

**Producción de galactooligosacáridos:
 alternativa para el aprovechamiento
 del lactosuero. Una revisión**

Production of galactooligosaccharides:
 alternative for the use of whey. A review

James Andrés Gómez Soto*

Óscar Julián Sánchez Toro**

Universidad de Caldas, Colombia

*Grupo de Investigación en Alimentos y Agroindustria, Facultad de Ingenierías, Universidad de Caldas, Estudiante de Doctorado en Ingeniería, MSc en Ingeniería de Alimentos, Ingeniero de Alimentos. *jam.es.37916220109@ucaldas.edu.co*

**Grupo de Investigación en Alimentos y Agroindustria, Facultad de Ingenierías, Universidad de Caldas, Profesor Asociado, Director del Grupo de Investigación en Alimentos y Agroindustria, PhD en Ingeniería, MSc en Biotecnología, Ingeniero Químico. *osanchez@ucaldas.edu.co*

Correspondencia: James Andrés Gómez Soto, Universidad de Caldas, Edificio el Parque, Piso 3, Oficinas de Posgrados de Ingenierías, Calle 65 N.º 26-10, Manizales, Colombia.

Resumen

En el mundo la producción de suero de leche está en aumento y su aprovechamiento insuficiente genera impactos ambientales y económicos que se reflejan en el deterioro del medio ambiente y la pérdida de recursos económicos para las comunidades. El objetivo de la presente revisión bibliográfica fue consultar en la literatura científica y técnica los diferentes usos que se le en la actualidad al lactosuero, desde las proteínas y la lactosa. Se identificó que el lactosuero se utiliza aún, por lo general, para obtener lactosueros en polvo y concentrados, así como aislados de proteína, entre otros productos. El procesamiento del lactosuero genera residuos como, por ejemplo, la lactosa, la cual representa un serio problema ambiental y económico por la posible contaminación de fuentes hídricas y el alto costo que tiene su tratamiento (mano de obra e insumos). En este sentido, el proceso de producción de galactooligosacáridos (compuestos prebióticos de alto interés), puede ser una alternativa de inversión y desarrollo tecnológico para el sector lácteo de Colombia que busca nuevas formas de valorizar los residuos y disminuir el impacto ambiental de estos procesos.

Palabras claves: galactooligosacáridos, inmovilización, lactosa, lactosuero.

Abstract

In the world the production of whey is increasing and its insufficient use generates environmental and economic impacts that are reflected in the deterioration of the environment and the loss of economic resources for the communities. The aim of the present review was to consult in the scientific and technical literature the different uses of whey from proteins and lactose. It was identified that whey is still commonly used to obtain powdered whey and concentrates and protein isolates, among other products. The processing of whey generates waste such as lactose, which represents a serious environmental and economic problem due to the contamination of water sources and the high cost of its treatment (labor and consumables). In this sense, the production process of galactooligosaccharides (prebiotic compounds of high interest) can be an alternative of investment and technological development for the dairy sector of Colombia that searches for new ways to valorize the waste and diminish the environmental impact of these processes.

Keywords: galactooligosaccharides, immobilization, lactose, whey.

Fecha de recepción: 6 de agosto de 2018
Fecha de aceptación: 13 de Octubre de 2018

I. INTRODUCCIÓN

En las proyecciones de la OECD/FAO [1] se prevé que la producción mundial de leche aumentará a 175 millones de toneladas (t) hacia el 2024. El queso seguirá siendo el producto lácteo más importante, representando alrededor del 40% de la leche elaborada en todo el mundo [2]. Esta producción de queso trae consigo una mayor producción de lactosuero. El lactosuero posee un color amarillo verdoso, un sabor característico agrídulce y un contenido significativo de proteínas, carbohidratos, vitaminas y minerales susceptibles de aprovechamiento [3]. Para el año 2017, la producción de queso a nivel mundial se estimó en 20.015.000 t. Se calcula que esta cantidad de queso produjo 180.135.000 t de lactosuero aproximadamente [4], [5]. En Colombia, la producción de lactosuero para el 2016 se calculó en 827.596 t [6], [7]. Una parte del lactosuero producido en el mundo la transforman diferentes industrias en concentrados y aislados de proteína (WPC y WPI por sus siglas en inglés) [8]-[10]. En Colombia, una pequeña parte del lactosuero producido la procesan algunas industrias del sector lácteo a fin de obtener lactosueros dulces en polvo [10]-[12].

El lactosuero representa un problema serio de contaminación debido a su alta demanda biológica de oxígeno (35.000-45.000 mg/L) y demanda química de oxígeno (60.000-80.000 mg/L) [14]. El lactosuero, cuando no es tratado correctamente, disminuye de manera drástica la concentración de oxígeno en los afluentes donde es vertido [15]. Adicionalmente, la transformación del lactosuero líquido en lactosuero en polvo, WPC y WPI, genera corrientes (por ejemplo, permeado) con un contenido significativo de lactosa y otros compuestos [16] que se deben separar o tratar antes de disponerlos como residuos.

La lactosa es uno de los compuestos más representativos del lactosuero después del agua, con un contenido del 4,80% [17]. La lactosa es un compuesto no muy comercial, debido a sus características físico-químicas y sensoriales [18]. A lo anterior, se suma la intolerancia a este compuesto que afecta hasta a un 70% de la población mundial [19], lo cual restringe su uso en los alimentos.

Se identifica que el sector lácteo colombiano aprovecha parte del suero de leche que produce en lactosueros dulces, pero la falta de diseños de procesos e integración másica de sus corrientes (principal y efluentes) [20]

no permite visualizar otros usos o aprovechar material valioso (lactosa) de sus residuos, lo cual representaría una alternativa para la obtención de otros productos como, por ejemplo, los galactooligosacáridos (GOS). Por tanto, se plantea la siguiente pregunta de investigación: ¿La revisión de la documentación científica y técnica a nivel mundial del aprovechamiento del suero de leche, permitirá aportar con información relevante sobre la producción de GOS como proceso alternativo a la transformación del suero de leche para aprovechar la lactosa de la materia prima (lactosuero) y de sus residuos? En este sentido, el objetivo de la presente revisión bibliográfica es analizar las aplicaciones del lactosuero desde diferentes campos investigativos; entre estos, la producción de lactosueros en polvo, WPC, WPI y GOS como alternativa de proceso adjunto al procesamiento tradicional del lactosuero.

II. CONSULTA DE LA INFORMACIÓN

La consulta de la información se realizó en las bases de datos de Scopus y Web of Science, y tuvo los siguientes criterios de búsqueda: algoritmo de búsqueda aplicado únicamente al título, el resumen y las palabras claves de los artículos de la base de datos; consulta en todos los documentos publicados a la fecha; solo documentos de investigación clasificados como artículos; y documentos escritos en inglés y en español. El algoritmo de búsqueda se construyó a partir de palabras claves en inglés como: “whey”, “protein”, “galactooligosaccharides”, “lactose”, “whey protein concentrates” y “whey protein isolates”; así como, la conjugación de estas palabras en español. Se utilizaron los operadores booleanos AND, OR y el comodín (*) a fin de complementar las búsquedas y hallar la mayor cantidad de documentos relacionados. Las búsquedas fueron acotadas a 100 artículos, y los resultados se exportaron a una hoja de cálculo de Excel para su respectivo análisis a partir del título y el resumen de cada artículo; posteriormente, los artículos identificados como relevantes se analizaron en profundidad.

III. MARCO TEÓRICO

A. Lactosuero

El lactosuero representa aproximadamente, del 85% al 95% del volumen de leche, y retiene el 55% de sus nutrientes [21]. Estos nutrientes pueden recuperarse para ser utilizados en diferentes campos (alimentarios y farma-

céuticos). Existen dos clases de lactosuero (véase la Tabla 1), el lactosuero ácido (pH de 4,5) y el lactosuero dulce (pH 6,0-6,5) [22].

Tabla 1. Composición típica del suero dulce y ácido

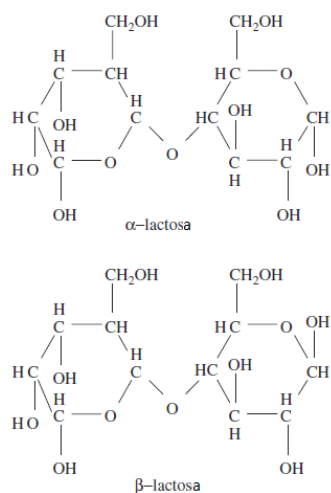
Componente	Composición (g/L)	
	Sueros dulce	Sueros ácido
Sólidos totales	63,0-70,0	63,0-70,0
Lactosa	46,0-52,0	44,0-46,0
Proteína	6,0-10,0	6,0-8,0
Calcio	0,4-0,6	1,2-1,6
Fosfato	1,0-3,0	2,0-4,5
Lactato	2,0	6,4
Cloruro	1,1	1,1

Fuente: tomado de [22].

