

Kluyveromyces marxianus, sus aplicaciones en lactosuero *Kluyveromyces marxianus*, its applications in whey

M.A. Hernández-Cruz^a, J. Castro-Rosas^{ID^a}, M. Hernández-Juárez^{ID^a}, G.M. Vázquez-Cuevas^{ID^b}, C.A. Gómez-Aldapa^{ID^{a*}}
^a Área Académica de Química, ^b Área Académica de Biología, Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, 42184, Mineral de la Reforma, Hidalgo, México.

Resumen

El lactosuero es un residuo de la industria láctea, generado principalmente en la producción de queso. Este residuo representa entre el 80 y 90% del volumen de leche utilizada para la producción de queso, el cual se caracteriza por su alto contenido orgánico, con la capacidad de contaminar ríos, lagos, suelos, entre otros, cuando es desechado sin tratamiento previo, lo cual lo convierte de interés ambiental. Sin embargo, el principal problema de la mayoría de las industrias queseras, es no contar con sistemas adecuados para su gestión, en gran medida por su costoso tratamiento. Ante la situación planteada, la alta carga orgánica del lactosuero tiene potencial de ser valorizada como una fuente de carbono renovable, principalmente por su contenido de lactosa. Este disacárido puede ser tratado con *Kluyveromyces marxianus*, levadura con capacidad de degradar lactosa y utilizarla en la producción de diferentes productos. El presente documento, es una revisión de los bio-productos generados a partir de lactosuero utilizando la levadura *Kluyveromyces marxianus*, con el objetivo de proporcionar información comparativa de resultados de pre-tratamientos realizados al lactosuero, rendimiento de productos y reducción de contenido orgánico.

Palabras Clave: Lactosuero *Kluyveromyces marxianus*, bio-productos.

Abstract

Whey is a residue from the dairy industry, generated mainly in the production of cheese. This residue represents between 80 and 90% of the volume of milk used to produce cheese, which is characterized by its high organic content, with the ability to contaminate rivers, lakes, soils, among others, when it is discarded without prior treatment, which makes it of environmental interest. However, the main problem of most cheese industries is not having adequate systems for its management, largely due to its expensive treatment. Given the situation, the high organic load of whey has the potential to be valued as a renewable carbon source, mainly due to its lactose content. This disaccharide can be treated with *Kluyveromyces marxianus*, a yeast capable of degrading lactose, and used in the production of different products. This document is a review of the bio-products generated from whey using the yeast *Kluyveromyces marxianus*, with the aim of providing comparative information on the results of pre-treatments made to whey, product yield and organic content reduction.

Keywords: Whey cheese, *Kluyveromyces marxianus* bio-products.



Grafical Abstract. Proceso de la industria del queso y el destino final de sus residuos.

*Autor para la correspondencia: cgomez@uaeh.edu.mx

Correo electrónico: he190819@uaeh.edu.mx (Miguel Ángel Hernández-Cruz), jcastro@uaeh.edu.mx (Javier Castro-Rosas), martin_hernandez@uaeh.edu.mx (Martin Hernández-Juárez), gabriela_vazquez@uaeh.edu.mx (Gabriela Marisol Vázquez-Cuevas), cgomez@uaeh.edu.mx (Carlos Alberto Gómez-Aldapa).

1. Introducción

Se sabe que todos los productos procesados generan residuos industriales con una gran variedad de contaminantes, estos residuos tienen como destino final ser desechados en aire, suelo y agua, lo que conlleva un impacto al medio ambiente, causando diversos daños. Dentro de las industrias del sector secundario se enmarca la industria de productos lácteos, la cual se subdivide de acuerdo con el producto lácteo procesado y que es posible asociar a la generación de aguas residuales contaminadas.

El residuo que genera la industria del queso es el lactosuero, este tipo de efluente es definido por González-Siso (1996), como el líquido resultante de la precipitación y separación de la caseína de la leche en el proceso de elaboración del queso. Este tipo de residuo es de gran importancia ambiental por su alta carga orgánica, principalmente asociada a la cantidad de lactosa que contiene, con valores entre 45-60 g/L (Tabla 1), la cual puede ser aprovechada para la generación de bio-productos, mitigando de esta forma su impacto ambiental (Prazeres, Carvalho, & Rivas, 2012).

Es relevante mencionar que la NOM-002-SEMARNAT-1996, establece límites máximos permitidos de contaminantes básicos para la descarga de aguas residuales, entre estos parámetros se encuentra la demanda bioquímica de oxígeno (DBO₅), cuyos límites se encuentran entre 30 y 200 mg/L, variando en función del tipo de cuerpo receptor (ríos, embalses naturales o artificiales, aguas costeras y suelos) o de si este es un valor promedio diario o promedio mensual.

Tabla 1. Composición de lactosuero.

Componente	Cantidad
Lactosa	45-60 g/L
Proteína soluble	6-8 g/L
Lípidos	4-5 g/L
Sales minerales	8-10 % extracto seco
Otros	Ácido láctico, urea, ácido úrico, Vitamina B, etc.

Adaptado de Prazeres *et al.* (2012).

1.1. Tipos de lactosuero

Existen dos tipos de lactosuero, que se diferencian con base en el proceso de coagulación-precipitación de la caseína.

- Lactosuero dulce: es aquel que se genera cuando el proceso de precipitación de la caseína se realiza por medio de la adición de proteínas proteolíticas llamadas comúnmente como “cuajo”.
- Lactosuero ácido: es aquel que se genera cuando el proceso se realiza por medio de la adición de compuestos orgánicos o minerales ácidos.

Estos tipos de lactosuero presentan diferentes características fisicoquímicas, una de estas características es el pH, con valores de 6.5 y 5 para lactosuero dulce y ácido, respectivamente, así como una mayor cantidad de sales en el último como se observa en la Tabla 2 (Jelen, 2002; Panesar, Kennedy, Gandhi, & Bunko, 2007).

Como ya se ha mencionado, este tipo de residuo alimentario es un efluente con gran valor nutricional y alto contenido orgánico, lo cual se debe principalmente a su elevado contenido de lactosa, sin embargo también presenta un contenido importante de proteínas y grasas; cabe mencionar que el 99% de estos componentes son biodegradables, sin

embargo, su tratamiento es complejo, debido a los distintos tipos de componentes (Ergüder, Tezel, Güven, & Demirer, 2001).

Tabla 2. Tipos de lactosuero y su composición.

Componente	Lactosuero (g/L)	
	Dulce	Ácido
Sólidos totales	63-70	63-70
Lactosa	46-52	44-46
Proteína	6-10	6-8
Calcio	0.4-0.6	1.2-1.6
Fosfatos	1-3	2-4.5
Lactato	2	6.4
Cloruros	1.1	1.1

Tomado de Jelen (2002).

1.2. Producción e impacto ambiental

La fabricación del 1 kg de queso requiere como insumo, aproximadamente 10 kg de leche (Prazeres *et al.*, 2012), de forma semejante González-Siso (1996), menciona que el lactosuero representa de un 85-95% del volumen total de leche utilizada para la producción de este derivado lácteo.

Con relación a lo anterior, se estima una producción mundial de 10⁸ toneladas de lactosuero al año, pero solo el 53% de ese volumen es tratado para reducir su cantidad de contaminantes y posteriormente ser vertido en el medio ambiente, mientras que el 47% restante se vierte de manera directa en ríos, lagos, océanos y suelos (Ghasemi *et al.*, 2009; Grba, Stehlik-Tomas, Stanzer, Vahèia, & Škrilin, 2002; Prazeres *et al.*, 2012).

