Lactic acid 회수를 위한 침전공정 최적화

최국화¹, 장용근², 김진현^{1*}

Optimization of Precipitation Process for the Recovery of Lactic Acid

Kook Hwa Choi¹, Yong Keun Chang², and Jin-Hyun Kim^{1*}

접수: 2010년 12월 7일 / 게재승인: 2011년 2월 14일

© 2011 The Korean Society for Biotechnology and Bioengineering

Abstract: In this study, precipitation process was developed for the recovery of the lactic acid from calcium lactate fermentation broth. Calcium lactate yield was improved by decreasing the solubility of calcium lactate through the addition of ethanol (25%, v/v) as a co-precipitant. The optimal lime type, lime concentration, stirrer speed, precipitation time, temperature, and solvent amount for Ca(LA)₂ precipitation were CaO, 0.0175 g/mL, 220 rpm, 24 h, 5°C, ethanol 25% (v/v), respectively. Lactic acid was easily and efficiently recovered from precipitated Ca(LA)₂ by adding sulfuric acid (Ca(LA)₂/H₂SO₄ molar ratio=1 : 1). In the model solution of organic acids and fermentation broth, the overall yields of recovered lactic acid were 62% and 55%, respectively, under the aforementioned optimal conditions.

Keywords: lactic acid, recovery, precipitation process, process parameters, optimization

1. 서론

Lactic acid (2-hydroxypropanoic acid) 생산은 미생물에 의한

발효나 화학적인 합성 방법을 사용하고 있으며, 현재 전체 생산의 50% 이상이 미생물에 의한 발효법을 사용하여 생산하고 있다. Lactic acid는 전통적으로 식품첨가제 등 식품분야와 수술용 봉합사 등 의약품 분야에 널리 이용되며 특히 최근에는 생분해성 및 생체활성 고분자 등의 기능성고분자 합성을 위한 플랫폼화합물 (platform chemicals)로 이용되어 그 수요가 계속 확대될 전망이다 [1]. 이와 같이 생분해성 고분자인 polylactic acid (PLA)를 생산하기 위해서는 대량 생산과 고순도 정제가 경제적으로 이루어 져야 한다. Lactic acid 생산방법 중에서 화학적인 합성방법으로는 racemic mixture (DL-lactic acid)가 얻어지기 때문에 고분자 물성을 자유롭게 조절하기에 부적합한 반면, 미생물 발효에 의한 방법은 미생물의 종류에 따라 한 가지 형태의 lactic acid만을 얻을 수 있다는 장점과 더불어 매년 재생산되는 바이오매스를 원료로 사용한다는 점과 화학적 합성법과는 달리 공해문제가 적은 청정기술이라는 장점을 가지고 있다 [2,3]. 그러나 발효공정으로 생산된 lactic acid는 발효액 내의 여러 가지 불순물들과 함께 존재하기 때문에 이들을 제거하기 위한 회수 공정이 필요하게 된다. 또한 lactic acid 생산 공정 중 분리 및 정제 과정이 전체 생산비용의 절반 이상 차지하기 때문에 발효액으로부터 효율적인 회수공정이 젖산의 경제적 생산에 필수적이다 [4]. 기존의 lactic acid 분리 방법으로는 결정화, 용매를 이용한 액-액 추출 등이 있고, 최근에는 반응추출, 전기투석, 나노여과, 반응증류, 역삼투법이 사용되고 있다 [5-8]. 하지만 이 방법들은 발효액에서 1차 정제는 유용하지만 고순도의 lactic acid를 얻기는 힘들다. Lactic acid의 전통적인 분리 및 정제 방법은 발효액으로부터 미생물을 제거한 다음 석회 (lime)를 첨가하여 calcium lactate[Ca(LA)₂] 형태로 침전시켜 이를 황산과 반응시켜 calcium sulfate (gypsum)를 침전/제거하여 lactic acid를 회수한다. 하지만 이 방법은 Ca(LA)₂의 높은 용해도로 인하여 lactic acid의 회수율이 매우 낮은

¹공주대학교 화학공학부

¹Department of Chemical Engineering, Kongju National University, Cheonan, Chungnam 330-717, Korea
Tel: +82-41-521-9361, Fax: +82-41-554-2640
e-mail: jinhyun@kongju.ac.kr

