

발효액으로부터 침전과 반응증류를 이용한 젖산의 회수

^{1,2}박 석 찬 · ^{1,2}이 상 목 · ¹김 영 준 · ³김 우 식 · ^{1,2*} 구 윤 모
¹인하대학교 생물공학과, ²초정밀 생물분리기술연구센터, ³경희대학교 화학공학과
(접수 : 2005. 1. 24., 게재승인 : 2005. 10. 23.)

Recovery of Lactic Acid from Fermentation Broth Using Precipitation and Reactive Distillation

Suk-Chan Park^{1,2}, Sang-Mok Lee^{1,2}, Young-Jun Kim¹, Woo-Sik Kim³, and Yoon-Mo Koo^{1,2*}

¹Department of Biological Engineering, Inha University, Incheon 402-751, Korea

²Center for Advanced Bioseparation Technology, Inha University, Incheon 402-751, Korea

³Department of Chemical Engineering, Kyung Hee University, Suwon 446-701, Korea

(Received : 2005. 1. 24., Accepted : 2005. 10. 23.)

Precipitation and reactive distillation were employed to recover lactic acid from fermentation broth. Lime was initially added to fermentation broth in order to convert soluble lactic acid to an insoluble calcium lactate form. Drowning-out crystallization was used to decrease the solubility of calcium lactate by adding ethanol as a co-precipitant. In the ideal solution of organic acids as well as fermentation broth, precipitation experiments were performed with varying amounts of ethanol. Precipitation process was followed by reactive distillation. Carboxylate salts formed in the previous precipitation process were mixed with carbon dioxide and triethylamine to precipitate as calcium carbonate. The remaining liquid was distilled for 1 hr at different temperatures. Triethylamine and water were recovered from the top of the distiller, while organic acids, including lactic acid as a main component remained in feeding bottle. The yield of recovered lactic acid was 67.5% with the purity of 99.7%.

Key Words : Lactic acid, calcium lactate, drowning-out crystallization, precipitation, reactive distillation

서 론

젖산 (2-hydroxypropanoic acid)은 미생물을 이용한 발효나 화학적인 합성에 의해서 생산된다. 젖산은 식품첨가제나 다른 산업적 적용분야가 넓어서 연간 50,000 톤 가량 사용되고 있다. 젖산은 생분해성 고분자, 환경친화적인 용매, 식물생장조절제, 특수 화학물질의 중간체로써 사용가능성이 무한하다. 석유로부터 생산되는 합성 젖산은 생산단가가 낮지만, D(-)와 L(+)형이 함께 존재하기 때문에 polylactate (PLA)와 같은 생분해성 고분자를 만들기에는 부적합하다. Polylactate는 석유화학공업에 의해 유도되는 난분해성 플라스틱인 polyethylene, polystyrene, polypropylene의 대체물질로써 환경친화적인 생분해성 플라스틱일 뿐만 아니라 생체적합성을 지니고 있어 그 수요가 증가할 것으로 예상된다. Polylactate와 같은 생분해성 고분자를 생산하

기 위해서는 석유 화학적 합성공정에 의한 DL-젖산의 생산보다는 생물 공학적 발효에 의해 특이적으로 L(+)형 젖산만을 생합성할 수 있는 공정이 더 유효하다. 그러나, 발효공정으로 생산된 젖산은 발효액 내의 여러 가지 불순물들과 함께 존재하기 때문에 이들을 제거하기 위한 회수공정이 필요하게 된다. 또한, 젖산 생산공정 중 분리정제과정이 전체 생산비용의 50% 이상 차지하기 때문에 발효액으로부터 효율적인 회수공정이 젖산의 경제적 생산에 필수적이다(1-5). 기존의 분리 및 정제 방법으로는, 용매추출(6), 전기투석(7), 이온교환수지(8), 나노여과, 역삼투법(9) 등이 있다. 그러나 추출공정에서는 상대적으로 많은 양의 용매가 필요하고, 고농도의 젖산을 분리 정제하기에는 어려운 점이 많다(10). 또한 전기투석, 나노여과, 역삼투법을 이용한 젖산 분리공정에서는 막의 fouling이나 clogging과 같은 현상으로 막의 분리능력이 감소하여 결국 전체적인 정제공정의 효율성을 감소시킨다.