Según datos del INEGI (2019), en el año 2018 se produjeron aproximadamente 450 toneladas de queso en México, lo cual representa, de acuerdo a los datos reportados por González-Siso (1996) y Prazeres *et al.* (2012), que se generaron aproximadamente 4000 toneladas de lactosuero (INEGI, 2019).

Los grandes volúmenes que se generan y su alto contenido de materia orgánica: lactosa, proteínas, grasas, sales minerales, etc., son causantes de la contaminación del suelo y mantos freáticos. El impacto ambiental del residuo en el suelo se asocia a cambios en su estructura fisicoquímica, lo que ocasiona un bajo rendimiento de los cultivos, por otra parte, en los cuerpos de agua, es causante del exceso en consumo de oxígeno, eutrofización, toxicidad, entre otros (Panesar *et al.*, 2007; Prazeres *et al.*, 2012).

1.3. Tratamientos

Los principales problemas a los que se enfrenta la disposición final de los residuos de la industria quesera son: alto costo de tratamiento, transporte costoso por su alto contenido de agua y dificultad de almacenamiento prolongado, debido a la susceptibilidad de deterioro por bacterias y hongos (Abboud, Aljundi, Khleifat, & Dmour, 2010; Ozmihi & Kargi, 2007). Además, la diferencia de la carga orgánica, pH, temperatura, complejidad de actividad biológica, competencia microbiana, entre otros, son características que intervienen y limitan la selección del tratamiento de este residuo. Dentro de la gestión de este tipo de residuos, existen tratamientos fisicoquímicos, tales como precipitación, electroquímica y coagulación-floculación, que producen sobrenadantes con un contenido bajo de grasas y de proteínas, de las cuales se puede

recuperar hasta el 90%, no obstante, estos procesos eliminan parcialmente la lactosa, que es el principal responsable de la contaminación orgánica (Prazeres *et al.*, 2012).

A pesar de los obstáculos que representa el tratamiento de este efluente, se han realizado diversas investigaciones para poder generar tecnologías emergentes, con el objetivo de disminuir su impacto contaminante en el medio ambiente. Prazeres *et al.* (2012), reportan en general dos tipos de tratamientos para este residuo.

- Físicoquímicos: mediante procesos de precipitación, coagulación-floculación, filtración.
- Biológicos: a partir de procesos de digestión aerobia, digestión anaerobia, hidrólisis de lactosa, fermentación a etanol, hidrógeno o ácido láctico y producción directa de electricidad a través de celdas de combustible microbianas.

1.4. Microorganismos

Desde hace mucho tiempo se ha sabido que los microorganismos (bacterias, hongos y levaduras) son de gran importancia en la producción de distintos compuestos, por ejemplo, han sido utilizados para obtener diversos productos alimenticios tales como: yogurt, pan, queso, vino, cerveza, entre otros.

En este sentido, aprovechamos sus características para mejorar la calidad de los alimentos, tales como textura, sabor, tiempo de conservación, entre otros. En décadas recientes, se han utilizado para llevar a cabo procesos biológicos en el tratamiento de residuos industriales y con ello, disminuir su impacto ambiental. En este propósito y dentro de la industria láctea, *Kluyveromyces marxianus* es un microorganismo que destaca, por su capacidad de utilizar lactosa.

1.5. *Kluyveromyces marxianus*

El género *Kluyveromyces* se compone por levaduras aisladas de diversas fuentes ecológicas, como moscas de la fruta, plantas, agua de mar y productos lácteos. Dentro de este género existen 6 especies, las más relevantes de la industria láctea son *Kluyveromyces lactis* y *Kluyveromyces marxianus*, ya que se utilizan para el proceso de maduración de diferentes variedades de queso y en la producción de leche fermentada como el kéfir (Mounier & Coton, 2022).

K. marxianus es de gran importancia debido a que es un microorganismo reconocido como GRAS (Generally Recognised as Safe), lo que indica que no existe alguna desventaja cuando se compara con *S. cerevisiae* y *K. lactis* para su utilización en productos alimentarios. Además, otra característica importante de comparación es que *K. marxianus* es capaz de utilizar la lactosa, en cambio no es así con *S. cerevisiae* (Gantumur *et al.*, 2022; Hensing, Rouwenhorst, Heijnen, van Dijken, & Pronk, 1995). Esta levadura puede crecer en leche a 25 °C, alcanzando poblaciones de 10⁸ ufc/mL en 3 días. De igual manera se reporta que la concentración de sal afecta la tasa de crecimiento, con una concentración de sal del 15%, el crecimiento máximo alcanzado fue de 10⁵ ufc/mL. La temperatura es otro factor que influye en la tasa de fermentación de la lactosa; la utilización de lactosa a 10 °C es del 70% , mientras que a 25 °C es del 100%, la degradación y

utilización de lactosa produce galactosa, glucosa, etanol y glicerol (Mounier & Coton, 2022).

El potencial de *K. marxianus* para degradar lactosa y producir distintos compuestos de fragancia y sabor también se está explorando actualmente. Los principales compuestos que se han estudiado incluyen los ésteres de alcoholes superiores 2-feniletanol, acetato de 2-feniletilo y acetato de etilo (Mounier & Coton, 2022).

2. Aplicaciones y tratamientos

La selección del tratamiento adecuado para reducir el impacto ambiental del lactosuero se convierte en un reto, derivado de la complejidad de su composición, volumen, así como las tecnologías disponibles y la normativa, considerando los costos generados por el tratamiento del residuo y la exigencia del tratamiento/valorización/eliminación de los subproductos obtenidos (Prazeres *et al.*, 2012).

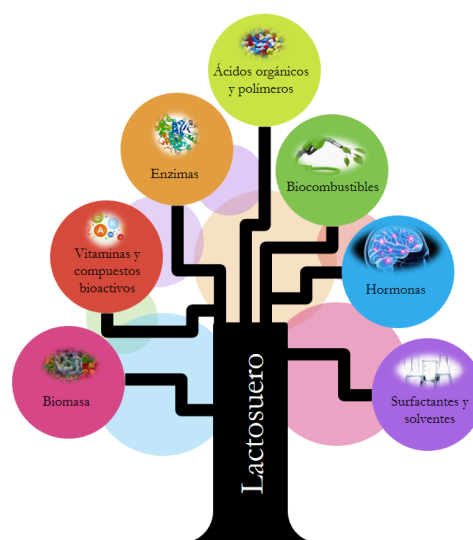


Figura 1. Bio-productos generados a partir de lactosuero como fuente de carbono, mediante procesos biológicos, adaptado de Sar *et al.* (2022).

De acuerdo con lo reportado por Sar *et al.* (2022), se ha utilizado lactosuero como fuente de sustrato para la generación de distintos bio-productos, tales como enzimas, biomasa, solventes, entre otros, (Figura 1), sin embargo, destaca la generación de biocombustibles, específicamente la generación de bio-etanol.

2.1. Producción de alcoholes

Bioetanol

La generación de biocombustibles y productos químicos a partir de los microorganismos es una alternativa emergente al uso de los derivados del petróleo, debido a que se utilizan fuentes renovables de carbono. El bioetanol producido por *S. cerevisiae*, es un ejemplo a mayor escala. Este microorganismo es el más utilizado para la conversión de glucosa a etanol, debido a su elevada tasa de producción y su tolerancia a este producto con valores superiores a los 120 g/L (Qiu & Jiang, 2017).

