

## TÍTULO DE PATENTE NO. 328906

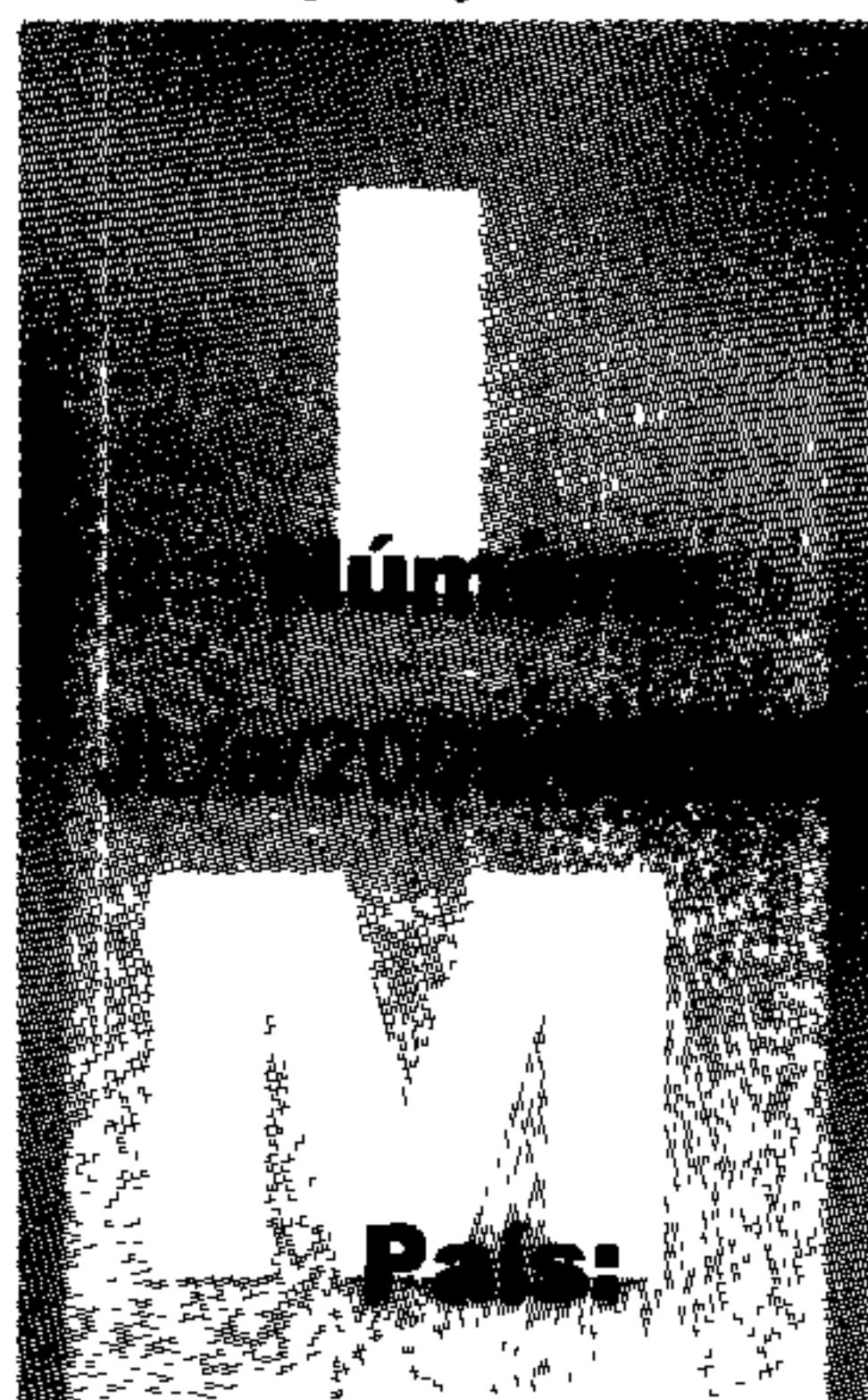
**Titular(es):** CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y ASISTENCIA EN TECNOLOGÍA Y DISEÑO DEL ESTADO DE JALISCO A.C.

