

Ciencia y Tecnología Alimentaria

Ciencia y Tecnología Alimentaria
Sociedad Mexicana de Nutrición y Tecnología de Alimentos
somenta@gmail.com
ISSN (Versión impresa): 1135-8122
ISSN (Versión en línea): 1696-2443
MÉXICO

2005

L. Serna Cock / A. Rodríguez de Stouvenel
PRODUCCIÓN BIOTECNOLÓGICA DE ÁCIDO LÁCTICO: ESTADO DEL ARTE
Ciencia y Tecnología Alimentaria, diciembre, año/vol. 5, número 001
Sociedad Mexicana de Nutrición y Tecnología de Alimentos
Reynosa, México
pp. 54-65

Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal

Universidad Autónoma del Estado de México

redalyc
LA BIBLIOTECA CIENTÍFICA EN LÍNEA
<http://redalyc.uaemex.mx>

PRODUCCIÓN BIOTECNOLÓGICA DE ACIDO LÁCTICO: ESTADO DEL ARTE

BIOTECHNOLOGICAL PRODUCTION OF LACTIC ACID: STATE OF THE ART

PRODUCCIÓN BIOTECNOLÓGICA DE ÁCIDO LÁCTICO: ESTADO DO ARTE

Serna-Cock, L.*; Rodríguez-de Stouvenel, A.

Departamento de Ingeniería de Alimentos, Facultad de Ingeniería, Universidad del Valle, Cali, Colombia.

*Autor para la correspondencia. E-mail: lilicock@univalle.edu.co

Recibido: 2 de Diciembre de 2004; aceptado: 28 de Marzo de 2005

Received: 2 December 2004; accepted: 28 March 2005

Abstract

Lactic acid has a wide range of applications in food, pharmaceutical, chemical and cosmetic industries, among others. Recently, a great deal of interest has been devoted to the production of pure L(+) or D(-) lactic acid and their transformation into biodegradable lactide polymers (PLA). Research efforts have been focused on reducing production costs, throughout new substrates, new fermentation techniques, and emerging microorganisms capable of achieving high concentration, high productivity and high yields of lactic acid. This review summarizes the knowledge on biotechnological lactic acid production. © 2005 Altaga. All rights reserved.

Keywords: Lactic acid, lactic acid bacteria, biotechnological production.

Resumen

El ácido láctico tiene un amplio rango de aplicaciones en la industria alimenticia, farmacéutica, química, y cosmética, entre otras. Recientemente se ha acelerado la investigación en L(+) y D(-) ácido láctico por vía biotecnológica, debido a su posibilidad de transformación en poliláctido biodegradable (PLA). Los esfuerzos en la investigación del ácido láctico, están enfocados a disminuir los costes de producción a través de nuevos sustratos, nuevas tecnologías de fermentación y separación y nuevos microorganismos capaces de alcanzar altas concentraciones de ácido láctico, altos rendimientos y altas productividades. En este artículo se presenta una revisión actualizada de la producción por vía biotecnológica del ácido láctico. © 2005 Altaga. Todos los derechos reservados.

Palabras clave: Ácido láctico, bacterias ácido lácticas, producción biotecnológica.

Resumo

O ácido láctico ten un amplo rango de aplicacións na industria alimenticia, farmacéutica, química, e cosmética, entre outras. Recentemente acelerou-se a investigación en L(+) e D(-) ácido láctico por vía biotecnolóxica, debido a súa posibilidade de transformación en poliláctido biodegradable (PLA). Os esforzos na investigación do ácido láctico, están enfocados a diminuí-los custos de produción a través de novos sustratos, novas tecnoloxías de fermentación e separación e novos microorganismos capaces de alcanzar altas concentracións de ácido láctico, altos rendementos e altas productividades. Neste artigo preséntase unha revisión actualizada da produción por vía biotecnolóxica do ácido láctico. © 2005 Altaga. Tódolos dereitos reservados.

Palabras chave: Ácido láctico, bacterias ácido lácticas, produción biotecnolóxica.

INTRODUCCIÓN

El ácido láctico, ácido 2-hidroxiopropanoico, es un compuesto muy versátil utilizado en las industrias química, farmacéutica, de alimentos y del plástico. Fue descubierto en 1780 por el químico sueco Scheele, quien lo aisló de leche agria, fue reconocido como producto de fermentación por Blondeau en 1847 y tan solo en 1881, Littleton inicia la fermentación a escala industrial (Suriderp, 1995; Parés *et al.*, 1997).

El ácido láctico tiene un carbono asimétrico lo cual da lugar a actividad óptica. Existen dos isómeros ópticos, el D(-) láctico y L(+) láctico y una forma racémica constituida por fracciones equimolares de las formas L(+) y D(-). A diferencia del isómero D(-), la configuración L(+) es metabolizada por el organismo humano. Tanto las dos formas ópticamente activas como la forma racémica se encuentran en estado líquido, siendo incoloros y solubles en agua. En estado puro son sólidos altamente higroscópicos de punto de fusión bajo, el cual es difícil de determinar debido a la extrema dificultad de producirlo anhidro; es por esta razón que se manejan rangos de 18-33°C. El punto de ebullición del producto anhidro está entre 125-140°C (Suriderp, 1995; Parés *et al.*, 1997). Ambas formas isoméricas del ácido láctico pueden ser polimerizadas y se pueden producir polímeros con diferentes propiedades dependiendo de la composición (Naitove, 1998). Las propiedades fisicoquímicas del ácido láctico se muestran en la Tabla 1.

PRODUCCIÓN INDUSTRIAL

El ácido láctico puede ser obtenido por vía química ó biotecnológica. La producción química, está basada en la reacción de acetaldehído con ácido cianhídrico (HCN) para dar lactonitrilo, el cual puede ser hidrolizado a ácido láctico; otro tipo de reacción se basa en la reacción a alta presión de acetaldehído con monóxido de carbono y agua en presencia de ácido sulfúrico como catalizador. La síntesis química tiene la desventaja que el ácido láctico producido es una mezcla de D y L ácido láctico ópticamente inactivo (Chang *et al.*, 1999; Datta *et al.*, 1993; Lipinsky y Sinclair, 1986 y Litchfield, 1996) por lo cual, el 90% del ácido láctico producido en el mundo es elaborado por vía biotecnológica (Hofvendahl y Hhan-Hägerdal, 2000)

La producción biotecnológica está basada en la fermentación de sustratos ricos en carbohidratos por bacterias u hongos y tiene la ventaja de formar enantiómeros D(-) ó L(+), ópticamente activos. La producción biotecnológica depende del tipo de microorganismo utilizado, la inmovilización o recirculación del microorganismo, el pH, la temperatura, la fuente de carbono, la fuente de nitrógeno, el modo de fermentación empleado y la formación de subproductos (Hofvendahl y Hhan-Hägerdal, 2000).

Cuando se utilizan bacterias en la producción por fermentación, se busca que éstas sean preferiblemente termófilas, que fermenten rápida y completamente sustratos baratos, con adición mínima de nutrientes nitrogenados,

Tabla1.- Propiedades físico-químicas del ácido láctico. Adaptado de Dean (1987).

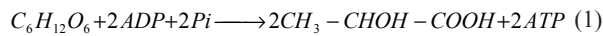
Fórmula	C ₃ H ₆ O ₃
Peso molecular	90,08
Índice de refracción	1,4414
Punto de fusión	L(+) y D(-): 52,8 a 54°C DL (según composición): 16,8 a 33°C
Punto de ebullición	125 -140°C
Gravedad específica	1206
Calor de combustión	3616 cal/g
Viscosidad	40,33 mNsm ⁻²
Densidad	1,249
Constante dieléctrica	22 ε

que crezcan en condiciones de valores reducidos de pH, que presenten poca producción de biomasa y una despreciable cantidad de subproductos (Akerberg *et al.*, 1998).

Las bacterias que pueden utilizarse para la producción de ácido láctico son cocos y bacilos Gram positivos, anaerobios facultativos, no esporulados, inmóviles y catalasa negativo, pertenecientes a los géneros *Lactobacillus* (*Lb*), *Carnobacterium*, *Leuconostoc* (*Leu*), *Pediococcus* (*Pd*), *Streptococcus* (*Str*), *Tetragenococcus*, *Lactococcus* (*Lc*), *Vagococcus*, *Enterococcus* (*Ent*), *Aerococcus* y *Weissella* (Bergey, 1984; Hofvendahl y Hhan-Hägerdal, 2000). La mayoría de las especies pertenecientes a estos géneros tienen alta tolerancia a pH por debajo de 5. Esta tolerancia ácida les da ventajas competitivas sobre otras bacterias; la temperatura óptima de crecimiento varía entre géneros y está en un rango de 20°C a 45°C (Hofvendahl y Hhan-Hägerdal, 2000). Las bacterias del ácido láctico (LAB) tienen requerimientos nutricionales complejos debido a su limitada habilidad para sintetizar aminoácidos y vitamina B (Niel y Hahn-Hägerdal, 1999; Chopin, 1993; citado por Hofvendahl y Hhan-Hägerdal, 2000), por lo tanto ellas se encuentran en la naturaleza en ambientes nutricionalmente ricos. La mayoría de LAB producen únicamente una forma isomérica de ácido láctico; las formas isoméricas de lactato deshidrogenasa presente en las LAB determinan el isómero de ácido láctico producido, ya que la deshidrogenasa láctica es esteroespecífica; las especies de los géneros *Aerococcus*, *Carnobacterium*; *Enterococcus*, *Vagococcus* y *Tetragenococcus* producen únicamente isómeros L, mientras las especies del género *Leuconostoc* producen únicamente isómeros D (Salminen, 1993). Sin embargo, algunas LAB producen formas racémicas donde el isómero predominante depende de cambios en la aireación, cantidad de NaCl, tipo de fermentación, incrementos en el pH y concentración de sustrato (Hofvendahl y Hhan-Hägerdal, 2000). Las especies del género *Lactobacillus* por ejemplo, producen además de formas isoméricas L(+) y D(-), una mezcla racémica de ambos isómeros (Salminen, 1993).

