obtuvo de una fábrica de procesados de lácteos exclusivamente del proceso de elaboración de queso panela. Se colectó en recipientes plásticos de 3 L y se guardó en refrigeración a 4 °C para su posterior uso, manteniéndolo un tiempo máximo en dichas condiciones de 24 h. En recipientes plásticos de 500 mL, se les adicionaron 200 mL de una mezcla de suero: agua (V/V) en distintas proporciones. Los tratamientos fueron los siguientes (V/V): 100:0; 75:25; 50:50; 25:75 y 0:100. Todos los tratamientos se realizaron por quintuplicado y fueron inoculados con 15% (V/V) del inóculo microbiano. Como control positivo para la fermentación se usó té verde con dextrosa (50 g/L). Los recipientes fueron tapados con gasa en la parte superior y almacenados en completa oscuridad a 25 ±2°C por 12 días. Se realizaron análisis químicos del suero y del fermentado. Al término de la fermentación se recuperaron los discos de CM formados, se lavaron y pesaron para obtener el peso fresco, posteriormente se colocaron dentro de una estufa a 44°C hasta peso constante y obtener el peso seco final.

Caracterización química

DQO a flujo cerrado.

Se siguió el procedimiento establecido en el método 5220 (APHA, 2005), utilizando como estándar biftalato de potasio. En tubos se colocaron 2.5 mL de muestra, 1.5 mL de la solución de digestión y 3.5 mL de solución ácida. Se colocaron en un reactor hach por 2 h a 150 °C, posteriormente se enfriaron y se cuantificó por espectrofotometría UV-vis a 620 nm.

Sólidos totales

Se determinó por el método 3540 D (APHA, 2005), donde se tomaron 5 mL de la muestra homogenizada y se colocó en un crisol previamente pesado. Los crisoles fueron introducidos a una estufa a 105°C durante 24 horas, finalmente se dejaron enfriar y se pesó la muestra. La concentración se calculó utilizando la ecuación 1.

$$ST \text{ mg/L} = \frac{[(A-B)]}{\text{volumen de muestra en mL}} * 1000 \text{Ec. (1)}$$

Donde: A= Peso inicial y B= Peso del filtro ambos expresados en mg

Sólidos totales volátiles

Se establecerá el método 2540 E (APHA, 2005), la muestra final obtenida de los sólidos totales se colocó en una mufla a 550 °C durante 20 minutos. Transcurrido el tiempo, se dejaron enfriar y posteriormente se pesaron. La concentración se calculó utilizando la ecuación 2.

$$STV \text{ mg/L} = \frac{[(A-B)]}{\text{volumen de muestra en mL}} * 1000 \text{ Ec. (2)}$$

Donde: A= peso de la muestra seco a 105°C y B= peso de la muestra seca a 550°C ambas expresada en mg.

Determinación de acidez

Se determinó por valoración volumétrica con NaOH (1N), se tomaron 10 ml de la muestra más dos gotas de fenolftaleína. La acidez se calculó a partir del volumen gastado de NaOH tal como se muestra en la ecuación 3:

$$\% \text{ Acidez} = \frac{[(\text{mL NaOH})(N \text{ NaOH})(0.06)]}{\text{mL Muestra}} \times 100 \text{ Ec. (3)}$$

Determinación de pH

El pH se obtuvo usando un electrodo selectivo.

Determinación de azúcares totales

Se utilizó el método de ácido sulfúrico para determinar la concentración de azúcares totales. Se agregó 1 mL de muestra con 1 mL de fenol al 5% y 5 mL de ácido sulfúrico concentrado en tubos de ensaye. Se agitaron levemente y se dejaron reposar por 10 minutos a temperatura ambiente, finalmente se volvieron a agitar por 10 segundos en un vórtex y se analizaron por espectrofotometría UV-vis a 490 nm (Dubois *et al.*, 1956).

Determinación de proteínas

Empleando el método de Bradford se determinó la concentración de proteínas a 595 nm por espectrofotometría Kruger (2009).