**Domicilio:** Av. Normalistas No. 800, Col. Colinas de la Normal, 44270, Guadalajara, Jalisco, MEXICO

**Dominación:** PROCESO PARA OBTENER BIOMASA DE LEVADURAS EN UN MEDIO DE CULTIVO LÍQUIDO OBTENIDO A PARTIR DE LODOS RESIDUALES

**Clasificación:** Int.Cl.8: C02F11/02; C02F9/14; C12N1/16

**Inventor(es):** GEORGINA CORAL SANDOVAL FABIAN; JAVIER PLÁCIDO ARRIZÓN GAVIÑO



**Vigencia:** Veinte años

**Fecha de Vencimiento:** 19 de diciembre de 2025

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.

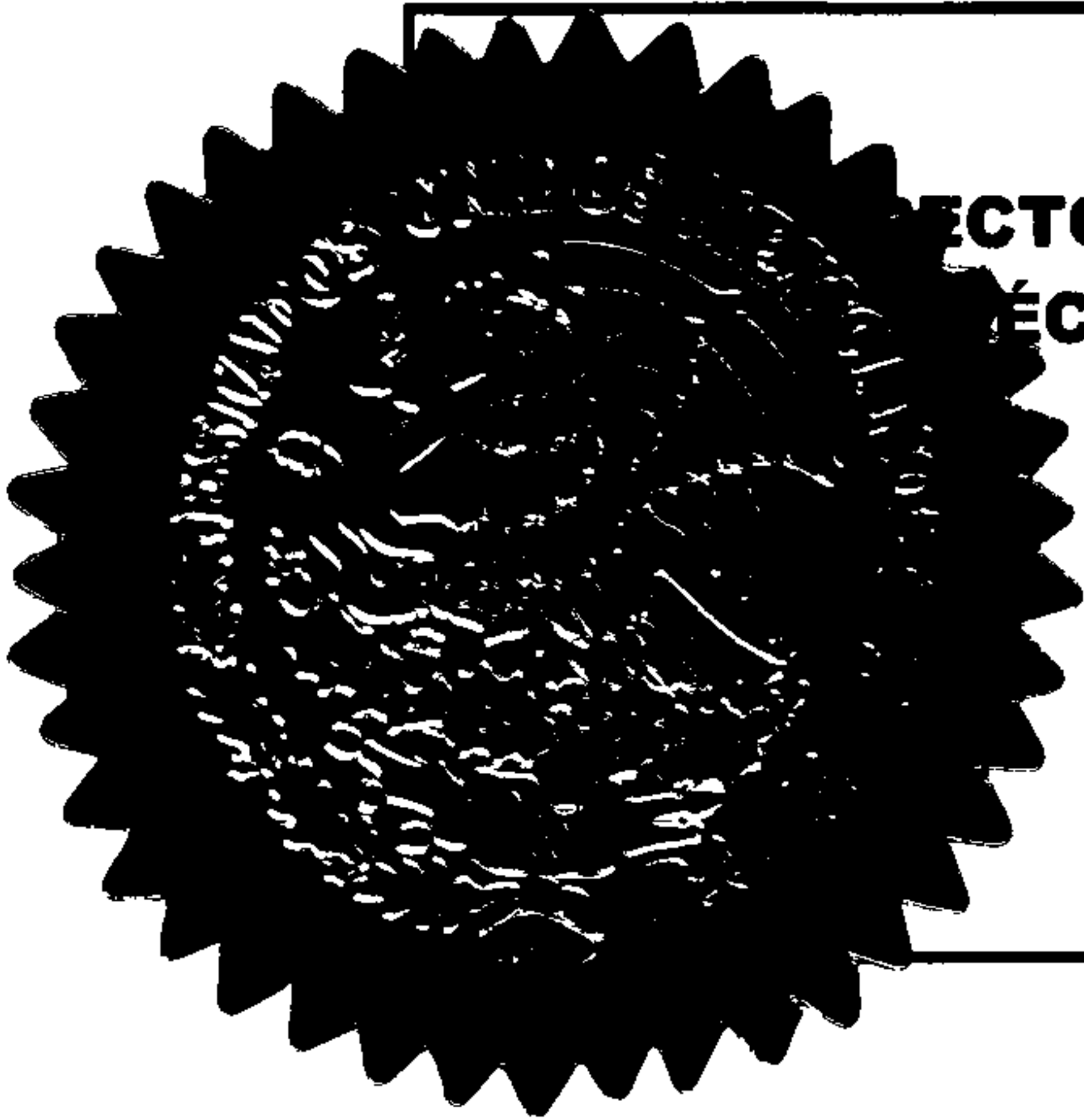
De conformidad con el artículo 23 de la Ley de la Propiedad Industrial, la presente patente tiene una vigencia de veinte años improrrogables, contada a partir de la fecha de presentación de la solicitud, previa al pago de la tarifa para mantener vigentes los derechos.

