

TÍTULO DE PATENTE NO. 328902

Titular(es): CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y ASISTENCIA EN TECNOLOGÍA Y DISEÑO DEL ESTADO DE JALISCO A.C.
Domicilio: Av. Normalistas No. 800, Colinas de la Normal, 44270, Guadalajara, Jalisco
Denominación: PROCESO CONTINUO PARA FERMENTAR JUGO DE AGAVE UTILIZANDO SACCHAROMYCES CEREVISIAE.
Clasificación: Int.Cl.8: C12G3/02

Inventor(es): DULCE MARIA DIAZ MONTAÑO

Número: JL/a/2006/000066	Fecha de presentación: 5 de diciembre de 2006	Hora: 13:07
País:	Fecha:	Número:

Vigencia: Veinte años
Fecha de Vencimiento: 5 de diciembre de 2026

La patente de referencia se otorga con fundamento en los artículos 1º, 2º fracción V, 6º fracción III, y 59 de la Ley de la Propiedad Industrial.

De conformidad con el artículo 23 de la Ley de la Propiedad Industrial, la presente patente tiene una vigencia de veinte años improrrogables, contada a partir de la fecha de presentación de la solicitud y condicionada al pago de la tarifa para mantener vigentes los derechos.

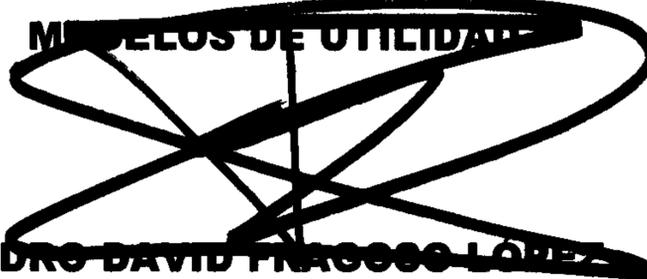
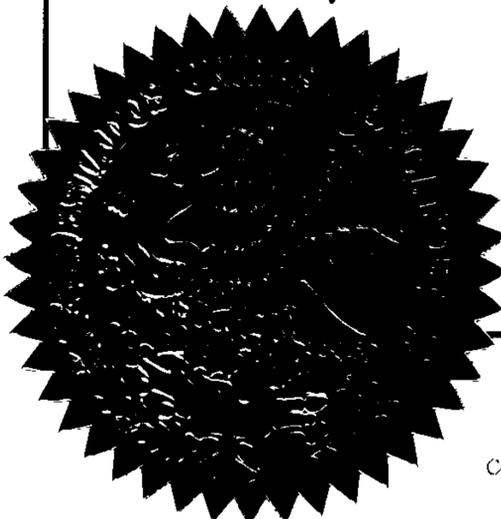
Quien suscribe el presente título lo hace con fundamento en el artículo 6º fracciones I y II bis 2 de la Ley de la Propiedad Industrial (Diario Oficial de la Federación (D.O.F.) 26/12/1997, 17/05/1999, 26/01/2004, 16/06/2005, 25/01/2006, 06/05/2009, 06/01/2010, 18/06/2010, 06/06/2010, 27/06/2010, 27/06/2010); artículos 1º, 3º fracción V inciso a), sub inciso iii) 4º y 12º fracciones I y III del Reglamento del Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial (D.O.F. 15/12/1999, reformado el 01/07/2002, 15/07/2004, 28/07/2004 y 7/09/2007), artículos 1º, 3º fracción V inciso a), sub inciso iii), 16 fracciones I y III y 30 del Estatuto Orgánico del Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial (D.O.F. 15/12/1999, reformado el 10/10/2002, 29/07/2004, 04/08/2004 y 13/09/2007), artículos 1º, 3º y 5º inciso a) y antepenúltimo párrafo del Acuerdo que delega facultades en los Directores Generales, Adjuntos, Coordinador, Directores Divisionales, Titulares de las Oficinas Regionales, Subdirectores Divisionales, Coordinadores Departamentales y otros subalternos del Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial. (D.O.F. 15/12/1999, reformado el 04/02/2000, 29/07/2004, 04/08/2004 y 13/09/2007).

