

EFECTO DE LA DOSIS DE LACTASA Y LEVADURA (*SACCHAROMYCES CEREVISIAE*) EN LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA DE LACTOSUERO

EFFECT OF THE DOSE OF LACTASE AND YEAST (*SACCHAROMYCES CEREVISIAE*) IN THE ALCOHOLIC FERMENTATION OF WHEY

Arroyo-Villa Mario^{1*}; Coox-Murillo Jonathan²; Montesdeoca-Párraga Ricardo³

^{1,2,3}Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí, Agroindustrias, Calceta, Ecuador

*Correo: arroyo_villa@hotmail.com

Resumen

Este trabajo tuvo como finalidad la obtención de alcohol a partir de lactosuero, para lo cual se utilizó levadura de la especie *Saccharomyces Cerevisiae* US-05; S-04 modificadas genéticamente y la enzima llamada lactasa. Se empleó un diseño completamente al azar (DCA) en modelo bifactorial AxB. Los factores en estudio fueron: a) Tipos de levadura *Saccharomyces Cerevisiae* con 2 niveles (S0-4 y US-05); b) Dosificación de lactasa con cuatro niveles (0,25 ml; 0,50 ml; 0,75 ml y 1 ml de lactasa por cada litro de materia prima). Cada tratamiento estuvo compuesto por 3 litros de lactosuero. A la materia prima se le realizaron análisis de pH, acidez y grados brix como medidas de control. El proceso de fermentación se llevó a cabo durante 22 días, luego se realizó el proceso de destilación a cada uno de los tratamientos con sus respectivas réplicas. Los datos obtenidos fueron analizados mediante el programa estadístico IBM SPSS versión 21, dando como resultado que para la variable rendimiento de alcohol el tratamiento T4 (3 ml de lactasa + 3 g de levadura *Saccharomyces Cerevisiae* US-05 + 3 L de lactosuero) es el más adecuado, mientras que para la variable concentración de alcohol con los tratamientos T1 (0,75 ml de lactasa + 3 g de levadura *Saccharomyces Cerevisiae* US-05 + 3 L de lactosuero) y T4 (3 ml de lactasa + 3 g de levadura *Saccharomyces Cerevisiae* US-05 + 3 L de lactosuero) se obtuvo una concentración de alcohol más elevada.

Palabras clave: Levadura; fermentación; alcohol; destilación; lactosuero.

Abstract

The purpose of this work was to obtain alcohol from whey, for which yeast of the species *Saccharomyces Cerevisiae* US-05 was used; S-04 genetically modified and the enzyme called lactase. A completely randomized design (DCA) was used in bifactorial design AxB which had 2 factors under study, factor A: Types of yeast *Saccharomyces Cerevisiae* had 2 levels (S0-4 and US-05); Factor B: Dosage of lactase with four levels (0.25 ml, 0.50 ml, 0.75 ml, 1 ml of lactase per liter of raw material), each treatment was composed of 3 liters of whey. The raw material was analyzed for pH, acidity and brix degrees as control measures. The fermentation process lasted for 22 days, then the distillation process was carried out for each of the treatments with their respective replicas. The data obtained were analyzed by means of the statistical program IBM SPSS version 21, resulting in the variable T4 treatment (3 ml of lactase + 3 g of yeast *Saccharomyces Cerevisiae* US-05 + 3 L of whey) for the variable alcohol yield. more suitable, while for the variable alcohol concentration with T1 treatments (0,75 ml of lactase + 3 g of yeast *Saccharomyces Cerevisiae* US-05 + 3 L of whey) and T4 (3 ml of lactase + 3 g of yeast *Saccharomyces Cerevisiae* US-05 + 3 L of whey) a higher alcohol concentration was obtained.

Keywords: Yeast; fermentation; alcohol; distillation; whey.

1. Introducción

Según Rojas et al., (2015) la industria de productos lácteos es uno de los sectores más importantes de la economía de muchos países y entorno a ella se ha desarrollado una tecnología completa y novedosa. Aproximadamente, el 90% de la leche utilizada en la industria quesera es eliminada como lactosuero. Por su parte García et al., (2004) expresan que su composición varía dependiendo de las características de la leche y de las condiciones de elaboración del queso de que proceda, pero, en términos generales, podemos decir que el lactosuero contiene: 4,9% de lactosa, 0,9% de proteína cruda, 0,6% de cenizas, 0,3% de grasa, 0,2% de ácido láctico y 93,1% de agua.