²한국과학기술원 생명화학공학과

²Department of Chemical and Biomolecular Engineering, Korea Advanced Institute of Science and Technology, 373-1 Guseong-dong, Yuseong-gu, Daejeon 305-701, Korea

문제점이 있다 [9,10]. 따라서 본 연구에서는 높은 $\text{Ca}(\text{LA})_2$ 의 용해도 문제를 해결하기 위하여, $\text{Ca}(\text{LA})_2$ 의 침전 조건을 최적화하고 침전된 $\text{Ca}(\text{LA})_2$ 용액에 황산을 처리하여 고순도, 고수율의 lactic acid를 회수할 수 있는 방법을 개발하고자 하였다. 특히 $\text{Ca}(\text{LA})_2$ 의 용해도를 낮추기 위하여 여러 종류의 유기용매 (ethanol, acetone, acetonitrile) 첨가에 따른 영향을 평가하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 시료

발효배양액 내의 주요 유기산을 기준으로 만든 모델용액은 lactic acid (Aldrich Co.), propionic acid (Junsei Co.), acetic acid (Acros Organics Co.), citric acid (Samchun Pure Chemical Co.)로 구성되었다. 모델용액으로부터 $\text{Ca}(\text{LA})_2$ 침전을 위해 여러 종류의 석회 CaO , CaCO_3 , $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (Junsei Co.)를 사용하였다. 또한 calcium lactate 형태로 생산되는 발효배양액 내의 $\text{Ca}(\text{LA})_2$ 의 침전 조건을 최적화하기 위하여 $\text{Ca}(\text{LA})_2$ (Fluka Co.) 모델용액을 사용하였다 (순도: 98%). 실제 calcium lactate 발효배양액은 *Lactobacillus paracasei*를 35°C, MRS 배지 (Difco Co.)에서 배양하고 발효배양액 (순도: 69%)으로부터 세포를 제거한 후 본 연구에 사용하였다. 발효배양액은 한국화학연구원으로부터 제공 받았다.

2.2. 유기산 분석

유기산 (lactic acid, acetic acid, propionic acid, citric acid) 분석을 위해 HPLC system (Waters, USA)을 이용하였다. 분석은 C_{18} column (4.6 × 150 mm, 5 μm, Beckman, USA)을 사용하였다. 이동상은 0.01 M H_2SO_4 이고, 유속은 0.7 mL/min, injection 부피는 10 μL로 하였으며 UV detector (210 nm)를 사용하였다. 표준물질은 Sigma-Aldrich 제품 (순도: 98%)을 사용하였다.

2.3. 침전공정

침전은 유기용매를 사용하여 용액 내 존재하는 $\text{Ca}(\text{LA})_2$ 의 용해도를 낮추어 $\text{Ca}(\text{LA})_2$ 의 침전을 유도하는 것으로 결국 유기용매에 대한 용해도 차이를 이용한 침전 방법이다. 본 연구에서 이용한 모델용액은 발효배양액 내의 주요 유기산을 기준으로 제조 하였다. 모델용액의 조성은 각각 lactic acid 69.641 g/L, propionic acid 1.935 g/L, acetic acid 4.362 g/L, citric acid 3.713 g/L이었다. 본 연구에서는 모델용액을 통하여 침전 조건들 (석회 종류, 석회 농도, 교반 속도, 침전 온도, 침전 시간, 유기용매 종류, 유기용매 첨가량)을 최적화하여

