

**Marta Wesolowska-Trojanowska, Zdzisław Targoński**

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

marta.wesolowska-trojanowska@up.lublin.pl

---

## WYKORZYSTANIE SERWATKI W PROCESACH BIOTECHNOLOGICZNYCH

---

**Streszczenie:** Procesy biotechnologiczne są zaliczane do atrakcyjnych kierunków zagospodarowania i przetwarzania serwatki. Serwatka jako produkt uboczny jest tanim substratem dla różnych procesów i jednocześnie jest bardzo cenna ze względu na swój skład. Dobranie odpowiednich mikroorganizmów, mających zdolność do przekształcania składników zawartych w serwatce (głównie laktozy), oraz właściwych warunków procesu pozwala na uzyskanie wartościowych produktów wykorzystywanych najczęściej w przemyśle spożywczym i farmaceutycznym.

**Słowa kluczowe:** serwatka, kwasy organiczne, guma ksantanowa, etanol, napoje serwatkowe.

DOI: 10.15611/nit.2014.1.07

### 1. Wstęp

Każdego roku przemysł spożywczy wytwarza duże ilości produktów ubocznych i odpadów. Głównym produktem ubocznym przemysłu mleczarskiego jest serwatka. Szacuje się, że w Unii Europejskiej produkuje się ok. 9 mln ton sera rocznie, co daje roczną produkcję serwatki rzędu 50 mln m<sup>3</sup>. Blisko 50% całej produkcji serwatki jest przetwarzane w różne produkty żywnościowe, z czego ok. 45% wykorzystuje się bezpośrednio w postaci ciekłej, 30% w postaci proszku, 15% jako laktozę i produkty uboczne bez laktozy, a reszta jako koncentraty białek serwatkowych [Marwaha, Kennedy 1988]. Produktami, które są wytwarzane obecnie lub mogą być potencjalnie wytwarzane z serwatki, są: pasze dla zwierząt, biomasa mikrobiologiczna i inne fermentowane produkty jadalne, drożdże piekarskie, kwasy organiczne, aminokwasy, enzymy, aromaty, barwniki, mikrobiologiczne gumy i polisacharydy. Chociaż procesy te okazały się technicznie możliwe do wykonania, często bywają nieopłacalne [Ghaly i in. 2007].

Ostatnio, wraz z doniesieniami o korzystnym wpływie białek serwatkowych na zdrowie dzieci, osób dorosłych i starszych, wzrasta popyt na serwatkę. Wykorzystanie frakcji białek do produkcji farmaceutyków kontrolujących ciśnienie krwi

i indukujących sen może w najbliższym czasie spowodować wzrost zastosowań serwatki w przemyśle farmaceutycznym. Raport *The World Market for Whey and Lactose Products 2006-2010 From Commodities to Value Added Ingredients* [<http://www.3abc.dk/Report%20information%202007.pdf>] wyraźnie pokazuje, jak rośnie, pod względem ilości i wartości, wykorzystanie serwatki. Główną siłą napędową dla tego rynku są suplementy diety, odżywki dla sportowców i żywność funkcjonalna. W latach 2004-2006, w stosunku do lat 2001-2003, nastąpiło zwiększenie o 60% konsumpcji wprowadzonych na rynek w tym okresie produktów zawierających koncentraty białek serwatkowych (WPC) [Kosseva i in. 2009].

Część serwatki pozostaje w dalszym ciągu niewykorzystana. Utylizacja serwatki stanowi bardzo poważny problem ekologiczny ze względu na jej duże ilości i wysokie biochemiczne zapotrzebowanie tlenu. Serwatka zakłóca procesy biologiczne wykorzystywane w konwencjonalnym oczyszczaniu ścieków. Wprowadzona do środowiska ma wpływ na fizyczną i chemiczną strukturę gleby, powoduje zmniejszenie plonów, a kiedy dostanie się do zbiorników wodnych, powoduje zagładę ekosystemów wodnych przez wyczerpywanie rozpuszczonego tlenu. Tak więc stanowi poważne zagrożenie dla środowiska i zdrowia ludzi [Ghaly i in. 2007]. W badaniach Janczukowicza i wsp. [2008] oceniono podatność na biodegradację ścieków pochodzących z mleczarni. Wykazano, że wszystkie ścieki mleczarskie mogą być traktowane łącznie, z wyjątkiem serwatki, której skład chemiczny powoduje zbyt wiele obciążeń dla systemu każdej oczyszczalni ścieków. Substancje szkodliwe znajdujące się w serwatce okazały się najbardziej odporne na biodegradację.

O przydatności serwatki w procesach biotechnologicznych decyduje głównie zawartość laktozy, kwasu mlekowego, mikroelementów oraz witamin. Laktoza jest dobrym źródłem energii dla wielu grup drobnoustrojów, zwłaszcza dla bakterii fermentacji mlekowej i niektórych gatunków drożdży [Pijanowski, Gaweł 1986]. Może być zatem wykorzystana w wielu procesach fermentacyjnych. Dodatkowo hydrolizaty laktozy (glukoza, galaktoza) są przyswajalne łatwiej i przez większą liczbę mikroorganizmów, co daje szersze możliwości w wykorzystaniu serwatki w procesach biotechnologicznych.

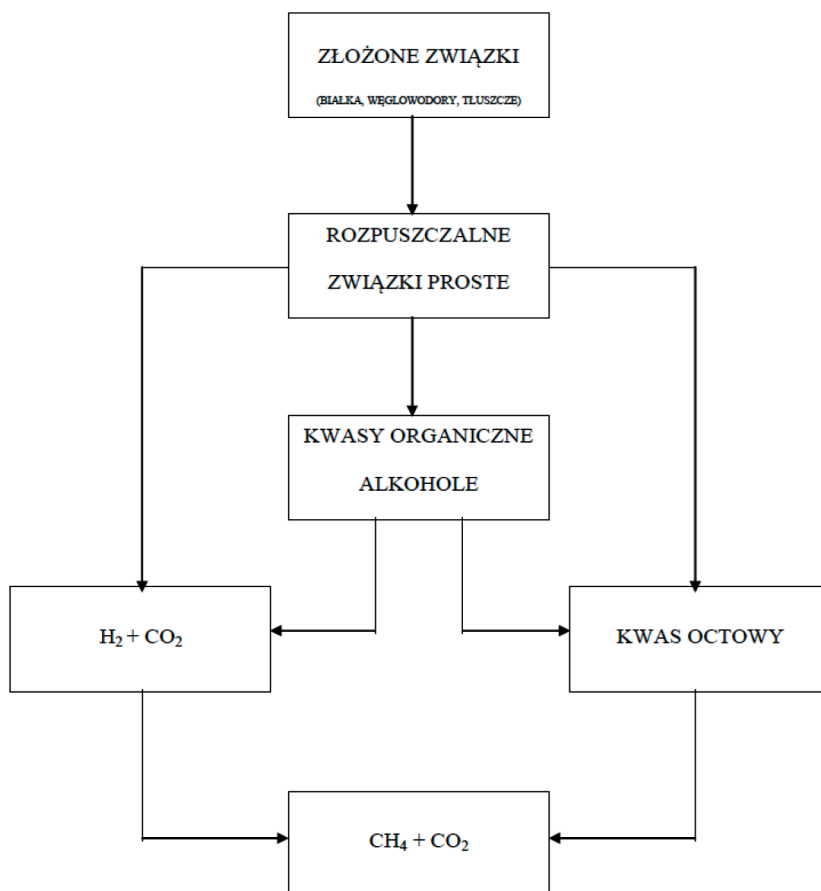
W artykule dokonano przeglądu aktualnego stanu wiedzy dotyczącego możliwości wykorzystania serwatki w różnych obszarach przemysłu spożywczego, farmaceutycznego i biotechnologicznego.

