

# Obtención de ácido láctico por fermentación del mosto del fruto de cují (*prosopis juliflora*) y su posterior poli-condensación con zinc metálico a poli (ácido láctico) (pla).

Jhonny Medina<sup>\*a</sup>, Franklin García<sup>b</sup>, Belén Paricaguán<sup>a</sup>, Juan Rojas<sup>a</sup>, Xavier Castro<sup>a</sup>, Francia Lugo<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Departamento de Química, Estudios Básicos, Facultad de Ingeniería, Universidad de Carabobo, Valencia, Venezuela.

<sup>b</sup>Universidad Nacional Experimental Francisco de Miranda, Facultad de Ingeniería, Punto Fijo, Venezuela.

## Resumen.-

El objetivo principal de esta investigación fue la obtención de ácido láctico por fermentación del mosto del fruto de cují (*prosopis juliflora*) y su posterior poli-condensación con zinc metálico a poli (ácido láctico) (PLA). Se determinó que a temperaturas entre el rango de 34 a 40 °C, pH de 4 a 5 y 14 °Brix se tiene un crecimiento óptimo de la bacteria *Lactobacillus bulgaricus*. Esto produce un rendimiento en ácido láctico de 13,93 %. La policondensación a ácido láctico, se logró en un tiempo de 24 horas y con una concentración de catalizador 1 % de zinc metálico, se obtuvo un precipitado blanco que se caracterizó por espectroscopia infrarrojo y por calorimetría diferencial de barrido (DSC). Se observaron banda características del poliácido láctico (PLA), que verifican que el mosto del fruto de Cuji representa un buen sustrato para la producción de este compuesto, por su alto contenido de azúcares fermentables.

**Palabras clave:** Ácido láctico, Prosopis juliflora, Poliácido láctico, Lactobacillus bulgaricus.

## Obtain lactic acid by fermentation of must cují fruit (*prosopis juliflora*) and subsequent polycondensation with metallic zinc to poly (lactic acid) (pla).

## Abstract.-

The objective of the research was obtain Lactic acid by fermentation of must cují fruit (*Prosopis juliflora*) and subsequent polycondensation with Metallic Zinc to poly (lactic acid) (PLA). It was determined that at temperatures within the range of 34 to 40 °C, pH of 4 to 5 and 14 ° Brix has an optimal growth of the bacterium *Lactobacillus bulgaricus*. This produces a lactic acid yield of 13.93 %. The polycondensation of lactic acid, was achieved in a time of 24 hours and with a catalyst concentration of 1 % of metallic zinc, a white precipitate which was characterized by infrared spectroscopy and by differential scanning calorimetry (DSC) was obtained. Band characteristics of polylactic acid (PLA), which verifies that the juice of the fruit of Cuji represents a good substrate for the production of this compound, its high content of fermentable sugars were observed.

**Keywords:** Lactic acid, Prosopis juliflora, Polylactic acid, Lactobacillus bulgaricus.

Recibido: Febrero 2014

Aceptado: Agosto 2014

## 1. Introducción.

El árbol de cují (*Prosopis Juliflora*) es una especie típica de las regiones áridas y semiáridas; es muy abundante en el Estado Falcón. Sus frutos poseen unas semillas aplanadas rodeadas de una pulpa dulce, que pueden ser empleadas como

\* Autor para correspondencia

Correo-e: jhonnymedina@yahoo.com (Jhonny Medina )

una importante fuente de proteína vegetal, fibra dietética y sacarosa [1, 2]. Diversos autores [1, 3, 4], han reportados valores adecuados para el contenido de azúcares en el fruto de cují, que ameritan que se pueda considerar como un sustrato para la producción de ácido láctico.