$\text{Ca}(\text{LA})_2$ 의 침전 효율을 극대화하고자 하였다. 먼저 상온에서 모델용액에 여러 종류의 유기용매 (ethanol, acetone, acetonitrile)를 첨가하여 충분히 반응시킨 후, 석회를 첨가하고 침전 조건 변화에 따른 $\text{Ca}(\text{LA})_2$ 의 침전 효율을 확인하였다. 침전된 $\text{Ca}(\text{LA})_2$ 를 감압여과 하여 침전물을 35°C에서 1일 건조하였다. Calcium lactate 형태로 생산되는 발효배양액 내의 $\text{Ca}(\text{LA})_2$ 의 침전 조건을 최적화하기 위하여 $\text{Ca}(\text{LA})_2$ (순도: 98%) 모델용액 (80 g/L)을 제조하여 실험을 수행하였다. $\text{Ca}(\text{LA})_2$ 모델용액을 통하여 침전 조건들 (침전 온도, 침전 시간, 유기용매종류, 유기용매 비율)을 최적화하여 $\text{Ca}(\text{LA})_2$ 의 침전효율을 극대화하고자 하였다. 먼저 제조한 $\text{Ca}(\text{LA})_2$ 모델용액 (80 g/L)에 유기용매를 첨가 하여 반응시킨 후, 8000 rpm에서 5분 동안 원심분리 하여 침전 조건 변화에 따른 $\text{Ca}(\text{LA})_2$ 의 침전 효율을 확인하였다. 침전된 $\text{Ca}(\text{LA})_2$ 를 감압여과 한 후, 35°C에서 1일 건조하였다. 실제 발효배양액의 경우에도 같은 방법으로 침전을 수행하였다. 실제 발효배양액의 침전 조건은 $\text{Ca}(\text{LA})_2$ 모델용액에서 얻은 최적 조건에서 수행하였다. 본 실험의 개략도를 Fig. 1에 나타내었다. 침전된 $\text{Ca}(\text{LA})_2$ 에 H_2SO_4 (Samchun Pure Chemical Co.)를 첨가하여 반응시킨 후 5000 rpm에서 30분 동안 원심분리 후 상등액으로부터 lactic acid를 회수하였다.

Fig. 1. Schematic diagram of precipitation process for recovery of lactic acid.

3. 결과 및 고찰

3.1. $\text{Ca}(\text{LA})_2$ 침전을 위한 석회종류, 석회농도 및 교반속도에 따른 영향

여러 가지 석회 (CaO , CaCO_3 , $\text{Ca}(\text{OH})_2$)를 이용하여 $\text{Ca}(\text{LA})_2$

Table 1. Effect of lime type on $\text{Ca}(\text{LA})_2$ precipitation (ethanol ratio: 25% (v/v), precipitation time : 24 h, precipitation temperature : 5°C)

Lime type	Lime concentration (g/mL)		
	0.0175	0.0350	0.0700
CaO	$\text{Ca}(\text{LA})_2$ precipitation	—	—
CaCO_3	No precipitation	$\text{Ca}(\text{LA})_2$ precipitation	—
$\text{Ca}(\text{OH})_2$	No precipitation	No precipitation	No precipitation

침전을 위한 최적의 석회를 선정하였다. 모델용액에 세 종류의 석회를 여러 농도로 첨가하고 ethanol 25% (v/v)를 첨가하여 5°C에서 24시간 침전한 결과를 Table 1에 나타내었다. CaO를 사용하였을 때 가장 적은 농도에서 Ca(LA)₂가 침전이 되는 것을 알 수 있었다. CaCO₃의 경우 CaO의 두 배의 농도에서 침전이 되었고, Ca(OH)₂의 경우 4배를 넣어주었을 때에도 침전이 유도되지 않았다. 따라서 CaO를 사용하였을 때 가장 효율적으로 Ca(LA)₂를 침전시킬 수 있어 석회의 종류를 CaO로 결정하였다. 또한 최적의 석회 농도를 결정하기 위하여 농도를 변화시켜 침전을 유도 한 후 침전물의 순도와 수율을 확인하여 Fig. 2에 각각 나타내었다. 침전 시 교반속도 130 rpm으로 실험을 수행한 경우, 침전된 Ca(LA)₂의 순도 (97%)와 수율 (42%) 측면에서 침전을 위한 CaO의 농도로 0.0175 g/mL이 가장 효과적임을 알 수 있었다. 그리고 0.0175 g/mL 이상의 농도에서는 용해에 문제가 있어 공정상 불가능한 것을 확인할 수 있었다. Fig. 2에서 최적의 농도가 CaO 0.0175 g/mL인 것을 확인 하였으나 같은 농도일 때 교반속도가 증가함에 따라 순도와 수율이 증가하는 것을 확인하여 다음 실험에서 교반속도에 따른 영향을 확인하였다. 석회 종류와 농도 선정 후 침전을 위한 최적의 교반속도를 확인하기 위해 모델용액에 ethanol 20% (v/v)와 CaO 0.0175 g/mL을 넣고 교반속도를 각각 100, 130, 160, 190, 220, 250 rpm로 하여 침전을 유도하고 침전물의 순도와 수율을 확인하였다. Fig. 3에서 보는 바와 같이 교반속도 220 rpm일 경우, 가장 높은 Ca(LA)₂ 순도 (95%), 수율 (54%)을 얻을 수 있었다.

