

Cómo citar este artículo:

Rosas, J. E. & Acebo Garfias, M. J. (2022). Desarrollo de tecnologías para la reutilización sostenible del lactosuero. *Environmental, Sciences and Practices*, 1(1), 26-41.

DESARROLLO DE TECNOLOGÍAS PARA LA REUTILIZACIÓN SOSTENIBLE DEL LACTOSUERO

Jesús Emilio Rosas

Universidad Europea del Atlántico (España)

jesus.rosas@alumnos.uneatlantico.es · <https://orcid.org/0000-0002-8810-4925>

María José Acebo Garfias

Universidad Europea del Atlántico (España)

maria.acebo@alumnos.uneatlantico.es · <https://orcid.org/0000-0002-5760-2905>

Resumen. En España se generan 1.726.000 toneladas anuales de lactosuero. En particular, en Cantabria se habla de una generación de lactosuero de 15.600 toneladas al año. El lactosuero se considera un residuo altamente contaminante si se vierte directamente al medioambiente dado su contenido elevado en materia orgánica. Con este proyecto se buscaba desarrollar nuevos métodos para el tratamiento y aprovechamiento de este residuo. La separación de la fracción sólida del lactosuero fermentado se puede conseguir de forma sostenible y efectiva con bentonita. Por su parte, en la composición de la fracción líquida acidificada, clarificada y esterilizada (LCE), no se observaron presencia de compuestos de interés económico para la industria láctea. En cambio, sí se detectaron oportunidades para convertirlo en subproductos de valor añadido para el sector agrícola y conservero. En el caso de la agricultura, se trabajó en la obtención de un nuevo bioestimulante capaz de aportar minerales, proteínas, regulación del pH, etc. Por otro lado, también se considera que el mercado de la industria alimentaria de conservas vegetales puede suponer un mercado objetivo que integre este subproducto como líquido de cobertura (conservador) pudiendo sustituir al vinagre.

Palabras clave: lactosuero, conservas vegetales, bioestimulante, ácido láctico

DEVELOPMENT OF TECHNOLOGIES FOR THE SUSTAINABLE REUSE OF WHEY

Abstract. In Spain, 1,726,000 tons of whey are generated annually. In particular, in Cantabria there is talk of a whey generation of 15,600 tons per year. Whey is considered highly polluting waste if it is dumped directly into the environment given its high content of organic matter. This project sought to develop new methods for the treatment and use of this waste. Separation of the solid fraction from fermented whey can be achieved sustainably and effectively with bentonite. On the other hand, in the composition of the acidified, clarified and sterilized liquid fraction (LCE), no presence of compounds of economic interest for the dairy industry was observed. On the other hand, opportunities were detected to convert it into value-added by-products for the agricultural and canning sector. In the case of agriculture, work was done to

obtain a new biostimulant capable of providing minerals, proteins, pH regulation, etc. On the other hand, it is also considered that the food industry market for canned vegetables may be a target market that integrates this by-product as a covering liquid (preservative) and can replace vinegar.

Keywords: whey, vegetable preserves, biostimulant, lactic acid.

Introducción

El reto ambiental que asume el presente proyecto está enmarcado en la gestión de Residuos Industriales dentro del Plan de Residuos de Cantabria 2017-2023. El proyecto se enmarca en la reducción de residuos procedentes de la industria quesera.

La producción de queso en España es alrededor de 500.000 toneladas anuales (Sainz, 2002 y Martín P. 2021), mientras que en el mundo alcanza la cifra de 17 millones de toneladas (Martínez et al, 2020). Durante el proceso de coagulación de la leche para la obtención de queso se generan grandes volúmenes de lactosuero de quesería, que es el principal residuo, dado que de cada 100 litros de leche que entran en una quesería pueden salir 80 litros de lactosuero o visto de otro modo se generan entre 9 y 12 litros de lactosuero por cada kilo de queso fabricado. Esto hace que en el mundo se generen lo que una producción de 190 millones de toneladas de lactosuero anualmente y en España se generan 1.726.000 toneladas anuales de lactosuero y en el mundo hasta 190 millones de toneladas (Vázquez et al, 2019).

Lo que se pretende desarrollar son nuevos métodos para el tratamiento y aprovechamiento del lactosuero para convertirlo en dos subproductos de valor añadido para los sectores agrícola y de las conservas. En este caso, se percibe la oportunidad comercial para transferir las tecnologías surgidas de este proyecto a estos sectores y las queserías.

En el caso de la agricultura, se quiere facilitar al mercado un nuevo bioestimulante que además aproveche el agua presente en el lactosuero. Este mercado de los bioestimulantes es todavía un mercado muy incipiente (3,5% del terreno cultivable) pero cuenta con crecimientos anuales del 12% favorecido por la tendencia a incrementar las superficies agrarias.

Por otro lado, también se considera el mercado de la industria alimentaria de conservas vegetales que es un mercado maduro, con alrededor de 1,5 millones de toneladas anuales producidas y una facturación de 7.000 millones de euros anuales.

Finalmente, se cree que el sector de la producción de queso también puede aprovecharse de estas tecnologías dado que determinadas queserías pueden optar por adaptar sus plantas de producción para generar subproductos de valor añadido con interés comercial para terceros. En este caso, se dirige al sector de la producción de queso, el cual tiene un peso específico en España muy relevante y también en Cantabria que cuenta con 43 queserías que no están sacando el provecho económico del suero que se genera.

El objetivo de la presente investigación es aprovechar la fracción líquida del lactosuero residual de la industria quesera ya sea como líquido bioestimulante o como líquido de cobertura de conservas vegetales.