La utilización de los residuos de cuji para la producción biotecnológica de ácido láctico es una opción para reducir el costo de producción de este producto químico y, a la vez, permite dar valor agregado a los desechos agroindustriales que presentan un alto contenido de carbohidratos fermentables y por otro lado, puede ser utilizado como materia prima para la producción de plásticos biodegradables. El ácido poliláctico es un polímero biodegradable derivado del ácido láctico que se produce a partir de fuentes 100 % renovables. Este polímero presenta muchas propiedades iguales o incluso mejores que algunos plásticos tradicionales, por lo que representa una alternativa como material de empaque bastante innovadora y prometedora [5].

El ácido láctico puede polimerizarse para convertirse en poliácido láctico por dos métodos tradicionales: la policondensación directa y la policondensación por apertura del anillo. El método de policondensación directa, se inicia con una oligomerización o deshidratación donde se esterifica por medio de una destilación reactiva al vacío y posteriormente, una segunda etapa de polimerización, en presencia de un catalítico a alta temperatura y vacío. La policondensación por apertura del anillo, luego de una oligomerización homóloga, el oligómero sintetizado se depolimeriza con ayuda de un catalítico, al tiempo que por destilación azeotrópica (con un disolvente) o sublimación (puro) se obtiene el dímero cíclico del ácido láctico (lacturo), el cual, posteriormente es polimerizado con calor, vacío y en presencia de un catalizador [6, 7, 8]. El ácido láctico (ácido 2-hidroxipropanoico o ácido hidroxipropiónico), es un ácido carboxílico que se encuentra en la naturaleza en sus dos formas ópticamente activas (la dextrógira D (-) y levógira L (+)), frecuentemente denominadas ácido D-láctico y ácido L-láctico. Es un líquido siruposo, incoloro, soluble en éter, miscible con agua y alcohol e

insoluble en cloroformo y éter de petróleo [9, 10].

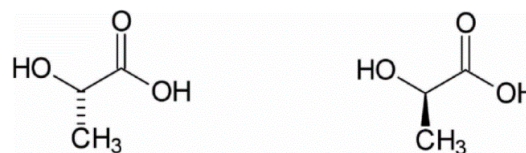


Figura 1: L-ácido láctico y D-ácido láctico.

Este ácido es producido en la naturaleza por animales, plantas y microorganismos. En los últimos años los estudios se han dirigido a la obtención de ácido láctico a partir de materiales residuales y su posterior transformación en compuestos químicos intermedios, disolventes, plastificantes y resinas [10, 11, 12].

En la actualidad, aproximadamente el 90 % del ácido láctico es producido a través de fermentación bacteriana y el resto sintéticamente por la hidrólisis de lactonitrilo [13]. En la fermentación bacteriana se emplean microorganismos, pertenecientes al género *Lactobacillus*, para que la fermentación del sustrato sea rápida y completa, con el mínimo uso de nutrientes nitrogenados, en condiciones de valores de pH reducidos y altas temperaturas para que genere poca biomasa y despreciable cantidad de subproductos [12].

La producción fermentativa ofrece las ventajas de la utilización de carbohidratos renovables, así como, de la producción del ácido D-láctico y ácido L-láctico ópticamente puro. La aplicación más interesante del ácido láctico radica en la posibilidad que ofrece de producir poli (ácido láctico) (PLA).

Entre los sustratos que se emplean en la actualidad se mencionan: sacarosa del azúcar y remolacha azucarada, suero de queso con lactosa y maltosa, dextrosa de almidón, entre otras. Para que un sustrato pueda ser considerado para su uso debe reunir las siguientes características: costo reducido, bajo nivel de contaminación, alta velocidad de fermentación, gran rendimiento de ácido láctico, poca o ninguna formación de subproductos, posibilidad de ser fermentado con poco o ningún pre-tratamiento, y disponibilidad durante todo el año [10, 12, 14].

En este sentido, se planteó como objetivo de esta investigación la obtención de ácido láctico,

mediante la fermentación del mosto del fruto de cují y su posterior poli-condensación con Zinc metálico a poli (ácido láctico) (PLA).