Fig. 2. Effect of lime (CaO) concentration on the purity and yield of lactic acid at stirrer speed 100 rpm (a) and 130 rpm (b). The precipitation time, temperature, and ethanol ratio were 24 h, 5°C, and 20% (v/v), respectively.

Fig. 3. Effect of stirrer speed on the purity and yield of lactic acid. The precipitation time, precipitation temperature, ethanol ratio, lime type, and lime concentration were 24 h, 5°C, 20% (v/v), CaO, and 0.0175 g/mL, respectively.

3.2. 침전 시간 및 온도에 따른 영향

침전을 위한 석회와 교반속도 선정 후 침전시간에 따른 Ca(LA)₂의 순도와 수율 변화를 알아보기 위해 모델용액에 ethanol 20% (v/v)를 첨가하고 충분히 혼합한 후 CaO 0.0175 g/mL를 220 rpm으로 교반 하에서 녹이고 5°C에 보관하여 침전을 유도하였다. 침전 후 6시간 간격으로 침전물을 여과, 건조한 후 HPLC 분석을 수행하였다. Fig. 4에서 보는바와 같이 침전물의 순도에는 많은 변화가 없는 반면 수율은 침전 24시간부터 급격히 증가함을 확인 할 수 있었다. 그리고 24시간 이후에는 거의 변화가 없음을 확인 할 수 있었기 때문에 침전 시간을 24시간으로 하였을 때 침전이 모두 일어났다고 판단하여 침전시간 24시간을 고정변수로 놓고 다음 실험을 수행하였다.

Fig. 4. Effect of precipitation time on the purity and yield of lactic acid. The precipitation temperature, ethanol ratio, stirrer speed, lime type, and lime concentration were 5°C, 20% (v/v), 220 rpm, CaO, and 0.0175 g/mL, respectively.

일반적으로 침전공정에서 보관온도는 생성물의 용해도에 큰 영향을 미친다 [11]. 따라서 침전 온도는 침전공정에서

중요한 공정변수이므로 보관온도 변화에 따른 $\text{Ca}(\text{LA})_2$ 순도와 수율을 확인하였다. 모델용액에 ethanol 20% (v/v)를 넣고 충분히 혼합한 후 CaO 0.0175 g/mL를 220 rpm으로 교반시켜 녹여 준 뒤 보관온도를 0, 5, 10, 15°C로 하여 침전을 수행하였다. Fig. 5에서 보논바와 같이 모델용액이 0°C 이하에서는 얼기 때문에 침전을 수행하기에 어려움이 있었으며, 5°C에 보관할 경우 $\text{Ca}(\text{LA})_2$ 순도 (98%), 수율 (59%) 측면에서 가장 최적임을 알 수 있었다.

Fig. 5. Effect of precipitation temperature on the purity and yield of lactic acid. The precipitation time, ethanol ratio, stirrer speed, lime type, and lime concentration were 24 h, 20% (v/v), 220 rpm, CaO , and 0.0175 g/mL, respectively.

3.3. 유기용매에 따른 영향

침전공정에서 유기용매 첨가는 생성물의 용해도에 큰 영향을 미치고, 유기용매의 종류에 따라서도 영향을 받는다 [10]. 따라서 유기용매 종류와 첨가량은 침전공정에서 중요한 공정 변수 중에 하나라고 할 수 있다. 유기용매 종류와 첨가량에 대한 영향을 알아보기 위하여 모델용액에 유기용매를 ethanol, acetonitrile, acetone으로 변화시키고, 유기용매의 부피 비를 각각 15, 20, 25, 30% (v/v)로 변화시켜 첨가하고 CaO 0.0175 g/mL를 220 rpm으로 교반시켜 녹여 준 뒤 보관온도를 5°C로 하여 침전을 유도하였다. 침전된 $\text{Ca}(\text{LA})_2$ 를 HPLC로 분석하여 얻은 순도, 수율 결과를 Fig. 6과 Fig. 7에 각각 나타내었다. Fig. 6에서는 ethanol, acetonitrile, acetone을 사용하였을 때 결과를, Fig. 7에서는 세 종류의 유기용매의 부피 비가 25% (v/v)로 동일 할 때 용매 종류에 따른 순도, 수율을 각각 나타내었다. Ethanol 25% (v/v)일 때 순도 (98%), 수율 (69%) 측면에서 $\text{Ca}(\text{LA})_2$ 의 침전에 가장 효과적인 것을 알 수 있었다. 기존 문헌 [10]에는 ethanol ratio가 20%-30% (v/v)일 때 침전에 가장 효과적인 것으로 보고하여 본 실험의 결과와 유사함을 알 수 있었다. 또한 모델용액으로부터 얻은 최적의 침전 조건인 ethanol 25% (v/v)를 모델 $\text{Ca}(\text{LA})_2$ 용액에 첨가하고 충분히 섞어 준 후에 8000 rpm에서 5분 동안 원심분리를 하여 5°C에서 보관하여 침전을 유도한 결과, 높은 순도 (98%)와 수율 (87%)의 $\text{Ca}(\text{LA})_2$ 침전물을 얻을 수 있었다.