Entre las características propias del líquido bioestimulante destacan ser fuente de minerales y proteínas, así como presentar un pH ácido que permite la biodisponibilidad de otros minerales. Además, permite la reducción del gasto en agua de riego y, por tanto, de la huella hídrica.

En el caso del líquido de cobertura (conservador), la propuesta es emplear el nuevo subproducto obtenido a partir del suero para usarlo en conservas vegetales pudiendo sustituir al vinagre. Este líquido debería responder de forma positiva a los ensayos de termorresistencia, ser neutro en sabores y aromas y suponer un coste inferior en un 30%.

Para alcanzar los objetivos de la investigación se planteó evaluar las condiciones de fermentación del lactosuero residual de la industria quesera para incrementar su contenido en ácido láctico, diseñar una línea de procesado industrial para separar la fracción sólida y líquida del lactosuero, procesar y caracterizar la fracción líquida del lactosuero enriquecido en ácido láctico para su utilización en la industria conservera y procesar y caracterizar la fracción líquida del lactosuero enriquecido en ácido láctico para su utilización como bioestimulante para cultivos agrícolas.

Método

El objetivo de esta investigación es la de caracterizar química y microbiológicamente el lactosuero para identificar si existe algún parámetro que limita el desarrollo posterior de las fermentaciones.

El lactosuero fue suministrado por una empresa quesera local que utiliza leche de vaca pasteurizada para la elaboración de queso fresco (lactosuero dulce). Por tanto, no se pudo realizar la caracterización microbiológica a partir de un producto esterilizado.

Para los distintos ensayos la empresa proporcionó 20 litros en dos momentos distintos. Los valores que se muestran en el resto del artículo corresponden al valor medio global.

Para la caracterización química, además de algunos parámetros que se indican en el RD 140/2003 sobre aguas de uso alimentario (incluido los de la industria agroalimentaria), se midieron otros parámetros de calidad de la leche que pudieran afectar a las fermentaciones posteriores, como el peróxido de hidrógeno cuya presencia puede ser debido a algún problema sanitario de la vaca. Los parámetros físico-químicos que se consideraron fueron:

- Cationes y aniones: amonio, nitrito, nitrato y fosfatos.
- Minerales: nitrógeno, calcio, potasio, hierro y fósforo
- Otros: pH, ácido láctico y DBO (Demanda Biológica de Oxígeno)

Los métodos físico-químicos aplicados fueron espectrofotométricos, potenciométricos y volumétricos. En la siguiente tabla se indica con detalle la distribución de los métodos por parámetros.

Tabla 1
Características de los métodos de análisis (I)

Parámetro	Método de análisis	Observación
Amonio	Espectrofotométrico ($\lambda= 690$ nm)	Hipoclorito y fenol
Nitrito	Espectrofotométrico ($\lambda= 543$ nm)	Ácido sulfanílico y diclorohidrato de N-(1-naftil)-etilendiamina
Nitrato	Espectrofotométrico ($\lambda= 220$ nm)	2,6-dimetilfenol
Fosfato	Espectrofotométrico ($\lambda= 470$ nm)	Vanadato-Molibdato
Cloruro	Espectrofotométrico ($\lambda= 530$ nm)	Tiocianato de mercurio (II)
Nitrógeno	Volumétrico	Método Kjeldahl
Calcio	Espectrofotométrico ($\lambda= 570$ nm)	Glioxal-bis(2-hidroxianilo)
Potasio	Espectrofotométrico ($\lambda= 500$ n)	Tetrafenil borato
Hierro	Espectrofotométrico ($\lambda= 510$ nm)	Triazina y tioglicolato
Fósforo	Espectrofotométrico ($\lambda= 400$ nm)	Vanadato-Molibdato
Peróxido de hidrógeno	Espectrofotométrico ($\lambda= 528$ nm)	Fenantrolina
pH	Potenciometría	-
Acidez	Volumetría	Valoración hasta cambio de color
DBO	Espectrofotométrico ($\lambda= 620$ nm)	Aproximación de Ramírez (1992)

Una vez identificados los métodos de análisis se procedió a calibrar los métodos espectrofotométricos mediante la determinación de:

- El rango de linealidad, que dará información de la concentración mínima y máxima del analito en la que se puede aplicar el método de determinación (ver Figura 1).
- La ecuación que relaciona la absorbancia con la concentración y su bondad de ajuste. En todo momento se buscaron bondades de ajustes cercanos a 1 porque eso implica que la relación entre la concentración y la señal química es de “alta calidad”.
- El límite de detección y de cuantificación. Los mismos se midieron a partir de un blanco (agua destilada) a la que se le aplicó el mismo procedimiento como si de una muestra de lactosuero se tratara. Con dichos valores se determinaron un valor medio y desviación que se utilizaron para determinar ambos límites mediante las siguientes expresiones (ver Figura1):
 - Límite de detección: $\text{media} \pm 3 \cdot \text{desviación}$
 - Límite de cuantificación: $\text{media} \pm 10 \cdot \text{desviación}$

Se realizaron distintas soluciones a una misma concentración de cada analito, y se comparó su valor real con el teórico. Lo ideal son valores de errores lo más pequeños posibles. Se decidió poner como valor umbral máximo que el error fuera menor al 5%.

