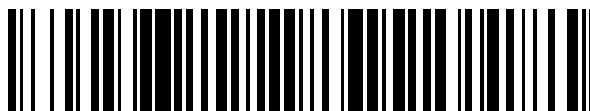


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 753 030**

51 Int. Cl.:

**C12P 7/56** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.12.2012 PCT/EP2012/075659**

87 Fecha y número de publicación internacional: **20.06.2013 WO13087901**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.12.2012 E 12801612 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.08.2019 EP 2791348**

54 Título: **Procedimiento de producción fermentativa de ácido láctico a partir de un extracto de plantas en presencia de una sal de magnesio cáustico**

30 Prioridad:

**16.12.2011 EP 11194094  
16.12.2011 US 201161576374 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**07.04.2020**

73 Titular/es:

**PURAC BIOCHEM BV (100.0%)  
Arkelsedijk 46  
4206 AC Gorinchem, NL**

72 Inventor/es:

**BAETS, PETER JOHANNES MARIE**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

**ES 2 753 030 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Procedimiento de producción fermentativa de ácido láctico a partir de un extracto de plantas en presencia de una sal de magnesio cáustico

La presente invención se refiere a la producción de ácido láctico por medio de fermentación.

5 El ácido láctico se puede usar en numerosas aplicaciones, tal como la conservación de alimentos y la preparación de polímeros biodegradables. En algunas de estas aplicaciones la calidad del ácido láctico de partida es de suma importancia. Por ejemplo, en la producción de láctido y ácido poliláctico es deseable comenzar con un ácido láctico con alta pureza estereoquímica. Además, la presencia de impurezas en el ácido láctico de partida puede producir una racemización indeseable de restos de ácido láctico que derivan en un láctido y un producto de ácido poliláctico de menor calidad.

10 Las crecientes demandas de productos de alta calidad junto con la necesidad de lograr costos de producción compatibles con el mercado de los productos básicos, hacen que la capacidad de reducir los costos de los materiales de partida para la producción de ácido láctico, al mismo tiempo sin comprometer la calidad, sea esencial.

15 El ácido láctico a menudo se fabrica a través de la fermentación de carbohidratos por microorganismos. A pesar de la práctica tradicional de producir ácido láctico mediante fermentación, uno de los desafíos aún vigentes en la fabricación de ácido láctico es obtener el ácido en una forma relativamente pura, y al mismo tiempo llevar a cabo el procedimiento de manera económica en una escala comercialmente atractiva.

20 Las fuentes de carbohidratos comunes utilizadas en dichos procedimientos de fermentación incluyen azúcar de remolacha purificada, azúcar de caña, almidones y derivados de almidón tal como jarabes de glucosa refinada que se originan a partir de la hidrólisis del almidón, cuyos almidones pueden ser almidón de maíz, almidón de tapioca, almidón de trigo, almidón de patata, y similares. Para reducir los costos de producción del ácido láctico producido por fermentación, es deseable utilizar una fuente de carbohidratos económica. Por ejemplo, se pueden usar fuentes no refinadas de carbohidratos fermentables. Dichas fuentes no refinadas pueden ser extractos de plantas no refinados o productos intermedios o subproductos de la industria agrícola, tal como jarabe de almidón, melaza, suero, derivados de la caña tal como jugo de caña crudo y bagazo hidrolizado.

25 En general, las impurezas solubles e insolubles están presentes en cantidades sustanciales en extractos de plantas no refinados. Dichas impurezas pueden causar problemas en la producción de ácido láctico, por ejemplo, pueden inhibir el crecimiento de los microorganismos productores de ácido láctico o pueden dificultar la recuperación del producto final de ácido láctico. Esto es particularmente problemático para los extractos de plantas con un contenido relativamente bajo de carbohidratos fermentables. En tales extractos de plantas, la concentración de impurezas (y en particular sales de, por ejemplo, cationes de sodio, potasio y calcio) en relación con la concentración de azúcar fermentable es relativamente alta cuando se compara con, por ejemplo, extractos de plantas con mayores concentraciones de carbohidratos fermentables. En general, los caldos de fermentación obtenidos de extractos de plantas con bajo contenido de azúcar también tienen una mayor concentración de impurezas en relación con el producto de ácido láctico, lo que implica la necesidad de una purificación extendida del ácido láctico. Estos inconvenientes hacen que los extractos de plantas con un contenido relativamente bajo de carbohidratos fermentables sean fuentes de carbohidratos pobres para la producción de ácido láctico a través de fermentación. Sin embargo, dada la disponibilidad de materias primas, que en numerosas ocasiones simplemente se descartarían, existe un interés en usar tales extractos de plantas.

40 El documento US 2010/0112652 describe un procedimiento para producir ácido láctico por fermentación de un extracto de caña de azúcar por medio de microorganismos que pertenecen al género *Bacillus* o *Sporolactobacillus*, mediante el cual el medio de fermentación es autosuficiente. Durante la fermentación, se añade hidróxido de calcio para mantener el pH del medio de fermentación.

45 Kosugi et al. (J. Bioscience and Bioengineering, 2010 vol. 110, p,322) describen la producción de etanol y ácido láctico por medio de fermentación usando savia exprimida de viejos troncos de palma aceitera talados para replantar. En dicho documento, una dilución de 5 veces de un jugo (para obtener una concentración final de azúcar de 16,7 g/L, obtenida de la parte interior de los troncos de la palma aceitera) se fermenta para proporcionar ácido láctico. La producción de ácido láctico en el medio de fermentación se controla mediante cromatografía de intercambio aniónico de alto rendimiento. Dicho documento no aborda la recuperación del ácido láctico del caldo de fermentación.

50 El documento US 3.429.777 describe un procedimiento para la producción de lactato de magnesio a partir de soluciones de ácido láctico crudas y altamente impuras contaminadas con proteínas solubles y fosfatos solubles, en el que se añade hidróxido de magnesio al caldo de fermentación después de finalizar la fermentación. En dicho documento se desvela especialmente un procedimiento para producir lactato o ácido láctico a partir de un extracto de plantas por medio de fermentación que comprende:

- a. proporcionar un medio de fermentación que comprende al menos 100% en peso de un extracto de plantas que contiene carbohidratos fermentables;

b. fermentar el medio de fermentación por medio de un microorganismo productor de ácido láctico en presencia de una sal de magnesio cáustico para proporcionar un caldo de fermentación que contiene lactato de magnesio al final de la fermentación, en el que el lactato de magnesio está en forma de cristal al final de la fermentación,

c. recuperar lactato o ácido láctico del caldo de fermentación que contiene lactato de magnesio,

5 en el que el medio de fermentación contiene carbohidratos fermentables en una concentración de aproximadamente 15% en peso (15 grados Brix).

