

300627
30
24



UNIVERSIDAD LA SALLE

ESCUELA DE QUIMICA
INCORPORADA A LA U.N.A.M.

**REVISION DE LOS PROCESOS DE OBTENCION
Y PURIFICACION DE ACIDO LACTICO.**

**TESIS PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A :
MARIA TERESA PIA TORRES BARRAGAN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

	PAG.
I.- INTRODUCCION.....	1
II.- GENERALIDADES	2
A.- PROPIEDADES FISICAS Y QUIMICAS.....	3
B.- IMPORTANCIA Y USOS EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA Y QUIMICA	10
III.- PROCEDIMIENTOS QUIMICOS PARA LA OBTENCION DE ACIDO LACTICO.....	16
A.- HIDROLISIS ALCALINA DE AZUCARES.....	17
B.- SINTESIS DE ACIDO LACTICO POR HIDROFORMILACION	25
C.- OBTENCION A PARTIR DE ACETALDEHIDO, MONOXIDO DE CARBONO Y AGUA.....	32
D.- SINTESIS A PARTIR DE PROPILENO.....	37
E.- ACIDO LACTICO A PARTIR DE LACTONITRILO.....	43
F.- OTROS METODOS.....	46
G.- VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LOS METODOS QUIMICOS	48
IV.- PROCEDIMIENTOS BIOTECNOLOGICOS PARA LA OBTENCION DE ACIDO LACTICO.....	52
A.- INTRODUCCION.....	52
a) Concepto de fermentación.....	55
b) Descripción general de las bacterias productoras de ácido láctico.....	56
c) Aspectos generales de la producción de	

Ácido láctico a nivel comercial.....	65
B.- METODOS DE PRODUCCION DE ACIDO LACTICO A	
PARTIR DE <u>Lactobacillus delbrueckii</u>	72
a) Producción de ácido láctico a partir de melazas y residuos de caña de azúcar.....	72
b) Ácido láctico a partir de almidón.....	75
c) Producción de Ácido láctico a partir de azúcar de maíz.....	84
d) Producción de ácido láctico por fermentación continua.....	89
e) Obtención con microorganismos inmovilizados..	91
f) Estudios recientes sobre el proceso de fermentación de ácido láctico a partir de <u>L. delbrueckii</u>	94
C.- PRODUCCION DE ACIDO LACTICO A PARTIR DE	
<u>Lactobacillus bulgaricus</u>	97
a) Utilización de suero lácteo como sustrato....	97
b) Factores que influyen en la producción de Ácido láctico al utilizar suero lácteo como sustrato.....	101
c) Otros factores de influencia.....	103
D.- OTRAS ESPECIES DEL GENERO <u>Lactobacillus</u> Y	
DIFERENTES SUSTRATOS QUE PUEDEN UTILIZARSE	
PARA PRODUCIR ACIDO LACTICO	105
a) A partir de leñas sulfíticas residuales....	105
b) Otras especies de <u>Lactobacillus</u>	110

c) Mezclas de cultivos.....	112
E.- PRODUCCION A PARTIR DE HONGOS.....	114
F.- PRODUCCION A PARTIR DE OTROS MICROORGANISMOS..	116
G.- VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LOS PROCESOS BIOTECNOLOGICOS.....	117
V.- PROCEDIMIENTOS PARA LA SEPARACION Y PURIFICACION	
DE ACIDO LACTICO.....	120
A.- INTRODUCCION.....	120
B.- RECUPERACION A PARTIR DE LA FORMACION DE SALES Y ESTERES.....	130
a) Formación de lactato de calcio y lactato de zinc.....	130
b) Formación de sales orgánicas básicas.....	130
c) Formación e hidrolisis de ésteres.....	134
d) Otros métodos.....	141
C.- EXTRACCION CON DISOLVENTES.....	142
D.- INTERCAMBIO IONICO.....	147
E.- VENTAJAS Y DESVENTAJAS.....	156
VI.- ANALISIS DE DISPONIBILIDAD DE EQUIPO, MATERIAS PRIMAS Y COSTO EN EL PAIS.....	
A.- INTRODUCCION.....	158
B.- EVALUACION TECNICA Y ECONOMICA DE UN PROCESO DE PRODUCCION DE ACIDO LACTICO GRADO ALIMENTARIO A PARTIR DE SUERO LACTEO DERIVADO DE LA PRODUCCION DE QUESOS EN AUSTRALIA.....	160

a) Descripción del proceso.....	160
b) Descripción de operación del proceso.....	161
b.1. Desproteínización.....	161
b.2. Fermentación.....	163
b.3. Purificación del caldo de fermentación..	165
b.4. Evaporación y acidificación.....	166
b.5. Evaporación y purificación final.....	166
c) Evaluación técnica y económica.....	167
c.1. Capacidad.....	167
c.2. Costos.....	167
c.3. Materia prima.....	167
c.4. Balance de materia.....	167
c.4.1. Reacciones que se llevan a cabo..	168
c.4.2. Consideraciones generales sobre el balance de materia.....	168
d) Costo del equipo.....	171
e) Capital fijo total.....	171
f) Costo total de producción.....	176
g) Desglose del costo total de manufactura.....	181
h) Discusión de la evaluación.....	181
C.- VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LA ADAPTACION DE ESTE PROCESO EN MEXICO.....	184
VII.- CONCLUSIONES.....	186
VIII.- BIBLIOGRAFIA.....	190

INDICE DE TABLAS

TABLA	PAG.
No. 1. Constantes físicas para la forma DL del Ácido láctico.....	4
No. 2. Propiedades termodinámicas del Ácido láctico.....	5
No. 3. Microorganismos asociados con el proceso de fermentación para la obtención de productos lácteos....	13
No. 4. Subdivisión taxómica de las bacterias productoras de ácido láctico (cocos).....	59
No. 5. Propiedades distintivas del género <i>Lactobacillus</i>	59
No. 6. Microorganismo y sustrato adecuado.....	66
No. 7. Microorganismo e intervalo adecuado de temperatura.....	67
No. 8. Análisis de los resultados obtenidos por Hesler en la purificación de ácido láctico.....	149
No. 9. Importaciones de ácido láctico en México de 1980 a 1985 y estimado para 1986.....	159
No. 10. Composición química del suero lácteo.....	169
No. 11. Balance total de materia.....	172

No. 12. Costo del equipo.....	173
No. 13. Capital fijo total.....	177
No. 14. Costos de suministros y servicios.....	176
No. 15. Costo total del producto.....	179
No. 16. Análisis de los costos de capital fijo y de manufactura.....	182

INDICE DE FIGURAS

FIGURA	PAG.
No. 1. Mecanismo de descomposición de un monosacárido en medio alcalino.....	19
No. 2. Diagrama de flujo del proceso de producción de ácido láctico por hidrólisis alcalina de azúcares.....	22
No.3. Diagrama de flujo del proceso de producción de ácido láctico por hidrólisis alcalina de azúcares (modificado).....	24
No. 4. Reacciones de obtención de ácido láctico por el proceso de hidroformilación.....	26
No. 5. Diagrama de flujo del proceso de producción de ácido láctico por hidroformilación.....	31
No. 6. Diagrama de flujo del proceso de producción de ácido láctico a partir de acetaldehído, monóxido de carbono y agua.....	36
No. 7. Diagrama de flujo del proceso de producción de ácido láctico a partir de propileno.....	40
No. 8. Diagrama de flujo del proceso de producción de ácido láctico a partir de propileno por métodos electroquímicos.....	42

No. 9. Diagrama de flujo del proceso de producción de ácido láctico a partir de lactonitrilo.....	45
No. 10. Pasos generales de un proceso de fermentación..	57
No. 11. Vía de Embden-Meyerhof para degradar glucosa...	62
No. 12. Ruta oxidativa de pentosa-fosfato para degradar la glucosa.....	64
No. 13. Efecto de la concentración de sustrato en la velocidad de crecimiento microbiano.....	69
No. 14. Diagrama del proceso de producción de ácido láctico a partir de melazas y residuos de caña de azúcar.....	74
No. 15. Diagrama del proceso de producción de ácido láctico a partir de almidón de cereales.....	78
No. 16. Diagrama del proceso de producción de ácido láctico a partir de almidón residual de procesos industriales: obtención de almidón del grano de arroz y de papa.....	82
No. 17. Diagrama del proceso de producción de ácido láctico a partir de azúcar de maíz.....	85
No. 18. Producción de lactato de calcio y disminución de azúcar con respecto al tiempo.....	87

No. 19. Diagrama de producción de ácido láctico a partir de suero lácteo.....	100
No. 20. Diagrama de producción de ácido láctico a partir de lejfas sulfíticas residuales.....	108
No. 21. Diagrama del proceso de purificación de ácido láctico por formación de sales orgánicas básicas.....	133
No. 22. Aparato para la purificación de ácido láctico por formación e hidrólisis de ésteres diseñado por Wenker.....	136
No. 23. Diagrama del proceso de purificación de ácido láctico por intercambio iónico.....	152
No. 24. Proceso de producción de ácido láctico a partir de suero derivado de la producción de queso.....	162
No. 25. Reacciones que se llevan a cabo durante la producción de ácido láctico a partir de suero lácteo.....	168

CAPITULO I

INTRODUCCION

El ácido láctico es un producto que tiene gran variedad de aplicaciones dentro de la industria alimentaria, así como en la industria química y en la industria farmacéutica.

En México aun no se produce ácido láctico y en la literatura química no se encuentra disponible una recopilación de información que mencione y explique los métodos de producción y purificación de este producto. Un estudio de este tipo es importante ya que permitiría evaluar las tecnologías presentadas, con el propósito de llevar a cabo la producción de ácido láctico en el país.

Debido a lo anterior, el objetivo de la presente investigación es llevar a cabo una revisión exhaustiva de los métodos químicos y biológicos para la producción de ácido láctico así como para su purificación.

Esta investigación se complementa con una breve evaluación técnico económica de un proceso para producir ácido láctico.

CAPITULO II

GENERALIDADES

El Ácido alfa-hidroxipropiónico o 2-hidroxipropanóico de fórmula $\text{CH}_3\text{CHOHCOOH}$ ($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$), comunmente conocido como Ácido láctico, se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza siendo el principal componente de la leche Ácida de donde recibe su nombre en alimentos fermentados, así como en el cuerpo humano, distribuido principalmente en la sangre y en el tejido muscular. (1,2)

Se describe como un líquido de color amarillo claro, almibarado, higroscópico, casi inodoro y sabor ligeramente ácido. (3)

Se puede obtener tanto por métodos químicos o sintéticos partiendo de la hidrólisis de azúcares y/o partir de compuestos como lactonitrilo, acetaldehído y monóxido de carbono. Otro medio de obtención es por fermentación utilizando diversos azúcares como sustrato y diferentes especies de microorganismos, principalmente del género *Lactobacillus*. (4)

La manufactura de ácido láctico es llevada a cabo principalmente en países Europeos, Japón y Estados Unidos de Norteamérica, utilizando tanto los métodos químicos como los biológicos. (5)

El ácido láctico puede encontrarse en el mercado en cuatro clases diferentes (2), las cuales tienen diferente grado de pureza y calidad. A continuación se enumeran las mismas en orden de pureza y calidad:

1.- Ácido láctico grado farmacéutico (75-85% de concentración).

2.- Ácido láctico grado industrial (50-80% de concentración).

3.- Ácido láctico grado alimentario (50-80% de concentración).

4.- Ácido láctico crudo o técnico (22, 44 y 80% de concentración).

A.- PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS

- Propiedades físicas

El ácido láctico se presenta en tres formas físicas: dos de ellas son activas ópticamente, siendo formas enantiómeras entre sí, D(+) y L(-), la tercera es inactiva ópticamente ya que es una mezcla racémica D-L. (6)

El ácido láctico es muy soluble en agua y en solventes orgánicos. (6)

Las constantes físicas para la forma DL del ácido láctico se agrupan en la tabla No. 1:

Tabla No. 1. Constantes físicas para la forma DL del Ácido láctico.

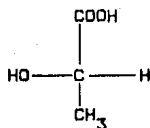
Densidad g/cm ³	1.249
Punto de fusión °C	16.8
Punto de ebullición °C	122.0 (14 mm)

Fuente: (6).

Los dos isómeros D y L se presentan en la naturaleza, pero el ácido láctico comercial es la forma inactiva DL. (2) Las formas ópticamente activas pueden obtenerse por resolución de la mezcla racémica, la cual puede llevarse a cabo con bases orgánicas ópticamente activas como la morfina, estrignina, quinina y alfa-metilbencilamina. Otro método de resolución es aquel que depende de la solubilidad del lactato de zinc y lactato de amonio y zinc y la facilidad de estas sales en formar soluciones supersaturadas. (7)

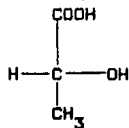
En otros casos el ácido láctico puede obtenerse en forma activa a partir de la fermentación de carbohidratos utilizando especies del género *Lactobacillus*. (4)

El ácido láctico tiene un carbón quiral que corresponde al carbono número dos de su estructura. A continuación se muestran las dos formas enantiómeras del ácido láctico.



L(+)

ACIDO LACTICO



D(+)

La configuración L del ácido láctico es conocida como ácido sarcoláctico o paraláctico y es encontrado de esta manera en sangre y tejido muscular. Tiene rotación positiva del plano de luz polarizada. Su forma enantiómera es la D y gira el plano de luz polarizada en sentido negativo. Es importante hacer notar que la configuración L(+) del ácido láctico es metabolizada por el hombre y los animales, la forma D(-) no, la cual sólo se elimina. (8)

En soluciones que contienen 20% o menos de ácido láctico se encuentra el monómero del mismo y agua. Las soluciones que tienen concentraciones de ácido láctico arriba del 20%, son más complejas debido a que el ácido láctico se esterifica consigo mismo y forma varias cadenas de ácido poliláctico. (8)

En la tabla No. 2. se citan. las propiedades termodinámicas del ácido láctico.

Tabla No. 2. Propiedades Termodinámicas del ácido láctico.

Constantes de disociación,

pKa (25°C)

3.862

Continuación de la tabla No. 2.

Ka (25°C)	1.37 X 10 ⁻⁴
Calor de disociación (H a 25°C), J/mol	263
Energía libre de disociación (F), Kj/mol	20.9
Calor de solución (H) a 25°C para, L(+). Kj/mol	7.79
Calor de disolución (H), Kj/mol	-4.19
Calor de fusión (H), Kj/mol, mezcla racémica	11.35
Acido láctico L(+)	16.87
Energía libre de solución (F), Kj/mol	0
Energía libre de disolución (F), Kj/mol	0
Energía libre de fusión (F), Kj/mol	0
Entropía de solución (S), J/mol-K	26
Entropía de disolución (S), J/mol-K	15
Entropía de fusión (S), J/mol-K, mezcla racémica	39

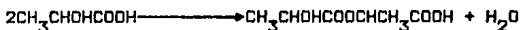
Fuentes: (6)

- Propiedades químicas

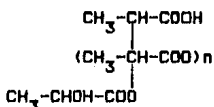
Estructuralmente el ácido láctico es un compuesto que posee dos grupos funcionales: el hidroxilo (OH) y el carbonilo (COOH), lo cual le da tanto propiedades de alcohol como de ácido orgánico. (4)

Debido a la presencia de los grupos hidroxilo y carbonilo en su estructura química, el ácido láctico tiene la habilidad de formar ésteres consigo mismo dando lugar a poliésteres.

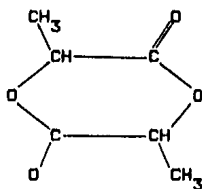
La reacción general es:



Al aumentar la concentración de ácido láctico, aumenta la formación de ésteres formando poliácidos de fórmula:

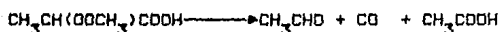
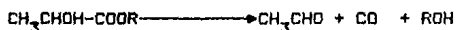


También se forman compuestos cíclicos como el dímero lactido (3,6-dimetil-p-dioxano-2,5 diona), que presenta la siguiente estructura:

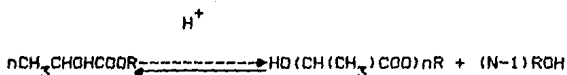


A bajas temperaturas y aun cuando es calentado, el ácido láctico forma ácido poliláctico en presencia de ácidos minerales como catalizadores. Cuando la concentración de

ácidos minerales aumenta, ocurre una descomposición en la que se forma: acetaldehído, monóxido de carbono, ácido fórmico y agua. Asimismo, la pirrólisis de ésteres o acil derivados de ácido láctico da lugar a acetaldehído y monóxido de carbono. (9)



En presencia de ácidos minerales como catalizadores, los ésteres de ácido láctico sufren autoalcoholisis para formar ésteres de ácido poliláctico. (9)



Los diésteres de ácido láctico cuando sufren pirrólisis dan lugar a compuestos como ésteres acrílicos y ácido acético. (10,11)



El ácido láctico muestra las reacciones típicas de los ácidos orgánicos, como son: la formación de sales y esterificación con alcoholes, la cual es llevada a cabo en condiciones anhidras y produce ésteres de ácido láctico y poliláctico.

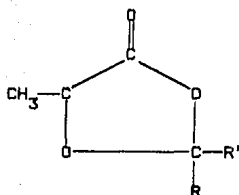
Los ésteres del ácido láctico se hidrolizan más

rápido que los ésteres de ácidos grasos, pero más lento que los ésteres del ácido glicólico. Los lactatos formados a partir de alcoholes secundarios, son más resistentes a la hidrólisis que sus correspondientes alcoholes primarios. (6)

Los ésteres de ácido láctico y los lactidos sufren alcoholólisis con varios alcoholes: como la alcoholólisis de metilactato con un alcohol de alto peso molecular, que da lugar a ésteres de ácido láctico. (12)

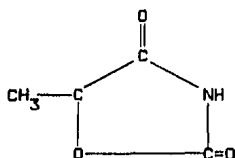
El ácido láctico presenta reacciones características de los alcoholes, ya que esterifica con ácidos orgánicos, anhídridos y cloruros de ácidos. Puede alquilarse con agentes alquilantes como diazometano y sulfato de dimetilo. El ácido láctico y sus ésteres se pueden convertir a cloroformatos con fosgeno, en carbamatos con ácido cianhídrico y en alofanatos y uretanos con isocianatos. Los ésteres de ácido láctico se oxidan al correspondiente éster piróxico y pueden convertirse en ésteres de ácido inorgánico con oxocloruro de fósforo y cloruro de tionilo.

El ácido láctico lleva a cabo reacciones que involucran tanto al grupo carbonilo como al hidroxilo. Cuando se hace reaccionar con aldehídos y cetonas da lugar al acetal cíclico 5-metil-1,3-dioxol-ona, substituido en la posición 2, cuya estructura es la siguiente:



R: H, alquil o aril.

Los alquil lactatos reaccionan con urea para dar 5 metil-oxazolidina-2,4-diona, cuya estructura química es :



B.- IMPORTANCIA Y USOS EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA Y QUIMICA

Los usos del ácido láctico recaen principalmente en la industria alimentaria, química y farmacéutica.

Es mayormente usado en el área de alimentos, al emplearse ácido láctico grado alimentario que presenta varias ventajas, entre las que pueden enumerarse las siguientes (2):

- 1.- Tiene un sabor ligeramente ácido a diferencia de otros ácidos alimentarios, que son agrios y amargos.
- 2.- No enmascara otros sabores contenidos en los

alimentos.

3.- Puede actuar como preservativo.

4.- Se puede encontrar en forma líquida, lo que facilita su aplicación.

Es usado para ajustar el pH en la producción de cerveza, jaleas, huevos deshidratados, etc.

En la manufactura de jaleas presenta varias ventajas; su ligero sabor ácido mejora el sabor natural del producto, provoca gelificación más lenta y elimina el problema de la disolución del ácido como ocurre con el tartárico y con el cítrico. (2)

En la manufactura de quesos, se prefiere para ajustar el pH debido a que además actúa como preservativo y es un ácido que se encuentra naturalmente en la leche.

Es usado en la preparación de encurtidos, ya que proporciona una salmuera más transparente, actúa como conservador e imparte un sabor muy agradable. Es importante hacer notar que en el proceso de manufactura de la col agria, pepinillos y aceitunas encurtidas, el ácido láctico se forma por la acción de bacterias productoras de ácido, entre las que pueden citarse: *Leuconostoc mesenteroides*, que es la primera en actuar sobre los azúcares al producir ácido láctico, acético y etanol; *Lactobacillus cucumeris*, *Lactobacillus plantarum* y *Lactobacillus pentoaceticus*, las cuales actúan después al formar ácido láctico y otros

compuestos. Esta fermentación natural imparte todas las ventajas que proporciona el ácido láctico, sobre este tipo de productos, sin dejar de tomar en cuenta otros factores que son esenciales en la manufactura de estos alimentos. (13)

Asimismo, debido a que las bacterias productoras de ácido láctico son habitantes naturales de la leche, el ácido láctico da lugar a otra gama de productos lácteos, en los que la fermentación se lleva a cabo y es responsable de ciertas características del producto. En la tabla No. 3 se citan, microorganismos, tipo de fermentación, duración de la fermentación y temperatura para cada producto lácteo.

Es empleado también para la preparación de bebidas gaseosas como acidulante y conservador, ya que no enmascara el sabor natural de la fruta. Es usado además en otros alimentos como sopas, dulces, carne picada, etc. (2)

El ácido láctico grado alimentario es usado para la manufactura de sales como el estearoil-2-lactilato de sodio y el estearoil-2-lactilato de calcio, las cuales son empleadas en la industria panadera. La sal de calcio mejora las propiedades de la masa durante el mezclado, al igual que ayuda al buen esponjamiento de la misma. No posee gran poder emulsificante, pero en la fabricación de pan esta propiedad no es tan importante como en los productos que contienen mayor contenido de grasa, a los cuales se les agrega el estearoil-2-lactilato de sodio, ya que además de impartir

Tabla No. 3. Microorganismos asociados con el proceso de fermentación para la obtención de productos lácteos.

PRODUCTO	GRADO DE ACIDEZ	TIPO DE FERMENTACION	TIEMPO Y TEMPERATURA	MICROORGANISMO
Yogurt	Moderada	Láctica	43 - 45°C 3 hrs	<u>L. bulgaricus</u> <u>S. thermophilus</u>
Mantequilla, crema ácida	Poca	Láctica	22°C 18 hrs	<u>B. lactis</u> <u>B. cremoris</u> <u>S. diacetilactis</u> <u>L. cremoris</u>
Kefir	Moderada	Láctica y alcohólica	15 - 22°C 24 - 36 hrs	<u>B. lactis</u> <u>B. cremoris</u>
Leche ácida	Alta	Láctica	37 - 40°C 16 - 18 hrs	<u>L. acidophilus</u>
Leche búlgara	Alta	Láctica	37°C 10 - 12 hrs	<u>L. bulgaricus</u>
Queso Cottage	Poca	Láctica	22°C, 18 hrs o 33°C, 5 hrs	<u>B. lactis</u> <u>B. cremoris</u>
Queso Crema	Poca	Láctica	22°C 18 hrs	<u>B. lactis</u> <u>B. cremoris</u> <u>L. cremoris</u>

FUENTE: (13)

mejores propiedades a la masa es buen emulsificante. (14)

Los ésteres lactilados de mono y diglicéridos, se usan en la preparación de pasteles y tartas ya que aumentan el volumen de la masa. (15, 16)

El ácido láctico técnico se usa como agente para curtir pieles y cuero. Se emplea también en el proceso de teñido de lana y otros materiales textiles. Otras aplicaciones incluyen las siguientes: componente de adhesivos, en agentes limpiadores y en preparaciones o compuestos para pulir, ya que es una sustancia no volátil, no cristaliza, no es tóxico y no daña materiales como la madera. Se usa también en la síntesis de metil, etil y n-butil lactatos. (17)

Otra aplicación importante es en el área de los plásticos, ya que se emplea para la síntesis de resinas fenol-formaldehído, alquídicas y de glicerol. (18)

Los ésteres de ácido láctico con alto punto de ebullición, se usan como plastificantes para resinas (19, 20), como la mezcla de ésteres de ácido láctico con ácidos adipicos del tipo: $\text{ROOC}(\text{CH}_2)_4\text{-COOCH}(\text{CH}_3)\text{COOR}$, los cuales son excelentes plastificantes para copolímeros de cloruro de vinilo. (18)

Los derivados del ácido láctico presentan excelentes características como solventes debido a la presencia de los

siguientes grupos funcionales: hidroxilo, éster y éter. Se emplean en la preparación de lacas, barnices y tintas. (14)

En la industria farmacéutica, el ácido láctico se usa en la preparación de lactato de sodio en forma de solución inyectable, que se emplea en el tratamiento del coma diabético. El lactato de sodio se administra en forma oral para el tratamiento de gastroenteritis infantil, pues convierte lentamente en bicarbonato, en el torrente sanguíneo y restablece las reservas alcalinas sin peligro de producir una alcalosis. Se emplea también en alimentación infantil, como aditivo que se agrega a la leche cuando no hay leche materna disponible.

En el área de alimentación animal, se ha tratado de usar el ácido láctico como fuente de nutrientes. El ácido láctico proveniente de la fermentación de la lactosa del suero de queso, es convertido a su sal de amonio y ésta se da como alimento al ganado. Este uso presenta dos ventajas: la primera es utilizar el suero lácteo, y la segunda constituye en el alto valor nutricional que presenta el lactato de amonio por la facultad de los rumiantes para asimilar el nitrógeno no proteico e incorporarlo como proteína a sus tejidos. (21)

CAPITULO III

PROCEDIMIENTOS QUIMICOS PARA LA OBTENCION DE ACIDO LACTICO

La producción de ácido láctico a partir de métodos químicos, está basada fundamentalmente en la síntesis de dicho compuesto a partir de moléculas pequeñas, las cuales se hacen reaccionar en las condiciones adecuadas para formar ácido láctico.

Como otra alternativa se puede partir de la hidrólisis de compuestos cuyas moléculas son mayores a la del ácido láctico y cuya descomposición produce el mismo, al combinar los siguientes factores: presión, temperatura, catalizadores, concentración adecuada de los componentes de la mezcla reaccionante y solventes principalmente.

Dentro de los procedimientos sintéticos destacan los siguientes: la hidroformilación, método a partir de ésteres vinílicos (22), la interacción de aldehídos con monóxido de carbono y agua (2, 23), la síntesis a partir de la oxidación de propileno (24) y la hidrólisis de lactonitrilo, el cual es un subproducto de la síntesis de acrilonitrilo. (25)

Entre los métodos químicos para la producción de ácido láctico, se puede considerar que el más común, es la hidrólisis de azúcares en condiciones alcalinas. (26)

El ácido láctico sintético se produce en tres grados: técnico, alimentario y farmacéutico y en dos

concentraciones: 50 y 88% en peso.

A.-HIDROLISIS ALCALINA DE AZÚCARES

Desde que se empezó a investigar la hidrólisis alcalina de azúcares (27), se encontró que produce una serie de compuestos, entre los que pueden citarse el ácido láctico como principal debido a su gran utilidad industrial.

Los azúcares sometidos a condiciones alcalinas sufren grandes cambios, como la oxidación en presencia de aire; pero los cambios más interesantes son aquellos que ocurren en condiciones de anaerobiosis. Estos incluyen isomerización, cambios de oxidación-reducción en la estructura intrínseca, degradación de compuestos de menor número de átomos de carbono y reacciones de condensación. (28)

Para que estas reacciones se lleven a cabo es necesario, que se formen enediones, que son compuestos polihidroxilados con un doble enlace, a partir de éstos, ocurren otros cambios de acuerdo a las condiciones de reacción.

El cambio que más comúnmente ocurre es la isomerización, la cual es llevada a cabo por bases inorgánicas débiles y a bajas temperaturas. Esto da lugar a la epimerización, que se caracteriza por el cambio de configuración en torno a un carbono de la molécula de azúcar. (29,30)

La interacción prolongada de hidróxidos de metales alcalinos en ausencia de aire, provocan cambios en la estructura interna del azúcar, dando lugar a la oxidoreducción y en consecuencia se forman ácidos sacarínicos, que se obtienen a partir de enediones y modificación de éstos. (31)

Se ha observado que los hidróxidos a altas concentraciones y temperaturas provocan la descomposición de moléculas de monosacáridos dando como resultado una mezcla compleja. Esta reacción se manifiesta cuando la mezcla de reacción toma color amarillo debido a la condensación de los productos intermediarios. (32, 33)

La mezcla de reacción contiene los siguientes compuestos: triosas, metilglioxal, ácido pirúvico, ácidos sacarínicos y sus lactonas correspondientes. (32, 33, 34)

El mecanismo de descomposición se inicia cuando el monosacárido o hexosa rompe uno de sus enlaces y da lugar a dos moléculas de triosas (32, 34): gliceraldehído y dihidroxiacetona, las cuales se encuentran en equilibrio. Las aldosas se descomponen vía enediol a diferencia de los cetosas que lo hacen directamente. El estado de la molécula como enediol, juega un papel importante, tanto en la transformación de la triosa en metil glioxal como en los cambios posteriores, de acuerdo a las condiciones de reacción. El mecanismo de descomposición es el siguiente:

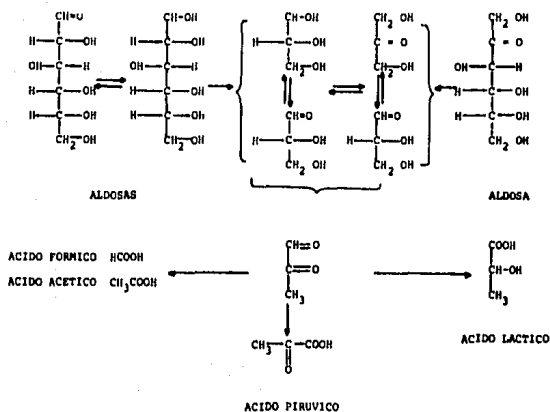


Fig No. 1. Mecanismo de descomposición de un monosacárido en medio alcalino.

La formación de ácido láctico depende de varios factores:

- 1.- Tipo de azúcar empleado,
- 2.- Concentración de azúcar,
- 3.- Tipo y concentración del Alcali empleado,
- 4.- Temperatura y
- 5.- Tiempo.

- 1.- Tipo de azúcar empleado.