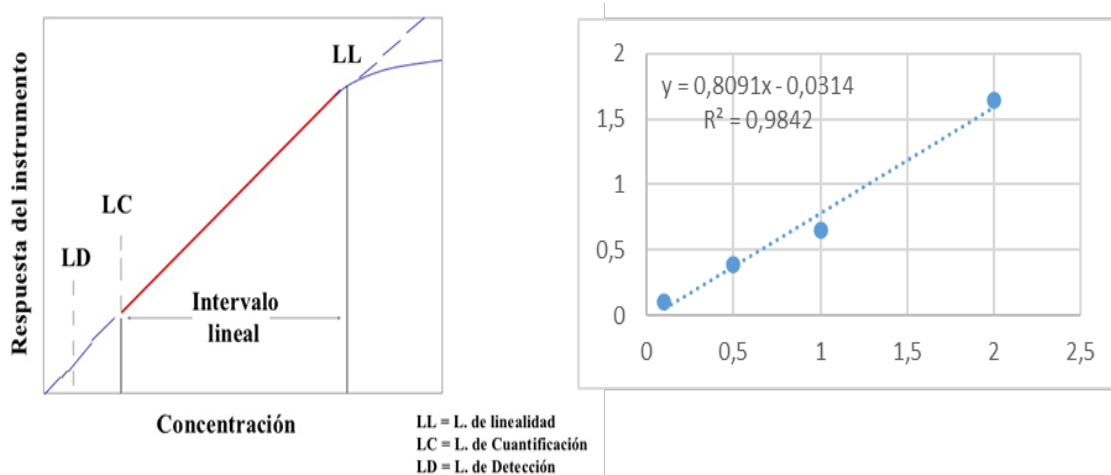


Figura 1. (A) esquema de parámetros de calibración y (B) Curva de nitrito obtenida en el proyecto.

Resultados

En la siguiente tabla se muestran los valores de la calibración de los distintos parámetros medidos mediante espectrofotometría:

Tabla 2
Características de los métodos de análisis (II).

Parámetro	Ecuación	Ajuste	Límites (mg/L)		Error (%)
Amonio	$y = \frac{0,0362x}{1099} +$	0,9996	1,01	3,50	2,24
Nitrito	$y = \frac{0,8091x}{0314} -$	0,9842	0,11	0,15	3,42
Nitrato	$y = \frac{0,0014x}{0111} -$	0,9836	154,6	398,8	0,87
Fosfato	$y = \frac{0,0217x}{0081} +$	0,9981	0,17	0,89	1,38
Cloruro	$y = \frac{0,0106x}{2429} +$	0,9951	0,06	0,11	3,14
Calcio	$y = 0,0075x$	0,9893	3,42	7,22	1,55
Potasio	$y = \frac{0,0004x}{0095} +$	0,9827	26,8	55,5	7,50
Hierro	$y = 0,2701x + 0,036$	0,9987	0,05	0,12	1,01
Fósforo	$y = \frac{0,4474x}{0383} +$	0,9999	0,01	0,04	0,22
Peróxido de hidrógeno	$y = \frac{0,1717x}{7587} +$	0,9739	0,01	0,02	1,69

Se puede observar cómo las bondades de ajustes son cercanas a 1 y con errores inferiores al 5%, salvo para el caso del potasio, que tuvo un error del 7,5%. Se intentó varias veces ajustar el método, pero no se pudo reducir el error, por lo que fue un parámetro que se decidió no incluir en los sucesivos análisis.

Una vez realizada la caracterización del lactosuero de partida, se procedió a reducir el pH del mismo mediante un proceso fermentativo que incrementa el contenido en ácido láctico. Las fermentaciones se llevaron a cabo con dos bacterias de gran utilización en la industria láctea:

- *L. acidophyllus*
- *E. faecium*

En las siguientes tablas se muestran los resultados del ensayo de fermentación, en términos de evolución del pH y del ácido láctico. El día 0 corresponde al día de la inoculación y por tanto al valor inicial de pH y ácido láctico del lactosuero. Estos valores de pH original están dentro del rango que la mayoría de las revisiones bibliográficas consultadas muestran para el lactosuero dulce (Villota et al, 2015; Instituto Nacional de Tecnología Industrial - INTI, 2017).

En las siguientes tablas se recogen los datos para el caso de ambas bacterias (con suplementación del lactosuero, expresado con el símbolo + y sin suplementación, expresado con el símbolo -). Para ambas bacterias, se redujo más el pH en el medio sin suplementar y entre el día 2 de fermentación y el día 3, la disminución del mismo no fue tan alta como entre el día 1 y el día 2. Además, comparando entre bacterias, el pH más bajo se obtuvo para el caso de *L. acidophilus*, por lo que se concluyó que las características de la fermentación para el objetivo que se busca en este proyecto eran: inocular con un 2% de *L. acidophilus* directamente sobre el lactosuero y 48-72 horas de fermentación.

Tabla 3

Evolución del pH en la fermentación (+: medio suplementado, -: medio no suplementado).

Fermentación	Día 0	Día 1	Día 2	Día 3
<i>E. faecium</i> +	4,93	4,46	4,33	4,3
<i>E. faecium</i> -	5,4	4,55	4,28	4,22
<i>L. acidophilus</i> +	6,21	4,2	4,09	4,03
<i>L. acidophilus</i> -	6,53	4,13	3,98	3,87

Si se analizan los resultados obtenidos para la acidez, se observa como hay valores casi nulos del día 0 (por tratarse de un lactosuero dulce), y que su contenido va aumentando con los días de fermentación hasta llegar, en el caso de *L. acidophilus* sin suplementar a 12,15 g/L.

Una vez identificadas las condiciones de fermentación, se llevó a cabo una comparación de la composición química del lactosuero original y del mismo fermentado con ambas bacterias durante 48 horas (ver Tabla 4).

Tabla 4
Composición química del lactosuero original y tras la fermentación (mg/L).