Ramírez (2012) manifiesta que la fermentación del lactosuero, es uno de los procesos que ha permitido valorizar este subproducto, puesto que el lactosuero posee todos los macro y micronutrientes y elementos traza que los microorganismos necesitan para realizar el proceso fermentativo. El componente más utilizado en estos procesos es la lactosa. Por otro lado, Vargas (2017) menciona que la fermentación del lactosuero enfocada a

la producción de etanol, puede presentarse como alternativa viable de aprovechamiento de este residuo para la generación de un producto con mayor valor agregado.

Las especies más empleadas para fermentar este disacárido son *Kluyveromyces marxianus*, *Kluyveromyces lactis* y *Candida kefyr*, no obstante, la principal limitación de este proceso es la baja concentración de etanol que se obtiene por la intolerancia de algunas cepas y la baja concentración de lactosa, que se genera como máximo entre 2% y 3% de etanol al final de la fermentación (García et al., 2004).

La presente investigación se realizó con la finalidad de obtener alcohol a partir de lactosuero. Cabe mencionar que este subproducto es rico en lactosa y por tanto, se convierte en una alternativa para su aprovechamiento en la obtención de alcohol mediante un proceso simultáneo entre hidrólisis y fermentación. El tipo de levadura que se empleo fue la especie *Saccharomyces Cerevisiae* modificada genéticamente (US-05; S-04), esta levadura no es capaz de fermentar lactosa, por lo que fue necesario hidrolizarla, es por ello que se evaluó la dosificación de lactasa, que

actúa como enzima capaz de hidrolizar la lactosa en glucosa y galactosa.

2. Materiales y Métodos

2.1. Ubicación

La presente investigación se realizó en el Laboratorio de Bromatología de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí "Manuel Félix López", ubicada en el sitio el Limón, cabecera cantonal del Cantón Bolívar, de la provincia de Manabí, situada geográficamente entre las coordenadas 0° 49' 27,9" latitud sur; 80° 10' 47,2" longitud oeste.

2.2. Factores en estudio

Los factores en estudio y sus respectivos niveles fueron:

- A: Tipos de levadura *Saccharomyces Cerevisiae* (S0-4 y US-05).

Se utilizó una dosificación 1g de levadura *Saccharomyces Cerevisiae* en relación a cada litro de lactosuero a fermentar.

a1: Levadura *Saccharomyces Cerevisiae* US-05; a2: Levadura *Saccharomyces Cerevisiae* S-04.

- B: Dosificación de lactasa.

Se emplearon las siguientes dosificaciones de lactasa en relación a cada litro de lactosuero a fermentar.

b1: 0,25 ml; b2: 0,50 ml; b3: 0,75 ml y b4: 1 ml.

2.3. Tratamientos

Como resultado de la combinación de los niveles de cada factor se establecieron 8 tratamientos con 3 repeticiones cada uno, en base a 3L de lactosuero los cuales se detallan a continuación:

Tabla 1. Tratamientos para la producción de alcohol a partir de lactosuero.

Tratamientos	Códigos	Descripción
T1	a ₁ b ₁	0,75 ml de lactasa + 3 g de levadura US-05
T2	a ₁ b ₂	1,5 ml de lactasa + 3 g de levadura US-05
T3	a ₁ b ₃	2,25 ml de lactasa + 3 g de levadura US-05
T4	a ₁ b ₄	3 ml de lactasa + 3 g de levadura US-05
T5	a ₂ b ₁	0,75 ml de lactasa + 3 g de levadura S-04
T6	a ₂ b ₂	1,5 ml de lactasa + 3 g de levadura S-04
T7	a ₂ b ₃	2,25 ml de lactasa + 3 g de levadura S-04
T8	a ₂ b ₄	3 ml de lactasa + 3 g de levadura S-04

2.4. Diseño experimental

El diseño que se aplicó en la investigación fue un Diseño Completamente al Azar (DCA) bifactorial AxB con un total de ocho tratamientos.

2.5. Descripción del experimento

Para la obtención de alcohol a partir de lactosuero, se aplicó el siguiente diagrama de proceso (Figura 1).

