

2021

Facultad de  
Farmacia y  
Bioquímica

Nanfra Sol,  
Logrippo Andrea,  
Ortubia Carolina.



# [PRODUCCIÓN DE ÁCIDO LÁCTICO POR VÍA BIOTECNOLÓGICA]

## INTRODUCCIÓN

El ácido láctico es un ácido orgánico natural de importancia industrial en aplicaciones farmacéuticas como electrolito y fuente de minerales; en la industria cosmética como pH buffer, antimicrobiano y rejuvenecedor de la piel; como neutralizante, solvente y agente limpiador en la industria química y en la industria alimentaria como acidulante, preservante y antimicrobiano, y se utiliza en una gran variedad de alimentos procesados como caramelos, productos de panadería, sopas, lácteos, cerveza, jaleas, mermeladas, mayonesas y huevos procesados. La aplicación de procesos de separación, concentración y secado permiten obtener ácido L (+) láctico purificado la cual posee una gran demanda mundial.

Las recientes investigaciones se enfocan en encontrar nuevas y efectivas fuentes nutricionales como también nuevas técnicas de fermentación encaminadas a alcanzar altas conversiones de sustrato y rendimientos en ácido láctico. Esta investigación se orienta en las distintas tecnologías de fermentación para producir ácido láctico a partir de los microorganismos, las materias primas renovables, los sistemas de fermentación evaluados y las herramientas estadísticas de los análisis usadas para optimizar el proceso biotecnológico de producción de éste.

## DESARROLLO

### PRODUCCIÓN BIOTECNOLÓGICA DE ÁCIDO LÁCTICO

El ácido 2-hidroxiopropanoico, ácido láctico, presenta los grupos funcionales alcohol y carboxilo, conformando un carbono asimétrico que le confiere su actividad óptica. Existen dos isómeros ópticos, el D(-) láctico y el L(+) láctico (Figura 1) y una forma racémica constituida por fracciones equimolares de las formas L(+) y D(-). El isómero D(-) es perjudicial al metabolismo humano y puede generar acidosis y descalcificación. El ácido L(+) láctico es

clasificado por la FDA como una sustancia GRAS, generalmente reconocido como seguro para uso como aditivo alimenticio.



FIGURA 1

Las dos formas ópticamente activas y la racémica se encuentran en formas líquidas, incoloras y solubles en el agua. En estado puro son sólidos altamente higroscópicos de punto de fusión bajo. Los isómeros puros del ácido láctico pueden ser obtenidos por fermentación microbiana a partir de una fuente renovable. La producción biotecnológica está basada en la fermentación de sustratos ricos en carbohidratos (Figura 2) por medio de bacterias u hongos para formar los enantiómeros ópticamente activos de nitrógeno, el método de fermentación empleado y la formación de los subproductos. Dependiente del tipo de carbohidrato, el proceso requerirá de una etapa que convierta las materias primas renovables a sustratos fermentables, sea ésta por degradación enzimática, química o por adaptación metabólica del microorganismo. y depende del tipo de microorganismo utilizado, la inmovilización o recirculación del microorganismo, el pH, la temperatura, la fuente de carbono, la fuente.

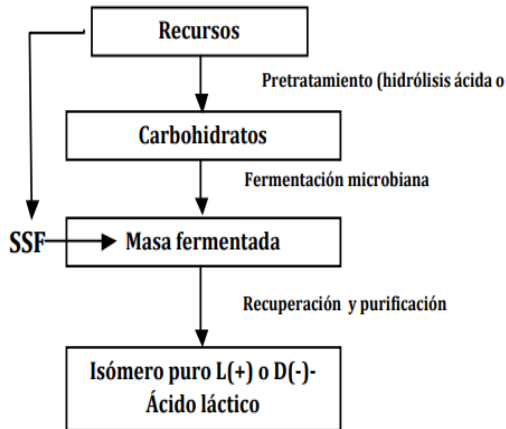


FIGURA 2

### MICROORGANISMOS UTILIZADOS EN LA PRODUCCIÓN DE ÁCIDO LÁCTICO

La mayoría de las investigaciones se han llevado a cabo con las Bacterias Ácido Lácticas (BAL) y los hongos filamentosos del género *Rhizopus*, el uso de los hongos tiene ventaja por las características amilolíticas y bajos requerimientos en nutrientes. La morfología de los hongos, puede influir positiva o negativamente; los hongos pueden crecer en forma de micelio individual, granular, en flóculos en pellets esféricos.