젖산의 전통적인 분리회수 공정은 미생물을 제거한 후에 석회 (Ca(OH)₂)를 첨가하여 발효액에서 젖산을 칼슘염 (Ca(LA)₂) 형태로 침전시킨 후 회수하는 것이다. 위의 공정에서 나온 염은 여과에 의해 제거되고 케이크를 황산으

* Corresponding Author : Department of Biological Engineering, Inha University, Incheon 402-751, Korea

Tel : +82-32-872-2679, Fax : +82-32-872-4046

E-mail : ymkoo@inha.ac.kr

로 처리해서 젖산과 CaSO₄를 만든다. 하지만 이러한 공정에서는 CaSO₄의 처리와 Ca(LA)₂의 높은 용해도로 인한 젖산의 낮은 회수율이 문제이다(11).

본 연구의 주요 목적은 Ca(LA)₂의 용해도를 낮추어서 결과적으로 젖산 회수 수율을 높이는 것이었다. Drowning-out crystallization 방법으로 우선 에탄올을 이용한 침전공정이 사용되었다. 이 방법에 의해 Ca(LA)₂의 용해도를 감소시켜 Ca(LA)₂의 침전율을 높일 수 있다(12). 다음 공정으로는 침전된 carboxylate salts를 그에 상응하는 유기산으로 바꾸는 반응증류를 도입했다. 침전과 증류를 이용한 공정의 조합과 에탄올을 사용하지 않는 전통적인 공정의 젖산 회수 효율을 비교하였다(13, 14). 또한, 젖산 회수공정의 효율을 예측하기 위한 모델용액을 만들어서 분리공정의 효율성을 알아보았다. 위의 연구결과를 바탕으로 실제 발효액을 사용하여 젖산 회수공정에 필요한 적절한 에탄올의 첨가량과 증류 온도를 결정하였다.

재료 및 방법

시약 및 재료

젖산은 PURAC사에서 공급받은 Cargill사의 PURAC® HS90 (89.5-90.5%)는 di-lactide 형태로 존재하기 때문에, 젖산 150 g/L로 희석시킨 후 증류를 통해 단량체의 젖산으로 전환시켜 사용하였다. 주요 유기산들로 propionic acid (Katayama Chemical Co.), acetic acid (Samchun Pure Chemical Co.), citric acid (Shinyo Pure Chemical Co.)를 사용하였다. 또한 실제 발효액을 얻기 위해 Lactobacillus rhamnosus (ATCC 10863)를 MRS 배지 (Difco Co.)에서 배양하였다. 젖산 침전 실험에서는 에탄올 (Merck Co.), 석회 (Junsei Chemical Co.), Triethylamine (Samchun Pure Chemical Co.)을 각각 사용하였다.

기기장비

젖산의 침전실험은 Jar tester (Shinsaeng Instrument Co.)에서 실시하였고, 침전실험 후 불용성 유기염과 수용성 유기염을 분리하기 위해서 진공여과기 (A-39 Type, Tokyo Rikakikai Co.)를 사용하였다. 반응증류의 첫 단계로서, 증류수에 녹인 insoluble organic salt를 triethylamine, CO₂ gas와 반응시킨 후 침전물과 상등액을 분리하기 위해서 원심분리기 (HMR-160IV, Hanil Industrial Co.)를 사용하였다. 증류에는 Rotary evaporator N-1 (Eyela Co.)을 사용하였다. 여과지는 Whatman No. 1을 사용하였다.