Existen distintos microorganismos con potencial industrial, algunos utilizan levaduras no convencionales con fenotipos únicos, que presentan características afines para producir proteínas, lípidos y productos químicos básicos. Sin embargo, una desventaja de estas levaduras no convencionales es que su metabolismo y su genómica son menos conocidos en comparación con *S. cerevisiae*, por lo que las herramientas de ingeniería genética avanzada son limitadas (Lobs, Schwartz, & Wheeldon, 2017).

Hecha la observación anterior, diversas investigaciones se han enfocado a la generación de una variedad de alcoholes utilizando lactosuero, tal es el caso del bioetanol, 2,3-butanodiol y el 2-feniletanol, este último con su característico aroma a rosas (Tabla 3).

En este orden de ideas se puede citar la publicación realizada por Cunha, Romani, Carvalho, and Domingues (2017), que reportan una generación de 93 g/L de bioetanol, utilizando como sustrato lactosuero en polvo en combinación con residuos de madera de *Eucalyptus globulus*, es de resaltar que para esta investigación se utilizó la levadura *S. cerevisiae* modificada genéticamente, este resultado de máxima producción de bioetanol es similar al valor de 80 g/L reportado por Rodrigues et al. (2016), estudio en el cual se utilizó *K. lactis* y *S. cerevisiae*, en un combinado de lactosuero con residuos de algarroba, como sustrato.

En circunstancias similares, también existen estudios con *Escherichia coli* genéticamente modificada para la generación de este bio-producto, en este sentido Pasotti et al. (2020), reportan la generación de bioetanol a partir de lactosuero permeado utilizando este microorganismo.

El lactosuero crudo como sustrato ha sido poco reportado, para ejemplificar tal afirmación, los grupos de investigación Murari, Machado, Schuina, and Del Bianchi (2019); Saini, Beniwal, Kokkiligadda, and Vij (2017), publicaron la utilización de lactosuero con distintos pretratamientos, el primero utilizó suero suplementado con fosfatos y sulfatos, con un contenido de 60 g/L de lactosa y el segundo utilizó suero filtrado y concentrado con 200 g/L de lactosa, en ambos casos utilizaron *K. marxianus*, como proceso biológico. En el caso del grupo de Murari et al. (2019), reportaron una generación de 25.81 g/L de etanol y una disminución de materia orgánica del 78.94% en términos de DQO, de la misma manera Sampaio, de Faria, da Silva, de Souza Oliveira, and Converti (2020), reportaron un valor similar de 22.2 g/L de etanol a partir de un sustrato de lactosuero (filtrado y concentrado) con 100 g/L de lactosa utilizando *K. lactis*, posterior al tratamiento se obtuvo una disminución de 82% de lactosa, de este último valor se desprende que el proceso biológico empleado es adecuado para reducir la carga orgánica del residuo lácteo.

2-feniletanol y 2,3 butanodiol

Otro producto que se ha estudiado dentro del grupo de los alcoholes es el 2-feniletanol. Este alcohol superior es conocido por su típico olor a rosas, característica por la cual se utiliza como aditivo en las industrias alimentaria, cosmética, farmacéutica y química, además de que se ha utilizado como desinfectante por presentar propiedades anti-bacterianas y fúngicas (Etschmann, Bluemke, Sell, & Schrader, 2002; Hua & Xu, 2011; Martínez-Avila, Sanchez, Font, & Barrera, 2018; Zhu et al., 2011).

Tabla 3. Obtención de alcohol utilizando lactosuero como fuente de carbono.

Pre-tratamiento del lactosuero	Microorganismo (s) utilizado	Producción máxima	Reducción de materia orgánica
Obtención de bioetanol			
Filtrado y concentrado ¹	<i>Kluyveromyces lactis</i>	22.2 g/L	82 % de lactosa
Crudo y suplementado ²	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	25.81 g/L	78.94% en DQO
Filtrado y concentrado ³	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	79.33 g/L	87 % aprox. de lactosa
Crudo en combinación con residuos de algarroba, enriquecido y suplementado ⁴	<i>Kluyveromyces lactis</i> y <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .	80 g/L	-
En polvo en combinación con madera de <i>Eucalyptus globulus</i> ⁵	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> modificada	93 g/L	-
Permeado ⁶	<i>E. coli</i> modificada	-	75 % en DQO
Concentrado ⁷	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> .modificada (Ej2E8 condiciones anaeróbicas)	48.8 g/L	100 % aprox. de lactosa
Permeado en combinación con trigo ⁸	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Aspergillus oryzae</i> y <i>Kluyveromyces lactis</i>	196.7 g/L de los cuales 18,4 g de etanol asociados sólo al lactosuero.	88.2 % de lactosa hidrolizada
En polvo ⁹	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	43.71 g/L	90 % aprox. de lactosa
Concentrado ¹⁰	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> y <i>Kluyveromyces marxianus</i>	63.9 g/L	91% de lactosa hidrolizada
Obtención de 2-feniletanol			
Pasteurizado, suplementado (L-fenilalanina) ¹¹	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	1.2 g/L	76% en DQO
Pasteurizado, suplementado (L-fenilalanina) ¹²	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	0.78 g/L	99.4 % de lactosa
Obtención bencil calbonil			
Pasteurizado, suplementado (L-fenilalanina) ¹³	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	1.205 g/L	99.1 % de lactosa
Obtención de 2,3 butanodiol			
En polvo, suplementado adición de suero en tres ocasiones con 26 g/L de lactosa ¹⁴	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	48.29 g/L	95 % aprox. de lactosa

Referencias: 1. Sampaio et al. (2020), 2. Murari et al. (2019), 3. Saini et al. (2017), 4. Rodrigues et al. (2016), 5. Cunha et al. (2017), 6. Pasotti et al. (2020), 7. Liu et al. (2016), 8. Jin, Parashar, Mason, and Bressler (2016), 9. Das, Sarkar, Maiti, and Bhattacharjee (2016), 10. Beniwal, Saini, Kokkiligadda, and Vij (2018), 11. Alonso-Vargas et al. (2022), 12. Conde-Báez, López-Molina, Gómez-Aldapa, Pineda-Muñoz, and Conde-Mejía (2019), 13. Conde Báez et al. (2017) y 14. Guo et al. (2017).

En este propósito, el aminoácido L-fenilalanina puede ser utilizado para favorecer la producción del 2-feniletanol a partir de lactosuero, por lo tanto, es un compuesto esencial para la producción de este aroma a rosas. En relación con esta última metodología y como se puede apreciar en la Tabla 3, Conde-Báez et al. (2019), Alonso-Vargas et al. (2022) y Conde Báez et al. (2017), reportaron resultados de 0.78 g/L, 1.2 g/L y 1.205

g/L de 2-feniletanol, respectivamente. Es importante mencionar que las tres publicaciones reportan la utilización de *K. marxianus* en lactosuero con dos pre-tratamientos; el primero fue la pasteurización que tenía el objetivo de eliminar la carga orgánica patógena y reducir la actividad enzimática y el segundo, la adición de sales de amonio, que sería la fuente de nitrógeno. Sumado a lo anterior, las publicaciones reportan una disminución del contenido orgánico igual o superior al 76% en términos de DQO.