La fermentación fúngica tiene la ventaja de requerir un medio simple para producir ácido láctico, pero también tiene requerimientos elevados de aireación. En muchos casos la glucosa fue preferida como fuente de carbono para *Rhizopus* spp., seguido del almidón (Zhang et al. 2007b). Cuando se utilizan las bacterias, se busca que éstas sean preferiblemente termófilas, que fermenten rápida y completamente los sustratos baratos, con adición mínima de nutrientes nitrogenados, que crezcan en valores bajos de pH, que presenten poca producción de biomasa y una despreciable cantidad de subproductos. Los géneros *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Enterococcus* son los más estudiados en la producción.

### CARACTERÍSTICAS DE LAS BACTERIAS ACIDO LACTICAS

Son Gram positivos, microaerófilos y catalasa negativos, forman ácido láctico como producto principal de la fermentación de los azúcares y pueden ser homofermentativos o heterofermentativos según la cantidad y la presencia del ácido. Existen bacterias homofermentativas obligadas y facultativas; dando lugar al ácido láctico como producto principal de la fermentación. Este grupo está integrado por *Lb. caucasicus*, *Lb. bulgaricus*, *Lb. lactis*, *Lb. helveticus*, *Lb. acidophilus* y *Lb. delbrueckii*.

La mayoría de las especies pertenecientes a estos géneros tienen alta tolerancia a pH por debajo de 5,0 lo que les da la ventaja competitiva sobre otras bacterias. Son microorganismos de rápido crecimiento con pequeños genomas, metabolismo simple y relevancia industrial. La mayoría de los *Lactobacillus* producen únicamente una forma isomérica de ácido láctico; las formas isoméricas de lactato deshidrogenasa presente en *Lactobacillus* determinan el isómero de ácido láctico producido, ya que la deshidrogenasa láctica es esteroespecífica; las especies de los géneros *Aerococcus*, *Camobacterium*, *Enterococcus*, *Vagococcus* y *Tetragenococcus* producen únicamente isómeros D (Tabla 1). Sin embargo, algunos *Lactobacillus* producen formas racémicas donde el isómero predominante depende de los cambios en la aireación, la cantidad de NaCl, el tipo de fermentación, el incremento de pH y la concentración de sustrato. Las especies del género *Lactobacillus* producen además de las formas isoméricas L(+) y D(-), una mezcla racémica de ambos isómeros.

**Tabla 1.** Bacterias ácido lácticas homo y heterofermentativas y la configuración

Género y especie	Homofermentativa	Heterofermentativa	Configuración ácido láctico
<b>Lactobacillus</b>			
<i>L. delbrueckii</i>	+	-	D(-)
<i>L. lactis</i>	+	-	D(-)
<i>L. bulgaricus</i>	+	-	D(-)
<i>L. casei</i>	+	-	L(+)
<i>L. plantarum</i>	+	-	DL
<i>L. curvatus</i>	+	-	DL
<i>L. brevis</i>	-	+	DL
<i>L. fermentum</i>	-	+	DL
<b>Sporolactobacillus</b>			
<i>S. inulinus</i>	+	-	D(-)
<b>Streptococcus</b>			
<i>S. cremoris</i>	+	-	L(+)
<i>S. lactis</i>	+	-	L(+)
<b>Leuconostoc</b>			
<i>L. mesenteroides</i>	-	+	D(-)

Las homofermentativas usualmente metabolizan la glucosa por la vía EmbdenMeyerhof, dando dos moléculas de ácido láctico de cada molécula de glucosa con un rendimiento mayor a 0,9 gg<sup>-1</sup>. La elección de un microorganismo depende del carbohidrato a ser fermentado:

Lactobacillus delbreuckii ssp. delbreuckii fermentan la sacarosa; Lactobacillus delbreuckii ssp. bulgaricus a la lactosa; Lactobacillus helveticus es capaz de fermentar lactosa y galactosa; Lactobacillus amylophilus y Lactobacillus amylovirus fermentan almidón; Lactobacillus lactis puede fermentar glucosa, sacarosa y galactosa, Lactobacillus pentosus puede fermentar licores ricos en sulfitos.