## 2. Metodología.

La muestra del fruto de cují (*Prosopis juliflora*) se recolectó en el sector el Hatillo, municipio Colina del estado Falcón Venezuela, aplicando un muestreo de tipo aleatorio simple al azar [15]. Para esto, se tomó en cuenta a los árboles con diámetro de tronco de aproximadamente 1,20 m, de aspecto vigoroso y de altura considerable (entre 4 y 6 m), para obtener muestras representativas, según el tamaño (20 cm), su longitud (1,5 cm), así como, la cantidad de pulpa visible, y sin picaduras de insectos. Asimismo, se recolectaron 4 kg de fruto de cují (*Prosopis juliflora*) con su concha y semilla, para contar con la cantidad suficiente de harina de cují para la fermentación. Estos frutos fueron limpiados y colocados uniformemente en bandejas de aluminio, dentro de la estufa a una temperatura de 60°C durante 10 horas. Posteriormente fueron pulverizadas en un molino industrial marca Molex provisto de un tamiz de 1 mm para lograr la textura deseada. La harina de cují (*Prosopis juliflora*) se pesó y se almacenó en bolsa de papel sellada, dentro de un desecador para evitar que absorbiera humedad [14].

Para seleccionar la concentración óptima del sustrato en el proceso de fermentación homoláctica, se prepararon cinco soluciones acuosas de harina de cují entre (5 y 25 % en peso). Las mismas fueron filtradas para homogenizar la solución. A estas soluciones se le determinó los °Brix, los cuales representan el cociente total de sacarosas disueltas en un líquido. Para ello se empleó un refractómetro ABBE marca Hedao [16]. Para elevar el contenido de azúcares fermentable disponible en la harina de cují se llevaron a cabo dos procesos de extracción: la Hidrólisis ácida y la Hidrólisis a vapor. En la primera, se prepararon 200 mL de solución de harina de cují a diferentes concentraciones (5 % a 25 % en peso), a las cuales se le añadió ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) al 6 %. Este proceso se realizó en un equipo de destilación simple a una temperatura de 70 °C.

En cuanto, a la hidrólisis a vapor, se prepararon 200 mL de solución de harina de cují a diferentes concentraciones (5 % a 25 % en peso), y se colocaron autoclave Chamberland a una presión de 15 psi a una temperatura de 121 °C, durante un período de 15 minutos [14].

Para la preparación del medio de cultivo de la bacteria *Lactobacillus bulgaricus*, se colocaron en matraz de 2000 mL cantidades adecuadas de los reactivos que se muestra en la Tabla 1, luego se disolvieron en un 1 litro de agua destilada para cada medio (líquido y sólido). Estos medios (MRS: medio de cultivo selectivo) fueron agregados en 20 botellas de 50 mL, las cuales fueron tapadas con algodón y gasa, para su esterilización, en el autoclave Chamberland a una presión de 15 psi y a una temperatura de 121 °C por 15 min, luego se sacaron las botellas y se dejaron reposar para ser utilizadas en el aislamiento de bacterias productoras de ácido láctico. A partir del yogurt comercial (yoka). Se realizaron diluciones sucesivas de 10<sup>-1</sup> a 10<sup>-3</sup> sembradas en placas de petri en condiciones de esterilización; bajo campana y mechero Bushne. Se inoculó por agotamiento y se incubó a temperatura de 24 y 26 °C en una estufa marca Felisa por 48 horas. Luego, se evaluó el crecimiento de las cepas bacterianas en el microscopio de luz marca Zeiss Axioskop. La purificación de las bacterias se realizó repicando en tubos con el medio de cultivo MRS por 48 horas. Se evaluaron las características microscópicas (a través de formas), y las características bioquímicas fueron realizadas en un laboratorio clínico [14]. La

Tabla 1: Concentración para preparar el medio de cultivo.

Composición	Medio solido (g/litros)	Medio liquido (g/litros)
Mezcla de peptona	18,00	9,00
Estrato de levadura	4,00	2,00
Glucosa	2,00	10,00
Tween 80	1,00	0,50
Agar	12,00	

obtención del ácido láctico se realizó mediante la fermentación homoláctica de la muestra pretratada en la extracción basada en la hidrólisis a vapor.