El documento WO 00/17378 desvela un procedimiento para producir lactato o ácido láctico por medio de fermentación que comprende:

a. proporcionar un medio de fermentación que comprende carbohidratos fermentables,

10 b. fermentar el medio de fermentación por medio de un microorganismo productor de ácido láctico en presencia de una sal de magnesio cáustico para proporcionar un caldo de fermentación que contiene como máximo 9,5% en peso de lactato de magnesio al final de la fermentación, el lactato de magnesio está en forma soluble durante y al final de la fermentación,

c. recuperar lactato o ácido láctico del caldo de fermentación que contiene lactato de magnesio.

15 La recuperación de lactato o ácido láctico comprende:

i) someter el caldo de fermentación que contiene lactato de magnesio a una separación de sólido/líquido para proporcionar un medio que comprende lactato de magnesio en solución y un desecho sólido,

ii) concentrar el medio que comprende lactato de magnesio para proporcionar un medio concentrado que comprende cristales de lactato de magnesio,

20 iii) someter el medio concentrado que comprende cristales de lactato de magnesio a una separación de sólido/líquido para proporcionar cristales de lactato de magnesio.

El documento EP 2.239.333 se refiere a procedimientos para la recuperación de componentes de corrientes de jugo bio-orgánico usando intercambio iónico. El jugo bio-orgánico es generalmente una solución acuosa que comprende componentes derivados de plantas, animales y/o microorganismos. En los ejemplos, el ácido láctico se recupera del jugo de pasto de trigo fermentado con una resina de intercambio iónico y aniónico débil. La recuperación del ácido láctico del jugo fermentado con una resina de intercambio aniónico es un procedimiento costoso y complejo si se aplica a escala industrial. Una desventaja particular del uso de intercambiadores iónicos es la necesidad de ciclos de regeneración costosos que generan subproductos de desecho.

El documento WO 2006/001034 (Reliance Life Sciences PVT Ltd.) describe un procedimiento de producción de ácido poliláctico a partir de la fermentación de materias primas agrícolas renovables para evitar problemas de eliminación de desechos, el procedimiento comprende las etapas de: i) preparar un medio de fermentación con melaza como fuente de carbono; ii) fermentar dicho medio de fermentación; iii) extraer ácido láctico de dicho medio de fermentación; iv) eliminar el pigmento de dicho ácido láctico; v) purificar y concentrar dicho ácido láctico; vi) preparar láctido a partir de dicho ácido láctico; y vii) polimerizar dicho láctido para formar dicho ácido poliláctico.

35 Se desvela un procedimiento para producir lactato o ácido láctico por medio de fermentación de un microorganismo productor de ácido láctico, que comprende el uso de un medio de fermentación que comprende un extracto de plantas como fuente de carbohidratos fermentables, en el que el extracto de plantas está presente en el medio de fermentación en una concentración de al menos 25% en peso, y la adición de una sal de magnesio cáustico durante la fermentación para producir un caldo de fermentación que contiene lactato de magnesio, en el que las condiciones de fermentación son tales que la concentración de lactato de magnesio en el caldo de fermentación al final de la fermentación es como máximo de 9,5% en peso y en el que ninguna precipitación de lactato de magnesio en el caldo de fermentación, durante la fermentación o cuando la fermentación ha finalizado, ocurre o ha ocurrido.

40 Dicha fermentación permite ventajosamente la purificación del caldo de fermentación mediante un procedimiento que comprende, en primer lugar, separar el material sólido, que incluye la biomasa, del caldo de fermentación, y después 45 cristalizar el lactato de magnesio del caldo clarificado.

La presente invención proporciona un procedimiento para producir lactato o ácido láctico a partir de un extracto de plantas por medio de fermentación que comprende:

a. proporcionar un medio de fermentación que comprende al menos 25% en peso de un extracto de plantas que contiene carbohidratos fermentables,

50 b. fermentar el medio de fermentación por medio de un microorganismo productor de ácido láctico en presencia

de una sal de magnesio cáustico para proporcionar un caldo de fermentación que contiene como máximo 9,5% en peso lactato de magnesio al final de la fermentación, en el que el lactato de magnesio está en forma soluble durante y al final de la fermentación,

y

- 5 c. recuperar lactato o ácido láctico del caldo de fermentación que contiene lactato de magnesio,

en el que el medio de fermentación contiene carbohidratos fermentables en una concentración como máximo de 9,5% en peso.

10 La concentración de lactato de magnesio en el caldo de fermentación al final de la fermentación típicamente se puede medir a la temperatura a la que se realizó la fermentación, como se describe a continuación en la presente memoria. El valor como máximo de 9,5% en peso se obtiene cuando se mide a una temperatura de 80°C.

Para obtener una concentración de lactato de magnesio en el caldo de fermentación al final de la fermentación que es como máximo de 9,5% en peso, el medio de fermentación que comprende el extracto de plantas contiene carbohidratos fermentables en una concentración como máximo de 9,5% en peso. El límite inferior para la cantidad de carbohidratos fermentables generalmente se determina por consideraciones económicas y puede ser de 0,5% en peso.

- 15 El extracto de plantas que se usa en el medio de fermentación tiene una fase líquida, y la fase líquida del extracto de plantas contiene una cantidad baja de carbohidratos fermentables, preferentemente una cantidad de 0,5-9,5% en peso de carbohidratos fermentables.

20 Actualmente se ha encontrado que el uso de una sal de magnesio cáustico como un agente de neutralización en la fermentación de tales extractos de plantas "con bajo contenido de azúcar" ventajosamente hace que estos extractos de plantas con bajo contenido de azúcar sean fuentes de carbohidratos viables para la producción de ácido láctico. En particular, el procedimiento como se describe en la presente memoria permite obtener ácido láctico con buen rendimiento y pureza, en particular una buena pureza estereoquímica. Además, el procedimiento que se describe en la presente memoria permite mantener al mínimo cualquier etapa de purificación, concentración o dilución del extracto de plantas con bajo contenido de azúcar, minimizando de este modo la pérdida de azúcar. En definitiva, el procedimiento como se describe en la presente memoria es particularmente adecuado para producir ácido láctico a escala industrial. Estas y otras ventajas de usar un extracto de plantas con bajo contenido de azúcar como fuente de carbohidratos para la producción de ácido láctico mediante fermentación con una sal de magnesio cáustico se harán evidentes a partir de la siguiente descripción más detallada de la presente invención.

- 30 En principio, el extracto de plantas para usar en el procedimiento que se describe en la presente memoria se puede derivar de cualquier material de plantas, originado de plantas cultivadas (plantas de cultivo), de plantas silvestres, así como de mezclas de plantas.

35 Son de particular interés los materiales de plantas o extractos de plantas que están disponibles en abundancia. Por ejemplo, los subproductos derivados de plantas o corrientes de desechos de la industria agrícola (por ejemplo, hojas de palma aceitera) o de cualquier otra industria involucrada con el procesamiento de materiales de plantas (por ejemplo, desechos de patata, lodos de papel, desechos de mazorcas de maíz, desechos de pan) pueden ser de interés. El término "extracto de plantas", como se usa en la presente memoria, se refiere a un material que se obtiene de plantas y/o partes de plantas por medios físicos (por ejemplo, mediante triturado, prensado, calentamiento, tratamientos asistidos por campo eléctrico pulsado, tratamientos de cizallamiento y tratamientos de ondas de presión), por medios químicos (por ejemplo, por tratamiento con un ácido, una base, un disolvente) y/o por medios bioquímicos (por ejemplo, por tratamiento con enzimas hidrolíticas, microorganismos).