Fig. 6. Effect of solvent ratio on purity and yield of lactic acid at various solvent types: (a) ethanol, (b) acetonitrile, (c) acetone. The precipitation temperature, precipitation time, lime type, lime concentration and stirrer speed were 5°C, 24 h, CaO , 0.0175 g/mL and 220 rpm, respectively.

Fig. 7. Effect of solvent type on purity and yield of lactic acid at fixed solvent ratio (25%, v/v). The precipitation temperature, precipitation time, lime type, lime concentration and stirrer speed were 5°C, 24 h, CaO , 0.0175 g/mL and 220 rpm, respectively.

3.4. 유기산 회수를 및 H₂SO₄ 반응에 의한 lactic acid 회수

Fig. 1에서 보는 바와 같이 Step 1에서 회수한 Ca(LA)₂에서 lactic acid를 회수하기 위하여 Ca(LA)₂ 용액과 H₂SO₄를 반응시켜 calcium sulfate (CaSO₄, gypsum)를 침전시키는 방법을 사용하였다. 기존의 문헌 [12]에 의하면 Ca(LA)₂과 H₂SO₄의 반응의 최적 조건이 Ca(LA)₂/H₂SO₄ molar ratio의 범위가 0.95-1.02로 보고되어 있다. 이를 토대로 본 연구에서는 Ca(LA)₂와 H₂SO₄의 molar ratio를 1 : 1로 하여 침전된 Ca(LA)₂로부터 lactic acid 회수 가능성을 확인하였다. 먼저 모델용액의 경우, 용액 내에 존재하는 주요 유기산 (lactic acid, acetic acid, propionic acid, citric acid)의 단계별 회수율을 확인하여 Table 2에 나타내었다. Step 1은 Ca(LA)₂ 침전공정 후 수율을 나타낸 것이고, Step 2는 H₂SO₄와 반응 후 수율을 나타낸 것이다. Table 2를 보면 Step 1에서는 acetic acid, propionic acid, citric acid는 각각 78%, 70%, 89% 회수되었지만 Step 2에서는 propionic acid는 모두 제거가 되었고, acetic acid와 citric acid는 각각 79%, 84% 회수됨을 알 수 있었다. 발효배양액의 경우, Step 1에서는 acetic acid, propionic acid, citric acid는 각각 82%, 72%, 84% 회수되었지만 Step 2에서는 propionic acid는 모두 제거가 되었고,

acetic acid와 citric acid는 각각 77%, 89% 회수됨을 알 수 있었다. 총괄 수율은 모델용액에서 lactic acid 62%, acetic acid 62%, citric acid 75%를 각각 얻었으며 발효배양액에서 lactic acid 55%, acetic acid 63%, citric acid 75%를 각각 얻었다. 또한 Step 1로부터 얻은 Ca(LA)₂ 침전물과 Step 2로부터 얻은 CaSO₄ 침전물의 모양을 전자현미경으로 분석한 결과를 Fig. 8과 Fig. 9에 각각 나타내었다.

Fig. 9. Electron micrograph of the calcium sulfate (CaSO₄) precipitate.

Table 2. Step and overall yield in model solution and fermentation broth

Sample	Organic acid (Concentration, g/L)	Step 1 yield (%)	Step 2 yield (%)	Overall yield (%)
Model solution	Lactic acid (69.641)	70	89	62
	Acetic acid (4.362)	78	79	62
	Propionic acid (1.935)	70	0	0
	Citric acid (3.713)	89	84	75
Fermentation broth	Lactic acid (69.641)	64	86	55
	Acetic acid (4.362)	82	77	63
	Propionic acid (1.935)	72	0	0
	Citric acid (3.713)	84	89	75

Fig. 8. Electron micrograph of the calcium lactate (Ca(LA)₂) precipitate.