## **2. Procesy biotechnologiczne w przetwarzaniu serwatki**

### **2.1. Otrzymywanie biogazu**

Fermentacja metanowa jest procesem anaerobowym przeprowadzanym przez bakterie fermentacji metanowej. Substratem w tym procesie może być serwatka. Fermentacja przebiega w warunkach naturalnych bądź kontrolowanych przez człowieka [<http://liu.diva-portal.org/smash/record.jsf?pid=diva2:21340>]. W wyniku beztleno-

wej fermentacji można uzyskać od 50 do 80% metanu [Najafpour i in. 2010]. Jest to złożony proces zachodzący z udziałem trzech grup mikroorganizmów, z których każda wymaga specyficznych dla siebie warunków środowiskowych. Czterema głównymi etapami tego rozkładu są: hydroliza, kwasogeneza, octanogeneza i metanogeneza [<http://liu.diva-portal.org/smash/record.jsf?pid=diva2:21340>; Bednarski, Fiedurek 2007; Jędrzak 2008; Magrel 2004]. Proces ten ilustruje rys. 1.



Rys. 1. Uproszczony schemat fermentacji metanowej

Źródło: [<http://liu.diva-portal.org/smash/Record.jsf?pid=diva2:21340>].

Podczas pierwszego etapu fermentacji, tj. hydrolizy, związki o dużej masie cząsteczkowej (białka, węglowodany i tłuszcze) są poddawane enzymatycznemu rozkładowi do monomerów i dimerów. W rezultacie powstają małe, rozpuszczalne w wodzie związki, takie jak: aminokwasy, monosacharydy, alkohole i długołańcuchowe kwasy tłuszczowe [Bednarski, Fiedurek 2007; Jędrzak 2008]. Zewnątrzkomórkowe

enzymy wydzielane są przez beztlenowe fakultatywnie lub obligatoryjnie bakterie (*Aerobacter*, *Alcaligenes*, *Clostridium*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Lactobacterium*) [Bednarski, Fiedurek 2007].

Następnym etapem jest kwasogenezę, w której biorą udział bakterie kwasogenne. Bakterie te przekształcają rozpuszczone w wodzie związki, głównie do kwasu octowego, ditlenku węgla i wodoru cząsteczkowego. Innymi produktami tej fermentacji są krótkołańcuchowe kwasy organiczne: propionowy, masłowy, izomasłowy, walerianowy, izowalerianowy, bursztynowy, mlekowy, mrówkowy oraz alkohole i aldehydy [<http://liu.diva-portal.org/smash/record.jsf?pid=diva2:21340>; Magrel 2004; Jodłowski, Jodłowski 2008].

W etapie octanogenezy reszta produktów fazy kwaśnej (etanol, lotne kwasy tłuszczowe) musi zostać przekształcona w substraty, które w dalszej kolejności mogą być wykorzystane przez bakterie metanowe. Istnieją dwa szlaki otrzymywania kwasu octowego. Pierwszy z nich polega na beztlenowym utlenieniu długołańcuchowych kwasów tłuszczowych i jest prowadzony przez bakterie z rodzaju *Eubacteria* (*Syntrophomonas wolfei*, *Syntrophomonas wolnii*, *Syntrophus*). Rodzina ta charakteryzuje się wrażliwością na duże stężenia wodoru w środowisku i dlatego jej aktywność zależy od wykorzystania wodoru przez bakterie metanowe w generowaniu metanu (międzygatunkowe przenoszenie wodoru). Drugi szlak polega na fermentacji heksoz lub reakcji  $\text{CO}_2$  i  $\text{H}_2$  [Bednarski, Fiedurek 2007]. Etap ten determinuje wydajność procesu produkcji biogazu.

Podczas metanogenezy metan może być otrzymywany dwoma sposobami: w drodze biologicznego rozkładu octanu przez heterotroficzne bakterie metanowe lub przez redukcję ditlenku węgla z udziałem bakterii autotroficznych. Około 2/3 metanu powstaje z octanów, a 1/3 z redukcji ditlenku węgla wodorem [Magrel 2004]. Metanobakterie zaliczamy do *Archeobacteriales*. Są one bezwzględnie beztlenowcami, pojawienie się już niewielkich ilości tlenu ( $0,01 \text{ mg/dm}^3$ ) powoduje ich inhibicję. Wyzolowano ponad 40 szczepów bakterii metanowych. Są one zróżnicowane pod względem morfologicznym i jednocześnie wyspecjalizowane do przyswajania oraz przetwarzania określonych substratów [Jędrzcak 2008].

Serwatka jest biodegradowalna na wysokim poziomie (do 99%). Aby cały proces był stabilny, należy uprzednio serwatkę rozcieńczyć lub odbiałyć [<http://liu.diva-portal.org/smash/record.jsf?pid=diva2:21340>]. Wartość opałowa tak otrzymanego biogazu wynosi ok.  $26\,981 \text{ kJ/Nm}^3$ . Z 1 tony serwatki można otrzymać do  $55 \text{ m}^3$  gazu zawierającego w swym składzie głównie metan (ok. 78%). Biogaz otrzymany z serwatki jest dobrej jakości i można go zaliczyć do siódmej podgrupy gazów ziemnych. Ponadto nie zawiera związków siarki i może być bezpośrednio wykorzystywany do spalania w kotłach parowych bez wcześniejszego odsiarczania. Woda po fermentacji posiada BZT5 wynoszący ok. 35, dlatego można ją bezpiecznie odprowadzać do zbiorników wodnych klasy I [Kumider 1996; Jędrzejewska-Cicińska, Kozak 2007].

## 2.2. Produkcja biomasy mikrobiologicznej (SCP)

Termin *Single Cell Protein* (SCP) został utworzony w 1960 r. dla określenia biomasy drobnoustrojów powstałej w procesie fermentacji [Ugalde, Castrillo 2002]. SCP odnosi się do wysuszonej biomasy mikroorganizmów takich jak glony, promieniowce, bakterie, drożdże, pleśnie i grzyby wyższe, rosnących w wielkoskalowych hodowlach, wykorzystywanych jako źródło białka w żywności dla ludzi i zwierząt. Najważniejszą cechą tych jednokomórkowych organizmów jest wysoka zawartość białka wynosząca od ok. 40 do 80% suchej masy. Ponadto białka te charakteryzują się wysoką jakością, pod względem właściwości są zbliżone bardziej do białek zwierzęcych niż roślinnych.

W poszukiwaniu odpowiednich mikroorganizmów, zdolnych do wzrostu na laktozie serwatkowej, jako substratów do produkcji białka najwięcej prac badawczych opiera się na drożdżach aniżeli na innych mikroorganizmach [Ghaly, Kamal 2004]. Drobnoustroje wykorzystywane do produkcji SCP powinny posiadać takie cechy, jak: wszechstronność w metabolizowaniu różnych substratów zawartych w pożywce, tolerancja na zmiany składu podłoża, rozwinięty kompleks enzymów oddechowych i słabo rozbudowany kompleks enzymów fermentacyjnych oraz właściwości technologiczne ułatwiające wydzielenie białka z pożywki [Bednarski, Fiedurek 2007].

W biosyntezie białka najbardziej przydatne są drożdże z rodzaju: *Kluyveromyces*, *Candida* i *Trichosporon*, ponieważ są one naturalnie zdolne do metabolizowania laktozy [Moeini i in. 2004].

Istnieją technologie namnażania biomasy drożdży w pożywce z serwatki lub permeatu po ultrafiltracji serwatki. W większości metod serwatkę lub permeat po jej UF przed hodowlą pasteryzuje się, wymóg ten może być zastąpiony ultrafiltracją przy pH 3,2. Ponadto uzupełnia się ich skład w niezbędne związki zawierające makroelementy: fosfor i potas oraz mikroelementy: żelazo, mangan, miedź, cynk [Bednarski, Reps 2003; Bednarski, Fiedurek 2007].