El lactosuero dulce se obtiene por la coagulación de la caseína utilizando cuajo (mezcla de la enzima quimosina u otras enzimas coagulantes de caseína) a un pH de 6,5, aproximadamente. El lactosuero ácido se obtiene por fermentación o adición de ácidos orgánicos o minerales para coagular la caseína [22]. La coagulación ácida genera un lactosuero con una acidez sustancialmente baja (pH 4,5, aproximadamente), necesaria para la precipitación de la caseína en la leche. A este bajo pH, el calcio coloidal contenido en las micelas de caseína de la leche se solubiliza y se distribuyen en el suero. La coagulación por medio de cuajo produce un fragmento *k*-caseína llamada “glicomacropéptido” (GMP) que termina en el suero. El GMP constituye aproximadamente, el 20% de la fracción de proteína de suero de leche dulce, pero no está presente en el suero ácido [23]. El conjunto único de aminoácidos en el GMP lo convierte en un ingrediente codiciado con propiedades nutracéuticas [24]. En este sentido, la obtención de lactosuero dulce genera una fracción de proteína de alto valor nutricional (GMP) que podría separarse por la tecnología de membranas [24], con el fin de ser utilizada como aditivo alimentario. La tecnología de separación por membranas se encuentra disponible en la mayoría de las industrias procesadoras de lactosuero, siendo necesario configurar y evaluar el proceso de obtención de GMP de la forma adecuada para su implementación. Esta configuración y evaluación se puede llevar a cabo por medio del diseño y la simulación de procesos [26].

1. Lactosa

La lactosa (4-O- β -galactopiranosil-D-glucopiranososa, C₁₂H₂₂O₁₁) es un disacárido que comprende una molécula de glucosa ligada a una molécula de galactosa por un enlace β (1,4). La lactosa en soluciones acuosas está presente en las formas α y β (véase la Figura 1) [18]. La lactosa es el mayor componente de los sólidos presentes en la leche de vaca, con excepción de la grasa en ciertas razas [27].



Fuente: Tomado de [18]

Figura 1. Estructura de la lactosa en las configuraciones α y β .

El peso molecular de la lactosa es de 342 g/mol. Se diferencian estructuralmente sus formas isómeras (α y β) solo en la posición del grupo -OH en el carbono anomérico de la glucosa [28]. Los cristales de α -lactosa se pueden preparar como monohidrato mediante la concentración de una solución acuosa de lactosa hasta la sobresaturación, lo cual permite que se cristalice por debajo de 93,5 °C. La rotación óptica de la α -lactosa en el agua es (α) D²⁰= +89,4 (base de peso anhidro), su punto de fusión es de 201,6 °C y sus cristales son poco solubles. Los cristales de la α -lactosa poseen un tamaño mayor a 10-16 μ m. Esta condición de la α -lactosa hace que pueda detectarse sensorialmente y crear un efecto llamado "arenoso". La rotación óptica de la β -lactosa es (α)D²⁰= +35° y tiene un punto de fusión de 252,2 °C. Los cristales β -anhidro son más dulces y solubles que el α -hidrato [18].

La lactosa es considerablemente menos dulce que la sacarosa o la glucosa debido a que tiene un poder edulcorante del 20% y 30% de la sacarosa respectivamente [29] por lo que su contribución a la dulzura es irrelevante y, por el contrario, puede impartir un sabor desagradable a los alimentos que contienen altas cantidades de la misma [30]. La solubilidad de la lactosa es una función compleja debido a que ambos anómeros (α y β) están en equilibrio mutarrotacional, el cual es dependiente de la temperatura [31]. En términos prácticos, la lactosa es un azúcar que tiene baja solubilidad en el agua (alrededor de 180 g/L a temperatura ambiente) por lo que tenderá a precipitar a concentraciones más altas y a temperaturas bajas, de forma que afecta las propiedades organolépticas y funcionales de los productos que la contienen como por ejemplo, en los helados [32].

En el comercio existen cuatro grados principales de lactosa (fermentativa, cruda, comestible y farmacológica) que son utilizados para diferentes actividades industriales [27]. En particular, la lactosa se usa ampliamente como un relleno o aglutinante en la fabricación de tabletas y cápsulas farmacéuticas [33]. Desde otro punto de vista, la lactosa es un compuesto de interés cuando se transforma de su forma nativa a otros productos de valor agregado como, por ejemplo, lactulosa [34], GOS [35], lactosucrosa, lactitol, ácido lactobiónico, tagatosa, epilactosa y fructosil-GOS [36], [37], en ácidos orgánicos [38] y en jarabes de glucosa [39], entre otros productos.

A nivel mundial las investigaciones sobre el aprovechamiento de la lactosa se orientan a estudiar y mejorar la hidrólisis de este compuesto para ser aplicado al procesamiento de productos y subproductos lácteos [18]. Por ejemplo, en los campos de los productos lácteos líquidos, a fin de mejorar la hidrólisis de la lactosa [40]; en el control de la cristalización de la lactosa en productos lácteos concentrados [41]; en la aplicación del lactosuero y su permeado en el campo alimentario y no alimentario [39]-[42]; en la producción de oligosacáridos [37] y exopolisacáridos [40]; en la mejora de la producción de cultivos celulares [21],[44], [45]; y en el desarrollo de nuevos sabores y productos desde la hidrólisis de la lactosa (quesos, bebidas, jarabes, compuestos químicos, etc.) [38], [41], [42], [46].

De acuerdo con lo anterior, existe un amplio campo de investigación del aprovechamiento de la lactosa que puede utilizarse en Colombia para desarrollar la economía de los diferentes sectores industriales y la tecnología

de sus procesos. El aprovechamiento de la lactosa está sujeta al nivel de madurez tecnológica que posea el proceso de transformación [47] y al desarrollo tecnológico con el que cuente el sector industrial (equipos y procesos, entre otros aspectos). Desde este punto de vista, el diseño conceptual y básico de procesos [48], [49] puede ser una herramienta poderosa que permita integrar la madurez de la tecnología y el nivel de desarrollo tecnológico. Como, por ejemplo, se tiene la producción de jarabe de glucosa [39] y la producción de GOS [35], que potencialmente pueden ser implementados en Colombia.

2. Proteínas

Las principales proteínas del lactosuero son la β -lactoglobulina (β -Lg), la α -lactoalbúmina (α -La) y, en menores cantidades, las inmunoglobulinas (13%), la lactoferrina (3%) y la albúmina sérica (5%) [50], [51], entre otras. Las proteínas del lactosuero conforman el 20% del contenido total de proteína en la leche bovina, son globulares y están presentes como moléculas discretas con un número variable de entrecruzamientos (disulfuro) [52]. Estas proteínas son más sensibles al calor y menos sensibles al calcio que las caseínas. Las proteínas del lactosuero desempeñan un importante papel nutritivo como una fuente rica y balanceada de aminoácidos esenciales (26% aproximadamente) [53], [54]. Las proteínas del lactosuero poseen una calidad igual a las proteínas del huevo. Los aminoácidos que se encuentran en mayor cantidad en el suero de leche son la leucina (9,5%) y la lisina (9%); estos aminoácidos parecen ejercer determinados efectos positivos biológicos y fisiológicos *in vivo*, potenciando la respuesta inmune, tanto humoral como celular [55].

La β -Lg es la principal proteína del suero de leche y representa entre el 48% y el 58% de sus proteínas [56], [57]. La β -Lg actúa como un transportador de ácidos grasos y retinol, y puede jugar un papel en la regulación enzimática y la inmunidad de los neonatos. La β -Lg, principalmente, es una fuente importante de aminoácidos [58]. La β -Lg pertenece a la familia de las lipocalinas, cuenta con 162 aminoácidos [59] y su peso molecular es de 36 700 Da, aproximadamente [57]. La β -Lg posee un punto isoeléctrico de 5,2 de acuerdo con su solubilidad, y por su mayor o menor capacidad de polimerizarse y modificar su estructura según el pH [60]. La desnaturalización de la β -Lg por calentamiento puede conducir a la formación de una cuajada sin firmeza durante la elaboración del queso [61], [62].

La α -La se produce únicamente en la glándula mamaria lactante y está presente en las leches de las principales subdivisiones de mamíferos, los euterios, los marsupiales y los monotremas [63]. La α -La representa aproximadamente el 19% de las proteínas del lactosuero, posee un peso molecular de 14.200 Da, aproximadamente, y su punto isoeléctrico es de 5,1 [56]. La α -es la proteína de suero predominante en la leche humana y sus niveles aumentan del 21% al 34% entre los días 1 y 14 de lactancia. La α -La de la leche humana y bovina puede tener un 76% de residuos de aminoácidos totalmente conservados (93 a 123). La α -La tiene una estructura globular en solución acuosa y presenta una alta afinidad por los iones metálicos como el calcio [64]. El agotamiento del calcio a un pH bajo hace que los cambios estructurales formen el llamado estado de glóbulo fundido. Esto tiene implicaciones importantes durante los procesos de purificación y para la bioactividad de la proteína [65].

3. Aplicaciones del lactosuero

El lactosuero en su estado líquido se utiliza, tradicionalmente, para la alimentación animal y como fertilizante para cultivos, entre otros usos. El lactosuero procesado se usa como aditivo en alimentos para infantes, bebidas y en productos farmacéuticos [3]. Las aplicaciones del lactosuero que actualmente son relevantes están orientadas, en su mayoría, a la utilización de sus proteínas [39]. Las proteínas del lactosuero confieren características diferentes a los productos en los cuales se emplean. Las proteínas del lactosuero son utilizadas ampliamente en una variedad de alimentos por sus propiedades gelificantes [66], emulsionantes (aceite en agua) y estabilizantes de alimentos [67]. El lactosuero es ampliamente utilizado en quesos [3] debido al contenido de sólidos que le puede aportar a este producto. En la Tabla 2 se presentan algunas aplicaciones del suero de leche líquido.

