Artigo

AVALIAÇÃO DA REDUÇÃO NA POLUIÇÃO DOS LATICÍNIOS, A PARTIR DA FERMENTAÇÃO DO SORO DE LEITE EM ETANOL PELA LEVEDURA *KLUYVEROMYCES MARXIANUS* 229

Evaluation of the reduction in pollution of dairy products from whey fermentation in ethanol by yeast *Kluyveromyces marxianus* 229

Cleidiane Samara MURARI[1*]
Débora Cristina MORAES[2]
Gisele Ferreira BUENO[3]
Vanildo Luiz DEL BIANCHI[4]

RESUMO

O soro de leite é um importante subproduto da indústria de laticínios, devido ao seu volume gerado, e pela sua carga poluidora, que quando lançado em corpos receptores d' água sem tratamento prévio, pode gerar sérios danos ao meio ambiente, com uma Demanda Química de Oxigênio (DQO) que fica em torno de 60.000 mg/L. A bioconversão da lactose do soro de leite em etanol por micro-organismos capazes de metabolizar tal dissacarídeo, representa uma alternativa promissora para o tratamento e disposição do mesmo, pois além de se obter uma redução expressiva da DQO, é possível gerar um bioproduto de importância comercial, como no caso etanol. Neste contexto, o objetivo do trabalho foi avaliar a produção de etanol a partir da fermentação do soro de leite *in natura* pela levedura *Kluyveromyces marxianus* 229, visando à redução do seu potencial poluidor e conseqüente menor impacto ao meio ambiente, e a geração de um subproduto de maior valor comercial. A levedura *Kluyveromyces marxianus* 229, foi utilizada, para a fermentação do soro de leite, obtido após a produção do queijo Minas Frescal. Após 12 horas de fermentação do soro, obteve-se uma produção máxima de etanol de 18,70 g/L, e um rendimento etanólico teórico de 64,10%. Já em relação a redução teor de matéria orgânica (DQO), esta foi de 76,50%, com 48 horas de fermentação. Tais resultados mostram que a fermentação do soro pela levedura do gênero *Kluyveromyces* ssp é uma alternativa eficaz para reduzir seu teor de matéria orgânica, além de gerar um produto de elevado interesse comercial.

Palavras-chave: levedura, bioprocessos, DQO, meio ambiente.

1 Mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos. Doutoranda do Programa de Pós Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas – Campus São José do Rio Preto, São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil. E-mail: samaramurari@hotmail.com

2 Mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos. Doutoranda do Programa de Pós Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas – Campus São José do Rio Preto, São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil. E-mail: dcris1312@yahoo.com.br

3 Mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos. Doutoranda do Programa de Pós Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas – Campus São José do Rio Preto, São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil. E-mail: gisele.f.b@gmail.com

4 Doutor. Professor do Curso de Engenharia de Alimentos e do Programa de Pós Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas – Campus São José do Rio Preto, São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil. E-mail: vanildo@ibilce.unesp.br

* Autor para correspondência: Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas – Campus São José do Rio Preto. Rua Cristóvão Colombo, 2265, Jardim Nazareth, São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil. CEP - 15054-000. E-mail: samaramurari@hotmail.com

Recebido / Received: 02/04/2013
Aprovado / Approved: 03/06/2013

ABSTRACT

Milk whey is an important subproduct of the dairy industry, due to its generated volume and its pollution load. When launched into receiving bodies of water without prior treatment, whey may cause serious damage to the environment because it has a Chemical Oxygen Demand (COD) which lies around 60,000 mg/L. The bioconversion of the lactose from milk whey into ethanol by microrganisms capable to metabolize such disaccharide, represents a promising alternative to the treatment and disposal of the whey. It is possible to obtain a significant reduction of COD as to generate a by-product of commercial importance, which is the ethanol in this case. The aim of the study was to evaluate the production of ethanol from fermentation of cheese whey by yeast K. marxianus 229 in order to minimize its impact on the environment and produce a high commercial value by-product. The yeast Kluyveromyces marxianus 229 was used in the present study for the fermentation of milk whey, obtained after the production of the cheese type minas frescal. After 12 hours of fermentation of the whey, it was obtained a maximum ethanol production of 18.70 g/L, and an ethanolic theoretical yield of 64.10%. In relation to the reduction of organic matter (COD) content, it was decreased in 76.50%, with 48 hours of fermentation. These results showed that whey fermentation by yeast of the genus Kluyveromyces spp is an effective alternative to reduce their content of organic matter. In addition, it generates a product of high commercial interest.