Quien suscribe el presente título lo hace con fundamento en lo dispuesto por los artículos 6º fracciones I y II, 7º bis 2 de la Ley de la Propiedad Industrial (Diario Oficial de la Federación (D.O.F.) 27/06/1999, reformada el 02/08/2004, 26/12/1997, 17/05/1999, 26/11/2004, 16/06/2005, 25/11/2006, 06/05/2009, 06/01/2010, 07/06/2010, 28/06/2010, 29/07/2002, 15/07/2004, 29/07/2004, 7/09/2007); artículos 1º, 3º fracción V inciso a), sub inciso iii) 4º y 12º fracciones I y III del Reglamento de la Ley de la Propiedad Industrial (D.O.F. 17/12/1999, reformado el 04/07/2002, 15/07/2004, 29/07/2004 y 7/09/2007); artículos 1º, 2º fracción I, 3º fracción I, 4º 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. 27/12/1999, reformado el 10/10/2002, 29/07/2004, 04/08/2004 y 13/09/2007); 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).

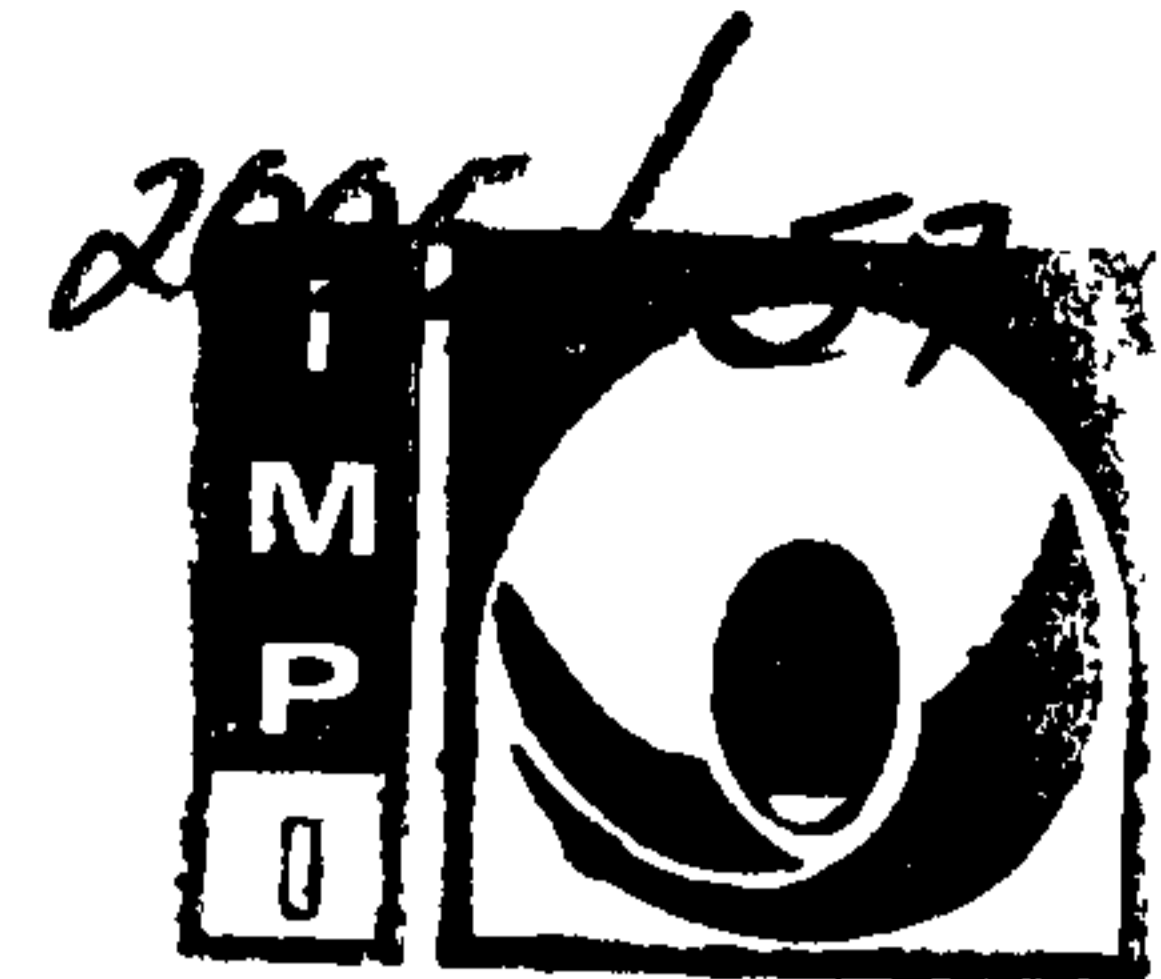
Fecha de expedición: 22 de enero de 2015