Tabla 2. Algunas aplicaciones del suero de leche y sus derivados

Producto	Observaciones	Referencia
Salchicha y jamón	Uso de WPC y WPI en concentración del 66,17% como emulsificante.	[68]
Bebida láctea (Ayran)	Utilización de lactosuero líquido como alternativa al agua potable en la producción de bebida láctea a una tasa de 25%, 50%, 75% y 100% de dilución respectivamente.	[69]
Alimento para cerdos	Mezcla de lactosuero líquido (8,4 kg/día) y cebada de trigo.	[70]
Bebida a base de limón	Suero de leche líquido hidrolizado entre el 85% y el 90%.	[71]
Jugo de lactosuero	Bebidas saborizadas a base de lactosuero con concentrado de oligosacáridos.	[72]
Queso	Mezcla de lactosuero líquido y leche con tratamiento térmico y precipitación de sus proteínas (ácido cítrico 0,1 N, temperatura: 85 °C y 90 °C).	[73], [74]
Bioetanol	Lactosuero líquido fermentado por <i>Kluyveromyces marxianus</i> y <i>Saccharomyces cerevisiae</i> recombinante	[75], [76]
Hidrolizados de proteína	Obtención de oligopéptidos, especialmente di y tripéptidos para ser utilizado en fórmulas de infantes.	[77], [78]
Ácido láctico	Fermentación en continuo del lactosuero con <i>Lactobacillus helveticus</i> . Fermentadores de membrana con <i>Lactobacillus bulgaricus</i> .	[79], [80]
Ácido cítrico	Fermentación sumergida con <i>Aspergillus spp.</i> , generando un rendimiento máximo de 11 g/L de ácido cítrico. Fermentación por lotes utilizando <i>Yarrowia lipolytica</i>	[38], [81]
Biopolímeros	Fabricación de bioimplantes, botellas, vasos, platos desechables y bolsas, entre otros productos.	[82]
Inóculos de queserías	Utilización del lactosuero líquido para la producción continua de tres sepas de <i>Lactococcus</i> .	[83]
Lactasa	Fermentación por lotes del lactosuero dulce líquido con <i>Kluyveromyces lactis</i> a una concentración de lactosa de entre 30 y 50g/L.	[84]
Ácido cítrico	Melazas con adición de lactosuero líquido fermentado por <i>Aspergillus niger</i> con un rendimiento de 32,4 g/L de ácido cítrico.	[85]
Proteína unicelular	Fermentación del lactosuero en un reactor de columna de burbujeo utilizando levadura <i>Trichosporon</i> con una producción de biomasa de 17,3 g/L.	[86]
Etanol	Fermentación del lactosuero por levaduras modificadas genéticamente <i>Saccharomyces cerevisiae</i> y fermentación por <i>Kluyveromyces</i> .	[87]-[89]
Ácido acético	Fermentación de lactosuero por medio de células bacterianas como <i>Lactococcus lactis</i> , <i>Clostridium formicoaceticum</i> , inmovilizadas en biorreactor.	[90]
Ácido propiónico	Fermentación del lactosuero con <i>Propionibacterium acidipropionici</i> inmovilizada.	[91]

Fuente: elaboración propia.

Se concluye de la Tabla 2 cómo el lactosuero es, en su mayoría, utilizado en su forma líquida. Posiblemente una causa de esta característica sea el menor grado de inversión en tecnología que se requiere para procesar el lactosuero líquido comparado con otras tecnologías que permitan separar sus compuestos (por ejemplo, tecnología de membranas). La utilización de la tecnología de separación y concentración por membranas puede representar un alto costo energético para los procesos de producción debido al reciclo que se genera en las operaciones y la implementación de otras etapas de acondicionamiento de la materia prima y el producto en proceso.

En las aplicaciones del lactosuero también se identifica su utilización como medio de cultivo para suministrar las fuentes de carbono y la energía necesaria para el desarrollo de diferentes microorganismos [92]. Este aprovechamiento del lactosuero puede ser limitado debido a que el número de microorganismos que tienen la capacidad de asimilar la lactosa es bajo. En algunos casos la lactosa debe ser hidrolizada al emplear β -galactosidasas a fin de obtener glucosa y galactosa. La hidrólisis de la lactosa amplía el uso del lactosuero en cultivos celulares como, por ejemplo, en la propagación de inóculos de quesería, en la obtención de lactasa y ácido cítrico, entre otros productos [38], [92]-[94]; pero puede disminuir la viabilidad económica cuando se quiere escalar este tipo de procesos a nivel industrial debido al requerimiento de equipos e insumos especializados (biorreactores, enzima, inóculo, etc.).

4. Producción de lactosuero en polvo, WPC y WPI

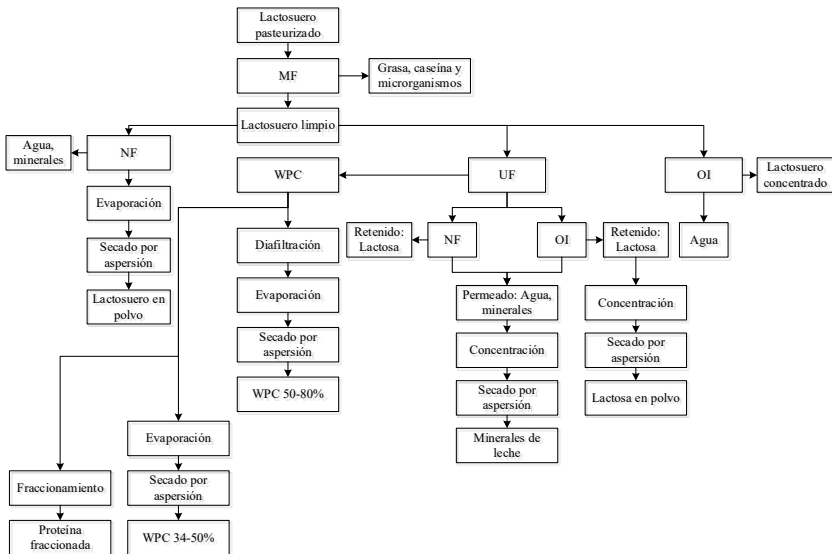
Los WPC, WPI (véase la Tabla 3) y los lactosueros en polvo se obtienen a partir de suero de leche líquido por medio de operaciones de separación, concentración y secado (véase la Figura 2). El lactosuero en polvo parcialmente desmineralizado producido en Colombia posee un máximo de proteína y lactosa del 15% y 82%, respectivamente [95]. La cantidad de proteína del lactosuero en polvo parcialmente desmineralizado podría potencialmente mejorarse si se extrae mayor cantidad de lactosa y se utilizan etapas de concentración en paralelo con un factor de concentración (alimentación/ retenido) de 9 [26]. Por otra parte, los WPC poseen un contenido de proteína y lactosa que varía entre el 34% y el 82%, y entre el 10% y el 52%, respectivamente [56]. Los WPI poseen un contenido de proteína superior al 90% [8], [9] con un menor contenido de lactosa (0,5-1,0%) [56]. Para lograr el

porcentaje de proteína deseado en el lactosuero en polvo, WPC y WPI, estos deberán ser concentrados en varias ocasiones. Por ejemplo, a fin de elaborar un producto de proteína del 35%, el lactosuero líquido se concentrará seis veces hasta un contenido total del 9% de sólidos en base seca [17]. Los WPC se utilizan como suplementos de proteína en productos lácteos (yogurt, queso) [16], así como en productos cárnicos y en bebidas, entre otros productos. Los WPI se utilizan, por lo general, como fuente de péptidos o en fórmulas de alimentos para niños y deportistas [96]. El lactosuero en polvo parcialmente desmineralizado se utiliza como aditivo en productos que requieren una fuente de sólidos lácteos económica y con bajo nivel de minerales como, por ejemplo, algunas fórmulas infantiles [3] y alimentos para animales, entre otros productos.

Tabla 3. Composición en proteínas de WPC y WPI

Componente	WPC (%)	WPI (%)
α -lactoalbúmina	12 a 16	14 a 15
β -lactoglobulina	50 a 60	44 a 69
Glicomacropéptidos (GMP)	15 a 21	2 a 20
Albúmina sérica	3 a 5	1 a 3
Inmunoglobulinas	5 a 8	2 a 3
Lactoferrina	<1	No reporta

Fuente: Tomado de [97].