Tabla 2: Variación de los °Brix durante los procesos de extracción basados en hidrólisis ácida e hidrólisis a vapor.

Concentración de Harina de Cuji, % en peso	°Brix Iniciales (0,18)	°Brix después de las extracciones, (± 0,18)			
		Hidrólisis ácida			Hidrólisis a vapor
		Tiempo de extracción, H.			
		3,00	5,00	7,00	
5,00	1,00	8,90	11,00	11,00	3,00
10,00	1,30	9,20	12,50	12,50	5,00
15,00	3,50	11,50	15,50	15,50	9,00
20,00	4,30	15,80	19,00	19,00	13,60
25,00	5,30	19,70	21,00	21,00	15,20

Para esto, se empleó 1500 mL de solución de harina de cuji a la concentración óptima del sustrato, y 100 mL en medio líquido de bacteria *Lactobacillus bulgaricus*. Se registraron valores de temperatura, pH y °Brix. La fermentación se ajustó a una temperatura óptima de 37 °C durante los 4 días del proceso y fue controlada por el equipo de BioFlo 110 en un rango de temperatura entre 34 a 40 °C. El porcentaje de ácido láctico se determinó por triplicado, mediante la titulación de 100 mL de muestra fermentada con hidróxido de sodio (NaOH), empleando fenolftaleína como indicador hasta obtener un ligero color rosa [14].

Para la poli-condensación del ácido láctico se empleó un balón de fondo redondo, con 100 mL de ácido láctico obtenido de la fermentación, conectado a un condensador y un termómetro. Se agregó zinc al ácido láctico y se eliminó el agua de la solución mediante calentamiento. Se aumentó la temperatura gradualmente a una velocidad de 15 °C/min hasta 180 °C. Al llegar a esta condición se adecuó el montaje para imprimirle vacío. Se redujo gradualmente la presión hasta 100 mmHg y se mantuvo la reacción hasta que el agua estuvo presente nuevamente, momento en el cual la presión del sistema se llevó hasta 25 mmHg y se continuó con estas condiciones durante el tiempo de reacción de 24 horas. Luego se retiró el balón y se envasó el producto para dejarlo enfriar [14, 17].

El poli (ácido láctico) (PLA) obtenido se caracterizó por espectroscopia infrarrojo en un espectrofotómetro infrarrojo Met 550 (Bruker) equipado con un detector DTGS (sulfato de trigli-

cinadeuterada); y por calorimetría diferencial de barrido (DSC) en un calorímetro TA Instruments DSC Q100 aplicando la metodología planteada en la norma ASTM 3418, se colocaron 10 mg de muestras en cápsulas de aluminio. Se realizó un barrido térmico calentando desde 25 °C hasta 200 °C, a una velocidad de 10 °C/min, luego se enfrió hasta -50 °C a una velocidad de 5 °C/min; y por último se volvió a calentar hasta 200 °C a una velocidad de 10 °C/min. Los experimentos se realizaron en una atmósfera de nitrógeno con un flujo de 50 mL/min.

### 3. Resultados y discusión.

En la Tabla 2 se muestra los valores °Brix de las diferentes soluciones acuosas de harina de cuji preparadas. Se encontró que los °Brix aumentan a medida que se incrementa la concentración de sustrato. Se observa, que a una concentración de 25 % en peso se obtiene el mayor contenido de azúcares fermentable (5,3 °Brix). Es importante resaltar, que la preparación de la solución de harina de cuji a esta concentración, presenta inconvenientes que generan pérdidas del material, debido a su alta viscosidad. Por lo tanto, se seleccionó para llevar a cabo el proceso de fermentación la solución al 20 % en peso, con un contenido de azúcares fermentables de 4,3 °Brix y una viscosidad que no genera dificultad durante el pre-tratamiento. En la misma Tabla se evidencia que tanto la hidrólisis ácida como la hidrólisis a vapor incrementan el contenido de azúcares

Tabla 3: Características Bioquímicas de las Bacterias Aisladas.