Diseño experimental

El diseño experimental utilizado fue un diseño de bloques completamente al azar (DBCA) con cinco tratamientos establecidos y un control, evaluando el rendimiento de la CM en el consorcio microbiano COR. Para el análisis estadístico se realizó un análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significancia del 95%, para los parámetros fisicoquímicos se analizará una t-Student para muestras independientes. Se efectuó una comparación de medias mediante la prueba de Tukey. Los resultados obtenidos fueron analizados con el Software Estadístico Minitab.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización del suero de leche

En la Tabla 1, se muestran los resultados obtenidos en la caracterización del suero de leche colectado en el proceso de elaboración de queso panela. Se cuantificó un pH de 6.4, que lo clasifica como suero dulce según (González-Siso, 1996) quien expresó que, los intervalos de pH para suero dulce se

encuentran en un rango de 6 a 7. La acidez titulable obtuvo un valor de 0.3%, valor similar al reportado por Guerrero *et al.* (2016) de 0.4%.

Tabla I. Caracterización química del suero de leche

Muestra	DQO (g/L)	P (g/L)	ST (mg/L)	STV (mg/L)	AT (%)	At (g/L)
Suero	40.5 ± 4.73	9.90 ± 0.69	64,436 ± 1083.7	59,060 ± 1066.9	0.3 ± 0.2	49.34 ± 23

DQO= demanda química de oxígeno; P= proteínas; ST= sólidos totales; STV= sólidos totales volátiles; AT= % acidez; At= azúcares totales. Media ± desviaciones estándar.

Caracterización del proceso de fermentación

Análisis químicos

El comportamiento de pH del proceso de fermentación de muestra en la Figura 1. Se obtuvo disminución de pH al final de la fermentación, ($p < 0.05$) siendo significativo en todos los tratamientos. La razón principal de la disminución del pH de los tratamientos fermentados es a causa de la producción de los ácidos a partir del azúcar añadido, debido al metabolismo bacteriano y de levaduras, siendo el ácido acético el predominante en la fermentación por bacterias del ácido acético a través de la oxidación del etanol (Loncar *et al.*, 2000).

Al momento de agregar el inóculo al suero el pH disminuyó y conforme avanzó el proceso de fermentación el comportamiento fue el mismo. Durante la fermentación es conveniente y esperado la disminución del pH. Sin embargo, para el análisis de un agua residual tratada el valor adecuado de un tratamiento oscilaría entre 6.5 y 7.4 (Parkin & Owen 1986; Rajeshwari *et al.*, 1998).

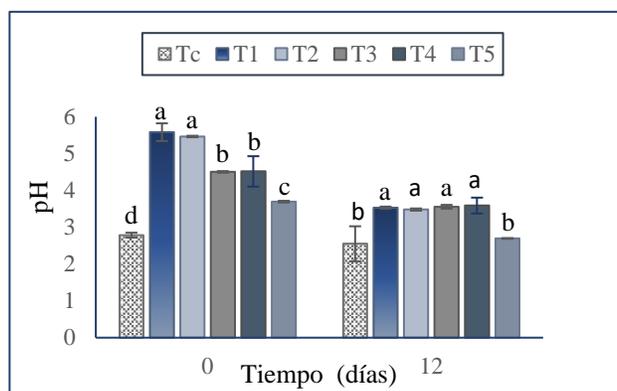


Figura 1. Valores promedios de pH obtenidos de los diferentes tratamientos al inicio y al final de la fermentación ± desviación estándar. Tc: control; T1: 100 % S; T2: 75:25 (v/v); T3: 50:50 (v/v); T4: 25:75 (v/v); T5: 0:100(v/v). Las letras representan las diferencias significativas entre los tratamientos a los diferentes tiempos de fermentación.

En la Figura 2 se observa el comportamiento de la acidez durante el proceso de fermentación. Al inicio los valores en todos los tratamientos oscilaban entre 0.2 y 0.3%. Pero al término del proceso, indistintamente del tratamiento el valor de acidez aumentó. Se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos al tiempo de 12 días, donde queda claro que existe una relación directamente proporcional entre la concentración del suero y la producción de acidez en el medio. Este

comportamiento es debido a la fermentación de la lactosa a ácido láctico, en la que intervienen bacterias acidificadoras que se desarrollan durante la fermentación (Pulgar, 1988; Revilla, 1996).