40 El extracto de plantas en principio se puede obtener de plantas enteras y/o de cualquier parte de una planta, por ejemplo, hojas, tallos, flores, frutos, semillas, cáscaras, raíces. En general, el contenido de los carbohidratos fermentables de extractos de, por ejemplo, hojas y tallos puede ser menor que el de otras partes de la planta, tal como las frutas. Sin embargo, se puede usar cualquier parte de la planta.

- 45 Un ejemplo es un extracto de hojas de palma aceitera. Las palmas aceiteras son palmeras tropicales de especies tal como *Elaeis guineensis* y *Elaeis oleifera* que se usan en la producción de aceite. El aceite se extrae tanto de la pulpa de la fruta (aceite de palma) como de la semilla (aceite de semilla de palma, usado en alimentos y para la fabricación de jabón). El aceite de palma se usa ampliamente para fines industriales y es el aceite vegetal más producido. Durante la cosecha de frutos de la palma aceitera, las hojas compuestas de las palmeras aceiteras se cortan para alcanzar los racimos de frutos que contienen el aceite de palma. Dichas hojas compuestas se denominan comúnmente hojas de palma aceitera (OPF) y cada limbo se divide en lo que se conoce como folíolos. Después de la cosecha de los frutos de la palma aceitera, las hojas de palma aceitera normalmente se abandonan en el campo de plantación, en el que se degradan naturalmente bajo condiciones tropicales. En 2009, 83 millones de toneladas de hojas de palma se encontraban disponibles en Malasia. En una realización, un extracto de plantas como se describe en la presente memoria ventajosamente es un extracto de hojas de palma aceitera (extracto de OPF). Los folíolos de las hojas de palma aceitera se pueden retirar antes de obtener el

extracto de OPF. Por ejemplo, se puede obtener una pulpa de OPF o un jugo de OPF a partir de hojas de palma aceitera enteras o de hojas de palma aceitera sin folíolos.

5 Otros ejemplos de extractos de plantas adecuados incluyen, por ejemplo, extractos de plantas obtenidos de cultivos tal como césped forrajero, maíz, arroz, alfalfa, trigo, trébol, espinaca, soja, plantas leguminosas, granos, remolachas, guisantes, judías, patatas, zanahorias, colza, yuca, batata, caña de azúcar, algas, soja, cultivos de fibra tal como lino y cáñamo, verduras, desechos vegetales y otros.

10 Las corrientes obtenidas de partes de plantas procesadas industrialmente, que incluyen las corrientes de desechos resultantes de tales procedimientos (por ejemplo, desechos de patata, lodos de papel, desechos de mazorcas de maíz, desechos de pan) también pueden usarse como extracto de plantas. Un ejemplo particular de dicho extracto de plantas es un lodo de papel hidrolizado obtenido mediante la hidrólisis del lodo de papel con enzimas celulolíticas. Véase, por ejemplo, el artículo "Hydrolysis of Paper Sludge Using Mixed Cellulase System: Enzymatic Hydrolysis of Paper Sludge" por Sang-Mok Lee et al., en el capítulo 10 (páginas 121-138) del libro Biological Systems Engineering, de 2002, que describe la preparación de un lodo de papel hidrolizado.

15 El extracto de plantas tiene una fase líquida y opcionalmente puede tener una fase sólida. En particular, el extracto de plantas puede estar en forma líquida o en forma semisólida. Por ejemplo, el extracto de plantas puede ser una pulpa (forma semisólida) o un jugo (forma líquida). El jugo de plantas puede ser un jugo clarificado o puede comprender partículas sólidas, como las partículas sólidas suspendidas en un jugo turbio.

20 Los extractos de plantas son extractos de plantas que tienen un contenido bajo de carbohidratos fermentables, es decir, de 0,5 a 9,5% en peso de carbohidratos fermentables en la fase líquida del extracto de plantas. En particular, la cantidad de carbohidratos fermentables en la fase líquida del extracto de plantas puede oscilar de 2 a 9,5% en peso o de 3 a 9,5% en peso. Alternativamente, la cantidad de carbohidratos fermentables en la fase líquida del extracto de plantas puede oscilar de 1 a 8% en peso, más en particular de 2 a 5% en peso.

25 Los extractos de plantas que son adecuados para uso en el procedimiento como se describe en la presente memoria no necesariamente se deben someter a etapas de procesamiento extensas, tal como concentración y/o purificación, antes de su uso, y se pueden usar en su estado actual en el medio de fermentación.

30 El término "carbohidratos fermentables" como se usa en la presente memoria se refiere a carbohidratos que pueden estar fermentados por un microorganismo productor de ácido láctico. En general, los carbohidratos fermentables son azúcares C5, azúcares C6, oligómeros de los mismos (por ejemplo, azúcares C12 diméricos) y/o polímeros de los mismos. Los términos azúcares C5 y azúcares C6 significan sacáridos con 5 y 6 átomos de carbono, respectivamente, y los términos azúcares C12 significan sacáridos con 12 átomos de carbono (por ejemplo, un disacárido). El tipo de carbohidratos fermentables que un microorganismo específico es capaz de fermentar puede variar y generalmente depende del microorganismo productor de ácido láctico utilizado. Los ejemplos de azúcares comunes fermentables por microorganismos productores de ácido láctico pueden incluir azúcares C5 tal como arabinosa, xilosa y ribosa; azúcares C6 tal como glucosa, fructosa, galactosa, ramnosa y manosa; y azúcares C12 tal como sacarosa, maltosa e isomaltosa.  
35 El tipo de azúcar que un microorganismo específico es capaz de fermentar es comúnmente conocido por aquellos con experiencia en la técnica.

40 La cantidad de carbohidratos fermentables se puede medir por cromatografía de intercambio aniónico de pH alto. Se filtra una muestra del extracto de plantas para separar la fase líquida de las partículas sólidas y se obtiene un cromatograma de la fase líquida, por ejemplo, con un detector amperométrico pulsado (HPAEC-PAD). Después, la composición de carbohidratos de la fase líquida se puede determinar con base en una calibración realizada usando estándares adecuados (por ejemplo, estándares de azúcar C5, C6 y/o C12).

En el procedimiento descrito en la presente memoria, el extracto de plantas se puede producir mediante el procesamiento de materiales de plantas como se describe en la presente memoria. El extracto de plantas también se puede obtener de un proveedor comercial.

45 El procesamiento de materiales de plantas se puede realizar con al menos uno de un tratamiento físico, un tratamiento químico y un tratamiento bioquímico, como se describió anteriormente en la presente memoria.