Para la producción de ácido láctico se pueden emplear diferentes fuentes de azúcares como: melazas, caña de azúcar y remolachas principalmente. (26) Se ha observado que se

obtienen mayores rendimientos al utilizar sacarosa, en vez de fructuosa, glucosa y azúcar invertida (26, 34, 35). Esto es debido a que en el medio alcalino no se forma azúcar invertida sino formas ionizadas de monosacáridos que producen principalmente ácido láctico, de acuerdo a las condiciones que imperan en el medio de reacción. (26)

2.- Concentración de azúcar.

En cuanto a la concentración de azúcar, ésta no tiene un efecto muy significativo en el rendimiento. Lo que afecta directamente es la relación álcali/azúcar. (26)

3.- Tipo y concentración del álcali empleado.

De acuerdo a la literatura, las bases o álcalis que se forman de cationes bivalentes tienen mayor efecto que las univalentes (26, 33, 37). El uso de hidróxido de calcio presenta mayores ventajas debido a que es soluble en agua, y los ácidos formados durante la reacción, forman sales con él, las cuales tienen efecto amortiguador del pH. La influencia que ejerce el pH es significativa (38, 39, 40) pero se considera como óptimo intervalo de pH el que va de 10 a 12 (38). La proporción o relación de hidróxido de calcio a sacarosa, varía de acuerdo a diferentes autores de 1.5 a 6 moles de hidróxido de calcio por mol de sacarosa. (26)

4.- Temperatura.

De acuerdo a varios autores, se obtiene un óptimo rendimiento de ácido láctico a temperaturas alrededor de

los 130°C. (38)

5.- Tiempo de reacción.

El tiempo de reacción está ligado con la temperatura. El periodo de tiempo necesario para obtener el rendimiento máximo de ácido láctico es reducido de siete horas a 200°C y a treinta minutos a una temperatura de 240°C. (26)

El proceso general para la degradación alcalina de azúcares es el siguiente: Se mezcla la sacarosa con el hidróxido de calcio en una proporción molar de 0.4 moles de sacarosa por 4.46 moles de hidróxido de calcio, calentar la mezcla a 130°C durante ocho horas, después de las cuales se forma lactato de calcio. Para recuperar el ácido láctico se agrega ácido sulfúrico, de tal forma que precipite sulfato de calcio y el ácido láctico queda en solución, la cual se purifica. El rendimiento puede variar del 60 al 70% con respecto al azúcar empleado.

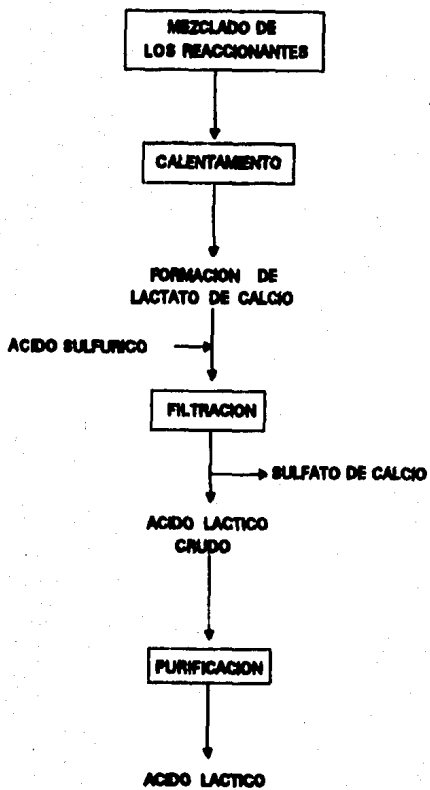


Figura No. 2. Diagrama de flujo del proceso de producción de ácido láctico por hidrólisis alcalina de azúcares.

Existen otras variaciones en el método las cuales se fundamentan en aspectos económicos, que involucran la optimización del hidróxido de calcio para no encarecer el producto (41, 42, 43, 44).

La proporción de hidróxido de calcio a sacarosa para la obtención de ácido láctico es de 2:1, pero en la práctica se requiere de un exceso de álcali(43), razón por la que el costo del proceso es alto. Con el objeto de emplear un exceso de álcali, pero a la vez no utilizar más del requerido, al conservar la relación molar correspondiente, se modificó el proceso de la siguiente manera, se agrega sacarosa gota a gota a una solución del álcali, de manera que se forma lactato de calcio lentamente. Se suspende la adición de álcali hasta que la relación de hidróxido de calcio a sacarosa sea de 2:1. El rendimiento reportado varia en un intervalo que va del 67 al 70%. (43). Un problema asociado al proceso es la purificación debido a que se acumulan sustancias que no reaccionaron y formación de subproductos, lo cual requiere de métodos laboriosos de purificación.

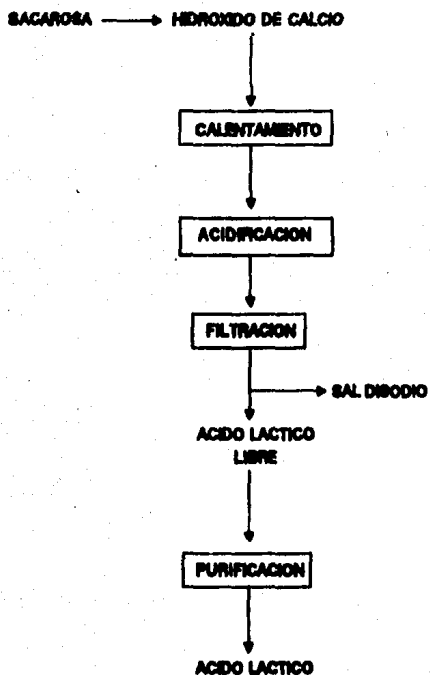


Figura No. 3. Diagrama de flujo del proceso de producción de ácido láctico por hidrólisis alcalina de azúcares. (modificado)

B.-SINTESIS DE ACIDO LACTICO POR HIDROFORMILACION

El objeto de este proceso de síntesis, es la obtención de ácido láctico a partir de la hidroformilación, que es un método a partir del cual se obtienen alcoholes y aldehidos, por medio de la reacción entre olefinas con monóxido de carbono e hidrógeno a temperaturas y presiones elevadas y en presencia de catalizadores específicos. (22, 45, 46)

El producto deseado para la formación de ácido láctico es alfa-acetoxipropionaldehído, el cual es oxidado e hidrolizado para obtener dicho ácido. (22)

El uso de catalizadores adecuados para esta reacción es la clave del proceso, ya que determinan la ruta de reacción y los productos a obtener. En estudios anteriores acerca del proceso de hidroformilación se observó que al hacer reaccionar acetato de vinilo con monóxido de carbono, hidrógeno y carbonilo de cobalto como catalizador se obtuvo una mezcla compuesta por 22% de beta-acetoxipropionaldehído y 30% de alfa-acetoxipropionaldehído. (22) Recientemente se ha comprobado que el empleo de catalizadores que contengan rodio da mejores rendimientos. (22, 45, 46)

Para esta reacción se puede usar cualquier éster vinílico, pero para la obtención de ácido láctico se emplea acetato de vinilo que se obtiene a partir de acetileno o etileno con ácido acético.

Las reacciones de obtención de ácido láctico a partir de hidroformilación son:

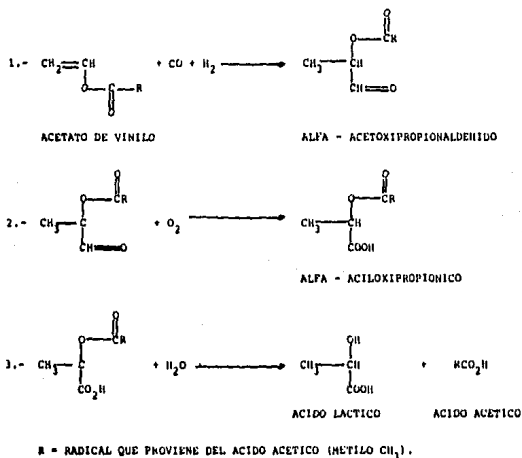


Fig No. 4. Reacciones de obtención de ácido láctico por el proceso de hidroformilación.

La primera etapa de la reacción es la clave de este proceso, ya que debe obtenerse alfa-acetoxipropionaldehído. Lo que determina este paso es el catalizador empleado, como factor primordial, otros factores son la temperatura y presión. (22)

Se ha observado que si se cumplen con las condiciones adecuadas puede evitarse la formación de alcoholes en vez de aldehídos; por otra parte, la formación de beta-hidroxipropionaldehído puede darse, pero por las condiciones

imperantes en el medio lo convierten en un compuesto inestable, el cual da lugar a acroleína, la que por hidrogenación da propionaldehído que se convierte en ácido propiónico por medio de oxidación. Este tipo de subproductos es fácil de separar por destilación y pueden ser aprovechados desde el punto de vista industrial. (22)

Los catalizadores que contienen rodio son los más adecuados para este proceso. El sistema catalizador comprende al metal rodio, unido a compuestos tales como, triaril o triaril fosfinas, arsina o estibina. Este sistema puede emplearse en forma líquida o en forma sólida cuando se usa un ligando polimérico insoluble que se une al rodio. (22)

La segunda etapa de reacción comprende la oxidación de alfa-acetoxipropionaldehído en presencia de oxígeno. (22)

La etapa final de la síntesis es la hidrólisis de el ácido alfa-aciloxipropionico para formar ácido láctico y un ácido carboxílico. (22)

Condiciones de reacción.

En este proceso cada etapa tiene sus propias condiciones las cuales se citan a continuación:

Etapa No. 1. Hidroformilación del ester vinílico para producir alfa-aciloxipropionaldehído, con monóxido de carbono e hidrógeno.

a) Presión. Se recomienda un intervalo de 4.6 a 175 kg/cm². (65 a 2500 psig). Se prefiere un intervalo comprendido entre 32.5 a 140 kg/cm² (460 a 2000 psig).

b) Temperatura, entre 40 y 160°C. Se prefiere de 60 a 125°C.

c) Catalizador. Se requiere la presencia de un catalizador específico, en este caso se prefieren compuestos con rodio unido a compuestos terciarios organofosforados, organo-arsénicos u organo-antimonio. (22)

La relación molar de rodio a compuesto que se halle unido al mismo debe ser de 1:2.

Se recomienda que los complejos de rodio no contengan iones haluros, ya que estos tienen efectos corrosivos y disminuyen la velocidad de reacción. Se prefiere que el rodio forme complejos catiónicos con aniones no coordinados ya que se proporciona alta selectividad para el producto deseado, mayor velocidad y son fáciles de preparar.

La proporción de catalizador con respecto al éster vinílico no es crítica, pero se recomiendan altas concentraciones del catalizador, que varían en un intervalo de 10⁻⁶ M a 10⁻¹ M por litro de solución, cuando el catalizador se encuentra en forma líquida. (22)

d) Concentraciones de monóxido de carbono, hidrógeno y éster vinílico.

La relación molar que deben guardar el monóxido de

carbono e hidrógeno es de 1:1 por mol de éster vinílico que se desee convertir a aciloxipropionaldehído. Aunque pueden existir tanto el monóxido de carbono como el hidrógeno en exceso. (22, 45, 46)

El medio de reacción empleado debe contener un solvente compatible con el catalizador, que no reaccione con el vinil-éster y que tenga un punto ebullición mayor que el del alfa-aciloxipropionaldehído, para que sea fácil separarlo por destilación. (22) Se recomiendan los hidrocarburos y ésteres. (46)

Etapa No. 2. Oxidación de alfa-aciloxipropionaldehído para formar ácido alfa-aciloxipropiónico.

a) Presión. Arriba de 100 kg/cm^3 .

b) Temperatura. Que comprenda un intervalo entre 10 y 100°C .

c) Catalizador. Óxido de plata, sales de vanadio u óxidos y sales de tungsteno.

El oxígeno que proviene del aire debe suministrarse a presión arriba de la atmosférica.

Como solvente se pueden emplear hidrocarburos, para controlar el calor desprendido por la reacción.

Etapa No. 3. Hidrólisis de ácido alfa-aciloxipropiónico para formar ácido láctico.

a) Temperatura. 40 a 220°C .

b) Concentración de los reaccionantes. La proporción molar puede variar de 1:1 con respecto al ácido alfa-aciloxipropiónico.

No se requiere catalizador debido a la naturaleza de la mezcla reaccionante. (22)

Procedimiento general. Se disuelve el catalizador de rodio en ácido acético, se eleva la presión del medio, con una mezcla de monóxido de carbono e hidrógeno y se calienta a 100°C.

Posteriormente se agrega acetato de vinilo en forma gaseosa, lo cual incrementa la presión del medio aún más. Después se detiene el suministro de monóxido de carbono e hidrógeno, se baja la temperatura a 25°C con aire, se mantiene a este nivel, el cual a su vez es un agente que estabiliza la presión del medio. Al lograr esto, se agrega agua al reactor y se calienta a 150°C, por dos horas, después de las cuales se destila la mezcla y se obtiene ácido libre. El rendimiento del proceso puede llegar al 60%.

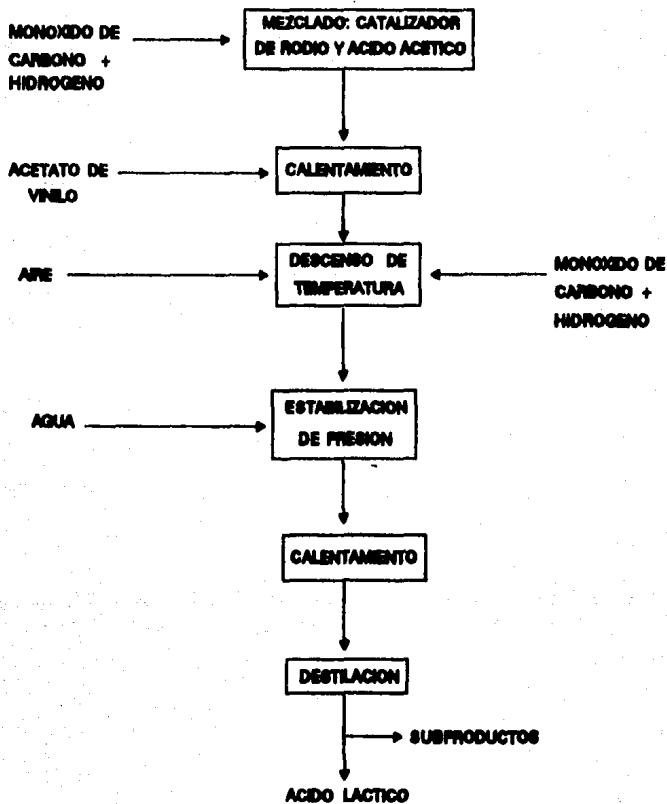


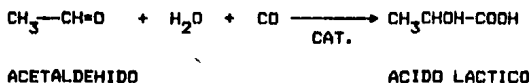
Figura No. 5. Diagrama de flujo del proceso de producción de ácido láctico por hidroformilación.

C.-OBTENCION DE ACIDO LACTICO A PARTIR DE ACETALDEHIDO, MONOXIDO DE CARBONO Y AGUA

Una alternativa para la producción de ácido láctico, es la obtención a partir de acetaldehído, monóxido de carbono y agua.

De acuerdo a investigaciones realizadas en las que se hacían reaccionar aldehídos, monóxido de carbono y agua en condiciones de presión elevadas y la síntesis de ácido glicólico a partir de formaldehído, monóxido de carbono y agua a presión y en presencia de catalizadores, se propuso la síntesis de ácido láctico al aplicar estas condiciones. (23, 47, 48)

La reacción de obtención de ácido láctico de acuerdo a este método es la siguiente:



Como subproductos de la reacción se han encontrado, en solución: ácido fórmico, agua y acetaldehído que no reaccionó; en forma gaseosa: monóxido de carbono, dióxido de carbono, metano e hidrógeno. (23)

La formación de ácido láctico depende de los siguientes factores:

- 1.- Presión,

- 2.- Temperatura,
- 3.- Concentración y relación molar de los reactivos,
- 4.- Tiempo de reacción y
- 5.- Catalizadores.

1.- Presión.

El efecto de la presión tiene una influencia característica en la producción de ácido láctico, debido que al elevarse, aumenta el rendimiento, pero después decrece al pasar cierto intervalo de presión. (23)

La presión óptima es de 5100 p.s.i.g, aproximadamente. (23)

2.- Temperatura.

La temperatura adecuada para alcanzar un mayor rendimiento de producción es de 230°C. (23)

3.- Concentración y relación molar de los reactivos.

El medio de reacción más adecuado es el agua aunque si ésta no esta disponible pueden emplearse alcoholes alifáticos y éteres. (47)

El monóxido de carbono debe agregarse en exceso con el objeto de prevenir la descomposición del aldehído en monóxido de carbono, hidrógeno y otros productos. (47)

La relación molar óptima que deben guardar los reactivos es la siguiente: dos moles de monóxido de carbono, 0.124

moles de acetaldehído y 0.72 moles de agua. Lo anterior constituye un porcentaje molar del 15% de acetaldehído en la mezcla. (23)

5.- Catalizadores.

Los catalizadores que pueden emplearse son de naturaleza ácida como los ácidos inorgánicos, entre los que pueden citarse: ácido sulfúrico, y ácido fosfórico; sales inorgánicas ácidas como el sulfato ácido de potasio, fosfato ácido de sodio, etc., además de ácidos orgánicos como el acético y el fórmico.

La cantidad que se incorpora es alrededor de un mol de catalizador por mol de aldehído, aunque puede ser un poco mayor. (47)

Se han investigado otros catalizadores como las sales de Hierro(II), Cobalto (II) y Niquel (II) soportadas en una matriz de sílica gel. Los mejores resultados se obtuvieron con la sal de níquel (II). (23)

La influencia que ejerce el catalizador es que a mayor concentración de éste, la reacción puede llevarse a cabo a temperatura y presión más bajas. (47)

Procedimiento general: Los reaccionantes se incorporan en una autoclave oscilatoria, que forme un ángulo de 45° al balancearse y tenga una velocidad de 45 oscilaciones por minuto. Se calienta la mezcla gradualmente hasta llegar a

los 230°C y se mantiene. Simultáneamente se agrega monóxido de carbono. La presión del proceso se suministra por nitrógeno gaseoso. La mezcla se deja reaccionar durante tres horas, después de las cuales se destila para separar los subproductos y moléculas que no reaccionaron y se obtiene ácido láctico libre.

El rendimiento que reporta la literatura para este proceso es de 32.36% de ácido láctico.(47)

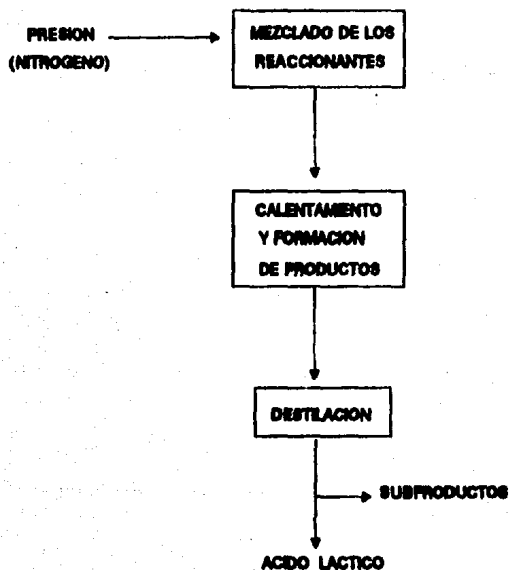


Figura No. 6. Diagrama de flujo del proceso de producción de ácido láctico a partir de acetaldehído, monóxido de carbono y agua.

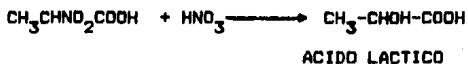
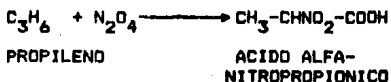
D.- SINTESIS A PARTIR DE PROPILENO

Este método de obtención de ácido láctico, se investigó con la finalidad de que el proceso resultara económico y relativamente sencillo, debido a la importancia que tiene el ácido láctico por sus aplicaciones.

El fundamento de esta síntesis es partir de compuestos que contengan enlace alfa-olefínico y puedan convertirse en sus correspondientes ácidos alfa-hidroxicarboxílicos, con el empleo de un agente oxidante en un medio oxidante. (49)

Para obtener ácido láctico a partir de este método, el compuesto alfa-olefínico utilizado es el propileno, el agente oxidante puede ser tetróxido de dinitrógeno y ácido nítrico.

La reacción de obtención es:



El mecanismo de reacción consta de dos etapas, en la primera, el propileno reacciona con el dióxido de dinitrógeno para dar lugar al ácido alfa-nitropropionico. En la segunda etapa el ácido alfa-nitropropionico, se hidroliza

a Acido láctico en presencia de Acido nítrico o clorhídrico como catalizadores. (50)

Los factores que afectan la reacción son los siguientes:

- 1.- Temperatura,
- 2.- Concentración de los reaccionantes y
- 3.- Catalizador.

1.- Temperatura.

La temperatura recomendada para esta reacción debe ser menor de los 40°C . Cuando la reacción se hace en dos etapas, se recomienda utilizar una temperatura abajo de los 10°C en la primera y en la segunda, la temperatura debe oscilar entre los 20 y 40°C . (49). (Se realiza en dos etapas cuando primero se hace reaccionar propileno con el agente oxidante y el catalizador se agrega después).

2.- Concentración de los reaccionantes.

La concentración que guardan los reaccionantes entre sí, debe ser, por cada mol de propileno, una mol de agente oxidante (tetróxido de dinitrógeno) y una mol de catalizador (ácido nítrico o sulfúrico). No es necesario agregar ácido nítrico, ya que puede formarse en el medio de reacción cuando se agrega agua a éste. (49)

3.- Catalizador.

Se requiere la presencia de un catalizador, para que se

lleve a cabo la oxidación a ácido láctico. Se consideran adecuados los ácidos minerales como el nítrico y el clorhídrico. (49)

Procedimiento general. En un reactor se mezclan 58.3% en peso de ácido nítrico, 16.7% en peso de tetróxido de dinitrógeno y 25% en peso de agua (con respecto al 100%). La velocidad de flujo recomendada debe ser de 9.3 g/min. Simultáneamente se burbujea propileno a una proporción de 0.03g de propileno por gramo de carga ácida. La temperatura debe mantenerse en 15°C. El flujo de reactivos se continúa hasta obtener una carga total de 59.5g de carga de ácido por 18.4g de propileno; se destila a temperatura ambiente para separar el ácido nítrico y los óxidos de nitrógeno. El residuo se trata con hidróxido de sodio caliente. Se acidifica y se extrae con éter la muestra. La fase oleosa corresponde a la del ácido láctico, la cual se disuelve en agua y se agrega carbonato de calcio hasta alcanzar un pH de 5, de esta manera se obtiene lactato de calcio. El rendimiento promedio de este proceso es de 27% de ácido láctico por mol de propileno.

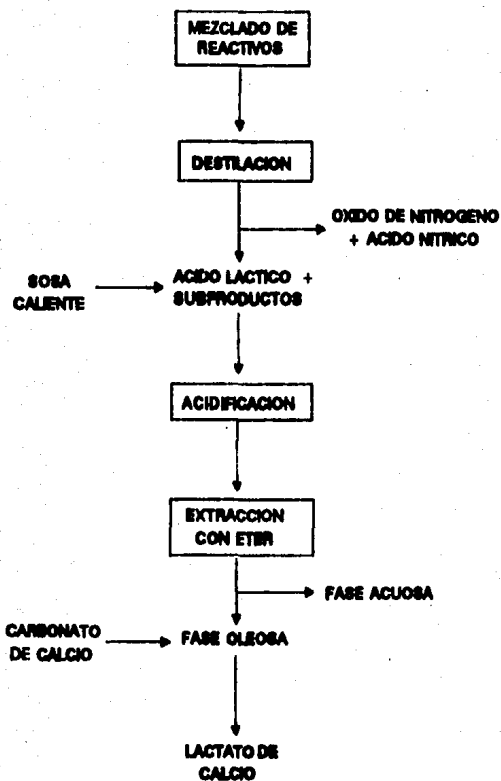


Figura No. 7. Diagrama del proceso de producción de ácido láctico a partir del propileno.

El proceso anterior puede modificarse y dar mejores resultados, si se utilizan métodos electroquímicos, ya que estos proporcionan mayor selectividad y evitan la formación de subproductos. (50)

El rendimiento reportado al utilizar este proceso es de el 90 al 98% de ácido láctico por mol de propileno. (50, 51, 52).

Este método consiste en la formación de ácido alfa-nitropropiónico a partir de tetróxido de dinitrógeno y propileno. La relación molar que deben guardar el propileno y el tetróxido de dinitrógeno debe ser 1:3. La temperatura debe estar entre 15 y 20°C, la que posteriormente se eleva a 50°C para separar el exceso de tetróxido de dinitrógeno.

El ácido alfa-nitropropiónico se somete a la acción de una celda electrolítica, en la parte catiónica de la misma; en la parte aniónica se encuentra el ácido nítrico. Por medio de un proceso de reducción en el que interviene el ácido nítrico se obtiene ácido láctico.

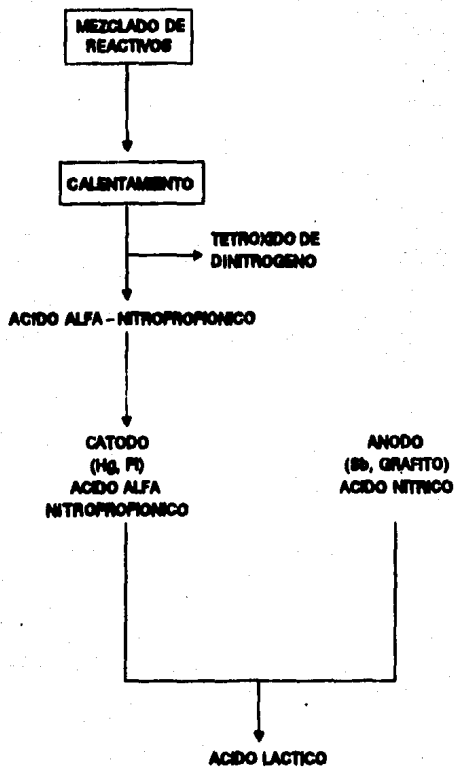


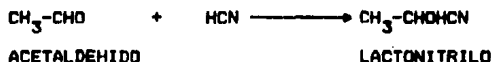
Figura No. 8. Diagrama de flujo del proceso de producción de ácido láctico a partir de propileno por métodos electroquímicos.

E.- ACIDO LACTICO A PARTIR DE LACTONITRILLO

El Acido láctico puede obtenerse a partir de lactonitrilo, el cual es un subproducto de la síntesis de acronitrilo. (25)

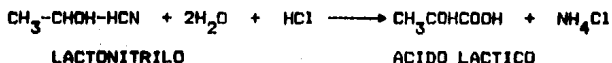
Esta reacción fue descubierta en 1863 por Wislicenus, quien hizo reaccionar acetaldehído con ácido cianhídrico para obtener lactonitrilo, al que posteriormente se hidrolizó para obtener ácido láctico.

La reacción de obtención es la siguiente:



Los nitrilos son cianohidrinás que son fácilmente hidrolizables. (53)

La hidrólisis de lactonitrilo se lleva a cabo en presencia de un catalizador ácido como se muestra a continuación:



El procedimiento general es el siguiente. Se alimenta con lactonitrilo una solución al 85% de ácido sulfúrico y se calienta a una temperatura entre 70 y 80°C, se deja reposar la mezcla y se destila para separar el ácido láctico de los

.subproductos.

El rendimiento reportado por la literatura para este proceso es alrededor del 86%. (54)

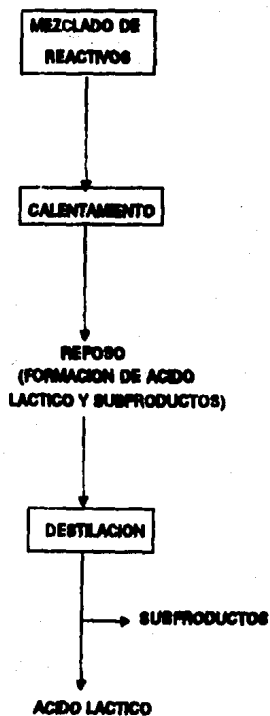


Figura No. 9. Diagrama de flujo del proceso de producción de Acido láctico a partir de lactonitrilo.

F.-OTROS METODOS

Además de los métodos citados anteriormente, existen otros procesos químicos para la obtención de ácido láctico, que se han investigado como otras alternativas para la producción de este compuesto químico.

La hidrólisis de ácido cloropropiónico, se empezó a estudiar en la década de los setentas por científicos rusos. (55) La hidrólisis fue probada primero con agua y álcalis (55, 56), pero los rendimientos no fueron reportados. Más tarde se investigó la hidrólisis alcalina y se reportaron rendimientos del 72 al 76% de ácido láctico después de la purificación. (57)

Una variante del método anterior, es la sustitución de cloro del ácido alfa-cloropropiónico, por un hidroxilo (OH) cuando se hace reaccionar con hidróxido de bario. Se obtienen rendimientos del 56 al 60% de ácido láctico. (58)

Los japoneses a finales de la década de los setentas, investigaron la obtención de ácido láctico a partir de la hidrólisis de 1,1-dicloroacetona (59), y el empleo de carbón activado como catalizador en condiciones normales (no especificadas). Se reportaron rendimientos del 93 al 97% de ácido láctico.

Otra posible alternativa, es la obtención de ácido láctico a partir de la hidrólisis alcalina de celulosa. Fue

estudiada por Alfredson y Samuelson (60), en los sesentas, no se reportaron rendimientos.

Por último, el método más reciente reportado por la literatura, es la fotooxidación de ácido propiónico en presencia de peróxido de hidrógeno (61); el posible mecanismo es a partir de la abstracción de un átomo de hidrógeno, y un radical hidroxilo (OH) de la molécula de peróxido de hidrógeno, que se forma por fotodisociación. El rendimiento no se reportó.

G.- VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LOS METODOS QUIMICOS

La producción de ácido láctico por síntesis química constituye un camino ventajoso y práctico para la manufactura industrial de este hidroxiaácido, debido a que no se requiere gran cantidad de espacio ni de equipo, la reacción es llevada a cabo en corto tiempo y puede ser adaptada a un proceso continuo.

Por otra parte, los métodos químicos pueden no ser muy selectivos y formar además del producto deseado, otros productos secundarios que dificultan la purificación y conllevan mayores costos.