침전공정

침전공정의 개략적 그림을 Fig. 1에 나타내었다. 모델용액은 발효액의 유기산 농도를 기준으로 제조하였다. 모델용액의 조성은 각각 젖산 120 g/L, propionic acid 1.3 g/L, acetic acid 2.6 g/L, citric acid 1.6 g/L였다. 침전실험은 교반속도 130 rpm, 상온에서 실시하였다. 에탄올 농도 (v/v %, 에탄올 첨가부피/총부피)를 달리한 모델 용액에 석회를 첨가하여 soluble organic acids를 organic salts 형태로 변환시

켰다. 에탄올 농도는 각각 5%, 10%, 20%, 30% (v/v)로 하였다. 석회와 반응이 끝난 후, 진공여과기를 이용하여 insoluble organic salts와 soluble organic acids를 분리하였다. Insoluble organic salts로 변환된 양을 알기 위해서, insoluble organic salts를 증류수에 녹인 뒤 시료를 취해 HPLC분석을 실시하였다. 같은 방식이나 모델용액이 아닌, 실제 발효액에 대해서도 같은 조건에서 침전실험을 실시하였다.

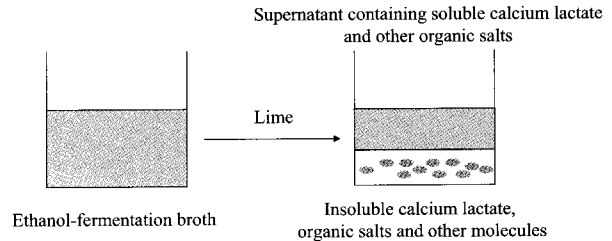


Figure 1. Drowning-out crystallization.

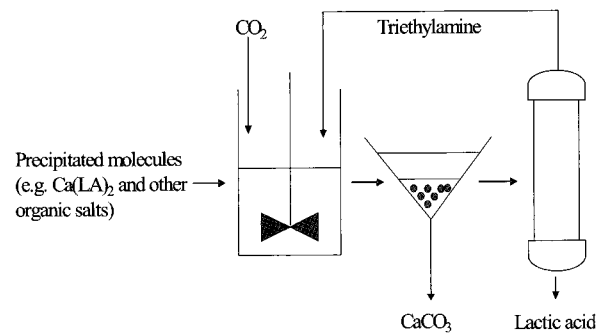


Figure 2. Reactive distillation process using triethylamine.

반응증류공정

반응증류공정의 개략도를 Fig. 2에 나타내었다. 침전공정에서 회수된 insoluble organic salt를 50°C의 증류수에 녹였다. 녹은 용액을 실온에서 아민 100 mL, CO₂ gas와 3시간 동안 반응시킨 후, 8000 rpm에서 15분 동안 원심분리 하였다. 상등액은 증류기로 옮겨서 증류를 실시하고, 침전물인 CaCO₃에 대하여 정성 및 정량분석을 실시하였다. 침전된 물질을 증류수에 녹인 후 2N HCl를 첨가하여, CO₂ 가스 형태의 기포가 발생하는지 확인하여 주성분이 CaCO₃임을 검증하였다. 그 잔류침전물에 소량 남아 있는 triethylamine을 60°C, 진공상태에서 증발시킨 후에 무게를 측정하여 이론상의 CaCO₃ 무게와 비교하였다. 증류기의 온도를 각각 130°C, 150°C, 170°C로 달리하여서 1시간동안 증류시켰다. 증류가 끝난 후 증류응축액과 잔류액의 분석을 실시하였다. 이와 같은 반응증류 실험을 발효액에 대해서도 동일한 조건으로 실험하였다.

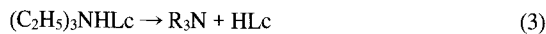
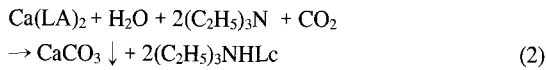
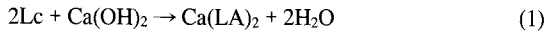
분석 조건

발효액 시료와 침전실험이 끝난 후 여액과 침전된 organic salt를 증류수에 녹인 시료를 HPLC로 분석하였다. Waters HPLC 장치를 이용하여 파장, 210 nm에서 유기산들의 양을 측정하였다. 컬럼은 Aminx HPX-87H (Biorad Co.)를 사용했으며, 컬럼 온도는 45°C, flow rate는 0.5 mL/min,

이동상은 0.008N H2SO4를 사용했다.