Parámetro	Lactosuero original	<i>E. faecium</i>	<i>L. acidophilus</i>
Hierro	9,25 ± 1,12	1,71 ± 0,37	2,55 ± 1,08
Calcio	85,36 ± 15,11	54,18 ± 13,59	63,06 ± 22,80
Fósforo	14,86 ± 1,63	47,73 ± 2,25	47,99 ± 5,36
Amonio	173,34 ± 19,29	439,22 ± 24,41	411,94 ± 51,27
Nitrito	3,08 ± 0,12	0,68 ± 0,11	1,04 ± 0,35
Fosfato	235,36 ± 16,05	151,03 ± 13,28	153,51 ± 16,93
Cloruro	341,34 ± 37,20	242,33 ± 9,69	255,61 ± 12,09
Nitrógeno (%)	0,14±0,00	0,17±0,01	0,17±0,01
Peróxido de hidrógeno	3,07 ± 1,99	-	-

El lactosuero acidificado obtenido es una mezcla de sólidos (incluido los restos de microorganismos) y agua. El propósito fue separar ambas fracciones a fin de que la parte líquida (de interés en este proyecto) pudiera aplicarse para la generación de un líquido bioestimulante o de un líquido conservante, para ello, se procedió al desarrollo de dos ensayos de separación:

- Ensayo 1: filtración física mediante membrana y tierras inertes (como celite, zeolita u otras de interés).
- Ensayo 2: separación de fases mediante la utilización de agentes clarificantes de uso frecuente en la industria alimentaria (bentonita, albúmina, etc.) .

Antes de realizar los ensayos con un volumen alto de lactosuero fermentado, para el caso del ensayo 1 se hizo una pequeña prueba de velocidad de filtración a través de papel de filtro de laboratorio de distintos espesores (similar a como podría ser una membrana). Éste se colmataba muy pronto haciendo casi imposible mejorar el proceso incluso aplicando filtrado a vacío. Por tal motivo, se sustituyó el papel de filtro por un lecho de celite pero se observó que aunque inicialmente el proceso ocurría a una velocidad adecuada, el lecho de celite se compactaba impidiendo el paso de más lactosuero. Por otro lado, al intentar separar la fracción de sólidos del lactosuero que quedaba en la parte superior del lecho de celite, se arrastraba parte de esta tierra por lo que no era posible conseguir un producto de cierta pureza.

A raíz de estas dificultades, todos los esfuerzos se centraron en el uso de agentes clarificantes como la bentonita y la albúmina. Como primer paso se realizaron ensayos dosis-respuestas teniendo como producto de partida el lactosuero acidificado mediante *L. acidophilus* previamente pasteurizado para detener el proceso de fermentación a las 48 horas, destruyendo además toda la carga microbiológica que pudiera originar algún problema en el desarrollo posterior de la tarea.

El ensayo dosis-respuesta se realizó de la siguiente manera. En una colección de tubos falcon se puso la misma cantidad de este lactosuero acidificado y esterilizado y a cada uno de ellos se añadió por triplicado concentraciones crecientes de albúmina y bentonita.

Para evaluar la eficiencia de un producto respecto al otro se midió la pérdida de color (ver Figura 2) y la evolución del color amarillo a 420 nm, similar a como se mide dicho color en el vino. El proceso duró 24 horas y tal y como se observa en la figura 2 con la albúmina no hubo pérdida de color, todo lo contrario, a lo que se consiguió con bentonita al 5%.

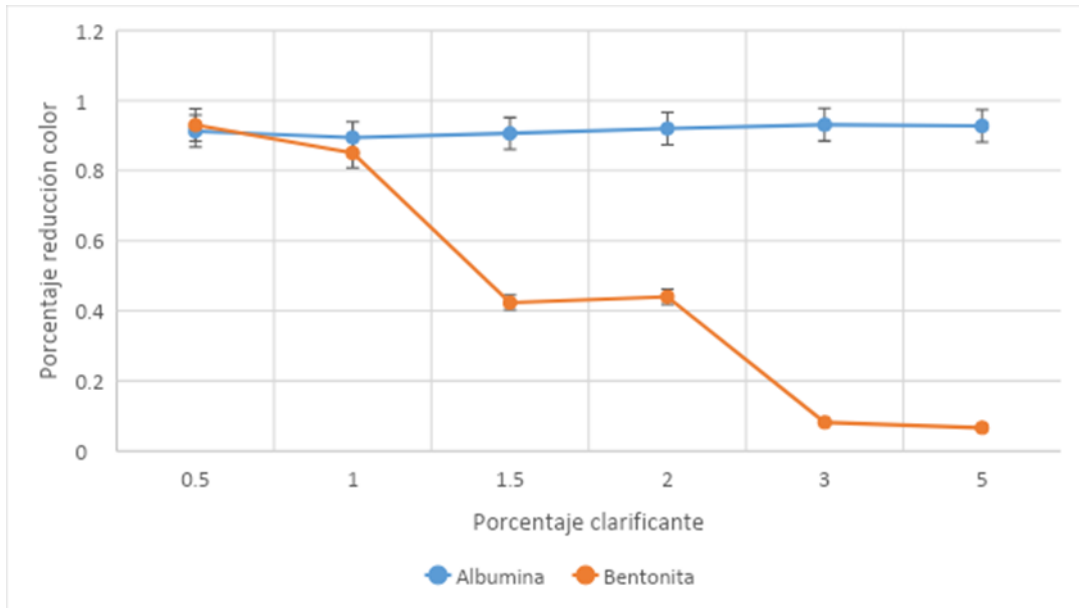


Figura 2. Pérdida de color tras la clarificación.

También se midió la cantidad de producto precipitado como medida de la eficiencia del grado de separación (ver Figura 3). Se puede ver como para el caso de la bentonita, además de una mayor disminución del color también hay un mayor porcentaje de sólidos con respecto a la albúmina.