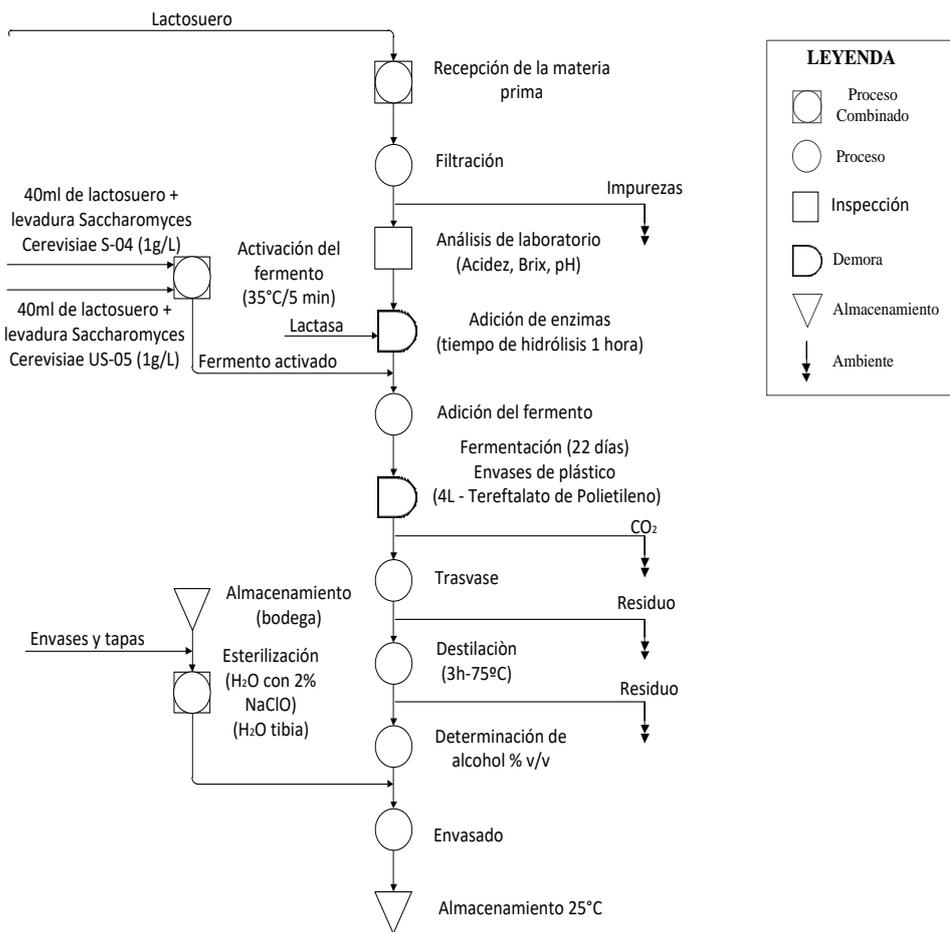


Figura 1. Diagrama de proceso para la fermentación alcohólica de lactosuero.

Recepción: Se recibió la materia prima en ambiente adecuado, la cual procedió

del Barrio Santa Lucia ubicado en el cantón Bolívar.

Filtración: Utilizando un tamiz se procedió a filtrar el lactosuero para eliminar cualquier tipo de impureza que pueda tener.

Análisis de laboratorio: Se realizaron los siguientes análisis al lactosuero: acidez, pH, grados brix; estos análisis se efectuaron en los laboratorios de Bromatología de la ESPAM "MFL".

Adición de enzima lactasa: Se adicionó la enzima lactasa en las dosificaciones establecidas para cada tratamiento y réplicas, se espera un lapso de tiempo de una hora para que esta pueda hidrolizar la lactosa en glucosa y galactosa.

Activación del fermento: El fermento (*Saccharomyces Cerevisiae* S-04; US-05), se lo activó con ayuda de una placa calefactora; dicho proceso consistió en mezclar la cantidad de fermento a utilizarse para cada tratamiento y sus respectivas réplicas con una cantidad mínima de lactosuero (40 ml), para la respectiva activación se utilizó una temperatura de 35°C por 5 minutos.

Adición del fermento (*Saccharomyces Cerevisiae* S-04; US-05): Se agregó al lactosuero, replicando el proceso en los tratamientos propuestos.