Keyworks: yeast; bioprocess; COD; environment**.**

1 INTRODUÇÃO

As atividades conduzidas pelos processos industriais levam à geração de resíduos potencialmente poluidores durante sua produção. Quando não há uma disposição correta de tais resíduos, os mesmos podem ocasionar sérios problemas ambientais, sobretudo por apresentarem, em geral, grande concentração de matéria orgânica (carboidratos, proteínas, gorduras, entre outros), e inorgânica, onde o seu lançamento em corpos hídricos pode proporcionar grande decréscimo na concentração de oxigênio dissolvido nesse meio, cuja magnitude depende da concentração de carga orgânica e da quantidade lançada (MATOS, 2005). Juntamente com tais características tem-se uma quantidade significativa de efluentes gerados diariamente pelos processos industriais dos mais diversos produtos que são considerados indispensáveis pela sociedade.

Os laticínios representam um importante setor da indústria alimentícia, tanto pelo ponto de vista econômico quanto social. Dentre os subprodutos gerados pelos laticínios, o soro de leite é até hoje o de maior importância, tanto pelo seu volume gerado, como pela sua carga poluidora, que quando lançado em corpos receptores pode causar sérios problemas ambientais, devido à sua elevada carga orgânica de difícil biodegradabilidade (ALMEIDA, 2004).

O soro de leite ou também chamado de soro de queijo é um subproduto, resultante da precipitação e remoção das caseínas do leite durante a produção de queijo (MURARI et al., 2011). É composto por aproximadamente 4,5% de lactose, 0,6-0,8% de proteína, 0,03-0,01% de gordura, 0,5-0,8% de minerais, principalmente, cloreto de sódio, além de fosfato e cálcio e 0,2-0,8% de ácido lático, sendo que esta composição varia de acordo com a qualidade do leite utilizado e com o tipo de queijo produzido. (REVILLION et al., 2000).

O soro possui uma DQO (demanda química de oxigênio) de 50.000-80.000 mg/L dependendo do processamento específico utilizado na fabricação de queijos e do conteúdo de lactose, sendo este valor cerca de 100 vezes maior que a carga orgânica do esgoto doméstico. Por isso que o seu descarte em corpos receptores d'água é preocupante (ALMEIDA, 2004), o que pode levar a morte de animais, provocar a exalação de maus odores e de gases agressivos, além de causar eutrofização de rios e lagos e dificultar o tratamento da água para o abastecimento público (MATOS, 2005; FARIA et al., 2004).

A utilização do soro lácteo como meio de cultura, justamente pela sua rica composição (principalmente lactose), faz do soro líquido ou concentrado um substrato de fermentação bem atrativo e interessante, acrescentando a estas características, o fato que o soro pode ser disponível em grande quantidade a custo relativamente baixo (MENDES; ARAÚJO, 2003).

O soro de queijo utilizado como substrato para o crescimento de diferentes micro-organismos capazes de assimilar a lactose como fonte básica de carbono e energia, além de reduzir a sua carga poluente, gera produtos de elevado interesse comercial como é o caso do etanol (produto secundário) que pode ser utilizado na fabricação de bebidas alcoólicas e como combustível, além da biomassa que é recuperada após centrifugação, sendo esta utilizada na alimentação humana e animal (SILVEIRA, 2006).

A concepção de um processo para a produção de etanol a partir de soro, além de ter o compromisso de maximizar a produtividade de etanol, tem o objetivo de minimizar a concentração de açúcar residual do efluente, uma vez que a finalidade do processo também é o tratamento de resíduos. (GUIMARÃES et al., 2010).

A obtenção de etanol pela fermentação da lactose tem recebido bastante atenção nos últimos anos, e a procura de micro-organismos que tenham a capacidade de produzir álcool diretamente da lactose é bem ampla. São poucas linhagens de leveduras capazes de metabolizar a lactose presente no soro de leite em etanol, dentre as que possuem tal capacidade pode-se citar a levedura *Kluyveromyces marxianus*, *Kluyveromyces lactis* e *Candida pseudotropicalis* (ZAFAR et al., 2005).

Dentre esses micro-organismos, o que tem apresentado maior destaque na fermentação da lactose, é a levedura do gênero *Kluyveromyces ssp*, devido as suas características fisiológicas e a síntese de bioprodutos como a produção de enzimas hidrolíticas, biomassa para indústria alimentícia, ribonucleotídeos, oligossacarídeos, oligopeptídeos e sua eficiência na produção de proteínas heterológicas, componentes aromáticos e etanol (SILVEIRA, 2006),

Estudos realizados por Ponsano et al. (1992), ao utilizar a levedura *Kluyveromyces fragilis* na fermentação alcoólica de soro de queijo para reduzir a demanda química de oxigênio e produção de etanol, obteve cerca de 14 $g.L^{-1}$ do produto após sua separação por destilação e uma redução de 72% da DQO inicial.