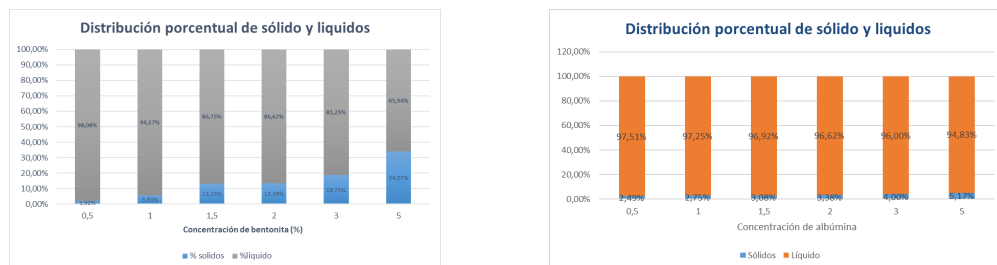


Figura 3. Estimación del porcentaje de sólidos y líquidos tras la clarificación.

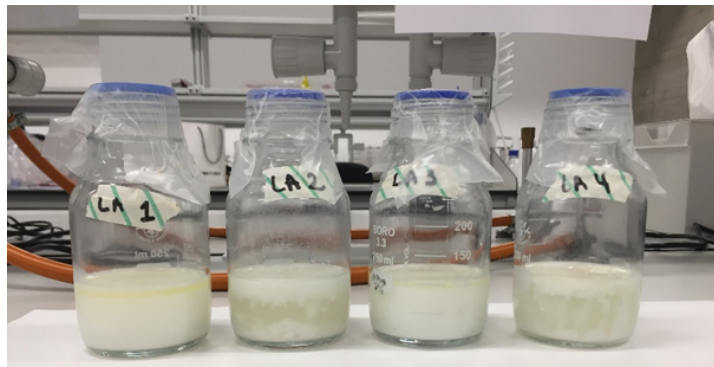




Figura 4. Detalle de la separación de fases antes de la clarificación (imagen superior) y tras la clarificación (imagen inferior).

Una vez obtenido el producto clarificado se procedió a la desodorización con el propósito de eliminar las trazas de olor lácteo. Para ello se hizo pasar el lactosuero fermentado por una columna de carbón activo, aunque se observó que parte del carbón activo se arrastraba y oscurecía. Dado este resultado, se propone que, para futuras ocasiones, la mejor opción es utilizar lactosuero desnatado. Este proceso de desnatado del suero ya es habitual en algunas industrias lácteas para obtener la fracción de grasa necesaria para elaborar mantequilla de suero. Si no se dispone de este equipo, otra posible opción sería hacer clarificaciones secuenciales para eliminar la mayor cantidad posible de proteínas del lactosuero y con ella se iría la fracción de grasa.

Posteriormente se hizo un análisis de los resultados obtenidos con anterioridad y de los usos a los que se les va a dar al producto final: líquido para conservas y bioestimulantes. La propuesta que se hace se muestra en la siguiente figura, que recoge algunos resultados de tareas posteriores:

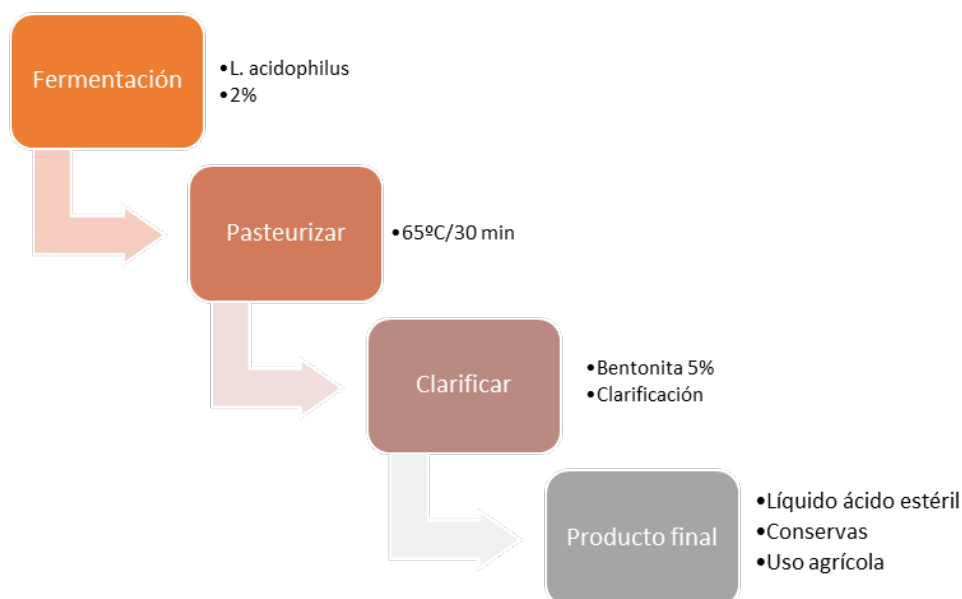


Figura 5. Esquema de tratamiento del lactosuero para obtener una fracción líquida acidificada.

- PASO 1: Partir de un lactosuero desnatado y pasteurizado o esterilizado. De esta manera se elimina desde el principio la fracción de grasa y la posible presencia de microorganismos que puedan afectar la fermentación posterior.
- PASO 2: Fermentar el lactosuero con *L. acidophilus*, inoculando a una concentración del 2% durante 48 horas. La fermentación se puede parar antes de ese tiempo dependiendo del pH final o contenido de ácido láctico.
- PASO 3: Parar la fermentación mediante una pasteurización VAT o LT-LT (65°C durante 30 minutos).
- PASO 4: Clarificar con bentonita. Aunque en este proyecto la concentración de bentonita eficaz fue del 5% durante 24 horas, lo cierto es que el tiempo de la clarificación y el porcentaje a utilizar del producto se realiza mediante ensayo dosis-respuesta porque depende del grado de turbidez del lactosuero de partida.