Fermentación: Se dejó fermentar por un periodo de 22 días, en envases de plástico con una capacidad de 4L, elaborados de Tereftalato de Polietileno (PET), para luego realizar el trasvase y su destilación, respectivamente.

Trasvase: Esta operación se la realizó con el fin de detener la fermentación del lactosuero, evitando así que este se convirtiera en ácido acético.

Destilado: Una vez cumplidos los 22 días de fermentación, con la finalidad de determinar el rendimiento y la concentración de alcohol en cada uno de los tratamientos y réplicas se procedió a destilar, se empleó un tiempo de 3 horas con una temperatura de 75°C; para efectuar esta operación se utilizaron los siguientes materiales y equipos: balón de destilación, placa calefactora, tubo condensador, termómetro, vaso de precipitación, soporte universal, pinzas y finalmente un corcho. Posteriormente, se evaluaron las variables de estudio.

Rendimiento de alcohol: Se determinó una vez terminada la destilación, es decir, el volumen obtenido en cada tratamiento y réplica expresado en porcentaje.

Concentración de alcohol: Para determinar la concentración de alcohol se utilizó un alcoholímetro, esto consiste en introducir el alcoholímetro en la muestra de alcohol y verificar cuál es su concentración y/o grado de alcohólico (INEN, 2014).

Invasado: Una vez destilados todos los tratamientos con sus respectivas réplicas, se los envaso en recipientes de plástico, previamente esterilizados (NaClO al 2%; H₂O tibia) elaborados de Tereftalato de Polietileno (PET), con una capacidad de 500 ml.

Almacenado: El alcohol final se almacenó a una temperatura ambiente de 25°C (± 2°C).

2.6. Análisis estadístico

Los resultados de los análisis rendimiento y concentración de alcohol fueron evaluados por medio del software estadístico IBM SPSS versión 21, los cuales fueron sometidos a: Prueba de normalidad (test de Shapiro Wilk) y a pruebas de homogeneidad de varianzas y homocedasticidad (Test de Levene). Si los resultados cumplían con los supuestos se les realizaba:

- Análisis de varianza (ADEVA - TUKEY).
- Coeficiente de variación (CV).

En caso de no cumplir con los supuestos de ADEVA se realizaban pruebas no paramétricas mediante la muestra de Kruskal-Wallis.

3. Resultados y discusión

3.1. Caracterización de la materia prima

Como parámetros de control se realizaron pruebas físico-químicas a la materia prima (lactosuero), los cuales se presentan en tabla 2.

Tabla 2. Análisis físico-químico de la materia prima.

Análisis	Resultados
pH	6,52
Grados Brix	5,5
Acidez	0,16%

3.2. Evaluación de las variables respuestas

Para la evaluación de las variables respuestas se realizaron pruebas paramétricas en el caso de rendimiento de alcohol y no paramétricas para la concentración de alcohol.

3.2.1. Rendimiento de alcohol

Tabla 3. Supuesto de normalidad mediante la prueba de Shapiro-Wilk

	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	Gl	Sig.
Rendimiento de alcohol	0,920	24	0.058
Concentración de alcohol	0,841	24	0.001

Como se puede observar en la tabla 3, la variable rendimiento de alcohol cumplió el supuesto de normalidad mediante la prueba de Shapiro-Wilk debido a que su significancia es mayor al 0,05; por lo consiguiente se procedió a realizar la prueba de homogeneidad de varianzas y posteriormente el análisis de varianza (ADEVA-TUKEY), por su parte la variable concentración de alcohol no cumplió con el supuesto de normalidad mediante la prueba de Shapiro-Wilk debido a que su significancia es menor al 0,05, por lo expuesto con anterioridad se efectuó una prueba no paramétrica como lo es la prueba de Kruskal Wallis.

Tabla 4. Prueba de homogeneidad de Varianzas

Contraste de Levene sobre la igualdad de las varianzas error			
R. de alcohol			
F	gl1	gl2	Sig.
1.732	7	16	0.172

La variable rendimiento de alcohol, al cumplir con la Prueba de homogeneidad de Varianzas, tal como se muestra en la tabla 4 y el supuesto de Normalidad, (Ver tabla 3), fue evaluada mediante la prueba de ADEVA para los factores y los tratamientos.