Spośród wielu opisanych procesów produkcji białka mikrobiologicznego należy wyróżnić technologię Bel. W technologii Bel namnaża się jednocześnie trzy szczepy drożdży: *Kluyveromyces marxianus* var. *lactis*, *Kluyveromyces marxianus* var. *marxianus* i *Candida pintolopesii*. Do tego procesu nie stosuje się pełnej serwatki, ponieważ mikroorganizmy nie mogą metabolizować białek w niej zawartych. Ponadto białka mogą sprzyjać flokulacji drożdży, hamując fermentację. Wykorzystuje się więc serwatkę odbiałczaną termicznie w temperaturze 90°C i pH 4,5 lub permeat po ultrafiltracji [Bednarski, Reps 2003; Bednarski, Fiedurek 2007]. W zależności od stosowanej serwatki, czasami konieczne jest jej rozcieńczenie (aby zawartość laktozy wynosiła 20-25 g/dm<sup>3</sup>) i dodanie nieorganicznych związków azotu i mikroelementów. Drożdże w technologii Bel hodowane są metodą ciągłą przez okres dłuższy niż rok, bez przerwy, przy pH 3,5 i w temperaturze 38°C. Warunki podwyższonej temperatury i kwaśnego odczynu ograniczają ryzyko zakażenia niepożądanymi

ną mikroflorą. Hodowlę w zbiorniku fermentacyjnym o pojemności 23 m<sup>3</sup> należy bardzo intensywnie napowietrzać (ok. 80 dm<sup>3</sup>/(dm<sup>3</sup>×h), system Lefrançois) w celu uniknięcia tworzenia się etanolu [Bednarski, Reys 2003; Gonzales 1996]. Spośród trzech stosowanych szczepów drożdży *Kluyveromyces marxianus* var. *lactis* ma predyspozycje do utylizacji laktozy i kwasu mlekowego, *Kluyveromyces marxianus* var. *marxianus* – laktozy, a *Candida pintolopesii* – alkoholu etylowego. Taka kombinacja mikroorganizmów pozwala na całkowitą transformację laktozy, kwasu mlekowego i etanolu, który może pojawiać się w warunkach niedoboru tlenu w pożywce. Wydajność suszonej biomasy sięga 50% masy użytej laktozy. Biomasa drożdży odzyskiwana jest z pożywki metodą wirowania, a następnie plazmolizy poprzez ogrzewanie w temperaturze 85°C lub mechanicznej dezintegracji i wreszcie suszona metodą rozpryskową. Uzyskana masa zawiera 48-52% białka o zrównoważonej zawartości niezbędnych aminokwasów, bogata jest w lizynę oraz witaminy z grupy B. „Protibel” to nazwa handlowa preparatu produkowanego przez zakłady z technologią Bel. Ich roczna produkcja wynosi 2300 ton tego produktu [Bednarski, Reys 2003].

Inną technologią upowszechnioną również we Francji jest technologia Vienna. Szczep drożdży *Candida intermedia*, charakteryzujący się wyłącznie oksydacyjnym metabolizmem laktozy, namnażany jest w procesie ciągłym prowadzonym w temperaturze 32-33°C, pH 3,4-3,6 i napowietrzanym z intensywnością 40 dm<sup>3</sup>/(dm<sup>3</sup>×h). W tym celu wykorzystuje się serwatkę wzbogaconą amoniakiem. Technologia Vienna zapewnia wydajność biosyntezy 4,5 g s.s./dm<sup>3</sup>×h [Bednarski, Reys 2003; Bednarski, Fiedurek 2007].

Przemysłowy proces produkcji drożdży piekarskich *Saccharomyces cerevisiae* w pożywce z serwatki prowadzony jest w Nutrisearch Copmany w Kentucky (USA) od 1983 roku. Technologia ta składa się z dwóch etapów. W pierwszym laktoza zawarta w serwatce hydrolizowana jest przez immobilizowany enzym β-D-galaktozydazę. Następnie zachodzi fermentacja glukozy i galaktozy [Bednarski, Reys 2003].

Drożdże *Kluyveromyces* spp. zostały najszerzej zbadane po biokonwersji laktozy i produkcji biomasy mikrobiologicznej na podłożu z serwatki [Moeini i in. 2004; Castrillo, Ugalde 1993]. Wyniki badań wskazują, że szczepy wyizolowane z produktów mlecznych *Kluyveromyces lactis* i *Kluyveromyces marxianus* mogą być kandydatami do rentownej produkcji SCP. Również mieszane kultury *Kluyveromyces lactis* i *Kluyveromyces marxianus* z *Saccharomyces cerevisiae* wydają się być atrakcyjne pod względem uzyskiwania biomasy mikrobiologicznej [Moeini i in. 2004]. Anvari i Khayati [2011] wykazali, iż wyizolowane przez nich szczepy *Kluyveromyces marxianus* wydajnie produkują SCP o wysokiej zawartości białka oraz dobrym składzie aminokwasów i zawartości tłuszczu w porównaniu ze standardami FAO. Również Schultz i in. [2006] wykorzystali w doświadczeniu Crabtree-ujemny szczep *Kluyveromyces marxianus* CBS 6556. Celem badania była produkcja SCP na podłożu z odbiałczanych koncentratów serwatki kwaśnej lub słodkiej. Dowiedli, że suplementacja pożywki prowadzi do efektywnego przekształcenia laktozy w biomasę.



Drożdże fermentujące laktozę występują również w kefirze, naturalne mieszaniny kultur odnalezione zostały w kaukaskim napoju mlecznym [Bekatorou i in. 2005; Koutinas i in. 2005]. Zawiera on różne mikroorganizmy żyjące w symbiozie, w tym wiele gatunków metabolizujących laktozę, takich jak *Kluyveromyces*, *Candida*, *Saccharomyces*, *Debaryomyces*, *Zygosaccharomyces*, bakterie kwasu mlekowego i od czasu do czasu bakterie kwasu octowego [Bekatorou i in. 2005]. Drożdże kefirowe wykorzystane zostały również w biosyntezie białka mikrobiologicznego. Badania dotyczące zastosowania tego białka jako dodatku do żywności pokazały, że SCP (zawierające 53,9% białka) wykazują podobne właściwości emulgujące do odtłuszczonej mąki sojowej, podczas gdy jego właściwości pniące i żelujące są lepsze. Wykorzystanie tej biomasy jako paszy dla zwierząt jest dobrze znaną praktyką [Koutinas i in. 2005].

### 2.3. Produkcja kwasu mlekowego

Fermentacja mlekowa laktozy zawartej w serwatce prowadzi do powstania kwasu mlekowego, który ma powszechne zastosowanie jako substancja ukwaszająca i konserwująca w przemyśle spożywczym, farmaceutycznym, tekstylnym i skórzanym. Jest wykorzystywany także do produkcji surowców chemicznych. W ostatnim czasie nastąpił wzrost zainteresowania produkcją mleczanu wapnia, ponieważ może on być wykorzystany jako surowiec do produkcji biodegradowalnych polimerów, kwasu polimlekowego (PLA), akrylowego i PLGA, które mogą być alternatywą dla syntetycznych polimerów pochodzących z ropy naftowej [Hofvendahl, Hahn-Hägerdal 2000; Panesar i in. 2007; Soriano-Perez i in. 2011]. Tworzywa takie jak PLA mogą być wykorzystywane do poprawy właściwości fizycznych worków na śmieci, rolniczych folii i opakowań do żywności. Ze względu na swoje właściwości biodegradowalne i bioabsorbowalne mogą również znaleźć zastosowanie w produkcji szwów i implantów chirurgicznych [Fontes i in. 2011]. Kwas mlekowy (LA) występuje w postaci dwóch izomerów optycznych: enancjomer lewoskrętny L-LA i enancjomer prawoskrętny D-LA. Obie formy kwasu ulegają polimeryzacji i w zależności od składu mogą być produkowane polimery o różnych właściwościach. Mikrobiologiczna produkcja LA charakteryzuje się tym, że wybrany szczep bakterii fermentacji mlekowej (LAB) syntetyzuje tylko jeden enancjomer i w ten sposób można otrzymać optycznie czysty produkt. W wyniku syntetycznej produkcji, poprzez hydrolizę laktonitrylu, powstaje mieszanina racemiczna kwasu mlekowego [Hofvendahl, Hahn-Hägerdal 2000; Panesar i in. 2007; Soriano-Perez i in. 2011]. W roku 2002 światowa produkcja mleczanu wapnia wynosiła ok. 150 000 ton, z tego 90% pochodziło z fermentacji odpadów rolnych lub rolno-przemysłowych przez LAB [Hofvendahl, Hahn-Hägerdal 2000; Panesar i in. 2007; Secchi i in. 2011].