Fecha de expedición: 29 de enero de 2015

SUBDIRECTOR DIVISIONAL DE EXAMEN DE FONDO DE PATENTES, ÁREAS MECÁNICA, ELÉCTRICA Y DE REGISTROS DE DISEÑOS INDUSTRIALES Y

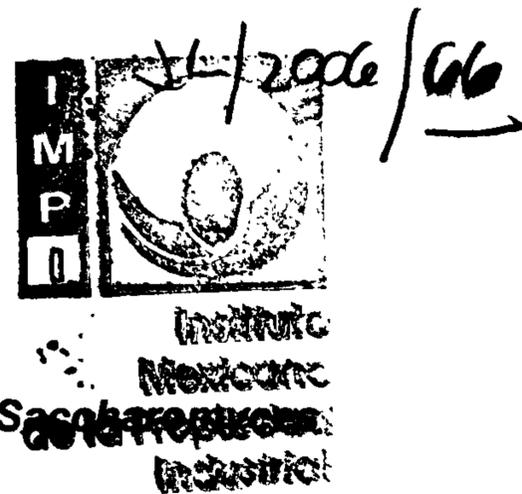
MODELOS DE UTILIDAD

PEDRO DAVID FRAGOSO LÓPEZ



328902 - Normal

5-12-26



-1-

“Proceso continuo para fermentar jugo de agave utilizando *Saccharomyces cerevisiae*”.

CAMPO TECNICO DEL INVENTO

5

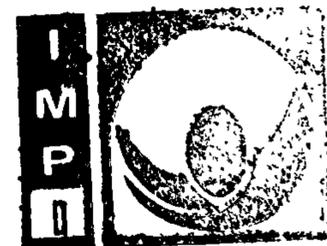
La presente invención esta relacionada a la etapa de fermentación en el proceso de producción de tequila, el cual se refiere a un método optimizado para fermentar jugo de agave en un sistema continuo en cultivo puro de *Saccharomyces* spp.

10

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

En la actualidad la fermentación de las bebidas alcohólicas destiladas como no destiladas (tequila, vinos, cerveza, ron, bacanora, mezcal, whisky, vodka, etc.), se realizan principalmente de la forma tradicional que es a través de un sistema por lotes. Sin embargo en el campo de las fermentaciones alcohólicas, también existe el sistema continuo que consiste en introducir continuamente en el fermentador un flujo de medio de cultivo a transformar, extrayendo de modo regular el medio fermentado. El sistema de fermentación en continuo se ha utilizado hasta la fecha en la producción de alcohol como combustible (Bayrock and Ingledew, 2001; Plessas et al., 2006) y en la producción de cerveza (Ryu and Kim, 1984; Mitsuyasu et al., 1994; Brányik et al., 2004).

Las etapas del proceso de elaboración del tequila influyen en forma determinante en la composición del producto final, las cuales son: el cocimiento, la fermentación, la destilación y si se desea madurar el tequila, el añejamiento (Cedeño, 1995). La etapa de fermentación juega un papel muy importante en el proceso del tequila, ya que ahí se produce todo el etanol y la mayor parte de los compuestos aromáticos que dan personalidad al tequila. Sin embargo el sistema de fermentación por lotes es limitante en el proceso de tequila, ya que requiere de varios días para que se realice la fermentación; conjuntamente, el sistema de fermentación por lote no permite realizar un buen control ya que existen variables que son dependientes de ese sistema. Sin embargo el sistema continuo tiene la ventaja que es un sistema sencillo para operar y controlar durante la fase estacionaria, lo cual facilita la estandarización del proceso y permite mantener una misma calidad del producto; además este sistema reduce la contaminación microbiana

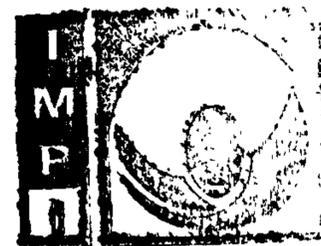


-2-

manifestándose en mayores rendimientos en la conversión azúcar-etanol, aumenta la productividad de etanol, incrementa la disponibilidad de espacios en las fabricas debido a que con este sistema continuo se puede fermentar grandes volúmenes de medio de cultivo además de reducir los costos de operación del proceso global ya que se sincroniza esta etapa con el resto de las etapas de todo el proceso que también están en continuo, permitiendo utilizar sin desperdiciar la energía eléctrica y el vapor de agua obtenida de la caldera (Stanbury et al., 1999; Bayrock and Ingledew, 2001; Vasconcelos et al., 2004).