En este mismo orden y dirección, el 2,3-butanodiol es otro producto que tiene aplicaciones como materia prima y combustible, además, puede utilizarse en la industria para la fabricación de tintas de impresión, perfumes, fumigantes, agentes humectantes, suavizantes, explosivos, plastificantes y también en la industria farmacéutica como vehículo (Garg & Jain, 1995; Ji, Huang, & Ouyang, 2011; Ma et al., 2009). La síntesis biológica de este compuesto es reportada por Guo et al. (2017), quienes realizaron el estudio de producción a partir de lactosuero en polvo, que contenía 60 g/L de lactosa, utilizando *Klebsiella pneumoniae* como proceso biológico, obteniendo una máxima producción de 48.29 g/L de 2,3 butanodiol, este resultado se obtuvo mediante un proceso en continuo, con alimentación del medio con 3 dosis de lactosuero, con un contenido de 26 g/L de lactosa.

Por todo lo anterior, la tabla 3 nos muestra que la generación de distintos alcoholes, utilizando distintos microorganismos a partir de lactosuero, con distintos pre-tratamientos, es un área que sigue en estudio, sin embargo, con base en los resultados, es destacable que la utilización de este tipo de residuos alimentarios como fuente de carbono, ayuda a la disminución de su impacto ambiental, con resultados de reducción del contenido orgánico en un rango de 75 a 99%.

2.2. Producción de biomasa

El contenido de proteína en el lactosuero juega un papel fundamental, siendo el segundo componente mayoritario, después de la lactosa, este componente es una mezcla heterogénea de diferentes proteínas individuales, de las cuales la β -lactoglobulina es la que se encuentra en mayor proporción (40-50% p/p), seguida de α -lactoalbúmina (12-15% p/p) y de inmunoglobulinas (8% p/p), además de otras en menor cantidad (albúmina, lactoferrina, lactoperoxidasa, proteasa-peptona y glicomacropéptido). Las proteínas de este líquido residual tienen aplicaciones alimentarias y farmacéuticas (Madureira et al., 2007; Jayaprakasha & Brueckner, 1999; Modler, 2009) citados por Yadav et al. (2016), utilizadas en alimentos procesados (lácteos, cárnicos, congelados y fórmulas infantiles) y como proteína de alto valor agregado como concentrados, aislados, hidrolizados, entre otros. Otra aplicación es la formación de proteína unicelular o biomasa (Panesar & Kennedy, 2012; Yadav et al., 2014), utilizada como producto para alimentación animal.

Dentro de los 7 textos revisados en relación con la obtención de biomasa, 5 de ellos utilizan la levadura del género *Kluyveromyces* y solo 3 de ellos utilizaron la especie *K. marxianus* (Tabla 4), esto indica que este microorganismo tiene la capacidad de producir biomasa (proteína intracelular) a partir de lactosuero. Maguire, Kuhmann, Gerlach, Fan, and Czermak (2022) y Bosso et al. (2019), plantearon dentro de sus investigaciones el objetivo de producir la enzima β -

galactosidasa, utilizada comúnmente dentro de la industria alimentaria. El primer grupo de investigación utilizó melaza de maíz (88%) en combinación con lactosuero (12%) como fuente de carbono y *K. lactis* como procesador biológico, con un resultado de 4.9 U/mg de máxima actividad de β -galactosidasa. En tanto, el segundo grupo utilizó lactosuero permeado y ultrafiltrado como pretratamiento y *S. fragilis* como proceso biológico con una máxima producción enzimática de β -galactosidasa de 12.01 U/mL, hidrolizando 89% de lactosa contenida, aportando a la disminución de la carga orgánica del residuo.

Tabla 4. Obtención de biomasa utilizando lactosuero como fuente de carbono.

Pre-tratamiento del lactosuero	Microorganismo (s) utilizado	Producción máxima	Reducción de materia orgánica
Obtención de Biomasa (proteína intracelular).			
Permeado, suplementado y adicionado con glucosa ¹	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> var. <i>Boulardii</i>	8.2 g/L de biomasa	87 % de lactosa aprox.
Desproteínizado, suplementado con extracto de levadura, sulfato de magnesio y sulfato de amonio ²	<i>Kluyveromyces lactis</i>	2.14 gDW/L h	-
Permeado, suplementado con sulfato de amonio ³	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	Aumento de 45 % de DW de proteínas en células.	-
En polvo, suplementado con urea ⁴	<i>Kluyveromyces marxianus</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .	0.27 g biomasa/g lactosa consumida y 0.31 g biomasa/l lactosa consumida.	92 % en DQO
Obtención de Biomasa (proteína β -galactosidasa).			
Crudo con melaza y polvo de maíz. Una mezcla de 88 % polvo de maíz y 12 % suero logró la mayor actividad enzimática ⁵	<i>Kluyveromyces lactis</i>	4.9 U mg β -galactosidasa máxima actividad	10.56 \pm 0.21 g lactosa/100 mL
Permeado ultrafiltrado ⁶	<i>Saccharomyces fragilis</i>	β -galactosidasa producción enzimática de 12.01 U. mL	89 % de lactosa hidrolizada
Obtención de Biomasa (proteína intracelular). Reducción de antigenicidad			
Concentrado de proteínas del suero ⁷	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	La antigenicidad optimizada de α -LA y β -LG en proteínas de suero bovino se redujo en un 29 % y un 53 %.	-

Referencias: 1. Trigueros et al. (2016), 2. Coelho Sampaio et al. (2016), 3. Lukjanenko, Kovtuna, Grube, and Vigants (2015), 4. Yadav et al. (2016), 5. Maguire et al. (2022), 6. Bosso et al. (2019) y 7. Zhao, Shu, He, and Qihe (2020).

Empleando un objetivo similar, diversos grupos de investigación, tales como Trigueros *et al.* (2016), Coelho Sampaio *et al.* (2016), Lukjanenko *et al.* (2015) y Yadav *et al.* (2016), se han centrado en la obtención de biomasa (proteína intracelular), utilizando lactosuero con distintos pre-tratamientos (permeado, desproteinizado, adicionado con glucosa y suplementado con sales de amonio). Como se mencionó anteriormente, la producción de biomasa es de importancia en la industria alimentaria, ya que es utilizada en la suplementación de alimentos para animales y también en la dieta humana, debido a su composición (proteínas, grasas, minerales, vitaminas, entre otros) (Nasseri, Rasoul-Ami, Morowvat, & Ghasemi, 2011), es importante mencionar que la reducción de carga orgánica del lactosuero osciló entre el 87-92%, lo que indica su disminución del contenido orgánico y la reducción al impacto ambiental.

Sin duda, las investigaciones relacionadas a las proteínas de origen lácteo son heterogéneas, una de estas es la reportada por Zhao *et al.* (2020), en la cual, el objetivo fue la disminución de la antigenicidad de α -Lactoalbumina y β -Lactoglobulina, dos de las principales proteínas de la leche de vaca, causantes de alergia, los resultados mostraron una reducción de la antigenicidad en un 29% y un 53%, respectivamente.

2.3. Producción de bebidas

La generación de etanol utilizando lactosuero es un proceso común, Ling (2008), menciona que se ha estudiado desde el año 1978. Sin embargo, la producción de un licor a partir de este residuo no ha sido explorado ampliamente. La importancia de este tipo de bebidas se basa en la identificación y cuantificación de los compuestos volátiles generados y su comparación con otras bebidas destiladas, como por ejemplo el Whisky (Dragone, Mussatto, Oliveira, & Teixeira, 2009).