Fermentacja laktozy w serwatce lub jej permeacie po UF realizowana w procesie okresowym przy użyciu wolnych komórek bakterii mlekowych hamowana jest produktem końcowym. Wynikiem tej inhibicji jest niskie stężenie komórek,

mała szybkość tworzenia mleczanu wapnia i trudności związane z wydzieleniem go z cieczy pofermentacyjnej. Ostatni problem decyduje o wysokich kosztach i małej produktywności procesu [Bednarski, Fiedurek 2007]. W celu ograniczenia inhibicji fermentacji przez kwas mlekowy utrzymuje się kwasowość pożywki w granicach pH 5,5-6,0 poprzez dodatek węglanu wapniowego, wodorotlenku wapniowego lub wodorotlenku amonowego. W tej technologii najczęściej wykorzystuje się szczepki bakterii z rodzaju *Lactobacillus* (*L. helveticus*, *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*, *L. acidophilus*, *L. casei itp.*). Możliwe jest stosowanie czystych lub mieszanych kultur. Wysokie stężenie kwasu mlekowego zostało osiągnięte, gdy wykorzystano synergę pomiędzy drożdżami *Kluyveromyces marxianus* oraz dwoma szczepami bakterii *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* i *Lactobacillus helveticus* [Plessas i in. 2008]. Natomiast Secchi i wsp. [2011] zastosowali *Lactobacillus casei* i *Streptococcus thermophilus* do biokonwersji scotta (produkt uboczny przy produkcji sera riccota). Wykazali, że zastosowanie tych szczepów razem podnosi wydajność produkcji mleczanu wapnia, zmniejsza zapotrzebowanie na suplementację pożywki oraz daje możliwość uzyskania do 99% kwasu L-mlekowego.

*Lactobacillus helveticus* produkuje dwa razy więcej kwasu mlekowego w porównaniu z innymi typowymi LAB. Szczep ten należy do grupy bakterii termofilnych, acidofilnych i homofermentatywnych, a produktem ich fermentacji jest mieszanina racemiczna [Panesar i in. 2007]. Soriano-Perez i wsp. [2011] badali zdolność *Lactobacillus helveticus* do przekształcania laktozy zawartej w serwatce do mleczanu wapnia w hodowli okresowej. Określili optymalne warunki pH środowiska i temperaturę, a także wpływ dodatku źródeł azotu na osiągnięcie maksymalnej szybkości produkcji kwasu. Według nich temperatura i pH są najważniejszymi parametrami wpływającymi na wydajność wytwarzania LAB. Ustalili, że najlepszymi warunkami do przeprowadzania fermentacji mlekowej w hodowli okresowej są temperatura 45°C i pH 5,9 oraz że dodatek ekstraktu drożdżowego do pożywki nie wpływa znacząco na wydajność procesu. W przeprowadzonym przez Soriano-Perez i wsp. [2011] doświadczeniu w optymalnych warunkach uzyskali najwyższe tempo produkcji wynoszące 3,2g/l/h. Natomiast Ghaly i wsp. [2004] badali wpływ początkowego stężenia laktozy w pożywce ze skoncentrowanej serwatki na ilość produkowanego mleczanu oraz ilość i tempo wzrostu biomasy w hodowli okresowej *Lactobacillus helveticus*. Optymalne stężenie laktozy dla produkcji kwasu oraz dla największej liczby komórek wynosi 75g/l. Najwyższa produkcyjność kwasu mlekowego przy użyciu szczepu *Lactobacillus casei*, wynosząca 3,97g/l/h, została osiągnięta w temperaturze 37°C i pH 5,5. Wymagania pokarmowe bakterii kwasu mlekowego są złożone, zwłaszcza wymagania dotyczące źródła azotu. Metabolizują one tylko część dostępnych peptydów. Pożywki, które mają wysoką zawartość białka, często uzupełnia się ekstraktem drożdżowym lub peptonem. W wielu badaniach wykazano, że obecność ekstraktu drożdżowego jest niezbędna do wydajnej produkcji kwasu mlekowego przez LAB. Niska suplementacja podłoża hodowlanego w źródło azotu może powodować wydłużenie fazy lag wzrostu komórek. Ghaly i wsp. [2004]



ustalili, że dodanie ekstraktu drożdżowego do pożywki o początkowym stężeniu laktozy wynoszącym 100g/l, w okresowej hodowli *Lactobacillus helveticus*, jest najkorzystniejsze z ekonomicznego punktu widzenia. Suplementacja powoduje skrócenie fazy lag i czasu fermentacji oraz wzrostu liczby komórek, szybkości wzrostu, stopnia wykorzystania laktozy i produkcji kwasu mlekowego. Wykazano również, że dodawanie ekstraktu drożdżowego czy lizatów białka można zastąpić poprzez obróbkę pożywki, *in situ*, enzymami proteolitycznymi lub przez bakterie proteolityczne. Obserwowano szybszą produkcję kwasu mlekowego po dodaniu do podłoża proteaz, jak również bakterii proteolitycznych *Bacillus megaterium* [Panesar i in. 2007]. Oprócz związków azotowych do wydajnej produkcji kwasu mlekowego pożywkę wzbogaca się w biostymulatory (kielki słodowe, niechmieloną brzeczkę słodową, zarodki żytnie i pszenne, wyciągi z fasoli lub wyki), makro- i mikroelementy, witaminy, a także melasę [Bednarski, Rejs 2003; Bednarski, Fiedurek 2007; Panesar i in. 2007; Amrane 2000]. Amrane [2000] stwierdził, że dodanie do serwatki nieorganicznego fosforanu powoduje wzrost produktywności *Lactobacillus helveticus* (o 40% dla medium z dodatkiem 2 g/l ekstraktu drożdżowego). Jednak ten pozytywny wpływ nie był obserwowany w pożywkach z wysoką zawartością związków azotu. Natomiast mangan pozytywnie wpływał na fermentację permeatu serwatki przez *Lactobacillus casei*, ze względu na jego rolę jako składnik dehydrogenazy mleczanowej. Dodanie  $\text{MnSO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$  do podłoża powodowało znaczne obniżenie czasu hodowli okresowej z użyciem *Lactobacillus casei*. Ponadto wprowadzenie manganu do pożywki pozwalało na dodanie mniejszych ilości ekstraktu drożdżowego, przy zachowaniu wysokiej produktywności kwasu mlekowego [Panesar i in. 2007]. Tradycyjne wydzielanie kwasu z cieczy pofermentacyjnej poprzez krystalizację mleczanów wapnia lub cynku, a następnie jego uwalnianie z mleczanów kwasem siarkowym (VI) jest pracochłonne. W tej technologii do uwalniania kwasu z mleczanu amonu i absorbowania kationów z pożywki stosowane były kationity o silnie kwaśnych grupach funkcyjnych [Bednarski, Fiedurek 2007].

Produkcja kwasu mlekowego metodą hodowli okresowej ma pewne wady. Czas fermentacji jest wyjątkowo długi, co wymaga większej objętości fermentora i podnosi koszty operacyjne oraz konieczność dodawania jonów wapnia lub amonu w sposób ciągły w celu neutralizacji produkowanego kwasu mlekowego [Panesar i in. 2007]. Zaletami produkcji kwasu mlekowego w procesie ciągłym są wysoka wydajność oraz brak konieczności stosowania fermentorów o dużej pojemności. Recykling komórek powoduje wzrost stężenia biomasy, a tym samym zwiększenie tempa produkcji mleczanu i zmniejszenie wskaźnika retencji [Panesar i in. 2007].

#### 2.4. Produkcja kwasu propionowego

Kwas propionowy (kwas propanowy) jest szeroko wykorzystywany w przemyśle spożywczym, farmaceutycznym i kosmetycznym. Jest stosowany głównie w postaci soli do utrwalania ziarna zbóż paszowych i wysłódzin. Kwas propionowy wykorzy-

stuje się również do produkcji herbicydów, środków farmaceutycznych, tworzyw sztucznych, niektórych wędlin oraz do przedłużania trwałości pieczywa. Obecnie prawie cała produkcja kwasu propionowego odbywa się w procesach petrochemicznych, ponieważ jego biosynteza jest mniej opłacalna [Bednarski, Reys 2003; Bednarski, Fiedurek 2007; Kośmider i in. 2009; Morales i in. 2006].