#### MATERIAS PRIMAS PARA LA PRODUCCIÓN BIOTECNOLÓGICA DE ÁCIDO LÁCTICO

Los medios de cultivo son una mezcla de nutrientes que en las concentraciones adecuadas y en las condiciones físicas óptimas, permiten el crecimiento de los microorganismos. Para que las bacterias crezcan adecuadamente en un medio de cultivo deben reunir condiciones de temperatura, grado de humedad y presión de oxígeno adecuado, así, como el grado de acidez o alcalinidad. Por lo tanto, este debe contener los nutrientes y los factores de crecimiento necesarios y estar exento de todo microorganismo contaminante. Han sido usados diferentes sustratos con

Lactobacillus; donde el producto más puro ha sido obtenido cuando se usa un medio simple, resultando en menos costos de purificación.

La viabilidad de la producción biotecnológica de ácido láctico está sujeta a que las materias primas tengan las siguientes características: baratas, bajos niveles de contaminantes, rápidas tasa de producción, alto rendimiento, subproductos formados, capacidad para ser fermentado con poco o ningún pre-tratamiento y disponibilidad durante todo el año. Se han usado materias primas baratas para la producción económica del ácido láctico, entre estos materiales están los celulósicos, los amiláceos, el lactosuero y la melaza. Los amiláceos son fuente de polisacáridos (principalmente almidón) baratos, abundantes y renovables, sin embargo, estos materiales deben ser hidrolizados hasta azúcares fermentables antes del proceso porque están formados por enlaces de glucosa alfa (1,4) y beta (1,6), aunque puede llevarse a cabo simultáneamente con la fermentación. Otra materia prima muy utilizada es la melaza que contiene sacarosa (31% p/v), glucosa (9,5% p/v), fructosa (10%) y nitrógeno (0,95%) y es un sustrato completo para la producción de ácido láctico. Los lignocelulósicos consisten en celulosa, hemicelulosa y lignina. La primera es una cadena lineal de alfa

D-glucanos, la segunda es un heteropolisacárido que al hidrolizarlo incluye xilosa, glucosa, manosa, arabinosa, galactosa y otros azúcares dependiendo del origen. Como materiales lignocelulósicos (MLC) con gran potencial como materia prima están el sarmiento de vid (Bustos et al. 2004), jugos de cogollo, hojas y jugo de caña de azúcar (Serna y Rodríguez 2006; 2007), Salvado de trigo (Naveena et al. 2005a; Naveena et al. 2005b), la paja de arroz (Qi y Yao 2007), el salvado de arroz (Tanaka et al. 2005), los granos agotados de cervecería (Mussatto et al. 2008).

El lactosuero es uno de los principales subproducto de la industria láctea, contiene aproximadamente 4,85% p/v de lactosa, 0,8% p/v de proteína, 0,5% de grasa, 0,6% de minerales y vitaminas, y 0,05% de ácido láctico. Los dos tipos comunes de suero son el dulce y el ácido exitosamente usados en la producción de ácido láctico, suplementado con extracto de levadura y con glucosa. Para la producción de ácido láctico también han sido utilizados desechos orgánicos derivados del procesamiento de alimentos como los residuos del procesamiento de zanahoria, bagazo y lodos de caña, almidón y desechos de alimentos, mazorcas de maíz (Rivas et al. 2004a; 2004b), desechos de manzana (Alonso et al. 2009), desechos de piña (Idris 2006), mucílago de café (Arias et al. 2009), melaza derivada de la producción de xilosa (Shen y Xia 2006; Limin et al. 2010a), fuentes de nitrógeno orgánico (Altaf et al. 2005). El licor de maíz es un subproducto de la fabricación de almidón de maíz y su composición típica contiene lactosa 3,0 a 4,0% p/v, glucosa 0,5% p/v, no reductores (principalmente almidón) 1,5% p/v, ácido acético 0,05% p/v, ácido láctico de glucosa 0,5% p/v, feniletilamina 0,05% p/v, aminoácidos (péptidos, aminos) 0,5% p/v, sólidos totales de 80 a 90% p/v y nitrógeno 0,15 a 0,2% p/v (Okafor, 2007). El licor de maíz ha sido usado como fuente de nitrógeno.