결과 및 고찰

침전과 반응 증류를 이용한 젖산 분리공정



반응식 (1)은 침전공정, 반응식 (2), (3)은 반응증류공정에서 일어나는 반응이다. 위의 반응식에서 Lc는 젖산을, Ca(LA)2는 칼슘락테이트를 말한다. 반응에 사용되는 CaCO3와 triethylamine은 회수되어 발효공정 및 반응증류공정에서 재사용 가능하다. 본 연구에서 쓰인 전체적인 젖산 분리 공정 모식도는 Fig. 3과 4에 나타내었다. 따라서, 최대한의 Ca(LA)2를 침전시키는 것과 침전시킨 Ca(LA)2와 triethylamine과의 반응시간 결정과 증류공정의 온도를 결정하는 것이 본 연구의 주안점이다. 반응식 (2)에서 보는 것과 같이, Ca(LA)2가 triethylamine, CO2와 반응된 후에 원심분리를 실시하여 침전물을 얻었다.

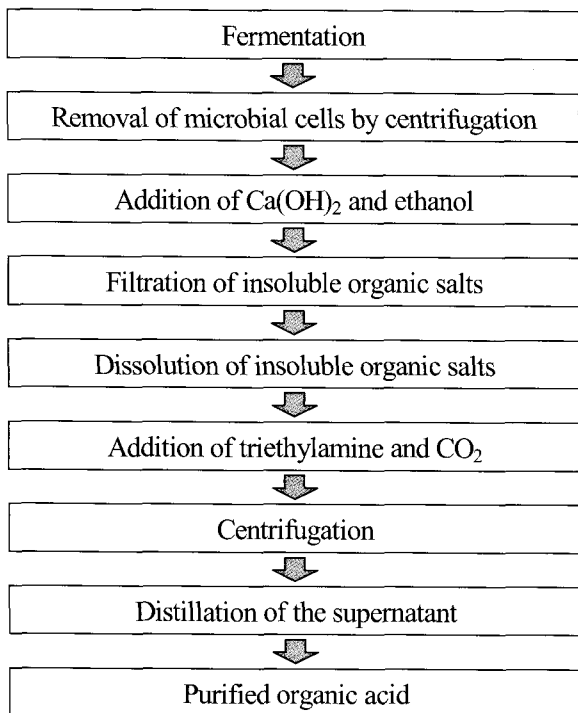


Figure 3. Flow chart of precipitation and reactive distillation.

에탄올 용액에서 Ca(LA)2의 용해도

Ca(LA)2는 물에 대한 용해도가 높다. 결국 Ca(LA)2를 침전시켜 회수하기 위해서는 Ca(LA)2 용해도를 감소시키는

과정이 필요하다. 젖산 용액, 발효액을 모델로 한 모델용액, 발효액의 세 가지 용액에서 에탄올 농도에 따른 Ca(LA)2의 용해도를 Fig. 5에 나타내었다. 젖산 120 g/L인 모델용액에서 에탄올의 첨가량에 따라 다른 침전양상을 보였다. 침전되는 양도 에탄올과 모델용액의 비율에 따라서 달라졌다. 각 용액에서 에탄올의 첨가에 대한 용해도의 변화는 비슷한 양상을 보였다. 에탄올을 30% (v/v)으로 첨가하였을 때 Ca(LA)2의 용해도는 젖산 용액, 모델용액, 발효액에서 각각 3.85%, 3.65%, 3.59%로 비슷하였다. 에탄올을 첨가하지 않은 발효액에서 Ca(LA)2의 용해도는 에탄올 30% (v/v)의 경우보다 1.33배 높았다. 또한, 발효액에서 에탄올에 의한 drowning-out crystallization의 효과가 더 높았다. 그러나, 에탄올 20% (v/v)와 30% (v/v)의 경우, drowning-out crystallization의 효과 차이는 크지 않아, 20% 에탄올을 첨가가 더 실용적이라고 할 수 있다.