A produção de etanol através da fermentação do soro de leite tem sido estimulada pela crescente necessidade mundial de energia. Assim, estudos da aplicação de processos biológicos e químicos para tratar o soro de queijo lançado de maneira incorreta no meio ambiente vão de encontro com a necessidade de propostas para solucionar o problema da disposição incorreta de soro pelas indústrias queijeiras (ALMEIDA, 2004; KOSIKOWSKI, 1979). Neste contexto, o presente trabalho tem como objetivo avaliar a produção de etanol a partir da fermentação do soro de leite in natura pela levedura *Kluyveromyces marxianus* 229, visando à redução do seu potencial poluidor e conseqüente menor impacto ao meio ambiente, e a geração de um subproduto de maior valor comercial.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Micro-organismo

O micro-organismo utilizado foi à levedura *Kluyveromyces marxianus* 229 adquirida junto ao Departamento de Bioquímica e Microbiologia da UNESP de Rio Claro (SP).

Soro de Leite

O soro de leite utilizado foi obtido no laboratório de Tecnologia de Leite e Derivados do Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos, IBILCE/UNESP, após o preparo do queijo Minas Frescal.

Após obtenção, o soro de leite foi filtrado em bomba a vácuo (Modelo Q355B – Quimis), e esterilizado em autoclave vertical (Modelo AV75 – Phoenix) a 121 ºC por 15 minutos.

Manutenção da Cultura Estoque

A levedura *Kluyveromyces marxianus* 229 foi propagada em tubo de ensaio com tampão com o meio Potato Dextrose Agar (PDA), onde o crescimento ocorreu em temperatura de 37ºC por 24 horas em B.O.D. (Modelo MA415/S – Marconi), e posteriormente os tubos foram mantidos em refrigerador a 5ºC.

Preparo do Inoculo

O inoculo inicial foi realizado em frascos de erlenmeyer de 250 mL, contendo 100 mL do meio de cultivo composto por: glicose (2,0 g/L); extrato de levedura (6,0g/ L); $(NH4)_2SO_4$ (1,0 g/L); KH_2PO_4 (1,0 g/L); $MgSO_4$ (1,0 g/L); e $CaCl_2$ (2,0 g/L) (SABRA et al., 2003). Sendo a levedura inoculada a partir de 8 mL da cultura estoque, em seguida estes frascos foram incubado a 35ºC com agitação de 100 rpm por 24 horas.

Após o período de incubação o meio foi centrifugado a 2 *g* por 20 minutos. O sedimento de célula foi lavado duas vezes em água destilada, antes de ser adicionado no meio de cultivo.

Fermentação do Soro de Leite

A fermentação consistiu em adicionar 10% do inoculo padronizado no meio de cultivo, formulado apenas com os nutrientes do soro de leite em condições estéreis, sendo, portanto o mesmo *in natura*. Em seguida o meio foi incubado em estufa BOD (Modelo MA415/S – Marconi) a 37 ºC por 48 horas. Em diferentes horas de fermentação (4, 8, 12, 15, 18, 24, 30, 36, 42 e 48 horas), alíquotas em triplicata foram retiradas do meio fermentado, para realização das análises de carboidrato, proteínas, DQO, etanol, e massa seca.

Determinações Analíticas

Determinação de Carboidratos

A análise de consumo de carboidrato foi realizada através da técnica de ADNS (ácido 3,5-dinitrossalicílico) (MILLER, 1959), que mediu o teor de açúcares redutores. Tal técnica constituiu em retirar 0,5 mL da amostra diluída e adicionar o volume igual de solução de DNS nos tubos de ensaio, que foram fervidos durante 5 minutos. A amostra foi esfriada e em seguida foram adicionados 4 mL de água destilada. Simultaneamente, foi feita uma curva de calibração com diferentes concentrações de lactose. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 540_{nm}.