Para fundamentar una base acerca de las ventajas y desventajas de esta vía de manufactura, deben tomarse en cuenta los siguientes factores:

El primero de ellos, lo constituye la materia prima, en ésta debe considerarse un insumo suficiente de la misma y el costo. Como segundo factor, la disponibilidad de equipo adecuado, ya que el ácido láctico por su naturaleza intrínseca es un producto corrosivo, por lo que requiere de equipo resistente a la acción del ácido. El tercer factor es la tecnología o proceso en donde debe tomarse en cuenta la relativa facilidad o sofisticación del mismo. Por último factor es el rendimiento en producto.

A continuación se citaran las ventajas y desventajas de

los métodos expuestos anteriormente.

1.- Hidrolisis alcalina de azúcares.

La materia prima que se utiliza es de bajo costo, ya que puede emplearse cualquier tipo de carbohidrato, como melazas, remolacha, etc., el álcali y el ácido empleado son materiales más caros, pero al igual que el azúcar empleado pueden facilitar un insumo suficiente. El proceso es relativamente sencillo al igual que el equipo que se emplea. El rendimiento es bueno.

Los inconvenientes son, formación de subproductos difíciles de separar; además de que imparten un color oscuro no deseado y se requiere el empleo de técnicas de purificación sofisticadas que encarecen el producto.

2.- Hidroformilación.

Constituye un método seguro debido a que las materias primas que se emplean no son peligrosas de manejar, debido a que no son corrosivas ni venenosas.

Los subproductos que resultan de la reacción pueden ser utilizados industrialmente, además de que pueden separarse con facilidad y no se requiere de procesos de purificación caros.

El gran problema de esta síntesis, lo constituye el catalizador, ya que debe ser muy específico, además debe soportar elevadas presiones y temperaturas. Si no es usado el catalizador adecuado, la reacción puede desviarse hacia

la formación de otros productos y en consecuencia baja el rendimiento. Debido a que es un catalizador muy especial, vuelve al proceso más costoso debido a la disponibilidad del mismo.

3.- Obtención a partir de acetaldehído, monóxido de carbono y agua.

Es un proceso sencillo que parte de materias primas relativamente poco costosas.

Un problema para esta síntesis, lo constituye el catalizador ya que es muy específico y eleva los costos. Se forma gran cantidad de subproductos, su separación no es fácil y además el rendimiento reportado es muy bajo.

4.- A partir de propileno.

Es un proceso que se lleva a cabo de una manera fácil, que reporta grandes rendimientos y la materia que se utiliza es de poco costo.

La gran desventaja de este proceso, es la formación de subproductos difíciles de separar, además de que puede llevarse a cabo la polimerización del ácido láctico consigo mismo y formar polímeros del ácido.

Si se emplea ácido clorhídrico en el proceso se puede formar cloruro de nitrosil, lo cual deteriora el producto final.

Lo anterior produce mermas en el rendimiento e implica

el uso de equipo más complicado y costoso.

5.- A partir de lactonitrilo.

Es un proceso sencillo que implica el uso de materiales poco costosos y es relativamente práctico y sencillo.

El mayor problema asociado con este método es aquel que implica el uso de cianuro, que es un material muy peligroso debido a que es altamente venenoso, por lo que debe tomarse en cuenta que el producto final no contenga trazas de este compuesto. Debido a estas razones el proceso eleva mucho el costo del producto, por las técnicas de purificación que deben aplicarse.

CAPITULO IV

PROCEDIMIENTOS BIOTECNOLÓGICOS PARA LA OBTENCIÓN DE ÁCIDO LÁCTICO

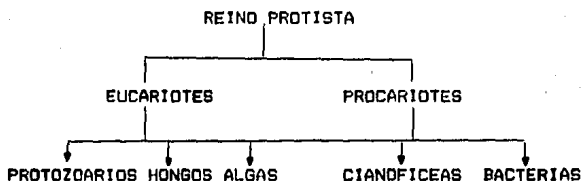
A.- INTRODUCCION

La producción de ácido láctico a nivel industrial por procesos de fermentación data del año 1880, en Littleton Massachusetts, en donde se instaló, la primera planta para la manufactura de este ácido orgánico. El proceso para la obtención de lactato de calcio en dicha fábrica no es conocido, pero se sabe que el producto era comercializado. Desde entonces adquirió gran importancia. (62)

En la industria, los procesos biotecnológicos, se encargan del aprovechamiento bajo condiciones controladas de materiales biológicos como microorganismos, tejido celular, animal, productos microbianos y enzimas.

En la producción industrial de ácido láctico se emplean bacterias, las que a continuación se ubicarán taxonómicamente dentro la clasificación microbiana. De acuerdo a Haeckel (63), los organismos unicelulares (microorganismos), constituyen el reino protista, que a su vez comprende bacterias, hongos y protozoos. De acuerdo a la complejidad celular, los microorganismos se dividen en dos categorías: procariotes y eucariotes; estos últimos se caracterizan por tener núcleo definido, el cual está limitado por una membrana. Dentro del núcleo, se encuentra

contenido el material genético (D.N.A), en los cromosomas. Otras estructuras celulares que poseen los eucariotes son las mitocondrias, organelos responsables de la producción de energía durante el metabolismo; requieren de oxígeno y los eucariotes fotosintéticos contienen cloroplastos para producir energía. A esta clasificación pertenecen los protozoarios, hongos, y algas. Los organismos procarióticos no tienen núcleo definido, el material genético se encuentra adherido a la membrana del plasma, no poseen mitocondrias y la energía necesaria para el metabolismo es proporcionada por diferentes enzimas distribuidas en el plasma. Los organismos procarióticos pueden ser anaerobios obligados, anaerobios facultativos y organismos aerobios. A esta clasificación pertenecen las bacterias y las cianofíceas (algas verde-azules). (13)



Las bacterias son organismos muy simples, no fotosintéticos. Se clasifican de acuerdo a características morfológicas, crecimiento en presencia o ausencia de aire, por la prueba de tinción de Gram y por reacciones fisiológicas principalmente.

De acuerdo a los requerimientos nutricionales, las bacterias pueden dividirse en dos grupos: fotótrofos y quimiótrofos.

Las bacterias fototróficas consumen CO_2 o compuestos orgánicos como fuente de carbono, a su vez se subdividen en fotoliotróficas y en fotorganotróficas. Como fuente de energía para su desarrollo es la luz.

Las bacterias quimiotróficas, utilizan como fuente de carbono CO_2 y compuestos orgánicos, la fuente de energía es la oxidación de compuestos inorgánicos, para las quimiolitotróficas y la oxidación de compuestos orgánicos para las quimiorganotróficas. Las bacterias fotoliototróficas y las quimiolitototróficas son organismos autótrofos, es decir, que sólo requieren materiales inorgánicos como fuente de carbono. Las bacterias fotoorganotróficas y las quimiorganototróficas son organismos heterótrofos, es decir, que requieren compuestos inorgánicos y orgánicos como fuente de carbono. (63)

A continuación se presenta la división de bacterias de acuerdo a su tipo de nutrición:

	TIPO	FUENTE DE ENERGIA	FUENTE DE CARBONO
FOTOTROFICAS	FOTOLITOTROFICAS. (AUTOTROFAS)	LUZ	CO ₂
	FOTOORGANOTROFICAS (HETEROTROFAS)	LUZ	COMPUESTOS ORGANICOS
QUIMIO-TROFICAS	QUIMIO-LITOTROFICAS (AUTOTROFAS)	OXIDACION DE COMPUESTOS ORGANICOS.	CO ₂
	QUIMIOORGANOTROFICAS. (HETEROTROFAS).	OXIDACION DE COMPUESTOS ORGANICOS.	COMPUESTOS ORGANICOS.

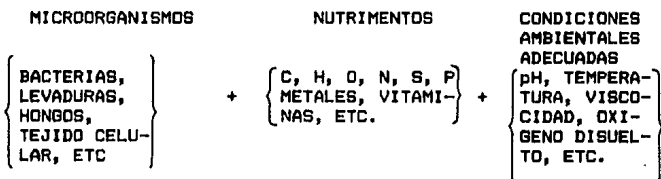
De acuerdo a esta clasificación las bacterias productoras de ácido láctico son quimioorganotróficas debido a que la energía que requieren para llevar a cabo sus procesos metabólicos proviene de compuestos orgánicos.

a) CONCEPTO DE FERMENTACION

Una fermentación es un proceso en el que se llevan a cabo cambios químicos en un sustrato orgánico por la acción de enzimas elaboradas por microorganismos. (13)

Para que una fermentación se realice son necesarios los siguientes requisitos: tener un microorganismo de características idóneas para el proceso y/o producto particular, proveer un medio de cultivo adecuado (que contenga todos los nutrientes esenciales en las

proporciones y cantidades óptimas de producción) y establecer y controlar las condiciones fisicoquímicas necesarias para el desarrollo de la fermentación. Como resultado se obtendrá una cantidad de microorganismos mayor que la inicial y diversos productos. Todas estas variables son las que interaccionan y deben optimizarse para lograr un proceso adecuado.



El proceso de fermentación, no sólo comprende, las reacciones bioquímicas efectuadas por microorganismos y/o por enzimas, sino además considera las características físicas y de operación del recipiente en donde se lleva a cabo (fermentador) y las operaciones que se efectúan antes y después de la fermentación. Se pueden distinguir tres áreas principales: laboratorio, fermentación y extracción. (64)

En la figura No. 10, se presenta un diagrama que representa un proceso típico de fermentación.

b) DESCRIPCIÓN GENERAL DE LAS BACTERIAS PRODUCTORAS DE ÁCIDO LÁCTICO

Las bacterias productoras de ácido láctico, son un grupo de microorganismos que poseen características nutricionales y metabólicas muy especiales. Su nombre se

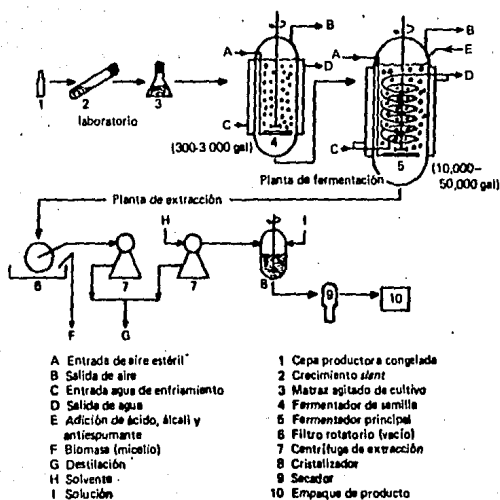


Fig. No. 10. Pasos generales de un proceso de fermentación.

deriva del hecho de que producen ATP (Adenosin-Trifosfato), por la fermentación de carbohidratos, y el producto que se obtiene principalmente por esta vía es ácido láctico. (65)

- Subdivisiones taxonómicas de las bacterias lácticas.

Se presentan en la tabla No. 4.

El género *Lactobacillus*, se divide en tres subgéneros, que se diferencian de acuerdo a sus propiedades, lo cual se muestra en la tabla No. 5.

Son bacilos, aunque también se les puede encontrar como cocos, son anaerobias facultativas, ya que pueden crecer sobre la superficie de los medios de cultivo y no es afectado su crecimiento. No pueden obtener ATP por rutas metabólicas aerobias, ya que no sintetizan citocromos o cualquier otra enzima que contenga grupos "Hemo". (65)

Debido a su imposibilidad para producir proteínas "Hemo" las bacterias lácticas reaccionan negativamente ante la prueba de la catalasa, ya que no pueden descomponer el peróxido de hidrógeno para que se produzca oxígeno, como se muestra en la siguiente reacción:



Para la identificación de estos microorganismos es muy importante la prueba de la catalasa, ya que son los únicos capaces de crecer en presencia de oxígeno y presentar reacción negativa ante esta prueba. (65)

Tabla No. 4. Subdivisión taxónomica de las bacterias productoras de ácido láctico. (cocos)

FORMA Y ARREGLO CELULAR	MANERA DE FERMENTAR GLUCOSA	CONFIGURACION DEL ACIDO LACTICO	GENERO
Estreptococos	Homofermentativa	L-	Streptococcus
Estreptococos	Homofermentativa	D-	Leuconostoc
		DL-	Pediococcus
Bacilo	Varia	Varia	Lactobacillus

FUENTE: (65)

Tabla No. 5. Propiedades distintivas del género *Lactobacillus*.

GENERO	TIPO DE AZUCAR QUE FERMENTAN Y CARINIO EMPLEADO		TIPO DE ISOMERO DE ACIDO LACTICO QUE PRODUCE	INTERVALO DE TEMPERATURA EN EL QUE PRODUCE AC. LACTICO	
	HEXOSA	GLUCONATO PENTOSAS		15°C	45°C
<i>Therobacterium</i>	Emden N.	No lo atacan	L-, D- o DL	-	+
<i>Streptobacterium</i>	E.N	P.P	L- o DL-	+	-
<i>Dobabacterium</i>	P.P	P.P	DL-	Varia segun la especie	

FUENTE: (65)

La incapacidad de producir la proteína "Hemo" se debe a que las bacterias lácticas, no pueden sintetizar el grupo prostético común de estas enzimas que es la "Hemina".

Las bacterias productoras de ácido láctico, son microorganismos poco sofisticados en cuanto a su metabolismo, pero muy exigentes en lo referente a factores de crecimiento, ya que requieren del complejo B y gran cantidad de aminoácidos, por lo que el medio de cultivo debe contener peptona, extracto de levadura y suplementarse con carbohidratos. (65)

Las colonias de bacterias lácticas son muy pequeñas (pocos mm de diámetro) y no son pigmentadas por la ausencia de citocromos. (65)

Otra característica distintiva de estos microorganismos es que toleran altas concentraciones de ácido. El pH óptimo de crecimiento es neutro, pero en el caso de los cocos, el pH debe ser 6; sin embargo, el crecimiento continúa aun a valores de 5. La tolerancia a la acidez es una ventaja, ya que si se encuentran en un medio que contiene varios tipos de microorganismos, a medida que crecen las bacterias lácticas y se acumula ácido láctico los demás organismos desaparecen y prevalecen estas bacterias. (65)

De acuerdo a la naturaleza específica de estas bacterias, solo se encuentran en pocos sustratos naturales,

como tejidos de plantas en descomposición, en diferentes alimentos y bebidas como la col agria, los encurtidos, vino y cerveza. En bebidas fermentadas son las causantes de la descomposición de las mismas e imparten un sabor ácido no deseable. Se les puede encontrar presente como parte de la flora de animales y el hombre, en el tracto nasal, tracto digestivo y en la vagina. Por último se les puede encontrar naturalmente en la leche de vaca, ya que provienen de la flora normal del animal. (65)

En relación a los procesos bioquímicos llevados a cabo por las bacterias lácticas estas pueden dividirse en dos grupos de acuerdo a la utilización de glucosa. Al primero pertenecen los organismos homofermentativos que convierten toda la glucosa en ácido láctico y los heterofermentativos que transforman la glucosa en una mezcla equimolar de ácido láctico, etanol y dióxido de carbono. La razón de esta división es la diferencia en las rutas metabólicas que utilizan. Los homofermentativos degradan la glucosa por la vía de Embden-Meyerhof (66), que se muestra en la figura No.11.

Los organismos heterofermentativos siguen la ruta oxidativa de pentosa fosfato para degradar la glucosa. Por esta ruta sólo se obtiene una molécula de ácido láctico por molécula de glucosa que entra a este proceso bioquímico, además de obtenerse etanol. Como puede notarse en la figura

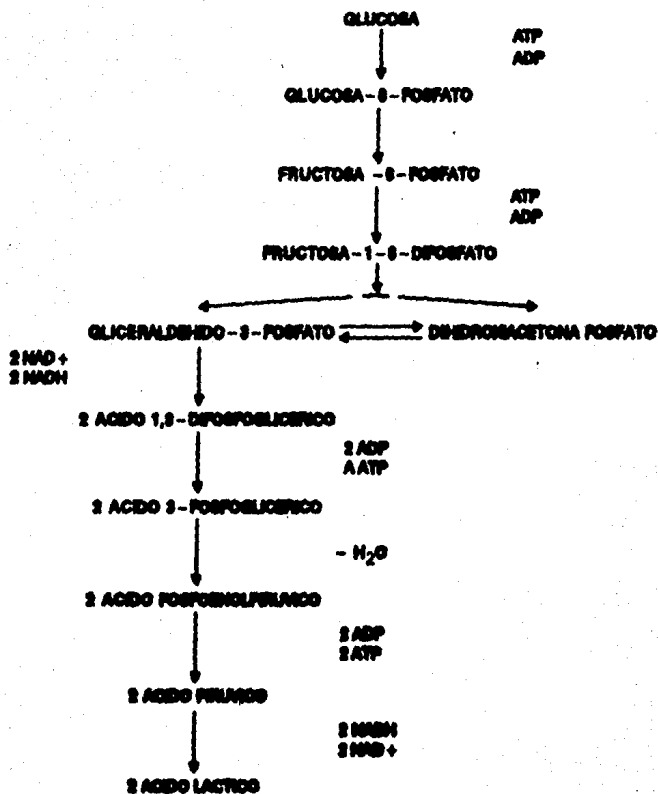
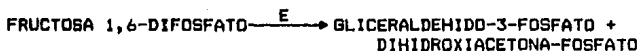


Fig. No. 11. Via de Embden-Meyerhof para degradar glucosa.

No.12 una parte de la ruta oxidativa coincide con la via Embden-Meyerhof, que es a partir de que se forma gliceraldehido-3-fosfato. (65)

La razón de que los organismos heterofermentativos no usen la via Embden Meyerhof, es por que carecen de la enzima fructuosa-difosfato-aldolasa que da lugar a gliceraldehido-3fosfato y dihidroxiacetona-fosfato, a partir de fructuosa 1,6-difosfato.



En la ruta oxidativa de pentosa fosfato se lleva a cabo una oxidación de glucosa-6-fosfato para formar dióxido de carbono y ribulosa-5-fosfato, la cual se degrada para formar gliceraldehido-3-fosfato y acetil-fosfato. Para la formación de ácido láctico se sigue la ruta de Embden-Meyerhof a partir de gliceraldehido-3-fosfato. El acetil-fosfato se reduce a etanol. De acuerdo a este mecanismo sólo se forma una mol de cada producto y un solo ATP. (65)

La reducción de ácido pirúvico a ácido láctico se lleva a cabo como sigue:



Algunas especies contienen D-Lactato deshidrogenasa, otras L-Lactato deshidrogenasa y algunas especies contienen ambas dando la forma racémica del ácido láctico. (65)

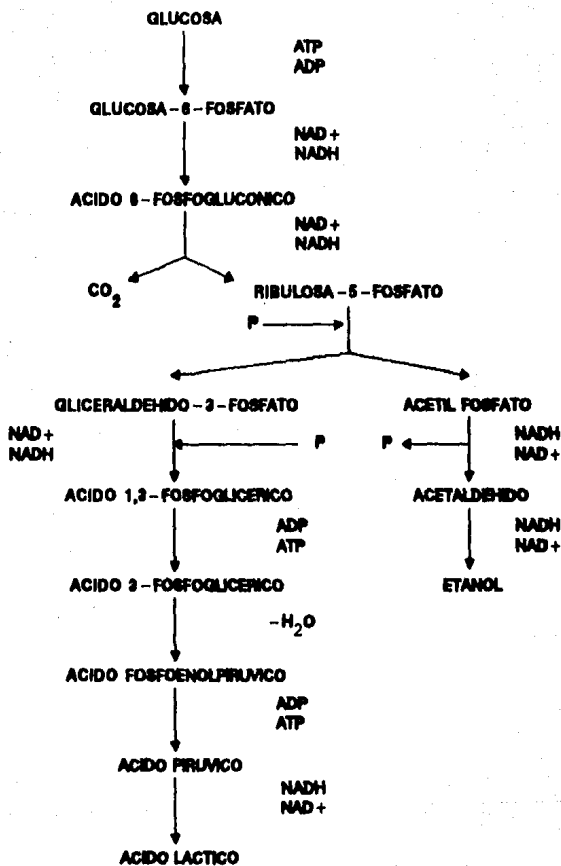


Fig. No. 12. Ruta oxidativa de pentosa-fosfato para degradar la glucosa.

c) ASPECTOS GENERALES DE LA PRODUCCION DE ACIDO LACTICO A NIVEL COMERCIAL.

Para la producción de ácido láctico a nivel comercial, por medios fermentativos deben tomarse en cuenta varios factores generales que implican primeramente la selección del microorganismo adecuado en relación al carbohidrato que se va a emplear, como el sustrato y las condiciones de fermentación: pH, temperatura, factores nutricionales, etc. De la correcta selección de todos los elementos implicados en la fermentación dependerá el éxito del proceso empleado.

A continuación se detallan los aspectos arriba mencionados:

- Tipo de microorganismo.

Para la producción de ácido láctico se emplean microorganismos pertenecientes a diferentes géneros y especies de las bacterias lácticas: *L. delbrueckii*, *L. pentosus*, *L. casei*, *L. leichmannii*, *L. bulgaricus* y *S. lactis*. Todos estos son organismos homofermentativos ya que un heterofermentativo no convendría a nivel industrial por su bajo rendimiento de ácido láctico. (13)

En la tabla No. 6 se muestra el microorganismo que debe emplearse de acuerdo al sustrato en relación a la eficiencia de utilización de éste último.

Tabla No. 6. Microorganismo y sustrato adecuado.

TIPO DE SUSTRATO	MICROORGANISMO EMPLEADO
Leche o suero	L. bulgaricus L. casei S. lactis
Dextrosa o maltosa	L. delbrueckii L. pentosus L. leichmannii L. bulgaricus
Féculas hidrolizadas	L. delbrueckii L. bulgaricus S. lactis

Fuente: (7, 13).

- Carbohidratos más utilizados.

Los carbohidratos más comunmente empleados son: lactosa, sacarosa, glucosa; las féculas de maíz y papas los que deben someterse previamente a un tratamiento enzimático o ácido para hidrolizarlas a maltosa y glucosa. Según Smith y Claborn (67), los sustratos más baratos para la fermentación láctica son las melazas y el suero. Otras fuentes son: leñas sulfíticas residuales y azúcar de maíz.

Para la elección del carbohidrato ideal en la fermentación debe considerarse su disponibilidad, fermentabilidad y costo. En base a estos tres factores se decide la utilización del más adecuado.

- Temperatura de fermentación.

Se determina experimentalmente y va en relación al tipo de microorganismo empleado, aunque se considera generalmente alta. A continuación se presenta una tabla que muestra las temperaturas óptimas de acuerdo al tipo de microorganismo.

Tabla No.7. Tipo de microorganismo e intervalo adecuado de temperatura.

MICROORGANISMO	TEMPERATURA (°C)
<i>L. delbrueckii</i>	45 o más
<i>L. bulgaricus</i>	45-50
<i>L. reuterus</i>	30
<i>L. casei</i>	30
<i>S. lactis</i>	30

Fuente: (65).

- Concentración de azúcar.

El microorganismo para su crecimiento requiere de una fuente de energía y fuentes de materia. En la mayoría de las fermentaciones industriales la fuente de energía y materia son la misma (azúcar), pero es necesario que la fuente de materia contenga todos los elementos constitutivos de la masa celular en las proporciones requeridas por la composición interna del organismo. (64)

El crecimiento de un cultivo depende de la concentración del sustrato que se utilice. La ecuación de Monod (Ecuación No.1) describe la relación entre la velocidad específica de crecimiento y la concentración del nutriente

limitante;

$$\mu = \frac{\mu_{\max} S}{K_s + S} \dots\dots\dots \text{(Ecuación No. 1)}$$

Donde μ_{\max} = Velocidad máxima de crecimiento

K_s = Constante de saturación

S = Concentración del sustrato limitante

En la grafica de la fig. No. 13 se representa la relación que guarda la velocidad de crecimiento con el sustrato.

Cuando S es menor o igual a K_s , existe una relación lineal entre la velocidad de crecimiento y la concentración de sustrato (a). Para el caso de b, la ecuación de Monod se aplica; en c, la concentración de sustrato es muy alta por lo que cabría esperar una velocidad de crecimiento máxima pero es cuando ocurre inhibición por producto final o por el sustrato, por lo tanto la ecuación de Monod tiene desviaciones en este caso. (68)

- Oxígeno.

Las bacterias productoras de ácido láctico son anaerobias facultativas por lo que no es necesaria la presencia de oxígeno. (65)

- pH.

El pH óptimo para la producción de ácido láctico se considera aquel que fluctue dentro de la zona ácida, pero

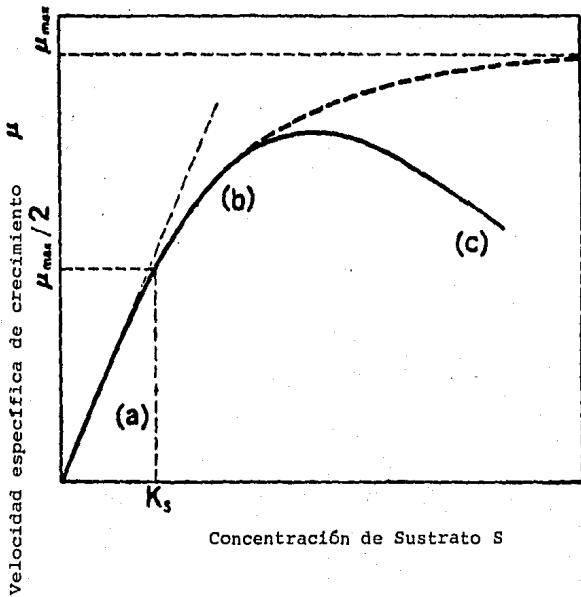


Fig. No 13. Efecto de la concentración de sustrato en la velocidad de crecimiento microbiano.

cercano a la neutralidad, entre 6 y 7 . Para lograr que el pH tenga un valor constante debe agregarse al medio continuamente amoniaco, carbonato de sodio, potasio o amonio. La regulaci3n del pH mejora el rendimiento (69).

Por otro lado, Leonard (70) hall3 que el pH 3ptimo para la producci3n de 3cido l3ctico a partir de lejias tratadas es de 5.8 .

- Factores de crecimiento.

De acuerdo con Orlakensen (71) algunas bacterias l3cticas requieren riboflavina para su crecimiento, lo cual fue confirmado por Wood posteriormente (72).

Otras sustancias necesarias son el 3cido pantot3nico (73) y el 3cido nicot3nico, que estimulan el crecimiento y producci3n de 3cido l3ctico en algunas bacterias.

- Nutrimientos complementarios.

En la fermentaci3n de melazas pueden emplearse malta germinada, aguas de remojo de maiz y residuos de grano ya que mejoran los rendimientos y el tiempo de fermentaci3n se reduce (73) .

- Tiempo de fermentaci3n.

El tiempo de fermentaci3n puede variar entre 1 a 6 d3as, aunque en promedio varia de 2 a 4 d3as .

- Rendimientos.

Normalmente los rendimientos varían del 85-90% en base a la azúcar fermentada, aunque se han reportado rendimientos muy cercanos al 100% (74) .

- Grados comerciales de ácido láctico.

Por los métodos fermentativos pueden obtenerse cuatro grados de ácido láctico de acuerdo a su uso: ácido láctico técnico, ácido láctico comestible, ácido láctico para plásticos y ácido láctico grado U.S.P. (United States Pharmacopoeia). (2) Lo cual dependerá de las técnicas de purificación, que se apliquen después de la recuperación del producto.

B.-MÉTODOS DE PRODUCCION DE ACIDO LACTICO A PARTIR DE LACTOBACILLUS DELBRUECKII.

Los métodos que se detallan a continuación utilizan los medios más propicios para el desarrollo y producción con *L. delbrueckii*.

a) PRODUCCION DE ACIDO LACTICO A PARTIR DE MELAZAS Y RESIDUOS DE CANA DE AZUCAR.

Por el método de Muller (75) se puede obtener ácido láctico al 85%, el cual se puede diluir para dar lugar a ácido láctico al 22 y 24% .

De acuerdo a este método es posible partir de melazas o cualquier otro residuo de la caña de azúcar, incluyendo aquellas melazas que se obtienen de la caña banda negra, las cuales usualmente presentan problemas en cuanto a la calidad del producto final, ya que puede presentarse una coloración oscura debido a la naturaleza de las materias primas empleadas.

De acuerdo al autor, se obtiene un producto final, en este caso ácido láctico grado U.S.P. con una pureza apropiada.

El proceso que a continuación se detalla emplea como sustrato melazas. Para controlar la acidez, se usa carbonato de calcio, o algún otro álcali semejante. Para la

purificación del lactato obtenido se utilizan diferentes solventes.

La cepa de *L. delbrueckii* se mantiene en una solución al 10% de malta macerada, de donde se transfiere cada tres o cuatro días a soluciones que contienen este medio y con pH controlado. La última resiembra se transfiere a un medio de cultivo, en el cual la fuente de carbohidratos son las melazas con una concentración del 5% de azúcar, la mitad de la cantidad requerida de carbonato de calcio y un exceso de nutrimentos. Se mantiene 24h en estas condiciones. El inóculo que se utiliza es del 3%. El proceso se lleva a cabo en un fermentador, equipado con un agitador mecánico y un tubo para aereación moderada. Se añade constantemente carbonato de calcio durante el proceso. La temperatura óptima de incubación es de 50 a 52^oC, el tiempo de fermentación varía entre 4 y 5 días. El producto que se obtiene es lactato de calcio, el que posteriormente se somete a procesos de purificación para dar lugar al producto con la calidad requerida.

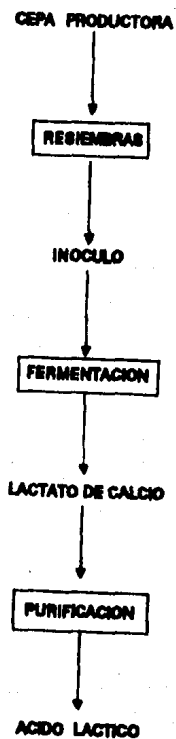


Fig. No. 14. Diagrama del proceso de producción de ácido láctico a partir de melazas y residuos de caña de azúcar.

b) ACIDO LACTICO A PARTIR DE ALMIDON.

El ácido láctico puede obtenerse a partir de almidón de diferentes cereales, o aquel derivado de procesos industriales tales como la producción de almidón o fécula de papa y almidón de arroz en los que normalmente son los residuos almidonaseos. Con técnicas adecuadas este carbohidrato puede convertirse en ácido láctico dando lugar a una utilización práctica de los desechos industriales, además de que proporciona una fuente muy económica de materia prima para la producción de ácido láctico.