D-galactosa	D-Celobiosa	Sacarosa	Arabinosa	Urea	D-glucosa
Negativa (-)	Negativa (-)	Negativa (-)	Negativa (-)	Negativa (-)	Positiva (+)

fermentables. Siendo la hidrólisis ácida la que genera el mayor aumento, en un lapso de 5 horas. Para la solución al 20 % en peso de harina de cuji se observa un aumento de lo °Brix de 4,30 a 19,00. En tanto, que en la hidrólisis a vapor el aumento es de lo °Brix de 4,30 a 13,60. A pesar, que la hidrólisis ácida genera el mayor aumento en el contenido de azúcares fermentables presenta la desventaja relacionadas el tiempo de duración del proceso y la contaminación ambiental (uso de ácido sulfúrico), aspectos a tomar en cuenta para realización del proceso. En virtud de lo anterior, se consideró la hidrólisis al vapor como el proceso de extracción más factible para nuestro estudio.

En la Tabla 3 se muestra los análisis bioquímicos realizados en el centro clínico Virgen María Auxiliadora, en Punto Fijo Estado Falcón, para la identificación de la bacteria *Lactobacillus bulgaricus*. Además, a lo señalado en la tabla 3, se encontró que las bacterias aisladas presentan una morfología bioquímica de Gram positivo (+), prueba de catalasa positiva (+) y prueba oxidasa positiva (+), y en la asimilación de azúcares. En cuanto a las características microscópicas, se tiene, que son bacilos cortos y entrelazados, y entre las características macroscópicas son de color blanco cremoso, forma redonda, puntiformes, bordes enteros, superficie convexa, consistencia butirosa y consistencia húmeda, lo que responde a sus características ya reportadas en la bibliografía [18]. Los valores que se muestran en la Tabla

Tabla 4: Temperatura y pH durante el proceso de fermentación del mosto del fruto de cuji.

Día de Fermentación	Temperatura °C $\pm 0,77$	pH $\pm 0,21$
1	37,68	4,62
2	37,74	4,12
3	39,29	4,42
4	37,79	4,47

4 representan la temperatura y pH registrados durante el proceso de fermentación. Se observa la temperatura se mantuvo en el rango óptimo (34 a 40 °C) para el crecimiento de la bacteria (*Lactobacillus bulgaricus*) señalado por diversos autores [19]. En tanto que, lo valores de pH registrado se mantuvieron en el rango señalado. En el segundo día del proceso se observó una disminución del pH de 4,62 a 4,12 esto es debido a que las bacterias toman el nitrógeno de los aminoácidos orgánicos, lo que hacen que pierdan su carácter anfótero pasando a compuestos ácidos [18, 19].

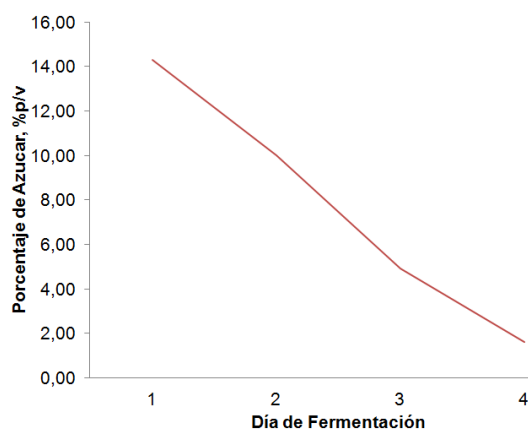


Figura 2: Variación del Porcentaje de azúcar durante el proceso de fermentación.