Substratami w fermentacji propionowej mogą być: serwatka, permeat serwatki po UF, delaktozowany permeat z serwatki (odpadowy koncentrat po krystalizacji laktozy), laktoza wydzielona z serwatki [Bednarski, Fiedurek 2007]. Bakterie propionowe są gram-dodatnie, nie wytwarzają spor i są fakultatywnymi beztlenowcami. Optimum pH wzrostu wynosi 6-7 [Lewis, Yang 1992]. Bakterie propionowe należą do *Propionibacterium* i *Clostridium propionicum* [Najafpour i in. 2010]. Fermentacja propionowa jest inhibitowana niskim pH i głównym produktem (kwasem propionowym). Proces ten jest heterogenny, prócz kwasu propanowego wytwarzane są produkty uboczne. W związku z tym konwencjonalna technologia fermentacji jest nieefektywna [Lewis, Yang 1992].

Morales i wsp. [2006] wykorzystali *Propionibacterium acidipropionici* do produkcji kwasu propionowego z laktozy uzyskanej z serwatki. Celem ich badania była intensyfikacja biosyntezy propionianu i zmniejszenie ilości wytwarzanego kwasu octowego przy użyciu inhibitorów enzymów, takich jak benzoesan jodu. Związek ten znany jest z inhibicji pewnych enzymów szlaku kwasu octowego. Badacze ci dowiedli, że dodanie 0,3 mM benzoesanu jodu powoduje zwiększenie populacji komórek i 2,4-krotny wzrost tempa produkcji kwasu propionowego, natomiast produkcja kwasu octowego zmniejsza się o 30% w stosunku do próby kontrolnej.

Dużą produktywność kwasu propionowego z permeatu serwatki po UF można uzyskać dzięki zastosowaniu metody ekstrakcyjnej fermentacji zaproponowanej przez Lewisa i Yanga [1992]. Komórki bakterii *Propionibacterium acidipropionici* były immobilizowane na spiralnie zwiniętej, włóknistej matrycy upakowanej w bioreaktorze. Kwas propionowy ekstrahowany był z cieczy pofermentacyjnej mieszaniną aminy trzeciorzędowej i 2-oktanolu. Mieszanina ta ma wysoki współczynnik ekstrakcji, generalnie nie jest toksyczna dla bakterii propionowych, można ją wykorzystać *ex situ* podczas fermentacji propionowej, jej użycie powoduje też zwiększenie wydajności o ponad 100%. Ekstrakcyjna fermentacja zapewnia również lepszą kontrolę pH (poprzez usuwanie kwaśnych produktów) i otrzymanie czystego produktu. Kwas propionowy obecny w mieszaninie ekstrakcyjnej może być łatwo usunięty dzięki dodaniu niewielkich ilości zasady, w wyniku czego powstaje sól propionowa. Podczas tego etapu następuje regeneracja ekstrahenta. Tak więc opisany proces jest energooszczędny i atrakcyjny ekonomicznie [Lewis, Yang 1992].

Gupta i Srivastava [2001] w ciągłym procesie produkcji kwasu propionowego z serwatki użyli urządzenia spin filtr. Doświadczalnie potwierdzono poprawę wydajności fermentacji propionowej przez zastosowanie hodowli ciągłej bakterii *Propionibacterium acidipropionici* i wysokiej retencji komórek w procesie filtracji. W procesie tym świeża pożywka dostarczana była do bioreaktora poza spin filtr, zużyte

podłoże zaś było odpowiednio filtrowane i odprowadzane na zewnątrz. Pozwoliło to na zatrzymanie mikroorganizmów wewnątrz reaktora. Gupta i Srivastava [2001] ustalili, że rozwój bakterii propionowych w pożywce z serwatki wzbogaconej ekstraktem drożdżowym, w warunkach beztlenowych, w temperaturze 30°C i pH 6,5 sprzyjał syntezie kwasu propionowego, bez względu na metody hodowli bakterii (okresowa, ciągła i ciągła ze spin filtrem). Wydajność kwasu propionowego metodą ciągłą z zastosowaniem zatrzymywania komórek była najwyższa i wynosiła 70%, a produktywność objętościowa w tym systemie wynosiła aż 0,98 g/l×h.

## 2.5. Produkcja kwasu cytrynowego

Kwas cytrynowy jest najważniejszym kwasem organicznym wykorzystywanym w przemyśle spożywczym. Ze względu na niską toksyczność jest szeroko stosowany jako środek zakwaszający, przeciwutleniacz, emulgator i konserwant. Wykorzystywany jest także w przemyśle farmaceutycznym i kosmetycznym oraz jako środek myjący w procesie CIP [Yalcin i in. 2010].

Metodą fermentacji wglębnej i powierzchniowej serwatki lub permeatu po UF można otrzymać kwas cytrynowy. Do tego procesu wykorzystuje się przede wszystkim szczepki grzyba *Aspergillus niger*. Jednak wydajność tej biosyntezy kwasu z serwatki lub permeatu jest kilkakrotnie niższa w porównaniu do pożywek z sacharozą, glukozą czy fruktozą [Bednarski, Rejs 2003]. Dodatek sacharozy, metanolu czy soli mineralnych oraz kontrola pH zwiększa produktywność cytrynianu [El-Holi, Al-Delaimy 2003; Ely-Samragy i in. 1996]. El-Holi i Al-Delaimy [2003] stwierdzili, że dodatek 15% sacharozy lub 15% sacharozy i 1% metanolu do pożywki z serwatki w hodowli powierzchniowej *Aspergillus niger* powoduje najwyższą produkcję kwasu cytrynowego (106,5 g/l). Dodatkowo wydłużenie czasu fermentacji do 20 dni zwiększa zawartość cytrynianu i biomasy oraz spadek ilości pozostałej sacharozy i pH. Natomiast El-Samragy i wsp. [1996] badali wpływ pH oraz stężenia metanolu i soli mineralnych na aktywność wyselekcjonowanych szczepów *Aspergillus niger* CAIM 111 i CAIM 167 podczas fermentacji serwatki do kwasu cytrynowego. Największy (4-krotny) wzrost produkcji kwasu osiągnięto w hodowli *Aspergillus niger* CAIM 167 w pożywce o pH 3,5, zawierającej 4% (v/v) metanolu i 10% (w/v) soli.

Lepszą wydajność kwasu cytrynowego uzyskuje się w hodowli drożdży *Yarrowia lipolytica* [Bednarski, Rejs 2003; Yalcin i in. 2010]. W pożywce z serwatki wzbogaconej hydrolizatem białek roślinnych uzyskać można 25 g/l kwasu. Głównymi zaletami drożdży są: większa odporność na wysokie stężenie substratu w porównaniu z grzybami, porównywalne tempo konwersji oraz większa tolerancja na jony metali, co umożliwi wykorzystanie podłoża o mniej wyrafinowanym składzie. Główną wadą stosowania *Yarrowia lipolytica* jest to, że wytwarzają one jednocześnie kwas cytrynowy i izocytrynowy [Yalcin i in. 2010]. Yalcin i wsp. [2009] najlepszą produktywność cytrynianu uzyskali w pożywce z serwatki wzbogaconej fruktozą. Maksymalne stężenia kwasu dla *Yarrowia lipolytica* NBRC 1658 i krajowego szczepu *Yarrowia lipolytica* 57 wynosiły odpowiednio 49,23 g/l i 32,65 g/l.

## 2.6. Produkcja gumy ksantanowej

Guma ksantanowa jest egzopolisacharydem (EPS) syntetyzowanym przez bakterie z rodzaju *Xanthomonas* i jest bardzo ważnym biopolimerem w przemyśle [Bednarski, Rejs 2003; Mesomo i in. 2009]. Jest powszechnie stosowana jako środek zagęszczający i stabilizujący w żywności i farmaceutykach [Silva i in. 2009], ponieważ jest całkowicie nietoksyczna oraz została zaakceptowana jako dodatek do żywności. Guma ksantanowa charakteryzuje się lepszymi właściwościami fizykochemicznymi w porównaniu z innymi dostępnymi obecnie na rynku polisacharydami. Wśród nich możemy wyróżnić wysoką lepkość w niskich stężeniach ze względu na rozgałęzioną strukturę i dużą masę molową oraz stabilność w szerokim zakresie temperatury i pH [Mesomo i in. 2009]. *Xanthomonas campestris* jest najczęściej wykorzystywanym szczepem do biosyntezy gumy. Jest to bakteria należąca do tlenowców, zdolna do wzrostu na podłożach złożonych i zdefiniowanych. Do wydajnej produkcji gumy ksantanowej przez *Xanthomonas campestris* mikroorganizmy te potrzebują mikroelementów (potas, żelazo, sole wapnia, magnez) oraz makroelementów, takich jak azot i węgiel. Bakterie te charakteryzują się słabymi zdolnościami utylizacji laktozy jako źródła węgla ze względu na niższą ekspresję  $\beta$ -galaktozydazy. W związku z tym do biokonwersji laktozy do gumy wykorzystuje się zmodyfikowane szczepy [Silva i in. 2009].