En este contexto, la tabla 5 presenta un resumen de los resultados de máxima producción de etanol de diversos grupos de investigación, Gantumur *et al.* (2022) reportan un valor máximo de 56.4 g/L de etanol utilizando *S. cerevisiae*, mientras que Risner, Shayevitz, Haapala, Meunier-Goddik, and Hughes (2018) y Guneseer, Karagul-Yuceer, Wilkowska, and Kregiel (2016), utilizaron *K. marxianus*, este último obtuvo una producción máxima de 46 g/L de etanol, excepto que en esta investigación utilizaron como fuente de carbono otro residuo agroindustrial, que contenía pulpa de tomates, pimientos y uvas procesadas.

A pesar de que en esta sección, uno de los objetivos principales es la producción de etanol, la identificación y cuantificación de los compuestos volátiles generados es fundamental para las características organolépticas de la bebida (Dragone *et al.*, 2009). En estas bebidas se identificaron compuestos de sabor tales como alcohol isoamílico (plátano), acetato de isoamilo (afutado, plátano), alcohol feniletílico (rosa), acetato de feniletilo (floral), entre otros (Dragone *et al.*, 2009; Gantumur *et al.*, 2022; Guneseer *et al.*, 2016; Risner, Tomasino, Hughes, & Meunier-Goddik, 2019). La productividad de los compuestos volátiles depende del tipo de residuos agrícolas (Guneseer *et al.*, 2016).

Otro producto generado a partir de lactosuero es el reportado por Kadyan *et al.* (2021), una bebida probiótica carbonatada utilizando una combinación del probiótico

Lactobacillus plantarum y levadura *K. lactis*, obteniendo un resultado de 10^8 células/mL, con actividad antioxidante y antimicrobiana, con bajo contenido alcohólico y con sabor ligeramente ácido y dulce.

Tabla 5. Obtención de bebidas a partir de lactosuero.

Pre-tratamiento del lactosuero	Microorganismo (s) utilizado	Producción máxima
Obtención de bebida fermentada		
Pasteurizado, desnatado, suplementado, calentado, hidrolizado ¹	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> .	Bebida destilada, Etanol, (56.4 g/L)
Suero ácido y suero dulce, suplementado con sales de amonio ²	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	Etanol de 1,5 a 2,5 % (peso/peso)
Se utilizaron como medios de cultivo suero y pulpa de tomates procesados, pimientos y uvas ³	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	Etanol 45-46 g/L
Obtención de bebida probiótica carbonatada		
Clarificado, estabilizado con pectina y citrato trisódico y adicionado con sacarosa ⁴	<i>Lactobacillus plantarum</i> y <i>Kluyveromyces lactis</i>	Recuento de probióticos de $\geq 10^8$ células/mL.

Referencias: 1. Gantumur *et al.* (2022), 2. Risner *et al.* (2018), 3. Guneseer *et al.* (2016) y 4. Kadyan *et al.* (2021).

2.4. Producción de biocombustibles

El agotamiento de los combustibles fósiles, aunado a la contaminación generada en su producción, ha orillado a la apertura a nuevas tecnologías y nuevas fuentes de producción, que aporten a una economía sostenible (Dessi *et al.*, 2020). En este sentido, la generación de hidrógeno, como combustible a partir de fuentes renovables, como lo es el lactosuero, es una alternativa de interés. Sobre este tema Dessi *et al.* (2020) y Remón, García, and Arauzo (2016), son dos grupos de investigación que reportan el uso de lactosuero para la generación de hidrógeno, los primeros autores reportan que también se estudió la generación de ácidos grasos volátiles.

Tabla 6. Obtención de biocombustibles utilizando lactosuero como fuente de carbono.

Pre-tratamiento del lactosuero	Microorganismo (s) utilizado	Producción máxima	Reducción de materia orgánica
Obtención de hidrógeno			
Crudo ¹	Lodos activados	2.0 L de H/L lactosuero	-
Filtrado, Solución de lactosa ²	Reformado catalítico	Hidrógeno	-
Obtención de biodiesel			
Centrifugado, diluido con agua desionizada y suplementado con H ₂ SO ₄ hasta una relación C/N de 55. ³	<i>Cryptococcus curvatus</i> y <i>Cryptococcus laurentii</i>	9,9 g/L de lípidos totales con un rendimiento de 32,6 % de biodiesel.	86.7 y 77.9 % reducción de DQO respectivamente
Obtención de metano y estruvita			
Crudo ⁴	Purina de ganado	0.51-0.60 L metano/g 8.5-10.4 g estruvita/L	83 % de materia orgánica

Referencias: 1. Dessi *et al.* (2020), 2. Remón *et al.* (2016), 3. Carota *et al.* (2017) y 4. Escalante, Castro, Amaya, Jaimes, and Jaimes-Estevéz (2018).

Además del hidrógeno, Carota *et al.* (2017), reportan la producción de biodiesel y Escalante *et al.* (2018), reportan la producción metano y estruvita, productos que pueden utilizarse como combustibles (Tabla 6). Por consiguiente, la utilización de lactosuero como fuente de carbono, es una opción emergente, para la producción de biocombustibles utilizando microorganismos y con ello, evitando el uso de combustibles fósiles, aprovechando los residuos de la industria alimentaria y reduciendo su impacto ambiental en ambos casos.

2.5. Producción de otros compuestos

Ácido polimálico

La revisión nos muestra la gran diversidad de productos producidos a partir de lactosuero, dentro de estos, se encuentra el ácido polimálico un poliéster utilizado en el campo biomédico y precursor para la formación de ácido L-málico, con aplicación en las industrias alimentaria y farmacéutica (Ding *et al.*, 2010; Xia *et al.*, 2021). El grupo de investigación de Xia *et al.* (2021), reportan una producción de 97.3 g/L de ácido polimálico, este máximo rendimiento se encuentra asociado a la actividad de la enzima β -galactosidasa de *K. marxianus*, que actuó sobre la glucosa y la galactosa del lactosuero hidrolizado, alcanzando una reducción de la carga orgánica del 96.4% expresado en lactosa hidrolizada.

Ácido láctico

Otro producto reportado es el ácido láctico, utilizado en la industria farmacéutica, principalmente para obtener lactatos solubles en agua o para producir cápsulas biodegradables para la administración de fármacos, también es utilizado para la producción de cosméticos (Jalil & Nixon, 1990; Smith, 1996). Lech (2020), reporta una producción de 25.7 g/L de ácido láctico utilizando *Lactobacillus rhamnosus* en lactosuero permeado, suplementado con peptona, huevo y extracto de levadura para mejorar el rendimiento, este proceso biológico redujo un 98% el contenido orgánico en el medio de cultivo (Tabla 7).

Tabla 7. Obtención de distintos compuestos utilizando lactosuero como fuente de carbono.

Pre-tratamiento del lactosuero	Microorganismo (s) utilizado	Producción máxima	Reducción de materia orgánica
Obtención ácido polimálico			
Solución en polvo, precipitado e hidrolizado ¹	<i>Aureobasidium pullulans</i> , <i>Kluyveromyces marxianus</i>	97.3 g/L	96.4 % lactosa hidrolizada
Obtención de ácido láctico			
Permeado suplementado peptona, huevo y extracto de levadura ²	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	25.7 g/L	98% de lactosa
Obtención isopentil acetato			
Pasteurizado, suplementado con alcohol isoamílico ³	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	9.52 g/L.	-

Referencias. 1. Xia *et al.* (2021), 2. Lech (2020) y 3. Gómez-Aldapa *et al.* (2021).