- METODO DE PRODUCCION DE ACIDO LACTICO A PARTIR DE ALMIDON DE CEREALES

Este método fue patentado por Aries y Needle en 1952. (76) Como materias primas se emplean: granos de maíz, hidróxido de calcio y las enzimas alfa-amilasa con acción sacarificante y alfa-amilasa con acción licuante. (alfa-amilasa con acción sacarificante produce más azúcares reductores que alfa-amilasa con acción licuante).

El proceso es el siguiente: se combinan los granos de maíz con agua, hidróxido de calcio y alfa-amilasa con acción licuante. La mezcla se calienta a 70°C durante una hora treinta minutos. Después se somete a un calentamiento rápido, hasta llegar al punto de ebullición y se enfría a una temperatura de 70°C . Se agrega de nuevo alfa-amilasa con acción licuante y la temperatura se mantiene a 70°C por

espacio de una hora treinta minutos. La mezcla anterior se vuelve a calentar rápidamente hasta alcanzar los 85°C, se enfría posteriormente hasta llegar a 50°C, se añade hidróxido de calcio, alfa-amilasa con acción sacarificante y el cultivo de *L. delbrueckii*.

El proceso fermentativo se lleva cabo hasta que los azúcares se hayan convertido en ácido láctico. Durante la fermentación la mezcla se agita constantemente a una velocidad de 20 rpm. Al final de la fermentación la mezcla se filtra, el precipitado se seca y se utiliza como alimento para animales y el filtrado constituye el ácido láctico.

El objeto de añadir hidróxido de calcio al principio del proceso, es que los iones calcio tienen un efecto activador sobre la alfa-amilasa. El tiempo requerido para la fermentación es de 48 horas. Para reducir este tiempo pueden agregarse mayores cantidades de enzima, así como factores nutricionales, entre los que pueden citarse: germinados de malta y fosfatos.

En cuanto a las enzimas empleadas se prefiere usarlas en forma cruda y no refinada ya que tienen mayor acción licuante y sacarificante, además de que actúan simbióticamente con *L. delbrueckii*, al acelerar la transformación de azúcares a ácido láctico. El ácido láctico obtenido, se refina para dar un producto de color más claro

y se concentra para reunir las características que se requieren para los grados U.S.P y para plásticos.

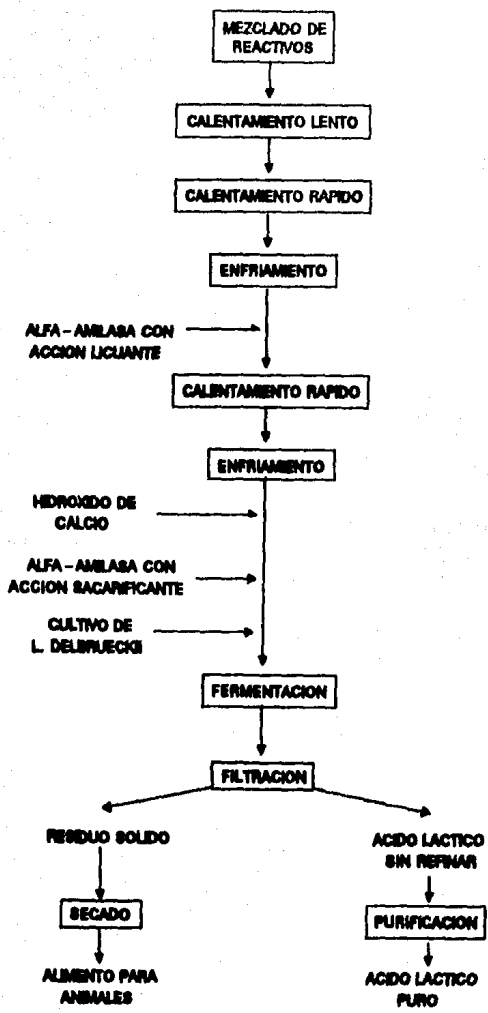


Fig. No 15. Diagrama del proceso de producción de ácido láctico a partir de almidón de cereales

-METODO PARA OBIENER ACIDO LACTICO A PARTIR DE ALMIDON
RESIDUAL DE PROCESOS INDUSTRIALES: OBTENCION DE ALMIDON DEL
GRANO DE ARROZ Y DE PAPA

Este proceso esta basado en la hidrólisis enzimatica del almidón. Aunque el proceso detallado anteriormente, también utiliza enzimas, ambos difieren en aspectos técnicos.

El proceso es como sigue (77): el extracto de almidón, ya sea obtenido a partir de granos de arroz o de papa, se hace pasar a un recipiente provisto de un agitador, serpentín de vapor y una válvula de succión. La concentración de almidón se ajusta al 15% mediante la adición de agua, la cual se hace pasar a través de una válvula, de acuerdo a la velocidad necesaria para el ajuste de concentración. Posteriormente se lleva a cabo la prehidrólisis del almidón que se lleva a cabo mediante la adición de un 0.5% en ácido sulfúrico, en relación al almidón y se inicia el calentamiento y agitación de la mezcla, hasta que la gelatinización del almidón se complete, proceso que dura de 2 a 3 horas.

Posteriormente el pH de la mezcla se ajusta a 5 con hidróxido de sodio, por lo que precipita el sulfato de calcio. El almidón es transvasado a otro recipiente, en donde la temperatura se ajusta a 30°C y se agregan las amilasas. La sacarificación se completa en algunas horas.

Los azúcares resultantes de la fermentación, se pasan a través de un filtro prensa y el filtrado pasa directamente a un recipiente con serpentín de vapor. La solución pasa a los fermentadores, el pH se ajusta a 4.8 y la temperatura se mantiene entre 44 y 46°C. Posteriormente se añaden a la solución cebada o malta germinada como nutrimentos, en una proporción del 2 al 3% y por último se añade el inóculo de *L. delbrueckii* el cual debe constituir un 10% del volumen total del medio de cultivo.

Durante la fermentación, la concentración de ácido láctico debe mantenerse al 1%, mediante la adición de hidróxido de calcio, el cual reacciona con el ión lactato y forma la sal de calcio del ácido láctico. El objeto de conservar la concentración del ácido láctico al 1% y en consecuencia formar una sal es debido a que la bacteria puede inhibirse con exceso de ácido o producto.

Para que la fermentación sea completa se requiere de 48-72 horas, lo cual depende de las condiciones en que se lleve a cabo. Se recomienda detener la fermentación antes de que todos los azúcares sean consumidos totalmente, ya que a una concentración de 0.5% de azúcar la fermentación se torna más lenta, decreciendo la productividad.

Al terminar el proceso se deja reposar la solución, para sedimentar el lactato de calcio. Para obtener ácido láctico se añade ácido sulfúrico al lactato de calcio, para

precipitar el sulfato de calcio y liberar el ácido láctico.

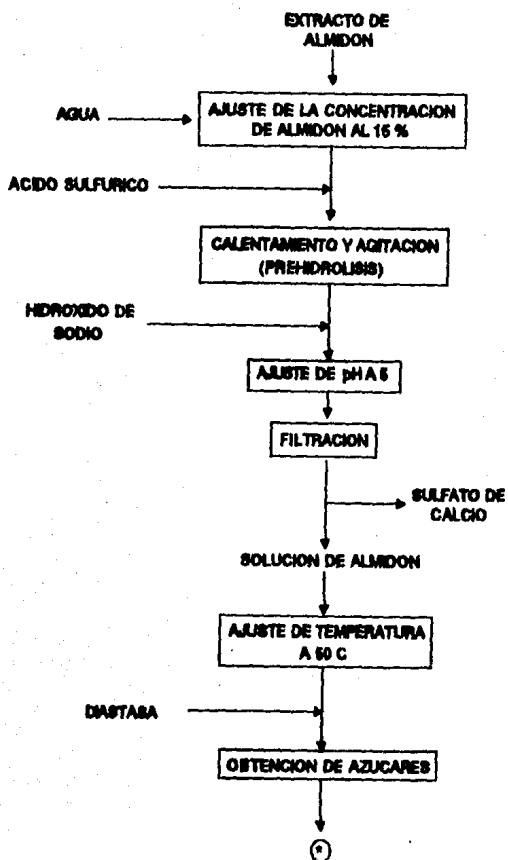
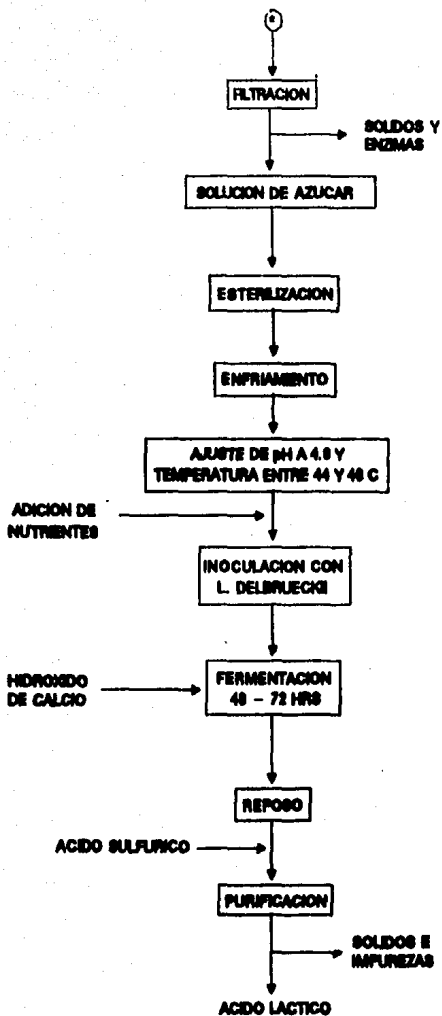


Fig. No. 16. Diagrama del proceso de producción de ácido láctico a partir de almidón residual de procesos industriales: obtención de almidón del grano de arroz y de papa.



Continuación de la fig. No. 16.

c) PRODUCCION DE ACIDO LACTICO A PARTIR DE AZUCAR DE MAIZ

La producción de ácido láctico a partir de azúcar de maíz data de 1928, reportada por la Compañía Maize Products de Estados Unidos de América (17), en la cual obtenían dextrosa como residuo o subproducto de la molienda húmeda del grano de maíz. Con el fin de utilizar la dextrosa surgió la idea de obtener ácido láctico a partir de la misma.

El proceso ilustrado en la fig. No. 17 (17), es el siguiente, la cepa que se utiliza es *L. delbrueckii* la cual produce una mezcla racémica de D-L ácido láctico. El cultivo se mantiene por constantes resiembras en tubos de ensayo, posteriormente se pasa a un matraz de 500 ml, con medio de cultivo que contiene : 15% de azúcar de maíz, 0.375 % de germinados de malta, 0.25% de fosfato de amonio, como nutrientes y 10% de carbonato de calcio como buffer, para mantener el pH entre 5.8 y 6.0. De aquí se siembra en un matraz de capacidad de 6 litros, con 3 litros de medio de cultivo. Se incuba por 24 horas. Después el cultivo se pasa a tanques de acero inoxidable con chaqueta provistos de agitadores verticales. Los tanques se cargan previamente con 375 galones de medio de cultivo. Se incuba por 24 horas, después de las cuales el inóculo se pasa al fermentador.

La temperatura óptima de fermentación es de 49°C. Durante el transcurso de la fermentación se debe vigilar el

pH y la concentración de azúcar. Cuando la concentración de azúcar es de 0.1% de la concentración inicial, se considera que la fermentación llegó a su fin. Se calienta el medio a 82°C para inactivar al microorganismo. El tiempo de fermentación puede variar de 4 a 6 días.

En la fig. No. 18, se presenta una grafica que relaciona la producción de lactato de calcio y la disminución del azúcar con respecto al tiempo.

En cuanto al pH debe controlarse durante el curso de la fermentación, ya que la influencia que ejerce es muy significativa debido a que al descender el pH, produce inhibición en la bacteria. (69, 78). El pH se mantiene entre 5.8 y 6.0 gracias a la adición de carbonato de calcio, el cual reacciona con el ácido láctico para formar lactato de calcio.

Al término de la fermentación el contenido del fermentador se bombea a un tanque de decantación en donde se añade cal hidratada para elevar el pH y la temperatura se mantiene a 82°C, con el objeto de precipitar las proteínas presentes. Posteriormente se agita la mezcla y se deja sedimentar algunas horas. El líquido claro se decanta y se bombea al primer tanque de blanqueo. El lodo remanente, se pasa al tanque de sedimentos o lodos por gravedad.

Los lodos se filtran mediante un proceso de filtración a vapor, de donde el filtrado pasa al primer tanque de

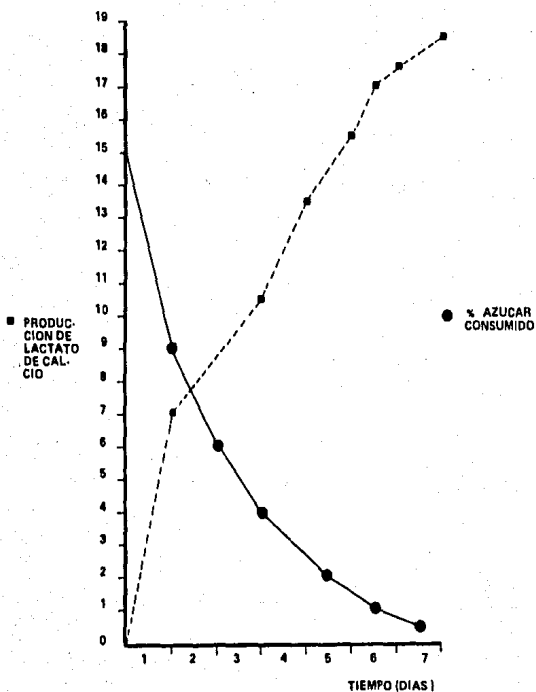


Fig. No. 18. Producción de lactato de calcio y disminución de azúcar con respecto al tiempo.

blanqueo y el precipitado, se procesa como subproducto. (alimento para ganado).

A la solución del primer tanque de blanqueo se añade carbón activado y se transfiere al filtro-prensa. El filtrado pasa a un tanque de evaporación, en donde el lactato de calcio se concentra, hasta llegar a un 32%. El lactato concentrado se bombea a otro tanque, en el cual se añade ácido sulfúrico, para formar sulfato de calcio, como precipitado y ácido láctico como filtrado. El ácido láctico pasa a un segundo tanque de blanqueo al cual se añade carbón activado; la mezcla se pasa por un filtro-prensa y el filtrado (ácido láctico), se transfiere a los tanques de evaporación en donde se concentra a un 52%.

El ácido concentrado, se pasa al tanque de blanqueo o de tratamiento al cual se añade sulfuro de sodio para precipitar metales pesados y carbón activado para blanquear la solución; se filtra, el filtrado pasa al último tanque de blanqueo, al cual se agrega carbón y la concentración se ajusta al 50%. Se realiza la última filtración y el ácido láctico pasa a los tanques de almacenamiento.

Para obtener ácido láctico al 80% grado U.S.P, el filtrado que resulta del tercer tratamiento con carbón y con sulfuro de sodio pasa a los tanques de evaporación y la solución se vuelve a tratar con carbón y sulfuro de sodio. Se filtra y pasa a los tanques de almacenamiento. Por este

proceso también se puede obtener ácido láctico grado técnico.

d) PRODUCCION DE ACIDO LACTICO POR FERMENTACION CONTINUA

El proceso de fermentación continua consiste en añadir intermitentemente medio de cultivo al fermentador continuamente una porción del medio para recuperar células o productos de fermentación. Se puede realizar en una o varias etapas. Así mismo, puede reciclarse tanto el sustrato no utilizado como los microorganismos. La fermentación continua por etapas suele aplicarse a procesos en los que una etapa corresponde al crecimiento de la célula (producción de biomasa) y en otra ocurre la producción de metabolitos. Los procesos continuos presentan como ventaja una gran productividad y eficiencia aunque sus desventajas son un gran riesgo de contaminación, mutación del microorganismo productor y la presencia de sustrato residual no utilizado.

La recuperación de productos es compleja, debido a que las condiciones óptimas para el crecimiento del microorganismo, suelen no ser las mismas que para la producción del metabolito, aunque esto se soluciona en una fermentación de dos etapas.

La producción de ácido láctico por métodos continuos se ha propuesto desde 1931 (79) con Whitier y Rogers. Cabe aclarar que ellos no utilizaron *L. delbrueckii*, como

organismo productor sino a *L. bulgaricus* con *L. casei*. El sustrato utilizado fue la lactosa de suero de leche y el proceso que emplearon fue a escala semiindustrial. A continuación se describe el proceso, el fermentador con suero de leche a 43°C, se inocula con el cultivo láctico, se mantiene con agitación y temperatura constante de 43°C durante la fermentación. Cuando el pH desciende a 5.0 (después de doce horas), se añade hidróxido de calcio para mantenerlo entre 5.0 y 5.8. A las 24 horas de fermentación y posteriormente cada doce horas, se determina el contenido de lactosa en el suero; cuando la cantidad sea menor del 1% (entre las 48 y 72 horas de la inoculación), se añade suero tratado con hidróxido de calcio. La velocidad de adición debe ser tal que el volumen añadido en 24 horas sea equivalente al del tanque de fermentación.

El suero fermentado se hierva, para coagular las proteínas y separarlas por filtración. Para obtener ácido láctico se agrega ácido sulfúrico para que precipite sulfato de calcio, se retira este último y se concentra el ácido.

Años más tarde, Childs y Welsby, realizaron estudios sobre la posibilidad de producir ácido láctico por métodos continuos, al emplear como cepa *L. delbrueckii*. (80) Su investigación fue a nivel laboratorio y los resultados que obtuvieron fueron que el tiempo de residencia de la bacteria en los fermentadores se reducía a un 60% en una fermentación

de dos etapas, lo cual proporciona una mayor eficiencia, además las condiciones de temperatura y pH que se requieren para la fermentación pueden controlarse automáticamente y reducirse los errores operativos.

e) OBTENCIÓN CON MICROORGANISMOS INMOVILIZADOS

La inmovilización de células microbianas consiste en confinar a un microorganismo en una región o espacio con el objeto de retener sus actividades catabólicas y usarlo repetidas veces, tanto en métodos continuos o de lote, en la producción de sustancias químicas. (81)

La inmovilización de microorganismos, es una técnica reciente que surgió junto con la inmovilización enzimática.

La aplicación de este método consiste en utilizar todo el sistema enzimático del microorganismo en cuestión.

Para la inmovilización de células se debe cumplir con tres condiciones:

- 1) Que el microorganismo no contenga enzimas que catalicen reacciones secundarias.

- 2) Si contiene enzimas que catalicen reacciones no deseadas, estas deben ser factibles de inactivarse por métodos físicos como aplicación de calor y cambios de pH.

- 3) Los sustratos y productos deben pasar fácilmente a través de la membrana de la célula microbiana.

Para ,inmovilizar células microbianas existen tres métodos:

1) METODO DE ADSORCION.

Consiste en unir directamente la célula con un material no soluble en agua, los enlaces que se producen son físicos. Pueden usarse resinas de intercambio iónico, aniónico y celulosa.

2) FORMACION DE ENLACES CRUZADOS CON REACTIVOS BIFUNCIONALES.

El método consiste en la inmovilización de la célula con reactivos difuncionales o multifuncionales como el glutaraldehído.

3) METODO DE ATRAPAMIENTO.

Consiste en atrapar al microorganismo en matrices de polímeros como el gel de poliacrilamida.

La literatura ha reportado que la inmovilización de células para la producción de ácido láctico se ha practicado recientemente.

Divies en 1977 (82), utilizó el método de atrapamiento para inmovilizar las bacterias productoras de ácido láctico para la producción de yogurt.

Compere y Griffith en 1981 (83), utilizaron el método de formación de enlaces cruzados para inmovilizar a las bacterias productoras de ácido láctico, con el fin de incrementar el contenido del mismo, en el suero derivado de

la producción de queso cottage. El método que emplearon fue el siguiente: cubrir una matriz o soporte con un material dispersable en agua como la gelatina, después realizar la formación del enlace cruzado, mediante la reacción de la gelatina con el glutaraldehído, que es un agente difuncional. Posteriormente se hace contactar, el microorganismo con dicha cubierta, en la cual se incubaba y se le permite realizar sus funciones metabólicas normales y continúa su crecimiento y reproducción. Para la producción de ácido láctico, los experimentos se realizaron en un biorreactor en forma de columna empacada con un material de soporte que se preparó de acuerdo al método explicado. La columna fue sembrada con el microorganismo productor de ácido láctico, que provenía de un cultivo comercial kefir. Posteriormente este biorreactor, se hizo trabajar con suero derivado de la producción de queso cottage. La cantidad de suero utilizada diariamente, fue de 4 a 8 litros. El producto obtenido del biorreactor se hizo pasar a través de una columna de intercambio iónico. una vez retirado el exceso de suero, se hizo pasar a través de la columna una solución de óxido de calcio y el producto recuperado fue lactato de calcio.

La cantidad inicial de ácido láctico en el suero fue de 1.4%, después de pasarla por la columna se incrementó a 2.1%.

En 1982 Stenroos y Linko (82), utilizaron el método de atrapamiento para inmovilizar a *L. delbrueckii*; como vehículo de atrapamiento se empleó alginato de calcio. Los experimentos se realizaron tanto en sistemas continuos como en lotes. El rendimiento máximo de ácido láctico fue del 97%, del cual el 90% era ácido L-láctico. Este porcentaje se obtuvo en la producción en lote, por método continuo se obtuvo un rendimiento máximo del 83% de ácido L-láctico. El sustrato que se empleó fue glucosa, al que se adicionó extracto de levadura como nutrimento y carbonato de calcio como buffer, la vida media del biocatalizador es de 100 días en un proceso continuo y sólo el 10% de la actividad se pierde durante el almacenamiento en el biorreactor a 7°C durante cinco meses.

f) ESTUDIOS RECIENTES SOBRE EL PROCESO DE FERMENTACION PARA LA PRODUCCION DE ACIDO LACTICO

Se han realizado estudios recientes sobre posibles factores que pueden afectar el proceso de fermentación para la producción de ácido láctico. A continuación se citan algunas investigaciones.

Tiwari y colaboradores (84), elaboraron un estudio comparativo sobre la influencia de EDTA y sus complejos con metales pesados: Fe, Co y Ce. Se encontró que el EDTA y el complejo EDTA-Ce, incrementaron la producción de ácido láctico en una proporción del 1 al 2% con respecto al

experimento testigo el cual no contenía dichos compuestos; la cantidad necesaria de ambos para lograr dicho efecto es de 4 ppm de EDTA y 5ppm de Ce/EDTA.

En cuanto a los complejos Fe-EDTA y Co-EDTA, incrementaron la producción de ácido láctico del 4 al 5% con respecto al experimento testigo, cuando emplearon 5 ppm de cada uno.

En otras investigaciones el equipo pionero (85), realizó un experimento para determinar los posibles efectos de los colorantes nitrogenados; rodamina, azul de anilina, verde de anilina, cristal violeta y fuscina. Los resultados obtenidos muestran un efecto inhibitorio de los colorantes excepto la rodamina, la cual presentó un pequeño efecto estimulante en la producción de ácido láctico.

En 1977 este equipo (86), estudió la influencia de ciertas vitaminas sobre el proceso de fermentación con *L. delbrueckii*. Las vitaminas seleccionadas fueron riboflavina, ácido nicotínico, ácido fólico y tiamina. Se encontró que la tiamina tiene un efecto retardante sobre el proceso fermentativo. El ácido nicotínico y el ácido fólico, ejercen un incremento muy pequeño sobre la producción de ácido láctico y la riboflavina, se determinó como un factor de crecimiento esencial para la producción de ácido láctico, además de que es una sustancia que activa la bacteria.

Tiwari y Singh (87), en 1980, estudiaron la posible influencia de distintos aminoácidos: ácido glutámico, glicina, ácido aspártico y valina, en la producción de ácido láctico. Encontraron que la glicina, el ácido glutámico y el ácido aspártico incrementan la producción de ácido láctico a cualquier concentración que oscile entre 1×10^{-3} a $1 \times 10^{-5}M$; la óptima para el ácido glutámico es de $3 \times 10^{-3}M$, para la glicina de $4 \times 10^{-3}M$ y para el ácido aspártico de $4 \times 10^{-3}M$.

En cuanto a la valina, se observó que retarda el proceso de fermentación para la producción de ácido láctico.

C.- PRODUCCION DE ACIDO LACTICO A PARTIR DE *Lactobacillus bulgaricus*.

a) UTILIZACION DEL SUERO LACTEO COMO SUSTRATO

La producción de ácido láctico a partir del suero de leche surge en los años treinta como una alternativa para el aprovechamiento de los excedentes de la producción de leche. (88, 89)

La leche que se destina para la producción de ácido láctico debe ser tratada previamente. (89) La primera operación es el descremado, la segunda la separación de la caseína por precipitación, de esta manera solo queda el suero lácteo, que se compone de las siguientes sustancias: agua, lactosa, lactoalbumina y vitamina B2 (Riboflavina). Este suero está listo para servir como sustrato en la producción de ácido láctico. La cepa que se emplea es *L. bulgaricus* y un micodermo, levadura que comúnmente se encuentra asociada a la bacteria y que estimula la producción de ácido láctico. (88, 89, 90) El medio de cultivo inicial, es leche descremada y pasteurizada, en la cual el microorganismo permanece durante 24 horas a una temperatura de 43°C; el cultivo se transfiere a un tanque que contiene 3 galones de leche descremada y pasteurizada, en el que se deja a la misma temperatura y tiempo empleado anteriormente. De este tanque se pasa el cultivo a otro que contiene 700 galones de suero lácteo, conservándose por 24

horas y 43°C. Por último se traspasa a un tanque de 7,000 galones de capacidad, que contiene la cantidad de suero lácteo suficiente para completar 5,000 galones de medio.

La temperatura de fermentación se mantiene en 43°C por medio de intercambiadores de calor. El tiempo de fermentación es de 48 horas aproximadamente.

Durante las últimas 8 horas aproximadamente, se añade hidróxido de calcio continuamente con el objeto de que la concentración de ácido láctico no rebase el 1.3% ya que empezaría a declinar la producción. Se calcula que el requerimiento de hidróxido de calcio es de 900-1000 libras por tanque. Al finalizar la fermentación se añade un pequeño exceso de hidróxido de calcio para que todo el ácido producido, sea convertido completamente a lactato de calcio. La mezcla se calienta a 88°C con el objeto de coagular lactoalbumina y se deja reposar para que precipite. El líquido sobrenadante se transfiere a un tanque de almacenamiento. El precipitado se hace pasar a través de un filtro prensa; los sólidos se desechan (o se destinan a otros usos). Al filtrado total se agrega carbón activado, para decolorar la solución y se elimina por filtración. La solución resultante pasa a un evaporador de doble efecto en el cual se concentra a 10 °C B_é a un vacío de 19 in en el primer efecto y un vacío de 25 in en el segundo efecto.

Cuando la solución se destina a ser lactato de calcio

como producto final, se evapora a 15 °Be en un evaporador de simple efecto. Pero si se desea obtener ácido láctico como producto final, la evaporación se lleva hasta alcanzar 20 °Be, lo cual permite obtener ácido láctico comercial al 22% y ácido láctico comestible al 44%.

Para obtener lactato de calcio, la solución de 15 °Be, se pasa a los tanques de cristalización, en los que se forman cristales de lactato de calcio por enfriamiento de la solución. Los cristales se lavan y se secan para obtener de esta manera un producto con grado técnico. Si se desean cristales más puros propios para usos farmacéuticos (U.S.P), se recrystaliza el producto nuevamente.

Para obtener ácido láctico grado alimentario al 50% se debe partir de lactato de calcio, grado farmacéutico.

El procedimiento para obtener ácido láctico comercial al 22% y ácido láctico comestible al 44 y 50% consiste en la adición de ácido sulfúrico de 66 °Be a la solución de lactato de calcio, para formar un precipitado de sulfato de calcio, que se separa por filtración. El ácido obtenido se decolora al añadir carbón activado, el que posteriormente se elimina por filtración, se diluye y se almacena en barriles cerrados herméticamente.

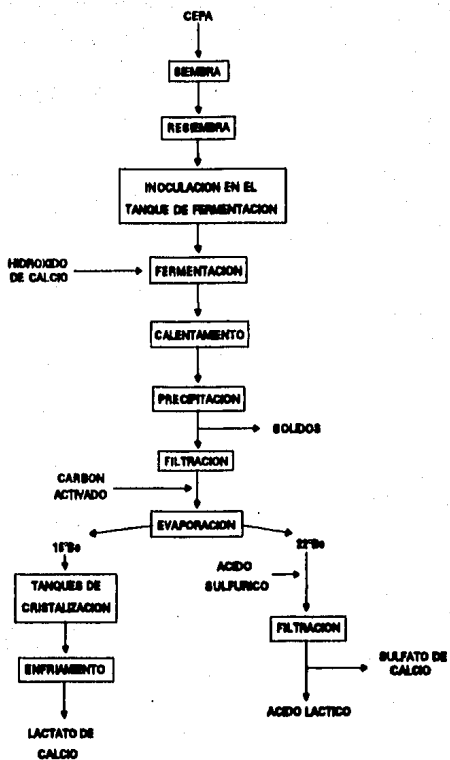


Fig. No. 19. Diagrama de producción de ácido láctico a partir de suero lácteo.

b) FACTORES QUE INCLUYEN EN LA PRODUCCION DE ACIDO LACTICO AL UTILIZAR SUERO LACTEO

Swaby en 1945 (90), estudió diversos factores que afectan la producción de ácido láctico, a partir de suero lácteo al utilizar *L. bulgaricus*, como organismo productor.

Los factores más relevantes son los siguientes:

1) La adición de extracto de levadura en una concentración de 0.3% estimula la producción de ácido láctico. La concentración óptima de extracto de levadura es de 0.4%.

2) La temperatura de incubación óptima fluctúa entre 38 y 52°C.

3) El pH óptimo oscila entre 5 y 5.8; a pH más bajo la producción de ácido láctico empieza a declinar.

4) Se recomienda aireación por la superficie del medio de cultivo; la supresión total de oxígeno puede inhibir a *L. bulgaricus*.

5) La cantidad de inóculo óptima es del 10% (v/v) con respecto al volumen total del medio de cultivo.

6) Tipo de suero. De acuerdo a los experimentos realizados por Swaby (87), se obtiene el mismo rendimiento de ácido láctico al usar, ya sea suero de leche entera o suero de leche descremada.