A partir de este punto, al lactosuero acidificado, clarificado y esterilizado (en adelante LCE) se le puede dar distintos usos:

Como líquido de conservas: se observó un doble efecto del pH del medio. Por un lado, un efecto negativo al aumentar la velocidad de descomposición de la borraja (producto utilizado para el ensayo), peor por otro lado se observó una menor oxidación de la misma, lo cual es positivo y sugiere un uso distinto al que se le ha dado en este proyecto.

Por su parte, como bioestimulante: se observó que es necesario elevar el pH para evitar respuestas de estrés en las plantas. Esto se puede realizar deteniendo la fermentación en valores de pH cercanos a 5 e incrementando el pH con algún carbonato o hidróxido. En este caso nunca puede contener sodio porque tendría un efecto perjudicial en la estructura del suelo. En este proyecto se incrementó el pH con KOH pero podría ser de interés en un futuro probar con otros agentes reguladores del pH.

En la siguiente tabla se muestra la composición química del LCE previo a su utilización como líquido de conserva y bioestimulante.

Tabla 6

Composición química del lactosuero original, tras la fermentación y tras la clarificación (LCE) (mg/L).

PARÁMETRO	Lactosuero original	<i>L. acidophilus</i>	LCE
Hierro	9,25 ± 1,12	2,55 ± 1,08	0,40± 0,03
Calcio	85,36 ± 15,11	63,06 ± 22,80	45,27 ± 3,21
Fósforo	14,86 ± 1,63	47,99 ± 5,36	22,75± 4,08
Amonio	173,34 ± 19,29	411,94 ± 51,27	122,47 ± 52,40
Nitrito	3,08 ± 0,12	1,04 ± 0,35	0,05±0,03
Fosfato	235,36 ± 16,05	153,51 ± 16,93	91,89 ± 0
Cloruro	341,34 ± 37,20	255,61 ± 12,09	183,93± 1,40
Nitrógeno (%)	0,14±0,00	0,17±0,01	0,17±0,01
Peróxido de hidrógeno	3,07 ± 1,99	-	1,30 ± 0,44

Se observa que la composición química del LCE respecto al lactosuero sólo acidificado con *L. acipophilus* disminuye, salvo para el caso del nitrógeno para el que

permanece constante. Esto puede ser debido a que la bentonita es una arcilla con capacidad de retención minerales (Navarro Blaya y Navarro García, 2003) y al precipitar junto con las proteínas y la grasa, arrastra consigo parte de estos compuestos. En algunos casos las pérdidas son mayores al 50% como en el hierro, fósforo, amonio, fosfato y peróxido de hidrógeno.

Asimismo, se llevó a cabo un estudio de la termorresistencia y vida útil para su aplicación en la industria conservera. El estudio de termorresistencia, destinado a determinar qué sistema de esterilización térmica de los que actualmente se aplican en la industria es compatible con las características del nuevo líquido de gobierno. Además, permitió validar si la composición del LCE puede promover el desarrollo de microorganismos y que los tratamientos térmicos convencionales sean insuficientes, por lo que haya que plantear algún tipo de ajuste en cuanto tiempos y temperaturas. Para llevar a cabo este ensayo se seleccionó *St. Aureus*. También se prepararon tres líquidos de gobierno: uno estándar (agua, cloruro sódico y acidificado), LCE y LCE suplementado con sal. Indicar que el LCE ya está acidificado por el propio proceso de fermentación.

Una vez que se reactivaron las cepas de *St. Aureus*, se procedió a inocular los tres tipos de líquido de gobierno anteriores, y se determinó si el patógeno crecía de forma efectiva o si por lo contrario las características de los tres líquidos había inhibido su desarrollo, lo cual podría conllevar a dar por positivos unos resultados cuando en realidad no lo son.

En la siguiente tabla se muestra que la inoculación con *St. Aureus* fue efectiva y que el carácter ácido o la concentración de sal no inhibía el crecimiento de la bacteria, por lo que los resultados que se obtengan serán sólo consecuencia del efecto de la combinación de la temperatura y el tiempo.

Tabla 7

Recuento de *St. Aureus* (ufc/100 μ L) en los tres tipos de líquido de gobierno.

Réplica	LCE	LCE+NaCl	Estándar
1	$9,5 \cdot 10^3$	$2,5 \cdot 10^3$	$1,05 \cdot 10^4$
2	$9 \cdot 10^3$	$7,5 \cdot 10^3$	$1,55 \cdot 10^4$
3	$1,25 \cdot 10^4$	$1,35 \cdot 10^4$	$1,65 \cdot 10^4$

Para el ensayo de termorresistencia se utilizaron tres tipos de tratamientos térmicos en los líquidos de gobiernos anteriores (confirmada la existencia de *St. Aureus*): pasteurización VAT o LT-LT (65°C/30 min), pasteurización HT-ST (72°C/15 s) y esterilización clásica (120°C/20 min).

Tanto para este caso como para el anterior se utilizó medio cromogénico específico para *St. Aureus*, cuyas colonias se ponen de manifiesto como puntos de color rosado/morado. Las colonias verdes se corresponden a *St. Epidermidis* que no se considera un patógeno.