Zoecklein y colaboradores [20], señalaron que los °Brix se relacionan con el porcentaje de azúcar en solución. En este sentido, se observa en la Figura 2 que el contenido de azúcares fermentable disminuye durante el proceso de fermentación del mosto del fruto de cuji significativamente. En este sentido, se observa que a los 3 días, es donde hay mayor consumo de azúcares presentes para producir ácido láctico, luego de transcurrido ese tiempo, el pH comienza a estabilizarse, esto principalmente porque la fermentación comienza su etapa estacionaria manteniéndose las condiciones constantes, debido a que el consumo de azúcares presente en el mosto es bajo, y los microorganismos comienzan a morir.

Pinzón y colaboradores [6], reportaron que para una concentración de 20 % de sustrato, el proceso de fermentación produce 0,0248 g de ácido láctico, que corresponde a 0,030 mL de

Tabla 5: Determinación del rendimiento del proceso de fermentación.

Concentración de ácido láctico (mol/L)	Porcentaje de rendimiento, %R±
	0,16
$3,86 \times 10^{-4}$	13,90

ácido láctico. Comparando este valor con los resultados obtenidos (0,00418 mL de ácido láctico) se obtiene un porcentaje de rendimiento del 13,93 % (ver Tabla 5), este bajo rendimiento puede estar asociado al aumento brusco de temperatura que se registró el tercer día de fermentación, que afectó la producción de ácido láctico por parte de las bacterias [14].



Figura 3: Obtención de Poli-condensación del ácido láctico.

En la Figura 3 se observa el montaje realizado para la policondensación directa del ácido láctico obtenido de la fermentación del mosto del fruto de cuji. Se observa la aparición de una capa blanca en la superficie de la mezcla de reacción. Diversos autores [17], consideran esto como evidencia de producción del polímero poliácido láctico (PLA). Este sólido fue separado y caracterizado por espectroscopia de infrarrojo y calorimetría diferencial de barrido (DSC).

En la Figura 4, se observa el espectro infrarrojo del ácido láctico y poli (ácido láctico) obtenidos del proceso de fermentación del mosto del fruto de cuji y su posterior policondensación. En ella, se muestran las señales características en ambos; para el ácido láctico se dan en:  $3427 \text{ cm}^{-1}$  estiramiento OH,  $2989$  y  $2925 \text{ cm}^{-1}$  estiramientos  $-\text{CH}$  alcano,  $1723 \text{ cm}^{-1}$  estiramiento  $\text{C}=\text{O}$ ,  $1213$  y  $1120 \text{ cm}^{-1}$  estiramientos de  $-\text{C}-\text{O}-$  del grupo

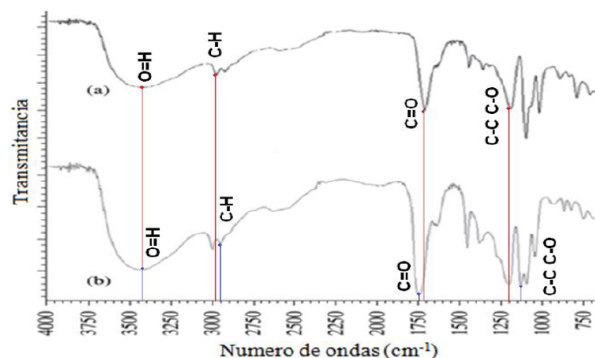


Figura 4: Espectro infrarrojo, a) ácido láctico y b) poli (ácido láctico).

ácido. Para el PLA las bandas a  $1454$  y  $1376 \text{ cm}^{-1}$  flexiones simétricas de los grupos CH y  $\text{CH}_3$  aumentan, la señal a  $1090 \text{ cm}^{-1}$  estiramiento  $-\text{C}-\text{O}-$  aumenta por la formación de los enlaces éster. Además, estos espectros presentan picos y bandas de transmitancia similares a las obtenidas por Jiménez y colaboradores [21]; quienes sintetizaron y caracterizaron poli (ácido láctico) por policondensación directa del ácido láctico producido de la fermentación de desechos agroindustriales de banana. En ellos, se destaca la banda del carbonilo ( $1796 \text{ cm}^{-1}$  y  $1723 \text{ cm}^{-1}$ ), atípicamente elevado, característico de este compuesto polimérico y atribuido a una posible tensión, por la presencia de dos grupos éster en el mismo.