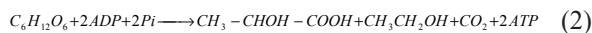
Acorde a los productos finales de la fermentación de los hidratos de carbono las LAB se dividen en homofermentativas y heterofermentativas. En el metabolismo homofermentativo, se produce predominantemente ácido láctico y las bacterias utilizan las hexosas siguiendo la vía de Embden-Meyerhof; las bacterias que tienen este tipo de metabolismo son *Lb*.

delbrueckii, *Lb. rhamnosus*, *Lb. helveticus*, *Lb. amylovorus*; *Ped. acidilactici*, *Ped. pentosaceus*, *Ped. damnosus*, *Str. salivarius*, *Lc. lactis*, entre otros. La estequiometría clásica de la fermentación homoláctica es la siguiente (Salminen, 1993):



La fermentación homoláctica puede además dar lugar a una mezcla de ácidos cuando existe una concentración de glucosa limitante, cuando se incrementa el pH, se aumenta la temperatura o se fermentan azúcares diferentes a la glucosa; en estos casos, la diferencia radica en el metabolismo del piruvato, el cual además de producir ácido láctico produce además formiato y acetil CoA por la enzima piruvato formiato liasa (Hofvendahl y Hhan-Hägerdal, 2000).

Dentro del género *Lactobacillus*, existen bacterias homofermentativas obligadas y facultativas, estas últimas tienen glucosa-6 fosfato deshidrogenasa y siguen la vía de la pentosa. La fermentación heteroláctica produce a partir de glucosa, cantidades equimolares de otros productos de fermentación como ácido acético, etanol y dióxido de carbono. Las bacterias que tienen este tipo de metabolismo son: *Lb. brevis*, *Lb. buchneri*, *Lb. bifidus* y todas las especies del género *Leuconostoc*. En la fermentación heteroláctica hay formación de xilulosa-5 fosfato por el sistema de la glucosa-6 fosfato deshidrogenasa (Parés, 1997; Salminen, 1993). La estequiometría heteroláctica a partir de glucosa es la siguiente (Salminen, 1993):



El ácido láctico puede además ser producido en mayor o menor proporción por bacterias que no suelen incluirse en el grupo láctico, tal es el caso de *Bifidobacterium*, algunas especies de *Bacillus*, *Clostridium*, *Microbacterium* y bacterias entéricas como *E. coli* (Chang *et al.*, 1999), *Enterobacter cloacae* (Malakar *et al.*, 1999) y *Enterococcus faecalis* (Young-Jung *et al.*, 2004) entre otros.

De las LAB, *Lactobacillus delbrueckii* es el microorganismo más utilizado en la producción a gran escala de ácido láctico ya que tiene la ventaja de producir únicamente isómeros L(+), consumir eficientemente glucosa y ser un microorganismo termófilo con temperatura óptima de crecimiento 41.5°C, lo que reduce costes de enfriamiento y esterilización, así como riesgos de contaminación microbiológica en el fermentador. Este microorganismo crece bien a un pH entre 5,5 y 6,5, por lo cual el ácido producido debe ser continuamente neutralizado; por esto, *Lactobacillus delbrueckii* ha sido sometido a mutagénesis para aumentar su tolerancia al ácido láctico (Demirchi *et al.*, 1992, citado por Hofvendahl y Hhan-Hägerdal, 2000). En medio lácteos la bacteria recomendada es *Lactobacillus bulgaricus* que también es termófila (García, 1993).

Los hongos utilizados en la producción de ácido láctico son mohos y levaduras que pertenecen a los géneros *Rhizopus*, *Zymomonas*, *Saccharomyces* y *Kluiveromyces* (Bianchi *et al.*, 2001; Chang *et al.*, 1999; Domínguez y

Vázquez, 1999). Desde finales de los años ochenta, se ha venido estudiando ampliamente *Rhizopus oryzae* para la producción biotecnológica de ácido láctico ya que presenta la ventaja de que no requiere fuente de nitrógeno orgánico para su crecimiento, tiene la habilidad de producir directamente grandes cantidades de L(+) ácido láctico de almidón y es fácilmente separado del medio de fermentación en el proceso de recuperación y purificación (Hang, 1989; Yu y Hang, 1989; Tamada *et al.*, 1992; Hamamci y Ryu, 1994; Soccol *et al.*, 1994; Yang *et al.*, 1995; Kosakai *et al.*, 1997; Du *et al.*, 1998, Domínguez y Vázquez, 1999; Sun *et al.*, 1999; Miura *et al.*, 2003; Dong-Mei *et al.*, 2003; Ruengruglikit *et al.*, 2003; Dong-Mei *et al.*, 2003; Bulut *et al.*, 2004;); sin embargo, la dificultad que presenta la producción de ácido láctico con mohos es su forma física ya que el gran tamaño de los micelios o sus agregados puede provocar un aumento en la viscosidad del medio de fermentación lo que causa un alto incremento en la demanda de oxígeno y resistencia a la transferencia de masa en el proceso fermentativo, lo que a su vez aumenta los tiempos de fermentación, aumenta los subproductos formados especialmente etanol, y disminuye los rendimientos en conversión (Dong-Mei *et al.*, 2003). Como la forma física del crecimiento del hongo está influenciado por el pH del medio, la agitación, la aireación, el nivel de inóculo y la concentración de sustrato; éstas variables son manipuladas para disminuir la viscosidad en el medio de cultivo (Bulut *et al.*, 2004).

Para degradar sustratos baratos, complejos y/o mejorar los rendimientos se han venido estudiando mezclas de cepas lácticas y no lácticas; Kurosawa *et al.* (1998) por ejemplo, utilizaron una mezcla de *Aspergillus* y *Streptococcus* empleando como sustrato almidón; Özen *et al.* (1992) utilizaron *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus* en permeado de lactosuero; Roukas y Kotzekidou (1998) usaron *Lactobacillus casei* y *Lactococcus lactis* en lactosuero desproteínizado; Malakar *et al.* (1999) utilizaron *Lactobacillus curvatus* y *Enterobacter cloacae* en medio MRS; Wang *et al.* (2003) emplearon *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus* y *Bifidobacterias* en leche de soya; Adamberg *et al.* (2003) usaron *Streptococcus salivarius*, *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus acidophilus* y *Lactobacillus paracasei* en un medio de cultivo comercial basado en lactosa y Schäffer *et al.* (2004) utilizaron en leche, una mezcla microbiana mesófila y termófila.

En la producción biotecnológica de ácido láctico con bacterias o con hongos, se utilizan como sustratos, sacarosa proveniente de azúcar de caña y remolacha azucarera, lactosa proveniente de lactosuero y dextrosa procedente de almidón hidrolizado; la sacarosa refinada y glucosa son los más utilizados (Lazarova y Peeva, 1994; Bulut *et al.*, 2004) pero debido a que el azúcar puro es de alto coste (Akerberg y Zacchi, 2000; Kwon *et al.*, 2000) se han venido investigando otros sustratos para disminuir los costes de producción. Materiales celulósicos, licores sulfíticos, granos dañados, sustratos amiláceos disponibles en la forma de desechos agrícolas y porciones comestibles de granos y tubérculos sirven como materia prima para su producción (Fausto y Diaz, 1997).

Sin embargo, la producción de ácido láctico de éstas fuentes renovables requiere de los siguientes pasos: i) hidrólisis del sustrato hasta azúcares fermentables; ii) fermentación de azúcares a ácido láctico; iii) separación de biomasa y partículas sólidas del medio de fermentación; iv) purificación del ácido láctico obtenido (Hofvendahl y Hhan-Hägerdal, 2000). A continuación se listan algunos sustratos de fermentación láctica diferentes a glucosa y lactosa pura y en la Tabla 2 se muestran las concentraciones, los rendimientos y las productividades volumétricas obtenidas con éstos sustratos. Los sustratos no puros citados en la literatura son: mazorcas del maíz (Fred y Peterson, 1921; Rivas *et al.*, 2004a y b; Ruengruglikit y Hang, 2003), residuos de madera (Allgeier *et al.*, 1929; Marten *et al.*, 1927), melazas de caña y remolacha (Carrère y Blaszkow, 2001; Laverde y Muñoz, 1990; Monteagudo y Aldavero, 1999; Milcent y Carrère, 2001; Ohashi *et al.*, 1999; Young-Jung *et al.*, 2004), vinazas (Bolívar y López, 1994), fibras de alfalfa (Sreenath *et al.*, 2001), permeado de lactosuero (Amrane, 2000, 2001; Roukas *et al.*, 1991, 1998; Schepers, 2002), almidón de yuca (Xiaodong *et al.*, 1997), paja de trigo y residuos de patata adicionados de residuos generados en el proceso de producción de concentrados para alimentación animal, jugos verdes y pardos (Garde *et al.*, 2000), salvado de trigo (Naveena *et al.*, 2005a,b), harina de trigo hidrolizada (Akerberg y Zacchi, 1998 y 2000), cebada (Hurok *et al.*, 2005), residuos de cuernos de carneros (Ram horns) (Basaran y Izzet, 2003), jugos de dátiles (Nancib *et al.*, 2005), jugos de caña de azúcar verde (Serna-Cock y Rodríguez de Stouvenel, 2004). La Tabla 3 muestra las concentraciones, los rendimientos y las productividades en ácido láctico de fermentaciones llevadas a cabo en sustratos puros.