Al finalizar los tratamientos térmicos, se observó que la carga de esta bacteria era prácticamente nula en los dos sistemas de pasteurización y nula en la de esterilización. No se apreció formación de color como consecuencias de reacciones de caramelización de la posible lactosa residual, lo que indica que este azúcar fue prácticamente transformado en ácido láctico. Tampoco se observó la aparición de olores indeseables. Con todo ello, se pudo confirmar que sea cual sea el sistema de tratamiento térmico que utilice una empresa de conserva, el LCE se puede utilizar.

El otro ensayo que se llevó a cabo fue el estudio de vida útil de las conservas que tengan como líquido de gobierno el LCE, comparándolo con el líquido de gobierno estándar. Se decidió no utilizar LCE suplementado con cloruro sódico porque al tener en su composición sales la información sería redundante.

Para realizar el estudio de vida útil se eligieron tres temperaturas: 5 °C, 20 °C y 5 °C (con una humedad del 60%). Para el primer caso las conservas se mantuvieron en refrigeración; el segundo caso, a temperatura ambiente y para el tercer caso, se utilizó un armario térmico con control de humedad.

Las conservas se realizaron con borraja, una hortaliza típica de Aragón que resultó ser interesante por dos motivos. Su color verde ayudó a disimular el color inicial del LCE y, además, reducía ligeramente el olor a lácteo que no se pudo eliminar durante el procesado.



Figura 6. Conserva de borraja en LCE (izquierda) y control (derecha).

En la figura 6 se puede observar la ligera turbidez inicial de la conserva con LCE respecto al control. El ensayo duró 14 días y el parámetro que se eligió para hacer el seguimiento fue la turbidez medida a 420 nm, tal y como se hace para el agua de consumo y porque es una variable que haría perder valor comercial a la conserva.

Tabla 8

Valores de la turbidez del líquido de gobierno en los distintos días considerados.

Temperatura	Tiempo (días)	Control	LCE
5°C	0	0,0583	0,0779
	4	0,0746	0,1051
	7	0,2869	0,1105
	10	0,3142	0,1676
	14	0,4722	0,2563
55°C y 60% de humedad	0	0,0583	0,0779
	4	0,4209	0,4040
	7	0,4975	0,4068
	10	0,6175	0,6175
	14	0,6813	0,6321

En la tabla 8 se observa como los incrementos de turbidez son mayores en el control que en el LCE para el caso de la temperatura a 5 °C, mientras que a 55 °C los valores son relativamente similares. Además, se observa como los valores a 55 °C son mayores que a 5 °C. Este último fenómeno es debido a que a mayor temperatura se aceleran los procesos de bioquímicos que pueden estar ligados a una mayor descomposición de la borraja por efecto del ácido láctico y, por tanto, a una mayor turbidez.

Con respecto al posible efecto bioestimulante nutricional en productos vegetales para su aplicación en la industria agrícola se analizó cómo variaba la composición del bioestimulante a lo largo del desarrollo del cultivo y la respuesta de la planta. El ensayo que se planteó para ello consistió en el ajuste del pH a 5,5 con adición de hidróxido de potasio al LCE ya que a esos valores podría haber problemas de toxicidad por el posible aluminio del medio. Teniendo esta información de partida, los ensayos posteriores implicaron la comparación entre LCE sin modificar el pH, el LCE con el pH ajustado y agua como control. Se observó que las plantas regadas con LCE sin ajustar el pH, presentaron síntomas de estrés que podrían ser debido por la toxicidad del aluminio o por desarrollarse en medio ácido, además de que las plantas entraron en una etapa de no recuperación. Esto obligó a acortar el desarrollo de la tarea. Para el ensayo se partió de plántulas de lechuga sembradas sobre substrato orgánico. El agua fue aplicada directamente a dosis de 30 ml/maceta cada 4 días hasta que se consideró que el ensayo debía finalizar por el estado que presentaban las plantas regadas con LCE directamente. En contrapartida, se pudo observar que las plantas regadas con LCE con el pH ajustado respondían muy positivamente, lo que confirmaba el efecto bioestimulante de la fracción líquida del lactosuero con fines agronómicos. Esta afirmación no sólo se basa en la observación, sino además en los valores medios de los parámetros analizados en las plántulas.



Figura 7. Estados de desarrollo de las plántulas de lechuga regadas con LCE sin ajustar el pH (superior izquierda), con agua (superior derecha) y con LCE con pH ajustado (inferior izquierda); y una comparación entre ellas (inferior derecha).

Tabla 9

Composición de algunos parámetros nutricionales de las plántulas de lechuga.

Muestra	Peso (g)	Humedad (%)	Cenizas (%)	Ác ascórbico (mg/100g)	Nitrógeno (%)	Calcio (mg/100g)	Fósforo (mg/100g)
Control	2,89±0,85	94,58±0,42	0,85±0,31	11,70±1,28	0,17±0,02	1,72±0,58	2,93±0,09
LCE (sin ajustar pH)	5,07±1,31	91,41±0,34	1,47±0,85	7,77±1,11	0,27±0,01	0,58±0,14	2,78±1,07
LCE (pH ajustado)	2,20±0,73	91,75±0,74	0,77±0,38	12,31±1,42	0,14±0,01	1,05±0,81	2,55±0,27

Aunque en esta etapa no se pueden comparar estos resultados con los de la bibliografía ya que las plantas no habían alcanzado la madurez comercial que es el punto donde se recolectan y se determina su composición química, es necesario destacar los siguientes resultados:

Por un lado, se observó que el contenido en minerales (determinados a través del contenido en cenizas) fue mayor en las plantas regadas con LCE de pH ajustado. Esto sugiere un mayor aprovechamiento de minerales con respecto a los otros casos, especialmente el control. Aunque este último tuvo unos mayores valores de Ca y P. La diferencia está en el contenido en nitrógeno, que ha sido mucho mayor para el caso del LCE de pH ajustado. Por otro lado, el contenido en ácido ascórbico fue menor para el caso del LCE de pH ajustado. Esto, lejos de ser un aspecto negativo, es un indicador de que la planta se encontraba en una situación de menor estrés, ya que el ácido ascórbico (vitamina C), como cualquier otro compuesto antioxidante, es sintetizado en mayor cantidad por las plantas si se encuentran estresadas. Estos resultados confirman que la fracción líquida del lactosuero, tras su procesado, puede tener una utilización agronómica positiva.