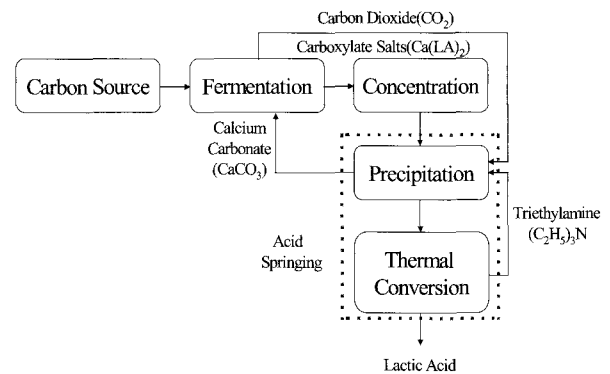


Figure 4. Process overview for the recovery of lactic acid.

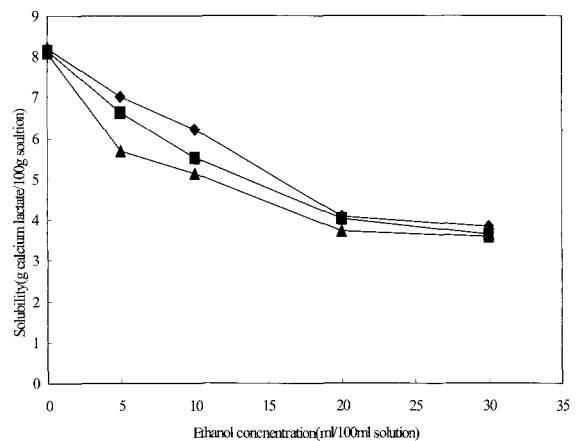


Figure 5. Effect of ethanol concentration on calcium lactates (temperatures: 25°C) ◆ : lactic acid solution, ■ : model solution, ▲ : fermentation broth.

젖산을 포함하는 모델용액에서 insoluble organic salt에 대한 에탄올의 영향

젖산 120 g/L, propionic acid 1.3 g/L, acetic acid 2.6 g/L, citric acid 1.6 g/L을 포함하는 모델용액에 에탄올 첨가하였을 경우, 에탄올의 첨가량에 따라 침전양상이 달랐다. 침전되는 젖산의 양은 이전의 순수 젖산만을 이용한 실험

결과와 비슷한 경향을 보였다. 침전된 insoluble organic salt를 다시 증류수에 녹인 시료에 대한 HPLC 분석 결과를 Fig. 6에 나타내었다. 에탄올을 첨가하지 않은 control 용액에서는 insoluble Ca(LA)2가 전체 젖산을 기준으로 하여 32.2%가 얻어졌다. 에탄올을 30% (v/v) 첨가해준 용액에서 얻어지는 insoluble Ca(LA)2의 양은 석회를 넣어주기 전의 젖산 양을 기준으로 하여 69.6% 전환되었다. 에탄올을 첨가하지 않은 용액에서 얻은 insoluble Ca(LA)2과 에탄올을 30%(v/v) 첨가해서 얻은 insoluble Ca(LA)2 양은 37.2%의 차이를 보였다. 에탄올을 20% 첨가해준 용액에서는 66.3%의 젖산이 insoluble Ca(LA)2로 전환이 되었다. 에탄올 20%와 30%를 첨가하였을 때, 침전과정에서 젖산 회수율의 차이가 3.3%에 지나지 않았다. 이는 젖산만의 모델용액의 결과와 비슷하다고 할 수 있다. 그러나 에탄올 첨가는 Ca(LA)2의 용해도 뿐만 아니라 다른 유기산의 용해도에도 영향을 끼쳐, 에탄올을 사용하지 않은 대조군에 비해 많은 양의 다른 organic salt도 침전되었다. 에탄올을 30% (v/v) 첨가했을 경우에 다른 유기산들의 침전율이 높게 나타났다. 에탄올 30%와 20% (v/v)을 모델용액에 첨가했을 때, Ca(LA)2에 대한 침전효과는 별 차이가 없는 반면에, 침전된 다른 insoluble organic salt의 양은 큰 차이를 보였다.