En la obtención comercial con bacterias lácticas, al sustrato puro se le adiciona una fuente de vitaminas y de cofactores, se utiliza una mezcla de 10 a 15 % de glucosa, cantidades menores de fosfato de amonio, extracto de levadura y 10% de neutralizante. Los neutralizantes que pueden ser utilizados son carbonato de calcio, hidróxido de calcio, carbonato de amonio, hidróxido de amonio ó hidróxido de sodio, aunque las mejores alternativas son el carbonato de amonio o de calcio que conducen a la formación de sulfato de amonio ó dióxido de carbono respectivamente (Hofvendahl y Hhan-Hägerdal, 2000). El medio se inocula y se agita sin aireación para optimizar la neutralización del ácido formado. La fermentación dura entre 2 a 4 días y se termina cuando todo el azúcar es consumido, con el fin de facilitar la purificación. Al final de la fermentación el medio es ajustado a pH 10 y si se utiliza carbonato de calcio, el medio es calentado para solubilizar el lactato de calcio y coagular proteínas presentes. Posteriormente el medio se filtra para eliminar sustancias insolubles, así como biomasa. El ácido libre se obtiene por adición de ácido sulfúrico seguido de filtración para eliminar el sulfato de calcio formado. El ácido láctico es entonces concentrado por evaporación (García, 1993; Milcent y Carrère, 2001).

Debido a que el tipo de fermentación descrito (en discontinuo) está limitado por el daño que sufren las células por la acumulación en el medio de fermentación de la forma

no disociada del ácido, se han investigado otros modos de fermentación como son la fermentación en discontinuo con alimentación intermitente y la fermentación en continuo y se han desarrollado una serie de procesos basados en la eliminación del producto por filtración y concentración de las células usando una unidad de retención (Boyaval, 1987; Ohashi *et al.*, 1999; Vick Roy *et al.*, 1982, 1983). La fermentación en discontinuo con alimentación intermitente es un proceso en el cual el bioreactor es alimentado continuo o secuencialmente con sustrato, sin la eliminación del medio de fermentación (Roukas and Kotzelidou, 1998) mientras que en la fermentación en continuo la corriente de producto posee la misma composición que el líquido presente en el reactor; esto es posible mediante el uso de células microbianas inmovilizadas en carragenato, alginato (Roukas y Kotzekidou, 1991,1998; Zayed, 1995), polietilenamida, poliuretano (Sun *et al.*, 1999), aceites (Tik, 2001), frutas (Kourkoutas *et al.*, 2004) etc. En las Tablas 2 y 3 se especifica el tipo de fermentación utilizado por cada uno de los autores citados.

La efectividad del proceso biotecnológico de producción del ácido láctico puede ser medida como la concentración de ácido láctico producido, el rendimiento en ácido láctico basado en el sustrato consumido y como la velocidad de producción de ácido láctico. La separación continua del ácido láctico del medio de fermentación, permite obtener las más altas concentraciones del mismo. Referente a los microorganismos utilizados, en la mayoría de los casos, las cepas que dan altas concentraciones y rendimientos, dan altas productividades. Por otro lado, la inmovilización de las células no siempre incrementa el rendimiento y la productividad en ácido láctico. Relativo al modo de fermentación, la fermentación en continuo da en la mayoría de los casos mayores concentraciones y mayores rendimientos, comparado con la fermentación en discontinuo. Altas o iguales concentraciones de ácido láctico se consiguen además manteniendo constante el pH durante la fermentación. La temperatura de fermentación también tiene influencia en la producción de ácido láctico, la temperatura que da la más alta productividad es en algunos casos inferior a la temperatura que da la más alta concentración y rendimiento en ácido láctico (Hofvendahl y Hhan-Hägerdal, 2000).

RECUPERACIÓN Y PURIFICACIÓN

La separación, purificación y preconcentración del ácido láctico obtenido de los medios de fermentación es difícil debido a la alta afinidad del ácido por el agua y a su baja volatilidad. En la mayoría de los procesos, el ácido láctico es recuperado bajo la forma de lactato de calcio, y los tratamientos posteriores van a depender de la pureza deseada e incluyen: i) tratamiento con carbón activado, ii) purificación con resinas de intercambio iónico, iii) extracción con solventes o esterificación con metanol seguido por destilación e hidrólisis.

Sin embargo, con el fin de limitar los residuos generados en el proceso, se han desarrollado otros métodos de recuperación y purificación que incluyen clarificación

Tabla 2.- Producción de ácido láctico a partir de sustratos diferentes a glucosa y lactosa puros (Continúa en la página siguiente).

Sustrato	Microorganismo	Suplementos	Condiciones de fermentación	Acido láctico	Rendimiento en producto y Productividad volumétrica	Tipo de fermentación	Autor
Tusas de mazorcas de maíz (corazón de la mazorca) (100 g)	<i>Lb. pentoaceticum</i>	-	30°C 2 sem	13,8 g	0,13 g g ⁻¹	Discontinuo	Fred y Peterson, 1921
Residuos de madera (2,78 g)	LAB aisladas de repollos fermentados	Harina de sangre Malta molida Malta germinada	27° C 10 d	2,298 g		Discontinuo	Marten <i>et al.</i> , 1927
Aserrín (hasta 10% azúcar)	Mezcla de cepas. (sin identificación)	Malta germinada	28° C 9 d	7 %		Discontinuo	Allgeier <i>et al.</i> , 1929
Jugo de cáscara de cítricos	<i>Lb. delbrueckii</i> + <i>Lactobacillus</i> de jugo de uva	Autolisado de levadura malta	45° C 144 h	0,711 g l ⁻¹		Discontinuo	Kagan y Pilnik, 1960
Melazas	<i>Lb. delbrueckii</i> ATCC 9649	Extracto de malta Sulfato de amonio	45-46° C 300 rpm 48 h	1,78 g l ⁻¹	0,63g g ⁻¹	Discontinuo	Laverde y Muñoz, 1990
Lactosuero desproteinizado	<i>L. lactis</i> y <i>Lb. casei</i> coimmobilizados			41,3 g l ⁻¹			Roukas y Kotzekidou, 1991
Vinaza + sacarosa	<i>Lb. plantarum</i> ATCC 10241	Sulfato de amonio	30°C / pH 6,0 150 rpm / 12 h	3,41 g l ⁻¹		Discontinuo	Bolívar y López, 1994
Lactosuero (50 g l ⁻¹ lactosa)	<i>Lactobacillus sp</i>	Extracto de levadura y minerales	35° C / pH 6,5 250 rpm / 22 h	18,7 – 33,4 g l ⁻¹		Discontinuo / Continuo	Zayed y Winter, 1995
Almidón de yuca, papa, trigo, arroz o maíz (10 g l ⁻¹)	<i>Lb. amylovorus</i> ATCC 33620	Extracto de levadura	40°C, 36 h	4,72 – 10,05 g l ⁻¹	0,42 – 0,9 g g ⁻¹	Discontinuo	Xiaodong <i>et al.</i> , 1997
Hidrolizado de Harina de trigo (182 g l ⁻¹)	<i>Lc. lactis ssp lactis</i> ATCC19435		30°C / pH 6,0 48 h	86g l ⁻¹	2,9gl ⁻¹ h ⁻¹		Akerberg <i>et al.</i> , 1998
Residuos lignocelulósicos de tusa de maíz (70 g l ⁻¹) + 1gl ⁻¹ de glucosa	<i>Lb. delbrium</i>		50°C / pH 4,8-5 200 rpm / 80 h	33,97g l ⁻¹		Discontinuo	Luo <i>et al.</i> , 1997
Residuos de panadería	<i>Lb. amylovorus</i> JCM 1127	Extracto de levadura Agua de cocido de maíz, soja, fibra de arroz y fibra de trigo	pH 6,0 72 h	0,134 g l ⁻¹		Discontinuo	Oda <i>et al.</i> , 1997
Lactosuero desproteinizado (100 g l ⁻¹)	<i>Lc. lactis</i> <i>Lb. casei</i>			46g l ⁻¹		Discontinuo con alimentación intermitente	Roukas y Kotzekidou, 1998
Melazas (120 g l ⁻¹)	<i>Lc. lactis</i>		37°C / pH 6,8 240 h	40 g l ⁻¹	10,6 g l ⁻¹ h ⁻¹	Continuo Reactor de membrana	Ohashi <i>et al.</i> , 1999
Lodos de aguas residuales	Bacterias lácticas aisladas de lodos		5 d	6,91g l ⁻¹	0,9 g g ⁻¹ 0,24 g l ⁻¹ h ⁻¹		Nakasaki <i>et al.</i> , 1999

Tabla 2.- Continuación.