El género de levadura utilizada universalmente en las fermentaciones para elaborar bebidas alcohólicas es *Saccharomyces* spp. debido a sus altos rendimientos de conversión de sustrato a etanol alcanzando concentraciones del orden de 11.8% (v/v) de alcohol (Soufleros, 1979). Esta levadura, *Saccharomyces* spp. se utiliza principalmente en cultivo puro o monocultivo de *Saccharomyces* spp., lo que significa que solamente se halla este genero de levadura en la fermentación.

En la actualidad existen patentes ya otorgadas para la producción de cerveza y alcohol como combustible utilizando un sistema continuo, sin embargo ninguna contiene lo que propone la invención que se esta presentando. Como ejemplo tenemos la patente Norteamérica US5688674 con titulo: (Continuous fermentation process for the production of metabolities using a moving filter). Ésta patente describe la fermentación en un sistema continuo con recirculación de levaduras, que en este caso es la levadura *Saccharomyces* spp., para producir metabolitos principalmente el etanol, sin embargo los rangos que reclama esta patente con respecto a la temperatura, pH y tasa de dilución en las reivindicaciones son excesivamente amplias para que *Saccharomyces* spp. pueda fermentar, por lo que en los limites superiores e inferiores del rango de la temperatura y del pH así como el limite superior de la tasa de dilución, no son viables para el crecimiento de este microorganismo y mucho menos para el desarrollo de la fermentación. En cambio en la invención que nosotros proponemos, determina las condiciones óptimas de la fermentación con respecto a la temperatura, pH, oxigeno disuelto y tasa de dilución en un sistema continuo utilizando *Saccharomyces* spp. en cultivo puro. Una mas es la patente WO2005111214 con título: (Ethanol productivities of *Saccharomyces cerevisiae* strains in fermentation of dilute-acid hydrolyzates depend on their furan reduction capacities), no obstante que indican en la reivindicación No. 1 la



-3-

utilización de un sistemas por lotes, un sistema semicontinuo y un sistema continuo de fermentación para producir etanol como combustible, en la descripción solo muestra la utilización de un sistemas por lotes y un sistema semicontinuo para la producción de etanol a diferencia de la nuestra que propone un método para fermentar en un sistema continuo con *Saccharomyces* spp.

Las ventajas directas que obtiene la industria tequilera con la utilización del proceso propuestos en esta invención son: **alto rendimiento de conversión azúcar-etanol, altas productividades de etanol, la estandarización del proceso fermentativo y la generación de productos dentro de la norma oficial Mexicana NOM-006-SCFI-2005;** los aspectos antes mencionados son algunas de las necesidades actuales que la industria tequilera requiere (PECYTJAL, 2003, Fundación produce, 2003) y que resuelve la invención que aquí proponemos.

DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

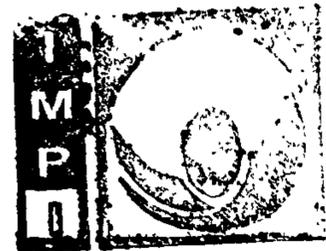
Los detalles característicos de ésta invención: **“Mejoras a proceso para fermentar jugo de agave utilizando *Saccharomyces cerevisiae*”** se muestran claramente en la siguiente descripción y figuras:

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Fig. 1.- Es una gráfica en donde se compara los diferentes sistemas de fermentación utilizando *Saccharomyces cerevisiae* en cultivo puro, con respecto a la concentración de azúcar consumido (Sc), etanol formado (ETOH) y productividad (P); en donde *Tradicional* corresponde a la fermentación con las condiciones de la industria tequilera utilizando *Saccharomyces cerevisiae*, el cual se realiza en un sistema por lotes e *Inv-SC*, se refiere a la fermentación en un sistema continuo en cultivo puro con *Saccharomyces cerevisiae*.

Con la finalidad de comparar el proceso presentado en esta invención con respecto al proceso tradicional, a continuación se muestra una breve explicación de la Figura 1.

En lo referente a la figura 1 se presenta la comparación del proceso de fermentación tradicional en la industria tequilera, con respecto al proceso de fermentación de jugo de agave en un sistema continuo que propone esta patente. Se puede observar que no



-4-

obstante que en los sistemas (*tradicional* y *Inv-SC*) se tiene las mismas concentraciones de etanol producido (*ETOH*) y azúcar consumido (*Sc*), las mayores productividades solo se presentaron utilizando el proceso de fermentación en un sistema continuo que proponemos en esta invención que en un sistema por lotes, aumentando la productividad 2.75 veces con el sistema continuo (*Inv-SC*) con respecto al sistema *tradicional* y/o sistema por lotes.