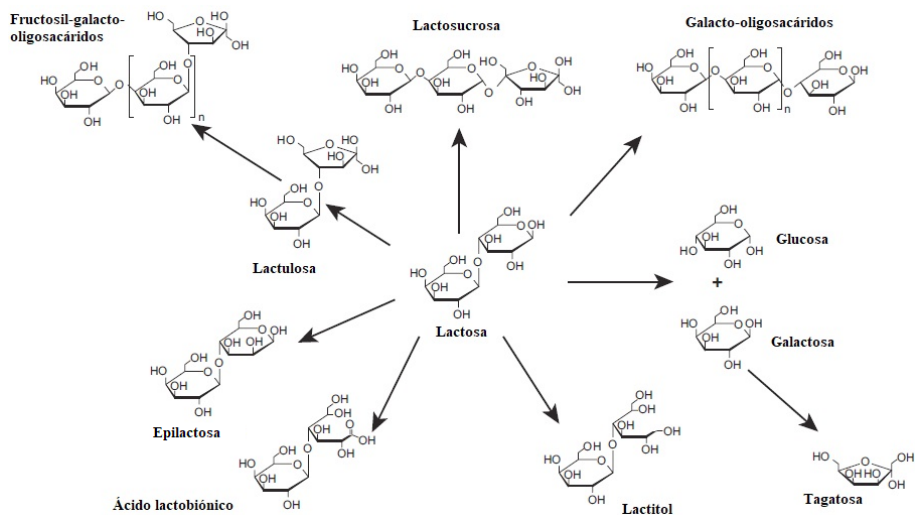


Fuente: tomado de [9].

Figura 2. Diagrama de proceso para la obtención de múltiples productos de lactosuero. MF: microfiltración; NF: nanofiltración; UF: ultrafiltración; OI: osmosis inversa.

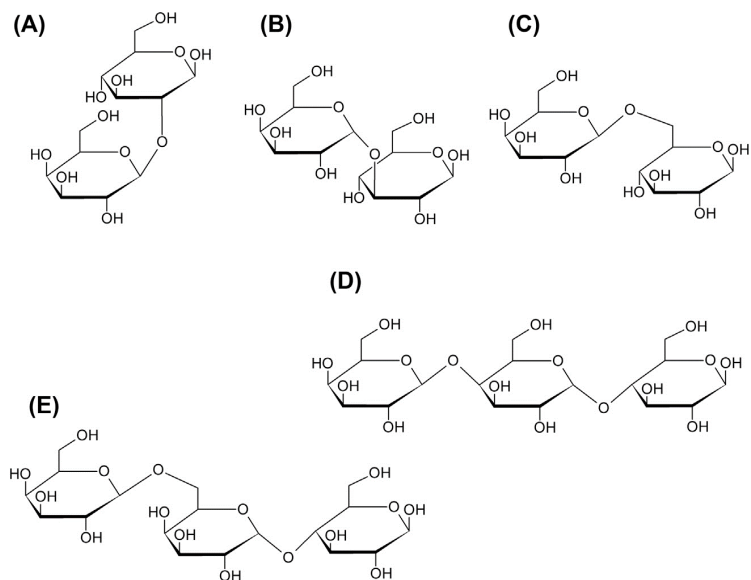
B. Producción de GOS a partir de la lactosa del lactosuero

La lactosa se puede transformar en diferentes productos (como se presenta en la Figura 3). Entre estos productos se encuentran los GOS, los cuales son compuestos prebióticos derivados de la hidrólisis de la lactosa empleando la enzima β -galactosidasa (EC 3.2.1.23) [35]. Los prebióticos son ingredientes alimentarios no digeribles que alcanzan el colon y estimulan el crecimiento o la actividad de las bacterias benéficas del sistema digestivo [98]. Los GOS están compuestos de un número variable de unidades de galactosilo (de dos a nueve) y una unidad de glucosa terminal unida por diferentes enlaces glicosídicos que varían según la enzima y las condiciones de reacción utilizadas en su síntesis, y son, en su mayoría, los enlaces $\beta(1-4)$ y $\beta(1-6)$ (véase la Figura 4) [99]. Los GOS se utilizan ampliamente en alimentos, bebidas y fórmulas infantiles [100].



Fuente: Tomado de [36].

Figura 3. Estructura química de oligosacáridos no digeribles derivados de lactosa.



Fuente: tomado de [99].

Figura 4. Estructura química de algunos galactooligosacáridos. (a) Gal(β1-2) Glu; (b) Gal(β1-3)Glu; (c): Gal(β1-6)Glu; (d): Gal(β1-4)Gal(β1-4)Glu; (e): Gal(β1-6)Gal(β1-4)Glu.

Los GOS, por lo general, se producen a partir de jarabe de lactosa concentrado a través de una reacción de transgalactosilación mediada por la enzima β -galactosidasa. El mecanismo indica que la enzima transfiere galactosa a aceptores nucleófilos que contienen un grupo hidroxilo. La transferencia al agua produce galactosa y la transferencia a otro azúcar produce di-, tri- y galactosil-sacáridos superiores, denominados colectivamente oligosacáridos [102]. El mecanismo de reacción general para las acciones de β -galactosidasa en la lactosa se muestra en la Figura 5.

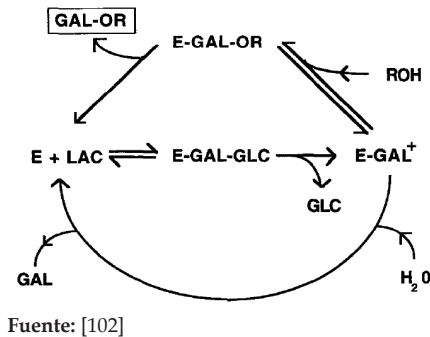


Figura 5. Mecanismo de reacción propuesto para la acción de la β -galactosidasa en lactosa: E: enzima; LAC: lactosa; GAL: galactosa; GAL⁺: estado de transición del ión carbonio; GLC: glucosa; ROH: azúcar aceptor; GAL-OR: azúcar galactosil (oligosacáridos).

La producción de GOS se puede llevar a cabo mediante dos procesos. En el primer proceso se emplean enzimas libres de células, y en el segundo células completas. El proceso con células libres se puede dividir en la utilización de enzimas solubles y en la utilización de enzimas inmovilizadas [103]. En detalle, la inmovilización de enzimas se presenta como una alternativa para llevar a cabo el proceso de hidrólisis con β -galactosidasas de forma eficiente. En la Tabla 4 se presentan algunos métodos para inmovilizar enzimas.

Convencionalmente, las reacciones enzimáticas en sus formas solubles se realizan en un baño de mezcla completa al incubar el sustrato con la correspondiente enzima. Cuando la reacción ha finalizado resulta difícil recuperar la enzima activa del medio de reacción para poder utilizarla de nuevo; por este motivo, las enzimas se eliminan, generalmente, por desnaturalización,

mediante tratamiento térmico o pH extremos. La inmovilización de enzimas es una posibilidad para disponer de catalizadores con una elevada actividad, estabilidad y apropiada especificidad. La inmovilización de enzimas es un proceso en el que se confina o localiza a la enzima en una región definida del espacio para dar lugar a formas insolubles que retienen su actividad catalítica y pueden reutilizarse repetidamente [104]; en este sentido, con el método de inmovilización la materia prima fluye por el soporte que tiene la enzima inmovilizada por un período de tiempo determinado, con lo cual se logra hidrolizar el sustrato y conservar la enzima [105].

La inmovilización de las enzimas β -galactosidasa es una alternativa para aumentar la eficiencia del proceso de hidrólisis de la lactosa. A nivel mundial, diferentes autores han inmovilizado la lactasa en diversos soportes con el objetivo de conservar y aumentar su actividad, así como generar mayor resistencia de la enzima al sustrato en diversas condiciones. Por ejemplo, Ovsejevi et al. [106] inmovilizó la β -galactosidasa de *Kluyveromyces lactis* en un soporte de tiosulfato reteniendo más del 80% de su actividad. Xuemei et al. [107] inmovilizaron la β -galactosidasa en algodón logrando el 95% de conversión de la lactosa. Ladero et al. [108] inmovilizaron la β -galactosidasa de *Kluyveromyces fragilis* en un soporte de sílica-alúmina, con lo cual lograron una actividad superior al 50%. Es importante destacar que la unión covalente puede ser el método más interesante para el sector lácteo debido a la estabilidad de los enlaces, la no presencia de la enzima en el producto y la alta actividad en el soporte.

A nivel mundial se identifica en la literatura científica un aumento en las investigaciones relacionadas con la inmovilización de las enzimas β -galactosidasas para la producción de GOS (véase la Tabla 5).

Tabla 4. Métodos para inmovilizar β -galactosidasas

Métodos	Principio	Observaciones	Referencias
Métodos de atrapamiento			
Atrapamiento en gel	Atrapamiento de la enzima en alginato de calcio reticulado contenido en columnas.	Temperatura: 32 °C	[109]
Atrapamiento en fibras	Atrapamiento de la enzima en fibra hueca anisotrópica (membranas de polisulfona, poliacrilonitrilo, cloruro de polivinilo). Membranas de celulosa y acetato-polimetilmetacrilato.	Presión: 24,6 kg/m ² Temperatura: 50 °C pH: 4,5	[110], [111]
Micro-encapsulación	Enzima recubierta de material para micro-encapsulación: PGMS (Polietilenglicol). MCT (triacilglicerol de cadena media). SFAN-20 (monolaurato de sorbitano). SFAN-80 (monooleato de polioxietilensorbitano).	Temperatura 45 °C Centrifugación: 450 <i>xg</i>	[112]
Métodos de unión a un soporte			
Adsorción física	Adsorción física de la enzima en la superficie de los portadores insolubles en agua. Inmovilización de la enzima utilizando resina de intercambio iónico como portador.	Se emplean resinas de intercambio iónico.	[113]
Enlace metálico	Método de inmovilización reversible que permite la unión de la enzima a un soporte activado.	Normalmente se utiliza titanio como activador de la superficie.	[114]
Enlace por afinidad	Método de inmovilización basado en la afinidad de las enzimas para fijarse a moléculas orgánicas formando complejos estables y reversibles.	Anticuerpos unidos a celulosa (5,0 g) activada con bromuro de cianógeno.	[115]
Enlace covalente	Inmovilización de la enzima por enlace covalente.	Soporte: sílice, silicatos, borosilicatos, aluminosilicatos, alúmina. titanio, zirconio, polipropileno.	[116], [117]
Método de entrecruzamiento			
También denominado <i>cross-linking</i> . Uso de reactivos bifuncionales que originan uniones intermoleculares con la enzima		Reactivo bifuncional: di-aldehídos, diiminoésteres y diisocianatos.	[104]

Fuente: elaboración propia.