Determinação de Proteínas

Foi realizada através do método de Lowry (HÁRTRE, 1972), que mediu a concentração de proteínas presente no soro. Para tanto, foi preciso retirar 1 mL da amostra de soro diluída e adicionar 0,9 ml da solução A (constituída de tartarato de sódio e potássio e carbonato de sódio anidro), seguido de tratamento em banho maria a 50º C por 10 minutos. Após resfriamento foi adicionado 0,1 mL da solução B (constituído de tartarato de sódio e potássio e sulfato de cobre pentahidratodo), com repouso por 10 minutos, e adicionado posteriormente 3 mL da solução C (Folin-Ciocalteau), e levado ao banho maria a 50 ºC por 10 minutos. Realizou-se, por fim, a leitura em espectrofotômetro a 650 nm, onde simultaneamente foi feita uma curva de calibração com diferentes concentrações de albumina bovina.

Determinação de Etanol

A determinação do etanol foi realizada através de cromatografia gasosa (cromatógrafo Hewleth Packard series ll modelo 5890 equipado com coluna SPB-35 e detector de ionização de chama).

As temperaturas do injetor e do detector foram mantidas a 230 ºC, a temperatura do forno foi programada inicialmente para 40 ºC, sendo aumentada em uma velocidade de 20 ºC/min até a temperatura final de 100 ºC. Como gás de arraste foi utilizado nitrogênio e uma taxa de split de 1: 5. A amostra do "headspace" foi retirada por meio de uma seringa própria para gases. Simultaneamente, foi feita uma curva de calibração com diferentes concentrações de etanol.

Determinação da Demanda Química de Oxigênio

Para realização das analises de DQO, foi utilizado o método colorimétrico de refluxo fechado, utilizando um digestor e espectrofotômetro a 620 $_{nm}$, aparelho da Hach Co., segundo metodologia da APHA (1995).

Determinação de Massa Celular Seca (MSC)

A metodologia empregada foi a descrita pela AOAC (Association of Official Analytical Chemistry) (1990), que consistiu em centrifugar alíquotas de 10 mL do meio fermentativo e centrifugar a 2 *g* por 30 minutos, sendo o sobrenadante descartado e a biomassa lavada com água destilada, seguida de secagem em estufa a 105ºC até peso constante.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através de uma série de amostragem retiradas do meio de cultivo durante o processo fermentativo por 48 horas, foi possível observar o comportamento da levedura *Kluyveromyces marxianus* 229, em relação ao consumo de carboidrato e proteínas, com subsequente redução do material orgânico (DQO), produção de etanol e produção de biomassa.

Consumo de lactose

Conforme observado na Figura 1, o teor de lactose do soro de leite, se encontrava no tempo inicial de fermentação (T0) com uma concentração de 57,6 g/L. Após 48 horas de fermentação esta lactose foi reduzida para 0,02 g/L, o que representou um consumo de carboidrato pela levedura de 99,60% (Figura 2), com uma velocidade média de consumo de substrato de 0,94 g/L.h $^{-1}$.

Estudo realizado por Mendes; Araújo (2003) apresentou um consumo de lactose 96,3%, após fermentação do soro de leite em diferentes concentrações de lactose para produção de etanol, pela levedura *Kluyveromyces marxianus* ATCC 14424. Esse

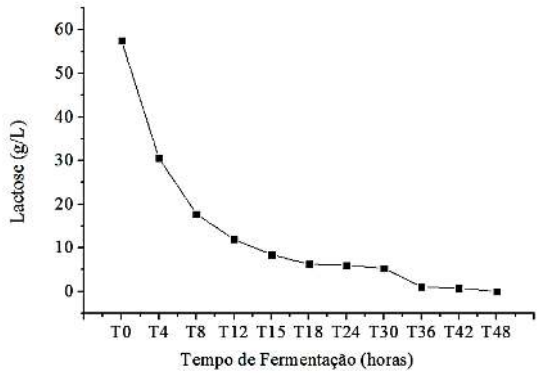


Figura 1.– Consumo médio de lactose do soro de leite pela levedura *Kluyveromyces marxianus* 229, após 48 horas de fermentação.

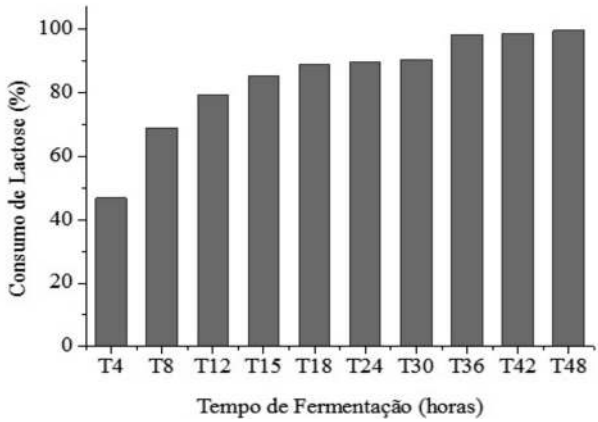


Figura 2.– Consumo de lactose do soro de leite pela levedura *Kluyveromyces marxianus* 229 em %, após 48 horas de fermentação.

resultado é apenas 3,30% menor do que o obtido no presente estudo. Dessa maneira, está de acordo com a literatura, o que mostra que a lactose presente foi direcionada para produção de energia, manutenção celular e atividades vitais da levedura testada.