50 Los tratamientos físicos por trituración pueden comprender, por ejemplo, cortar, desmenuzar y/o picar materiales de plantas para proporcionar, por ejemplo, piezas de plantas, materia particulada de plantas o una pulpa de plantas. Alternativa o adicionalmente, los tratamientos físicos pueden comprender prensar los materiales de plantas como tales o prensar las piezas de plantas, materia particulada de plantas o pulpa de plantas para proporcionar un jugo de una planta. El prensado de los materiales de plantas se puede realizar, por ejemplo, usando una prensa de caña de azúcar o un exprimidor.

55 También se puede usar un procedimiento o prensa asistido por campo eléctrico pulsado. El procesamiento asistido por campo eléctrico pulsado reduce ventajosamente las pérdidas de azúcar en los desechos de plantas, mediante la mejora de la extracción de azúcar. Se hace referencia a la publicación de A.B. Jemai en Biosystems Engineering (2006) 93 (1),

57-68, que describe el prensado asistido por campo eléctrico pulsado de rebanadas de remolacha azucarera.

También se pueden usar tratamientos químicos y tratamientos bioquímicos para aumentar la cantidad de carbohidratos fermentables diméricos y/o monoméricos en la fase líquida del extracto. Por ejemplo, los polisacáridos (por ejemplo, almidón, celulosa o hemicelulosa) se pueden hidrolizar enzimáticamente a sacáridos diméricos o monoméricos.

5 El procesamiento de los materiales de plantas se puede realizar en el sitio en que se recolectan los materiales de plantas, por ejemplo, en los campos de plantaciones. Tal procesamiento se puede realizar con unidades móviles (por ejemplo, una prensa portátil) o en pequeñas plantas de procesamiento ubicadas en los campos.

10 El procesamiento de los materiales en el sitio de recolección puede facilitar ventajosamente el transporte, por ejemplo, a una planta de procesamiento. Los materiales triturados generalmente pueden ser más fáciles de transportar que los materiales de plantas enteras. Además, al procesar los materiales de plantas en el sitio de recolección, los desechos de plantas se pueden abandonar. Esto reduce ventajosamente el volumen de los materiales a transportar y puede contribuir a reducir el impacto ambiental de la cosecha de los materiales de plantas. Por ejemplo, al abandonar los desechos de plantas en el sitio de recolección, los desechos aún pueden contribuir al valor nutricional del suelo, mientras que la extracción de los carbohidratos fermentables de los materiales de plantas puede disminuir la emisión de los gases de invernadero. Además, al abandonar los materiales de plantas prensados en los campos de plantación, no es necesario proporcionar canales de eliminación adicionales para los desechos de plantas.

20 En un aspecto, las hojas de palma aceitera que, por ejemplo, se cortan durante la cosecha de frutos de palma aceitera se pueden procesar en los campos de plantación para proporcionar un extracto de OPF. Esto permite ventajosamente, por ejemplo, prensar las hojas de palma aceitera cuando estén recién cortadas. Las hojas de palma aceitera recién cortadas son generalmente más fáciles de prensar y tienen una contaminación microbiana mínima.

25 El extracto de plantas se puede someter a una etapa de conservación y/o etapa de esterilización para eliminar y/o evitar la presencia de microorganismos (tal como levaduras, hongos y bacterias) en el extracto de plantas. La conservación puede comprender al menos una de las siguientes etapas: revestimiento anaeróbico, alcalinización (con, por ejemplo, al menos uno de cal, tiza, MgO, Mg(OH)<sub>2</sub> y MgCO<sub>3</sub>), acidificación por adición de un ácido orgánico o inorgánico (por ejemplo, con al menos uno de ácido láctico, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y SO<sub>2</sub>), acidificación por inoculación (por ejemplo, con un organismo formador de ácido láctico), adición de compuestos antimicrobianos, irradiación (por ejemplo, por rayos UV o rayos X), pasteurización (por ejemplo, a 70-90°C durante aproximadamente 20 minutos), enfriamiento (por ejemplo, a temperaturas entre 4 y 7°C) y congelación (por ejemplo, a temperaturas inferiores a -18°C). La esterilización se puede realizar, por ejemplo, por calentamiento (por ejemplo, a aproximadamente 120°C durante aproximadamente 20 minutos) o por filtración (por ejemplo, microfiltración).

30 En general, se puede usar una pulpa de plantas o un jugo de plantas como el extracto de plantas. El uso de una pulpa de plantas como el extracto de plantas minimiza ventajosamente las pérdidas de azúcar asociadas con el descarte de los desechos de plantas procesadas. Por el otro lado, mediante el uso de un jugo de plantas como el extracto de plantas, se minimiza la cantidad de impurezas sólidas presentes en el extracto.

35 Cuando se usa una pulpa de plantas como el extracto de plantas, la pulpa de plantas se puede someter opcionalmente a un tratamiento con tecnología de campo eléctrico pulsado y/o a un tratamiento químico (por ejemplo, tratamiento alcalino) y/o un tratamiento bioquímico (por ejemplo, con enzimas hidrolíticas).

40 En otro aspecto, el extracto de plantas se puede someter a al menos una separación de sólido/líquido. La separación de sólido/líquido también se puede realizar en el sitio de recolección de los materiales de plantas. La separación de sólido/líquido se puede realizar, por ejemplo, por centrifugación y/o filtración. La separación de sólido/líquido puede comprender someter el extracto de plantas a una etapa de calentamiento y/o ajuste de pH para facilitar la precipitación de las proteínas presentes en el extracto y su eliminación. Las proteínas separadas se pueden usar ventajosamente como una fuente de proteínas en, por ejemplo, alimento para animales.

45 En los casos en que el contenido de sal del extracto de plantas se considere demasiado alto, por ejemplo, cuando el extracto de plantas se somete a una etapa de concentración, el extracto de plantas se puede someter a una etapa de eliminación de sal. La eliminación de sal se puede realizar, por ejemplo, mediante electrodiálisis, desionización capacitiva o mediante el uso de columnas de intercambio iónico. La etapa de eliminación de sal típicamente implica reemplazar cationes inorgánicos y/o aniones inorgánicos, por ejemplo, por protones y/o hidróxidos, respectivamente. La eliminación de cationes de sodio, potasio y calcio y aniones de cloruro puede ser de particular interés. Sin la eliminación de sal, el medio de fermentación que comprende dicho extracto de plantas puede tener una presión osmótica demasiado alta, lo que es una desventaja para el crecimiento del microorganismo y prolonga el tiempo de fermentación. Un tiempo de fermentación más largo es una desventaja dado que el riesgo de contaminación del cultivo aumenta con el tiempo de fermentación. Además, un tiempo de fermentación más largo reduce la eficiencia de los procedimientos industriales y los hace más largos y costosos, ya que se requiere un mayor volumen de fermentación con tiempos de fermentación más largos.

55 Antes de su uso, el extracto de plantas se puede almacenar, por ejemplo, en condiciones de enfriamiento o congelación.