Tabla 5. Producción de GOS con enzima inmovilizada (β -galactosidasa)

Enzima inmovilizada	Soporte	Rendimientos	Referencia
β -galactosidasa de <i>Bacillus circulans</i>	Polietersulfona y triacetato de celulosa	Producción de GOS 37%	[118]
β -galactosidasa de <i>Aspergillus oryzae</i>	Glioxil-agarosa	Producción de GOS del 30%	[119]
β -galactosidasa de <i>Aspergillus oryzae</i>	Derivados de alcohol poli-vinil magnetizado	Producción de GOS del 26%	[120]
β -galactosidasa de <i>Aspergillus oryzae</i>	Polisiloxano magnetizado recubierto con polianilina	Producción de GOS del 26,9 a 62,1%	[121]
β -galactosidasa de <i>Aspergillus oryzae</i>	Tela de algodón	Producción de GOS del 27%	[122]
β -galactosidasa de <i>Kluyveromyces lactis</i>	Membrana de celulosa	4 a 7 mg de GOS en un 60-80% de conversión de la lactosa	[123]
β -galactosidasa de <i>Kluyveromyces lactis</i>	Resina DuoliteA-568 asistida por microondas	Producción de GOS 28,3%	[124]
β -galactosidasa de <i>Bacillus circulans</i>	Membrana TFC-SR2	Producción de GOS 33%	[125]

Fuente: elaboración propia.

De la Tabla 5 se concluye que las diversas investigaciones sobre la inmovilización de las enzimas β -galactosidasa para la producción de GOS están orientadas a estudiar las diferentes técnicas de inmovilización y los tipos de soporte que se pueden emplear para esta clase de enzimas [126]. Posiblemente, uno de los factores que impulsa este tipo de investigaciones es el interés por aumentar la producción de GOS utilizando una menor cantidad de recursos. Las ventajas que tiene el retener la enzima y su actividad en un soporte (prolongar la actividad de la enzima por un mayor período de tiempo y disminuir la cantidad utilizada en el proceso de hidrólisis) [127] puede llevar a disminuir costos y tiempos de producción en el proceso de hidrólisis de la lactosa, si se compara con el método convencional que utiliza enzimas solubles.

La tecnología de inmovilización con β -galactosidasas representa una oportunidad de desarrollo para el sector lácteo no solo en el campo de la producción de GOS, sino en la hidrólisis de la leche [109]. En este sentido,

un efluente de 475 000 kg que contenga el 4,8% de lactosa aproximadamente [17], puede generar 6840 kg de GOS, aproximadamente, con un rendimiento de entre el 30% y el 34% [35].

IV. CONCLUSIONES

La revisión de la documentación científica permitió identificar información relevante sobre los actuales usos que se le están dando al lactosuero. El aprovechamiento industrial del lactosuero se orienta a la recuperación de sus proteínas y en mínima proporción recupera la lactosa. En este sentido, se identifica que la producción de GOS es una alternativa de aprovechamiento para la lactosa. La producción de GOS puede ser implementado en conjunto con los procesos del sector lácteo colombiano que transforman el lactosuero líquido. En el diseño de este tipo de procesos es necesario evaluar la tecnología utilizada en las investigaciones a nivel mundial y la tecnología del sector lácteo en Colombia para establecer la mejor configuración tecnológica a implementar. La simulación de procesos es una herramienta útil para evaluar tecno-económica y ambientalmente el aprovechamiento del lactosuero con un proceso adjunto (GOS) para su implementación a nivel industrial.

V. Agradecimientos

Los autores agradecen a la Universidad de Caldas por apoyar el desarrollo de este trabajo.

REFERENCIAS

- [1] OCDE-FAO, "Perspectivas Agrícolas 2015-2024," Organización para la Cooperación y Desarrollo Económico (OCDE). Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), Roma, 2015.
- [2] OCDE-FAO, "Perspectivas Agrícolas 2005-2014," Organización para la Cooperación y Desarrollo Económico (OCDE). Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), Roma, 2005.
- [3] R. Parra, "Lactosuero: importancia en la industria de alimentos," Revista Facultad Nacional de Agronomía, vol. 62, pp. 4967-4982, 2009. Doi: <https://doi.org/10.15446/rfnam>
- [4] P. Jelen, "Industrial whey processing technology: An overview," Journal of Agricultural and Food Chemistry, vol. 27, pp. 658-661, 1979. Doi: <https://doi.org/10.1021/jf00213a011>

- doi.org/10.1021/jf60224a037 [5] USDA. (2018, 20 de marzo). Cheese selected countries-release. Available: <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/app/index.html#/app/downloads>
- [6] X. Liu, C. Yoon, Y. Shang, and A. Yousef, "Continuous nisin production in laboratory media and whey permeate by immobilized *Lactococcus lactis*," *Process Biochemistry*, vol. 40, pp. 13-24, 2005. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2003.11.032>
- [7] DANE. (2018, 26 de marzo). Encuesta anual manufacturera (EAM). Available: <https://www.dane.gov.co/index.php/estadisticas-por-tema/industria/encuesta-anual-manufacturera-enam>
- [8] R. Campbell and M. Drake, "Cold enzymatic bleaching of fluid whey," *Journal of Dairy Science*, vol. 96, pp. 7404-7413, 2013. Doi: <https://doi.org/10.3168/jds.2013-6722>
- [9] S. Anand, S. Khanal, and C. Marella, "Whey and Whey Products," in *Milk and Dairy Products in Human Nutrition: Production, Composition and Health*, Y. Park and G. Haenlein, Eds., ed Londres: John Wiley & Sons, 2013, pp. 477-497.
- [10] AB Newswire. (2018, 06 de marzo). Whey protein ingredients market global industry analysis, key vendors, opportunity and forecast 2018 to 2023. Available: http://www.abnewswire.com/pressreleases/whey-protein-ingredientsmarket-global-industry-analysis-key-vendors-opportunity-and-forecast-2018-to-2023_180863.html
- [11] J. Sierra. (2014, 10 de julio). Al día, Colanta pulverizará 400.000 litros de leche. Available: http://www.elcolombiano.com/al_dia_colanta_pulverizar_400000_litros_de_leche-HFEC_316313
- [12] CECODES, "Cambiando el rumbo 2009. Casos de sostenibilidad en Colombia," Consejo Empresarial Colombiano para el Desarrollo Sostenible (CECODES), Bogotá, 2009.
- [13] Resolución N° 715, Ministerio de la Protección Social de Colombia, 2009.
- [14] L. Santos, C. Gonçalves, P. Ishii, and H. Suguimoto, "Deproteinization: an integrated-solution approach to increase efficiency in β -galactosidase production using cheese whey powder (CWP) solution," *Revista Ambiente & Água*, vol. 12, pp. 643-651, 2017. Doi: <http://dx.doi.org/10.4136/ambi-agua.1936>
- [15] E. Valencia and M. Ramírez, "La industria de la leche y la contaminación del agua," Instituto Tecnológico de Puebla, México, 2009.
- [16] J. Bacenetti, L. Bava, A. Schievano, and M. Zucali, "Whey protein concentrate (WPC) production: Environmental impact assessment," *Journal of Food Engineering*, vol. 224, pp. 139-147, 2018. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.12.018>