Tabla 5. ADEVA para los factores de la variable Rendimiento de alcohol

ADEVA					
Origen	Gl	Suma de cuadrados tipo III	Media cuadrática	F	Sig.
Total corregida	23	270,518			
FACTOR A	1	71,139	71,139	548,720	0.000**
FACTOR B	3	96,350	32,117	247,725	0.000**
FACTOR A *	3	100,955	33,652	259,566	0.000**
FACTOR B					
Error	16	2,074	0,130		
Total	24	11894,440			

CV: 15,58

NS: NO significativo

*significativo al 5%

**altamente significativo al 1%

El ADEVA aplicado para los factores (A y B) como para la interacción de ambos

denotó que existe diferencia estadística significativa tanto para los factores como

para la interacción de ambos debido a que su significancia es menor a 0,05, tal como se observa en la tabla 5; por este motivo se le efectuó la prueba de medias al factor A debido a que solo presenta

dos niveles y la prueba de TUKEY para el factor B el cual está definido por cuatro niveles para establecer el mejor nivel de cada factor.

Tabla 6. Prueba de medias para el factor A de la variable Rendimiento de alcohol

Prueba de Medias				
Factor A	Media	Error t _{íp.}	Intervalo de confianza 95%	
			Límite inferior	Límite superior
a1	23.729 a	0,104	23,509	23,950
a2	20.286 b	0,104	20,065	20,506

Letras iguales en columnas no difieren estadísticamente según Tukey al 0,05 de probabilidad de error.

De acuerdo a la tabla 6, la prueba de medias aplicada para el factor A estableció que el nivel a1 (Levadura *Saccharomyces Cerevisiae* US-05) de

dicho factor es el más indicado para obtener un rendimiento de alcohol más elevado.

Tabla 7. Prueba de Tukey para el Factor B de la variable Rendimiento de alcohol

Prueba de TUKEY (Factor B)				
Factor B	N	Subconjunto		
		1	2	3
b2	6	20,3533c		
b1	6		20,9733b	
b3	6		21,2733b	
b4	6			25,4300a
Sig.		1,000	0,492	1,000

Letras iguales en columnas no difieren estadísticamente según Tukey al 0.05 de probabilidad de error.

La prueba de Tukey realizada para el factor B estableció que el nivel b4 (1 ml de lactasa) de dicho factor es el que permite alcanzar el mayor rendimiento del alcohol, con el nivel b1 (0,25 ml de

lactasa) y b3 (0,75 ml de lactasa) se obtiene un rendimiento de alcohol igual, mientras que con el nivel b2 (0,50 ml de lactasa) el rendimiento de alcohol

obtenido es bajo en comparación con los anteriores (tabla 7).

De acuerdo a la prueba de TUKEY efectuada para el factor B (Dosificación de lactasa), se estableció que para obtener un rendimiento de alcohol más

elevado, el nivel b4 (1 ml de lactasa) es el más adecuado, lo cual concuerda con Descalzi (2017) quien establece que con dosificaciones altas de la enzima lactasa se obtiene un grado de hidrólisis de lactosa mayor por ende habrá mejores resultados.

Tabla 8. ADEVA para los tratamientos en la variable Rendimiento de alcohol

ADEVA					
Origen	Gl	Suma de cuadrados tipo III	Media cuadrática	F	Sig.
Total corregida	23	270,518			
Tratamiento	7	268,444	38,349	295,799	0,000**
Error	16	2,074	0,130		

CV: 15.58

NS: NO significativo; Gl: Rendimiento de alcohol

*significativo al 5%

**altamente significativo al 1%

El ADEVA aplicado para los tratamientos denotó que existe diferencia estadística significativa debido a que su significancia es menor a 0,05, tal como se observa en

la tabla 8. Por este motivo, se le aplicó la prueba de TUKEY para establecer el tratamiento más eficiente en función del rendimiento de alcohol.

Tabla 9. Prueba de Tukey para los tratamientos

Prueba de TUKEY							
Tratamientos	N	Subconjunto					
		1	2	3	4	5	6
T1	3	16,6633f					
T2	3	17,4633f					
T3	3		20,5067e				
T7	3			22,0400d			

T6	3				23,2433c		
T8	3				24,3500b		
T5	3				25,2833b		
T4	3						26,5100a
Sig.		0,185	1,000	1,000	1,000	0,085	1,000

Letras iguales en columnas no difieren estadísticamente según Tukey al 0,05 de probabilidad de error.