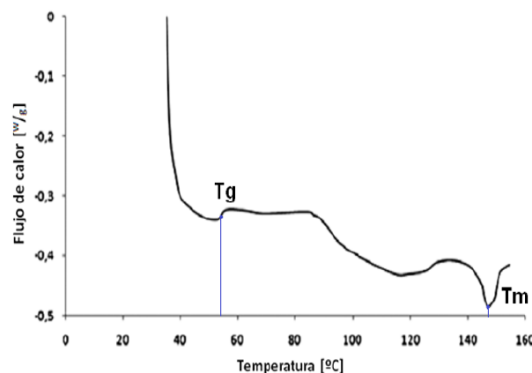


Figura 5: Termograma del poli (ácido láctico) obtenido.

Los resultados obtenidos por análisis de calorimetría diferencial de barrido presentaron similitud con los resultados obtenidos por Jiménez y colaboradores [21]. En la Figura 5 se observó la temperatura de fusión ( $T_m$ ),  $146,16 \text{ }^\circ\text{C}$ , y temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ),  $54,20 \text{ }^\circ\text{C}$  y no se reporta la



temperatura de cristalización ( $T_m$ ), ya que el poli (ácido láctico) (PLA) es un polímero amorfo de muy baja cristalinidad.

El pico de la temperatura de fusión es exotérmico y relativamente ancho, este factor indica una variabilidad en la temperatura de fusión.

#### 4. Conclusiones.

El proceso de hidrólisis al vapor es el método más factible para la obtención del ácido láctico, ya que permite aumentar el rendimiento del proceso en menor tiempo de extracción, además que no se utilizan agentes contaminantes que puedan ser tóxicos para el ambiente.

Se obtuvo ácido láctico a partir del proceso de fermentación del mosto de cují (*Prosopis juliflora*), donde el tiempo óptimo fue de 4 días, se controlan las condiciones de pH 4-5 y temperatura a un rango de 34 a 40°C, respectivamente con un % de rendimiento de 13,93.

El desecho de Cuji utilizado representa un buen sustrato para la producción de ácido láctico por fermentación, por su alto contenido de azúcares fermentables.

#### Agradecimientos.

Al personal del laboratorio de microbiológica (LIADSA) de la Universidad Nacional Experimental Francisco de Miranda (NEFM) y del laboratorio de Físicoquímica del Instituto Universitario de Tecnología “Alonso Gamero” por su apoyo técnico en el desarrollo de esta investigación.