Consumo de proteínas

Em relação ao consumo de proteínas do soro de leite pela *Kluyvermyces marxianus* 229, observa-se de acordo com a Figura 3, que a mesma inicialmente (T0) apresentava-se em uma concentração de 7,5 g/L e, após 48 horas de fermentação, esta foi reduzida para 0,40 g/L, o que representou um consumo final de 94,60% (Figura 4).

O consumo de proteínas em relação ao consumo de lactose foi aproximadamente 17% menor, porém, mesmo assim a linhagem testada apresentou resultado satisfatório em relação ao consumo de tal nutriente, que também é utilizado pela levedura como componente essencial de sua estrutura e manutenção celular. No trabalho realizado por Murari et al. (2011) ao fermentarem o soro de leite *in natura* em diferentes condições experimentais, para produção de biomassa, com a mesma linhagem de levedura utilizada no presente trabalho, obtiveram um consumo máximo de proteínas de 79,66%, após 24 horas de fermentação.

Produção de etanol

Em relação à produção de etanol (Figura 5), observa-se, que após 48 horas de fermentação a maior produção de etanol ocorreu com 10 horas, chegando a produzir cerca de 18,70 g/L de etanol. Isso representou uma produtividade (P_E) de 1,87 g/L.h $^{-1}$, um fator de conversão de substrato a etanol ($Y_{E/S}$) de 0,41 g/g $^{-1}$ e um

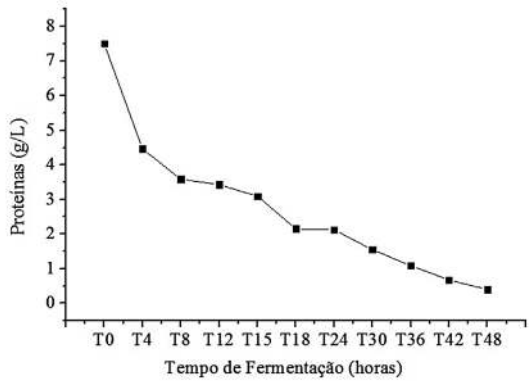


Figura 3.– Consumo de proteínas do soro de leite pela levedura *Kluyveromyces marxianus* 229, após 48 horas de fermentação.

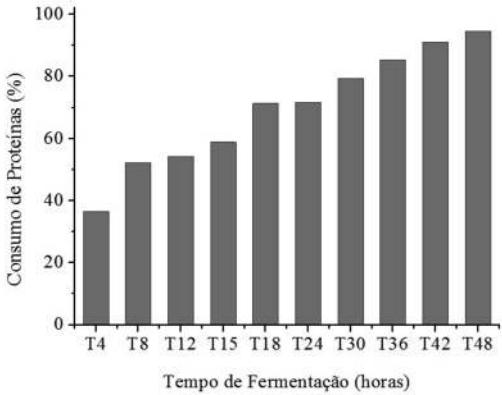


Figura 4.– Consumo de proteínas do soro de leite pela levedura *Kluyveromyces marxianus* 229 em %, após 48 horas de fermentação.

rendimento etanólico (η) de 69,25%, com um consumo de lactose neste período de 89,58 % (Figura 1), o que provocou um declínio na produção de etanol a medida que a lactose vai se esgotando.

De acordo Mawson (1994), a levedura do gênero *Kluyceromyces* chega a consumir até 95,00% ou mais de lactose presente no soro de leite, o que pode gerar uma eficiência na conversão do substrato a etanol de 80% em relação ao coeficiente teórico (0,5368), dependo da linhagem utilizada.

Gabardo (2011) ao otimizar a bioconversão da lactose do soro de queijo em etanol em sistema de biorreatores imobilizados pela linhagem da levedura *Kluyveromyces marxianus* CCT 4086 em fermentação em batelada, obteve uma produtividade de 0,81 g/L.h com um rendimento (η) de 79,10% na produção de etanol. Esse trabalho mostrou que através da imobilização de células também se obtém bons resultados em relação a produção de etanol utilizando o soro de leite como fonte de carbono e energia.