- [17] Tetra Pak, Dairy Processing Handbook. Lund, Suecia: Tetra Pak Processing Systems AB S-221 86, 1995.
- [18] M. Gänzle and H. Gottfried, "Lactose: crystallization, hydrolysis and value-added derivatives," *International Dairy Journal*, vol. 18, pp. 685-694, 2008. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2008.03.003>
- [19] British Nutrition Foundation. (2018, 12 de marzo). Lactose intolerance. Available: <https://www.nutrition.org.uk/nutritionscience/allergy/lactose-intolerance.html>
- [20] M. El-Halwagi, *Process Integration* vol. 7. Londres: Academic Press, 2006.
- [21] M. González, "The biotechnological utilization of cheese whey: A review," *Bioresource Technology*, vol. 57, pp. 111, 1996. Doi: [https://doi.org/10.1016/0960-8524\(96\)00036-3](https://doi.org/10.1016/0960-8524(96)00036-3)
- [22] P. Jelen, "Whey Processing," in *Encyclopedia of Dairy Sciences*, J. Fuquay, P. Fox, and P. McSweeney, Eds., 2 ed Reino Unido: Elsevier, 2011, pp. 731-743.
- [23] P. Panesar, J. Kennedy, D. Gandhi, and K. Bunko, "Bioutilisation of whey for lactic acid production," *Food Chemistry*, vol. 105, pp. 1-14, 2007. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.03.035>
- [24] Neelima, R. Sharma, Y. Rajput, and B. Mann, "Chemical and functional properties of glycomacropeptide (GMP) and its role in the detection of cheese whey adulteration in milk: A review," *Dairy Science & Technology*, vol. 93, pp. 2143, 2013. Doi: <https://doi.org/10.1007/s13594-012-0095-0>
- [25] M. El-Salam, "Separation of casein glycomacropeptide from whey. Methods of potential industrial application," *International Journal of Dairy Science*, vol. 1, pp. 93-99, 2006. Doi: <https://doi.org/10.3923/ijds.2006.93.99>
- [26] J. Gómez, "Evaluación del proceso de obtención de jarabe edulcorante a partir de lactosuero utilizando simulación de procesos," Trabajo de grado de Maestría, Facultad de Ingeniería, Universidad de Caldas, Manizales, Colombia, 2016.
- [27] A. Call, "Utilization of lactose," *Journal of Dairy Science*, vol. 41, pp. 332-334, 1958. Doi: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(58\)90918-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(58)90918-4)
- [28] R. Almécija, "Obtención de lactoferrina bovina mediante ultrafiltración del lactosuero," Tesis de Doctorado, Departamento de Ingeniería Química, Universidad de Granada, España, 2007.
- [29] G. Schaafsma, "Lactose and lactose derivatives as bioactive ingredients in human nutrition," *International Dairy Journal*, vol. 18, pp. 458-465, 2008. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2007.11.013>
- [30] A. Illanes, M. Zuñiga, and A. Ruiz, "Inmovilización de lactasa microbiana" *Archivos de biología y medicina experimentales*, vol. 23, pp. 159-164, 1990.

- [31] Y. Roos, "Solid and Liquid States of Lactose," in *Advanced Dairy Chemistry*. vol. 3, P. McSweeney and P. Fox, Eds., ed Luxemburgo: Springer Science+Business Media, 2009, pp. 17-33.
- [32] Y. Livney, D. Donhowe, and R. Hartel, "Influence of temperature on crystallization of lactose in ice-cream," *International Journal of Food Science & Technology*, vol. 30, pp. 311-320, 1995. Doi: <https://doi.org/10.1111/j.13652621.1995.tb01380.x>
- [33] *Drug Development & Delivery*. (2018, 25 de julio). Lactosa en aplicaciones farmacéuticas. Available: <http://drugdev.com/lactose-in-pharmaceutical-applications/>
- [34] A. Montilla, M. Del Castillo, M. Sanz, and A. Olano, "Egg shell as catalyst of lactose isomerisation to lactulose," *Food Chemistry*, vol. 90, pp. 883-890, 2004. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.05.042>
- [35] D. Torres, M. Gonçalves, J. Teixeira, and L. Rodrigues, "Galacto-oligosaccharides-production, properties, applications, and significance as prebiotics," *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, vol. 9, pp. 438454, 2010. Doi: <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2010.00119.x>
- [36] C. Vera and A. Illanes, "Lactose-Derived Nondigestible Oligosaccharides and Other High Added-Value Products," in *Lactose-Derived Prebiotics. A Process Perspective*, A. Illanes, C. Guerrero, C. Vera, L. Wilson, R. Conejeros, and F. Scott, Eds., ed Estados Unidos: Elsevier, 2016, pp. 87-110.
- [37] C. Guerrero and A. Illanes, "Enzymatic Production of Other Lactose-Derived Prebiotic Candidates," in *LactoseDerived Prebiotics. A Process Perspective*, A. Illanes, C. Guerrero, C. Vera, L. Wilson, R. Conejeros, and F. Scott, Eds., ed Estados Unidos: Elsevier, 2016, pp. 229-259.
- [38] Ó. Sánchez, M. Ortiz, and L. Betancourt, "Obtención de ácido cítrico a partir de suero de leche por fermentación con *Aspergillus* spp," *Revista Colombiana de Biotecnología*, vol. 6, pp. 43-54, 2004. Doi: <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote>
- [39] J. Gómez, Ó. Sánchez, and X. Benavides, "Análisis de patentes como aproximación al diseño conceptual del proceso de obtención de jarabe de lactosuero," *Revista de Investigación Desarrollo e Innovación*, vol. 7, pp. 331-353, 2017. Doi: <https://doi.org/10.19053/20278306.v7.n2.2017.5453>
- [40] B. Rodriguez, L. Fernandez, A. Ballesteros, and F. Plou, "Galactooligosaccharides formation during enzymatic hydrolysis of lactose: towards a prebiotic-enriched milk," *Food Chemistry*, vol. 145, pp. 388-394, 2014. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.08.06>
- [41] C. Tang and X. Li, "Microencapsulation properties of soy protein isolate: Influence of preheating and/or blending with lactose," *Journal of Food En-*

- gineering, vol. 117, pp. 281-290, 2013. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.03.018>
- [42] A. Temiz, R. Yilmaz, N. Saglam, and C. Ülger, "High fructose syrup production from whey lactose using microbial β -galactosidase and glucose isomerase," *Milchwissenschaft*, vol. 3, pp. 121-124, 2003.
- [43] B. Cardoso, S. Silvério, L. Abrunhosa, J. Teixeira, and L. Rodrigues, " β -galactosidase from *Aspergillus laticoffeatus*: A promising biocatalyst for the synthesis of novel prebiotics," *International Journal of Food Microbiology*, vol. 257, pp. 67-74, 2017. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.06.013>
- [44] M. Demir, I. Turhan, A. Kucukcetin, and Z. AlpKent, "Oil production by *Mortierella isabellina* from whey treated with lactase," *Bioresource Technology*, vol. 128, pp. 365-369, 2013. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.10.078>
- [45] T. Elizabeth, E. Gerbino, A. Illanes, and A. Gómez, "Galacto-oligosaccharides as protective molecules in the preservation of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*," *Cryobiology*, vol. 62, pp. 123-129, 2011. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2011.01.013>
- [46] A. Kotoupas, F. Rigas, and M. Chalaris, "Computer-aided process design, economic evaluation and environmental impact assessment for treatment of cheese whey wastewater," *Desalination*, vol. 213, pp. 238-252, 2007. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.desal.2006.03.611> [47] E. Conrow, "Estimating technology readiness level coefficients," *Journal of Spacecraft and Rockets*, vol. 48, pp. 146-152, 2011. Doi: <https://doi.org/10.2514/1.46753> [48] A. Moran, *An Applied Guide to Process and Plant Design*. Estados Unidos: Elsevier, 2015. [49] J. Siirola, "Industrial Applications of Chemical Process Synthesis," in *Advances in Chemical Engineering*. vol. 23, J. L. Anderson, Ed., ed Cambridge, Estados Unidos: Academic Press, Inc, 1996, pp. 1-62.
- [50] A. Andrews, "The composition, structure and origin of proteose-peptone component 8F of bovine milk," *European Journal of Biochemistry*, vol. 90, pp. 67-71, 1978. Doi: <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1978.tb12575.x>
- [51] A. Andrews, "The formation and structure of some proteose-peptone components," *Journal of Dairy Research*, vol. 46, pp. 215-218, 1979. Doi: <https://doi.org/10.1017/S0022029900017064>
- [52] K. Pásztor, "Protein changes of various types of milk as affected by high hydrostatic pressure," Tesis de Doctorado, Department of Refrigeration and Livestock Products Technology, Corvinus University, Budapest, 2008.
- [53] E. Ha and M. Zemel, "Functional properties of whey, whey components, and essential amino acids: Mechanisms underlying health benefits for active

- people (review)," *The Journal of Nutritional Biochemistry*, vol. 14, pp. 251-258, 2003. Doi: [https://doi.org/10.1016/S0955-2863\(03\)00030-5](https://doi.org/10.1016/S0955-2863(03)00030-5)
- [54] F. Ibrahim, E. Babiker, N. Yousif, and A. El Tinay, "Effect of fermentation on biochemical and sensory characteristics of sorghum flour supplemented with whey protein," *Food Chemistry*, vol. 92, pp. 285-292, 2005. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.07.024>
- [55] L. Baró, J. Jiménez, A. Martínez, and J. Bouza, "Péptidos y proteínas de la leche con propiedades funcionales," *Ars Pharmaceutica*, vol. 42, 2001.
- [56] U.S. Dairy Export Council, Reference Manual for U.S. Whey and Lactose Products. Estados Unidos: U.S. Dairy Export Council, 2008.
- [57] P. Kelly, B. Woonton, and G. Smithers, "Improving The Sensory Quality, Shelf-Life and Functionality of Milk," in *Functional and Speciality Beverage Technology*, P. Paquin, Ed., ed Reino Unido: Woodhead Publishing, 2009, pp. 170231.
- [58] S. Kukovics and T. Németh, "Milk Major and Minor Proteins, Polymorphisms and Non-Protein Nitrogen," in *Milk and Dairy Products in Human Nutrition: Production, Composition and Health*, Y. Park and G. Haenlein, Eds., ed Reino Unido: John Wiley & Sons, 2013, pp. 80-110.
- [59] Sigma-Aldrich. (2018, 21 de julio). β -lactoglobulin a from bovine milk. Available: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/15137?lang=en®ion=CO>
- [60] P. Fox, "Milk: An Overview," in *Milk Proteins*, A. Thompson, M. Boland, and H. Singh, Eds., ed Estados Unidos: Academic Press, 2008, pp. 1-54.
- [61] P. Morrissey, "The rennet hysteresis of heated milk," *Journal of Dairy Research*, vol. 36, pp. 333-341, 1969. Doi: <https://doi.org/10.1017/S0022029900012838>
- [62] Z. Ustunol and R. Brown, "Effects of heat treatment and posttreatment holding time on rennet clotting of milk," *Journal of Dairy Science*, vol. 68, pp. 526-530, 1985. Doi: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(85\)80854-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(85)80854-7)
- [63] P. Fox and P. McSweeney, *Advance Dairy Chemistry* vol. 1. Luxemburgo: Springer Science+Business Media, 2003.
- [64] E. Permyakov and L. Berliner, " α -Lactalbumin: Structure and function," *FEBS Letters*, vol. 473, pp. 269-274, 2000. Doi: [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(00\)01546-5](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(00)01546-5)
- [65] D. Chatterton, G. Smithers, P. Roupas, and A. Brodkorb, "Bioactivity of β -lactoglobulin and α -lactalbumin: Technological implications for processing," *International Dairy Journal*, vol. 16, pp. 1229-1240, 2006. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2006.06.001>