En el procedimiento que se describe en la presente memoria, el extracto de plantas se puede usar en su estado actual como el medio de fermentación, es decir, sin ninguna dilución o adición de otros componentes. Alternativamente, el medio de fermentación se puede proporcionar mediante la mezcla del extracto de plantas con nutrientes adicionales y/o con agua.

5 Dependiendo de la concentración de carbohidratos fermentables en el extracto de plantas, el extracto de plantas se puede diluir en el medio de fermentación. El medio de fermentación comprende al menos 25% en peso del extracto de plantas. En particular, el medio de fermentación puede comprender al menos 50% en peso del extracto de plantas, más en particular al menos 75% en peso o al menos 90% en peso o al menos 95% en peso. El porcentaje en peso se basa en el peso total del medio de fermentación antes de que haya comenzado la fermentación, es decir, antes de la inoculación con el microorganismo productor de ácido láctico.

10 En una realización, el medio de fermentación comprende 100% en peso del extracto de plantas, es decir, el extracto de plantas se usa en su estado actual como el medio de fermentación. En la presente realización, el medio de fermentación que comprende el extracto de plantas es un medio de fermentación autosuficiente, lo que significa que además del extracto de plantas, el medio de fermentación no comprende nutrientes adicionales. Un medio de fermentación en el que se diluye el extracto de plantas con agua también es autosuficiente.

15 En una realización, el medio de fermentación que comprende el extracto de plantas puede proporcionar carbohidratos fermentables adicionales. Esto puede ser necesario si el contenido de carbohidratos fermentables del extracto de plantas se considera demasiado bajo. También es posible combinar un extracto de plantas que tiene un contenido de azúcar fermentable relativamente bajo con un extracto de plantas que tiene un contenido de azúcar fermentable relativamente alto.

20 En otra realización, el medio de fermentación comprende nutrientes adicionales además del extracto de plantas. El medio de fermentación se puede proporcionar mediante la mezcla de los nutrientes adicionales con el extracto de plantas y, opcionalmente, agua. Los nutrientes adicionales se pueden añadir en cualquier orden y en forma sólida, como soluciones o suspensiones (por ejemplo, en agua).

25 Los nutrientes adicionales se pueden seleccionar de al menos uno de, por ejemplo, sales minerales (por ejemplo, una fuente de nitrógeno mineral, fosfato, azufre y oligominerales tal como zinc, magnesio, calcio, manganeso, potasio, sodio, bórico, hierro, cobalto, cobre, molibdeno, níquel, aluminio, etc.) y una fuente de nitrógeno orgánico (por ejemplo, levadura autolizada e hidrolizada, proteínas de plantas hidrolizadas, proteínas de animales hidrolizadas y subproductos solubles de maceración de trigo o maíz). Tales fuentes de nitrógeno orgánico generalmente proporcionan nitrógeno en forma de, por ejemplo, aminoácidos libres, oligopéptidos, péptidos, vitaminas y trazas de cofactores enzimáticos. Tales fuentes de nitrógeno orgánico también se pueden añadir individualmente y/o en forma pura.

30 El pH del medio de fermentación se puede ajustar a un pH adecuado para la fermentación con el microorganismo de elección, antes de la inoculación. En general, el pH se puede ajustar a un pH de aproximadamente 2,0 a aproximadamente 8,0, en particular de aproximadamente 4,0 a aproximadamente 7,5. De acuerdo con el pH inicial del medio de fermentación, el ajuste del pH se puede realizar mediante la adición de una base (por ejemplo, una sal de magnesio cáustico) o un ácido (por ejemplo, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>).

35 El medio de fermentación se fermenta por medio de un microorganismo productor de ácido láctico en presencia de una sal de magnesio cáustico para proporcionar un caldo de fermentación que contiene lactato de magnesio. En generalmente, la fermentación se realiza mediante la incubación del medio de fermentación con el microorganismo a una temperatura adecuada durante un período de tiempo adecuado.

40 Durante la fermentación, cuando se añade una sal de magnesio cáustico, y cuando finaliza la fermentación, no se debe producir precipitación del lactato de magnesio en ninguna forma. La precipitación o no de lactato de magnesio dependerá de la concentración de carbohidratos fermentables en el medio de fermentación, la temperatura de fermentación, la concentración de otros constituyentes del medio de fermentación y el factor de dilución de la sal de magnesio cáustico añadida. Típicamente, el lactato de magnesio permanece soluble en un caldo de fermentación a una concentración como máximo de 9,5% en peso cuando se mide a una temperatura de 80°C.

45 Durante la fermentación, se pueden añadir enzimas que degradan los carbohidratos al caldo de fermentación para ayudar a la degradación de los carbohidratos fermentables, especialmente aquellos en forma polimérica. Este concepto de sacarificación y fermentación simultánea se describe en, por ejemplo, el documento WO 03/095659.

50 Los microorganismos productores de ácido láctico adecuados pueden incluir bacterias, hongos y levaduras, y se pueden seleccionar de microorganismos que son (a) productores de ácido láctico homolácticos o (b) microorganismos heterofermentativos que producen ácido láctico. Los microorganismos se pueden manipular genéticamente para producir o sobreproducir ácido láctico.

55 Los ejemplos de tales microorganismos incluyen, pero sin limitación, especies bacterianas de los géneros *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Oenococcus*,