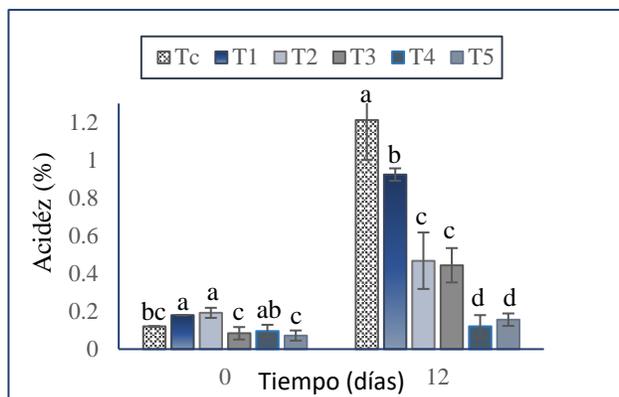


Figura 2. Valores de acidez determinados al inicio y final del fermentado \pm desviación estándar. Tc: control; T1: 100 % S; T2: 75:25 (v/v); T3: 50:50 (v/v); T4: 25:75 (v/v); T5: 0:100(v/v). Las letras representan las diferencias significativas entre los tratamientos a los diferentes tiempos de fermentación.

El comportamiento de la proteína se observa en la Figura 3. Al inicio de la fermentación la concentración es superior, cuantificando la más alta concentración en el tratamiento control. Pero al término del experimento la concentración disminuyó drásticamente por el consumo de fuentes de carbono en el medio debido al crecimiento microbiano y a una posible degradación de las proteínas por el cambio abrupto de pH (Hernández *et al.*, 2012).

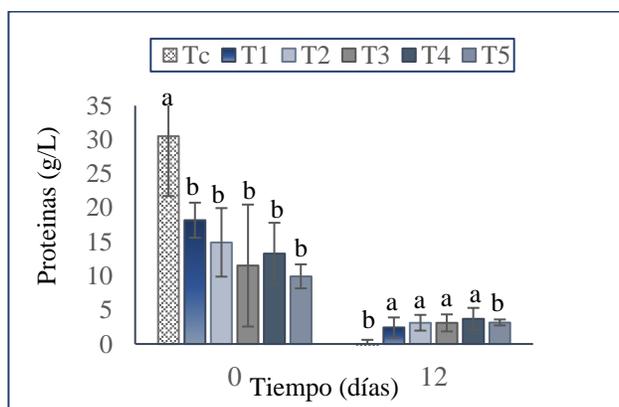


Figura 3. Valores de proteínas al inicio y final del fermentado \pm desviación estándar. Tc: control; T1: 100 % S; T2: 75:25 (v/v); T3: 50:50 (v/v); T4: 25:75 (v/v); T5: 0:100(v/v). Las letras representan las diferencias significativas entre los tratamientos a los diferentes tiempos de fermentación.

La concentración de azúcares totales (Figura 4) al inicio del experimento se encontraba en 35 g/L⁻¹, y al término del experimento sin importar el tratamiento se encontraba por debajo de los 10 g/L⁻¹. Este comportamiento indica que los microorganismos presentes en la fermentación estuvieron consumiendo los azúcares provenientes de la lactosa. Comportamientos similares se han encontrado al utilizar microorganismos de kombucha con otras fuentes de carbono como dextrosa, glucosa (Joshi, 2017).

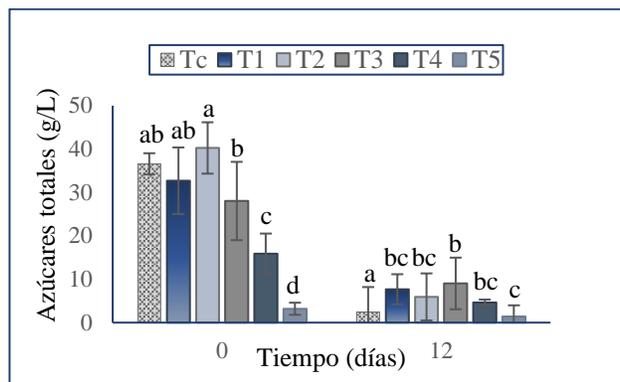


Figura 4. Valores de azúcares totales al inicio y final del fermentado \pm desviación estándar. Tc: control; T1: 100 % S; T2: 75:25 (v/v); T3: 50:50 (v/v); T4: 25:75 (v/v); T5: 0:100(v/v). Las letras representan las diferencias significativas entre los tratamientos a los diferentes tiempos de fermentación.