El proceso que se presenta en esta invención asegura un alto consumo del azúcar por parte de la levadura utilizada, así como un alto rendimiento de conversión azúcar etanol, altas productividades de etanol y concentraciones dentro de norma de los compuestos aromáticos volátiles que son regulados por el consejo regulador de tequila (CRT) a través de la norma NOM-006-SCFI-2005. **No obstante que en el proceso presentado en esta invención se utilizo solamente *Saccharomyces cerevisiae* para la fermentación de jugo de agave, se puede aplicar a cualquier especie del género de *Saccharomyces*.**

Fig. 2- Es un diagrama de flujo del proceso de producción de tequila empleando la fermentación de jugo de agave en un sistema continuo utilizando la *Saccharomyces cerevisiae*.

MEJOR METODO CONOCIDO PARA LLEVAR A CABO LA INVENCION

El “**proceso para fermentar jugo de agave utilizando *Saccharomyces cerevisiae***” en un sistema continuo consta de las siguientes ocho etapas:

Etapa 1. **Obtención del jugo de agave:** con el fin de formular el medio de propagación y el de fermentación de *Saccharomyces cerevisiae*, se requiere obtener jugo de agave a la concentración de 12 a 20 °Bx, según el proceso tradicional utilizado por la industria tequilera; una vez adquirido el jugo de agave a estas concentraciones, se procede a la realización del *medio de propagación y del medio de fermentación*,

Etapa 2. **Medio de fermentación y de propagación,** el medio de fermentación y de propagación de *Saccharomyces cerevisiae* se prepara con la finalidad de que la levadura se acondicione al medio de jugo de agave; para ello es necesario



-5-

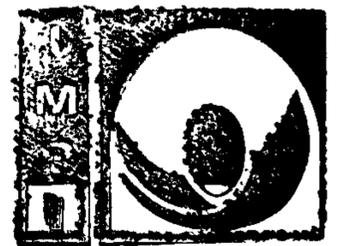
formular el jugo de agave a utilizar, para evitar que este presente una limitación de nutrientes ocasionando un bajo crecimiento del microorganismo así como una fermentación lenta.

5 Fase 2.1. **Medio de fermentación:** con la finalidad de obtener un medio de cultivo que no presente limitación por nutrientes para las levaduras, se prepara adicionando al jugo de agave entre 12 a 20 °Bx obtenido de la etapa anterior, 3 g/l de sulfato de amonio y/o fosfato de amonio o bien una mezcla de 1.5 g/l de cada uno; el *medio de fermentación* se homogeneiza y se continua con la preparación del *medio de propagación*,

10 Fase 2.2 **Medio de propagación:** con la finalidad de acondicionar la *Saccharomyces cerevisiae* al *medio de fermentación* dentro del proceso de elaboración de tequila, se debe formular un *medio de propagación* diluyendo el jugo de agave obtenido de la etapa 1 con agua destilada o de pozo hasta la concentración entre 6 a 8 °Bx, inmediatamente después de haber diluido el jugo de agave a la concentración mencionada, se le agrega 1 g/l de sulfato de amonio y/o fosfato de amonio monobásico o mezcla de ambos; después se homogeneiza el *medio de propagación* y a continuación se esteriliza a 15 psi durante 15 minutos; se deja enfriar el *medio de propagación* hasta temperatura ambiente para que se pueda continuar con el pre-inóculo,

15 Etapa 3. **Pre-inóculo de la *Saccharomyces cerevisiae***, a fin de obtener una alta concentración de biomasa de *Saccharomyces cerevisiae* para utilizarla después en el *inóculo*, se adiciona en condiciones de esterilidad aprox. $2 \pm 1 \times 10^6$ células/ml de *Saccharomyces cerevisiae* en 50 ml de *medio de propagación* obtenido de la etapa 2, el *medio de propagación* con *Saccharomyces cerevisiae* se incuba entre 30 a 35 °C, 200 a 300 rpm durante 24 horas; a partir de este cultivo se preparará el inóculo,