4. 요약

본 연구에서는 Ca(LA)₂의 침전조건을 최적화하고 침전된 Ca(LA)₂ 용액에 황산을 처리하여 고순도, 고수율의 lactic acid를 회수할 수 있는 방법을 개발하고자 하였다. 특히 Ca(LA)₂의 용해도를 낮추기 위하여 여러 종류의 유기용매 첨가에 따른 영향을 평가하였다. 모델용액의 경우 침전을 위한 최적의 석회종류, 석회량, 교반속도, 시간, 온도, 유기용매 첨가량은 각각 CaO, 0.0175 g/mL, 220 rpm, 24 h, 5°C, ethanol 25% (v/v)이었으며 최적 조건 하에서 가장 높은 순도 (98%)와 수율 (69%)을 얻을 수 있었다. 발효배양액 (lactic acid 순도: 69%, pH: 7.3)의 경우, 모델용액으로부터 얻은 최적의 조건 하에서 Ca(LA)₂ 회수 과정에서 64%, 회수된 Ca(LA)₂에 황산을 첨가 (Ca(LA)₂/H₂SO₄ molar ratio = 1 : 1)하여 lactic acid를 회수하는 과정에서 86%의 회수율을 각각 얻어 발효배양액으로부터 총괄 수율 55%로 lactic acid (순도: 88.6%)를 얻을 수 있었다.

감사

본 연구는 지식경제부 지원 “Industrial Source Technology Development Programs (No. 10032001)”에 의해 수행되었으며 연구비 지원에 감사드립니다.

References

1. Sauer, M., D. Porro, D. Mattanovich, and P. Branduardi (2008) Microbial production of organic acids: expanding the markets.

Trends Biotechnol. 26: 100-108.

2. Liu, B., M. Yang, B. Qi, X. Chen, Z. Su, and Y. Wan (2010) Optimizing L-(+)-lactic acid production by thermophile *Lactobacillus plantarum* As.1.3 using alternative nitrogen sources with response surface method. *Biochem. Eng. J.* 52: 212-219.
3. Cui, F., Y. Li, and C. Wan (2010) Fermentative production of L-(+)-lactic acid using hydrolyzed acorn starch, persimmon juice and wheat bran hydrolysate as nutrients. *Bioresour. Technol.* 101: 3642-3648.
4. Vaidya, A. N., R. A. Pandey, S. Mudliar, M. S. Kumar, Y. Chakrabarti, and S. Devotta (2005) Production and recovery of lactic acid for polylactide-An overview. *Crit. Rev. Environ. Sci. Tech.* 35: 429-467.
5. Lee, E. G., S. H. Kang, H. H. Kim, and Y. K. Chang (2006) Recovery of lactic acid from fermentation broth by the two-stage process of nanofiltration and water-splitting electrodialysis. *Biotechnol. Bioprocess Eng.* 11: 313-318.
6. Yi, S. S., Y. C. Lu, and G. S. Luo (2008) Separation and concentration of lactic acid by electro-electrodialysis. *Sep. Purif. Technol.* 60: 308-314.
7. Ataei, S. A. and E. Vasheghani-Farahani (2008) In situ separation of lactic acid from fermentation broth using ion exchange resins. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 35: 1229-1233.
8. Liew, M. K. H., S. Tanaka, and M. Morita (1995) Separation and purification of lactic acid: Fundamental studies on the reverse osmosis down-stream process. *Desalination* 101: 269-277.
9. Kaufman, E. N., S. P. Cooper, S. L. Clement, and M. H. Little (1995) Use of a biparticle fluidized-bed bioreactor for continuous and simultaneous fermentation and purification of lactic acid. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 45-46: 605-620.
10. Park, S. C., S. M. Lee, Y. J. Kim, W. S. Kim, and Y. M. Koo (2006) Recovery of lactic acid from fermentation broth using precipitation and reactive distillation. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* 21: 199-203.
11. Jeon, S. I., S. Mun, and J. H. Kim (2006) Optimal temperature control in fractional precipitation for paclitaxel pre-purification. *Process Biochem.* 41: 276-280.
12. Mizrahi, J., A. Eyal, C. Riki, B. Hazan, and J. N. Starr (2006) Process for producing a purified lactic acid solution. US Patent 7,026,145 B2.