O soro de queijo, um subproduto industrial altamente poluidor, representa o principal e mais problemático resíduo da indústria laticinista em decorrência de sua elevada carga orgânica e grande volume gerado. Com apreciáveis quantidades de lactose, proteínas e sais minerais, o soro de queijo constitui-se como um substrato rico em nutrientes e de grande potencial de aproveitamento em bioprocessos. A utilização de substratos alternativos e de baixo custo para a produção de etanol vem sendo recentemente estudada com resultados promissores. O presente trabalho teve como objetivo produzir etanol através da bioconversão da lactose presente no meio de soro de queijo por meio de diferentes linhagens de Kluyveromyces marxianus. Ensaios em shaker foram realizados para avaliar a capacidade de bioconversão de lactose a etanol por três linhagens de K. marxianus, CBS 6556, CCT 4086 e CCT 6498. As condições de fermentação ocorreram a uma temperatura de 30 °C por um período de 48 horas, a uma velocidade de agitação de 150 rpm. Ensaios em biorreatores de coluna com células imobilizadas foram realizados. Esferas de alginato de cálcio foram utilizadas como suporte para a imobilização. Os cultivos ocorreram a temperatura de 30 °C em operação batelada, por um período de 24 horas, com meio soro de queijo 70 g.L⁻¹. Ensaios para avaliar a produção de etanol por CBS 6556 em outras duas temperaturas de fermentação (35 e 40 °C) foram realizados em biorreator imobilizado. A eficiência de conversão variou entre 79,1 e 83,2 % e a produtividade volumétrica variou entre 0,80 a 0,95 g.L⁻¹.h⁻¹ para as três linhagens testadas em biorreator de coluna, sendo a maior concentração de etanol de 25,2 g.L⁻¹. Ensaios realizados nas temperaturas de 35 e 40 °C apresentaram menor eficiência de conversão.