Acetato de isoamilo

El acetato de isoamilo o isopentil acetato, es un éster de ácido graso de cadena corta que presenta un aroma particular a plátano, con aplicaciones en la industria alimentaria y como solvente ("National Library of Medicine National Center for Biotechnology Information"). Dicho compuesto es obtenido por síntesis química, sin embargo, el aumento del consumo de productos obtenidos de manera biológica ha favorecido el estudio de la producción de este compuesto por medio de microorganismos. Gómez-Aldapa *et al.* (2021), reportan un valor máximo de producción de 9.52 g/L del aroma a partir de lactosuero suplementado con sulfato de amonio y alcohol isoamílico, este último actúa como precursor para favorecer la formación del aroma, sin embargo, los estudios sobre la generación de este aroma aún son limitados y se necesitan más investigaciones para poder optimizar su producción.

3. Conclusiones

El presente trabajo permitió identificar que *K. marxianus*, presenta capacidad para generar una diversidad de productos utilizando lactosuero como sustrato. En la revisión, se identificaron varios factores clave, que influyen en la formación de los productos, tal es el caso del pre-tratamiento del lactosuero y la concentración en la que se encuentran sus componentes. Así mismo, la combinación del lactosuero con otros residuos agroindustriales y/o la combinación de *K. marxianus* con otros microorganismos, actuando en sinergia. Esta información muestra la apertura a nuevas alternativas, buscando obtener mejores resultados.

La recolección de información dentro de las 32 investigaciones seleccionadas muestra que aproximadamente el 40% de los textos revisados se enfocan a la obtención de alcoholes, que no solo se limita a la obtención de etanol, sino que, en años recientes se está estudiando la obtención del 2-feniletanol y del 2,3-butanodiol. No obstante, también se muestra la obtención de otros productos tales como biomasa, bebidas fermentadas, bebidas probióticas, hidrógeno, biodiesel, metano, ácidos láctico y polimálico, acetato de isoamilo. Aunado a lo anterior, el contenido orgánico del lactosuero se reduce considerablemente, con valores desde el 75%, alcanzando valores hasta el 99%.

Para finalizar, el uso del lactosuero por *Kluyveromyces marxianus* para la producción de diversos productos es una alternativa emergente, con potencial industrial, sin embargo, es necesario realizar más investigación, con el objetivo de ampliar el conocimiento de su metabolismo y de su bioquímica, para comprender su funcionamiento.

Referencias

- Abboud, M. M., Aljundi, I. H., Khleifat, K. M., & Dmour, S. (2010). Biodegradation kinetics and modeling of whey lactose by bacterial hemoglobin Vhb-expressing *Escherichia coli* strain. *Biochemical Engineering Journal*, 48(2), 166-172. doi:10.1016/j.bej.2009.09.006
- Alonso-Vargas, M., Téllez-Jurado, A., Gómez-Aldapa, C. A., Ramírez-Vargas, M. d. R., Conde-Báez, L., Castro-Rosas, J., & Cadena-Ramírez, A. (2022). Optimization of 2-Phenylethanol Production from Sweet Whey Fermentation Using *Kluyveromyces marxianus*. *Fermentation*, 8(2). doi:10.3390/fermentation8020039
- Beniwal, A., Saini, P., Kokkiligadda, A., & Vij, S. (2018). Use of silicon dioxide nanoparticles for β -galactosidase immobilization and modulated