Discusión y conclusiones

A raíz de los resultados de este proyecto se puede concluir que entre las bacterias acidolácticas comparadas para llevar a cabo la fermentación del lactosuero dulce procedente de la elaboración de queso fresco de vaca, *L. acidophilus* producía el mejor resultado cuando se inoculaba a una concentración del 2% y sin requerimiento de suplementación nutricional. Produciéndose la fermentación, y la producción de ácido láctico, en 48 horas.

Por otra parte, la separación de la fracción sólida del lactosuero fermentado de la líquida se puede conseguir de forma efectiva con bentonita. Siendo necesario hacer ensayos de dosis para ajustar la cantidad exacta de dicha arcilla a emplear. Además, se ha observado que la utilización de bentonita también implica que los minerales se distribuyen entre la fracción sólida y líquida del lactosuero fermentado. La separación de la fracción sólida (rica en proteína y grasas y minerales) de la líquida (agua y minerales) mediante el uso de bentonita, afirma que esta metodología es sostenible (en términos ambientales y económicos al no emplearse procesos químicos por parte) y de fácil aplicación por parte de las pequeñas y medianas queserías.

Otra de las cosas que se ha observado es que en la composición de la fracción líquida acidificada, clarificada y esterilizada (LCE), no se observaron presencia de compuestos de interés económico para la quesería, como es la proteína o la grasa, y su composición permite ser vertida sin que produzca un problema ambiental al carecer de lactosa, grasa y proteína (compuestos responsables de su DBO).

En cuanto a la utilización del LCE como líquido de gobierno para conservas vegetales, se ha mostrado como un potencial agente capaz de ser compatible con los sistemas de tratamiento térmicos habituales presentes en las queserías (pasteurización y esterilización). Adicionalmente el LCE como líquido de gobierno para conservas vegetales, se ha mostrado como un potencial agente capaz de inhibir los procesos de oxidación enzimático en la borraja, posiblemente debido a la polifenol-oxidasa. Por último, el LCE como componente para la formulación de bioestimulantes vegetales, se ha mostrado como un potencial agente capaz de mejorar la respuesta de la planta tras un proceso de ajuste de su pH hacia valores neutros.

Agradecimientos

Los autores desean expresar un especial agradecimiento al Dr. Marcos Hernández Suárez por el apoyo y asesoramiento en este proyecto, poniendo a disposición su conocimiento y dedicación. Asimismo, los autores agradecen a la Sociedad para el Desarrollo de Cantabria (SODERCAN) la cofinanciación del proyecto EC18-XX-002 perteneciente a la Convocatoria de Economía Circular.

Referencias

- Callejas J., Prieto F., Reyes V., Marmolejo Y., Méndez M. (2012). Caracterización fisicoquímica de un lactosuero: potencialidad de recuperación de fósforo. *Acta Universitaria*, 22(1),11-18.
- Kreczmann B., Alonso A., Liloia M., Zamboni E., Cerutti R., Baroni D., Poluján D. (2015). Procesamiento del lactosuero: elaboración de lactosa y aprovechamiento de proteínas. *Tecnología Láctea Latinoamericana*, 87, 44-49.
- Lievore, P., Simões, D. R. S., Silva, K. M., Drunkler, N. L., Barana, A. C., Nogueira, A., & Demiate, I. M. (2015). Chemical characterisation and application of acid whey in fermented milk. *Journal of Food Science and Technology*, 52(4), 2083–2092. <https://doi.org/10.1007/s13197-013-1244-z>
- Martín, P. (2021). *Diseño y dimensionamiento de una línea con capacidad de 800 L/día para producción de queso con Denominación de Origen “Queso Zamorano” en Morales del Vino (Zamora)*. Universidad Politécnica de Madrid.
- Martínez, M., Remón, D., Ribot, A., Riverón, Y., Capdevila, J.Z., Hernández, A., Peña, G.C., Martínez, A. (2020). *Evaluación de coagulante lácteo porcino en la elaboración de queso fresco artesanal*.
- Muset G., Castells, M. L. (2017). *Valorización del lactosuero*. Instituto Nacional de Tecnología Industrial.
- Pérez F., Amaro I., Hernández M., Córdoba M. G. (2012) Valorización del lactosuero de quesería para su empleo como biopesticida. In *La agricultura y ganadería extremeña* (pp.161-172).
- Sainz, H. (2002). *Alimentos y bebidas con Denominaciones de Origen y distintivos de calidad*. Distribución y Consumo.

- Vázquez, V.M., Gómez, L.A., López, E.J., García, E., Vela, G. (2019). Optimización del proceso de elaboración y viabilidad de bacterias probióticas en un queso untable tipo ricotta. *Revista Internacional de investigación e innovación tecnológica*, 6(36).
- Villota G., Cuesta F., Flóres D., Rendon E., Toro A., Velasco D., Mariana Y. (2015). *Manejo integral del lacto-suero. Algunas aplicaciones*. Servicio Nacional de Aprendizaje

Fecha de recepción: 02/06/2022

Fecha de revisión: 27/06/2022

Fecha de aceptación: 06/07/2022