Silva i wsp. [2009] badali dwa szczepy *X. campestris pv mangiferaeindicae* 1230 i *X. campestris pv manihotis* 1182 pod kątem wykorzystania laktozy do biosyntezy gumy ksantanowej. Najlepsze wyniki dla obu szczepów osiągnięto w hodowli 72 h w pożywce z serwatki wzbogaconej 0,1% (w/v)  $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  i 2,0% (w/v)  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ . Otrzymano w ten sposób 25 g/l gumy.

Najwyższą wydajność gumy ksantanowej z użyciem szczepu *X. campestris pv mangiferaeindicae* 1230 uzyskali Mesomo i wsp. [2009]. W celu optymalizacji warunków procesu bioreaktorowego, w pożywce z serwatki z dodatkiem fosforanów i jonów magnezu, określili szybkości mieszania (390 rpm) i napowietrzania (1,5 vvm), w wyniku czego średnia produkcja wynosiła 35,3 g/l w 72 h. Najwyższą lepkość gumy, wynoszącą 1831,34 mPa s w 25°C, uzyskano z mniejszą produktywnością (30 g/l).

Po zakończonej hodowli polisacharyd ekstrahowano z komórek po autolizie, a następnie oddzielano przez wirowanie. Produkcja gumy ksantanowej odznacza się wysokim stopniem konwersji substratu oraz prostotą i efektywnością ekonomiczną [Bednarski, Rejs 2003].

## 2.7. Produkcja alkoholu etylowego

Fermentacja alkoholowa laktozy jest interesującą alternatywą dla wykorzystania odbiałczanej serwatki. Drożdżami zdolnymi do fermentacji laktozy są np.: *Kluyveromyces lactis*, *Kluyveromyces marxianus* i *Candida pseudotropicalis* [Guimarães i in.

2010]. *Kluyveromyces fragilis* jest najczęściej wykorzystywany przez komercyjne wytwórnie alkoholu. W hodowli okresowej *Kluyveromyces fragilis* wykorzystuje ponad 95% laktozy zawartej w nieskoncentrowanej serwatce z 80-85% teoretycznej wydajności konwersji [Kossevaa i in. 2009]. Bezpośrednia fermentacja serwatki lub permeatu serwatki po UF jest generalnie nieekonomiczna ze względu na niską zawartość laktozy, co skutkuje niskim stężeniem alkoholu (2-3% (v/v)) w roztworze. W takim przypadku destylacja jest zbyt kosztowna. Proces należy rozpocząć z wysoką zawartością laktozy, co może być osiągnięte po zastosowaniu ultrafiltracji. Poziom cukru można także zwiększyć przez dodanie np. melasy, ale może to powodować u drożdży kataboliczną represję i brak zdolności do metabolizowania laktozy [Guimarães i in. 2010].

Guimarães i wsp. [2010] dowiedli, że drożdże *Saccharomyces cerevisiae*, najczęściej stosowane w przemyśle spirytusowym, ponieważ posiadają dobre zdolności do fermentacji alkoholowej i są tolerancyjne na etanol, mają status GRAS, mogą rosnąć w warunkach beztlenowych oraz mogą być wykorzystane jako pasza dla zwierząt. Ponadto drobnoustroje te nie posiadają systemu permeazy laktozowej ani  $\beta$ -D-galaktozydazy, w związku z tym nie fermentują bezpośrednio laktozy do etanolu. Inżynieria genetyczna wykorzystuje geny metabolizmu laktozy od bakterii *Escherichia coli*, drożdży *Kluyveromyces lactis* i grzybów pleśniowych *Aspergillus niger*. Rozważając inżynierię metaboliczną komórek *Saccharomyces cerevisiae* dla biokonwersji laktozy do etanolu, najlepsze wyniki uzyskano dla rekombinantów z wprowadzonymi genami *Kluyveromyces lactis*, jednakże obserwuje się u nich fenotyp wolnego wzrostu [Domingues i in. 2010]. Istnieją rekombinowane szczepy *Saccharomyces cerevisiae*, jednak większość z nich posiadała niepożądane cechy (powolny wzrost, niestabilność genetyczną, problemy wynikające z korzystania z mieszaniny glukozy i galaktozy) lub były fermentacyjnie nieefektywne. Interesujące wydaje się doświadczenie przeprowadzone przez Guimarães i wsp. [2008], w którym stosowano zmodyfikowane drożdże zawierające geny szczepu *Kluyveromyces lactis* *LAC4* ( $\beta$ -galaktozydazy) i *LAC12* (permeazy laktozowej). Modyfikowany genetycznie szczep szybko i całkowicie wykorzystał laktozę, a najwyższe stężenie etanolu w roztworze wynosiło 8% (v/v).

Innym ekonomicznym i praktycznym podejściem do produkcji alkoholu etylowego z serwatki jest jednoczesne unieruchomienie enzymów i komórek drożdży. Przeprowadzono badania w celu poprawy efektywności półciągłej fermentacji połączonej z perwaporacją. Proces prowadzony był z biokatalizatorem immobilizowanym w alginianie wapnia i składał się z drożdży *Saccharomyces cerevisiae* współimmobilizowanych z  $\beta$ -galaktozydazą usieciowaną z glutaraldehydem. Wydajność etanolu, obliczana na 24 h trwania procesu, mieściła się w zakresie 1,58-2,38 g/l×h, a średnia koncentracja alkoholu w otrzymanym permeacie wynosiła 44% [Kossevaa i in. 2009].

Do produkcji napojów z serwatki zaproponowano wykorzystanie drożdży: *Kluyveromyces fragilis* i *Kluyveromyces marxianus*. Dragone i wsp. [2009] w wyniku



fermentacji serwatki przez *Kluyveromyces marxianus* otrzymali z serwatki napój alkoholowy o zawartości etanolu 35,4%. Proces ciągły przeprowadzili w skali przemysłowej. Ciecz pofermentacyjną następnie oddestylowali, a otrzymane związki lotne zidentyfikowali. Najliczniejszą grupą okazały się alkohole wyższe (alkohole: izoamylowy, izobutyłowy, izopentylowy i 1-propanol), spośród estrów najwięcej było octanu etylu. Badanie to dowiodło, że otrzymany w ten sposób spirytus posiada dobre cechy organoleptyczne [Dragone i in. 2009].

## 2.8. Produkcja napojów na bazie serwatki

Jednym z kierunków wykorzystania serwatki jest produkcja napojów fermentowanych. Serwatka jest bogata w wiele cennych substancji odżywczych, lecz charakteryzuje się nieatrakcyjnym smakiem, nadmierną kwasowością (zwłaszcza jeśli należy do klasy serwatek kwaśnych) [Djurić i in. 2004]. Wykorzystanie jej jest ograniczone niską słodyczą laktozy, małą jej rozpuszczalnością i u niektórych ludzi nietolerancją laktozy – trudnościami z trawieniem [Singh i in. 2011]. Jednak opracowano procedury umożliwiające jej bezpośrednie wykorzystanie w żywieniu człowieka. Istnieje wiele patentów opisujących otrzymywanie napojów z serwatki, permeatu po UF serwatki i białek serwatkowych. Jako dodatki stosuje się koncentraty owocowe i warzywne, które stanowią 4-20% suchej masy, oraz kakao, wanilię, czekoladę, miód, owies, ryż, a także środki aromatyzujące na bazie ziół. Często do napojów dodaje się sole wapnia i magnezu jako źródło jonów  $\text{Ca}^{2+}$  i  $\text{Mg}^{2+}$ . Zapach i smak może być regulowany przez dodanie roztworu glukonianu wapnia. Przy formułowaniu receptur napojów niektórzy autorzy proponowali wprowadzenie  $\text{CO}_2$  lub sody, a także białek soi lub mleka sojowego w proszku. Kwasowość napojów regulowana jest dodatkiem kwasu cytrynowego lub cytryny. Słodycz napojów fermentowanych poprawia dodatek fruktozy, hydrolizaty laktozy lub sacharoza [Djurić i in. 2004]. Do produkcji napojów fermentowanych na bazie serwatki stosuje się wybrane szczepy bakterii z rodzaju *Streptococcus* i *Lactobacillus* [Bednarski, Reps 2003].