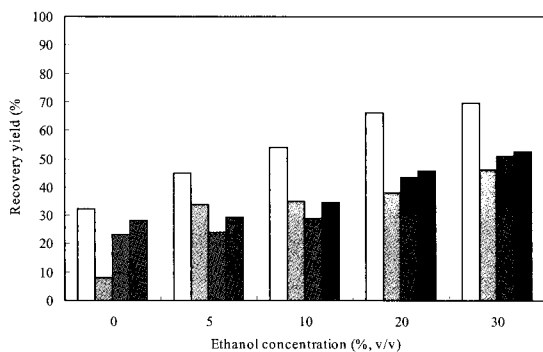


Figure 6. Recovery yield of insoluble organic salts in model solution after filtration. □ : lactic acid, ▨ : citric acid, ▩ : acetic acid, ■ : propionic acid.

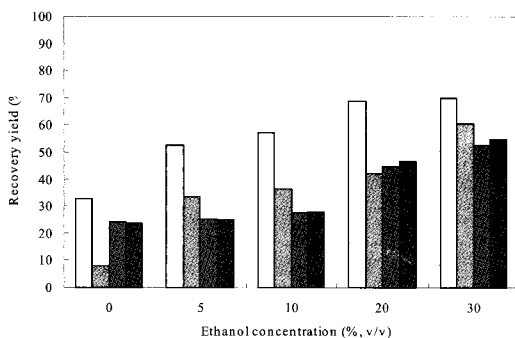


Figure 7. Recovery yield of insoluble organic salts in fermentation broth after filtration. □ : lactic acid, ▨ : citric acid, ▩ : acetic acid, ■ : propionic acid.

발효액에서 침전되는 organic salt에 대한 에탄올의 영향에 에탄올에 의한 침전효과는 발효액에서도 모델용액과 유

사한 결과를 보였다. 에탄올을 이용한 drowning-out crystallization 후 침전된 insoluble organic salt의 HPLC 분석 결과를 Fig. 7에 나타내었다. 모델용액과 발효액에서 여러 유기산들의 침전되는 양이 비슷하게 측정되었다. 에탄올을 30% (v/v) 발효액에 첨가하였을 때, 젖산이 insoluble Ca(LA)2로 70.1% 전환되었다. 이에 반해, 대조군에서 젖산은 32.6% 전환되었다. 실제 발효액에서 대조군과 에탄올 30% (v/v)의 경우 얻어진 insoluble Ca(LA)2 양은 38.5%의 차이를 보였다. 그리고 20% 에탄올을 발효액에 넣어준 혼합 용액에서는 68.9%의 젖산이 insoluble Ca(LA)2로 전환되었다. 에탄올 20%, 30% 첨가되었을 때 젖산의 회수율 차이가 1.2%에 지나지 않았고, 이는 모델용액의 결과보다 더 적은 값이다. 발효과정에서 효율적인 젖산 생산을 위해서 pH가 5-6에서 운전되기 때문에 젖산은 lactate anion 형태로 많이 존재하게 된다. 따라서 모델용액보다 실제 발효액에서는 에탄올의 첨가에 의한 drowning-out crystallization 효과가 줄어 든 것으로 판단한다. 다른 유기산들의 침전하는 정도도 모델용액에서의 차이와 비슷하게 관찰되었다.