En relación con los sólidos totales y volátiles, se presentaron mayor remoción para todas las relaciones de suero a excepción de la relación 75:25 (V/V) y el tratamiento control, mostrando valores altos de 73636 y 45108 mg/L^{-1} , los valores obtenidos rebasan las especificaciones de la legislación mexicana de la NOM-067-ECOL-1994, que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales a cuerpos receptores provenientes de los sistemas de alcantarillado o drenaje municipal con valores de 150 mg/L^{-1} . En ambos tiempos de fermentación se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$) (Figura 5 a, b). Es importante resaltar que en la cuantificación de los sólidos totales se presenta un aumento de la concentración en los tratamientos control y T2 posiblemente por el incremento del crecimiento celular que se está cuantificando como materia orgánica y fragmentos de biopolímero producidos durante la fermentación. Además, esta evidenciado que, el contenido de sólidos totales puede variar dependiendo del contenido de proteína, sales minerales, lactosa que tenga el suero analizado y puede estar sujeto a los diversos procesos utilizados en la elaboración de queso; en donde la materia seca del suero consigue quedarse en la masa de cuajada obtenida (Miranda *et al.*, 2009).

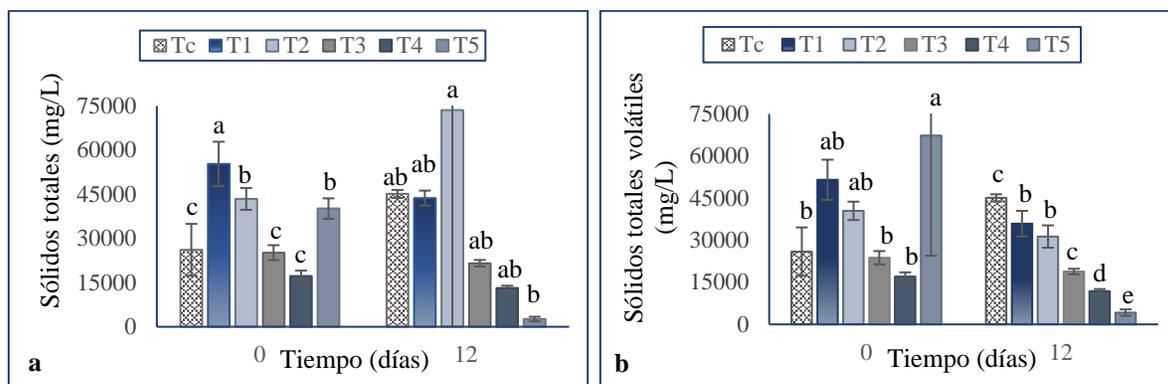


Figura 5. a) Sólidos totales y b) sólidos volátiles; ambos promedios de concentración \pm desviación estándar. Tc: control; T1: 100 % S; T2: 75:25 (v/v); T3: 50:50 (v/v); T4: 25:75 (v/v); T5: 0:100(v/v). Las letras representan las diferencias significativas entre los tratamientos a los diferentes tiempos de fermentación.

La concentración de DQO al inicio fue entre 40 g/L a 80 g/L, durante el proceso de fermentación de observa un consumo de azúcares, una disminución de proteínas y por ende una disminución de DQO (Figura 6). Los tiempos de fermentación no presentaron diferencias entre los tratamientos ($p > 0.05$).

Los comportamientos están relacionados con el crecimiento celular que utiliza todas las fuentes de carbono disponibles en el medio, lo cual es respaldado por una disminución del pH y un aumento de acidez. Las aguas residuales de la industria láctea presentan una fracción significativa de proteínas, lo que las hace los principales componentes responsables de un elevado valor de DQO (Sangay, 2022). Najafpour *et al.* (2008) reporto que, a medida que aumenta la DQO, la degradación de azúcares disminuía gradualmente, sin embargo, en el presente trabajo ambos parámetros disminuyen.

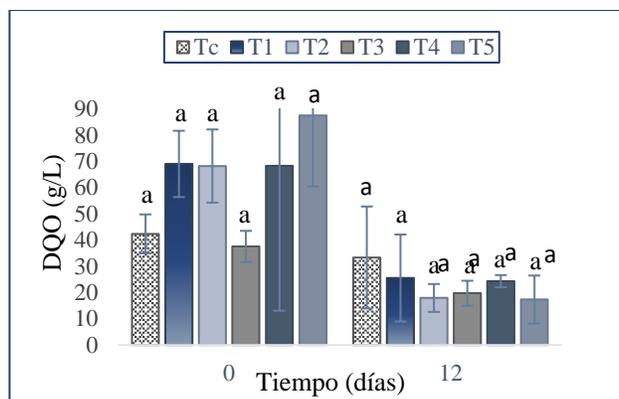


Figura 6. Valores de DQO al inicio y final del fermentado \pm desviación estándar. Tc: control; T1: 100 % S; T2: 75:25 (v/v); T3: 50:50 (v/v); T4: 25:75 (v/v); T5: 0:100(v/v). Las letras (a) representan que no existen diferencias significativas entre los tratamientos a los diferentes tiempos de fermentación.