DIRECTOR DIVISIONAL DE EXAMEN DE FONDO DE PATENTES ÁREAS  
ELECTRICA Y DE REGISTROS DE DISEÑOS INDUSTRIALES Y MODELOS  
DE UTILIDAD

PE德罗 DAVID FRAGOSO LOPEZ



328906  
22-01-15



**"PROCESO PARA OBTENER BIOMASA DE LEVADURAS EN UN MEDIO DE CULTIVO LÍQUIDO OBTENIDO A PARTIR DE LODOS RESIDUALES"**

**Instituto  
Mexicano  
de la Propiedad  
Industrial,**

**CAMPO DE LA INVENCION**

5 La presente invención se refiere al uso de los lodos primarios, secundarios y terciarios, provenientes del tratamiento de aguas residuales domésticas, municipales e industriales, como nutriente para cultivar levaduras, así como al proceso para acondicionar dichos lodos.

**ANTECEDENTES DE LA INVENCION**

10 Las tecnologías comunes para el tratamiento de aguas residuales generan grandes cantidades de lodos orgánicos. Estos lodos son eliminados, esparciéndolos en la tierra, en confinamientos especiales, arrojándolos al mar o incinerándolos. Los costos del tratamiento y eliminación de los lodos pueden llegar a representar la mitad del costo global  
15 del tratamiento de aguas residuales (Vesilind, 1980).

Para facilitar el manejo y evitar posibles problemas ambientales de los lodos residuales se modifican las propiedades de éstos por medio de tratamientos que los hacen más adecuados para su reutilización o eliminación como la desinfección, la estabilización, el esparcimiento, el acomodamiento, la desecación, el secado final, combustión y otros,  
20 obteniéndose lodos líquidos, sólidos, desecados y composta.

La calidad del lodo depende de cuatro contaminantes principales que pueden acumularse:

1) Los metales como zinc, cobre, níquel, cadmio, plomo, mercurio y cromo tiene un potencial de acumulación en los tejidos humanos y se biomagnifican en las cadenas alimenticias, lo cual trae preocupaciones tanto medioambientales como sanitarias. La