Sustrato	Microorganismo	Suplementos	Condiciones de fermentación	Acido láctico	Rendimiento en producto y Productividad volumétrica	Tipo de fermentación	Autor
Jugos pardos (3 %) + residuos de papa hidrolizados / Paja de trigo	<i>Lb. salivarius</i>	Sin adición de otros nutrientes	33,5°C / pH 6,5 165 rpm / 24 h	13 – 70 g l ⁻¹	0,2 g g ⁻¹	En continuo	Garde <i>et al.</i> , 2000
Glucosa (150 g l ⁻¹) + Granos de soya hidrolizado	<i>Lb. rhamnosus</i>	Varios	42°C / 150 rpm pH 6,0 / 60 h	125 g l ⁻¹	0,92 g g ⁻¹ 2,27 g l ⁻¹ h ⁻¹	Discontinuo	Kwon <i>et al.</i> , 2000
Almidón de maíz 60 - 90 g l ⁻¹	<i>Lb. amylophilus</i>		37°C / pH 6,5	49 – 76,2 g l ⁻¹	0,96 g g ⁻¹ 1,05 g l ⁻¹ h ⁻¹	Discontinuo	Vishnu, <i>et al.</i> , 2000
Fibras de alfalfa 5g	<i>Lb. Plantarum</i> / <i>Lb. delbruckii</i>	Con / sin adición de otros nutrientes	37-41°C / pH 5,5-6,0 130 rpm / 47- 70,5 h	34- 43,4 g l ⁻¹	0,354-0,606 g g ⁻¹	Discontinuo, sacarificación y fermentación simultánea	Srenath <i>et al.</i> , 2001a
Salvado de trigo / Tusa de trigo / paja de trigo / fibra de soja 5 g	<i>Lb. delbruckii</i>	Sin adición de otros nutrientes	37-41°C / pH 5,5-6,0 130 rpm	22-38 g l ⁻¹		Discontinuo	Srenath <i>et al.</i> , 2001b
Lactosa (100 g l ⁻¹)	<i>Lb. helveticus</i> ATCC 15009	Extracto de levadura (10 g l ⁻¹)	42° C / pH 5,5 150 rpm, inmovilización		3,9 g l ⁻¹ h ⁻¹	Continuo, lecho empacado	Tango y Ghaly, 2002
Tusa de maíz	<i>Rhizopus oryzae</i> NRRL-395		30°C / 48h		0,299g g ⁻¹	Discontinuo con	Ruengruglikit y Hang, 2003
Melazas / Salvado de trigo (50 g l ⁻¹) / Vainas de algarroba (10 g l ⁻¹)	<i>Rhizopus oryzae</i> NRRL 395	glucosa (50 g l ⁻¹)	30°C / 150 rpm pH 5,7 / 24 h	24-58 g l ⁻¹		Discontinuo	Bulut <i>et al.</i> , 2004
Tusas de maíz hidrolizadas	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> CECT-288	Biomasa de <i>Debaryomyces hansenii</i> Agua de cocido de maíz (10 g l ⁻¹)	45°C / 200 rpm	99,6 g l ⁻¹		Sacarificación y fermentación simultáneo	Rivas <i>et al.</i> , 2004 (b)
Melazas (200 g)	<i>Enterococcus faecalis</i> RKY1	Extracto de levadura (15 g l ⁻¹)	38°C / pH 7,0 200 rpm / 30 h	95,7 g l ⁻¹	0,98 g g ⁻¹ 4,0 g l ⁻¹ h ⁻¹	Discontinuo	Young-Jung <i>et al.</i> , 2004
Salvado de trigo (10 g)	<i>L. amylophilus</i> GV6	Peptona (1- 9 %) E. L. (1 - 0,88 %) ACM (2 %)	37°C / pH 6,75 5-9 d	1,87-2,3 g / 10 g de salvado	0,36 g g ⁻¹	Fase sólida	Naveena <i>et al.</i> , 2005a, b
Cebada (200 g) / Harina de cebada (100 - 200 g l ⁻¹)	<i>Enterococcus faecalis</i> Rkyl	Sin adición de nutrientes	38°C / pH 7,0 200 rpm	103,1 g l ⁻¹	0,92- 0,94 g g ⁻¹ 0,88 – 3,8 g l ⁻¹ h ⁻¹	Discontinuo	Hurok <i>et al.</i> , 2005
Jugos de dátil (glucosa 50 g l ⁻¹)	<i>Lb. casei</i> subsp <i>rhamnosus</i>	E. L. (10 g l ⁻¹) con 5 Vit.(1ml l ⁻¹) y sin vitaminas / hidrolizado de caseína (14,6 g l ⁻¹)	38°C / pH 6,0 150 rpm / 40 h	22,5 - 24,8 g l ⁻¹ (con vit.) 24,3 g l ⁻¹ (sin vit.)			Nancib <i>et al.</i> , 2005

Tabla 3.- Producción de ácido láctico con sustratos puros (Continúa en la página siguiente).

Sustrato	Microorganismo	Suplementos	Condiciones de fermentación	Acido láctico	Rendimiento en producto y Productividad volumétrica	Tipo de fermentación	Autor
Glucosa (100 g l ⁻¹)	<i>Lb. debrueckii</i>	Malta	37° C / 8 d	530 g	0,95 g g ⁻¹ / 0,47 g l ⁻¹ h ⁻¹	Discontinuo	Tatum <i>et al.</i> , 1935
Glucosa 80gl ⁻¹	<i>Lc. lactis</i> IO-1		37° C pH 6,0	60g l ⁻¹	5,1g l ⁻¹ h ⁻¹	Discontinuo electrodiálisis	con Vonktaveesuk <i>et al.</i> , 1994
Glucosa (30 g l ⁻¹)	<i>Lb. delbrueckii</i> / <i>Lb. casei</i> / <i>Lb. salivarius</i>	MRS + Acetato y citrato	35° C pH 6,0	26,8 – 27,8 g l ⁻¹	0,89 - 0,99 g g ⁻¹	Discontinuo Extracción aminas	con Siebold <i>et al.</i> , 1995
Glucosa (90 g l ⁻¹)	<i>Lb. casei</i> NTTL B-441	E. L. / Peptona / Malta / E. de pasto / Agua de cocido de maíz / Hidrolizado de caseína	37° C / pH 6,2 150 rpm / 48 h	23-100 g l ⁻¹	4,1 gl ⁻¹ h ⁻¹	Discontinuo	Hujanen <i>et al.</i> , 1996
Glucosa (130 g l ⁻¹)	<i>Lb. rhamnosus</i>		42° C / pH 5 - 6,8 150 rpm / 56 - 106 h	110,9 - 45,9 g l ⁻¹	0,56 – 0,86 g g ⁻¹ 1,04 - 2,54 g l ⁻¹ h ⁻¹	Discontinuo	Gonçalves <i>et al.</i> , 1997
Glucosa (100gl ⁻¹)	<i>Lb. casei subs rhamnosus</i>	Varios	42° C / pH 6,0 200 rpm / 48 h	10 - 88 g l ⁻¹			Yoo <i>et al.</i> , 1997
Glucosa (120gl ⁻¹)	<i>Rhizopus oryzae</i>		35° C / control de pH- 150 rpm / 60h	76,3 - 110,2 g l ⁻¹	0,87 g g ⁻¹	Fermentador air-lift	Park <i>et al.</i> , 1998
Glucosa (102gl ⁻¹)	<i>Rhizopus oryzae</i>		34° C pH 7 Inmovilización		6,2 gl ⁻¹ h ⁻¹	Fermentador air lift	Sun <i>et al.</i> , 1999
Glucosa (50gl ⁻¹)	<i>Echerichia coli</i> RR1		37° C / pH 7 1000 rpm / 67 h	62,2 g l ⁻¹ D-lactato 45 g l ⁻¹ L-lactato	0,9 g g ⁻¹ 1,04 g l ⁻¹ h ⁻¹	Discontinuo	Chang <i>et al.</i> , 1999
Lactosa (60gl ⁻¹)	<i>Lb. plantarum</i> ATCC 21028		37° C / pH 5-6 150 rpm / 36 h	41g l ⁻¹	0,95 g g ⁻¹ 1,05 gl ⁻¹ h ⁻¹	Discontinuo	<i>Fu et al.</i> , 1999
Glucosa (60gl ⁻¹)	<i>Lc. lactis</i>		37° C / pH 6,8 240 h	15,8 – 46 g l ⁻¹		Discontinuo Continuo Reactor membranas	/ Ohashi <i>et al.</i> , 1999 de
Glucosa (150gl ⁻¹)	<i>Rhizopus oryzae</i> ATCC 52311		35° C / Ph 3,5-6 200 rpm	60 g l ⁻¹	0,66 g g ⁻¹ 1,13 g l ⁻¹ h ⁻¹	Discontinuo	Domínguez y Vázquez, 1999

Tabla 3.- Continuación.