30 Etapa 4. **Inóculo de la *Saccharomyces cerevisiae***: con el fin de acondicionar fisiológicamente la *Saccharomyces cerevisiae* al medio de fermentación obtenido de la etapa 2, se agrega en condiciones de esterilidad a 250ml del



medio de propagación obtenido de la etapa 2, $20 \pm 5 \times 10^6$ células/ml de *Saccharomyces cerevisiae* obtenida del pre-inóculo de la etapa 3; el *medio de propagación* inoculado con la *Saccharomyces cerevisiae* se incubaba a las mismas condiciones que se indican en la etapa 3 (30-35°C, 200-300 rpm) durante 10 a 12 horas con la finalidad de obtener $>100 \times 10^6$ células/ml de *Saccharomyces cerevisiae*, una vez alcanzado $>100 \times 10^6$ células/ml de ésta levadura, se continúa con la etapa de inoculación del *medio de fermentación*,

5

10

Etapa 5. Inoculación del *medio de fermentación*, el proceso de inoculación del *medio de fermentación* es el siguiente: en 2.5 litros del *medio de fermentación* obtenido en la etapa 2 se le agrega como mínimo 3.5×10^6 células/ml de *Saccharomyces cerevisiae* obtenida de la etapa anterior, una vez realizado la inoculación del *medio de fermentación* se inicia la fermentación,

15

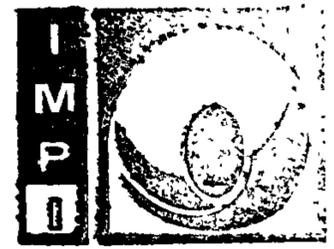
20

Etapa 6. Fermentación del *medio de fermentación*: con el fin de que todo el azúcar presente en el *medio de fermentación* se convierta principalmente en etanol mediante el uso de la *Saccharomyces cerevisiae* propagada como se menciona en las etapas 3 y 4 e inoculado en el *medio de fermentación* como se indica en la etapa 5, el *medio de fermentación* inoculado con *Saccharomyces cerevisiae* se mantiene en un equipo fermentador abierto o cerrado en condiciones de anaerobiosis no estrictas entre 30 a 35 °C de temperatura y 200 a 300 rpm de agitación durante 10 horas o hasta obtener de 80 a 100×10^6 células/ml de *Saccharomyces cerevisiae*, en este momento se inicia la alimentación del *medio de fermentación* y el desalojo del *mosto muerto*,

25

30

Etapa 7. La alimentación del *medio de fermentación* y el desalojo del *mosto muerto* en el equipo fermentador se realiza mediante dos bombas peristálticas (para un bajo flujo del *medio de fermentación* y/o *mosto muerto*) o bombas centrífugas (para un alto flujo del *medio de fermentación* y/o *mosto muerto*), con el objetivo de iniciar la fermentación en el sistema continuo. Las condiciones de fermentación con el sistema en continuo son: $0.06-0.12 \text{ h}^{-1}$ de tasa de dilución, 200-300 rpm de agitación, 30-35 °C de temperatura, 3-5 de pH y 0-24 ml/s de flujo de aire, siendo las condiciones óptimas para la *Saccharomyces cerevisiae*: 0.12 h^{-1} , 250 rpm, 35 °C, 5 de pH y 12 ml/s de flujo de aire. Para esta etapa se requiere un equipo fermentador que sea un tanque abierto o cerrado de fondo



Instituto
Mexicano
de Propiedad
Industrial

-7-

5 redondo con agitación mecánica, el material debe ser de vidrio o acero
inoxidable para evitar que sea tóxico y corrosivo; además para obtener un
óptimo control de las condiciones de fermentación, el equipo fermentador debe
de estar equipado para medir y regular la temperatura y el pH del *medio de*
fermentación; el valor del pH es controlado adicionando automáticamente al
medio de fermentación soluciones de H₃PO₄ al 30 % v/v y NaOH 4N; además se
requiere que el equipo fermentador tenga acceso a un sistema de aeración
siendo el más común un distribuidor de aire situado al final de eje del agitador.
El flujo de aire puede ser proporcionado por un compresor o un cilindro de aire
10 comprimido; la adición de aire puede ser regulado por un rotámetro. El *mosto*
muerto obtenido del flujo de salida del equipo fermentador es sometido a una
destilación,

15 **Etapas 8. Destilación:** con el fin de separar del *mosto muerto* el etanol y los compuestos
aromáticos, para lo anterior se puede utilizar alambiques de cobre o de acero
inoxidable o puede ser en torres de destilación en forma continua; la
metodología para destilar el *mosto muerto* es mediante la técnica tradicional que
realiza la industria tequilera, obteniendo así el tequila blanco, si se desea
madurar el tequila, este se lleva a añejar en barricas de roble blanco por lo
procesos ya conocidos.