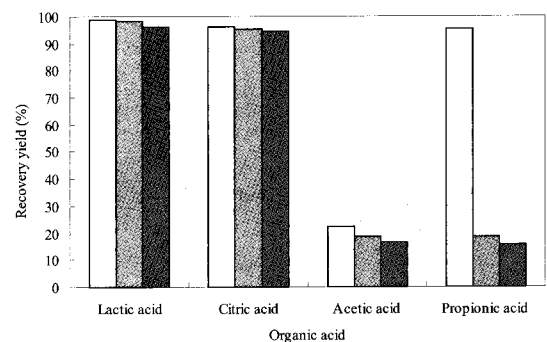


Figure 8. Recovery yield of organic salts in reactive distillation with varying temperature □ : 130°C, ▨ : 150°C, ▩ : 170°C.

반응 증류에서 온도의 영향

여러 유기산염들과 Ca(LA)2의 분리를 위해서는 온도차에 의한 증류공정이 요구된다. 온도를 각각 130°C, 150°C, 170°C로 달리해서 한 시간 동안 증류하였다. 증류기에서 응축액과 모액의 시료를 취해서 HPLC 분석결과, 온도에 대한 분리도의 차이는 크지 않았다. 모델용액의 성분인 젖산, propionic acid, triethylamine의 끓는점들은 1기압에서 각각 223°C, 141.35°C, 117.8°C, 88.8°C이었다. 그리고 citric acid의 녹는점은 153°C이다. 증류온도가 130°C일 때에는 propionic acid가 제거되지 않고 95.2%가 모액에 그대로 남아있었다. 그리고, 예측과는 달리 150°C에서는 propionic acid와 acetic acid가 모액으로부터 100% 제거되지 않았다. 이것은 증류가 되기 전 젖산과 다른 유기산들이 결합하여 끓는점이 상승한 것으로 추측된다. 젖산은 증류되지 않았기 때문에 99% 이상 모액에 남아 있었다. 또한 반응에 참가한 triethylamine은 100% 증류되어 응축액으로 회수되었다.

발효액 내 젖산 분리과정에서 에탄올의 영향

에탄올과 모델용액과의 비율을 달리한 침전실험의 결과에서 30% (v/v) 에탄올을 발효액에 넣어준 혼합용액의 경우, insoluble Ca(LA)₂ 양은 많았다. 그러나 전체 젖산의 정제과정 후에 불순물로 남는 다른 유기산들의 침전량도 많았다. 이를 개선하기 위하여 에탄올을 20% (v/v) 발효액에 첨가하여 drowning-out crystallization 실험을 실시하였다. 온도 130℃에서의 반응중류에서는 propionic acid가 증류되지 않아 모액에 그대로 남아있었다. 증류온도를 150℃, 170℃로 변경하였을 경우 다른 유기산들의 제거양에는 차이가 없었다. 대조군과 에탄올을 20% (v/v)로 첨가한 경우, 침전과 반응중류 실험을 연계하여서 실시하였고 젖산의 회수율을 비교하였다. Table 1에서 알 수 있듯이, 에탄올을 20% (v/v)로 첨가했을 때와 대조군의 젖산 회수율은 각각 67.5%, 28.6%이었다. Ca(LA)₂는 용해도가 높기 때문에 에탄올을 첨가하지 않은 발효액에서의 수율이 낮았다. 상기와 같이 본 연구에서는 젖산의 drowning-out crystallization에 있어 에탄올을 이용하여 젖산의 회수율을 28.6%에서 67.5%로 증가시켰다.

Table 1. Recovery yield after overall purification process in fermentation broth

Organic acids	Recovery yield (%)	
	Ethanol (0%)	Ethanol (20%, v/v)
Lactic acid	28.6	67.5
Citric acid	5.2	3.9
Acetic acid	10.2	8.0
Propionic acid	7.2	0.0