Singh i wsp. [2011] proponują produkcję cytrynowego napoju z serwatki z hydrolizowaną laktozą. Hydroliza laktozy powoduje wzmocnienie smaku, zwiększa ciśnienie osmotyczne, ułatwia trawienie, zwiększa rozpuszczalność sacharydów, podnosi słodkość i ułatwia fermentację. Napoje takie są lekkie, orzeźwiające, zdrowe, pożywne i mniej kwaśne w porównaniu do oferowanych z dodatkiem soków owocowych. W hydrolizie laktozy wykorzystano  $\beta$ -galaktozydazę, wyizolowaną z wyselekcjonowanego szczepu drożdży *Kluyveromyces marxianus* var. *lactis*. Stwierdzono, że maksymalną hydrolizę (85-90%) laktozy w serwatce można osiągnąć przy stężeniu enzymu 0,4% i pH 6,75 po 3 dniach inkubacji w temperaturze 40°C. Poziom słodkości w tak przygotowanym roztworze był porównywalny z 2,5-procentowym roztworem sacharozy. Jako dodatki smakowe zastosowano sok cytrynowy i aromat cytrynowy [Singh i in. 2011].

Możliwa jest także produkcja napojów z serwatki mleka koziego. Taki produkt odznacza się dużą zawartością składników odżywczych, niską kalorycznością,



a jego dodatkową zaletą jest możliwość konsumpcji przez osoby uczulone na białka mleka krowiego [Tranjan i in. 2009].

Serwatkę można stosować także do produkcji napojów alkoholowych, takich jak piwo czy szampan. Znana jest technologia produkcji piwa z zastosowaniem od-mineralizowanych koncentratów glukozowo-galaktozowych z serwatki. Natomiast zastąpienie 30% wody przeznaczonej do przygotowania zacieru serwatką skutkuje otrzymaniem piwa o właściwościach zbliżonych do piwa tradycyjnego oraz zmniejszeniem ilości słołu lub dodatków niesłodowanych. Taki napój zawiera ok. 1,5% alkoholu i ok. 8% ekstraktu. Przykładem wytwarzanego napoju musującego jest Rivella, produkowany w Holandii (na licencji szwajcarskiej). Rivella zawiera w swoim składzie kwas mlekowy, sole mineralne i laktozę [Bednarski, Reys 2003].

Ziarna kefirowe zawierają bakterie kwasu mlekowego (LAB), w tym *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* i *Streptococcus spp.* i drożdże (*Kluyveromyces*, *Torula*, *Candida* i *Saccharomyces spp.*). Zarówno bakterie, jak i drożdże są otoczone polisacharydowym matriksem, nazywanym kefiranem, który jest rozpuszczalnym w wodzie rozgałęzionym glukogalaktanem. Możliwe jest wykorzystanie ziaren kefirowych do wytwarzania napoju typu kefir z serwatki zawierającej fruktozę i ekstrakt z rodzynek [Athanasiadis i in 2004; Paraskevopoulou i in. 2003]. Magalhães i wsp. [2011] w swoim doświadczeniu wykazali również zdolność tych mikroorganizmów do produkcji napoju z serwatki.

### 3. Podsumowanie

Serwatka jako produkt uboczny przemysłu serowarskiego jest wartościowym składnikiem podłoża hodowlanych dla wielu procesów biotechnologicznych. Jest podłożem bogatym nie tylko w węglowodany, ale także białka i peptydy, sole mineralne i witaminy. Dobranie odpowiednich mikroorganizmów, mających zdolność do przekształcania składników zawartych w serwatce (głównie laktozy), oraz właściwych warunków procesu pozwala na uzyskanie wartościowych produktów wykorzystywanych w przemyśle spożywczym, chemicznym i farmaceutycznym.

### Literatura

- Amrane A., *Effect of inorganic phosphate on lactate production by Lactobacillus helveticus grown on supplemented whey permeate*, "Journal of Chemical Technology and Biotechnology" 2000, vol. 75, no. 3, s. 223-228.
- Anvari M., Khayati G., *Submerged yeast fermentation of cheese whey for protein production and nutritional profile analysis*, "Advance Journal of Food Science and Technology" 2011, vol. 3, s. 122-126.
- Asplung S., *The Biogas Production Plant at Umeå Dairy*, 2005, 11-14. <http://liu.diva-portal.org/smash/record.jsf?pid=diva2:21340>
- Athanasiadis I., Paraskevopoulou A., Blekas G., Kiosseoglou V., *Development of a novel whey beverage by fermentation with kefir granules. Effect of various treatments*, „Biotechnology Progress” 2004, vol. 20, s. 1091-1095.

- Bednarski W., Fiedurek J., *Podstawy biotechnologii przemysłowej*, Warszawa 2007.
- Bednarski W., Reps A., *Biotechnologia żywności*, Warszawa 2003.
- Bekatorou A., Psarianos C., Koutinas A.A., *Production of food grade yeasts*, "Food Technology and Biotechnology" 2006, vol. 44, s. 407-415.
- Castrillo J.I., Ugalde U.O., *Patterns of energy metabolism and growth kinetics of Kluyveromyces marxianus in whey chemostat culture*, "Applied Microbiology Biotechnology" 1993, vol. 40, s. 386-393.
- Djurić M., Carić M., Milanović S., Tekić M., Panić M., *Development of whey-based beverages*, "European Food Research and Technology" 2004, vol. 219, s. 321-328.
- Dragone G., Mussatto S.I., Oliveira J.M., Teixeira J.A., *Characterisation of volatile compounds in an alcoholic beverage produced by whey fermentation*, Food Chemistry 2009, vol. 112, s. 929-935.
- El-Holi M.A., Al-Delaimy K.S., *Citric acid production from whey with sugars and additives by Aspergillus niger*, "African Journal of Biotechnology" 2003, vol. 2, s. 383-392.
- El-Samragy Y.A., Khorshid M.A., Foda M.I., Shehata A.E., *Effect of fermentation conditions on the production of citric acid from cheese whey by Aspergillus niger*, "International Journal of Food Microbiology" 1996, vol. 29, s. 411-416.
- Fontes C.L., Bolner de Lima C.J., Piassi Bernardo M., Contiero J., *D(-)-Lactic acid production by Leuconostoc mesenteroides B512 using different carbon and nitrogen sources*, "Applied Biochemistry and Biotechnology" 2011, vol. 164, s. 1160-1171.
- Ghaly A.E., Kamal M.A., *Submerged yeast fermentation of acid cheese whey for protein production and pollution potential reduction*, "Water Research" 2004, vol. 38, s. 631-644.
- Ghaly A.E., Rushton D.G., Mahmoud N.S., *Potential air and groundwater pollution from continuous high land application of cheese whey*, "American Journal of Applied Sciences" 2007, vol. 4, s. 619-627.
- Ghaly A.E., Tango M.S.A., Mahmoud N.S., Avery A.C., *Batch propagation of Lactobacillus helveticus for production of lactic acid from lactose concentrated cheese whey with microaeration and nutrient supplementation*, "World Journal of Microbiology and Biotechnology" 2004, vol. 20, s. 65-77.
- Gonzalez S. M. I., *Utilization of cheese whey: A review*, "Bioresource Technology" 1996, vol. 57, s. 1-11.
- Guimarães P.M.R., Teixeira J.A., Domingues L., *Fermentation of high concentrations of lactose to ethanol by engineered flocculent Saccharomyces cerevisiae*, "Biotechnology Letters" 2008, vol. 30, s. 1953-1958.
- Guimarães P.M.R., Teixeira J.A., Domingues L., *Fermentation of lactose to bio-ethanol by yeasts as part of integrated solutions for the valorisation of cheese whey*, "Biotechnology Advances" 2010, vol. 28, s. 375-384.
- Gupta A., Srivastava A.K., *Continuous propionic acid production from cheese whey using in situ spin filter*, "Biotechnology Bioprocess Engineering" 2001, vol. 6, s. 1-5.
- Hofvendahl K., Hahn-Hägerdal B., *Factors affecting the fermentative lactic acid production from renewable resources*, "Enzyme and Microbial Technology" 2000, vol. 26, s. 87-107.
- Janczukowicz W., Zieliński M., Dębowski M., *Biodegradability evaluation of dairy effluents originated in selected sections of dairy production*, "Bioresource Technology" 2008, vol. 99, s. 4199-4205.
- Jędrzak A., *Biologiczne przetwarzanie odpadów*, Warszawa 2008.
- Jędrzejewska-Cicińska M., Kozak K., *Przetwarzanie permeatów powstających podczas filtracji membranowej serwatki do paliw gazowych*, „Przegląd Mleczarski” 2007, vol. 1, s. 16-18.
- Jodłowski P.J., Jodłowski G.S., *Serwatka jako substrat do otrzymywania biogazu w procesie fermentacji metanowej*, Krakowska Konferencja Młodych Uczonych 2008, s. 93-95.
- Kośmider A., Drożdżyńska A., Czaczyk K., *Możliwości wykorzystania surowców odpadowych w procesie fermentacji propionowej*, „Żywność. Nauka. Technologia. Jakość” 2009, vol. 6, s. 47-58.
- Kossevava M. R., Panesarb P. S., Kaurb G., Kennedyc J. F., *Use of immobilised biocatalysts in the processing of cheese whey*, "International Journal of Biological Macromolecules" 2009, vol. 45, s. 437-447.