La tabla 9 refleja los resultados de la prueba de TUKEY, se establece que para obtener un mayor rendimiento de alcohol, el tratamiento T4 (3 ml de lactasa + 3 g de levadura *Saccharomyces Cerevisiae* US-05 + 3 L de lactosuero) es el más adecuado, mientras que con los tratamientos T1 (0,75 ml de lactasa + 3 g de levadura *Saccharomyces Cerevisiae* US-05 +3 L de lactosuero) y T2 (1,5 ml de lactasa + 3 g de levadura *Saccharomyces Cerevisiae* US-05 +3 L de lactosuero) se obtiene un rendimiento de alcohol más bajo, que en comparación con una investigación realizada por López & Prado (2015). Las diferencias reportadas entre ambos estudios se asocian a diferentes factores como la cantidad de lactosuero empleado para la fermentación, la no utilización de una enzima capaz de desdoblar la lactosa para que el fermento pueda actuar de una forma más eficaz, entre otras, obteniendo de esta forma, rendimientos de alcohol más bajos. Por otra parte, en

un estudio realizado por Padín- González & Díaz- Fernández (2009) se obtuvieron mejores resultados en comparación con los obtenidos en este trabajo para el rendimiento de alcohol obtenido ya que ellos trabajaron con la levadura *Kluyveromyces marxianus*, la cual es la más idónea para la obtención de alcohol a partir del lactosuero, debido a que puede fermentar lactosa por sí misma.

3.2.2. Concentración de alcohol

La variable concentración de alcohol no cumplió con el supuesto de normalidad mediante la prueba de Shapiro-Wilk debido a que su significancia fue menor al 0,05 (tabla 3), por lo expuesto con anterioridad se efectuó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis tanto para los factores como para los tratamientos. La prueba de Kruskal Wallis aplicada al factor A, denotó que éste si produce efecto en la variable concentración de alcohol debido a que su significancia es menor a 0,05, por lo cual se rechazó la

hipótesis nula. Se realizó un gráfico de cajas (figura 2), en el cual se determinó el nivel del factor A que produce un mejor resultado. Según la figura 2, el nivel a1 (Levadura *Saccharomyces*

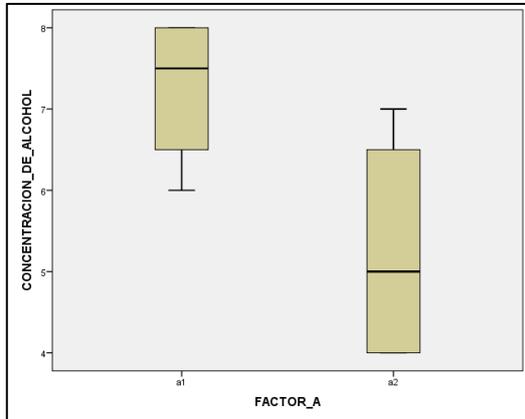


Figura 2. Gráfico de cajas para el factor A

La prueba de Kruskal Wallis aplicada al factor B, denotó que éste no produce efecto en la variable concentración de alcohol debido a que su significancia es mayor a 0,05, reteniendo así la hipótesis nula, es decir que no existió diferencia estadística significativa entre sus niveles, ya que ninguno difiere de otro, lo que manifiesta que con todos los niveles de lactasa se obtienen concentraciones de alcohol similares.

Se aplicó la prueba de Kruskal Wallis en los tratamientos, y se denotó que estos si producen efecto en la variable concentración de alcohol, debido a que su significancia es menor a 0,05. Se realizó un gráfico de medias (figura 3),

Cerevisiae US-05) produce una concentración de alcohol más elevada, respecto al nivel a2.