요약

본 연구에서는 에탄올 농도에 따른 모델용액과 발효액에서 여러 유기산들의 침전거동을 조사하였다. 발효액에서 에탄올의 농도가 높을수록 Ca(LA)₂의 침전양이 많았다. Ca(LA)₂의 침전효과는 발효액 내에서도 비슷하게 관찰되었다. 모델용액이나 발효액과의 혼합물 대비 30% (v/v)로 에탄올을 첨가하였을 때 젖산분리 공정의 불순물로 존재하는 다른 organic salt들의 침전율도 높았다. 따라서 전체 젖산회수공정의 효율에 대한 연구에서는 에탄올과 발효액의 혼합비율을 20%로 하였다. 반응중류시 일정 온도 이상에서는 젖산회수율이 차이하지 않았다. 에탄올이 첨가된 발효액에서는 대조군과 비교하여 최종젖산 회수율이 38.9% 증가하였다. 또한, 다른 유기산들을 포함한 회수액에서의 순도도 99.7%에 달하였다. 이러한 젖산 회수율의 증가는 drowning-out crystallization에 의한 Ca(LA)₂의 용해도 감소에 기인한 것으로 판단한다. 본 실험 이후에 더 높은 젖산 회수와 정제 효율을 얻기 위해서는 에탄올의 첨가에 따른 유기산의 거동과, 반응중류에서 사용되는 triethylamine의 양과 반응시간에 대한 검토가 필요할 것으로 사료된다.

감사

본 연구는 인하대학교 초정밀생물분리기술 연구센터와 산업자원부 청정생산기술 사업 지원 아래 수행되었습니다.

REFERENCES

- Roy, T. B. V., H. W. Blanch, and C. R. Wilke (1982), Lactic acid production by *Lactobacillus delbrueckii* in a hollow fiber fermenter, *Biotechnol. Lett.* **8**, 483-488.
- Demirci, A. and A. L. Pometto III (1995), Repeated-batch fermentation in biofilm reactors with plastic-composite supports for lactic acid production, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **43**, 585-589.
- Ho, G. K. L., A. L. Pometto III, and P. N. Hinz (1997), Optimization of L-(+)-lactic acid production by ring and disk plastic composite supports through repeated-batch biofilm fermentation, *Appl. Environ. Microbiol.* **63**, 2533-2542.
- Wasewar, K. L., A. B. M. Heesink, G. F. Versteeg, and V. G. Pangarkar (2002), Equilibria and kinetics for reactive extraction of lactic acid using Alamine 336 in decanol, *J. Chem. Tech. Biotechnol.* **77**, 168.
- Evangelista, R. L. and Z. L. Nikolov (1996), Recovery and purification of lactic acid from fermentation broth by adsorption, *Appl. Biochem. Biotechnol.* **57-58**, 471-480.
- Zihao, W. and Z. Kefeng (1995), Kinetics and mass transfer for lactic acid recovery with anion exchange method in fermentation solution, *Biotechnol. Bioeng.* **47**, 1-7.
- Nomura, Y., M. Iwahara, and M. Hongo (1987), Lactic acid production by electrodialysis fermentation using immobilized growing cells, *Biotechnol. Bioeng.* **30**, 788-793.
- Evangelista, R. L., A. J. Mangold, and Z. L. Nikolov (1994), Recovery of lactic acid by sorption: resin evaluation, *Appl. Biochem. Biotechnol.* **45-46**, 131-144.
- Timmer, J. M. K., H. C. Van der Horst, and T. Robbertsen (1993), Transport of lactic acid through reverse osmosis and nanofiltration membranes, *Journal of Membrane Science* **85**(2), 205-216.
- Davinson, B. H. and C. D. Scott (1992), A proposed biparticle fluidized-bed for lactic acid fermentation and simultaneous adsorption, *Biotechnol. Bioeng.* **39**, 365-368.
- 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.
- Cao, X., H. J. Lee, H. S. Yun, and Y. M. Koo (2001), Solubilities of calcium and zinc lactate in water and water-ethanol mixture, *Korean J. Chem. Eng.* **18**(1), 133-135.
- Pina, C. M., L. Fernández-Díaz, M. Prieto, and S. Veintemillas-Verdaguer (2001), Metastability in drowning-out crystallization: precipitation of highly soluble sulphates, *J. Crystal Growth* **222**, 317-327.
- Williamson, S. A. (2000), Conversion of carboxylate salts to carboxylic acids via reactive distillation, M. S. Thesis, Dept. of Chemical Engineering, Texas A&M University, Texas, USA.