La producción de CM se hizo presente en todos los tratamientos evaluados con suero (Figura 6). La mayor producción másica de la CM fue en el tratamiento que contenía el 100% de suero de leche y nula en solo agua (T5). El rendimiento de biomasa durante la fermentación está íntimamente relacionado con la naturaleza del sustrato y su concentración (Goh *et al.*, 2012). A mayor concentración de suero mayor producción de CM en peso húmedo y peso seco.

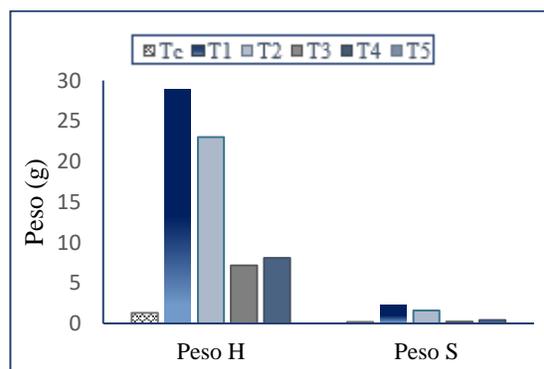


Figura 7. Valores promedio de los pesos secos (S) y húmedos (H) de los discos de celulosa microbiana formados durante la fermentación del suero. \pm desviación estándar. Tc: control; T1: 100 % S; T2: 75:25 (v/v); T3: 50:50 (v/v); T4: 25:75 (v/v); T5: 0:100(v/v). Las letras representan las diferencias significativas entre los tratamientos a los diferentes tiempos de fermentación.

Las muestras de PCB obtenidas del fermentado con 50 g/L presentaron tonalidades amarillas y blancas (Figura 8). La coloración está asociada al medio utilizado para la producción de la película; la infusión de té verde presenta coloraciones más claras respecto a PCB generadas en el suero

(tonalidad blanca), tonalidad asociada al desarrollo microbiano en el medio ambiente ácido durante la producción de celulosa (Jayabalan *et al.*, 2014).

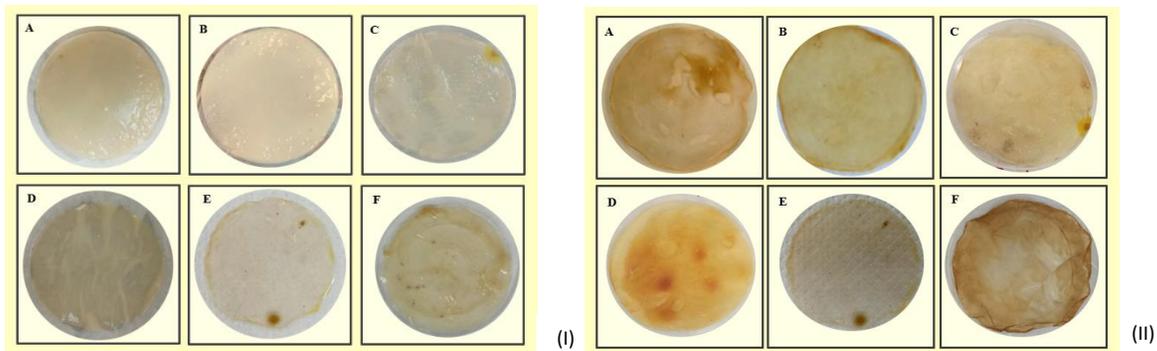


Figura 8. Discos de celulosa microbiana húmeda (I) y seca (II) obtenida en diferente concentración de suero; 100% S (A), 75:25 (B), 50:50 (C), 25:75(D), 0:100 (E) y té verde (F) v/v.