- Koutinas A.A., Athanasiadis I., Bekatorou A., Iconomopoulou M., Blekas G., *Kefir yeast technology: Scale-up in SCP production using milk whey*, "Biotechnology and Bioengineering" 2005, vol. 89, s. 788-796.
- Kumider J., *Utylizacja odpadów przemysłu rolno-spożywczego. Aspekty towaroznawcze i ekologiczne*, Poznań 1996.
- Lewis V.P., Yang S.-T., *A novel extractive fermentation process for propionic acid production from whey lactose*, "Biotechnology Progress" 1992, vol. 8, s. 104-110.
- Magalhães K.T., Dias D.R., de Melo Pereira G.V., Oliveira J.M., Domingues L., Teixeira J.A., de Almeida Silva J.B., Schwan R.F., *Chemical composition and sensory analysis of cheese whey-based beverages using kefir grains as starter culture*, "International Journal of Food Science and Technology" 2011, vol. 46, s. 871-877.
- Magalhães K.T., Pereira M.A., Nicolau A., Dragone G., Domingues L., Teixeira J.A., de Almeida Silva J.B., Schwan R.F., *Production of fermented cheese whey-based beverage using kefir grains as starter culture: Evaluation of morphological and microbial variations*, "Bioresource Technology" 2010, vol. 101, s. 8843-8850.
- Magrel L., *Prognozowanie procesu fermentacji metanowej mieszaniny osadów ściekowych i gnojowicy*, Białystok 2004.
- Marwaha S.S., Kennedy J.F., *Review: Whey - Pollution problem and potential utilization*, "International Journal of Food Science and Technology" 1988, vol. 23, s. 323-326.
- Mesomo M., Silva M.F., Boni G., Padilha F.F., Mazutti M., Mossi A., Oliveira D., Cansian R.L., Di Luccio M., Treichel H., *Xanthan gum produced by Xanthomonas campestris from cheese whey: Production optimisation and rheological characterisation*, "Journal of the Science of Food and Agriculture" 2009, vol. 89, s. 2240-2245.
- Moeini H., Nahv, I., Tavassoli M., *Improvement of SCP production and BOD removal of whey with mixed yeast culture*, "Electronic Journal of Biotechnology" 2004, vol. 7 no. 3, s. 249-255.
- Morales J., Choi J.-S., Kim D.-S., *Production rate of propionic acid in fermentation of cheese whey with enzyme inhibitors*, "Environmental Progress" 2006, vol. 25, s. 228-234.
- Najafpour G.D., Komeili M., Tajallipour M., Asadi M., *Bioconversion of cheese whey to methane in an upflow anaerobic packed bed bioreactor*, "Chemical and Biochemical Engineering Quarterly" 2010, vol. 24, s. 111-117.
- Panesar P.S., Kennedy J. F., Gandhi D.N., Bunko K., *Bioutilisation of whey for lactic acid production*, "Food Chemistry" 2007, vol. 105, s. 1-14.
- Paraskevopoulou A., Athanasiadis I., Blekas G., Koutinas A.A., Kanellaki M., Kiosseoglou V., *Influence of polysaccharide addition on stability of a cheese whey kefir-milk mixture*, "Food Hydrocolloids" 2003, vol. 17, s. 615-620.
- Pijanowski E., Gawel J., *Zarys chemii i technologii mleczarstwa*, t. III, Warszawa 1986.
- Plessas S., Bosnea L., Psarianos C., Koutinas A.A., Marchant R., Banat M.I., *Lactic acid production by mixed cultures of Kluyveromyces marxianus, Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus and Lactobacillus helveticus*, "Bioresource Technology" 2008, vol. 99, s. 5951-5955.
- Schultz N., Chang L., Hauck A., Reuss M., Syldatk C., *Microbial production of single-cell protein from deproteinized whey concentrates*, "Applied Microbiology and Biotechnology" 2006, vol. 69, s. 515-520.
- Secchi N., Giunta D., Pretti L., Ruiz García M., Roggio T., Mannazzu I., Catzeddu P., *Bioconversion of ovine scotta into lactic acid with pure and mixed cultures of lactic acid bacteria*, "Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology" 2011, vol. 1, s. 1-7.
- Silva M.F., Fornari R.C.G., Mazutti M.A., Oliveira D., Padilha F.F., Cichoski A.J., Cansian R.L., Di Luccio M., Treichel H., *Production and characterization of xanthan gum by Xanthomonas campestris using cheese whey as sole carbon source*, "Journal of Food Engineering" 2009, vol. 90, s. 119-123.

- Singh S., Khemariya P., Rai A., *Process optimization for the manufacture of lemon based beverage from hydrolyzed whey*, "Journal of Food Science and Technology" 2011, vol. 3, s. 1-9.
- Soriano-Perez S., Flores-Velez L., Alonso-Davila P., Cervantes-Cruz G., Arriaga S., *Production of lactic acid from cheese whey by batch cultures of Lactobacillus helveticus*, "Annals of Microbiology" 2011, vol. 1, s. 1-5.
- The World Market for Whey and Lactose Products 2006-2010. From Commodities to Value Added Ingredients*, <http://www.3abc.dk/Report%20information%202007>.
- Tranjan B.C., Cruz A.G., Walter E.H.M., Faria J.A.F., Bolini H.M.A., Moura M.R.L., Carvalho L.M.J., *Development of goat cheese whey-flavoured beverages*, "International Journal of Dairy Technology" 2009, vol. 62, s. 438-443.
- Ugalde U.O., Castrillo J.I., *Single cell proteins from fungi and yeasts*, "Applied Mycology and Biotechnology" 2002, vol. 2, s. 123-149.
- Yalcin S.K., Bozdemir M.T., Ozbas Z.Y., *Citric acid production by yeasts: Fermentation conditions, process optimization and strain improvement*, "Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology" 2010, vol. 9, s. 1374-1382.
- Yalcin S.K., Tijen B.M., Yesim O.Z., *Utilization of whey and grape must for citric acid production by two Yarrowia lipolytica strain*, "Food Biotechnology" 2009, vol. 23, s. 266-283.

## THE WHEY UTILISATION IN BIOTECHNOLOGICAL PROCESSES

**Summary:** Biotechnological methods are an attractive direction of whey utilisation and processing. Whey, as a by-product, is a cheap substrate for different processes and at the same time it is very valuable on account of its composition. The selection of appropriate micro-organism, which have the ability to transform the components contained in whey (mainly lactose), and proper technological conditions allows valuable products to be obtained which are used most frequently in the food and pharmaceutical industries.

**Keywords:** whey, organic acids xantan gum, ethanol, whey drinks.