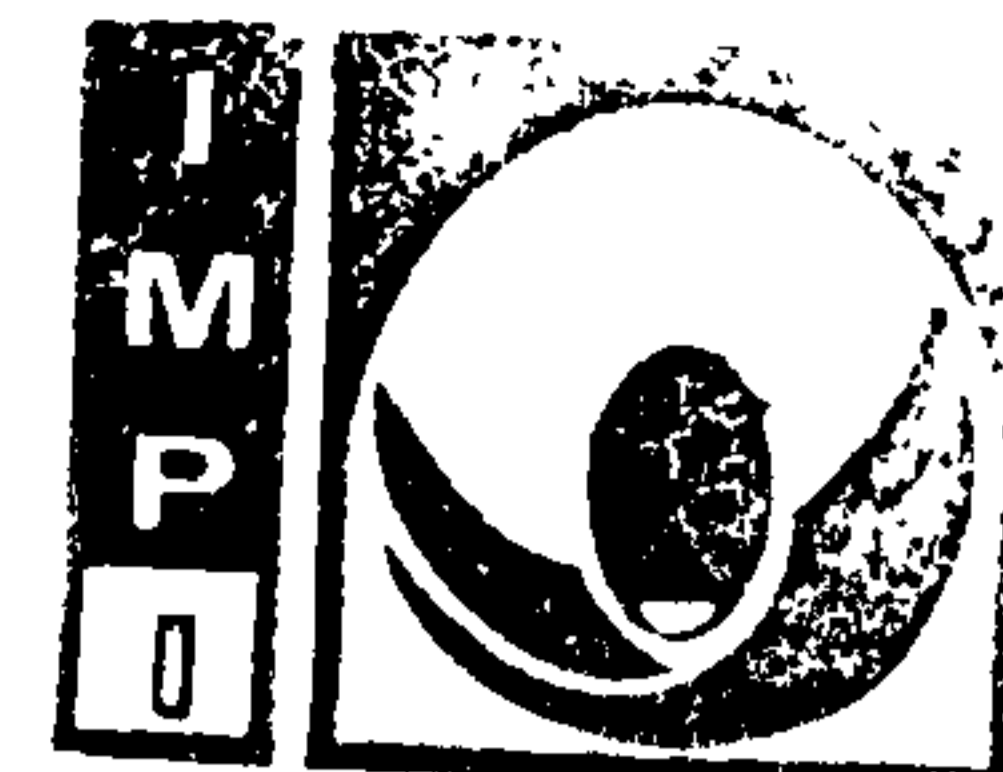
**Instituto  
Mexicano  
de la Propiedad  
Industrial**

acumulación de metales es preocupante principalmente en las aguas residuales industriales.

- 2) El nitrógeno y el fósforo son nutrientes importantes de las plantas. En aguas superficiales y subterráneas pueden provocar eutroficación, por lo que son peligrosos, por lo que requieren ser tratados para eliminar estos nutrientes en áreas sensibles identificadas, produciéndose lodos terciarios también con gran cantidad de nutrientes.
- 3) Otro tipo de contaminantes son los orgánicos como los plaguicidas, los disolventes industriales, los colorantes, los plastificantes, los agentes tensoactivos y muchas otras moléculas orgánicas complejas, generalmente con poca solubilidad en agua y elevada capacidad de adsorción, tienden a acumularse en los lodos. Tienen en su mayoría un tiempo de biodegradación lento.
- 4) Los agentes patógenos más importantes encontrados en los lodos son bacterias, virus, protozoos, trematodos, cestodos y nematodos.

En cumplimiento de las normas sobre el tratamiento de aguas residuales, se construyen cada vez más plantas de tratamiento de aguas que generan una cantidad de lodos cuya disposición es cada vez más complicada, debido principalmente a la preocupación por los riesgos sanitarios y ambientales, así como a las normas más restrictivas en cuanto al uso de los lodos en tierras de cultivo y su vertido al mar.

Por las razones expuestas anteriormente, es necesario buscar usos alternativos a los lodos generados por las plantas de tratamiento de aguas residuales domésticas, municipales e industriales. Entre las aplicaciones propuestas más recientemente se encuentran la fabricación de materiales para construcción (Kay, 2003) y como nutriente para el cultivo de bacterias. En este sentido se han reportado únicamente las siguientes bacterias cultivadas en lodos residuales: *Bacillus thuringiensis* (Copalbo, 1994; Tyagi et al., 1995),



Instituto  
Mexicano  
de la Propiedad  
Industrial

*Sinorhizobium metiloti* (Rebah et al.,2002) y *Lactobacillus paracasei* (Nakasaki y Adachi, 2003).