7) El proceso por lotes se prefiere debido a que no deja azúcar remanente, la cual puede interferir con la

cristalización del lactato de calcio, como ocurre con los métodos continuos. (90)

8) Inhibición debida al lactato. A medida que aumenta la concentración de ión lactato, llega un momento en que se inhibe la producción de ácido láctico por lo que debe retirarse, o convertirse en una sal (lactato de calcio).

9) Otro tipo de estimulantes como los minerales: calcio, zinc, hierro, sales de sulfato, sodio, cloruro de potasio y cobre, son un factor que acelera la producción de ácido láctico.

Los aminoácidos tales como alfa-alanina, cistina, y tirosina juntos dan un buen efecto ya que aceleran ligeramente la fermentación láctica.

Por ultimo algunas vitaminas como tiamina, riboflavina, ácido nicotínico, biotina, ácido ascórbico y vitaminas A y D estimulan la producción de ácido láctico. (90)

En estudios posteriores G. C. Cox y Mac Bean en 1977 (91) encontraron que al agregar agua de remojo de maíz y extracto de levadura al suero lácteo desproteínizado, la producción de ácido láctico se estimula notoriamente. Por otra parte el extracto de levadura sólo con una porción de suero se muestra más efectivo por su mayor contenido de nutrientes en comparación con el agua de remojo de maíz. Aunque cabe aclarar que la mezcla de ambos es más efectiva aún por su efecto sinérgico.

c) OTROS FACTORES DE INFLUENCIA

En estudios recientes realizados por Tiwari y Pandey en 1979 (92), estudiaron la influencia de ciertos agentes mutagénicos sobre la producción de ácido láctico, al utilizar *L. bulgaricus* AU. Las sustancias investigadas fueron la cafeína y el fluoruro de amonio. En el caso de la cafeína se encontró que esta tiene un efecto estimulante del 12% con respecto al experimento control (sin cafeína), sobre la producción de ácido láctico a concentraciones más bajas que oscilen entre 0.001 y 0.002%. A concentraciones más altas la producción empieza a declinar.

Por otro lado, el fluoruro de amonio, tiene efecto estimulante a una concentración de 0.003%. A concentraciones más bajas no se encontró cambio notable.

Un año más tarde los mismos investigadores estudiaron la influencia de diversos metales sobre la producción de ácido láctico con el mismo microorganismo. (93) Los metales que se investigaron fueron uranio, talio, zirconio y torio (no estudiados anteriormente, respecto a su influencia sobre la fermentación láctica). Los autores observaron que el uranio y el talio presentaron un efecto inhibitorio mientras que el torio y el zirconio, estimulan la producción de ácido láctico en un 6.7% para el primero y en un 2% el segundo con respecto al experimento control. Cabe aclarar que en los estudios mencionados, el medio o sustrato utilizado fueron

· melazas de caña de azúcar.

D.- OTRAS ESPECIES DEL GENERO LACTOBACILLUS Y DIFERENTES
SUBSTRATOS QUE PUEDEN UTILIZARSE PARA PRODUCIR ACIDO LACTICO

a) A PARTIR DE LEJIAS SULFITICAS RESIDUALES

Las lejías sulfíticas residuales, se obtienen como desecho del proceso de extracción de la pulpa de la madera, ya sea por el método del sulfito ácido o el sulfito neutro. La composición de este líquido de desecho puede variar de acuerdo al tipo de proceso o de la madera que se haya utilizado, pero en promedio puede decirse que en esta solución la concentración de azúcares reductores varía entre el 2 y el 3% por peso y se componen principalmente de hexosas y pentosas.

Este proceso fue estudiado a finales de la década de los cuarenta por Leonard, Peterson y Johnson (70) y fue patentado posteriormente por Fries. (94)

El método consiste en un tratamiento preliminar de los líquidos sulfíticos al pasar vapor por el líquido con el objeto de eliminar el dióxido de azufre; el pH se reduce a 4. Con el objeto de elevar el pH a 8.5 se agrega al líquido hidróxido de calcio y se calienta a 35°C. La mezcla se mantiene a pH de 8.5 durante 20 o 30 minutos para que el sulfito precipite y después se retira por filtración.

Para reducir el pH del filtrado, se emplea dióxido de carbono. Este líquido se encuentra listo para el proceso de

fermentación.

Como cepa productora se recomienda usar *L. BREVICUS* 124-2, ya que es más efectiva para la producción de ácido láctico en este medio de acuerdo a las investigaciones de Leonard y colaboradores . (70)

De acuerdo a Leonard (70), los nutrimentos que deben agregarse a los líquidos sulfíticos residuales, no deben esterilizarse en presencia de estos últimos sino antes de ser añadidos, debido a que compuestos derivados de la lignina precipitan con algunos nutrimentos y disminuye el rendimiento de ácido láctico.

El inoculante se prepara al hacer crecer a *L. BREVICUS*, durante ocho horas a 30°C en un caldo que contiene 8% de cebada germinada y 5% de melazas. La cebada constituye una buena fuente de nutrimentos.

El líquido sulfítico que se encuentra listo para la fermentación, se inocula con 10% del inoculante de 8 horas. El pH inicial es de 6.5 y desciende a 5.6 a las 2 o 3 horas; este nivel se mantiene por la adición gradual de carbonato de calcio. La fermentación dura de 40 a 48 horas a 30°C.

Para recuperar el ácido láctico del líquido fermentado, la malta se elimina por tamizado, y el filtrado se concentra a un 40% de sólidos. El pH del líquido concentrado se reduce a 2 por la adición de ácido sulfúrico. El sulfato de calcio

formado se separa por filtración o centrifugación.

El residuo concentrado se extrae con alcohol amílico a 90°C. La solución acuosa que se obtiene, esta compuesta por ácido láctico y ácido acético, este último se elimina por destilación. El producto final contiene 90% de ácido láctico, 6% de impurezas y 4% de agua.

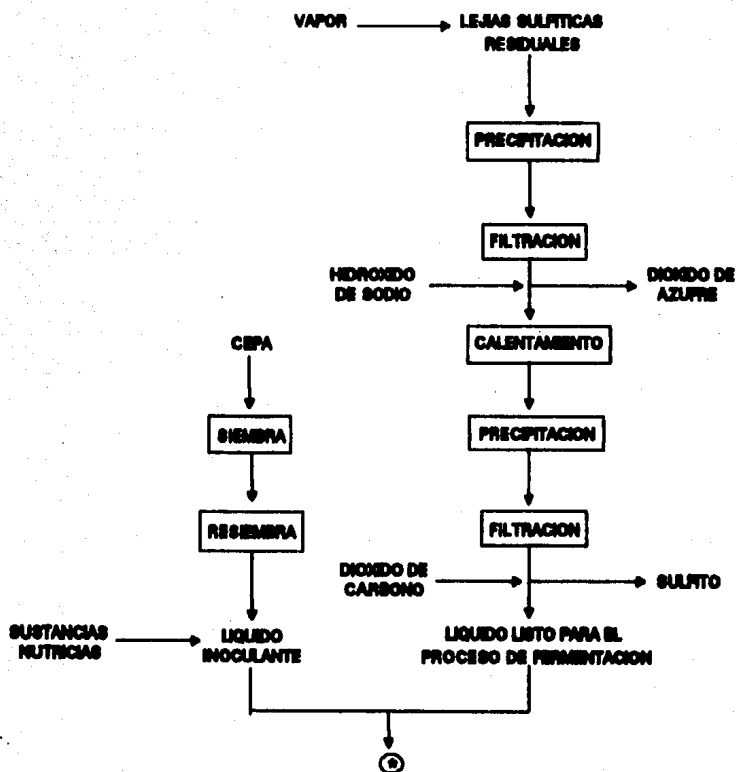
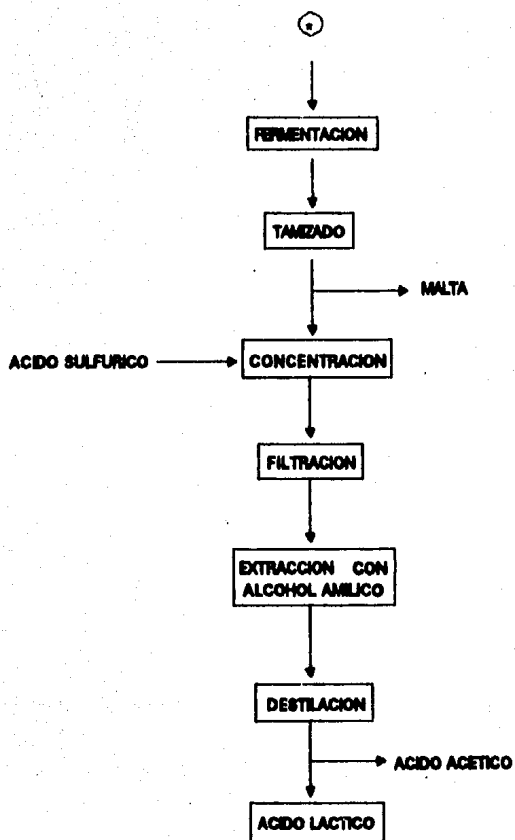


Fig. No. 20. Diagrama del proceso de producción de ácido láctico a partir de lejas sulfíticas residuales.



Continuación de la fig. No. 20

b) OTRAS ESPECIES DE *Lactobacillus*

Kitahara en 1966 (95) aisló un microorganismo productor de Ácido D(-)láctico, al que denominó *Sporolactobacillus*. Este microorganismo tiene mucha similitud con el género *Lactobacillus*, a excepción de que es catalasa (-) y formador de esporas; así mismo se relaciona con el género *Clostridium*, pero este último se caracteriza por la producción de sustancias tales como acetona, etanol, butanol, etc., por lo tanto su taxonomía no está muy bien definida aún, pero lo que representa como ventaja de acuerdo al autor, es que es capaz de producir Ácido D(-)láctico tolerando altas concentraciones de azúcar en el medio de cultivo, que oscilen entre 13 y 15%, además puede transformar casi la totalidad de los azúcares presentes a Ácido láctico.

Otro microorganismo productor de Ácido D(-)láctico es *L. leichmanii*, pero no se ha utilizado industrialmente porque es un microorganismo muy delicado y poco termorresistente a diferencia de las especies productoras de Ácido D-L y L-láctico, además de que presenta problemas de fácil contaminación.

Edmond y colaboradores en 1970 (96), propusieron un método para producir Ácido D(-)láctico con *L. leichmanii*, como cepa productora. Para evitar problemas de contaminación, se agregó al medio de cultivo un agente

antimicrobiano, que no atacara al Lactobacillo y además que no inhibiera la producción de ácido láctico. Los antimicrobianos que se pueden aplicar son: penicilina, neomicina, tetraciclina, etc.

Para realizar el método anterior se recomienda aclimatar al microorganismo, con el agente inhibidor a diferentes concentraciones, las que gradualmente deben irse incrementando hasta llegar a la requerida; después de esto, se procede a la producción de ácido láctico. Se utiliza como inoculante al microorganismo resistente, en un medio que contenga azúcar, sales minerales, nitrógeno y el antimicrobiano. El ácido láctico resultante se recupera por cristalización.

En 1982, Tipayang y Kozaki (97), probaron una técnica de inmovilización de células productoras de ácido láctico, la cepa que se empleó fue L. vaccinosfercus. El método de inmovilización consistió en la formación de microcápsulas con alginato de calcio, que contenían la célula productora. Los autores llegaron a resultados muy interesantes ya que probaron que la actividad bioquímica del microorganismo no se inhibió. Esto se atribuye a las nuevas condiciones del microorganismo atrapado en la matriz de alginato de calcio. Por otra parte, se observó el crecimiento del microorganismo libre, el que a los cuatro días de incubación disminuye su producción de ácido láctico y el número de células a

diferencia del microorganismo atrapado que llegó a los 30 días en condiciones óptimas, en el medio de reacción. Se considera que la inmovilización es una buena opción a futuro para la producción de ácido láctico por las ventajas que presenta.

c) MEZCLAS DE CULTIVOS

Se han realizado estudios sobre el efecto en el rendimiento de ácido láctico, con el empleo de distintas mezclas de cultivos, de diferentes especies del género *Lactobacillus*, al utilizar melazas como medio de cultivo. Como antecedentes de mezclar cultivos, se tienen los estudios realizados por Keenan en la década de los sesentas (98,99), en los que investigó tanto el comportamiento bioquímico, producción de sustancias químicas e influencia entre sí de la mezcla de cultivos en el género *Lactobacillus*.

Tiwari y colaboradores en 1977 (100) encontraron que al mezclar *L. bulgaricus* y *L. delbrueckii*, los rendimientos de ácido láctico llegaban al 74% en relación a los azúcares totales, a diferencia del 44% alcanzado por *L. bulgaricus* y el 62% con *L. delbrueckii* al experimentar con cepas aisladas. Los autores atribuyeron este incremento a que ambas cepas utilizaron diferentes carbohidratos y no interfirieron una con la otra.

Posteriormente en 1979 Tiwari (101), investigó sobre la combinación de *L. bulgaricus*, *L. delbrueckii* y *L. casei* y encontraron que el rendimiento que se obtiene es casi, igual, al que presenta la cepa *L. bulgaricus* sola. Así mismo se combinaron *L. bulgaricus* con *L. casei* y se encontró un ligero aumento en el rendimiento con respecto al cultivo de las cepas solas.

E.- PRODUCCION A PARTIR DE HONGOS

La producción de ácido láctico a partir de hongos data del siglo XIX, con Eijkman y continúa a principios de este siglo con otros investigadores que utilizaron como cepas, a especies del género Rhizopus. Estos experimentos mostraron que el rendimiento podía llegar al 40% en relación al azúcar empleado. Como sustrato usaron azúcar invertida, glucosa, almidón y carbonato cálcico . (102)

Ward en 1936 (102), estudió la actividad bioquímica de hongos del género Rhizopus y encontró que varias especies producían ácido L(+)-láctico con rendimientos hasta del 62%.

El inconveniente en la producción de ácido láctico por hongos es que además de ácido láctico se obtienen otros productos como ácido fumárico, acético, málico y succínico al igual que etanol.

Snell y colaboradores en 1960 (103), encontraron un método para la obtención de ácido láctico con especies del género Rhizopus, en el que obtuvieron rendimientos entre el 71 y 95% en relación al azúcar fermentado.

El proceso consiste en una fermentación sumergida; además se aplicó una innovación en cuanto a los métodos anteriores, en los cuales se presentaban los siguientes problemas, el lactato de calcio cristalizaba antes de que todos los azúcares presentes fermentaran, en consecuencia

quedaba sustrato remanente; para disolver el lactato, se debía aplicar mucho calor, lo que causaba desintegración celular del microorganismo; todos estos factores contribuyen para contaminar el producto final y se requieren métodos de purificación complicados. Así mismo en los procesos anteriores existe la desventaja de que se forman otros ácidos como málico, fumárico y succínico.

Snell propuso que para evitar estos problemas y alcanzar altos rendimientos, después de realizar la inoculación y durante el proceso fermentativo la temperatura debe mantenerse entre 30 y 37°C (de 1 a 6 horas). Cuando la concentración de lactato llegara al 5% o fuera mayor, la temperatura debe incrementarse entre 37 y 50°C, durante 2 a 30 horas lo que supera los problemas de contaminación ya planteados, incrementa los rendimientos y evita la formación de subproductos.

El ácido L-láctico se obtiene como una solución ligeramente coloreada, a la cual se aplica un tratamiento de carbón activado para quitarle el color.

F.- PRODUCCION A PARTIR DE OTROS MICROORGANISMOS

Se refiere a la producción de ácido láctico a partir de microorganismos no determinados en diferentes tipos de sustratos. Nolte en 1940 (104) propuso un método para producir ácido láctico a partir de jugos de frutas, especialmente del jugo de uva, con inóculo de los microorganismos presentes en dichos jugos. Las condiciones que empleó para la fermentación fueron, pH entre 4.0 y 6.5 controlado mediante la adición de óxido de calcio o hidróxido de calcio y la temperatura entre 50 y 52^oC. No reportó los rendimientos pero además se obtiene citrato de calcio en grandes cantidades, lo cual no es práctico para fines industriales.

Años más tarde Blaisten (105), reportó la producción de ácido láctico a partir de melazas con un microorganismo aerobio esporulado denominado cepa "E". Obtuvo rendimientos del 80% en relación a los azúcares reductores presentes.

G.- VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LOS PROCESOS BIOTECNOLÓGICOS

Para la producción de ácido láctico por medios biotecnológicos, existen gran cantidad de métodos, muchos de los cuales tienen aplicación industrial desde hace varias décadas.

Como ventajas de los métodos biotecnológicos pueden mencionarse las siguientes:

a) Materia prima.

Se pueden utilizar infinidad de carbohidratos, debido a lo cual existe gran disponibilidad, además de que pueden utilizarse desechos industriales como el suero de queso, almidones residuales, que resultan de la obtención de féculas; residuos de la producción de azúcar de maíz, desechos de la industrialización de la caña de azúcar, las leñas sulfíticas residuales del proceso de fabricación del papel, etc. Debe considerarse que las fuentes mencionadas son de bajo costo, evita el desperdiciar material aun aprovechable y que se tira normalmente a los lechos de los ríos o en los tiraderos de basura. De esta manera se logra una mayor utilización de la materia prima y se evita contaminación.

b) Rendimientos.

En general los rendimientos que se alcanzan con los procesos biotecnológicos, suelen ser altos, oscilan entre el 80% y el 90% del total de azúcares empleados.

c) Productos y subproductos.

Una gran ventaja de los métodos fermentativos es que prácticamente no se obtienen subproductos, sino únicamente ácido láctico, en lo que respecta a la obtención de productos no deseados. Este es un factor muy importante a considerar cuando un proceso se adapta a nivel industrial.

Como desventajas pueden mencionarse las siguientes:

a) Uso de cepas.

Por un lado puede apreciarse que el uso de cepas puras, va a garantizar la producción de ácido láctico. Pero mantener el cultivo puro requiere de muchos cuidados con el objeto, de que no sufra contaminaciones y mutaciones. Esto implica resiembras constantes y mantener la cepa en condiciones óptimas para la misma, lo cual implica costo y tiempo.

b) Adición de nutrimentos al medio de cultivo.

Las cepas productoras de ácido láctico son microorganismos exigentes en cuanto a necesidades nutricionales, por lo que al medio de cultivo hay que agregar material accesorio, el cual aumenta el contenido de sólidos y dificulta la recuperación del producto. También esto aporta costos adicionales.

c) Tiempo de fermentación.

Por lo general los procesos fermentativos son lentos, ya que requieren como mínimo dos días para producir el

producto deseado.

d) Equipo e instalaciones.

Para procesos fermentativos se requiere de equipo especializado.

e) Tecnología.

El problema del proceso de producción de ácido láctico, es la etapa de recuperación y purificación, la cual es difícil por la presencia de sustrato que no reacciona y sustancias orgánicas e inorgánicas que se emplean como nutrimento para el microorganismo.

Por otra parte, se han realizado muchos avances en el ramo de la biotecnología, que pueden aplicarse para la producción industrial de ácido láctico, en los que se pueda optimizar espacio y tiempo. El proceso de inmovilización de células, podría resultar ventajoso ya que permitiría la reutilización de las mismas repetidas veces.

CAPITULO V

PROCEDIMIENTOS PARA LA SEPARACION Y PURIFICACION DE ACIDO LACTICO

A.- INTRODUCCION

El ácido láctico obtenido por procesos químicos y de fermentación requiere de una purificación, ya que se encuentra junto con otro tipo de sustancias tanto orgánicas como inorgánicas, entre las que cabe mencionar: sulfatos azúcares no fermentados, sales inorgánicas, sustancias que imparten colores no deseados y algunos materiales nitrogenados.

La purificación de ácido láctico se torna difícil debido a la baja presión de vapor que presenta, la tendencia a la autoesterificación y la similitud en lo que respecta a propiedades físicas, especialmente la solubilidad con el agua. (26)

El ácido láctico se comercializa principalmente en cuatro calidades: Técnico (22, 44 y 50%), Alimentario (44 y 50%), para plásticos (más del 50%) y Farmacéutico (85%). (106)

De acuerdo al uso que se destina, se fijan las especificaciones, las cuales se basan principalmente en el

olor, sabor y color. Estas especificaciones estan citadas en al Farmacopea de los Estados Unidos de América (The United States Pharmacopoeia), la farmacopea Británica (British Pharmacopoeia), en el Código alimentario (Food Chemicals Codex) y en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, entre otras.

A continuación se enlistan las especificaciones de cada una.

FARMACOPEA DE LOS ESTADOS UNIDOS DE NOROAMERICA. (107)

"El ácido láctico es una mezcla de ácido láctico ($C_3H_6O_3$) y ácido poliláctico ($C_6H_{10}O_3$) y debe ser equivalente a un total de no menos del 85% y no más del 90% en peso de $C_3H_6O_3$. Se obtiene por fermentación de azúcares o por métodos de síntesis.

Almacenamiento y empaque: Debe conservarse en recipientes herméticos.

Identificación: Debe responder satisfactoriamente la prueba de lactatos. (La solución prueba o la muestra, se acidifica con ácido sulfúrico, se agrega permanganato de potasio S.R, se calienta la mezcla; el acetaldehído se identifica por el olor característico que desprende).

Residuo de ignición: No más de 3mg correspondiente a una muestra de 5 ml (0.05%).

Cloruros: A 10 ml de una solución que contiene ácido láctico (1 en 100) acidificada con ácido nítrico, se añaden algunas gotas de nitrato de plata S.R; no debe producirse opalescencia inmediatamente.

Ácidos nítrico, oxálico y fosfórico: A 10 ml de una solución (1 en 100) se añaden 2 gotas de hidróxido de calcio S.R, se hierve 25 minutos; no debe producirse turbidez.

Sulfatos: A 10 ml de solución (1 en 100) se añaden dos gotas de ácido clorhídrico y 1 ml de cloruro de bario S.R; no se produce turbidez.

Metales pesados: No más del 0.001%

Sustancias fáciles de carbonizar: Enjuagar un tubo de prueba con ácido sulfúrico S.R y dejarlo escurrir 10 min. Añadir 5 ml de ácido láctico y mantener el tubo a 15°C; no debe aparecer ninguna coloración oscura en la interfase de los ácidos al cabo de 15 minutos.

Valoración: A 25 ml de ácido láctico, cuidadosamente pesados en un matraz de 250 ml tarado, se añaden 50.0 ml de hidróxido de sodio 1N S.V y se calienta durante 20 minutos la mezcla. Se añade fenoftaleína S.R y se titula el exceso de alcalí de la solución caliente, con ácido sulfúrico 1 N S.V. Se debe realizar una determinación con una muestra testigo o blanco. 1 ml de hidróxido de sodio es equivalente a 90.08mg de $C_3H_6O_3$."

FARMACOPÉA BRITÁNICA. (108)

El ácido láctico es una mezcla de ácido 2-hidroxiopropiónico, sus productos de condensación, tales como ácido lactoil-láctico, otros ácidos polilácticos y agua. El equilibrio entre el ácido láctico y los ácidos polilácticos depende de la concentración y la temperatura.

En la mayoría de los casos el ácido láctico se presenta en forma racémica ((RS)-láctico), pero en otros casos el isómero (+)-(S) predomina. El ácido láctico debe contener el equivalente a menos del 88% peso/peso y no más del 92% peso/peso de $C_3H_5O_3$.

Descripción: Es un líquido viscoso de color amarillo pálido es inodoro o casi inodoro.

Solubilidad: Miscible en agua, etanol y éter.

Identificación: Debe dar las reacciones características de los lactatos.

Densidad relativa: 1.20

Color: No debe ser más intenso que la solución de referencia.

Calcio: No más de 200 ppm.

Metales pesados: No más de 10 ppm (Pb).

Hierro: No más de 100 ppm.

Cloruros: No más de 100 ppm.

Sulfatos: No más de 200 ppm.

Ácidos cítrico, oxálico y fosfórico. A 5 ml de una solución A (5g de muestra en 42 ml de hidróxido de sodio y diluir a 50 ml con agua), añadir amoníaco 6M hasta que se torne ligeramente alcalino. Añadir 1 ml de cloruro de calcio 0.5M y calentar a baño maría durante 5 minutos; la solución debe tornarse clara.

Sustancias insolubles en éter. Disolver 1.0g de muestra en 25 ml de éter; la solución no es más opalescente que 25 ml de éter.

Metanol y ésteres metílicos. No más de 500 ppm.

Sustancias reductoras. Acidificar 1 ml de solución A con 1 ml de ácido clorhídrico 1M, calentar hasta ebullición, enfriar y agregar 1.5 ml de hidróxido de sodio 1 M y 2 ml de solución de tartrato cúprico de potasio. Calentar hasta ebullición; no debe formarse precipitado rojo o verdoso.

Ácidos grasos volátiles. Calentar cuidadosamente 5g de la sustancia, en un matraz cerrado a una temperatura entre 50 y 60°C, no debe percibirse ningún olor desagradable, que identifique cualquier ácido graso después de abrir el matraz.

Cenizas sulfatadas. No más del 0.1%.

Valoración. A 0.2g de la muestra añadir 20 ml de agua y 50 ml de hidróxido de sodio 0.1 M S.V, se tapa el matraz y se deja reposar durante 30 minutos. Añadir 50 ml de solución de fenoftaleína y titular con ácido clorhídrico 0.1 M S.V. Cada ml de hidróxido de sodio 0.1 M S.V es equivalente a 0.009008g de $C_3H_6O_3$.

Almacenamiento. Debe conservarse en envases cerrados.

Preparaciones: - Lactato de sodio. Intravenoso.

- Infusión.

- Infusión intravenosa de lactato de sodio."

FARMACOPÉA DE LOS ESTADOS UNIDOS MEXICANOS. (192)

"El ácido láctico, es una mezcla de ácido láctico $C_3H_6O_3$ y anhídrido láctico $C_6H_{10}O_5$ equivalente entre el 85 y el 90% del peso de $C_3H_6O_3$.

Descripción. Líquido jaraboso, incoloro o amarillento, casi inodoro. Es higroscópico y se descompone cuando hierve.

Densidad aproximada. 1.206.

Solubilidad. Miscible con agua, alcohol y éter.

Insoluble en cloroformo.

Ensayos de identidad. Satisface los ensayos de identidad para lactatos.

Residuos de la ignición. Cuando más de 3mg de una porción de 5 ml de ácido láctico (0.05%).

Cloruros. A 10 ml de una solución 1:100 se agrega suficiente ácido nítrico hasta acidificar y algunas gotas de S.R de nitrato de plata: no se produce opalescencia inmediatamente.

Ácidos nítrico, oxálico, fosfórico y tartárico: a 10 ml de una solución 1:10 se agregan 40 ml de S.R de hidróxido de calcio y se hierve durante dos minutos: no se produce turbidez.

Sulfatos: A 10 ml de una solución 1:100 se agregan dos gotas de ácido clorhídrico y 1 ml de S.R de cloruro de bario: no se produce turbidez.

Metales pesados: Al residuo obtenido en el ensayo Residuo de la ignición se agregan 3 ml de ácido clorhídrico diluido 1:2 se digiere en B.V. durante 15 minutos y se evapora hasta sequedad. El residuo se trata con 3 ml de ácido acético diluido, se diluye con agua hasta 60 ml y se usan 20 ml de la solución: el límite es de 10 ppm.

Azúcar: A 10 ml de S.R caliente de tartrato còprico alcalino se agregan cinco gotas de ácido láctico: no se

forma precipitado de color rojo.

Substancias fácilmente carbonizables. Se enjuaga un tubo de comparación con S.R de ácido sulfúrico y se deja escurrir durante 10 minutos; se depositan 5 ml de S.R de ácido sulfúrico y con cuidado estratificando 5 ml de ácido láctico. El tubo se mantiene a temperatura de 15°; no aparece coloración oscura en la zona de contacto de los dos ácidos, en el término de 15 minutos.

Valoración: En un matraz de 250 ml tarado se depositan aproximadamente 2.5 ml de ácido láctico, se agrega 50 ml de solución 1 N de hidróxido de sodio y la mezcla se hierve durante 20 minutos. En caliente se valora el exceso de alcalí con solución 1N de ácido sulfúrico, usando S.I de fenoftaleína. Se hace una prueba en blanco para hacer las correcciones necesarias; cada ml de solución 1N de hidróxido de sodio equivale a 90.08mg de $C_3H_6O_3$.

Conservación: En recipientes herméticamente cerrados.

Indicación: Coadyuvante necesario en la solución inyectable de lactato de sodio. Modificador de la flora intestinal. Se utiliza en fórmulas para la alimentación infantil.

Precaución: Es cáustico en soluciones concentradas."

FOOD CHEMICALS CODEX. (110)

"Descripción: Es un líquido almibarado de color ligeramente amarillo, casi inodoro, que consiste en una mezcla de ácido láctico ($C_3H_6O_3$) y anhídrido láctico ($C_3H_4O_3$). Se puede obtener por fermentación de azúcares o por síntesis. Se le encuentra disponible en soluciones que contienen el equivalente del 50 al 90% de ácido láctico. Es higroscópico y cuando se concentra por ebullición, se condensa para formar anhídrido láctico, ácido 2-(lactoxi)-propanoico, el cual en dilución y por calentamiento hidroliza para dar ácido láctico. Es miscible en agua y en alcohol.

REQUERIMIENTOS:

Identificación. Da satisfactoriamente la prueba de los lactatos.

Valoración. No menos del 95% y no más del 105% de $C_3H_6O_3$.

Arsénico. (Como As). No más de 3 ppm.

Cloruros. No más del 0.2%.

Ácidos cítrico, oxálico, fosfórico y tartárico. Debe pasar la prueba (Se debe diluir 1g de la muestra en 10 ml de agua, añadir 40 ml de hidróxido de calcio S.R. y hervir durante dos minutos. No debe producirse turbidez).

Cianuro. No más de 5 ppm.

Metales pesados. (Como Pb) No más de 10 ppm.

Hierro. No más de 10 ppm.

Residuos de ignición. No más de 0.1%.

Azúcares. Debe pasar la prueba (Añadir 5 gotas de muestra a 10 ml de tartrato cuprico alcalino S.R. No debe formarse precipitado rojo.).

Sulfatos. No más del 0.25%."

Como puede apreciarse las especificaciones citadas varían muy poco una a la otra, estas pequeñas diferencias se establecen de acuerdo a las necesidades y requerimientos que consideran las autoridades competentes de cada país.

Aunque industrialmente, el consumidor por lo general establece sus especificaciones, el objeto de la purificación es alcanzar la calidad requerida de acuerdo al uso que se le dará al producto.