Sustrato	Microorganismo	Suplementos	Condiciones de fermentación	Acido láctico	Rendimiento en producto y Productividad volumétrica	Tipo de fermentación	Autor
Glucosa (22,5g l ⁻¹)	<i>Lb. casei subs casei</i>	Extracto de levadura (5 g l ⁻¹)	45° C / pH 5,5 Con /sin Inmovilización	18,6 - 57,5 g l ⁻¹	0,85 g g ⁻¹ 2,42 - 9,72 g l ⁻¹ h ⁻¹	Continuo	Bruno <i>et al.</i> , 1999
Sacarosa	Microorganismos de melaza de caña (cepa C y D sin identificar)		37-39° C pH 5,6 150 rpm 37° C / 48 h		0,77 g g ⁻¹ 0,069 - 0,145 g l ⁻¹ h ⁻¹	Discontinuo	Gómez, 2000
Glucosa (60 - 100 g l ⁻¹) + Xilosa y arabinosa M17	<i>Lb. Mon4</i> + <i>Lb. Mon4</i> + <i>pxyAB-mod</i>			11,3 - 19,6 g l ⁻¹		Discontinuo	Kious, 2000
Glucosa	<i>Lc. lactis</i>		30° C / pH 6,3 / 8h	55 mM		Discontinuo	Silvestre <i>et al.</i> , 2001
Glucosa	<i>Lb. delbrueckii</i> NRRL-B445	Aceite de girasol	37° C inmovilizadas 30 h	16,46 - 25,59 g l ⁻¹		Inmovilización	Tik <i>et al.</i> , 2001
Glucosa	<i>Lb. plantarum</i>				0,97 g g ⁻¹ 7,66 g l ⁻¹ h ⁻¹	Continuo Inmovilización con quitosano	Krishnan <i>et al.</i> , 2001
Glucosa (100 - 160 g l ⁻¹)	<i>Lb. casei</i> NRRL B-441	E. M. y E. L. 4 g l ⁻¹	35° C / pH 6,3 200 rpm / 15 h	118,6 g l ⁻¹	4,4 g l ⁻¹ h ⁻¹	Discontinuo	Hujanen <i>et al.</i> , 2001
Lactosa (100 g l ⁻¹)	<i>Lb. helveticus</i> ATCC 15009	E. L. 10 g ⁻¹	42° C / pH 5,5 150 rpm / 18 h		0,8 g g ⁻¹ 3,9 g l ⁻¹ h ⁻¹	En continuo, lecho empacado inmovilización	Tango y Ghaly, 2002
Glucosa (30 g l ⁻¹)	<i>Bacillus thermophilic</i>	E. L. y peptona	60° C / pH 6,5 335 h	55 g l ⁻¹	0,8 g g ⁻¹ 0,8 g l ⁻¹ h ⁻¹	Bioreactor membrana electrodiálisis	Danner <i>et al.</i> , 2002
Glucosa (20 - 100 g l ⁻¹)	<i>Lac. lactis</i> NZ133	Adición de medio MI	30° C / pH 6,5	22 - 60 g l ⁻¹	0,93 g g ⁻¹	Continuo	Boonmee <i>et al.</i> , 2003
MRS	<i>Lactobacillus casei</i> KH-1	Extracto de levadura	37° C / pH 5,7 150 rpm / 24 h		0,834 g g ⁻¹ 0,526 g l ⁻¹ h ⁻¹		Mi-Young, <i>et al.</i> , 2003
Glucosa (100 - 120 g l ⁻¹)	<i>Lb. rhamnosus</i> CECT-288	Biomasa de <i>D. hanseni</i> (10 g l ⁻¹) Agua de cocido de maíz (10 g l ⁻¹)		110,87 g l ⁻¹	0,90 g g ⁻¹ 0,13 g l ⁻¹ h ⁻¹		Rivas <i>et al.</i> , 2004 (a)
MRS + 20 g l ⁻¹ de glucosa	Mezcla de <i>Lb. casei</i> <i>Lb. delbrueckii subsp lactis</i> / <i>Lb. helveticus</i> <i>Lb. delbrueckii</i>	Agua de cocido de maíz (50 g l ⁻¹)	42° C / pH 5,5 120 rpm / 68 h	110 g l ⁻¹	1,48 g l ⁻¹ h ⁻¹	Discontinuo	Lee, 2004
Glucosa (100 g l ⁻¹)	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>		350 h		0,68 g g ⁻¹ 8,18 g l ⁻¹ h ⁻¹	En continuo con electrodiálisis	Min-tian <i>et al.</i> , 2005

de medios de fermentación por microfiltración con flujo cruzado (Carrère y Blaszkow, 2001), tratamiento con resinas (Wang-Yu *et al.*, 2004), concentración de sales de lactato por electrodiálisis, conversión de sales de lactato en ácido libre por electrodiálisis con membrana bipolar y tratamientos de intercambio iónico, entre otras (García, 1993; Lazarova y Peeva, 1994; Siebold *et al.*, 1995; Suriderp, 1995; Milcent y Carrère, 2001; Madzingaidzo *et al.*, 2002).

Comparado con técnicas de adsorción, precipitación o filtración por membranas, el método de extracción por solventes con componentes organofosforados, aminos terciarios o amonios cuaternarios; es más selectivo y favorece la eficiencia del proceso y la pureza del producto obtenido (Lazarova y Peeva, 1994), sin embargo los solventes orgánicos plantean dos problemas: son tóxicos para los microorganismos y el pH óptimo de la extracción y de la fermentación no coinciden, por lo que se ha propuesto el uso de membranas poliméricas de Triacetato de celulosa con sales de amonio cuaternario como fase móvil y o-nitrofeniloctil eter como plastificante, para la separación *in situ* de ácido láctico (Matsumoto *et al.*, 1998).

En cuanto a la electrodiálisis, es un proceso que ha sido diseñado para separar, purificar y concentrar sales de ácidos de medios de fermentación (Li *et al.*, 2004); la electrodiálisis convencional, es una tecnología de separación por membrana en la cual los iones son transportados a través de una membrana de intercambio iónico de una solución a otra, bajo la influencia de un potencial eléctrico (Madzingaidzo *et al.*, 2002; Li *et al.*, 2004). Esta puede utilizarse simultáneamente a la fermentación empleando un sistema de recirculación. El método permite separar el ácido a medida que se produce, eliminando la necesidad de agregar agentes neutralizantes. La concentración de ácido en el medio de cultivo por este sistema permanece en niveles muy bajos, por lo cual se ha evaluado una modificación al mismo que emplea la electrodiálisis periódica acoplada a un sistema de control de pH, lo que hace que se aumente la concentración de lactato en el medio y se disminuyan los tiempos de fermentación (Vonkaveesuk *et al.*, 1994). Con este mismo método, Min-tian *et al.* (2004) lograron aumentar la productividad 1,5 veces, comparado con la electrodiálisis convencional.

La electrodiálisis puede además utilizarse después de la fermentación tipo *batch* (Madzingaidzo *et al.*, 2002; Lee, 2005) y más recientemente se han propuesto sistemas en continuo que tienen la ventaja de mantener constante el volumen del medio de fermentación y de disminuir las pérdidas de glucosa en la solución recuperada; por este método Min-tian *et al.* (2005), lograron obtener 19,5 veces más ácido láctico que con la electrodiálisis convencional y 9,7 veces más ácido láctico comparado con la electrodiálisis intermitente. La electrodiálisis bipolar involucra una membrana bipolar de intercambio iónico y catiónico con una generación eficiente de protones y de iones hidroxilo para producir ácido y bases. Este sistema permite separar, purificar, concentrar sales y convertirlas a ácidos y bases sin producir efluentes ni descargas al ambiente, con una alta eficiencia energética. Otra ventaja

es que la base producida puede ser reciclada y usada para neutralizar procesos de fermentación (Li *et al.*, 2004).

Otros trabajos muestran una combinación de técnicas de purificación para ácido láctico, Garde *et al.* (2000) por ejemplo, evaluaron la utilización de diálisis Donan como pretratamiento del medio de fermentación y electrolisis con membrana bipolar para la extracción del lactato. Hábová *et al.* (2004) lograron obtener 151 g l⁻¹ de ácido láctico utilizando electrodiálisis convencional en una primera etapa de separación y electrodiálisis con membrana bipolar en una segunda etapa; Madzingaidzo *et al.* (2002) optimizaron la purificación del ácido incluyendo una membrana bi-polar en el módulo de electrodiálisis. A pesar de todos estos avances la mayoría de industrias productoras de ácido láctico emplean aún los procesos de precipitación para la purificación de ácido láctico, lo cual genera una tonelada de yeso por cada tonelada de ácido láctico producido que se desecha al ambiente como residuo (Li *et al.*, 2004; US Department of Energy, 1999; citado por Madzingaidzo *et al.*, 2002).

USOS Y ESPECIFICACIONES

El ácido láctico y sus derivados como sales y ésteres son ampliamente utilizados en la industria alimenticia, química, farmacéutica, del plástico, textil, la agricultura, alimentación animal entre otros (Chan-Blanco *et al.*, 2003; Boonmee, 2003; Kourkoutas *et al.*, 2004; Suriderp, 1995).