Cabe señalar que no había sido reportada la aplicación de los lodos residuales en el cultivo de levaduras de interés industrial, y esto forma parte de la presente invención. Las levaduras han demostrado una gran flexibilidad para crecer en sustratos económicos donde no crecen otro tipo de microorganismos. Por otro lado, tienen gran importancia como productores de biometabolitos industriales.

### DESCRIPCIÓN DE LA INVENCIÓN

10 Los detalles característicos de esta invención, que se refieren a un método de cultivo de levaduras en un medio de cultivo líquido obtenido de los lodos residuales, así como las etapas de su proceso de fabricación y ejemplos de su aplicación para la obtención de un producto tal como biomasa o metabolitos, se muestran claramente en la siguiente descripción y en la figura que se acompaña.

15 La figura 1 es una gráfica donde se representa el crecimiento de diferentes levaduras en medios derivados de lodos de tratamiento de aguas residuales sin nutrientes adicionales. En esta figura, se presenta el crecimiento de las siguientes levaduras: *Candida utilis* -- --, *Saccharomyces cerevisiae* -▲-, *Yarrowia lipolytica* -□-.

Para utilizar eficientemente los lodos de tratamiento de aguas residuales como medio de cultivo para levaduras, capaces de producir diversos productos de interés industrial, tal como biomasa y metabolitos, los lodos residuales deben ser previamente acondicionados. Es recomendable utilizar lodos que cumplan con las normas vigentes, sin embargo es posible utilizar cualquier tipo de lodos de tratamiento de aguas residuales ya sea primarios, secundarios o terciarios. En el caso de México, la reglamentación sobre lodos se encuentra



en la Norma Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002 "Protección ambiental – Lodos y biosólidos. – Especificaciones y límites permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final.