Estudos realizados por Ozmihci; Kargi (2008) ao fermentar uma solução composta por soro de leite por linhagem de *Kluyveromyces marxianus* imobilizadas, em sistema de fermentação contínua, obtiveram uma produção de etanol de 20 g/L com uma produtividade de 0,40 g/L.h . Tais resultados obtidos por esses autores foram parcialmente similares aos encontrados no presente estudo, no que se refere a consumo de lactose produtividade em etanol.

Produção de massa celular

A linhagem de *Kluyveromyces marxianus* 229 testada, apresentou maior produção de massa celular entre 10 e 12 horas de fermentação, com uma produção de 6,45 g/L (Figura 4), e um consumo de 90,60 % de lactose (Figura 1), o que representou uma produtividade em massa celular (P_X) de 0,53 g/L^{-1} e uma conversão de substrato a massa celular ($Y_{X/S}$) de 0,12 g/g $^{-1}$.

Resultados semelhantes quanto à produtividade em massa celular (P_X), produzida por *Kluyveromyces marxianus* crescida em soro de leite, foi encontrada por Revillion et al. (2003), que obtiveram em seus estudos uma produtividade celular de 0,61 g/L^{-1} .É importante destacar nesse caso, que os autores realizaram a suplementação do meio de cultivo, ao contrário do realizado neste estudo, em que o meio de cultivo era composto apenas pelo soro de leite *in natura*. Pode-se então dizer que a linhagem *Kluyveromyces marxianus* 229 apresentou-se eficiente quanto à produção de massa celular tendo como fonte única de carbono e energia apenas os nutrientes presentes no soro de leite. Além de ter sido capaz de suportar o etanol por ela mesma produzida, ou seja, foi capaz de continuar seu crescimento mesmo após atingir seu pico máximo de produção de etanol (Figura 5).

Redução do teor de matéria orgânica

Após a fermentação do soro de leite, é possível observar uma redução significativa no teor de matéria orgânica presente no meio.

Inicialmente o soro de leite utilizado apresentava uma Demanda Química de Oxigênio de 66200 mg/L, após 48 horas de fermentação, esta foi reduzida para 16158 mg/L (Figura 7), representando uma eficiência na redução de DQO de 75,60% (Figura8).

Sabra et al. (2003) ao realizar a suplementação de nutrientes para produção de biomassa a partir do soro de queijo pela levedura *Kluyveromyces marxianus* CBS 6556, após 36 horas de fermentação em aeração constante, obteve uma eficiência na redução de DQO de 84%, com uma diferença apenas de 8,9 % a mais da obtida neste estudo. Também vale ressaltar que tal autor também realizou a suplementação do soro de leite, o que gerou, portanto, um maior crescimento

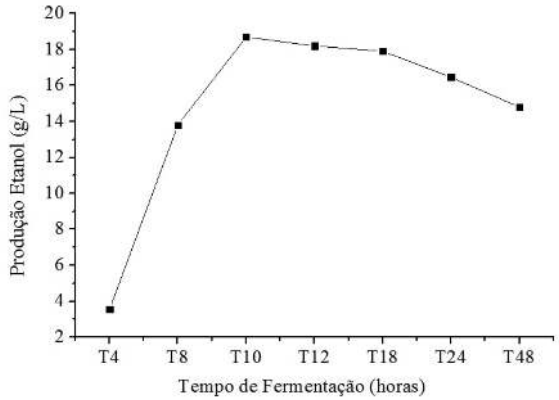


Figura 5 – Produção de etanol a partir do soro de leite pela levedura *Kluyveromyces marxianus* 229, após 48 horas de fermentação.

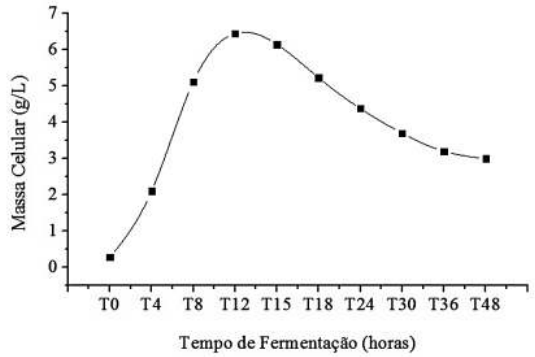


Figura 6 – Produção de massa celular pela levedura *Kluyveromyces marxianus* 229, após 48 horas de fermentação em meio a base de soro de leite.