Los procesos que se han empleado para la purificación de ácido láctico comprenden los siguientes:

- Recristalización de sales como lactatos de calcio o zinc.
- Extracción con solventes.
- Oxidación de impurezas orgánicas.
- Destilación, separación e hidrólisis de ésteres del ácido láctico y
- El intercambio iónico.

A continuación se describen los principales procesos de purificación.

B.- RECUPERACION A PARTIR DE LA FORMACION DE SALES Y ESTERES

a) FORMACION DE LACTATO DE CALCIO Y LACTATO DE ZINC

Los métodos más comunes para purificar el ácido láctico son la recristalización del lactato de calcio y la recristalización del lactato de zinc.

El primero consiste en hacer cristalizar la sal de calcio que se forma a partir de los caldos de fermentación, a los que se añado ya sea hidróxido de calcio o carbonato de calcio y recristalizarla repetidas veces hasta obtener la pureza deseada.

Por este método se puede obtener ácido láctico para usos alimentarios y para producir resinas fenólicas. (26)

La recristalización del lactato de zinc consiste en hacer reaccionar el lactato de calcio impuro con carbonato o sulfato de zinc. El lactato de zinc, se recristaliza y se disuelve en agua. Posteriormente el zinc precipita con ácido sulfhídrico. La solución de ácido láctico se decolora con carbón vegetal, se filtra y se evapora. (26)

b) FORMACION DE SALES ORGANICAS BASICAS

Las soluciones acuosas en las que se encuentra el ácido

láctico obtenido por fermentación, generalmente se acompaña de impurezas de diversa índole como azúcares no fermentados, algunas sales orgánicas e inorgánicas, etc. Ratchford en 1951 (111), propuso un método para la recuperación y purificación de ácido láctico a partir de sales orgánicas básicas, derivadas de las aminas terciarias o secundarias.

Este método consiste en mezclar el ácido láctico con agua y con una amina secundaria o terciaria que no exceda de los doce carbonos y no sea menor de cinco carbonos, en cada grupo alquilo.

La proporción de ácido láctico a la amina debe ser equimolecular aunque se prefiere un pequeño, exceso de la amina. Se considera que la trioctilamina, así como otros compuestos semejantes son los compuestos orgánicos básicos que dan mejores resultados, en la formación de sales debido a la gran solubilidad que presentan sus sales correspondientes con el ácido láctico en solventes orgánicos inmiscibles en agua. El medio en que se lleva a cabo la reacción entre la amina y el ácido láctico, debe ser un compuesto orgánico soluble en agua como cualquier tipo de alcohol, para que la solución de ácido láctico se combine con la amina y pueda llevarse a cabo la formación de la sal.

Cuando la sal del ácido láctico-amina se ha separado de la solución acuosa procede a la hidrólisis de dicha sal y liberar la amina. Para este efecto se somete la solución

orgánica a la acción de un óxido, carbonato o hidróxido metálico como: hidróxido de sodio, carbonato de sodio, óxido de calcio, hidróxido de calcio, carbonato de calcio, etc. , para liberar la amina y formar el lactato, el cual a su vez se convierte en ácido láctico, al añadir un ácido mineral, como el ácido sulfúrico, clorhídrico, fosfórico o pirofosfórico.

Otra manera de recuperar el ácido láctico es por medio de destilación, que consiste en someter a la fase orgánica que contiene la sal de la amina con el ácido láctico, a una destilación a vapor, en la que el solvente orgánico y la amina se recuperan en el destilado y el ácido láctico queda libre como residuo de la destilación.

Este método es aplicable para la obtención de ácido láctico grado técnico.

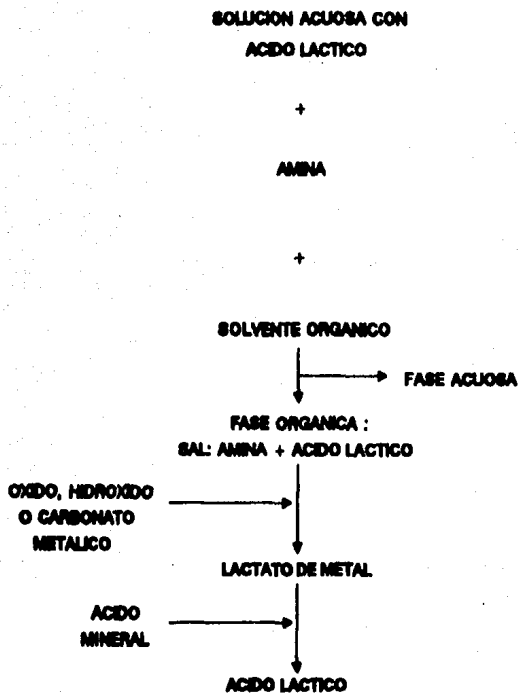


Fig. No. 21. Diagrama del proceso de purificación de ácido láctico por formación de sales orgánicas básicas.

c) FORMACION E HIDROLISIS DE ESTERES

Un método común para la purificación de ácido láctico es la formación de lactato de metilo y su posterior hidrólisis. Este proceso fue estudiado por varios autores (112, 113, 114, 115) y de acuerdo a cada uno, se pueden encontrar distintas variantes, ya sea de equipo y algunos reactivos, pero todos tienen la misma finalidad que es la formación de alquil-lactato, el cual a su vez se hidroliza para dar lugar a ácido láctico puro.

De acuerdo al método patentado por Filachione (112), se puede recuperar y purificar ácido láctico de soluciones acuosas impuras al hacer pasar vapores de alcohol a través de la solución que contiene ácido láctico. Posteriormente la mezcla de vapores, se condensa y se pasa por un alambique para separar el alquil-lactato. El alquil-lactato se hidroliza finalmente para obtener ácido láctico puro.

De esta manera el ácido láctico se separa de impurezas tales como proteínas, sustancias inorgánicas y azúcares.

El ácido láctico por purificar, es decir, el que se encuentra en soluciones acuosas con impurezas, es recomendable concentrarlo hasta obtener concentraciones entre el 50 y el 100% en peso de ácido láctico expresado como ácido láctico. Esto se debe a que en soluciones concentradas los vapores del alcohol reaccionan más rápido

con el Ácido láctico. Asimismo, se pueden emplear catalizadores en la reacción de formación del lactato, ya que estos aceleran la esterificación; pueden emplearse, ácido sulfúrico, ácido p-toluénsulfónico, ácido clorhídrico, bromhídrico, etc. Se ha encontrado que al emplearse ácido fosfórico este puede destilarse junto con los vapores y quedar como residuo junto con el ácido láctico recuperado, por lo que cuando se requiere ácido láctico con alto grado de pureza no se recomienda usarlo.

Los alcoholes que pueden emplearse para la esterificación son: metanol, etanol, n-propílico, n-butílico, isoamílico y algunos alcoholes secundarios como sec-butílico e isopropílico.

La temperatura del proceso puede variar entre 50 y 100°C, pero cuando se aplican catalizadores se prefiere que oscile entre 75 y 135°C.

El método patentado por Wenker (113) emplea metanol como sustancia que reacciona con el ácido láctico presente en soluciones acuosas para formar lactato de metilo, se utiliza ácido sulfúrico como catalizador y agua para la etapa de hidrólisis.

Wenker diseñó un aparato que se muestra en la fig. No. 22, al cual se hará referencia para describir el proceso.

En un tanque de cobre 1, completamente cerrado se

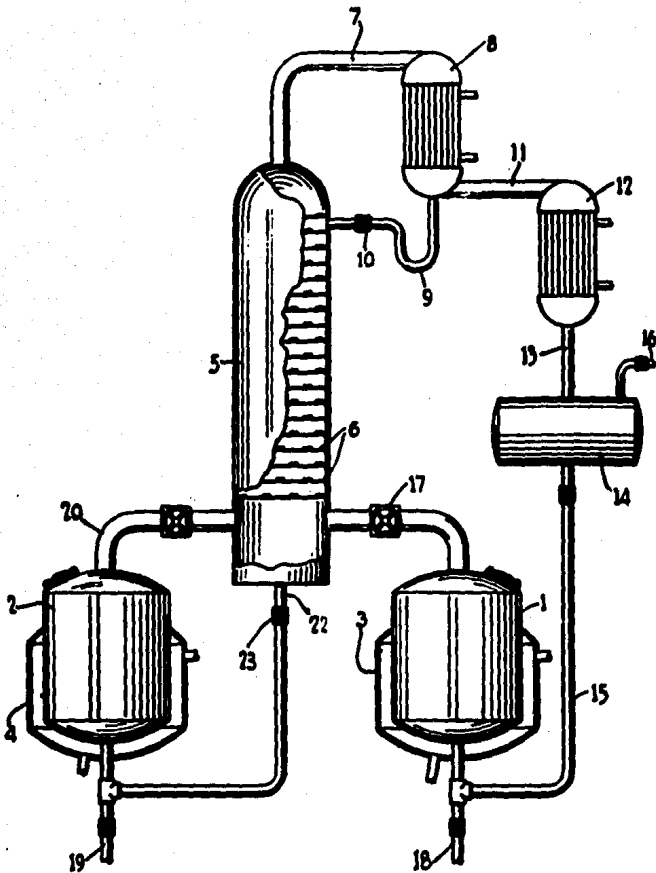


Figura No. 22. Aparato para la purificación de ácido láctico por formación e hidrólisis de ésteres diseñado por Wenker.

colocan 680kg de ácido láctico impuro al 80% (las impurezas son sustancias difíciles de separar como azúcares, albumina y sales minerales). Se añaden 340g de metanol anhidro y 12kg de ácido sulfúrico concentrado grado técnico.

En el tanque cerrado de vidrio 2, se vierten 2271 de agua y 6kg de ácido sulfúrico concentrado químicamente puro.

A la chaqueta de vapor 3 del tanque 1 se hace pasar vapor a 30 libras de presión, para que en el contenido de la misma empiece la ebullición; tan pronto como la destilación se inicie se pasa vapor a la chaqueta 4 del tanque 2 para que sus componentes hiervan.

El destilado del tanque 1 consiste principalmente de agua metil-éter del ácido láctico y metanol. El éster se condensa y se separa en la columna 5 la cual se conecta al tanque 2 por el tubo 20 y por el tubo 22 a la parte inferior del tanque.

En la columna 5 se condensa la mayor parte del éter del metanol y el vapor de agua y pasa continuamente al tanque 2 por el tubo 22.

El vapor que se escapa de la parte superior de la columna 5 pasa al condensador 8; el condensado pasa al tubo 9 y se regresa a la columna 5.

Los vapores no condensados que contienen metanol y

pequeñas cantidades de lactato de metilo se pasan al condensador 12, por medio del tubo 11, en el que el metanol se condensa y se pasa al tanque almacenamiento 14 por el tubo 13.

El metanol que se encuentra en el tanque de almacenamiento 14, se pasa continuamente al tanque 1, por el tubo 15 con el objeto de continuar la esterificación.

El lactato de metilo que pasa al tanque 2 se hidroliza, continuamente con la ayuda del ácido sulfúrico presente, el metanol que se libera pasa al tanque 1 o al tanque de almacenamiento 14.

Cuando en el tanque 1, ya no queda más ácido láctico, sino solo las impurezas, el proceso termina, lo cual puede determinarse al observar la ausencia de vapores de lactato de metilo en los vapores de destilación, entonces se cierra la válvula 16 del tanque 14 y la válvula 23 del tubo 22. El tanque 1 se encuentra libre metanol, entonces se calienta el contenido durante 30 minutos. Después se cierra la válvula 17, se conecta al tanque 1 y a la columna 5. El residuo del tanque 1, se retira al abrir la válvula 18. El calentamiento en el tanque 2 se continua por dos horas para completar la hidrólisis. El alcohol que se despiden pasa al tanque de almacenamiento 14.

El proceso se lleva a cabo en ocho horas, lo cual

depende del tamaño del equipo. El ácido láctico se puede purificar con carbón activado para decolorarlo y concentrarlo al grado que se desee. Los cloruros se pueden eliminar al agregar nitrato de plata que los precipita.

El método de Schopmeyer (114) consiste en calentar una mezcla que se compone de una solución acuosa de ácido láctico (impuro), un alcohol de bajo punto de ebullición y un catalizador para esterificación de tipo ácido; la mezcla de vapores resultante del calentamiento pasa a una destilación fraccionada, en la que el vapor de alcohol pasa a la parte superior de la columna, se condensa y se regresa a la mezcla de reacción nuevamente; el ácido láctico se obtiene en la parte inferior de la columna, ya que se hidroliza el éster completamente.

Este método se aplica para la purificación de ácido láctico que resulta de procesos de fermentación en los que obtiene primeramente lactato de calcio y finalmente ácido láctico impuro al aplicar el tratamiento de ácido sulfúrico, en que se elimina el calcio al formarse sulfato de calcio.

Los alcoholes que pueden emplearse, son aquellos que contengan pocos átomos de carbono en la molécula. En este caso se prefiere el metanol, ya que el éster que forma con el ácido láctico, da lugar a una mezcla azeotrópica binaria de bajo punto de ebullición entre 98 y 99°C y contiene aproximadamente 20 partes de lactato de metilo por 80 partes

de agua.

Como catalizadores pueden emplearse ácidos inorgánicos como el sulfúrico y el clorhídrico, pero este último puede volatilizarse y quedar como residuo. Puede utilizarse también ácido fosfórico pero se requiere en mayor cantidad para alcanzar el pH deseado.

La proporción de agua que debe agregarse debe ser tal que ésta constituya de 10-20 partes por 100 partes de la mezcla total. Las porciones que sobrepasen este rango, pueden usarse, pero si la cantidad de agua es muy alta, se reduce la capacidad de producir ácido láctico puro, si es mucho menor, se corre el riesgo de que se formen productos indeseables.

De acuerdo a Weisberg(115), en la recuperación de ácido láctico por esterificación con alcoholes a partir de soluciones de lactato de calcio, éste último se trata con ácido sulfúrico, para dejar el ácido láctico libre (se forma como precipitado sulfato de calcio) a partir del cual se forma el lactato de alquilo con el alcohol utilizado. El precipitado de sulfato de calcio tiene la facultad de atrapar el éster en una proporción del 10%. El método propuesto consiste en mezclar la solución que contiene el lactato de calcio, ácido sulfúrico y alcohol, la cual se calienta, posteriormente se destila y se separa del éster, el que a su vez en los vapores puede arrastrar sulfato de

calcio. Después que pasa por la columna de destilación se pasa al tanque de almacenamiento. La composición de la mezcla que llega al tanque es el lactato de alquilo y sulfato de calcio que se arrastró; para que el sulfato de calcio no atrape al éster, se agrega agua, la cual junto con el lactato de alquilo forma una mezcla de punto ebullición constante que se destila y se separa completamente de la sal y es posible la recuperación total del éster el cual a su vez se hidroliza para dar lugar a ácido láctico libre que se puede someter a otros tratamientos como la decoloración con carbón activado y concentración al grado que se requiera.

d) OTROS METODOS

Otro método de purificación que implica la formación de sales, es el que se emplea en American Maize Products, al cual se hace referencia en el apartado: Producción de ácido láctico a partir de azúcar de maíz, en el capítulo cuatro. Este proceso de purificación implica las siguientes operaciones: precipitación de proteínas (al finalizar la fermentación), blanqueo del filtrado con carbón activado, concentración de la solución resultante, la cual contiene lactato de calcio, adición de ácido sulfúrico y precipitación del sulfato de calcio. El ácido láctico que se obtiene se blanquea con carbón activado y se concentra nuevamente. Posteriormente a la solución concentrada se adiciona sulfuro de sodio para precipitar metales pesados y carbón activado para blanquear la solución, se filtra y pasa

al último tanque de blanqueo y se ajusta la solución a la concentración requerida. En este proceso los lodos que resultan en la primera precipitación, pueden procesarse para obtener alimento para ganado.

En estudios recientes realizados por varios autores (116, 117, 118, 119), se observa que continua la práctica de la purificación de ácido láctico por utilización de vapores de metanol, destilación del producto, esterificación y posterior hidrólisis con agua para obtener ácido láctico y como catalizador aun se emplea ácido sulfúrico. El grado de purificación obtenido se aplica a los grados alimentario y técnico.

La purificación de ácido láctico con etanol (120), para formar el éster correspondiente (lactato de etilo) y una posterior hidrólisis con agua de este producto para obtener ácido láctico puro, también ha sido informada en la literatura. (120) La desventaja de este método es que el ácido láctico que se obtiene no puede usarse para alimentos debido al alto contenido de anhídridos (12-13%).

C.-EXTRACCION CON DISOLVENTES

La extracción con disolventes es un método de separación de dos sustancias, que se fundamenta en que un determinado soluto es soluble en dos solventes, los cuales a su vez son inmiscibles entre ellos. Esto da lugar a que

cuando dicha sustancia se mezcle en ambos disolventes se distribuya entre los dos, de una manera constante; de este hecho se deduce la ley de la distribución de Nerst que establece que una sustancia se distribuye entre dos disolventes hasta que en equilibrio se alcanza una relación constante de las actividades de la sustancia en las dos capas, para una temperatura establecida. La ecuación que se deriva de esta ley es la siguiente:

$$\frac{C_B}{C_A} = K \dots\dots\dots \text{(Ecuación No. 2)}$$

Donde la constante K, es el coeficiente de distribución o reparto, CA y CB se refieren a las concentraciones de una sustancia en la solución A y en la solución B. (121)

La ley de distribución se aplica a la extracción de sustancias como es el caso del ácido láctico.

Weiser y Geankopolis (122), investigaron la manera de como separar el ácido láctico de soluciones acuosas, en las cuales las impurezas principalmente son los metales alcalinos, azúcares e impurezas volátiles, como los ácidos acéticos y butíricos.

Un problema detectado por estos autores es que la separación del ácido láctico es complicada debido a que el ácido se polimeriza cuando se encuentra en soluciones de concentración mayor del 20%.

El trabajo de Weiser consistió en probar diferentes

disolventes de tipo orgánico como diversos tipos de alcoholes primarios, secundarios, terciarios, cetonas, ésteres, éteres, aminas y derivados aromáticos. Determinó las constantes de equilibrio de los disolventes antes mencionados en el sistema agua-ácido láctico-disolvente orgánico a una temperatura de 25°C. Se emplearon soluciones de ácido láctico al 5% en peso. El tiempo para alcanzar el equilibrio entre los dos disolventes se determinó con repetidos análisis de muestras tomadas a distintos intervalos de tiempo.

En el experimento se probaron sales inorgánicas como aditivos, además se determinó con el mismo procedimiento la distribución de las impurezas entre el agua y el disolvente orgánico investigado.

Del experimento pudo comprobarse que la temperatura es un factor que afecta en poco grado a la distribución del soluto (ácido láctico) en ambas fases.

Por otra parte las sales inorgánicas incrementan el coeficiente de distribución del ácido láctico, pero el efecto que causan no es tan satisfactorio como para justificar su adición.

De acuerdo al experimento se observó que los alcoholes son los mejores disolventes extractores para el ácido láctico, ya que sus propiedades físicas son adecuadas y

tienen bajo costo. El alcohol isoamílico es el mejor disolvente extractor debido a que presenta el menor coeficiente de distribución con respecto a los azúcares, los cuales resultan ser las impurezas más difíciles de eliminar. Por otra parte la solubilidad del alcohol isoamílico en agua es mucho menor que la de los alcoholes butílicos. Aunque el costo del alcohol isoamílico es un poco superior al de los demás se considera como el más adecuado.

En la ecuación No. 3 se presenta el coeficiente de distribución del sistema ácido láctico entre agua-alcohol isoamílico.

CW= Concentración del soluto en la fase acuosa (g/100ml)

CS= Concentración del soluto en la fase orgánica g/100 ml.

$$K = \frac{CS}{CW} \dots\dots\dots(\text{Ecuación No. 3})$$

TEMPERATURA °C	CW	CS	K
25.0	4.28	1.91	0.447

Coefficientes de distribución de las impurezas que acompañan al ácido láctico:

CW= Concentración del soluto en fase acuosa g/100ml

CS= Concentración del soluto en fase orgánica g/100ml

$$K = CS/CW$$

SACAROSA

CW	CS	K
5.63	0.007	0.0014

LACTOSA

CW	CS	K
5.22	0.001	0.002

ACIDO ACETICO

CW	CS	K
1.65	1.56	0.947

ACIDO BUTIRICO

CW	CS	K
0.27	2.6	9.64

Bansal y Vishwanathan (123), mediante sus experimentos probaron que el aceite fusel (licor de calidad inferior) es un buen disolvente para la extracción de ácido láctico de soluciones acuosas. El aceite fusel esta compuesto por diversos alcoholes amflicos además es un subproducto que se obtiene de la refinación del petróleo y su costo no es alto.

El proceso tiene aplicación para el ácido láctico obtenido mediante procesos de fermentación. Durante el experimento se realizaron seis extracciones y se determinó el coeficiente de distribución tanto del ácido láctico purificado como aquel que no esta en estado puro, sino acompañado de las impurezas habituales despues de un proceso de fermentación.

El coeficiente de distribución para el ácido láctico puro fue mayor que el del ácido láctico impuro; el primero fue de 0.83 a 0.86 y el segundo fue de 0.59 a 0.66. Así mismo se encontró que para obtener un mayor coeficiente de distribución, la mejor relación entre el disolvente y la

solución acuosa debe ser 2:1 (solo para sistemas aceite fusel-agua). Después de la extracción el disolvente puede recuperarse por destilación. De los resultados obtenidos los autores concluyeron que el aceite de fusel es mejor disolvente extractor que el alcohol isoamílico.

D.-INTERCAMBIO IÓNICO

El intercambio iónico se define como el mutuo cambio de iones entre una fase sólida y una líquida en el cual el cambio en la estructura del sólido no es permanente.

La ventaja de este método consiste en que los materiales que se emplean para este proceso de intercambio pueden volver a utilizarse varias veces.

Las resinas de intercambio iónico constan de dos partes:

a) La parte estructural, que consiste en la matriz del polímero, que es tridimensional, y

b) La parte funcional que constituyen los grupos activos o iones intercambiables.

Las propiedades de una resina de intercambio iónico dependen de la combinación de estas dos partes.

Las resinas de intercambio iónico se usan para la purificación de sustancias orgánicas e inorgánicas, en las que los contaminantes son ácidos, alcalis o sales. Se aplican a sistemas acuosos, semiacuosos y no acuosos. Una

aplicación de este método puede encontrarse en la purificación del ácido láctico. (124)

El método patentado por Hesler (125) se aplica para la purificación de ácido láctico que proviene de procesos de fermentación, en los que se aplicó el tratamiento con ácido sulfúrico. El ácido láctico obtenido de esta manera es muy impuro debido a que se acompaña de sulfatos, cloruros y calcio. Hesler propone pasar el ácido láctico impuro a través de una resina de intercambio aniónico, como la resina m-fenildiamina formaldehído, la que previamente se trata con hidróxido de sodio y se satura con el ácido láctico puro, todo esto con el objeto de facilitar la purificación y por último agregar el ácido láctico impuro. De acuerdo a los resultados que se obtuvieron el método es muy efectivo.

La composición del ácido impuro, que se sometió al experimento es la siguiente: 400 mg de ácido sulfúrico, y 100 mg de ácido clorhídrico por litro de solución. El análisis del efluente se presenta en la tabla No. 8.

Posteriormente Childs (126) tomó en cuenta los diversos pasos en la producción de ácido láctico y los contaminantes inherentes, como los iones calcio remanentes que quedan ya sea como lactato de calcio o sulfato de calcio. Su interés se basa en los problemas de depósito de sales en las paredes de los evaporadores. La resina adecuada para este fin de acuerdo a Childs, es poliestireno sulfonado con bajo

Tabla No. 8. Análisis de los resultados obtenidos por Hesler en la purificación de ácido láctico.

VOLUMEN EN LITROS	RESIDUOS DE AC. SULFURICO (mg/l)	RESIDUOS DE AC. CLORHIDRICO (mg/l)	RESIDUOS DE AC. LACTICO (mg/l)
0.01	-	-	30,000
0.1-0.2	-	-	33,000
0.2-0.3	-	-	34,000
0.3-0.4	-	-	35,000
0.4-0.5	-	-	37,000
0.5-0.6	-	-	37,000
0.6-0.7	-	-	37,000
0.7-0.8	-	-	37,000
0.8-0.9	-	-	37,000
0.9-1.0	5	-	37,000
1.0-1.1	12	-	37,000
1.1-1.2	15	-	37,000
1.2-1.3	17	-	40,000
1.3-1.4	20	-	40,000
1.4-1.5	27	-	40,000

FUENTE: (125)

porcentaje de entrecruzamiento que oscile entre 3 y 6%. Esta resina funciona al intercambiar iones calcio por iones hidrógeno, sodio o potasio.

Por otra parte, se toma en consideración que en el caldo donde se forma el ácido láctico, los azúcares presentes se combinan con los aminoácidos y forman compuestos oscuros (reacción de Maillard). Para una purificación completa, se propone pasar el líquido por una columna empacada con carbón activado y por una segunda columna con resina de intercambio iónico.

Devos en 1981 (127) patentó un método para la recuperación de ácidos alfa-hidroxicarboxílicos a partir de medios que contengan azúcares. El método tiene dos etapas: la primera consiste en poner en contacto al medio que contiene al ácido alfa-hidroxicarboxílico en forma de su sal de calcio, con una resina de intercambio catiónico la cual presenta iones calcio (Ca^{++}).

Las resinas más comúnmente empleadas son las de estireno-divinilbenceno sulfonadas, con una granulometría comprendida entre 3 y 5%. Otras resinas que se emplean son: "CA 9220", "LEWATIT", TX 40 y C20. (127) El contacto entre la mezcla y la resina debe ser el suficiente para adsorber la sal de calcio y corresponde a una velocidad de flujo de 0.5 a 1.5 volúmenes de la mezcla por volumen de resina. El

contenido de sólidos que corresponde a la sal de calcio del ácido por recuperar en la mezcla debe ser entre el 10 y 50%. El pH de la mezcla debe ser superior a 4.0 y la temperatura entre 75 y 85°C.

La segunda etapa se realiza mediante elución, al agregar agua a la resina saturada con la sal de calcio. La temperatura del agua de elución debe ser entre 75 y 85°C. La cantidad de agua de elución corresponde a una proporción de fluido de 0.5 a 1.5 volúmenes por volumen de resina.

El diagrama de funcionamiento se relaciona con el de la fig. No. 23.

El aparato se compone de una columna 35, empacada con la resina R, la cual se halla conectada en la parte superior al tubo 36 que a su vez se conecta a la bomba 37 y con el intercambiador de calor 38. La bomba 37 se conecta al contenedor 42, por medio del tubo 39, el cual contiene la mezcla por separar, la que se designa arbitrariamente A+B; asimismo, la bomba 37, se comunica con el contenedor 43 que contiene el agua de elución con el tubo 40. Por otra parte la bomba 37 se conecta al contenedor 44 a través del tubo 41. Las electroválvulas 45, 46 y 47 se comunican respectivamente con los tubos 39, 40 y 41.

La columna 35 se comunica por su parte inferior a los contenedores 49 y 50 a través del tubo 48; el acceso a estos

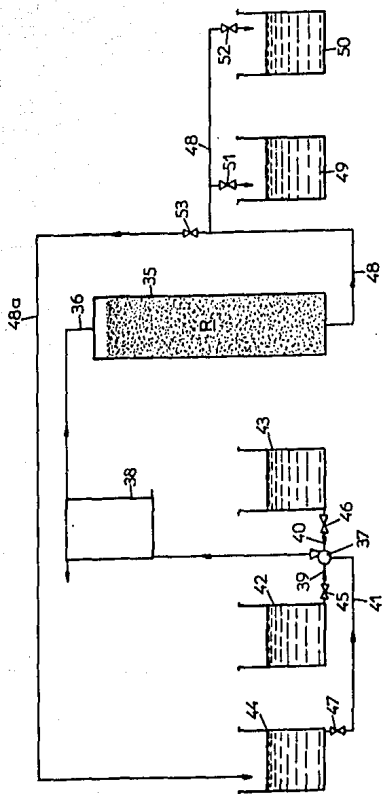


Figura No. 23. Diagrama del proceso de purificación de Ácido láctico por intercambio iónico.

contenedores se hace posible al abrirse las electroválvulas 51 y 52. El tubo 48a comunica a la columna 35 al contenedor 44 y al abrirse la electroválvula 53, permite el paso del líquido de la columna 35 al contenedor 44.

El aparato funciona de la siguiente manera: en la primera etapa del proceso la electroválvula 45 se abre y las electroválvulas 46 y 47 se cierran, la bomba 37 permite el acceso de la mezcla A+B a la columna 35 a través del tubo 36. Cuando la columna 35, se satura, la electroválvula 45 se cierra, se abre la electroválvula 46 y la bomba 37 permite el acceso del agua de elución a la columna 35. Posteriormente se controla la apertutura de las electroválvulas 51, 52 y 53, se considera que la separación que se realizó en la columna de la mezcla A y B, el producto A pasa al contenedor 49 y el producto B al contenedor 50 y el agua con muy baja concentración de la mezcla A+B pasa al contenedor 44. (127)

Con respecto al ácido láctico, la gran cantidad de contaminantes que lo acompañan tales como material nitrogenado, materia orgánica, azúcares y vitaminas, elementos necesarios para su producción por fermentación, requiere de métodos de purificación muy efectivos para reunir las condiciones requeridas por el Codex Alimentario (127). Para este caso se experimentó con una resina del tipo 9,200 y ácido láctico obtenido por métodos de

fermentación. Las condiciones del proceso consisten en una velocidad de flujo de 32 l/hr (1 vol/h) a una temperatura de 80°C y una columna de 2m de altura con un diametro de 2 cm, empacada con 40 ml de la resina antes mencionada. Se utilizan 8 litros de caldo fermentado (filtrado) con un contenido de materia seca (lactato de calcio) del 15.5% y posteriormente se eluyen 20 l de agua destilada a 80°C. El efluente se separa en dos fracciones: 18 litros de impurezas (coloides, sustancias de color, proteínas, etc) y lo que resta es el lactato de calcio purificado a una concentración de 55 g/l. El lactato obtenido se evapora hasta alcanzar una concentración de 250 g/l. Se precipita el calcio con ácido sulfúrico; el sulfato de calcio obtenido se separa por filtración y el filtrado se hace pasar a través de una resina de intercambio catiónico para separar el calcio remanente y después a través de una resina de intercambio aniónico para separar los iones sulfato. La solución obtenida se decolora con carbón activado y se obtiene ácido láctico grado alimentario. (127)

Jacquement (128) en 1970 patentó un método para purificar ácido láctico por electrodiálisis. En este proceso se utilizan resinas de intercambio aniónico como los copolímeros de estirenodivinilbenceno y resinas de intercambio catiónico, como los copolímeros de estireno-divinilbenceno sulfonados. El ácido láctico purificado por estos medios es susceptible de emplearse para usos

farmacéuticos y alimentarios.