#### Referencias

- [1] D. Chávez y Y. Chirinos. *Evaluación de las propiedades físicas químicas del etanol obtenido por fermentación del fruto del cují (prosopis juliflora)*. Trabajo Especial de Grado, IUTAG, Coro, Venezuela, 2005.
- [2] I. Holmquist. *Composición proximal del fruto y la marca residual del cují (prosopis juliflora) producido bajo condiciones ecológicas naturales del estado falcón*. Trabajo Especial de Grado, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional Experimental Francisco de Miranda, Coro, Venezuela, 1998.
- [3] N. Villanueva. *Evaluación de un extracto azucarado procesado a partir del fruto del cují (prosopis juliflora)*. Trabajo Especial de Grado, Centro de Investigaciones Tecnológicas, Universidad Nacional Experimental Francisco de Miranda, Coro, Venezuela, 2007.
- [4] N. Rodríguez. *Evaluación de la composición físico química de la vaina del cují (prosopis juliflora) en dos microclima del estado Falcón (Cumarebo-Pueblo Nuevo)*. Trabajo Especial de Grado, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional Experimental Francisco de Miranda, Coro, Venezuela, 2004.
- [5] M. Balkcom, B. Welt, y K. R. Berger. *Notes from the Packaging Laboratory: Polylactic Acid an Exciting New Packaging Material*. University of Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, EDIS, 2002.
- [6] J. Pinzón, J. Martínez, A. Espinosa, A. Pérez, y P. Narváez. Polimerización de ácido (dl) láctico mediante policondensación por fusión directa. estudio cinético de la etapa de oligomerización. *Revista Colombiana de Química*, 35:125–134, Abril 2008.
- [7] M. W. Lee, H. T. Tan, M Chandrasekaran, y C. P. Ooi. Synthesis and characterisation of plla by melt polycondensation using binary catalyst system. Technical Report 3, SIMTech technical reports, 2005.
- [8] W. Tomaszewski. Synthesis of poly (l (+) lactic acid) by polycondensation method in solution. *Fibres & Textiles in Eastern Europe*, 11(4):43, 2003.
- [9] A. Brown-Gómez, H. Vázquez T., C. Jacques-Bolner, L. Alba-Gutiérrez, y J. L. García G. Obtención de biomateriales derivados de ácido láctico empleando métodos no convencionales de síntesis. *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, 46(3):12–20, 2012.
- [10] H. Munilla, M. Blanco, y G. Carracedo. Ácido láctico y poliláctico: Situación actual y tendencias. sobre los derivados de la caña de azúcar. *CIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, XXXIX(1):49–59, 2002.
- [11] A. Södergård y M. Stolt. Properties of lactic acid based polymers and their correlation with composition. *Progress in polymer science*, 27(6):1123–1163, 2002.
- [12] I. Menéndez. El ácido láctico ejemplo del aprovechamiento químico de residuos. Trabajo Especial de grado, IUTAG, Coro, Venezuela., 1997.
- [13] S. R. Kadam, S. S. Patil, K. B. Bastawde, J. M. Khire, y D. V. Gokhale. Strain improvement of lactobacillus delbrueckii ncim 2365 for lactic acid production. *Process Biochemistry*, 41(1):120–126, 2006.
- [14] X. Castro y F. Lugo. Obtención de poli (ácido láctico) (pla) mediante la evaluación del proceso de fermentación del mosto de cuji (prosopis juliflora). Trabajo Especial de Grado, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional Experimental Francisco de Miranda, Punto Fijo, Venezuela.

- [15] COVENIN. *Frutas tomas de muestras (NORMA 1769-81)*, NORMAS COVENIN, Venezuela, 1981.
- [16] COVENIN. *Frutas y productos derivados, Determinación de sólidos solubles por refractometría (NORMA 924-83)*, NORMAS COVENIN, Venezuela, 1983.
- [17] H. A. Estupiñán, D. C. Parada, D. Laverde, D. Y. Peña, y C. Vázquez. Obtención de ácido poli l-láctico mediante policondensación con catalizador de cinc metálico. *Scientia Et Technica*, 13(36):267–272, 2007.
- [18] E. Fernández E. y C. Hernández M. Aplicación del medio APN en el recuento de bacterias lácticas en quesos frescos no pasteurizados y requesones. *Rev. Lat-amer. Microb.*, 27:191–194, 1985.
- [19] P. Catalano y J. Ortiz. Propuesta para el aprovechamiento industrial del fruto del cují (*prosopis juliflora*) en la producción de etanol. Trabajo Especial de Grado, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional Experimental Francisco de Miranda, Coro, Venezuela, 2009.
- [20] B. Zoecklein, K. Fugelsang, B. Gump, y F. Nury. *Production wine analysis*. Van nostrand reinhold publ, 1990.
- [21] P. Jiménez, M. Sibaja, y J. Vega. Síntesis y caracterización de poli(ácido l-láctico) por policondensación directa, obtenido del fermento de desechos agroindustriales de banano (*musa acuminata* aaa variedad cavendish cultivar gran naine ) en Costa Rica. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 13(2):52–59, 2012.