CONCLUSIÓN

El consorcio microbiano en las condiciones evaluadas en el presente trabajo tiene la capacidad de utilizar el suero de leche dulce para su crecimiento y modificar las condiciones de acidez, para promover la producción de celulosa microbiana. La concentración del suero en el medio de fermentación define la cantidad de celulosa microbiana que se forma.

BIBLIOGRAFÍA

- Aider, M., de Halleux, D., & Melnikova, I. (2009). Skim acidic milk whey cryoconcentration and assessment of its functional properties: Impact of processing conditions. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10(3), 334–341. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2009.01.005>
- Amarasekara, A. S., Wang, D., & Grady, T. L. (2020). A comparison of kombucha SCOBY bacterial cellulose purification methods. *SN Applied Sciences*, 2(2). <https://doi.org/10.1007/s42452-020-1982-2>.
- APHA, AWWA, & WEF. (2005). Method 5220 C, Chemical Oxygen Demand. Standard Methods for the Examination Water and Wastewater.
- Dubois, M.; Gilles, K.A.; Hamilton, J.K.; Robers, P.A.; Smith, F. (1956). Colorimetric method for the determination of sugars and related substances. *Anal. Biochem.* 28: 350-356.
- Goh, W. N., Rosma, A., Kaur, B., Fazilah, A., Karim, A. A., & Bhat, R. (2012). Fermentation of black tea broth (kombucha): I. effects of sucrose concentration and fermentation time on the yield of microbial cellulose. *International Food Research Journal*, 19(1), 109–117.
- Hernández, J. C., García, F. P., Cruz, V. E. R., Santillán, Y. M., & Marzo, M. A. M. (2012). Caracterización fisicoquímica de un lactosuero: potencialidad de recuperación de fósforo. *Acta universitaria*, 22(1), 11-18.

- Jayabalan, R., Malbaša, R. V., Lončar, E. S., Vitas, J. S., & Sathishkumar, M. (2014). A review on kombucha tea—microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(4), 538–550.
- Joshi, V.K., Kumar, V. (2017). Influence of different sugar sources, nitrogen sources and inocula on the quality characteristics of apple tea wine. *J. Inst. Brew.* 123, 268–276.
- Kruger, Nueva Jersey. (2009). El método de Bradford para la cuantificación de proteínas. El manual de protocolos de proteínas, 17-24.
- Lucas, S. M., & García, R. S. (2018). El agua en la industria alimentaria. *Boletín de la Sociedad Española de Hidrología Médica*, 33(2), 157-171.
- Miranda, O. M., Palma, I. P., Palma, P. L. F., Espinosa, M. C., Lara, R. M. D., & Agramonte, C. C. (2009). Características físico-químicas de sueros de queso dulce y ácido producidos en el combinado de quesos de Bayamo. *Revista Cubana de Alimentación y Nutrición*, 19(1), 5.
- Najafpour, G. D., Hashemiyeh, B. A., Asadi, M., & Ghasemi, M. B. (2008). Biological treatment of dairy wastewater in an upflow anaerobic sludge-fixed film bioreactor. *Am. Eurasian J. Agric. Environ. Sci*, 4(2), 251-257.
- NOM-067-ECOL. 1994. Norma Oficial Mexicana. Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales a cuerpos receptores provenientes de los sistemas de alcantarillado o drenaje municipal. México. www.hgm.salud.gob.mx/descargas/pdf/noticias/norma_001pdf.
- 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.
- Paulino, V., & Zare, N. (2013). *Ciencia Agroindustrial*. 2(1), 147–154.
- Revilla, A. (1982). *Tecnología de la leche: procesamiento, manufactura y análisis* (No. 53). Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura.
- Ramírez-Navas, J. S. (2012). Aprovechamiento Industrial de Lactosuero Mediante Procesos Fermentativos. *Publicaciones e Investigación*, 6,69-83.
- Reiss, J. (1994). Influencia de diferentes azúcares en el metabolismo del hongo del té Z. *Lebensm. Unters. Forsch.* 198: 258-261.
- Sangay, O. A. (2022). Reactor biológico secuencial como tecnología para la reducción de dbó y dco de las aguas residuales de una industria láctea en cajamarca-2021.
- Santos, S., Carbajo, J. M., & Villar, J. C. (2015). Celulosa Bacteriana.
- Valencia-Denicia, E., & Ramírez-Castillo, M. L. (2009). La industria de la leche contaminación del agua. *Elementos: Ciencia y Cultura*, 16, 27–31.