En la industria alimenticia se usa como acidulante y conservante. Las industrias químicas lo utilizan como solubilizador y como agente controlador de pH. En las curtumbres es utilizado para remojar los cueros y desencalarlos. En la producción de pinturas y resinas, puede ser utilizado como solvente biodegradable. En la industria farmacéutica, sus sales de hierro y calcio tienen un importante uso en la producción de drogas. En la industria textil ayuda en el teñido e impresión. En la agricultura se utiliza como acidulante (Suriderp, 1995) y en la industria de plásticos es utilizado como precursor del ácido poliláctico (PLA), un polímero biodegradable con interesantes usos en la industria y la medicina; se considera que ésta es la principal aplicación del ácido y la causa por la cual ha aumentado considerablemente su demanda (Chang *et al.*, 1999; Danner *et al.*, 2002; Hujanen *et al.*, 1996, 2001; Litchfield, 1996; Park *et al.*, 2004; Vick Roy, 1985).

Las especificaciones de calidad dependen del uso. En la Tabla 4 se muestran las especificaciones del ácido láctico en la industria farmacéutica y en la industria de alimentos de USA (basada en especificaciones de la FCC).

CONCLUSIONES

A pesar de que la producción industrial de ácido láctico se inició hace ya más de cien años, la investigación sigue aún muy activa, esto es debido básicamente a dos factores: las nuevas aplicaciones que se le han encontrado al ácido por la posibilidad que ofrece de polimerizarse y producir plásticos biodegradables; y el coste, que resulta

Tabla 4.- Especificaciones de calidad del ácido láctico. Adaptado de Química Industrial. Ullmans. A(15), p 97-104.

PARAMETRO	GRADO	GRADO	GRADO
	FARMACEUTICO	FCC	ALIMENTICIO
Pureza (%)	88	95-105	80
Cloruros (%)	0,008	0,2	0,02
Sulfatos (%)	0,02	0,25	0,05
Arsénico (mg/kg)	4	3	0,2
Metales pesados (mg/kg)	33	10	10
Hierro (mg/kg)	10	10	10
Cenizas (%)	0,1	0,1	0,1

alto para aplicaciones a gran escala. Los investigadores proponen disminuir los costes de producción mediante el empleo de sustratos más baratos como desechos agroindustriales, a través del uso de microorganismos más eficientes y mediante la configuración de procesos integrados de purificación que permiten obtener L(+) y D(-) ácido láctico puro. De otro lado, la eficacia del proceso biotecnológico que se mide en términos de concentración de ácido láctico, rendimiento en producto relacionado con el sustrato consumido y velocidad de producción, es muy variado y éstos parámetros están marcadamente dependientes del microorganismo utilizado, de la fuente de carbono, de la fuente de nitrógeno, del pH, la temperatura y del modo de fermentación.

BIBLIOGRAFÍA

- Adamberg, K.; Kask, S.; Laht, T.; Paalme, T. 2003. The effect of temperature and pH on the growth of lactic acid bacteria: a pH-auxostat study. *Internacional Journal of food Microbiology* **85**, 171-183.
- Akerberg, C.; Zacchi, G. 2000. An economic evaluation of the fermentative production of lactic acid from wheat flour. *Bioresource Technology* **75**, 119-126.
- Akerberg, C.; Hofvendahl, K.; Zacchi, G. 1998. Modelling the influence of pH, temperature, glucose and lactic acid concentrations on the kinetics of lactic acid production by *Lactococcus lactis* ATCC 19435 in whole-wheat flour. *Applied Microbiology and Biotechnology* **49**, 682-690.
- Allgeier, R.; Peterson, W.; Fred, E. 1929. Production of Acetic and Lactic Acids from Mill sadust. *Industrial. and Engineering Chemistry* **21**(11), 1039-1042.
- Amrane, A. 2000. Effect of inorganic phosphate on lactate production by *Lactobacillus helveticus* grown on supplemented whey permeate. *Journal. of Chemical Technology and Biotechnology* **75**(3), 223-228
- Amrane, A. 2001. Batch cultures of supplemented whey permeate using *Lactobacillus helveticus*: Unstructured model for biomass formation, substrate consumption and lactic acid production. *Enzyme and Microbial Technology* **28**, 827-834
- Basaran, E.; Izzet, N. 2003. Utilization for lactic acid production with a new acid hydrolysis of ram horn waste. *FEMS Microbiology Letters* **225**, 29-34.
- Bianchi, M.; Brambilla-Leiva, L.; Portani, F.; Liu, C. H.; Lievense, J.; Porro, D. 2001. Efficient Homolactic Fermentation by *Kluyveromyces lactis* Strains Defective in Pyruvate Utilization and Transformed with the Heterologous LDH Gene. *Applied and Environmental. Microbiology* **67**(12), 5621-5625.
- Bolivar, F y Lopez, A. 1994. Producción de ácido láctico a partir de vinazas de destilería. Santiago de Cali, 133 p. Tesis pregrado. Facultad de Ingeniería, Universidad del Valle, Cali, Colombia.
- Boonmee, M; Leksawasdi, N; Bridge, W y Rogers, L. 2003. Batch and continuous culture of *Lactococcus lactis* NZ133: experimental data and model development. *Biochemical Engineering Journal* **14**, 127-135.
- Boyaval, P; Corre, C y Terre, S. 1987. Continuous lactic acid fermentation with concentrated product recovery by ultrafiltration and electro dialysis. *Biotechnology Letters* **9**, 207-212.
- Bruno, J. M; Ragout, A.L; Cordoba, P. R; Sineriz, F. 1999. Continuous production of L(+) lactic acid by *Lactobacillus casei* in two-stage systems. *Applied Microbiology and Biotechnology* **51**, 316-324.
- Bulut, S; Elibol, M y Ozer, D. 2004. Effect of different carbon source on L(+)-lactic acid production by *Rhizopus oryzae*. *Biochemical Engineering Journal* **21**, 33-37.
- Carrere, H y Blaszkow, F. 2001. Comparison of operating modes for clarifying lactic acid fermentation broths by batch cross-flow microfiltration. *Process Biochemistry* **36**, 751-756.
- Chan-Blanco, Y; Bonilla, A y Velásquez, A. 2003. Using banana to generate lactic acid through batch process fermentation. *Applied Microbiology and Biotechnology* **63**, 147-152.
- Chang, D; Jung, H; Rhee, J y Pan, J. 1999. Homofermentative Production of D- or L-Lactate in Metabolically Engineered *Escherichia coli* RR1. *Applied and Environmental Microbiology* **65**(4), 1384-1389.
- Chopin, A. 1993. Organization and regulation of genes for amino acid biosynthesis in lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology* **12**, 31-38.
- Danner, H; Madzingaidzo, L; Thomasser, C; Neureiter, M y Braun, R. 2002. Thermophilic production of lactic acid using integrated membrane bioreactor systems coupled with monopolar electro dialysis. *Applied Microbiology and Biotechnology*. Springer – Verlag 10.1007/s00253-002-0998-4.
- Datta, R; Tsai, S.; Patrick, B; Moon, S y Frank, J. 1993. Technological and economic potential of poly lactic acid and lactic acid derivatives. *International Congress on Chemistry from Biotechnology*, Hannover, Germany. p 1-18.
- Dean, J. 1987. Langes's handbook of chemistry. McGraw-Hill Book, New York
- Demirchi, A; Pometto, A. 1992. Enhanced production of D(-)-lactic acid by mutants of *Lactobacillus delbruekii* ATCC 9649. *Journal Industrial Microbiology* **11**, 233-238.
- Domínguez, J y Vázquez, M. 1999. Effect of the Operational Conditions on The L-Lactic acid production by *Rhizopus oryzae*. *Ciencia y Tecnología Alimentaria* **2**(3), 113-118.
- Dong-Mei, B; Xue-Ming, Z; Xin-Gran, L y Shi-Min, X. 2003. Strain improvement of *Rhizopus oryzae* for over-production of L(+)-lactic acid and metabolic flux analysis of mutants. *Biochemical Engineering Journal* **18**, 41-48.
- Du, J; Cao, N; Gong, C y Tsao, G. 1998. Production of L-Lactic acid by *Rhizopus oryzae* in a bubble column fermenter. *Applied Biochemical and Biotechnology* **70-72**, 323-329.
- Fausto, F y Diaz, D. 1997. Starch and starch derivatives in India. *Starch-Starke* **49**(9), 338-340.
- Fred, E; Peterson, H. 1921. Fermentation Process for the production of acetic and lactic acid from corncobs. *The Journal. of Industry and Engineering Chemistry* **13**(3), 212-213.
- Fu, W y Mathews, A. 1999. Lactic acid production from lactose by *Lactobacillus plantarum*: Kinetic model and effects of pH, substrate, and oxygen. *Biochemical Engineering Journal* **3**, 163-170.
- García, M; Quintero, R y López, A. 1993. Biotecnología alimentaria. Limusa. México.