- 5 *Sporolactobacillus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, *Weissella*, *Bacillus* (que incluye *Bacillus coagulans*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus smithii*, *Bacillus thermolactis* y *Bacillus thermoamylovorans*), *Geobacillus* (que incluye *Geobacillus stearothermophilus* y *Geobacillus thermoglucosidans*), *Caldicellulosiruptor* (que incluye *Caldicellulosiruptor saccharolyticus*), *Clostridium* (que incluye *Clostridium thermocellum*), *Thermoanaerobacterium* (que incluye *Thermoanaerobacterium saccharolyticum*), *Thermoanaerobacter* y *Escherichia* (que incluye *Escherichia coli*), y especies fúngicas y de levaduras de los géneros *Saccharomyces* (que incluye *Saccharomyces cerevisiae*), *Kluyveromyces* (que incluye *Kluyveromyces lactis* y *Kluyveromyces marxianus*), *Issatchenkia* (que incluye *Issatchenkia orientalis*), *Pichia* (que incluye *Pichia stipitis*), *Candida* (que incluye *Candida boidinii*, *Candida magnolia*, *Candida methanosorbosa*, *Candida sonorensis* y *Candida utilis*) y *Rhizopus* (que incluye *Rhizopus arrhizus*, *Rhizopus microspores* y *Rhizopus oryzae*).
- 10 Los géneros bacterianos que son de particular interés son *Lactobacillus*, *Bacillus* (que incluye *Bacillus coagulans*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus smithii*, *Bacillus thermolactis* y *Bacillus thermoamylovorans*), *Geobacillus* (que incluye *Geobacillus stearothermophilus* y *Geobacillus thermoglucosidans*) y *Escherichia* (que incluye *Escherichia coli*). En forma adicional o alternativa, las especies bacterianas preferidas son las que muestran crecimiento óptimo a un pH en el intervalo de aproximadamente 6 a aproximadamente 8.
- 15 La temperatura de incubación puede depender del microorganismo usado. Por ejemplo, la temperatura óptima a usar se puede establecer mediante el análisis de la actividad del microorganismo de fermentación bajo diferentes condiciones de temperatura. En general, la temperatura puede estar dentro del intervalo de aproximadamente 20 a aproximadamente 80°C, en particular dentro del intervalo de aproximadamente 25 a aproximadamente 70°C, y más en particular dentro del intervalo de aproximadamente 30 a aproximadamente 60°C.
- 20 La sal de magnesio cáustico añadida al medio de fermentación se usa para neutralizar el ácido láctico excretado por los microorganismos durante la fermentación, lo que genera una sal de lactato de magnesio. Una caída en el pH por debajo de un valor crítico, de acuerdo con el microorganismo usado en el procedimiento, puede dañar el procedimiento metabólico del microorganismo y detener el procedimiento de fermentación. El pH generalmente se ajusta durante la fermentación de modo que sea de aproximadamente 2,0 a aproximadamente 8,0, en particular de aproximadamente 4,0 a
- 25 aproximadamente 7,5. El ajuste del pH se puede realizar mediante el control del pH del medio de fermentación y mediante la adición de cantidades adecuadas de base cuando sea necesario. La sal de magnesio cáustico se puede seleccionar de al menos uno de MgO, Mg(OH)<sub>2</sub>, MgCO<sub>3</sub> y Mg(HCO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>. La sal de magnesio cáustico puede contener pequeñas cantidades de otros cationes.
- 30 En general, la fermentación se puede detener cuando el caldo de fermentación está sustancialmente libre de carbohidratos fermentables, por ejemplo, cuando el contenido de carbohidratos fermentables en la fase líquida del caldo de fermentación es menor que 5 g/L. La cantidad de carbohidratos fermentables se puede controlar sometiendo las muestras del caldo de fermentación a una etapa de separación de sólido/líquido, para eliminar cualquier sólido de la fase líquida, y medir el contenido de, por ejemplo, azúcares C5, C6 y/o C12 en la fase líquida como se describió anteriormente para el extracto de plantas.
- 35 En general, el rendimiento del ácido láctico producido en relación con los carbohidratos fermentables consumidos (por ejemplo, azúcares C5, C6 y/o C12) es de 70 a 100%, en particular de 80 a 100%.
- 40 La fermentación de un medio de fermentación que comprende un extracto de plantas con un bajo contenido de carbohidratos fermentables en combinación con una sal de magnesio cáustico generalmente produce un caldo de fermentación que comprende lactato de magnesio en una concentración a la que el lactato de magnesio está presente en solución. Esto permite un aislamiento mejorado del lactato de magnesio del caldo de fermentación, por ejemplo, mediante el uso de una etapa de concentración para proporcionar cristales de lactato de magnesio. Tal control de la cristalización del lactato de magnesio permite ventajosamente mejorar la eliminación de las impurezas insolubles y solubles, en particular las impurezas que se originan a partir del extracto de plantas con bajo contenido de azúcar.
- 45 El caldo de fermentación que contiene lactato de magnesio se somete a una etapa de separación de sólido/líquido, por ejemplo, por flotación, sedimentación, floculación, centrifugación, filtración, decantación y sus combinaciones, para proporcionar un medio que contiene lactato de magnesio que se separa de la biomasa y otras impurezas sólidas que permanecen en el desecho sólido, por ejemplo, una torta de filtración o una torta centrífuga. La separación de sólido/líquido se realiza preferentemente a una temperatura de 20 a 75°C, en particular de 25 a 70°C, y más en particular de 30 a 60°C. Estas temperaturas son lo suficientemente altas como para que el lactato de magnesio permanezca en solución mientras
- 50 se mantienen algunos otros componentes en estado sólido. Mediante la realización de la separación de sólido/líquido a estas temperaturas, se puede mejorar la separación.
- 55 Los cristales de lactato de magnesio generalmente se obtienen durante y/o después de la concentración del líquido de fermentación después de la separación de sólido/líquido. La concentración se puede realizar mediante la eliminación de agua (por ejemplo, a presión reducida) o mediante filtración (por ejemplo, nanofiltración). Los cristales de lactato de magnesio se pueden obtener con o sin enfriamiento del concentrado. El enfriamiento se puede realizar para alcanzar temperaturas inferiores a 20°C. Sin embargo, generalmente se prefiere que la cristalización se produzca a una temperatura de 20 a 95°C, en particular de 50 a 90°C. La cristalización a estas temperaturas (por ejemplo, sin enfriamiento) permite ventajosamente que una mayor cantidad de otras impurezas, en particular sales originadas a partir del extracto



de plantas con bajo contenido de azúcar, permanezcan en la fase líquida, evitando de este modo su coprecipitación o cocrystalización con los cristales de lactato de magnesio.

5 Se ha encontrado que el uso de la sal de magnesio cáustico durante la fermentación permite la cristalización selectiva del producto de lactato de magnesio dejando atrás la cantidad relativamente alta de impurezas originadas a partir del extracto de plantas con bajo contenido de azúcar, así como cualquier impureza derivada de la fermentación. Estas impurezas se pueden convertir, por ejemplo, después de la separación de los cristales de lactato de magnesio, en un fertilizante o se pueden usar directamente como un fertilizante. La conversión de las impurezas en un fertilizante puede comprender al menos una etapa de procesamiento seleccionada de una evaporación, una concentración, una reacción química (por ejemplo, con fosfatos, amoníaco y/o sales de potasio), una precipitación y una separación de sólido/líquido. Los ejemplos de fertilizantes que se pueden obtener incluyen fertilizantes ricos en magnesio (por ejemplo, estruvita).

Después, los cristales de lactato de magnesio se pueden separar mediante separación de sólido/líquido y se pueden lavar.

La concentración de lactato de magnesio en la fase líquida del medio concentrado o el caldo concentrado puede depender de la temperatura y la cantidad de otros componentes en la fase líquida. La concentración de lactato de magnesio puede ser generalmente de 7 a 15% en peso con base en el peso total de la fase líquida, en particular de 7,5 a 10% en peso.

15 En general, el rendimiento de la recuperación de ácido láctico en forma de cristales de lactato de magnesio puede ser de 50% a 99%, en particular de 70% a 99% con base en la cantidad de ácido láctico producido durante la fermentación.

20 Los cristales de lactato de magnesio se pueden someter a una etapa para convertir la sal de lactato de magnesio (primera sal de lactato) en una sal de lactato diferente (segunda sal de lactato). Por ejemplo, el lactato de magnesio se puede someter a una reacción de intercambio de sal con una base monovalente (por ejemplo, un hidróxido de sodio, potasio, calcio y/o amonio) para formar una sal de lactato monovalente e hidróxido de magnesio. Véase también el documento WO 2005/123647, que describe la producción de ácido láctico y/o lactato a partir de un medio que comprende lactato de magnesio mediante una reacción de intercambio de sal entre lactato de magnesio y una base monovalente. En particular, como se describe en el documento WO 2005/123647, el lactato de magnesio se puede hacer reaccionar con la base monovalente a un intervalo de pH entre 9 y 12, preferentemente entre 9,5 y 11 para formar la sal de lactato monovalente e hidróxido de magnesio.