- ethanol production by co-immobilized *K. marxianus* and *S. cerevisiae* in deproteinized cheese whey. *LWT - Food Science and Technology*, 87, 553-561. doi:10.1016/j.lwt.2017.09.028
- Bosso, A., Iglecias Setti, A. C., Tomal, A. B., Guemra, S., Morioka, L. R. I., & Suguimoto, H. H. (2019). Substrate consumption and beta-galactosidase production by *Saccharomyces fragilis* IZ 275 grown in cheese whey as a function of cell growth rate. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 21. doi:10.1016/j.bcab.2019.101335
- Carota, E., Crognale, S., D'Annibale, A., Gallo, A. M., Stazi, S. R., & Petruccioli, M. (2017). A sustainable use of Ricotta Cheese Whey for microbial biodiesel production. *Science of the Total Environment*, 584-585, 554-560. doi:10.1016/j.scitotenv.2017.01.068
- Coelho Sampaio, F., da Conceição Saraiva, T. L., Dumont de Lima e Silva, G., Teles de Faria, J., Grijó Pitangui, C., Aliakbarian, B., . . . Converti, A. (2016). Batch growth of *Kluyveromyces lactis* cells from deproteinized whey: Response surface methodology versus Artificial neural network—Genetic algorithm approach. *Biochemical Engineering Journal*, 109, 305-311. doi:10.1016/j.bej.2016.01.026
- Conde-Báez, L., López-Molina, A., Gómez-Aldapa, C., Pineda-Muñoz, C., & Conde-Mejía, C. (2019). Economic projection of 2-phenylethanol production from whey. *Food and Bioproducts Processing*, 115, 10-16. doi:10.1016/j.fbp.2019.02.004
- Conde Báez, L., Castro Rosas, J., Villagómez Ibarra, J. R., Palma Quiroz, I., Páez Lerma, J. B., & Gómez Aldapa, C. A. (2017). Production of benzyl carbonyl (rose aroma) from whey and its effect on pollutant load removal. *Environment, Development and Sustainability*, 21(2), 609-619. doi:10.1007/s10668-017-0048-0
- Cunha, M., Romani, A., Carvalho, M., & Domingues, L. (2017). Boosting bioethanol production from Eucalyptus wood by whey incorporation. *Bioresource Technology*.
- Das, B., Sarkar, S., Maiti, S., & Bhattacharjee, S. (2016). Studies on production of ethanol from cheese whey using *Kluyveromyces marxianus*. *Materials Today: Proceedings*, 3(10), 3253-3257. doi:10.1016/j.matpr.2016.10.006
- Dessi, P., Asunis, F., Ravishankar, H., Cocco, F. G., De Gioannis, G., Muntoni, A., & Lens, P. N. L. (2020). Fermentative hydrogen production from cheese whey with in-line, concentration gradient-driven butyric acid extraction. *International Journal of Hydrogen Energy*, 45(46), 24453-24466. doi:10.1016/j.ijhydene.2020.06.081
- Ding, H., Inoue, S., Ljubimov, A. V., Patil, R., Portilla-Arias, J., Hu, J., . . . Ljubimova, J. Y. (2010). Inhibition of brain tumor growth by intravenous poly (B-L-malic acid) nanobioconjugate with pH-dependent drug release. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 107(42), 18143-18148. doi:10.1073/pnas.1003919107
- Dragone, G., Mussatto, S. I., Oliveira, J. M., & Teixeira, J. A. (2009). Characterisation of volatile compounds in an alcoholic beverage produced by whey fermentation. *Food Chemistry*, 112(4), 929-935. doi:10.1016/j.foodchem.2008.07.005
- Ergüder, T. H., Tezel, U., Güven, E., & Demirel, G. N. (2001). Anaerobic biotransformation and methane generation potential of cheese whey in batch and UASB reactors. *Waste Management*, 21 (7), 643-650. doi:10.1016/s0956-053x(00)00114-8
- Escalante, H., Castro, L., Amaya, M. P., Jaimes, L., & Jaimes-Estevez, J. (2018). Anaerobic digestion of cheese whey: Energetic and nutritional potential for the dairy sector in developing countries. *Waste Management*, 71, 711-718. doi:10.1016/j.wasman.2017.09.026
- Etschmann, M. M., Bluemke, W., Sell, D., & Schrader, J. (2002). Biotechnological production of 2-phenylethanol. *Appl Microbiol Biotechnol*, 59(1), 1-8. doi:10.1007/s00253-002-0992-x
- Gantumur, M. A., Sukhbaatar, N., Qayum, A., Bilawal, A., Tsembeltsogt, B., Oh, K. C., . . . Hou, J. (2022). Characterization of major volatile compounds in whey spirits produced by different distillation stages of fermented lactose-supplemented whey. *Journal Dairy Science*, 105(1), 83-96. doi:10.3168/jds.2021-20748
- Garg, S. K., & Jain, A. (1995). Fermentative production of 2,3-butanediol: a review. *Bioresource Technology*, 51, 103-109. doi:10.1016/0960-8524(94)00136-0
- Ghasemi, M., Narafpour, G., Rahimnejad, M., Aeineh, B. P., Sedighi, M., & Hashemiyeh, B. (2009). Effect of different media on production of lactic acid from whey by *Lactobacillus bulgaricus*. *African Journal of Biotechnology*, 8 (1), 081-084.
- Gómez-Aldapa, C. A., Castro-Rosas, J., López-Molina, A., Conde-Mejía, C., Pineda-Muñoz, C. F., Jiménez-González, A., . . . Conde-Báez, L. (2021). Best Conditions for the Production of Natural Isopentyl Acetate (Banana Aroma) from Cheese Industry Waste: An Experimental Precursor Approach. *Processes*, 9(11). doi:10.3390/pr9111880
- González-Siso, M. I. (1996). The biotechnological utilization of cheese whey: a review. *Bioresource Technology*, 57, 1-11. doi:10.1016/0960-8524(96)00036-3
- Grba, S., Stehlik-Tomas, V., Stanzer, D., Vahèia, N., & Škrln, A. (2002). Selection of yeast strain *Kluyveromyces marxianus* for alcohol and biomass production on whey. *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly*, 16 (1), 13-16.
- Guneser, O., Karagul-Yuceer, Y., Wilkowska, A., & Kregiel, D. (2016). Volatile metabolites produced from agro-industrial wastes by Na-alginate entrapped *Kluyveromyces marxianus*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 47(4), 965-972. doi:10.1016/j.bjm.2016.07.018
- Guo, X., Wang, Y., Guo, J., Wang, Q., Zhang, Y., Chen, Y., . . . Xiao, D. (2017). Efficient production of 2,3-butanediol from cheese whey powder (CWP) solution by *Klebsiella pneumoniae* through integrating pulsed fed-batch fermentation with a two-stage pH control strategy. *Fuel*, 203, 469-477. doi:10.1016/j.fuel.2017.04.138
- Hensing, M. C. M., Rouwenhorst, R. J., Heijnen, J. J., van Dijken, J. P., & Pronk, J. T. (1995). Physiological and technological aspects of large-scale heterologous protein production with yeasts. *Antonie van Leeuwenhoek*, 67, 261-279. doi:10.1007/BF00873690
- Hua, D., & Xu, P. (2011). Recent advances in biotechnological production of 2-phenylethanol. *Biotechnology Advances*, 29(6), 654-660. doi:10.1016/j.biotechadv.2011.05.001
- INEGI. (2019). Estadísticas del Sector Lácteo. Retrieved from <https://www.canilec.org.mx/estadisticas%20lacteos%202019.pdf>
- Jalil, R., & Nixon, J. R. (1990). Biodegradable poly (lactic acid) and poly (lactide-co-glycolide) microcapsules: problems associated with preparative techniques and release properties. *Microencapsulation: Micro and Nano Carriers*, 7 (3), 297-325. doi:10.3109/02652049009021842
- Jayaprakasha, H. M., & Brueckner, H. (1999). Whey protein concentrate: A potential functional ingredient for food industry. *Journal Food Science Technology*, 36, 189-204.
- Jelen, P. (2002). Whey processing Utilization and Products. In *Encyclopedia of Dairy Sciences* (pp. 2739–2745).
- Ji, X. J., Huang, H., & Ouyang, P. K. (2011). Microbial 2,3-butanediol production: a state-of-the-art review. *Biotechnology Advances*, 29(3), 351-364. doi:10.1016/j.biotechadv.2011.01.007
- Jin, Y., Parashar, A., Mason, B., & Bressler, D. C. (2016). Simultaneous hydrolysis and co-fermentation of whey lactose with wheat for ethanol production. *Bioresource Technology*, 221, 616-624. doi:10.1016/j.biortech.2016.09.063
- Kadyan, S., Rashmi, H. M., Pradhan, D., Kumari, A., Chaudhari, A., & Deshwal, G. K. (2021). Effect of lactic acid bacteria and yeast fermentation on antimicrobial, antioxidative and metabolomic profile of naturally carbonated probiotic whey drink. *Lwt*, 142. doi:10.1016/j.lwt.2021.111059
- Lech, M. (2020). Optimisation of protein-free waste whey supplementation used for the industrial microbiological production of lactic acid. *Biochemical Engineering Journal*, 157. doi:10.1016/j.bej.2020.107531
- Ling, C. (2008). *Whey to Ethanol: A Biofuel Role for Dairy Cooperatives?* Washington, DC.
- Liu, J. J., Zhang, G. C., Oh, E. J., Pathanibul, P., Turner, T. L., & Jin, Y. S. (2016). Lactose fermentation by engineered *Saccharomyces cerevisiae* capable of fermenting cellobiose. *Journal of Biotechnology*, 234, 99-104. doi:10.1016/j.jbiotec.2016.07.018
- Lobs, A. K., Schwartz, C., & Wheeldon, I. (2017). Genome and metabolic engineering in non-conventional yeasts: Current advances and applications. *Synthetic and Systems Biotechnology*, 2(3), 198-207. doi:10.1016/j.synbio.2017.08.002
- Lukjanenko, J., Kovtuna, K., Grube, M., & Vigants, A. (2015). Enhancement of protein content in “(*Kluyveromyces marxianus*)” biomass produced on cheese whey lactose. *Journal of Biotechnology*, 208. doi:10.1016/j.jbiotec.2015.06.232
- Ma, C., Wang, A., Qin, J., Li, L., Ai, X., Jiang, T., . . . Xu, P. (2009). Enhanced 2,3-butanediol production by *Klebsiella pneumoniae* SDM. *Appl Microbiol Biotechnol*, 82(1), 49-57. doi:10.1007/s00253-008-1732-7
- Madureira, A. R., Pereira, C. I., Gomes, A. M. P., Pintado, M. E., & Xavier Malcata, F. (2007). Bovine whey proteins – Overview on their main biological properties. *Food Research International*, 40(10), 1197-1211. doi:10.1016/j.foodres.2007.07.005
- Maguire, N. A. P., Kuhmann, T., Gerlach, D., Fan, R., & Czermak, P. (2022). Statistical mixture designs for media development with agro-industrial residues – Supporting the circular bioeconomy. *EFB Bioeconomy Journal*, 2. doi:10.1016/j.bioeco.2022.100023
- Martinez-Avila, O., Sanchez, A., Font, X., & Barrera, R. (2018). Bioprocesses for 2-phenylethanol and 2-phenylethyl acetate production: current state