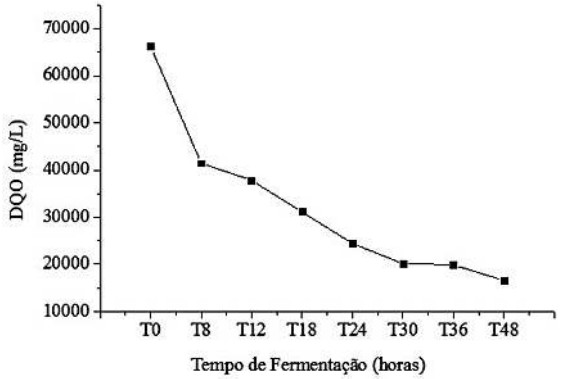


Figura 7 – Redução da concentração de demanda química de oxigênio (DQO), do soro de leite, após 48 horas de fermentação pela levedura *Kluyveromyces marxianu*s 229.

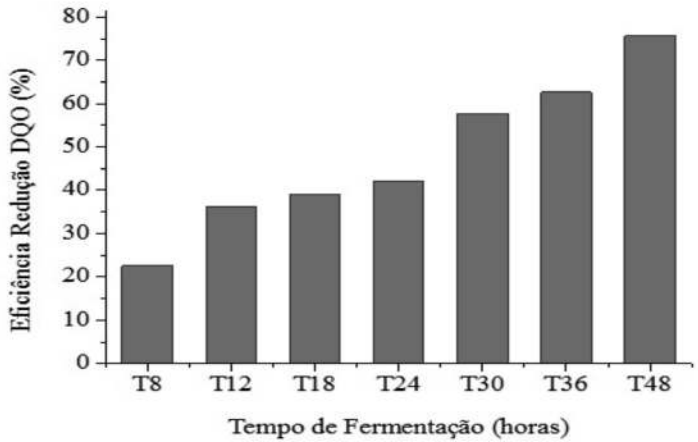


Figura 8 – Eficiência na redução da demanda química de oxigênio (DQO), após 48 horas de fermentação pela levedura *Kluyveromyces marxianus* 229.

celular e consequentemente maior consumo de lactose e redução da matéria orgânica.

O micro-organismo utilizado no presente estudo atingiu seu crescimento máximo entre 10 e 12 horas (Figura 6) e uma maior produção de etanol com 10 horas de fermentação (Figura 5), mesmo assim a DQO continuou decaindo até atingir uma redução significativa com 48 horas de fermentação. Nesse período de 12 a 48 horas, as células se mantém em fase estacionaria com posteriormente declínio. Possivelmente na fase de crescimento, as células consomem a fonte de carbono dissolvida no meio (principalmente lactose) ocorrendo à formação de ácidos orgânicos. Conseguinte o inicio da fase estacionaria, presume-se que os micro-organismos utilizem-se destes ácidos para manutenção do metabolismo celular, contribuindo consequentemente para a redução de DQO, com concomitante elevação discreta do pH. Fato este explicado e observado por Sabra et al. (2003); Reinbold; Takemoto (1988).

4 CONCLUSÕES

A levedura *Kluyveromyces marxianus* 229 obteve um rendimento etanólico (η) satisfatório e com bom desempenho na fermentação do soro de leite, e resultante redução do teor de matéria orgânica deste subproduto.

A bioconversão da lactose do soro de leite em etanol é possível, sendo uma alternativa promissora para se obter uma fonte renovável de biocombustível, além de reduzir o impacto ambiental causado por tal subproduto, caso o mesmo seja disposto de maneira incorreta no meio ambiente.

AGRADECIMENTOS

A CAPES pelo financiamento e suporte técnico ao projeto.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, E. S. **Tratamento do Efluente da Indústria de queijos por processos biológicos e químicos,** 2004. 81f. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). **Standard methods for the examination of waste e wastewater.** 19 ed. Washington, DC: American Public Association, 1995.1368 p.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY (AOAC). **Official methods of analysis of the association of official analytical chemists** 15 ed. Washington, Association of official analytical chemists, 1990.

FARIA, E. F.; RODRIGUES, I. C.; BORGES, R.V. **Estudo do impacto ambiental gerado nos corpos d'água pelo efluente da indústria de laticínio em Minas Gerais**. 2004. 86 f. Dissertação (Especialização em Engenharia Sanitária e Meio Ambiente) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2004.