Boroda en 1965 (129) realizó experimentos con el objeto de purificar ácido láctico grado técnico por oxidación con peróxido de hidrógeno (H_2O_2), permanganato de potasio ($KMnO_4$) y carbón (C). El experimento se realizó a una temperatura de 50 a 60°C durante 15 min a 2 horas. Los resultados obtenidos indican que el carbón tiene efecto decolorante del 37 al 48%, el cual en presencia de peróxido de hidrógeno aumentó a 55-57% y en presencia de permanganato aumento a un 60-68%. Si la decoloración se realiza a temperaturas mayores de 60°C el ácido láctico empieza a descomponerse.

E.- VENTAJAS Y DESVENTAJAS

En el proceso de obtención de ácido láctico, el paso más crítico es el de la purificación, tanto en los métodos químicos como en los biotecnológicos. Los primeros se acompañan de reactivos que no reaccionaron y subproductos, los que en la mayoría de las veces no son recuperables o aprovechables. En los segundos, el problema es que los caldos de fermentación contienen los residuos de los nutrientes que requiere el microorganismo y sustrato que no reacciono. El tipo de material tanto orgánico como inorgánico remanente en ambos métodos es difícil de separar y requiere de procesos de purificación que implican el uso de reactivos y equipo sofisticado, por lo que el método más adecuado es aquel que proporcione la mayor eficiencia y calidad para no elevar demasiado el costo de producción.

De los métodos estudiados se presentan las siguientes desventajas: en la recristalización del lactato de calcio, se corre el riesgo de formar coloides en la precipitación lo cual imparte turbidez al producto, además de que en las aguas remanentes pueden quedar grandes cantidades de lactato de calcio. En la cristalización con aminas, en el producto final pueden quedar residuos de las mismas, lo cual requiere de posteriores etapas de refinación, que hacen más complicado el proceso.

En la aplicación de vapores de metanol y posteripr

destilación, gran cantidad de ácido láctico puede quedar atrapado en la mezcla por destilar. En la extracción por disolventes también hay pérdida, ya que gran parte del ácido láctico puede quedar en la solución acuosa, además de que en el producto final pueden quedar residuos del disolvente.

Como ventajas pueden nombrarse las siguientes:

En el método que implica la formación de lactato de alquilo y posterior destilación, es un proceso económico y eficiente ya que los problemas que presenta son aquellos inherentes a la destilación y con una adecuada vigilancia de la misma pueden evitarse. La extracción con solventes es un método eficiente si se emplea el solvente adecuado.

El método de intercambio iónico, es adecuado, poco complicado, eficiente y permite obtener la pureza necesaria para las distintas calidades o grados comerciales en los que se requiere el ácido láctico.

CAPITULO VI

ANALISIS DE DISPONIBILIDAD DE EQUIPO. MATERIAS PRIMAS Y COSTO EN EL PAIS

A.- INTRODUCCION

En México el ácido láctico es un producto de interés para el área alimentaria, en la que se consume principalmente como acidulante, conservador, para ajustar el pH en la industria quesera y sus derivados en la industria panadera. Tiene menor aplicación en el área farmacéutica y de los plásticos.

Los principales países productores y las compañías son (130):

Pais	Compañía
Francia.	Rhone Poulenc Industries S.A.
República Federal Alemana.	W. Ulrich. K.G.
España.	Luis Ayuso, S.A.
Reino Unido.	Croda Bowmans Chemicals LTD.
Estados Unidos de Norteamérica.	Monsanto Industrial Chemicals Company.
Japón.	Showa Chemical. Sumimoto Chemical. Bugai Chem.

Este producto aún no se produce en México por lo que no se tiene reportado un costo de producción en el país, aunque las materias primas y equipo son disponibles y la tecnología

puede provenir de otros países.

El consumo de Acido láctico en México puede fundamentarse en las cantidades que se importan del mismo. La fracción arancelaria de importación incluye todos los grados de Acido láctico (alimentario, farmacéutico y técnico) (131) pero se considera que aproximadamente el 70% del volumen de consumo se destina al Área de alimentos. (130).

A continuación se presenta una tabla que muestra las importaciones de Acido láctico de 1980 a 1985 y un estimado para 1986.

Tabla No. 9. Importaciones de Acido Láctico en México de 1980 a 1985 y estimado para 1986.

<u>ANO</u>	<u>VOLUMEN</u> (KILOGRAMOS BRUTOS)	<u>VALOR</u> (U.S. DOLARES)
1980	458,411	658,292
1981	456,262	761,584
1982	652,629	1,118,510
1983	658,182	1,194,238
1984	868,648	1,545,239
1985	808,794	1,415,389
1986(e)	959,849	-----

FUENTE: IMCE (Instituto Mexicano de Comercio Exterior);
SECOFI (Secretaría de Comercio y Fomento Industrial)

(e) Estimado.

El estimado se obtuvo en base al crecimiento promedio anual en el periodo 1980-85, el cual es del 12.02% aproximadamente. (132)

El precio en México para marzo de 1986 del ácido láctico grado alimentario es de \$2.03 (U.S. dólares. \$960.00 pesos, tipo de cambio \$472.00/dólar, 18 de marzo).

A continuación a manera de ejemplo se presenta una evaluación técnica y económica, de un proceso de producción de ácido láctico grado alimentario, a partir de suero derivado de la producción de quesos, como una alternativa para el uso del mismo. Esta evaluación, se diseñó para la producción de ácido láctico en Australia (133), debido a que en la investigación bibliográfica solo se encontró esta referencia sobre evaluación técnica y económica para producir ácido láctico. La capacidad instalada de la planta es de 68,586.00 m³ de suero al año, la capacidad utilizada es del 60%, por lo que anualmente 41,151.00m³ de suero pueden procesarse, lo cual corresponde a una producción de 3,473 ton de ácido láctico al 50% grado alimentario por año.

B.-EVALUACION TECNICA Y ECONOMICA DE UN PROCESO DE PRODUCCION DE ACIDO LACTICO A PARTIR DE SUERO DERIVADO DE LA PRODUCCION DE QUESOS EN AUSTRALIA.

a) DESCRIPCION DEL PROCESO

El proceso consiste en una fermentación de la lactosa,

carbohidrato presente en el suero lácteo, para transformarla en ácido láctico, el cual se neutraliza con carbonato de calcio (CaCO_3), para formar lactato de calcio, se purifica, se trata con ácido sulfúrico (H_2SO_4) y se obtienen ácido láctico y sulfato de calcio (CaSO_4) como residuo.

Durante el proceso se llevan a cabo cinco etapas:

1.- Desproteínización del suero, por calentamiento y filtración.

2.- Fermentación del suero desproteínizado y neutralización continua con CaCO_3 .

3.- Purificación del caldo de fermentación.

4.- Evaporación de la solución de lactato de calcio y acidificación con H_2SO_4 .

5.- Segunda evaporación, purificación de la solución ácida y ajuste de la concentración hasta llegar al 50%.

b) DESCRIPCIÓN DE OPERACIÓN DEL PROCESO

Para detallar el proceso se hará referencia a la fig. No. 24.

b.1.- Desproteínización.

En esta etapa se calienta el suero a 96°C , las proteínas precipitan y se filtra la solución.

Como se muestra en la fig. No. 24, el suero se bombea continuamente del tanque de almacenamiento 1.1 a través del intercambiador de calor 1.3 y del compartimiento de vapor 1.4 hasta llegar a una temperatura de 96°C , al tanque de

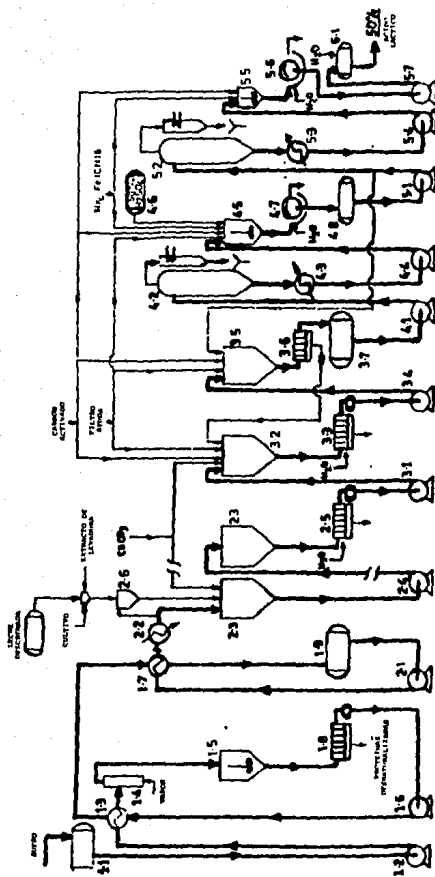


Figura No. 24. Proceso de producción de ácido láctico a partir de suero derivado de la producción de queso.

coagulación 1.5. Al cabo de 30 min., las proteínas se separan por el filtro de platos 1.8. El filtrado caliente se pasa a través de los intercambiadores de calor 1.3 y 1.7, se baja la temperatura de la solución y se almacena en el tanque de refrigeración 1.9. La temperatura del tanque es de 4°C y puede conservarse el suero hasta 7 horas.

b.2. Fermentación.

El suero desproteinizado del tanque de refrigeración 1.9, se bombea a través del intercambiador 1.7 y del calentador 2.2 y la temperatura se incrementa hasta alcanzar los 43°C.

Una parte del suero caliente (10%), se hace pasar al tanque de cultivo 2.6; el sobrante se bombea a los fermentadores 2.3 con capacidad de 53,000 l, a intervalos de 7 horas los caldos fermentados se bombean de un fermentador a otro. El tiempo total de fermentación es de 42 horas.

Al final del proceso de fermentación se agrega CaCO_3 con el propósito de neutralizar la solución. También puede utilizarse hidróxido de calcio como agente neutralizante, pero se sugiere el empleo de carbonato de calcio por las siguientes razones: el carbonato de calcio, puede emplearse en forma sólida a diferencia del hidróxido de calcio que debe agregarse en solución, lo cual evita hacer diluciones; la cantidad de carbonato de calcio que se requiere puede agregarse al inicio de la fermentación y no periódicamente

como el hidróxido de calcio; la reacción de neutralización del carbonato de calcio produce CO_2 , el cual es soluble en los caldos fermentados y ayuda a mantener el pH arriba de 5.

La cantidad de carbonato de calcio que se requiere se añade a cada tanque. Al final de la fermentación, el caldo se pasa por el filtro de platos 2.5, se separan los sólidos, se lavan y se recupera el lactato de calcio que haya quedado atrapado.

El microorganismo empleado en este proceso es *L. bulgaricus* y las condiciones son: temperatura 43°C y pH entre 5 y 5.8. Los fermentadores que se requieren deben ser de acero templado revestidos con PVC (Cloruro de polivinilo) o caucho y equipados con serpientes de enfriamiento.

Para procesar 53,000 l de suero, el microorganismo debe acondicionarse por resiembras, esto se lleva a cabo en 3 etapas a una temperatura de 43°C y en un periodo de 24 horas. Las etapas son de 7 horas cada una y son las siguientes:

- 1) Se inoculan 250 ml de leche descremada y esterilizada con cultivo de *L. bulgaricus*.

- 2) Se inoculan 114 l de leche descremada y pasteurizada con el cultivo del paso anterior.

- 3) 5,680 l de suero desproteínizado, se inoculan con 114 l de cultivo del paso 2. Como nutrimento pueden añadirse las levaduras que fermentan el pan, la cerveza y el vino.

Los cultivos de las etapas 1 y 2, pueden conservarse en almacenamiento a una temperatura de 10°C, pero el cultivo de la etapa 3 debe usarse rápidamente ya que empieza a producirse el ácido láctico.

Se prefiere que el proceso de fermentación se lleve a cabo por lotes debido a que puede controlarse la conversión de lactosa a ácido láctico más fácilmente. Se requiere de una ligera agitación al caldo de fermentación y para este efecto se propone bombear el caldo de fermentación de un tanque a otro periódicamente.

b.3.- Purificación del caldo de fermentación.

La purificación del caldo que contiene lactato de calcio se lleva a cabo en dos etapas; en la primera se añade carbonato de calcio al caldo hasta llegar a un pH que oscile entre 8.0 y 9.5, se filtra, se añade ácido láctico obtenido del mismo proceso por recirculación hasta alcanzar un pH que varíe entre 5.2 y 5.6. Para cada etapa se agrega carbón activado como decolorante y tierras diatomáceas como filtro ayuda.

De acuerdo a la figura No.24 el caldo con lactato de calcio se bombea al tanque de tratamiento alcalino 3.2 y los sólidos se separan por el filtro de platos 3.3. El filtrado y las aguas de lavado se bombean al tanque 3.5, para llevar a cabo el tratamiento ácido; los sólidos se separan por el filtro prensa 3.6 y el filtrado se envía al tanque de

almacenamiento 3.7. El precipitado que se obtuvo en el filtro 3.6 se recircula al primer tanque de tratamiento 3.2. Las dos etapas de purificación se llevan a cabo mediante un proceso en lote y cada una toma 15 minutos.

b.4. Evaporación y acidificación.

La solución de lactato de calcio purificada se bombea al evaporador de simple efecto 4.2. La solución concentrada que contiene un 53% de lactato de calcio y un 3% de ácido láctico, se pasa a través del enfriador 4.3 y se bombea al tanque de acidificación 4.5. En esta etapa se agrega carbón activado, filtro ayuda y ácido sulfúrico; precipita $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Asimismo, se adiciona una cantidad de ferrocianuro de sodio $\text{Na}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$, con el objeto de que precipiten los iones metálicos Cu^{++} y Fe^{++} , en caso de que estuvieran presentes. La separación de los sólidos se lleva a cabo en el filtro al vacío 4.7 y la solución de ácido láctico al 20% se envía al tanque de almacenamiento 4.9.

b.5. Evaporación y purificación final.

La solución de ácido láctico se bombea al evaporador de efecto simple 5.2. La solución concentrada de ácido láctico (60%, pH = 1.5) se bombea al tanque de agitación 5.5, en el cual se agrega una última cantidad de carbón activado. También se adiciona ferrocianuro de sodio para precipitar metales pesados remanentes e hidróxido de calcio o ácido sulfúrico para balancear los iones Ca^{++} y SO_4^- . Los

sólidos se retiran por medio del filtro al vacío 5.6, el filtrado se bombea al tanque de almacenamiento 6.1, en el cual la acidez se ajusta al 50% por dilución.

C) EVALUACION TECNICA ECONOMICA

C.1. Capacidad.

El fundamento de la evaluación parte de una capacidad instalada para procesar 68,586 m³ de suero al año, en base a lo cual se realizó el cálculo del balance de materia, tamaño y costo del equipo. Para la determinación del costo total del producto, se supuso que la capacidad utilizada de la planta debía ser del 60% por las irregularidades en la producción de suero durante el año.

C.2. Costos.

Los costos para equipo se basan de acuerdo al índice de Marshall y Stevens que para el año de 1985 fue de 800.8 . Para el costo de materias primas se consideraron los precios internacionales en base al "Chemical Marketing Reporter", OPD (Oil- Paint & Drug Reporter) de enero de 1986 (134) y el Chemical Economics Handbook. SRI (Standford Research Institute) 1985. (130).

C.3. Materia prima.

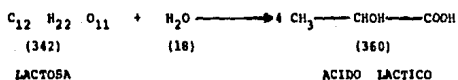
La materia prima principal es el suero, cuya composición química promedio se muestra en la tabla No. 10.

C.4. Balance de materia.

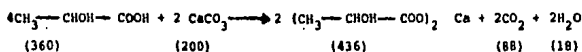
La capacidad instalada es de 68,586 m³ para 350 días de producción (840 horas), la capacidad utilizada es del 60% , por tanto anualmente pueden procesarse 41,151 m³ de suero (5,040 horas). La base para el balance de materia es que la capacidad instalada por hora es de 8,165 Kg de suero para procesar.

C.4.1. Reacciones que se llevan a cabo:

1.- EN EL FERMENTADOR:



2.- TANQUE DE TRATAMIENTO ALCALINO (NEUTRALIZACION):



3.- TANQUE DE TRATAMIENTO ACIDO

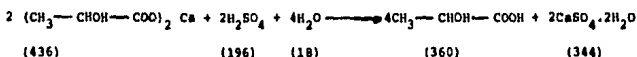


Fig. No. 25. Reacciones que se llevan a cabo durante la producción de ácido a partir de suero lácteo.

c.4.2.- Consideraciones generales sobre el balance de materia.

- Requerimientos de carbonato de calcio en los fermentadores.

De acuerdo a la experiencia, para alcanzar un pH óptimo entre 5.0 y 5.8, se requieren de 180 kg/hr de carbonato de

Tabla No.10. Composición química del suero lácteo.

COMPONENTE	% EN PESO	
GRASA	-	
PROTEINAS	0.8	
CENIZAS	0.7	
LACTOSA	5.0	
AC.LACTICO	-	
SOLIDOS TOTALES		6.5
AGUA		93.5
		<hr/> 100.0

FUENTE: (133)

calcio para la neutralización, aunque es recomendable un exceso del 10%.

- Requerimientos de carbón activado.

De acuerdo a la práctica el carbón activado tiene una capacidad de adsorción de sólidos inorgánicos del 20% de su peso, por lo que 100 kg de carbón activado adsorben 20 kg de ceniza inorgánica.

- Requerimientos de filtro ayuda.

Para obtener una mayor eficiencia de filtración se recomienda que el filtro ayuda se agregue en una cantidad igual al 2% en peso de la torta seca o precipitado.

- Capacidad de los evaporadores.

La capacidad del primer evaporador 4.2, es de 7,700 kg/hora, se toma en consideración que la alimentación al segundo evaporador 5.2, es de 1,224 kg/hr, con base en que la concentración final de ácido es del 60%.

- Requerimientos de agua de lavado.

Para estimar la cantidad de agua que se requiere con exactitud, debe realizarse una mayor investigación del comportamiento del proceso de filtración y del filtro que se utiliza en esta etapa.

- Rendimiento.

Se puede alcanzar un rendimiento entre el 93 y 94% de conversión de lactosa a ácido láctico durante el proceso de fermentación, pero para obtener ácido láctico grado

alimentario, el rendimiento aproximado es del 80%. Por lo tanto se consideran los siguientes rendimientos:

Rendimiento del proceso de fermentación: 93%

Rendimiento del producto: 80%.

en base a la lactosa que entra al proceso.

El balance total de materia se presenta en la tabla No. 11.

- Otros datos importantes a considerar:

- Servicios (1 hora de producción);

Agua de enfriamiento 9,463 l

Vapor (no incluye directo) 1,042 kg

Energía eléctrica 9.3 kw/hr

- Personal (una hora de producción)

5 obreros (5 horas-hombre).

d) COSTO DEL EQUIPO

La referencia para los costos de equipo, fue en base a Peters y Timmerhaus (135) y en Mills (136), a continuación se presenta el equipo y costo del mismo en la tabla No. 12.

e) CAPITAL FIJO TOTAL

El capital fijo se estimó en base al método de Buchanan y Sinclair. (137) De acuerdo a este método se aplican porcentajes o estimaciones, al costo total del equipo, para determinar el costo de la instalación, instrumentación, tuberías, energía eléctrica, edificio y servicios. Estos costos se añaden al costo total del equipo para obtener el

Tabla No. 11. Balance de materia.

MATERIAL QUE ENTRA	Kg	Kg	MATERIAL QUE SALE
SUERO :	8,165		
Lactosa 408 Kg		163.2	PROTEINAS
Proteina 65 Kg		843.4	CaSO ₄ (60%)
Cenizas 57 Kg		691	OTROS SOLIDOS
CaCO ₃	326.5		
AGUA DE PROCESO	1,777.1	103.4	GASES
VAPOR DIRECTO	589.6		
CARBON ACTIVADO	258.5	8,994	AGUA EVAPORADA
FILTRO AYUDA	14.5		
NUTRIMENTO	9	689	ACIDO LACTICO (50%)
H ₂ SO ₄ (60%)	349.2		
TOTAL:	11,484	11,484	

FUENTE: (133)

Tabla No. 12. Costo del equipo

No. CORRESPONDIENTE A LA FIG.24	ESPECIFICACION	No. DE UNIDADES	COSTO (\$1,000)
1.1	TANQUE DE ALMACENAMIENTO 75,700 L PVC	1	25.4
1.2	BOMBA 114 lpm. 1,347 cm DE CABEZA. ACERO INOX.	1	1.4
1.3	INTERCAMBIADOR DE CALOR 83,610 cm DE CABEZA CON TUBOS Y REVESTIMIENTO DE ACERO INOXIDABLE	1	7.0
1.4	COMPARTIMIENTO DE VAPOR 589 Kg/hr. VAPOR 100 psig	1	1.4
1.5	TANQUE DE COAGULACION 3,785 l. CON AGITACION DE PVC	1	13.1
1.6	BOMBA 120 lpm. 1,347 cm DE CABEZA DE ACERO INOX.	1	1.4
1.7	INTERCAMBIADOR DE CALOR CON TUBOS Y REVESTIMIENTO DE ACERO INOX. 55,740 cm	1	6.4
1.8	FILTRO DE PLATOS 14,864cm	3	4.3
1.9	TANQUE DE REFRIGERACION 53,000 l	1	21.0
2.1	BOMBA 900 lpm. 1,539 cm CABEZA. ACERO INOX.	1	2.3
2.2	CALENTADOR 7,432 cm 250 Kg/hr. VAPOR 15 psig	1	2.3
2.3	FERMENTADOR. 53,000 l.PVC CON SERPENTIN. 1,154 cm ACERO INOX.	6	140.6

FUENTE: (133)

Continuación Tabla No. 12.

No. CORRESPONDIENTE A LA FIG.24	ESPECIFICACION	No. DE UNIDADES	COSTO (\$1,000)
2.4	BOMBA 5,300 lpm. 1,154cm DE CABEZA. ACERO INOX.	5	38.0
2.5	FILTRO DE PLATOS 19,509 cm	2	3.5
2.6	TANQUE PARA CRECIMIENTO DE LA CEPA. 5,678 l. PVC	3	20.2
3.1	BOMBA 5,300 lpm. 962 cm DE CABEZA DE ACERO INOX.	1	7.3
3.2	TANQUE DE TRATAMIENTO 53,000 l. PVC	1	21.0
3.3	FILTRO DE PLATOS 14,864cm	1	1.4
3.4	BOMBA 5.300 lpm. 962 cm DE CABEZA DE ACERO INOX.	1	7.9
3.5	TANQUE DE TRATAMIENTO 53,000 l. PVC	1	21.0
3.6	FILTRO DE PLATOS 2,786 cm	1	1.1
3.7	TANQUE DE ALMACENAMIENTO 56,800 l.PVC	1	21.6
4.1	BOMBA 132 lpm. 577 cm DE CABEZA DE ACERO INOX.	1	2.0
4.2	EVAPORADOR DE EFECTO SIMPLE 427,340 cm. RECUBIERTO CON CAUCHO	1	43.6
4.3	ENFRIADOR. 23,225 cm. ACERO INOX.	1	3.8
4.4	BOMBA 19 lpm. 962 cm DE CABEZA DE ACERO INOX.	1	0.58

FUENTE: (133)

Continuación Tabla No. 12.

No. CORRESPONDIENTE A LA FIG.24	ESPECIFICACION	No. DE UNIDADES	COSTO (\$1,000)
4.5	TANQUE PARA ACIDIFICACION 757 l. CON AGITACION DE ACERO INOX.	1	8.79
4.6	TANQUE DE ALMACENAMIENTO PARA ACIDO SULFURICO 4,542 l.PVC	1	8.79
4.7	FILTRO AL VACIO 22,225 cm	1	17.5
4.8	TANQUE DE ALMACENAMIENTO 1,514 l. ACERO INOX.	1	8.2
5.1	BOMBA 27 lpm. 577 DE CABEZA. ACERO INOX.	1	1.1
5.2	EVAPORADOR DE EFECTO SIMPLE. ACERO INOX. 120,770 cm	1	32.2
5.3	ENFRIADOR. 13,006 cm RECUBIERTO CON ACERO INOX	1	2.9
5.4	BOMBA. 8 l pm, 962 cm DE CABEZA. ACERO INOX.	1	7.8
5.5	TANQUE PARA TRATAMIENTO 378 l, CON AGITADOR. ACERO INOXIDABLE	1	6.4
5.6	FILTRO AL VACIO. ACERO INOXIDABLE. 16,722 cm	1	13.1
5.7	BOMBA 10 lpm. 577 cm DE CABEZA. ACERO INOX.	1	0.8
6.1	TANQUE DE DILUCION Y ALMACENAMIENTO. 5,300 l. ACERO INOXIDABLE	1	15.0
	COSTO TOTAL DEL EQUIPO		537.0

FUENTE: (133)

costo total directo. Los estimados para ingeniería, contingencias y licencias, se obtienen al aplicar porcentajes, con respecto al costo total directo, la suma da el capital fijo total.

En la tabla No. 13 se muestra el calculo para determinar el capital fijo total.

f) COSTO TOTAL DE PRODUCCION

Debido a que la planta opera a una capacidad anual del 60%, para determinar el costo de producción total, se parte de la base de un año de producción (350 días laborables):

1 año de producción = $0.60 \times 350 \times 24$ horas de producción = 5040 horas de producción.

Se considera que se obtienen 3,473 ton de producto al año, o 689 kg de producto por hora de producción para obtener ácido láctico grado alimentario al 50%.

En la Tabla No. 14 se estiman los costos de suministros y servicios:

Tabla No. 14. Costos de Suministros y Servicios.

SUERO	NO TIENE COSTO
VAPOR (100psig)	\$2.65/ton
AGUA DE PROCESO	\$0.066/M ³
AGUA DE ENFRIAMIENTO	\$0.013/M ³

Tabla No. 13. Capital fijo total

No.	PARTIDA	% DE LA PARTIDA No.1		COSTO (\$1,000)
1	EQUIPO	100	537	
2	INSTALACION	20	107.4	
3	INSTRUMENTACION Y CONTROL	13	69.8	
4	TUBERIAS	30	161.1	
5	ENERGIA ELECTRICA	13	69.8	
6	EDIFICIO	25	134.2	
7	SERVICIOS	10	53.7	
8	COSTO TOTAL DIRECTO	211		1,133
		% DE LA PARTIDA No.8		
9	INGENIERIA	10	113.3	
10	CONTINGENCIAS	15	170.0	
11	LICENCIAS	8	90.6	
		133		373.9
12	CAPITAL FIJO TOTAL			1,507.

FUENTE: (133)

ENERGIA ELECTRI- TRICA	\$13.9/10 ⁶ KCAL
SALMUERA PARA RE- FRIGERACION.	\$13.9/10 ⁶ KCAL
MANDO DE OBRA	\$0.62/HORA
ACIDO SULFURICO (60%)	\$52.9/TON
LECHE DESCREMADA	\$280/M ³

Fuente: (133)

- Mantenimiento. Se considera un 5% del capital fijo total para cubrir materiales y trabajo.

- Cargos de depreciación. La depreciación del edificio y del equipo, se estima un 10% del capital por año.

- Impuestos. Estos se consideran como un 6% del capital invertido, para cubrir seguros, compensaciones y los impuestos estatales y locales.

No se han considerado otros factores, como la disposición de los desperdicios resultantes de los tratamientos de filtración, de los cuales se pueden recuperar las proteínas y el carbonato de calcio y pueden comercializarse, lo cual reduciría los costos de producción de ácido láctico. Por otra parte, para los gastos de las sustancias químicas que se necesitan para la limpieza del lugar, se estimo en \$2,500 (U.S dólares) aproximadamente.

El costo total del producto se presenta en la tabla No. 15.

Tabla No. 15. Costo total del producto.

No DE PARTIDA	UNIDADES	\$/UNIDAD	UNIDADES REQUERIDAS	\$/REQUERIMIENTO	% COSTO TOTAL
1. MATERIA PRIMA					
Suero	m	-	41,151	-	-
2. QUIMICOS					
PROCESO					
CaCO ₃	ton	67	1,645	110,215	4.4
H ₂ SO ₄ (60%)	ton	53	1,760	93,280	3.7
CARBON					
ACTIVADO	ton	600	1,302.8	781,680	31.4
VAPOR	ton	2.65	2,971.5	7,874.4	0.3
FILTRO					
AYUDA	ton	62	73.0	4,526	0.18
NUTRIENTES	ton	17,050.0	45.3	772,345	31.0
AGUA DE PROCESO	m	0.066	8929.3	589.3	0.02
LECHE DESCREMADA	m	280	81.7	22,876.0	0.91
C.I.P.				2,500.0	0.1
				1,795,905.7	72.1
3. SERVICIOS					
AGUA DE ENFRIAMIENTO	m	0.013	109,765	1,427	0.05
VAPOR	ton	2.65	52,625	139,456.2	5.6
ENERGIA ELECTRICA	Kw/h	0.016	48,200	771.2	0.03
REFRIGERACION	10 Kcal	13.9	1,320	18,459.2	0.74
				160,113.6	6.4

FUENTE: (133)

Continuación Tabla No. 15.

4. HANO DE OBRA DIRECTA	hr/hombre	0.62	25,200	15,624	0.62
	INDIRECTA	hr/hombre	0.62	25,200	15,624
				31,248	1.2
5. CAPITAL FIJO DEPENDIENTE MANTENIMIENTO (5X)				75,350	3.0
	DEPRECIACION (10X)			150,700	6.0
	IMPUESTOS Y SEGUROS (6X)			90,420	3.6
				316,470	12.7
6. COSTO DE MANUFACTURA				2,303,737.3	92.5
7. COSTOS DE MANUFACTURA DEPENDIENTES ADMINISTRACION (3X)				69,112.1	2.7
	VENTAS (5X)			115,106.8	4.6
				184,219	7.4
8. COSTO TOTAL DEL PRODUCTO				2,400,036.3	100.2

COSTO DE MANUFACTURA: \$ 637.3 ton o \$ 0.663 Kg

COSTO TOTAL DEL PRO-
DUCTO:

\$ 716.3 ton o \$ 0.176 Kg

FUENTE: (133)

g) DESGLOSE DEL COSTO DE MANUFACTURA

De acuerdo a un análisis del proceso, los costos de capital fijo y manufactura se estimaron con respecto a las cinco etapas del mismo:

- Desproteínización
- Fermentación
- Purificación inicial
- Evaporación y acidificación
- Evaporación y purificación final.