20

DOCUMENTOS CITADOS

1. Bayrock, D.P. and Ingledew, W.M. 2001. Application of multistage continuous
25 fermentation for production of fuel alcohol by very-high-gravity fermentation
technology. J. of Ind. Microbiol. and Biotech., 27: 87-93.
2. Brányik, T., Vicente, A.A., Machado Cruz, J.M. and Teixeira, J.A. 2004.
Continuous Primary Fermentation of Beer with Yeast Immobilized on Spent
Grains-The Effect of Operational. Conditions. J. Am. Soc. Brew. Chem., 62: 29-34.
3. Cedeño C. M. (1995). Tequila production. Critical Reviews in Biotechnology, Vol.
30 15, No.1:1-11.
4. Choi C. Y. et al. (1997). Continuous fermentation process for the production of
metabolites using a moving filter. North American Patent US5688674.



Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

-8-

5. Consejo Regulador del Tequila. <http://www.crt.org.mx>.
6. Fundación Produce Jalisco. 2003. Programa Nacional Estratégico de Necesidades de Investigación y de Transferencia de Tecnología. Reporte Final Etapa II.
7. Mateo J. J., Jiménez M., Pastor A. and Huerta T. (2001). Yeast starter cultures affecting wine fermentation and volatiles. *Food research international*, (34): 307-314.
8. Mitsuyasu Okabe, Atsushi Oda, Yong Soo Park, Katsuhiko Noguchi, Takanori Okamoto and Shunsuke Mitsui. 1994. Continuous beer fermentation by high cell-density culture of bottom brewer's yeast *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 77: 41-445.
9. Nilsson A., Liden G., Gorwa-Grauslund M. F., Hahn-Haegerdal B. (2005) Ethanol productivities of *Saccharomyces cerevisiae* strains in fermentation of dilute-acid hydrolyzates depend on their furan reduction capacities. European Patent WO2005111214.
10. PECYTJAL 2001-2007. 2003. Programa Estatal de Ciencia y Tecnología del estado de Jalisco.
11. Plessas, S., Bekatorou, A., Koutinas, A.A., Soupioni, M., Banat, I.M. and Marchant, R. 2006. Use of *Saccharomyces cerevisiae* cells immobilized on orange peel as biocatalyst for alcoholic fermentation. *Bioresources Technology*, xx: xx,xx.
12. Romano P., Fiore C., Paraggio M., Caruso M y Capece A. (2003). Function of yeast species and strains in wine flavour. *International Journal of Food Microbiology*, No. 86:169-180.
13. Ryu D. and Kim Y. 1984. Effect of air supplement on the performance of continuous ethanol fermentation system. *Biotechnology and Bioengineering*, 16: 12-16.
14. Soden A., Francis I., Oakey H. and Henschke P. (2000) Effects of co-fermentation with *Candida stellata* and *Saccharomyces cerevisiae* on the aroma and composition of Chardonnay wine. *Australian Journal of Wine Research*. (6): 21-30.
15. Soufleros E. (1979). Les levures de la région de Naoussa (grèce). Identification et classification, étude des produits volatils formés au cours de la fermentation. Thèse de Docteur-ingénieur. Univ. Bordeaux II.
16. Stanbury, P.F., Whitaker, A. and Hall S.J. 1999. Principles of fermentation



-9-

technology (2da. Ed). Butterworth Heinemann, 13-31.

17. Valade M. y Moulin J. P. (1984). Le levurage en vinification en blanc. *Revue Française d'Œnologie*, 93:43-53.
18. Vasconcelos, J.N. de, Lopes, C.E. and França, F.P. 2004. Continuous ethanol production using yeast immobilized on sugar-cane stalks. *Braz. J. Chem. Eng.* [online]. July/Sept. 2004, vol.21, no.3 [cited 05 July 2006], p.357-365.