30 Cuando el procedimiento que se describe en la presente memoria se usa para preparar ácido láctico, el lactato de magnesio o la segunda sal de lactato se pueden convertir en ácido láctico mediante un procedimiento de intercambio iónico, por ejemplo, mediante el uso de una columna de intercambio iónico o electrodiálisis. El lactato de magnesio o la segunda sal de lactato también se pueden acidificar con un ácido fuerte (por ejemplo, ácido sulfúrico, HCl y HNO<sub>3</sub>) para proporcionar una mezcla de ácido láctico y una sal de magnesio. Después, esta mezcla se somete a una etapa de separación de ácido láctico/sal de magnesio y/o a una etapa de división de sal de magnesio. Se hace referencia al documento WO 2011/095631, que describe un procedimiento para la preparación de ácido láctico. Este procedimiento comprende someter un lactato de magnesio a una reacción de intercambio de sal para proporcionar una sal de lactato monovalente, y someter la sal de lactato monovalente a electrodiálisis por la ruptura de la molécula de agua, para producir ácido láctico. En particular, como se describe en el documento WO 2011/095631, la electrodiálisis por la ruptura de la molécula de agua se puede realizar en un medio acuoso en el que la concentración de la sal de lactato monovalente tiene un valor entre 10 y 30% en peso, y la electrodiálisis se puede llevar a cabo a una conversión parcial de 40 a 98% en moles para producir una primera solución que comprende una base monovalente y una segunda solución que comprende ácido láctico y sal de lactato monovalente. Después, la segunda solución que comprende ácido láctico y sal de lactato monovalente se puede separar en ácido láctico y una solución que comprende la sal de lactato monovalente por separación de vapor-líquido. La solución que comprende la sal de lactato monovalente se puede reciclar para su adición a la solución de sal de lactato monovalente, por ejemplo, para ajustar la concentración de sal de lactato monovalente al nivel deseado.

45 La recuperación del lactato o ácido láctico del caldo de fermentación que contiene lactato de magnesio además puede comprender, por ejemplo, al menos uno de extracción de líquido/líquido, nanofiltración, tratamiento con carbón activo, destilación y recristalización. Estos tratamientos se pueden usar para eliminar adicionalmente las impurezas de los productos de lactato o ácido láctico.

La presente invención se ilustra adicionalmente mediante los siguientes Ejemplos.

### Ejemplos

#### 50 Determinación de lactato de magnesio por procedimientos conocidos en la técnica

El lactato de magnesio se puede determinar mediante el uso de cualquier procedimiento conocido por los expertos en la técnica. Es conveniente determinar el magnesio y el lactato por separado. La determinación de magnesio se realiza mediante espectrometría de absorción atómica (Varian spectrAA 220FS) y la determinación de lactato se realiza mediante cromatografía de gases (Thermo Scientific Trace GC Ultra) del metil éster correspondiente. Los procedimientos se validan mediante el uso de estándares adecuados.

Caracterización de lodos de papel hidrolizados

Se obtuvo un extracto de plantas mediante la hidrólisis de lodo de papel con enzimas celulolíticas. Las partículas suspendidas se eliminaron del hidrolizado.

5 La parte del hidrolizado se trató con una columna de intercambio iónico para reducir el nivel de iones. Esto se evidencia por la cantidad reducida de cationes de sodio, potasio y calcio presentes en el hidrolizado sometido al tratamiento de intercambio iónico (PSH con IEX) en comparación con el hidrolizado que no se ha sometido al tratamiento de intercambio iónico (PSH sin IEX).

La composición del lodo de papel hidrolizado se muestra en la Tabla 1.

10 Los hidrolizados con concentraciones de glucosa mayores que 9% en peso se obtuvieron por la concentración (por eliminación de agua) del hidrolizado que tiene una concentración inicial de 9% en peso de glucosa (con y sin tratamiento de intercambio iónico). De este modo, se obtuvieron hidrolizados con concentraciones de glucosa de 14% en peso, 16% en peso, 18% en peso y 20% en peso, respectivamente. La composición de los hidrolizados con estas diferentes concentraciones de glucosa también se indica en la Tabla 1.

Tabla 1: Composición del lodo de papel hidrolizado (PSH) con y sin tratamiento de intercambio iónico (IEX).

Glucosa (% en peso)	Compuestos inorgánicos (Ca, Na y K) (mg/kg)	
	Sin IEX	Con IEX
9	2884	22
14	4486	--
16	5128	39
18	5769	44
20	6410	49

15

El tratamiento de intercambio iónico se realizó usando una columna que contiene resinas de Amberlite FPA53 o Amberlite IR120H.

20 La cantidad de azúcares se determinó mediante cromatografía de intercambio aniónico de pH alto acoplada con una detección amperométrica pulsada (HPAEC-PAD). La cantidad de cationes de sodio, potasio y calcio se determinó por AAS (espectrometría de absorción atómica) (Varian spectrAA 220FS).

Producción de cristales de lactato de magnesio

El lodo de papel hidrolizado con una concentración de glucosa de 9% en peso y sometido a tratamiento de intercambio iónico se fermentó con bacterias productoras de ácido láctico compuestas en gran parte por *B. coagulans*.

25 Antes de la fermentación, el PSH se suministró con medios nutrientes típicos: sales de amonio, metionina, biotina, tiamina, sales de calcio, sales de potasio y sales de oligoelementos para proporcionar el medio de fermentación. Después se inoculó el medio con las bacterias productoras de ácido láctico.

La fermentación se realizó a 50-55°C y a un pH de 6,5-7,0, que se mantuvo constante por neutralización con Mg(OH)<sub>2</sub>.

30 Después de finalizar la fermentación, el caldo resultante se eliminó de los sólidos en suspensión (que incluyen la biomasa) mediante centrifugación a una temperatura entre la temperatura ambiente y la temperatura de fermentación. El caldo de fermentación claro se sometió a cristalización por evaporación (bajo vacío a 70°C), por lo que el agua se eliminó continuamente del caldo de fermentación clarificado. Se formaron cristales de lactato de magnesio dihidratado durante la cristalización por evaporación a 70°C. La suspensión resultante de cristales en el licor madre se separó por filtración. Los cristales se lavaron con agua.

35 El rendimiento de la recuperación de lactato de magnesio en forma de cristales fue de 86% (calculado sobre la base de la cantidad en peso de lactato de magnesio presente en el caldo después de la fermentación y la separación de biomasa). Los cristales de lactato de magnesio obtenidos tienen una pureza estequímica de lactato de 99,9% y un contenido de lactato de magnesio dihidratado (en forma de sólido seco) de 92% en peso.