Se consideraron los mismos porcentajes, del costo del equipo para determinar el costo total directo y el costo del capital fijo. Los balances de materia se calcularon para cada etapa, los costos de suministros, servicios y trabajo, fueron los mismos que se emplearon para precisar el costo de producción.

Los resultados del análisis se presentan en la tabla No. 16.

h) DISCUSION DE LA EVALUACION

- Materia prima. Hay diversos problemas asociados con el uso de suero como materia prima, debido a que es producto perecedero, para lo cual debe procesarse lo más pronto posible o conservarlo en refrigeración para su uso posterior. Otro problema es la variación en producción, composición, lo cual depende de la alimentación del ganado destinado para la producción de leche y sucesivamente de

Tabla No 16. Análisis de los costos de capital fijo y de manufactura.

ETAPA	CAPITAL FIJO		COSTO DE MANUFACTURA	
	\$ 1,000	% TOTAL	\$ TON	% TOTAL
DESPROTEINIZACION	230.5	15.3	47.7	7.2
FERMENTACION	583.2	38.7	148.5	22.4
PURIFICACION INICIAL	230.5	15.3	202.3	30.5
EVAPORACION Y ACIDIFICACION	262.2	17.4	199.6	30.1
EVAPORACION Y PURIFICACION FINAL	200.4	13.3	65.0	9.8
TOTAL	1,507.0	100.0	663.3	100.0

FUENTE: (133)

queso. El transporte puede significar otro problema y encarecer el producto, pero se sugiere que la planta de procesamiento de suero, se integre a la planta productora de queso o concentrar el suero y procesarlo en una planta central, cuya capacidad podría adaptarse de acuerdo a las necesidades de mercado de ácido láctico.

- Proceso de producción. El problema del proceso propuesto para la obtención de ácido láctico es la purificación del mismo, ya que los licores se acompañan de distintos tipos de impurezas. Se considera adecuado el uso de carbón activado, pero es muy caro por lo que se sugiere investigar otros métodos de purificación como la extracción con éter isopropílico y cristalización.

- Uso de carbón activado. El uso de este material para purificar el ácido láctico resulta alto ya que eleva el costo de manufactura, al igual que el nutrimento (levadura) que se adiciona a la bacteria como complemento alimenticio; pueden utilizarse otras fuentes de nutrimentos menos costosas aunque hay que tomar en cuenta que *L. bulgaricus*, es muy exigente en cuanto a requerimientos nutricionales.

Una manera de reutilizar el carbón activado es por medio de la aplicación de camas de carbón granulado fijas, a través de las cuales se percolan y las camas adsorben las impurezas. Posteriormente el caldo se pasa a través de otra cama de adsorción y el carbón de la primera se regenera por

extracción con solventes.

- Costo del producto. De acuerdo a este método, se determinó que el precio por kilogramo de ácido láctico grado alimentario sería de \$0.76 (U.S dólares), que si se compara con el precio actual de Estados Unidos de Norteamérica para este tipo de ácido, \$1.06 (U.S dólares) (134), resulta por tanto más bajo.

C.-VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LA ADAPTACION DE ESTE PROCESO EN MEXICO

Se estima que la producción de suero en el país es de 100 millones de litros (138), lo que se considera un buen potencial de materia prima para este proceso. Se sugiere que esta planta se integre a otra que fabrique queso, con el objeto de utilizar el suero que resulta como subproducto, sería factible lograrlo al adecuar el tamaño de planta que cubra la demanda local. Las materias primas restantes también se encuentran disponibles en el país.

Como puede notarse en el análisis de costos, el carbón activado y el nutrimento son las materias primas más caras. Se sugiere que para reducir costos se prueben otros métodos de purificación, con el objeto de determinar el menos costoso y eficiente.

En cuanto al nutrimento, existen otras fuentes

alternas, como el liquido de remojo del maiz, esto sugiere realizar estudios para comparar y determinar cual cumple con los requisitos del microorganismo y resulte el más economico.

El costo del producto con el método expuesto anteriormente, es de \$0.76/kg de ácido láctico grado alimentario al 50% el cual es más bajo que el precio de este ácido en Estados Unidos. Por tanto podría considerarse una buena alternativa para producir ácido láctico grado alimentario, pero antes debe realizarse una evaluación técnica y económica más profunda del proceso, en México y estimar cual sería el costo del producto, si éste resulta menor que el precio de importación, convendría instalar una planta productora con un ligero exceso de capacidad con el objeto de exportar a otros países no productores, aunque hay que tomar en cuenta que existen otras tecnologías con otras materias primas y equipo y sería conveniente evaluarlas para poder establecer una comparación y determinar cual sería la más adecuada de acuerdo a las condiciones del país.

CAPITULO VII

CONCLUSIONES

Después de haber realizado una revisión bibliográfica se llegó a las siguientes conclusiones:

La producción de ácido láctico por síntesis química, tiene la ventaja de no requerir mucho equipo, ocupa poco espacio y el proceso es corto.

Por otra parte, existe la desventaja en los métodos investigados, que no proporcionan altos rendimientos debido a la formación de subproductos.

Se sugiere que para la adaptación de una síntesis química a nivel industrial los productos secundarios, puedan utilizarse en otras áreas químicas, o que se trate de que la reacción sea más selectiva, para lo cual debe investigarse sobre catalizadores más específicos, realizar una evaluación económica y determinar que proceso es más apropiado.

Dentro de los métodos químicos analizados, en la presente investigación se consideran más relevantes, la hidrólisis alcalina de azúcares y el proceso de hidroformilación; el primero presenta como ventajas las materias primas por la alta disponibilidad y el equipo aunque como desventaja se encuentra la formación de subproductos que imparten colores oscuros, por lo que se

sugiere que la reacción se controle con más cuidado e investigar si los productos secundarios, pueden utilizarse en otras áreas químicas o reciclarse para el mismo proceso. El segundo tiene la ventaja de que es un proceso muy selectivo y los subproductos pueden utilizarse en la industria, pero el catalizador no es muy accesible, lo que encarece la manufactura.

La producción de ácido láctico por métodos biotecnológicos, se considera la vía más adecuada, debido a que las materias primas que se utilizan, los carbohidratos, se encuentran disponibles en diversas fuentes, las cuales pueden ser desechos industriales de otros procesos y permiten el aprovechamiento del desperdicio industrial. Los rendimientos de la fermentación son altos y casi no se producen subproductos, debido al empleo de microorganismos específicos ya que de acuerdo a su metabolismo, la reacción es muy selectiva lo cual es importante a considerar a nivel industrial.

Las desventajas que presentan los procesos biotecnológicos, son los cuidados especiales que requieren las cepas, para conservarlas puras; el microorganismo productor de ácido láctico es muy exigente en lo que respecta a requerimientos nutricionales por lo que es necesario agregar al medio de cultivo nutrimentos complementarios. Los procesos biotecnológicos son largos, ya

que pueden durar hasta 6 días, la concentración de producto es baja y el equipo ocupa mucho espacio.

Se considera que los métodos biotecnológicos más apropiados son: producción a partir de melazas de caña de azúcar, de suero lácteo, de azúcar de maíz y de almidones por la disponibilidad y bajo costo de los mismos.

Se sugiere que la planta productora de ácido láctico se integre a los procesos en los que el carbohidrato resulte como subproducto lo cual reduciría los costos de manufactura.

Los métodos de purificación de ácido láctico, son pasos críticos en el proceso de producción, ya que este ácido se acompaña de muchas impurezas difíciles de separar y se eleva el costo del producto por los materiales y equipo que se requieren.

La purificación con el uso de alcoholes para la formación de ésteres y su hidrólisis acompañados de un proceso de destilación y el método de intercambio iónico, de acuerdo a lo que reporta la literatura son adecuados y eficientes, pero se sugiere un análisis de costos de ambos para elegir el más económico.

El ácido láctico no se produce en México, su consumo anual es bajo, alrededor de 800,000 kg y su precio es de \$960.00 (pesos mexicanos, para marzo de 1986), y se destina

en su mayoría al Área alimentaria debido a la variedad de aplicaciones que tiene en esta área.

Se considera factible producir ácido láctico en México por métodos biotecnológicos, debido a que existen materias primas y equipo, por lo que se recomienda realizar una evaluación técnica y económica de los procesos de producción a partir de suero lácteo, residuos de la industrialización de la caña de azúcar, almidones y azúcar de maíz y determinar el más adecuado en el país acuerdo a la demanda, sin dejar de tomar en cuenta la posibilidad de exportación hacia otros países no productores de ácido láctico.

CAPITULO VIII

BIBLIOGRAFIA

- 1.- BORSOK, H. and HOFFMAN, M. 1933. Crystalization of lactic acid. J. Biol. Chem. 102:449-460.
- 2.- PECKHAM, G.T. 1944. Comercial manufacture of lactic acid. Chem. Eng News. 22(6):440-445.
- 3.- The pharmaceutical Codex. 1979. The Pharmaceutical Press. London, England. p. 482.
- 4.- The Merck Index. 1983. Merck & Co. Inc. New Jersey, U.S.A. p. 5172-5174.
- 5.- Directory of World Chemical Producers. 1985/86. Chemical Information Services. New York, U.S.A.
- 6.- HOLTEN, C.H., MULLER, A. and REHBINDER, D. 1971. Lactic Acid. Verlag Chemie. International Research Asociation. Copenhagen, Den.
- 7.- CASIDA, L.E. 1968. Lactic Acid. Industrial Microbiology. John Wiley and Sons Inc. New York, U.S.A. p. 304-314.
- 8.- FISHER, C.H. and FILACHIONE, E. 1956. Lactic Acid and derivates. U. S. Dept. Agric. Bur. Agric. Ind. Chem. Mimeo. Circ. Ser. AIC-279.
- 9.- FILACHIONE, F. and CO-WORKERS. 1951. Bibliography on lactic acid and derivates. U. S. Dept. Agric. Bur. Agric.

Ind. Chem. Mimeo. Arc. Ser. AIC-295.

10.- BURNS, R. and CO-WORKERS. 1935. Pyrolysis of derivatives of alpha-acetoxypropionic acid and related substances. J. Chem. Soc. p. 400-406.

11.- SMITH, L and CO-WORKERS. 1942. Pyrolysis of lactic acid derivatives. Conversion of methyl-alpha-acetoxypropionate to methyl-acrylate. Ind. Eng. Chem. p. 473-479.

12.- Ibid. 1963. Polymerization of alkyl esteres of acrylic methacrylic acids. U.S. Pat. 3,100,200.

13.- REED, G. PRESCOTT and DUNN'S. 1982. Fermented Dairy Products. Lactic acid fermentation of cabbage, cucumbers, olives and other produce. Industrial Microbiology. Avi Publishing Company Inc. Connecticut, U.S.A. p. 116-121, 185-229.

14.- THOMPSON, J.B. and BUDMEYER, B.D. 1954. Improvement of flour mixing characteristics by stearyl lactic acid salt. Cereal. Chem. 31:341-342.

15.- LANDFRIED, B. 1961. Fatty acid lactylate-monoglyceride emulsifier composition for bakery products. U. S. Pat. 3,180,736.

16.- PERRY, I and CO-WORKERS. 1961. Shortening composition and emulsifier system therefore. U. S. Pat. 3,004,854.

- 17.- TAYLOR, G. and BREITZKE, W. 1952. Lactic acid from corn sugar. Ind. Eng. Chem. 44(9):1955-1966.
- 18.- STEARNS, J., MAKOWER, B. and GHOGGINS, P. 1940. Lactic acid as a component of synthetic resins. Ind. Eng. Chem. 32:1335-1343.
- 19.- LOCKWOOD, L., YODER, D. and ANN, M. 1965. Lactic acid. N. Y. Acad. Sci. 119:854.
- 20.- FEIN, M. and FISHER, C. 1950. Laurates of lactic acid esters. Org. Chem. 15:530-534.
- 21.- JUENGST, J. 1979. Use of total whey constituents animal feed. J. Dairy. Sci. 62:106-111.
- 22.- TINKER, H. 1978. Production of lactic acid. U. S. Pat. 4,072,709.
- 23.- BHATTACHARYYA, S. and CO-WORKERS. 1970. Catalytic synthesis of lactic acid from acetaldehyde, carbon monoxide and water. Ind. Eng. Chem. Prod. Res. Div. 9(1):92-95.
- 24.- BIOCHAND, J. and CO-WORKERS. 1967. Lactic acid from propylene. Fr. Pat. 1,465,640.
- 25.- THORNE, J and GEOFFREY, M. 1969. Synthetic Lactic acid. Chem. Proc. 15(1):8-9.
- 26.- MONTGOMERY, R and RONCA, R. 1953. Chemical production of lactic acid and other acids from molasses. Ind. Eng.

Chem. 45(5):1136-1143.

27.- NEF, J. and LIEBIGG, J. 1907. Dissociation reactions in sugar group. First paper. The behavior of sugars toward Fehling's solution and other oxidizing agents. Ann. Chem. 357:301.

28.- MICHEEL, F. 1956. Chemie der zucker und polysaccharide. Akad. Verlagsges. Leipzig. p. 38.

29.- WOLFROM, M. and LEWIS, W. 1928. Reactivity of the methylated sugars (II). Action of dilute alkali on tetramethyl glucose. J. Am. Chem. Soc. 50:837-854.

30.- LODER, D. and LEWIS, W. 1932. Reactivity of the methylated sugars (VI). Action of dilute alkali on 3-methyl glucose. J. Am. Chem. Soc. 54:1040-1054.

31.- SOWDEN, J., BLAIR, M. and KUENNE, D. 1957. Isomerization of C-14 labeled sugars to saccharinic acids. Adv. Carb. Chem. 12:35.

32.- EVANS, W., EDGAR, R. and HOFF, G. 1926. Mechanism of carbohydrate oxidation (IV) action of potassium hydroxide on d-glucose and d-galactose. J. Am. Chem. Soc. 48:2665.

33.- CORBETT, W. and LIDDLE, A. 1961. Alkali degradation of glucose and of some of its acetyl derivatives. J. Chem. Soc. p. 531-538.

34.- BERNHAVER, K. 1929. Oxidation and decomposition of sugar (III). Theory of sugar decomposition (IV) behavior of glucose in solutions of sulphuric acid. Biochem. Z. 210:175-185.

35.- WOLF, H. 1929. Lactic acid formation from sucrose under pressure. Biochem. Z. 210:458-465.

36.- SCHAFFER, P. and FRIEDEMANN, T. 1928. The determination of lactic acid in sugar solutions decomposed by alkali. J. Biol. Chem. p. 75-87.

37.- KORF, D., BOELHOUWER, C. and WATERMAN, H. 1960. Formation of lactic acid by alkaline decomposition of saccharose. J. Appl. Chem. 10:409-412.

38.- ATHENSTEDT, M. 1961. Paper chromatograms of sugars and their evaluation. Zuckerind. II. p. 605-611.

39.- SPLEGLER, O., LANDT, E. and OST, J. 1931. Decomposition of alkaline sugars solutions at high temperature II. Z. Ver. Deut. Zuckerind. 81:487-500.

40.- Ibid. 1932. Decomposition of alkaline sugar solutions at high temperatures III. Z. Ver. Deut. Zuckerind. 82:885-897.

41.- MIYAKE, B., HAYASHI, K. and SANDO, Y. 1942. Formation of lactic acid from cane sugar and molasses by the action of alkali. J. Soc. Trop. Agric. 14:291-297.

- 42.- MUKHERJEE, S. and OVAIST, M. 1970. Production of lactic acid from waste molasses, part III by chemical means. Proc. Annv. Conv. Sugar. Tech. 37:335-339.
- 43.- HART, R. 1946. Manufacture of lactic acid and salts thereof. Brit. Pat. 579,970.
- 44.- KOPRIVA, B. 1973. Alkaline sucrose decomposition. Sb. Vys. Sk. Chem. Technol. Praze, Protaviny. E37. p. 107-134.
- 45.- SLAUGH, L. and HILL, P. 1966. Hydroformilation of oleofins. U. S. Pat. 3,239,566.
- 46.- PRUETT, R. and SMITH, J. 1970. Hydroformilation process. U. S. Pat. 3,527,809.
- 47.- LODER, D. 1938. Organic acid synthesis. U. S. Pat. 2,265,945.
- 48.- BHATTACHARYYA, S. and SUDHIR, K. 1968. High pressure chemistry. J. Indian. Chem. Soc. 45(12):1151-1179.
- 49.- ROBERTSON, N., WELLESLEY. and SCHOENBRUNN, E. 1955. Preparation of lactic acid. U. S. Pat. 2,847,464.
- 50.- SAVATIEVNA, M. and ALEXANDROVNA, V. 1975. Method for preparing aliphatic hydroxy acids. U. S. Pat. 3,880,731.
- 51.- RUSAKOVA, M., PODGORNOVA, V. and KREITSBER, V. 1974. Aliphatic hydroxy acids. Brit. Pat. 1,378,736.

- 52.- MIRONOV, G. 1975. Aliphatic alfa-hidroxicarboxilic acids. Japan Kokai 75 14,625.
- 53.- MORRISON and BOYD. 1976. Aldehidos y Cetonas. Quimica orgánica. Fondo educativo interamericano. p. 656-657.
- 54.- Asahi Chemical Industry, Co. LTD. 1982. Lactic acid. Japan Kokai Tokkyo Koho J.P. 82 82,340.
- 55.- MARDDYAN, M., BERENSKII, I. and GABRIELIAN, S. 1972. Lactic acid. U. S. S. R. 355,154.
- 56.- GABRIELIAN, S. and TREGER, Y. 1973. Hydrolysis of alfa-chloropropionic acid and its sodium salt in aqueous alkaline solutions. Azerb. Khim. Zh. 31(9):715-716.
- 57.- KUZOROVITAKII, A. and MAKHANNIKOV, V. 1978. New method of preparing lactic acid. Arm. Khim. Zh. 31(9):715-716.
- 58.- TANTAYURA, G., YAVORSKII, A. and VOSTROVA, L. 1979. Synthetic lactic acid with high degree of purity. Khim. Prom-St. Ser. Reakt Osobo. Chist. Veshchestva. 6:25-27.
- 59.- TANAKA, T., KURODA, T. and KISHIMOTO, H. 1979. Synthesis of lactic acid from 1,1-dichloroacetone. 28(7):501-502.
- 60.- ALFREDSON, B. and SAMUELSON, O. 1968. Hydroxy acids formed by alkali treatment of hydrocellulose. Svensk. Pappers. Tidn. 19:679-686.

- 61.- OGATA, Y. and TOMIZAWA, K. 1981. Photooxidation of formic, acetic and propionic acids with aqueous hydrogen peroxide. *Can. J. Chem.* 59(1):14-18.
- 62.- PEPLER, H. and PERLMAN, D. 1979. Lactic acid. *Microbial Technology*. Vol. I. Academic Press. New York, U.S.A. p. 373-379.
- 63.- PELCZAR., REID. and CHAIN. 1982. Cultivo de las bacterias. *Microbiología*. Mc. Graw Hill. México D.F. p.89-90.
- 64.- QUINTERO, R. 1981. Proceso de la fermentación. *Ingeniería bioquímica*. Alhambra Mexicana. México D.F. p.17-18.
- 65.- STEINER, A. 1976. The lactic acid bacteria. The microbial world. Prentice Hall Inc. New Jersey, U.S.A. p. 678-684.
- 66.- LEHNINGER, A. 1982. Glucólisis. *Bioquímica*. Omega. Barcelona, España. p. 427-448.
- 67.- SMITH, L. and CLABORN, H. 1939. Utilization of lactic acid. *Ind. Eng. Chem. (News ed)*. 17:370.
- 68.- AIBA, S., HUMPREY, A. and MILLS, N. 1974. Kinetics. *Biochemical Engineering*. Academic Press Inc. New York, U.S.A. p. 115-116.
- 69.- KEMPE, L., HALVORSON, H. and PIRET, E. 1950. Effect of

continuously controlled pH on lactic acid fermentation. Ind. Eng. Chem. 42:1852-1857.

70.- LEONARD, R., PETERSON, W. and JOHNSON, H. 1948. Lactic acid from fermentation of sulfite waste liquor. Ind. Eng. Chem. 40:57-67.

71.- ORLA-JENSEN, S. 1919. The lactic acid bacteria. KGL. Danske Urdenskab. Selskabs. Skrifter. Naturvidenskab. Math. Afdel. Ser. B, 5:51-196.

72.- WOOD, H., ANDERSEN, A. and WERKMAN, CH. 1937. Growth factors for propionic and lactic acid bacteria. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 36:217-219.

73.- STILES, H. and PRUESS, L. 1938. Nutrient requirements of *L. delbrueckii* in the lactic fermentation of molasses. J. Bact. 36:149-153.

74.- TATUM, E. and PETERSON, W. 1935. Fermentation method for production of dextro-lactic acid. Ing. Eng. Chem. 27:1493.

75.- MULLER, J. 1941. Method of recovering calcium lactate and producing lactic acid from fermented wastes. U. S. Pat. 2,232,554.

76.- ARIES, R. 1952. Method of producing lactic acid. U. S. Pat. 2,588,460.

- 77.- WILLIAMS, A. 1945. Lactic acid from starch by-products. Ind. Fibres. Synt & By-products. 7(8):265-268.
- 78.- FIN, R., HALVORSON, H. and PIRET, O. 1950. Lactic acid from potatoes. Ind. Eng. Chem. 42:1857-1861.
- 79.- WHITIER, E. and ROGERS, L. 1931. Continuous fermentation in the production of lactic acid. Ind. Eng. Chem. 23:532-534.
- 80.- CHILDS, C. and WELSBY, B. 1966. Continuous lactic fermentation. Proc. Biochem. 8:441-444.
- 81.- CHIBATA, I. 1978. Preparation of immobilized systems. Immobilized enzymes. Research and Development. John Wiley and Sons. Inc. New York, U. S. A. p. 76-81.
- 82.- STENROSS, S. and LINKO, Y. 1982. Production of lactic acid with immobilized *Lactobacillus delbrueckii*. Biotech. Lett. 4(3):159-164.
- 83.- COMPERE, A. and GRIFFITH, W. 1981. Microorganism immobilization. U. S. Pat. 4,287,305.
- 84.- TIWARI, K. and CO-WORKERS. 1980. Influence of EDTA and its metal complexes on lactic acid fermentation. Zent. Bakt. Parasit. Infekt. Hyg. Abt. 2. Naturwiss. Mikrobiol. Land. Wirtsch. Technol. Umweltschutzessm. 135(3):223-225.
- 85.- Ibid. 1980. Lactic acid fermentation by *L. delbrueckii*

exposed to nitrogenous dyes. Indian. J. Microbiol. 19(2):69-70.

86.- Ibid. 1977. Influence of vitamins on fermentative production of lactic acid by *L. delbrueckii*. Proc. Indian. Natl. Sci. Acad. Part. B. 43(6):219-222.

87.- Ibid. 1980. Influence of aminoacids on fermentative production of lactic acid by *L. delbrueckii*. Proc. Nat. Acad. Sci. India. 50(2):73-76.

88.- OLIVE, T. 1936. Waste lactose is raw material for a new lactic acid process. Chem. Metal. Eng. 43(9):480-483.

89.- BURTON, L. 1937. Byproducts of milk. Food Industries. 9:571-575.

90.- SWABY, R. 1945. Production of lactic acid. J. Aust. Inst. Agr. Sci. 11:179-185.

91.- COX, G. and MACBEAN, R. 1977. Lactic acid production by *L. bulgaricus* in supplemented whey ultrafiltrate. Aust. J. Dairy. Tech. 32(1):19-22.

92.- TIWARI, K. and CO-WORKERS. 1979. The influence of mutagenic chemicals on lactic acid fermentation by *L. bulgaricus* AU. Zbl. Bakt. II. Abt. 134:748-750.

93.- Ibid. 1980. Lactic acid production from molasses by *L. bulgaricus* AU in presence of U, Th, Zr, and Tl. Zbl. Bakt.

II. Abt. 135:226-229.

94.- FRIES, K. 1949. Process of producing lactic acid. U. S. Pat. 2,474,046.

95.- KITAHARA, K. 1966. Method of producing lactic acid with *Streptolactobacillus*. U. S. Pat. 3,262,862.

96.- EDMOND, J. 1970. Process for the manufacture of D-lactic acid and its salts. U. S. Pat. 3,494,832.

97.- TIPAYANG, P. and KOZAKI, M. 1982. Lactic acid production by a new *Lactobacillus* sp., *Lactobacillus YACCIINOBIERCUS* Kozaki and Okada sp. nov. immobilized in calcium alginate. J. Ferment. Technol. 60(6):595-598

98.- KEENAN, T. 1967. Dehydrogenase activity of lactobacillus species. J. Dairy. Sci. 50(10):1585-1588.

99.- Ibid. 1968. Diacetyl production and utilization by lactobacillus species. J. Dairy. Sci. 51(2):188-191.

100.- TIWARI, K. and CO-WORKERS. 1977. Lactic acid production from molasses by mixed population of *Lactobacillus bulgaricus* and *L. delbrueckii*. Proc. Nat. Acad. Sci. India. 47(A), II. p. 130-132.

101.- Ibid. 1979. Lactic acid production from molasses by mixed population of lactobacilli. Zbl. Bakt. II. Abt. Bd. 134:544-546.

- 102.- WARD, G. and LOCKWOOD, L. 1936. Studies in the genus *Rhizopus* I. The production of dextro-lactic acid. J. Am. Chem. Soc. 58:1286.
- 103.- SNELL, R. 1964. Calcium L(+) lactate and L(+) lactic acid production. U. S. Pat. 3,125,494.
- 104.- NDLTE, A. 1940. Process for producing lactic acid. U. S. Pat. 2,261,926.
- 105.- BLAISTEN, R. 1947. Producción de ácido láctico a partir de melazas; por fermentación de un aerobio esporulado. Rev. Asoc. Bioq. Argentina. 188-190.
- 106.- SNELL. 1976. Lactic acid and its derivatives. Encyclopedia of industrial chemical analysis. Vol. 15. Interscience Publishers. p. 125-149.
- 107.- The United States Pharmacopoeia. The National Formulary. 1980. p. 430, 1070.
- 108.- British Pharmacopoeia. Vol. I. 1980. Her Majesty's Stationery Office. p. 230.
- 109.- Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. 1974. S. S. A. (Secretaría de Salubridad y Asistencia). p. 929.
- 110.- Food Chemicals Codex. 1981. National Academy Press. p. 159.
- 111.- RATCHFORD, W. 1951. Process for the purification of

- certain water-soluble hydroxycarboxylic acids. U. S. Pat. 2,539,472.
- 112.- FILACHIONE, E. and FISHER, C. 1947. Purification of lactic acid. U. S. Pat. 2,420,234.
- 113.- WENKER, H. 1943. Purifying hydroxy aliphatic acids. U. S. Pat. 2,334,524.
- 114.- SCHOPMEYER, H. 1944. Lactic acid purification. U. S. Pat. 2,350,370.
- 115.- WEISBERG, S. 1942. Preparation of lactic acid. U. S. Pat. 2,290,926.
- 116.- TOKIME, M. 1977. Continuous hydrolysis of methyl lactate. Japan Kokai 77 93,714.
- 117.- Daisel Chemical Industries, LTD. 1981. Purification of lactic acid. Tokkio Koho 81 65,841.
- 118.- SEPITKA, A. 1962. Isolation of pure lactic acid. Czech. 104,398.
- 119.- Ibid. 1964. Isolation and purification of lactic acid VI. Prumysl Potravin. 15:193-196.
- 120.- BACHMAN, B. 1962. Purification of lactic acid by esterification with ethanol. Przemysl. Ferment. 6(2):33-35.
- 121.- MARDON y PRUTTON. 1980. Soluciones. Fundamentos de

Fisicoquímica. Limusa. México. p. 306-310.

122.- WEISER, R. and GEANKOPLIS, C. 1955. Lactic acid purification by extraction. Ind. Eng. Chem. 47(4):858-863.

123.- BANSAL, T. and VISHWANATHAN, N. 1976. Recovery and purification of lactic acid. Ind. Chem. Eng. 18(2):24-28.

124.- KIRK-OTTMER. 1981. Ion Exchange. Encyclopedia of Chemical Technology. Vol. 13. Wiley Interscience. p. 678.

125.- HESLER, J. 1947. Preparation of acids. U. S. Pat. 2,415,558.

126.- CHILDS, C. 1962. Improvements in the manufacture of lactic acid. British patent. 907,321.

127.- DEVOS, F. 1981. Process for the recovery of alfa-hidroxy and alfa-amino carboxilic acids from sugar containing media. U. S. Pat. 4,288,619.

128.- JACQUEMENT, J. 1970. Purification of lactic acid. Ger Offen. 1,957,395.

129.- BORODA, T. 1965. Purification of technical grade lactic acid. Pishchევaya. Prom. Min. Vysshego. I. Srednego. Spets. Obrazov. Ukr. SSR. Mezhdovedstv. Resp. Nauchn. Tekhn. Sb. 1:96-102.

130.- Chemical Economics Handbook. SRI. International. (Stanford Research Institute). 1985. p. 670.5030A-1.

131.- IMCE (Instituto Mexicano de Comercio Exterior). SECOFI (Secretaría de Comercio y Fomento Industrial).

132.- Prove-Quim, S.A. de C.V. Proveedor de ácido láctico grado alimentario. Investigación directa. Marzo 1986.

133.- CABLE, P. and SITNAI, O. 1971. Manufacture of lactic acid. Aust. Commonw. Sci. Ind. Res. Organ. Div. Chem. Eng. Rep. No. CE/R-28.

134.- Chemical Marketing Reporter. QPD. (Oil-Paint and Drug Reporter) Enero de 1986.

135.- PETER, M.B. and TIMMERHAUS. 1968. Plant design and economics for chemical engineers. Mc. Graw-Hill. New York, U. S. A.

136.- MILLS, H.E. 1964. Cost of process equipment. Chem. Eng. 71(6):133.

137.- BUCHANAN, R.H. 1964. Fundamentals of cost engineering in the chemical industry. Reinhold, New York, U. S. A.

138.- Cámara de productos alimenticios elaborados con leche.