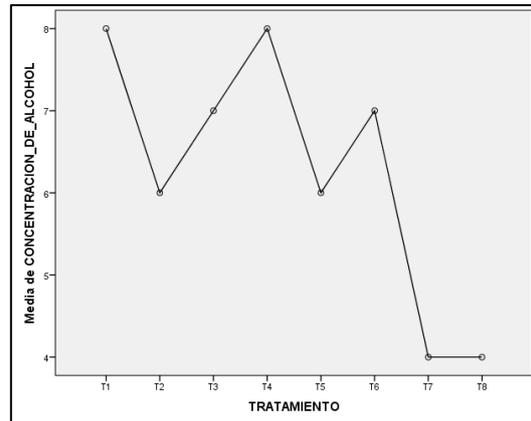


Figura 3. Gráfico de medias para los Tratamientos

en el cual se observó el tratamiento en estudio que produce un mejor resultado. Según la figura 3, existe variación en cada tratamiento, puesto que se observa que con los tratamientos T1 (0,75 ml de lactasa + 3 g de levadura *Saccharomyces Cerevisiae* US-05 + 3 L de lactosuero) y T4 (3 ml de lactasa + 3 g de levadura *Saccharomyces Cerevisiae* US-05 + 3 L de lactosuero) se obtiene una concentración de alcohol más elevada, mientras que con los tratamientos T7 (2,25 ml de lactasa + 3 g de levadura *Saccharomyces Cerevisiae* S-04 + 3 L de lactosuero) y T8 (3 ml de lactasa + 3 g de levadura *Saccharomyces Cerevisiae* S-04 + 3 L de lactosuero) se obtiene una concentración más baja. En la investigación realizada por López &

Prado (2015) se obtuvieron menores concentraciones de alcohol, debido a diferentes factores como la especie y cantidad de levadura *Saccharomyces Cerevisiae* utilizada en su investigación. Por otra parte, en un estudio realizado por Padín-González y Díaz-Fernández (2009) se obtuvieron mejores resultados en comparación con los obtenidos en este trabajo, debido a que ellos inocularon con la levadura *Kluyveromyces marxianus*, la cual es la más idónea para la obtención de alcohol a partir del lactosuero debido a que puede fermentar lactosa por sí misma.

4. Conclusiones

La posibilidad de obtener alcohol a partir de la fermentación de lactosuero se presenta como una alternativa de aprovechamiento, evitando así su desperdicio total.

El tratamiento 4 (T4) fue diseñado con la mayor dosificación de lactasa y levadura *Saccharomyces Cerevisiae* US-05, por tanto fue el que permitió obtener mayor rendimiento y concentración de alcohol.

Bibliografía

Descalzi, S.A. (2017). Ficha Técnica Lactasa. Ecuador. p. 1
García, M., Quintero, R., López, A. (2004). *Biotechnología*

Alimentaria. México: Editorial Limusa.

INEN NTE (Norma Técnica Ecuatoriana) 340. (2014). Bebidas alcohólicas. Determinación del contenido de alcohol etílico. Método alcoholimétrico (Gay-Lussac). (En Línea) EC. Consultado el 24 de enero de 2018. Formato PDF. Disponible en: <http://www.normalizacion.gob.ec/>

López, J., & Prado, J. (2015). Uso de lactosuero en sinergia con *Saccharomyces Cerevisiae* como materia prima para la producción de etanol a escala piloto, en el laboratorio de Tecnología Farmacéutica, Departamento de Química, UNAN-Managua, Julio 2014-Agosto 2015. (Tesis de grado). Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua. Managua- Nicaragua.

Padín-González, C., & Díaz-Fernández, M. (2009). Fermentación alcohólica del lactosuero por *Kluyveromyces marxianus* y solventes orgánicos como extractantes. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 29(2), 110-116. Recuperado de: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=199414957008>

Ramírez, J. (2012). Aprovechamiento Industrial de Lactosuero Mediante Procesos Fermentativos. *Revista*

Especializada en Ingeniería de Procesos en Alimentos y Biomateriales, 6, 69-83.

Recuperado de:
<http://oaji.net/articles/2017/5082-1501178491.pdf>

Rojas, A. M., Montaña, L. P., & Bastidas, M. J. (2015). Producción de ácido láctico a partir del lactosuero utilizando *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*. *Revista Colombiana de Química*,

44(3), 5-10. Recuperado de:
<https://revistas.unal.edu.co/index.php/rcolquim/article/view/>

Vargas, X. (2017). Evaluación de la producción de etanol a partir de lactosuero a nivel de biorreactor (bioflo 110) utilizando *Kluyveromyces marxianus* y *Kluyveromyces lactis* como agentes fermentativos. (Tesis de grado). Universidad de la Salle Facultad de Ingeniería. Bogotá, Colombia.