Este ejemplo muestra que los cristales de lactato de magnesio de alta calidad se pueden obtener con un alto rendimiento de recuperación cuando se comienza con un lodo de papel hidrolizado con un contenido de glucosa de 9% en peso

usando hidróxido de magnesio como agente neutralizante.

Esto se logra sin añadir fuentes adicionales de carbohidratos fermentables al lodo de papel hidrolizado y sin la necesidad de concentrar el lodo de papel hidrolizado inicial para comenzar con concentraciones de azúcar más altas.

Tiempo de fermentación

5 Los lodos de papel hidrolizados (PSH) con diferentes concentraciones de glucosa con y sin tratamiento de intercambio iónico (véanse las tablas 1 y 2) y las soluciones acuosas de "control" de glucosa con diferentes concentraciones de glucosa (véase la tabla 2) se fermentaron como se describió anteriormente para el PSH con un contenido de glucosa de 9% en peso (Tabla 2).

La solución de glucosa acuosa de control se preparó mediante la dilución de glucosa en agua.

10 La fermentación se consideró terminada cuando el consumo base se redujo a cero o casi cero. La confirmación se realizó mediante el análisis de los niveles de azúcar (determinado como se describió anteriormente para el hidrolizado). Los resultados se muestran en la Tabla 2.

Los tiempos de fermentación más largos indican que la fermentación tarda más tiempo en completarse, lo que no es deseado, como se indicó anteriormente en la presente memoria.

15 Tabla 2: Fermentación del lodo de papel hidrolizado (PSH) con y sin tratamiento de intercambio iónico (IEX) y de soluciones acuosas de glucosa de control

Glucosa inicial (% en peso)	Tiempo de fermentación (h)		
	PSH (sin IEX)	PSH (con IEX)	Control
9	11	11	n.d.
14	22	n.d.	13
16	27	20	14
18	30	25	n.d.
20	50	30	n.d.

20 Como se puede observar en la Tabla 2, el tiempo de fermentación aumenta con la concentración inicial de glucosa. El aumento del tiempo de fermentación es mucho menos pronunciado cuando se usa una solución acuosa de glucosa (control) o un lodo de papel hidrolizado sometido a un tratamiento de intercambio iónico (PSH con IEX).

25 Cuando se compara un lodo de papel hidrolizado con o sin tratamiento de intercambio iónico (PSH con o sin IEX) se puede observar que un tratamiento de intercambio iónico reduce significativamente el tiempo de fermentación. Esto es particularmente así cuando se comienza con lodos de papel hidrolizados que tienen concentraciones de glucosa mayores que 9% en peso. Esta reducción es más pronunciada cuando se comparan los lodos de papel hidrolizados sin tratamiento de intercambio iónico y la solución de control. Por ejemplo, para los experimentos realizados con una concentración inicial de glucosa de 16% en peso, el tiempo de fermentación se reduce de 27 horas a 20 horas cuando el PSH se somete a un tratamiento de intercambio iónico, y a 14 horas cuando se usa una solución acuosa de glucosa (control). Esto es aún más pronunciado para los lodos de papel hidrolizados con una concentración inicial de 20% en peso de glucosa, cuyo tiempo de fermentación se reduce de 50 horas a 30 horas cuando el PSH se somete a un tratamiento de intercambio iónico.

30 Por el contrario, cuando la concentración de glucosa inicial se mantiene baja (es decir, 9% en peso de glucosa) el tiempo de fermentación permanece igual (es decir, 11 horas), independientemente de si la fuente de glucosa es un lodo de papel hidrolizado que no se somete a intercambio iónico (PSH sin IEX), un lodo de papel hidrolizado que se somete a intercambio iónico (PSH con IEX), o una solución acuosa de glucosa (control).

35 Esto muestra que cuando se comienza con un extracto de plantas con baja concentración de glucosa, el tiempo de fermentación se mantiene ventajosamente bajo sin requerir costosos tratamientos de intercambio iónico. Además, el uso de una sal de magnesio cáustico para la neutralización permite la recuperación de lactato de magnesio de alta calidad y alto rendimiento de recuperación a pesar de la baja concentración de glucosa. Esto muestra que el procedimiento utilizado elimina la necesidad de usar fuentes de carbohidratos costosas adicionales y concentrar el extracto de plantas inicia que, como se muestra, da como resultado tiempos de fermentación aumentados.

40

**REIVINDICACIONES**

1. Un procedimiento de producción de lactato o ácido láctico a partir de un extracto de plantas por medio de fermentación que comprende
  - a. proporcionar un medio de fermentación que comprende al menos 25% en peso de un extracto de plantas que contiene carbohidratos fermentables;
  - b. fermentar el medio de fermentación por medio de un microorganismo productor de ácido láctico en presencia de una sal de magnesio cáustico para proporcionar un caldo de fermentación que contiene como máximo 9,5% en peso de lactato de magnesio al final de la fermentación, en el que el lactato de magnesio está en forma soluble durante y al final de la fermentación; y
  - c. recuperar lactato o ácido láctico del caldo de fermentación que contiene lactato de magnesio, en el que el medio de fermentación contiene carbohidratos fermentables en una concentración como máximo de 9,5% en peso.
2. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1 en el que el extracto de plantas contiene carbohidratos fermentables en una concentración de 0,5-9,5% en peso.
3. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes en el que el extracto de plantas es un extracto de hojas de palma aceitera.
4. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes en el que la sal de magnesio cáustico se selecciona de al menos una de MgO, Mg(OH)<sub>2</sub>, MgCO<sub>3</sub> y Mg(HCO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.
5. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes en el que el medio de fermentación contiene carbohidratos fermentables adicionales además de los carbohidratos fermentables proporcionados por el extracto de plantas.
6. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes en el que el medio de fermentación contiene al menos un nutriente adicional además de los nutrientes proporcionados por el extracto de plantas.
7. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 o la reivindicación 6, en el que el extracto de plantas es la única fuente de carbohidratos fermentables.
8. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes en el que recuperar lactato o ácido láctico comprende
  - i) someter el caldo de fermentación que contiene lactato de magnesio a una separación de sólido/líquido para proporcionar un medio que comprende lactato de magnesio en solución y un desecho sólido;
  - ii) concentrar el medio que comprende lactato de magnesio para proporcionar un medio concentrado que comprende cristales de lactato de magnesio; y
  - iii) someter el medio concentrado que comprende cristales de lactato de magnesio a una separación de sólido/líquido para proporcionar cristales de lactato de magnesio.
9. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 8 en el que los cristales de lactato de magnesio se obtienen durante y/o después de la concentración a una temperatura de 20 a 95°C.
10. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 8 en el que los cristales de lactato de magnesio se obtienen durante y/o después de la concentración a una temperatura de 50 a 90°C.
11. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 10 en el que la separación de sólido/líquido de la etapa i) se realiza a una temperatura de 20 a 75°C.
12. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 11 en el que la separación de sólido/líquido de la etapa i) se realiza a una temperatura de 30 a 60°C.