## FERMENTACIÓN ÁCIDO LÁCTICA

Las técnicas de producción de ácido láctico consisten en usar células libres y células inmovilizadas. Diferentes estrategias de fermentación fed batch para producir ácido láctico, cuando utilizaron glucosa (850 g L<sup>-1</sup>) y extracto de levadura (1%) fue el método más efectivo, obteniendo la máxima concentración de ácido L (+) láctico (90,3%), biomasa (4,30 g L<sup>-1</sup>) y productividad (2,14 g L<sup>-1</sup>h<sup>-1</sup>). Comparado con la fermentación batch este método mostró un 56,5% p/v de mejoramiento en la producción de ácido láctico. En un cultivo de *Lactobacillus helveticus* con lactosuero desproteinizado obtuvieron la máxima concentración de ácido láctico (11 Kg m<sup>-3</sup>) a una tasa de dilución (D) de 0,1 h<sup>-1</sup> obtuvieron una productividad de ácido láctico de 13,5g L<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> con 1g L<sup>-1</sup> de azúcar residual a una D = 0,27 h<sup>-1</sup> con inmovilización de *Lactobacillus helveticus* en un proceso de dos etapas, usando un medio de lactosuero permeado y extracto de levadura. Otras investigaciones usando células inmovilizadas de *Lactobacillus casei* empleando como matriz de inmovilización cáscara de huevo, chips de madera (Nabi y Ardalan, 2004), piezas de manzana (Kourkoutas et al. 2005), alginato-quitosano (Göksungur et al. 2005), κ -Carragenina (Schepers et al. 2006) y gel de pectato (Panesar et al. 2007a).

El ácido láctico producido por fermentación en estado sólido (SSF), es un proceso definido como el crecimiento de microorganismos (principalmente hongos) en material sólido húmedo en ausencia de flujo de agua, esto favorece considerablemente la reducción de efluentes y por lo tanto, la contaminación. Es un proceso simple, que usa volúmenes pequeños y altas concentraciones de producto y de fácil aireación. Entre los materiales usados como soporte se encuentran el salvado de trigo (Naveena et al. 2005b), torta de cacahuete desgrasada (Nagarjun et al. 2005), paja de arroz (Qi y Yao 2007). Las cepas bacterianas usadas son: *Enterococcus faecalis* RKY1 (Oh et

al.2005), *Lactobacillus amylophilus* GV6 (Altaf et al. 2005), *Lactobacillus amylovorus* NRRL B-4542 (Nagarjun et al. 2005), *Lactobacillus delbrueckii* (Rojan et al. 2006c). En cuanto a los hongos filamentosos, Huang et al. (2005) utilizaron especies *Rhizopus arrhizus* 36017 y *Rhizopus oryzae* 2062 con rendimientos de  $Y = 0,85-0,92$  g g<sup>-1</sup> asociados con 1,5–3,5 g L<sup>-1</sup> de biomasa micótica producidos entre las 36 y 48 h de fermentación. Nuevos reactores se han propuesto para reducir el efecto inhibitorio del metabolito a altas concentración, aumentar la productividad y el rendimiento; como el reactor continuo “Specialized Function wo-Stage Reactor” (SFTS) diseñado por Amrane y Prigent (1996) en el cual se mejora la productividad volumétrica en una segunda etapa, el “Membrana CellRecycle Bioreactor” (MCRB) por Xu et al. (2006) para obtener alta densidad celular, Giorno et al. (2002) estudiaron el sistema, y Choudhury y Swaminathan (2006). El “Stirred Ceramic Membrane Reactor” (SCMR) propuesto por Ohashi et al. (1999) establece un sistema que provee un proceso continuo de bajo costo a partir de sustratos baratos. Recientes estudios, utilizan la Metodología de Superficie de Respuesta (MSR) para evaluar el efecto de las diferentes fuentes de carbono y de nitrógeno en la producción de ácido láctico, con el objeto de desarrollar procesos eficientes y económicos en el laboratorio que involucren la selección de materias primas renovables de bajo costo por fuentes costosas. La MSR puede identificar y cuantificar las interacciones entre parámetros y ha sido extensamente aplicada para optimizar condiciones de los medios de cultivo y otros parámetros del proceso (Gündüz 2005).

## CONCLUSIONES

El ácido láctico puede ser obtenido por vía biotecnológica a partir de derivados de recursos renovables como azúcar, melaza, lactosuero, materiales amiláceos y lignocelulósicos, almidones, yuca, licor de

maíz. Muchas investigaciones explican los distintos factores que controlan la fermentación para producir ácido láctico, desde los microorganismos implicados como las Bacterias Ácido Lácticas, rendimiento del proceso, sistemas batch, fedbatch y continuo, necesidades nutricionales y suplementos. Sin embargo, las investigaciones van dirigidas a producir ácido láctico con el desarrollo de microorganismos de alto rendimiento y la reducción del costo de la materia prima.

## BIBLIOGRAFÍA

[MetaFlip \(unicordoba.edu.co\)](http://unicordoba.edu.co)