- [66] S. Gunasekaran, S. Ko, and L. Xiao, "Use of whey proteins for encapsulation and controlled delivery applications," *Journal of Food Engineering*, vol. 83, pp. 31-40, 2007. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.11.001>
- [67] M. Akhtar and E. Dickinson, "Whey protein-maltodextrin conjugates as emulsifying agents: an alternative to gum arabic," *Food Hydrocolloids*, vol. 21, pp. 607-616, 2007. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2005.07.014>
- [68] G. Prabhu, "U.S. whey proteins in processed meats," *Estados Unidos*, 2006.
- [69] N. Türkmen, C. Akal, and C. Koçak, "Use of whey in Ayran production," *Current Opinion in Biotechnology*, vol. 24, p. S138, 2013. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2013.05.444>
- [70] O. Revisar si se debe eliminar Franchi, "Suero de leche. Propiedades y usos," Valparaíso, Chile, 2010.
- [71] S. Singh, P. Khemariya, and A. Rai, "Process optimization for the manufacture of lemon based beverage from hydrolyzed whey," *Journal of Food Science and Technology*, vol. 51, pp. 691-699, 2014. Doi: <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0563-1>
- [72] EB Performance. (2015, 19 de julio). Protein drink. Available: <http://www.ebperformance.com/>
- [73] W. Artavia, "Elaboración de un queso ricotta a partir de suero lácteo," Trabajo de pregrado, Escuela de Agricultura de la Región Tropical Húmeda, Guácimo, Costa Rica, 1999.
- [74] J. Monsalve and D. Gonzáles, "Elaboración de un queso tipo ricotta a partir de suero lácteo y leche fluida," *Revista Científica Universidad de Zulia*, vol. 15, pp. 543-550, 2005.
- [75] Y. Joshi, M. Poletto, and B. Senatore, "Bioethanol from cheese whey fermentation using *Kluyveromyces marxianus* biofilm," *Journal of Biotechnology*, vol. 150, pp. 178-179, 2010. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2010.08.466>
- [76] P. Guimarães, J. Teixeira, and L. Domingues, "Fermentation of lactose to bioethanol by yeasts as part of integrated solutions for the valorisation of cheese whey," *Biotechnology Advances*, vol. 28, pp. 375-384, 2010. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2010.02.002>
- [77] R. Sinha, C. Radha, J. Prakash, and P. Kaul, "Whey protein hydrolysate: functional properties, nutritional quality and utilization in beverage formulation," *Food Chemistry*, vol. 101, pp. 1484-1491, 2007. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.04.021>
- [78] M. Santana, E. Rolim, R. Linhares, W. De Oliveira, V. Días, and C. Pinto, "Obtaining oligopeptides from whey: Use of subtilisin and pancreatin," *American Journal of Food Technology*, vol. 3, pp. 315-324, 2008. Doi: <http://dx.doi.org/10.3923/ajft.2008.315.324>

- [79] S. Tejayadi and M. Cheryan, "Lactic acid from cheese whey permeate. Productivity and economics of a continuous membrane bioreactor," *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 43, pp. 242-248, 1995. Doi: <https://doi.org/10.1007/BF00172819>
- [80] D. Roy, J. Goulet, and A. Duy, "Continuous production of lactic acid from whey permeate by free and calcium alginate entrapped *Lactobacillus helveticus*," *Journal of Dairy Science*, vol. 70, pp. 506-513, 1987. Doi: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(87\)80035-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(87)80035-8)
- [81] M. Moresi, "Effect of glucose concentration of citric acid production by *Yarrowia lipolytica*," *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, vol. 60, pp. 387-395, 1994. Doi: <https://doi.org/10.1002/jctb.280600409>
- [82] UN. (2015, 05 de julio). Botellas, vasos desechables o máquinas de afeitar, a partir de lactosuero. Available: <http://agenciadenoticias.unal.edu.co/detalle/article/botellas-vasos-desechables-o-maquinas-de-afeitar-a-partir-delactosuero.html>
- [83] L. Lamboley, C. Lacroix, C. Champagne, and J. Vuillemand, "Continuous mixed strain mesophilic lactic starter production in supplemented whey permeate medium using immobilized cell technology," *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 56, pp. 502-516, 1997. Doi: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0290\(19971205\)56:5<502::AIDBIT4>3.0.CO;2-M](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0290(19971205)56:5<502::AIDBIT4>3.0.CO;2-M)
- [84] M. González, "β-galactosidase production by *Kluyveromyces lactis* on milk whey: batch versus fed-batch cultures," *Process Biochemistry*, vol. 29, pp. 565-568, 1994. Doi: [https://doi.org/10.1016/0032-9592\(94\)80019-7](https://doi.org/10.1016/0032-9592(94)80019-7)
- [85] G. Mehyar, K. Delaimy, and S. Ibrahim, "Citric acid production by *Aspergillus niger* using date-based medium fortified with whey and additives," *Food Biotechnology*, vol. 19, pp. 137-144, 2005. Doi: <https://doi.org/10.1081/FBT200063458>
- [86] M. Hosseini, S. Shojaosadati, and J. Towfighi, "Application of a bubble-column reactor for the production of a single-cell protein from cheese whey," *Industrial & Engineering Chemistry Research*, vol. 42, pp. 764-766, 2003. Doi: <https://doi.org/10.1021/ie020254o>
- [87] L. Domingues, N. Lima, and J. Teixeira, "Alcohol production from cheese whey permeate using genetically modified flocculent yeast cells," *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 72, pp. 507-514, 2001. Doi: [https://doi.org/10.1002/1097-0290\(20010305\)72:5<507::AID-BIT1014>3.0.CO;2-U](https://doi.org/10.1002/1097-0290(20010305)72:5<507::AID-BIT1014>3.0.CO;2-U)
- [88] S. Grba, V. Stehlik, D. Stanzer, N. Vahcic, and A. Skrlin, "Selection of yeast strain *Kluyveromyces marxianus* for alcohol and biomass production on whey," *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly*, vol. 16, pp. 13-16, 2002.

- [89] P. Castillo, J. Giraldo, and Ó. Sánchez, "Obtención de alcohol etílico y emulsificante a partir de suero de leche por métodos biotecnológicos," presented at the VIII Congreso Latinoamericano de Microbiología e Higiene de los Alimentos, (COLMIC 2005), Bogotá, 2005.
- [90] Y. Huang and S. Yang, "Acetate production from whey lactose using co-immobilized cells of homolactic and homoacetic bacteria in a fibrous-bed bioreactor," *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 60, pp. 498-507, 1998. Doi: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0290\(19981120\)60:4<498::AID-BIT12>3.0.CO;2-E](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0290(19981120)60:4<498::AID-BIT12>3.0.CO;2-E)
- [91] S. Yang, H. Zhu, and Y. Li, "Continuous propionate production from whey permeate using a novel fibrous bed bioreactor," *biotechnology and Bioengineering*, vol. 43, pp. 1124-1130, 1994. Doi: <https://doi.org/10.1002/bit.260431117>
- [92] M. García, R. Quintero, and A. López, *Biotecnología Alimentaria*. México: Limusa Noriega, 2000.
- [93] C. Galvão de Souza, W. MacDonald, and M. de Morais, "Utilisation of cheese whey as an alternative growth medium for recombinant strains of *Kluyveromyces marxianus*," *Biotechnology Letters*, vol. 23, pp. 1413-1416, 2001. Doi: <https://doi.org/10.1023/A:1011617914709>
- [94] C. Daly, G. Fitzgerald, L. O'Connor, and R. Davis, "Technological and health benefits of dairy starter cultures," *Food Technology*, vol. 8, pp. 195-205, 1998. Doi: [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(98\)00042-9](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(98)00042-9)
- [95] Resolución N° 1031 Ministerio de la Protección Social de Colombia, 2010.
- [96] M. Lucena, S. Alvarez, C. Menéndez, F. Riera, and R. Alvarez, "Beta-lactoglobulin removal from whey protein concentrates production of milk derivatives as a base for infant formulas," *Separation and Purification Technology*, vol. 52, pp. 310-316, 2006. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2006.05.006>
- [97] K. Burrington, "Whey protein heat stability," Estados Unidos, 2012.
- [98] D. Obed, "Synthesis of β -galactooligosaccharides from lactose using microbial β -galactosidases," *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, vol. 9, pp. 471-482, 2010. Doi: <https://doi.org/10.1111/j.15414337.2010.00121.x>
- [99] A. Illanes, C. Vera, and L. Wilson, "Enzymatic Production of Galacto-Oligosaccharides," in *Lactose-Derived Prebiotics. A Process Perspective*, A. Illanes, C. Guerrero, C. Vera, L. Wilson, R. Conejeros, and F. Scott, Eds., ed Estados Unidos: Elsevier, 2016, pp. 111-189.
- [100] C. Fischer and T. Kleinschmidt, "Synthesis of galactooligosaccharides in milk and whey-A Review," *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, vol. 17, pp. 678-697, 2018. Doi: <https://doi.org/10.1111/15414337.12344>