- Garde, A.; Schmidt, A.; Onson, G.; Andersen, M.; Thomsen, A. B.; Ahring, B. K. y Kiel, P. 2000. Agricultural crops and residuals as a basis for polylactate production in Denmark. *Proceedings of the food Biopack Conference*, Copenhagen, Denmark. p.27-29, 45-51.
- Gómez, A. L. 2000. Producción de ácido láctico a partir de sacarosa de caña, una alternativa al uso de solventes. Manizales, 88p Tesis de Maestría, Facultad de salud, Universidad Católica de Manizales. Manizales, Caldas, Colombia.
- Gonçalves, L. M.; Ramos, A.; Almeida, J. S.; Xavier, A y Carrondo, M. 1997. Elucidation of the mechanism of lactic acid growth inhibition and production in batch cultures of *Lactobacillus rhamnosus*. *Applied Microbiology and Biotechnology* **48**, 346-350.
- Hábová, V.; Melzoch, K.; Rychtera, M.; Sekavova, B. 2004. Electrodialysis as a useful technique for lactic acid separation from a model solution and a fermentation broth. *Desalination* **163**, 361-372.
- Hamamci, H y Ryu, D. 1994. Production of L(+) lactic acid using immobilized *Rhizopus oryzae*: reactor performance based on kinetic model and simulation. *Applied Biochemical and Biotechnology* **44**, 125-133.
- Hang, Y. 1989. Direct fermentation of corn to L(+)-lactic acid by *Rhizopus oryzae*. *Biotechnology Letters* **11**, 299-300.
- Hofvendahl, K y Hagerdal, H. 2000. Factors affecting the fermentative lactic acid production from renewable resources. *Enzyme and Microbial Technology* **26**, 87-107.
- Hujanen, M.; Linko, S y Linko, Y. 1996. Effect of temperature and various nitrogen sources on L(+) lactic acid production by *Lactobacillus casei*. *Applied Microbiology and Biotechnology* **45**, 307-313.
- Hujanen, M.; Linko, S.; Linko, Y y Leisola, M. 2001. Optimisation of media and cultivation conditions for L(+)-lactic acid production by *Lactobacillus casei* NRRL B-441. *Applied Microbiology and Biotechnology* **56**, 126-130. (DOI 10.1007/s002530000501).
- Hurok, O.; Young-Hung, W.; Jong-Sun, Y.; Seung, H.; Sangwon, J.; Hwa-Won, R. 2005. Lactic acid production from agricultural resources as cheap raw materials. *Bioresource Technology*. Artículo en imprenta.
- Kagan, J y Pilnik, W. 1960. Lactic Acid Production by Fermentation of Citrus Peel juice. *Agricultural and Food Chemistry* **8**(3), 236-238.
- Kious J. 2000. *Lactobacillus* and Lactic Acid Production. Tesis. Applied Biological Sciences Branch, Le Tourneau University, National Renewable Energy Laboratory. Golden, Colorado.
- Kosakai, Y.; Park, Y y Okabe, M. 1997. Enhancement of L(+)-lactic acid production using mycelial flocs of *Rhizopus oryzae*. *Biotechnology Bioengineering* **55**, 461-470.
- Kourkoutas, Y.; Xolias, V.; Kallis, M.; Bezirtzoglou, E y Kanellaki, M. 2005. *Lactobacillus casei* cell immobilization on fruit pieces for probiotic additive, fermented milk and lactic acid production. *Process Biochemistry* **40**(1), 411-416.
- Krishnan, S.; Gowthaman, M.; Misra, M y Karanth, N. 2001. Chitosan-treated polypropylene matrix as immobilization support for lactic acid production using *Lactobacillus plantarum* NCIM 2084. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* **76**(5), 461-468.
- Kurosawa, H.; Ishikawa, H y Tanaka, A. 1998. A.L.-lactic acid production from starch by coinmobilized mixed culture system of *Aspergillus awamori* and *Streptococcus lactis*. *Biotechnology Bioengineering* **31**, 183-187.
- Kwon, S.; Lee, P.; Lee, E.; Chang, Y y Chang, N. 2000. Production of lactic acid by *Lactobacillus rhamnosus* with vitamin-supplemented soybean hydrolysate. *Enzyme and Microbial Technology* **26**, 209-215.
- Laverde, J.; Muñoz, P. 1990. Producción a escala de laboratorio de ácido láctico por fermentación de melaza. Tesis. Facultad de Ingeniería, Universidad del Valle, Cali, Colombia.
- Lazarova, Z.; Peeva, L. 1994. Solvent extraction of lactic acid from aqueous solution. *Journal of Biotechnology* **32**, 75-82.
- Lee, K. 2004. Comparison of fermentative capacities of *Lactobacilli* in single and mixed culture in industrial media. *Process Biochemistry* **40**(5), 1559-1564.
- Lee, K. 2005. A media design program for lactic acid production coupled with extraction by electrodialysis. *Bioresource Technology* en prensa.
- Li, H.; Mustacchi, R.; Knowles, C.; Skibar, W.; Sunderland, G.; Dalrymple, Y y Jackman, S. 2004. An electrokinetic bioreactor: using direct electric current for enhanced lactic acid fermentation and product recovery. *Tetrahedron*. **60**, 655-661.
- Lipinsky, E.; Sinclair, R. 1986. Is lactic acid a commodity chem? *Chemical Engineering* **82**, 26-32.
- Litchfield, J. 1996. Microbial production of lactic acid. *Applied Microbiology*. **42**, 45-95.
- Luo, J.; Xia, L., Lin, J.; Cen, P. 1997. Kinetics of Simultaneous Saccharification and Lactic Acid Fermentation Processes. *Biotechnology Program* **13**(6), 762-767.
- Madzingaidzo, L.; Danner, H.; Braun, R. 2002. Process development and optimization of lactic acid purification using electrodialysis. *Journal of Biotechnology* **96**, 223-239.
- Malakar, P.; Martens, D.; Zwietering, M.; Beal, C y Riet, K. 1999. Modelling the interactions between *Lactobacillus curvatus* and *Enterobacter cloacae*. II. Mixed cultures and Shelf life predictions. *International Journal of Food Microbiology* **51**, 67-79.
- Marten, E.; Sherrard, C.; Peterson, W y Fred, B. 1927. Production of Lactic Acid by Fermentation of Wood sugar Remaining after Alcoholic Fermentation. *Industrial and Engineering Chemistry* **19**(10), 1162-1165.
- Matsumoto, M.; Takagi, T y Kondo, K. 1998. Separation of Lactic Acid Using Polymeric Membrane Containing a Mobile Carrier. *Journal of fermentation and Bioengineering* **85**(5), 483-487.
- Milcent, S y Carrère, H. 2001. Clarification of lactic acid fermentation broths. *Separation and Purification Technology* **22-23**, 393-401.
- Min-Tian, G.; Hirata, M.; Koide, M.; Takanashi, H y Hano, T. 2004. Production of L-lactic acid by electrodialysis fermentation (EDF). *Process Biochemistry* **39**, 1903-1907.
- Min-Tian, G.; Koide, M.; Gotou, R.; Takanashi, H.; Hirata, M y Hano, T. 2005. Development of a continuous electrodialysis fermentation system for production of lactic acid by *Lactobacillus rhamnosus*. *Process Biochemistry* **40**, 1033-1036.
- Miura, S.; Arimura, T.; Hoshino, M.; Kojima, M.; Dwiarti, L y Okabe, M. 2003. Optimization and Scale-Up of L-Lactic Acid Fermentation by Mutant Strain *Rhizopus* sp. MK-96-1196 in Airlift Bioreactors. *Journal of Bioscience and Bioengineering* **96**(1), 65-69.
- Mi-Young, H.; SI-Wouk, K.; Yong-Woon, L.; Myong-Jun Kim; y Seong-Jun, K. 2003. Kinetics Analysis of Growth and Lactic Acid Production in pH-Controlled Batch Cultures of *Lactobacillus casei* KH-I Using Yeast Extract/Corn Steep Liquor/Glucose Medium. *Journal of Bioscience and Bioengineering* **96**(2), 134-140.
- Monteagudo, J y Aldavero, M. 1999. «Production of L-lactic acid by *Lactobacillus delbrueckii* in chemostat culture using an ion exchange resins system». *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* **74**(7), 627-634.
- Naitove, M. 1998. Se prevé una bonanza de los biopolímeros más allá de los degradables. *Tecnología de Plásticos*. p 27-34.
- Nakasaki, K.; Akakura, N.; adachi, T y Akiyama, T. 1999. Use of Wastewater Sludge as a Raw Material for Production of L-Lactic Acid. *Environmental Science and Technology* **33**, 198-200.
- Nancib, A.; Nancib, N.; Meziane-Cherif, D.; Boubendir, A.; Fick, M y Boudrant, J. 2005. Joint effect of nitrogen sources and B vitamin supplementation of date juice on lactic acid production by *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus*. *Bioresource Technology* **96**, 63-67.
- Naveena, B.; Altaf, M.; Bhadrappa, K.; Madhavendra, S y Reddy, G. 2005a. Direct fermentation of starch to L(+) lactic acid in SSF by *Lactobacillus amylophilus* GV6 using wheat bran as support and substrate: médium optimization using RSM. *Process Biochemistry* **40**, 681-690.
- Naveena, B.; Altaf, M.; Bhadrappa, K.; Madhavendra, S y Reddy, G. 2005b. Selection of medium components by Plackett-Burman design for production of L(+) lactic acid by *Lactobacillus amylophilus* GV6 in SSF using wheat bran. *Bioresource Technology* **96**, 485-490.