5

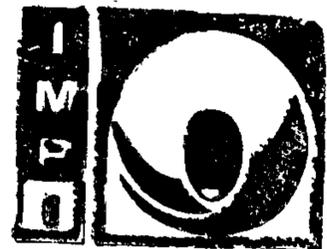
10

15

20

25

30



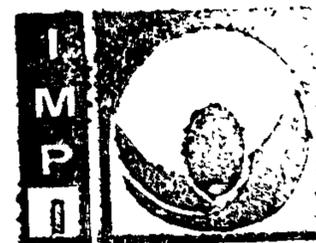
Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

-10-

REIVINDICACIONES

Habiendo descrito suficientemente mi invención, considero como una novedad y por lo tanto reclamo como de mi exclusiva propiedad, lo contenido en las siguientes cláusulas:

- 5
1. **Proceso continuo para fermentar jugo de agave utilizando *Saccharomyces cerevisiae*** caracterizado porque se compone de las siguientes etapas:
- 10
- a. **obtener jugo de agave** a la concentración de 12 a 20 °Bx;
- b. **formular jugo de agave** realizando los siguientes pasos:
- 15
- i. **preparar medio de fermentación** adicionando al jugo de agave entre 12 a 20 °Bx obtenido de la etapa anterior, 3 g/l de sulfato de amonio y/o fosfato de amonio o bien una mezcla de 1.5 g/l de cada uno; el *medio de fermentación* se homogeneiza y se continua con la preparación del *medio de propagación*;
- 20
- ii. **preparar medio de propagación**: se debe formular un *medio de propagación* diluyendo el jugo de agave obtenido de la etapa a) con agua destilada o de pozo hasta la concentración entre 6 a 8 °Bx, inmediatamente después, se le agrega 1 g/l de sulfato de amonio y/o fosfato de amonio monobásico o mezcla de ambos; después se homogeneiza el *medio de propagación* y se esteriliza a 15 psi durante 15 minutos; se enfría el *medio de propagación* hasta temperatura ambiente para continuar con el pre-inóculo,
- 25
- c. **se prepara el pre-inóculo de la *Saccharomyces cerevisiae***: se adiciona en condiciones de esterilidad aproximadamente $2 \pm 1 \times 10^6$ células/ml de *Saccharomyces cerevisiae* en 50 ml de *medio de propagación* obtenido de la etapa b, el *medio de propagación* con *Saccharomyces cerevisiae* se incuba entre 30 a 35 °C, 200 a 300 rpm durante 24 horas;
- 30
- d. **inocular la *Saccharomyces cerevisiae***, al *medio de fermentación* obtenido de la etapa b), se le agrega en condiciones de esterilidad a 250ml del *medio de propagación* obtenido de la etapa b), $20 \pm 5 \times 10^6$ células/ml de la *Saccharomyces cerevisiae* obtenida del pre-inóculo de la etapa c); el *medio de propagación* inoculado con la *Saccharomyces cerevisiae* se incuba a las mismas condiciones que se indican en la etapa c) (30-35°C, 200-300 rpm) durante 10 a 12 horas con la finalidad de obtener $>100 \times 10^6$ células/ml de *Saccharomyces cerevisiae*, alcanzado $>100 \times 10^6$ células/ml de ésta levadura;



Instituto

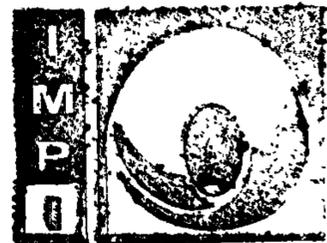
Mexicano

de la Propiedad

Intelectual

-11-

- e. **inocular el medio de fermentación**, en 2.5 litros del *medio de fermentación* obtenido en la etapa b se le agrega como mínimo 3.5×10^6 células/ml de *Saccharomyces cerevisiae* obtenida de la etapa anterior (etapa d), una vez realizado la inoculación del *medio de fermentación* se inicia la fermentación;
- 5 f. **fermentar el jugo de agave**: el *medio de fermentación* inoculado con *Saccharomyces cerevisiae* se mantiene en un equipo fermentador abierto o cerrado en condiciones de anaerobiosis no estrictas entre 30 a 35 °C de temperatura y 200 a 300 rpm de agitación durante 10 horas o hasta obtener de 80 a 100 $\times 10^6$ células/ml de *Saccharomyces cerevisiae*, en este momento se
- 10 inicia la alimentación del *medio de fermentación* y el desalojo del *mosto muerto*;
- g. **alimentar el *medio de fermentación***, se realiza mediante dos bombas peristálticas (para un bajo flujo del medio de fermentación y/o mosto muerto) o bombas centrífugas (para un alto flujo del medio de fermentación y/o mosto muerto). Las condiciones de fermentación con el sistema en continuo son:
- 15 0.06-0.12h⁻¹ de tasa de dilución, 200-300 rpm de agitación, 30-35 °C de temperatura, 3-5 de pH y 0-24 ml/s de flujo de aire, siendo las condiciones óptimas para la *Saccharomyces cerevisiae*: 0.12 h⁻¹, 250 rpm, 35 °C, 5 de pH y 12 ml/s de flujo de aire, se requiere un equipo fermentador que sea un tanque abierto o cerrado de fondo redondo con agitación mecánica; el valor del pH es
- 20 controlado adicionando automáticamente al *medio de fermentación* soluciones de H₃PO₄ al 30 % v/v y NaOH 4N; además se requiere que el equipo fermentador tenga acceso a un sistema de aeración. El flujo de aire puede ser proporcionado por un compresor o un cilindro de aire comprimido; la adición de aire puede ser regulado por rotámetro. El mosto muerto obtenido del flujo de
- 25 salida del equipo fermentador es sometido a una destilación;
- h. **destilar** para destilar el *mosto muerto* obteniendo el tequila blanco, para madurar el tequila, se lleva a añejar en barricas de roble blanco.



Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

-12-

RESUMEN DE LA INVENCION

Esta invención se refiere a un proceso para fermentar jugo de agave en un sistema continuo para la producción de tequila utilizando levaduras *Saccharomyces* spp. El uso de este proceso presenta varias ventajas en la etapa de fermentación del jugo de agave como son: facilitar la estandarización, disminuir los costos de producción y aumentar la productividad de etanol. En esta invención se presenta los pasos para realizar la fermentación de jugo de agave a altas concentraciones de azúcar en un sistema continuo, el cual no se ha establecido en la industria tequilera.

10

15

20

25

30

FIGURA 1

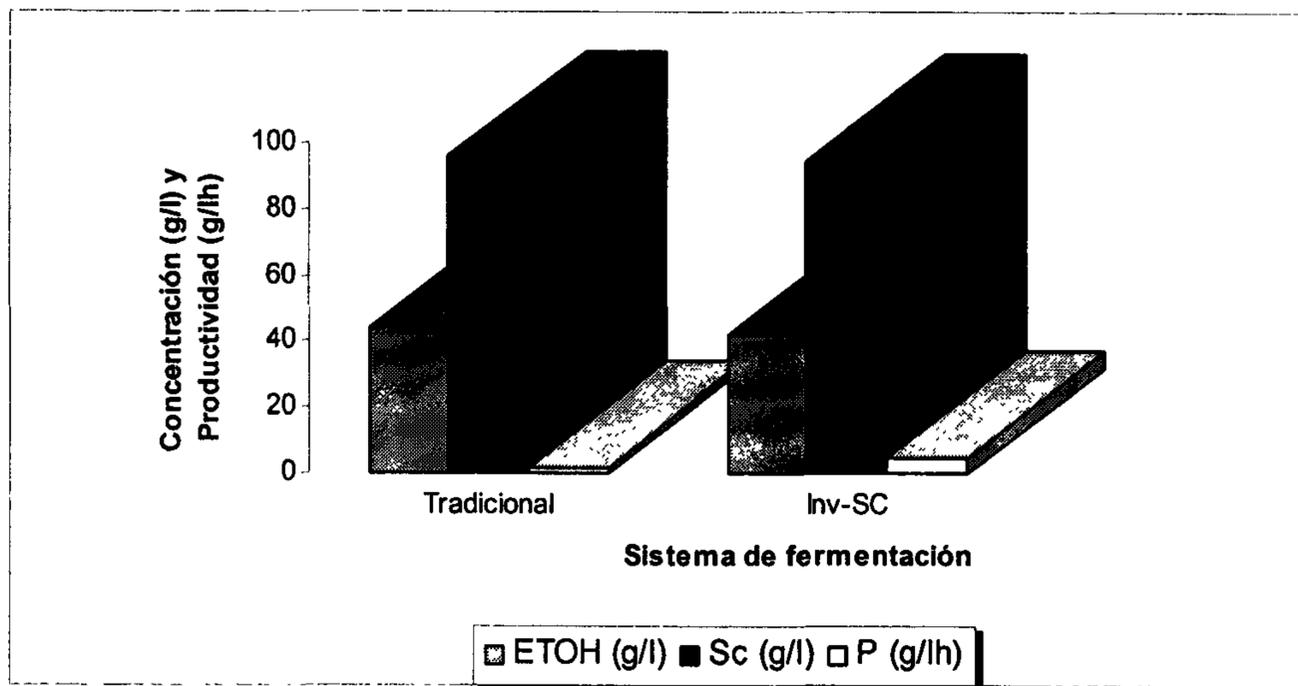


FIGURA 2