GABARDO, S. **Otimização da bioconversão de lactose do soro de queijo em etanol em sistema de biorreatores imobilizados.** 2011. 85f. Dissertação (Mestrado Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

GUIMARÃES, P. M. R. et al. Fermentation of lactose to bio-ethanol by yeasts as part of integrated solutions

for the valorisation of cheese whey. **Biotechnology Advances**, New York, v. 28, n.3, p.375–384, 2010.

HARTRE, E.F. – Determination of protein: A modification of the Lowry Method that gives a linear photometric response. **Analytical Biochemitry**, New York, v.48, n.2, p.422-427 1972.

KOSIKOWSKI, F. V. Whey utilization and whey products. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 62, n.7, p.1149-1160, 1979.

MATOS, A. T. Tratamento de resíduos agroindustriais. **Curso sobre tratamento de resíduos agroindustriais.** Fundação Estadual do Meio Ambiente. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2005. Disponível em: <http://www.cesnors.ufsm.br/professores/pablo/tratamento-de-residuosdeorigemvegetaltecnologiadealimentos20112/Residuos%20Vegetais%20e%20Animais%20%20Prof%20Matos%20-%20UFV.pdf>. Acesso em: mar 2013.

MAWSON, A. J. Bioconversion for whey utilization and waste abatement. **Bioresource Technology**, New York, v.47, n.3, p. 195-203, 1994.

MENDES, F. B.; ARAÚJO, H. Produção de etanol a partir do soro de queijo utilizando a levedura Kluyveromyces marxianus e diferentes concentrações de lactose. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA EM INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 5., 2003, Seropédica. **Anais eletrônicos**. Seropédica, 2003. Disponível em: <http://www.propp.ufu.br/revistaeletronica/Edicao%20 2006_1/C/fabricio.pdf>. Acesso em: 05 ago. 2010.

MILLER, G.H. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical. Chemistry**, Washington, v.31, n.3, p.426-429, 1959;

MURARI, C. S. et al. Emprego do soro de leite bovino e bubalino para produção de biomassa pela levedura *Kluyveromyces marxianus*. 229. **Revista Analytica**, São Paulo, v.9, n. 51, p.48-64, 2011.

OZMIHCI, S.; KARGI, F. Ethanol production from cheese whey powder solution in a packed column bioreactor at different hydraulic residence times. **Biochemical Engineering Journal**, Oxford, v.42, n.2, p.180-185, 2008.

PONSANO, E.H.G.; PINTO, M.F.; CASTROGOMES, R.J. Soro de leite:obtenção, características e aproveitamento:revisão. Semina: Ciência Agrárias, Londrina, v.13, n. 1, p. 92-96, 1992.

REINBOLD, R. S.; TAKEMOTO, J. Use of Swiss cheese whey permeate by *Kluyveromyces fragilis* and mixed culture of *Rhodopseudomonas sphaeroides* and *Bacillus megaterium*. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.71, n. 7, p. 1799-1802, 1988.

REVILLION, J. P. et al. Produção de extratos de leveduras de uso alimentar a partir do soro de queijo: abordagem de elementos técnicos e mercadológicos relevantes. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 20, n. 2, p. 246-249, 2000.

REVILLION, J. P. et al. Production of Yeast Extract from whey using *Kluyveromyces marxianus*. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 46, n. 1, p. 121-127, 2003.

SABRA, G. et al. Suplementação de Nutrientes para Produção de Biomassa a Partir do Soro de Queijo. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE FERMENTAÇÕES, 14., 2003, Florianópolis. **Anais eletrônicos**... Florianópolis: UFSC, 2003. Disponível em: <http://www.enq.ufs.br/eventos/ sinaferm/trabalhos_completos/t374.doc>. Acesso em: 10 de Jun. 2010.

SILVEIRA, R. F. **Produção de etanol por leveduras em biorreatores com células livres e imobilizadas utilizando soro de queijo**. 2006. 131f. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre 2006. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

ZAFAR, S. et al. Batch kinetics and modeling of ethanolic fermentation of whey. **International Journal of Food Science and Technology**. London, v.40, n.6, p. 597-604, 2005.

Onde você vê **leite** a gente vê **tecnologia**

Há mais de 45 anos, o Macalé é referência em tecnologia no setor de laticínios.

Uma tradição de qualidade e parcerias sólidas que oferecem sempre os melhores ingredientes e serviços ao mercado laticinista brasileiro.

Por isso, na hora de produzir com qualidade e inovação, conte com a gente.



Macalé

Produtos para Laticínios

www.macale.com

Distribuidor Autorizado

CHR. HANSEN · KRAKI · borsato · RAI INDUSTRIAL