- Niel, E y Hahn-Hägerdal, B. 1999. Nutrient requirements of lactococci in defined growth media. *Applied Microbiology and Biotechnology* **52**, 617-627.
- Oda, Y; Park, B; Moon, K y Tonomura, K. 1997 Recycling of bakery wastes using an amylolytic lactic acid bacterium. *Bioresource Technology* **60**,101-106.
- Ohashi, R; Yamamoto, T y Suzuki, T. 1999. Continuous Production of Lactic Acid from Molasses by Perfusion Culture of *Lactococcus lactis* using a Stirred Ceramic Membrane reactor. *Journal of Bioscience and Bioengineering* **87**(5), 647-654.
- Özen, S y Özilgen, M. 1992. Effects of substrate concentration on growth and lactic acid production by mixed cultures of *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. **54**, 57-61.
- Parente, E; Riccardi, A y Addario, G. 1994. Influence of pH on growth and bacteriocin production by *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* 140NWC during batch fermentation. *Applied Microbiology and Biotechnology* **41**, 388-394.
- Pares, R y Juárez, A. 1997. Bioquímica de los microorganismos. Reverté S.A : Barcelona, España
- Park, E; Kosakai, Y y Okabe, M. 1998. Efficient Production of L(+)-Lactic Acid Using Mycelial Cotton-like flocs of *Rhizopus oryzae* in an Air-Lift Bioreactor. *Biotechnology Program* **14**(5), 699-704.
- Park, P; Anh, P y Okuda, N. 2004. Bioconversion of waste office paper to L(+)-lactic acid by the filamentous fungus *Rhizopus oryzae*. *Bioresource Technology* **93**, 77-83.
- Rivas, B; Moldes, A; Domínguez, J y Parajó, J. 2004a Development of culture media containing spent yeast cell of *Debaryomyces hansenii* and corn step liquor for lactic acid production with *Lactobacillus rhamnosus*. *Internacional Journal of Food Microbiology* **97**, 93-98.
- Rivas, B; Moldes, A; Domínguez, J y Parajo, J. 2004b. Lactic acid production from corn cobs by simultaneous saccharification and fermentation: a mathematical interpretation. *Enzyme and Microbial Technology* **34**, 627-634.
- Roukas, T y Kotzekidou, P. 1991. Production of lactic acid from deproteinized whey by coimmobilized *Lactobacillus casei* and *Lactococcus lactis* cell. *Enzyme and Microbial Technology* **13**(1), 33-38.
- Roukas, T y Kotzekidou, P. 1998. Lactic acid production from deproteinized whey by mixed cultures of free and coimmobilized *Lactobacillus casei* and coimmobilized *Lactobacillus casei* and *Lactococcus lactis* cells using fedbatch culture. *Enzyme and Microbial Technology* **22**(3), 199-204.
- Ruengruglikit, C y Hang, Y. 2003. L(+)-Lactic acid production from corncobs by *Rhizopus oryzae* NRRL-395. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie* **36**, 573-575.
- Salminen, S. 1993. Lactic Acid Bacteria. Marcel Dekker, New York.
- Schäffer, B; SzalalY, S y Lórinezy, D. 2004. Examination of the growth of probiotic culture combinations by the isoperibolic batch calorimetry. *Thermochemical Acta* **415**, 123-126.
- Schepers, A. Thibault, J; Lacroix, C. 2002. *Lactobacillus helveticus* growth and lactic acid production during pH-controlled batch cultures in whey permeate/yeast extract medium. Part I. Multiple factor Kinetic analysis. *Enzyme and Microbial Technology* **30**(2), 176-186.
- Serna-Cock, L.; Rodríguez-De Stouvenel, A. 2004. Jugo de caña verde como sustrato en la producción fermentativa por lotes de ácido láctico. *Revista Colombiana de Biotecnología* **6**(2), 37-42.
- Siebold, M; Frieling, P; Joppien, R; Rindfleisch, D; Schügerl, K y Röper, H. 1995. Comparison of the production of Lactic Acid by Three Different *Lactobacilli* and its Recovery by Extraction and Electrodialysis. *Process Biochemistry* **30**(1), 81-95.
- Silvestre, V; Goupy, S; Trierweiler, M; Robins, R y Akoka, S. 2001. Determination of Substrate and Product Concentrations in Lactic Acid Bacterial Fermentations by Proton NMR Using the Erectic Method. *Analytical Chemistry* **73**(8), 1862-1868.
- Sneath, P. 1984. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Vol II. Williams and Wilkins Baltimore, London.
- Socol, Stonoga, V. y Raimbault, M. 1994. production of L-lactic acid by *Rhizopus* species. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* **10**, 433-435.
- Sreenath, H; Koegel, R; Moldes, A y Straub, R. 2001a. Lactic acid production by simultaneous saccharification and fermentation of alfalfa fiber. *Journal of Bioscience and Bioengineering* **92**(6), 518-523.
- Sreenath, H; Koegel, R; Moldes, A y Straub, R. 2001b. Lactic acid production from agriculture residues. *Biotechnology Letters*.. **23**,179-184.
- Sun, Y; Li, Y; Bai, S. 1999. Modeling of continuous L(+)-lactic acid production with immobilized *R. oryzae* in an airlift bioreactor. *Biochemical Engineering Journal*. **3**,87-90.
- Suriderp, C. 1995. Ullman's encyclopedia of industrial chemistry: ácido láctico. pp97-104. 5 edition. De Barbara Elvers.
- Tamada, M; Begun, A.; Sadi, S. 1992. Production of L(+)-lactic acid by immobilized cells of *Rhizopus oryzae* with polymer supports prepared by gray induced polymerization. *Journal of Fermentation Technology* **74**, 379-383.
- Tango M. D.; Ghaly, E. 2002. A continuous lactic acid production system using an immobilized packed bed of *Lactobacillus helveticus*. *Applied Microbiology and Biotechnology* **58**(6), 712-720.
- Tatum, E y Peterson, W. 1935. Fermentation Method for Production of Dextro-Lactic Acid. *Industrial and Engineering Chemistry*. **27**(12),1493-1494
- Tik, N; Bayraktar, E; Mehmetoglu. 2001. In situ reactive extraction of lactic acid from fermentation media. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. **76**(7),p764-768.
- Vick Roy, T. 1985. Lactic acid. *Comprehensive Biotechnology*. **3**,761-789.
- Vick Roy, T; Blanch, H y Wilke, C. 1982. Lactic acid production by *Lactobacillus delbrueckii* in a hollow fiber fermenter. *Biotechnology Letters*. **4**,483-488
- Vick Roy, T; Blanch, H y Wilke, C. 1983. The application of cell recycle to continuous fermentative lactic acid production. *Biotechnology Letters*. **5**,665-670
- Vishnu, C; Seenayya, G y Reddy, G. 2000. Direct conversion of starch to L(+)-lactic acid by amylase producing *Lactobacillus amylophilus* GV6. *Bioprocess Engineering*. **23**,155-158.
- Vonktaveesuk, P; Tonokawa, M y Ishizaki, A. 1994. Simulation of Rate of L-lactate Fermentation Using *Lactococcus lactis* IO-1 by Periodic Electrodialysis. *Journal of Fermentation and Bioengineering*. **77**(5),508-512
- Wang, Y; Chui, R; Yang, H y Chou, Ch. 2003. Sugar and acid contents in soymilk fermented with lactic acid bacteria alone or simultaneously with bifidobacteria. *Food Microbiology*. **20**,333-338
- Wang-Yu, T; Xiang-Yang, F; San-Mok, L; Jie, Y; Jian-Wen, L; Dong-Zhi, W y Yoon-Mo, K. 2004. Purification of L(+)-lactic acid from fermentation broth with paper sludge as a cellulose feedstock using weak anion exchanger Amberlite IRA-92. *Biochemical Engineering Journal*. **18**, 89-96
- Xiaodong, W; Xuan, G y Rakshit, S. 1997. Direct fermentative production of lactic acid on cassava and other starch substrates. *Biotechnology Letters*.. **19**(9),841-843.
- Yang, C; Lu, Z y Tsao, G. 1995. Lactic acid production by pellet-form *Rhizopus oryzae* in a submerged system. *Applied Biochemical and Biotechnology*. **51**,57-71
- Yoo, I; Chang, H; Lee, E; Chang, Y y Moon, S. .1997. Effect of B vitamin supplementation on lactic acid production by *Lactobacillus casei*. *Journal of Fermentation and Bioengineering*. **84**,172-175.
- Young-Jung, W; Jin-Nam, K; Jong-Sun, Y y Hwa-Won, R. 2004. Utilization of sugar molasses for economical L(+)-lactic acid production by batch fermentation of *Enterococcus faecalis*. *Enzyme and Microbial Technology*. **35**,568-573
- Yu, R y Hang, Y. 1989. Kinetics of direct fermentation of agricultural commodities to L(+)-lactic acid by *Rhizopus oryzae*. *Biotechnology Letters*. **11**,597-600
- Zayed, G; Winter, J. 1995. Batch and continuous production of lactic acid from salt whey using free and immobilized cultures of *Lactobacilli*. *Applied Microbiology and Biotechnology*. **44**,362-366.