- and perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(23), 9991-10004. doi:10.1007/s00253-018-9384-8
- Modler, W. (2009). Pioneer paper: Value-added components derived from whey. *American Dairy Science Association*.
- Mounier, J., & Coton, M. (2022). Yeast and molds-*Kluyveromyces* spp. In *Encyclopedia of Dairy Sciences* (pp. 569-574).
- Murari, C. S., Machado, W. R. C., Schuina, G. L., & Del Bianchi, V. L. (2019). Optimization of bioethanol production from cheese whey using *Kluyveromyces marxianus* URM 7404. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 20. doi:10.1016/j.bcab.2019.101182
- Nasseri, A. T., Rasoul-Ami, S., Morowvat, M. H., & Ghasemi, Y. (2011). Single Cell Protein: Production and Process. *American Journal of Food Technology*, 6(2), 103-116. doi:10.3923/ajft.2011.103.116
- National Library of Medicine National Center for Biotechnology Information. Retrieved from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Isoamylacetate>
- NOM-002-SEMARNAT-1996, Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales a los sistemas de alcantarillado urbano o municipal. <https://www.profepa.gob.mx/innovaportal/file/3290/1/nom-001-semarnat-1996.pdf>.
- Ozmihci, S., & Kargi, F. (2007). Effects of feed sugar concentration on continuous ethanol fermentation of cheese whey powder solution (CWP). *Enzyme and Microbial Technology*, 41(6-7), 876-880. doi:10.1016/j.enzmictec.2007.07.015
- Panesar, P., Kennedy, J., Gandhi, D., & Bunko, K. (2007). Bioutilisation of whey for lactic acid production. *Food Chemistry*, 105(1), 1-14. doi:10.1016/j.foodchem.2007.03.035
- Panesar, P., & Kennedy, J. F. (2012). Biotechnological approaches for the value addition of whey. *Critical Reviews in Biotechnology*, 32(4), 327-348. doi:10.3109/07388551.2011.640624
- Pasotti, L., De Marchi, D., Casanova, M., Massaiu, I., Bellato, M., Cusella De Angelis, M. G., . . . Magni, P. (2020). Engineering endogenous fermentative routes in ethanogenic *Escherichia coli* W for bioethanol production from concentrated whey permeate. *New BIOTECHNOLOGY, Journal Pre-proof*. doi:10.1016/j.nbt.2020.02.004
- Prazeres, A. R., Carvalho, F., & Rivas, J. (2012). Cheese whey management: A review. *Journal of Environmental Management*, 110, 48-68. doi:10.1016/j.jenvman.2012.05.018
- Qiu, Z., & Jiang, R. (2017). Improving *Saccharomyces cerevisiae* ethanol production and tolerance via RNA polymerase II subunit Rpb7. *Biotechnol Biofuels*, 10, 125. doi:10.1186/s13068-017-0806-0
- Remón, J., García, L., & Arauzo, J. (2016). Cheese whey management by catalytic steam reforming and aqueous phase reforming. *Fuel Processing Technology*, 154, 66-81. doi:10.1016/j.fuproc.2016.08.012
- Risner, D., Shayevitz, A., Haapala, K., Meunier-Goddik, L., & Hughes, P. (2018). Fermentation and distillation of cheese whey: Carbon dioxide-equivalent emissions and water use in the production of whey spirits and white whiskey. *J Dairy Sci*, 101(4), 2963-2973. doi:10.3168/jds.2017-13774
- Risner, D., Tomasino, E., Hughes, P., & Meunier-Goddik, L. (2019). Volatile aroma composition of distillates produced from fermented sweet and acid whey. *J Dairy Sci*, 102(1), 202-210. doi:10.3168/jds.2018-14737
- Rodrigues, B., Lima-Costa, M. E., Constantino, A., Raposo, S., Felizardo, C., Goncalves, D., . . . Peinado, J. M. (2016). Growth kinetics and physiological behavior of co-cultures of *Saccharomyces cerevisiae* and *Kluyveromyces lactis*, fermenting carob sugars extracted with whey. *Enzyme and Microbial Technology*, (92).
- Saini, P., Beniwal, A., Kokkiligadda, A., & Vij, S. (2017). Evolutionary adaptation of *Kluyveromyces marxianus* strain for efficient conversion of whey lactose to bioethanol. *Process Biochemistry*, (62).
- Sampaio, F. C., de Faria, J. T., da Silva, M. F., de Souza Oliveira, R. P., & Converti, A. (2020). Cheese whey permeate fermentation by *Kluyveromyces lactis*: a combined approach to wastewater treatment and bioethanol production. *Environmental Technology*, 41(24), 3210-3218. doi:10.1080/09593330.2019.1604813
- Sar, T., Harirchi, S., Ramezani, M., Bulkan, G., Akbas, M. Y., Pandey, A., & Taherzadeh, M. J. (2022). Potential utilization of dairy industries by-products and wastes through microbial processes: A critical review. *Science of the Total Environment*, 810, 152253. doi:10.1016/j.scitotenv.2021.152253
- Smith, W. P. (1996). Epidermal and dermal effects of topical lactic acid. *J. American Academy Derm*, 35 (3-1), 388-391. doi:10.1016/s0190-9622(96)90602-7
- 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. doi:10.1016/j.bej.2016.02.014
- Xia, J., He, J., Xu, J., Liu, X., Qiu, Z., Xu, N., & Su, L. (2021). Direct conversion of cheese whey to polymalic acid by mixed culture of *Aureobasidium pullulans* and permeabilized *Kluyveromyces marxianus*. *Bioresourse Technology*, 337, 125443. doi:10.1016/j.biortech.2021.125443
- Yadav, J. S., Bezawada, J., Elharche, S., Yan, S., Tyagi, R. D., & Surampalli, R. Y. (2014). Simultaneous single-cell protein production and COD removal with characterization of residual protein and intermediate metabolites during whey fermentation by *K. marxianus*. *Bioprocess Biosyst Eng*, 37(6), 1017-1029. doi:10.1007/s00449-013-1072-6
- Yadav, J. S., Yan, S., Ajila, C. M., Bezawada, J., Tyagi, R. D., & Surampalli, R. Y. (2016). Food-grade single-cell protein production, characterization and ultrafiltration recovery of residual fermented whey proteins from whey. *Food and Bioproducts Processing*, 99, 156-165. doi:10.1016/j.fbp.2016.04.012
- Zhao, W., Shu, Q., He, G., & Qihe, C. (2020). Reducing antigenicity of bovine whey proteins by *Kluyveromyces marxianus* fermentation combined with ultrasound treatment. *Food Chem*, 311, 125893. doi:10.1016/j.foodchem.2019.125893
- Zhu, Y.-J., Zhou, H.-T., Hu, Y.-H., Tang, J.-Y., Su, M.-X., Guo, Y.-J., . . . Liu, B. (2011). Antityrosinase and antimicrobial activities of 2-phenylethanol, 2-phenylacetaldehyde and 2-phenylacetic acid. *Food Chemistry*, 124(1), 298-302. doi:10.1016/j.foodchem.2010.06.036