- [101] P. Lamsal, "Production, health aspects and potential food uses of dairy prebiotic galactooligosaccharides," *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 92, pp. 2020-2028, 2012. Doi: <https://doi.org/10.1002/jsfa.5712>
- [102] R. Mahoney, "Galactosyl-oligosaccharide formation during lactose hydrolysis: A review," *Food Chemistry*, vol. 63, pp. 147-154, 1997. Doi: [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00020-X](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00020-X)
- [103] A. Park and D. Oh, "Galacto-oligosaccharide production using microbial β -galactosidase: current state and perspectives," *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 85, pp. 1279-1286, 2010. Doi: <https://doi.org/10.1007/s00253-009-2356-2>
- [104] M. Arroyo, "Inmovilización de enzimas fundamentos, métodos y aplicaciones," *Ars Pharmaceutica*, vol. 39, pp. 23-39, 1998.
- [105] H. Nguyen and M. Kim, "An overview of techniques in enzyme immobilization," *Applied Science and Convergence Technology*, vol. 26, pp. 157-163, 2017. Doi: <http://dx.doi.org/10.5757/ASCT.2017.26.6.157>
- [106] K. Ovsejevi, V. Grazú, and F. Batista-Viera, " β -galactosidase from *Kluyveromyces lactis* immobilized on to thiolsulfinate/ thiol-sulfonate supports for lactose hydrolysis in milk and dairy by-products," *Biotechnology Techniques*, vol. 12, pp. 143-148, 1998.
- [107] L. Xuemei, Z. Quinn, Zhou, and C. Xiao Dong, "Pilot-scale lactose hydrolysis using β -galactosidase immobilized on cotton fabric," *Chemical Engineering and Processing*, vol. 46, pp. 497-500, 2007. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.cep.2006.02.011>
- [108] M. Ladero, A. Santos, and F. Garcia, "Kinetic modeling of lactose hydrolysis with an immobilized β -galactosidase from *Kluyveromyces fragilis*," *Enzyme and Microbial Technology*, vol. 27, pp. 583-592, 2000. Doi: [https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(00\)00244-1](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(00)00244-1)
- [109] T. Haider and Q. Husain, "Hydrolysis of milk/whey lactose by β -galactosidase: A comparative study of stirred batch process and packed bed reactor prepared with calcium alginate entrapped enzyme," *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, vol. 48, pp. 576-580, 2009. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.cep.2008.02.007>
- [110] L. Huffman and J. Harper, "Beta-galactosidase retention by hollow fiber membranes," *Journal of Dairy Science*, vol. 65, pp. 887-898, 1982. Doi: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(82\)82287-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(82)82287-X)
- [111] A. Ansari, R. Satar, Z. Kashif, and A. Ahmad, "Immobilization of *Aspergillus oryzae* β -galactosidase on cellulose acetate-polymethylmethacrylate membrane and its application in hydrolysis of lactose from milk and whey,"

- International Scholarly Research Notices, vol. 2014, pp. 1-6, 2014. Doi: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/163987> [112] H. Kwak, M. Lhm, and J. Ahn, "Microencapsulation of β -galactosidase with fatty acid esters," *Journal of Dairy Science*, vol. 84, pp. 1576-1582, 2001. Doi: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)74590-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)74590-0) [113] C. Zanella, J. Fischer, L. Soares, L. Cardoso, and J. Ribeiro, "Immobilization of *Aspergillus oryzae* β -galactosidase in ion exchange resins by combined ionic-binding method and cross-linking," *Biochemical Engineering Journal*, vol. 52, pp. 137-143, 2010. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.bej.2010.07.013> [114] S. Regenhardt, "Estudio de la inmovilización de la β -galactosidasa para la reutilización de la lactosa del suero de quesería," Tesis Doctoral, Instituto de Desarrollo Tecnológico para la Industria Química (UNL-CONICET), Universidad del Litoral, Santa Fé, Argentina, 2010.
- [115] T. Haider and Q. Husain, "Immobilization of galactosidase from *Aspergillus oryzae* via immunoaffinity support," *Biochemical Engineering Journal*, vol. 43, pp. 307-314, 2009. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.bej.2008.10.012>
- [116] P. Zucca and E. Sanjust, "Inorganic materials as supports for covalent enzyme immobilization: methods and mechanisms," *Journal Molecules*, vol. 19, pp. 14139-14194, 2014. Doi: <https://doi.org/10.3390/molecules190914139>
- [117] N. Vasileva, Y. Ivanov, S. Damyanova, and I. Kostova, "Hydrolysis of whey lactose by immobilized β galactosidase in a bioreactor with a spirally wound membrane," *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 82, pp. 339-346, 2016. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.11.025>
- [118] D. Sen, A. Sarkar, A. Gosling, S. Gras, G. Stevens, S. Kentish, et al., "Feasibility study of enzyme immobilization on polymeric membrane: A case study with enzymatically galacto-oligosaccharides production from lactose," *Journal of Membrane Science*, vol. 378, pp. 471-478, 2011. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2011.05.032>
- [119] L. Huerta, C. Vera, C. Guerrero, L. Wilson, and A. Illanes, "Synthesis of galacto-oligosaccharides at very high lactose concentrations with immobilized β -galactosidases from *Aspergillus oryzae*," *Process Biochemistry*, vol. 46, pp. 245-252, 2011. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2010.08.018>
- [120] D. Neri, V. Balcão, R. Costa, I. Rocha, E. Ferreira, D. Torres, et al., "Galacto-oligosaccharides production during lactose hydrolysis by free *Aspergillus oryzae* β -galactosidase and immobilized on magnetic polysiloxane-polyvinyl alcohol," *Food Chemistry*, vol. 115, pp. 92-99, 2009. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.11.068>
- [121] D. Neri, V. Balcão, F. Dourado, J. Oliveira, L. Carvalho, and J. Teixeira, "Galactooligosaccharides production by β -galactosidase immobilized onto

- magnetic polysiloxane-polyaniline particles," *Reactive and Functional Polymers*, vol. 69, pp. 246-251, 2009. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2009.01.002>
- [122] N. Albayrak and S. Yang, "Production of galacto-oligosaccharides from lactose by *Aspergillus oryzae* β galactosidase immobilized on cotton cloth," *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 77, pp. 8-19, 2001. Doi: <https://doi.org/10.1002/bit.1195>
- [123] S. Chockchaisawasdee, I. Athanasopoulos Vasileios, K. Niranjana, and A. Rastall Robert, "Synthesis of galactooligosaccharide from lactose using β -galactosidase from *Kluyveromyces lactis*: studies on batch and continuous UF membrane-fitted bioreactors," *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 89, pp. 434-443, 2004. Doi: <https://doi.org/10.1002/bit.20357>
- [124] T. Maugard, D. Gaunt, M. Legoy, and T. Besson, "Microwave-assisted synthesis of galacto-oligosaccharides from lactose with immobilized β -galactosidase from *Kluyveromyces lactis*," *Biotechnology Letters*, vol. 25, pp. 623-629, 2003. Doi: <https://doi.org/10.1023/A:1023060030558>
- [125] R. Das, D. Sen, A. Sarkar, S. Bhattacharyya, and C. Bhattacharjee, "A Comparative study on the production of galacto-oligosaccharide from whey permeate in recycle membrane reactor and in enzymatic batch reactor," *Industrial & Engineering Chemistry Research*, vol. 50, pp. 806-816, 2011. Doi: <https://doi.org/10.1021/ie1016333>
- [126] S. Datta, L. Christena, and Y. Rajaram, "Enzyme immobilization: An overview on techniques and support materials," *3 Biotech*, vol. 3, pp. 1-9, 2013. Doi: <https://doi.org/10.1007/s13205-012-0071-7>
- [127] J. Szczodrak, "Hydrolysis of lactose in whey permeate by immobilized β -galactosidase from *Kluyveromyces fragilis*," *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, vol. 10, pp. 631-637, 2000. Doi: [https://doi.org/10.1016/S13811177\(00\)00187-9](https://doi.org/10.1016/S13811177(00)00187-9)