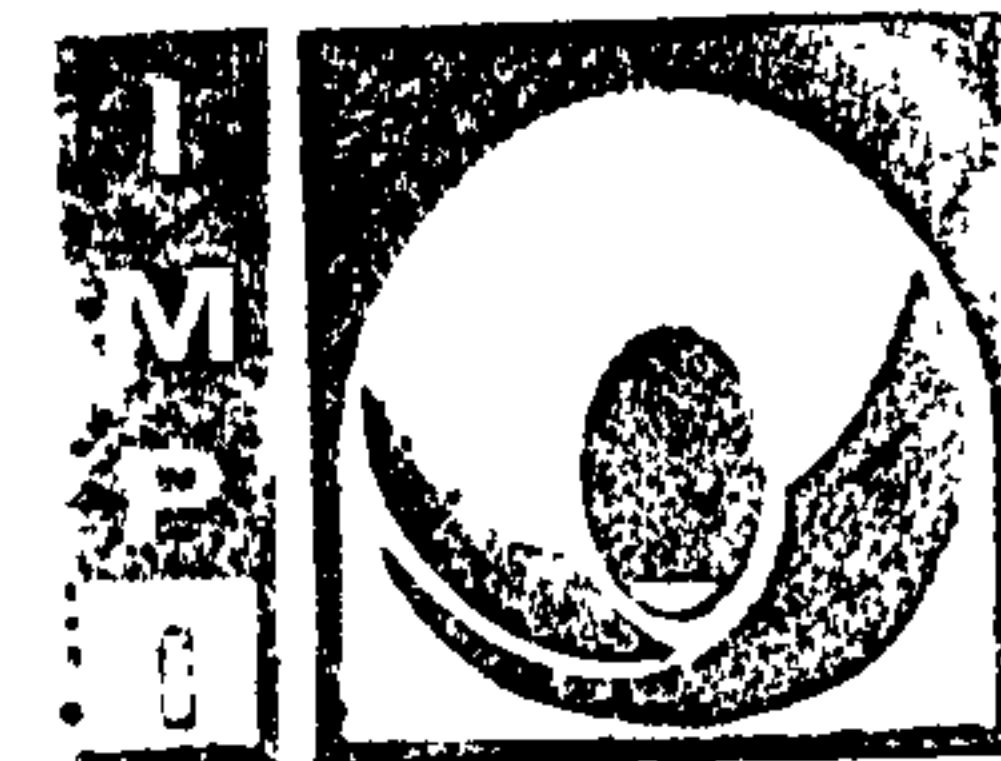
#### MEJOR MÉTODO CONOCIDO PARA LLEVAR A CABO LA INVENCION

- 5 El proceso para obtener un "medio de cultivo líquido para levaduras a partir de lodos residuales", el cual consta de siete etapas, las cuales se describen a continuación:

##### Etapa I.- Secado del lodo:

Con el fin de facilitar su manejo y molienda en la etapa II, así como reducir el riesgo de patogenicidad de los lodos, la primera etapa de acondicionamiento consiste en su secado. Para esta primera etapa se toma el lodo primario, secundario o terciario, proveniente de cualquier planta de tratamiento de aguas, domésticas, municipales o industriales, siendo recomendable que los lodos utilizados cumplan con las normas vigentes al respecto. Dichos lodos en la forma original en que salen de las plantas de tratamiento mencionadas que cumplan con las normas vigentes sobre lodos y biosólidos, se dejan secar en camas de arena o arcilla o cualquier otro material secante, de un tamaño adecuado a la cantidad de lodos, temperatura y humedad ambientales, como por ejemplo 15 m<sup>2</sup> con 0.5 m de profundidad de arena, sirve para secar 0.5 m<sup>3</sup> de lodos. Los lodos se dejan secar a temperatura ambiente, dependiendo de la cantidad y humedad de los lodos, la duración puede ir desde minutos hasta semanas, lo importante es obtener una humedad del 0 al 10 %, lo cual permite disminuir el riesgo por patogenicidad y mejorar su procesamiento posterior. Al lodo que se obtiene de esta etapa le denominamos "lodo seco".

##### Etapa II.- Molienda del lodo seco:



El "lodo seco" obtenido de la etapa anterior es molido con la finalidad de incrementar el área de transferencia de las partículas de dicho lodo seco, que facilitará la siguiente etapa de hidrólisis (etapa III). El lodo seco, es molido con el objeto de tener un polvo de lodo con un tamaño de partícula de 0.04 a 0.5 mm.

5 Para ello se utiliza un molino de bolas, molino de mandíbula, molino de rodillos, molino de martillos o la combinación de los molinos anteriores y otros. A menor tamaño de partícula se facilita la liberación de nutrientes de los lodos. Al lodo que se obtiene de esta etapa le denominamos "lodo molido".

#### Etapa III.- Hidrólisis del lodo:

10 El objetivo de la etapa de hidrólisis es liberar los nutrientes contenidos en los lodos, para que sean asimilables por los microorganismos eucariotes del reino *Fungi*, en este caso las levaduras. Para esta etapa se utiliza el lodo molido de la etapa anterior y se le adiciona una solución de ácido sulfúrico a una concentración del 2 N. La concentración de sólidos va de 12 a 120 g/L. Más específicamente la

15 concentración óptima depende del microorganismo que se va a cultivar. En el caso del microorganismos modelo utilizado *Saccharomyces cerevisiae*, las concentración óptima de sólidos fue 120 g de lodo molido por litro de ácido sulfúrico de una

20 concentración 2 N. La mezcla de lodo molido y ácido, se somete a un tratamiento térmico a 121 °C, con una duración de, al menos 30 minutos. Posteriormente se ajusta a un pH de 4.5 en el caso de *S. cerevisiae* o al pH óptimo de la levadura que se desea cultivar. El ajuste de pH se realiza con sosa a una concentración de 2 N o con alguna otra base. Al lodo que se obtiene de esta etapa, le denominamos "lodo hidrolizado"

#### Etapa IV.- Obtención del sobrenadante:



Instituto  
Mexicano  
de la Propiedad  
Industrial

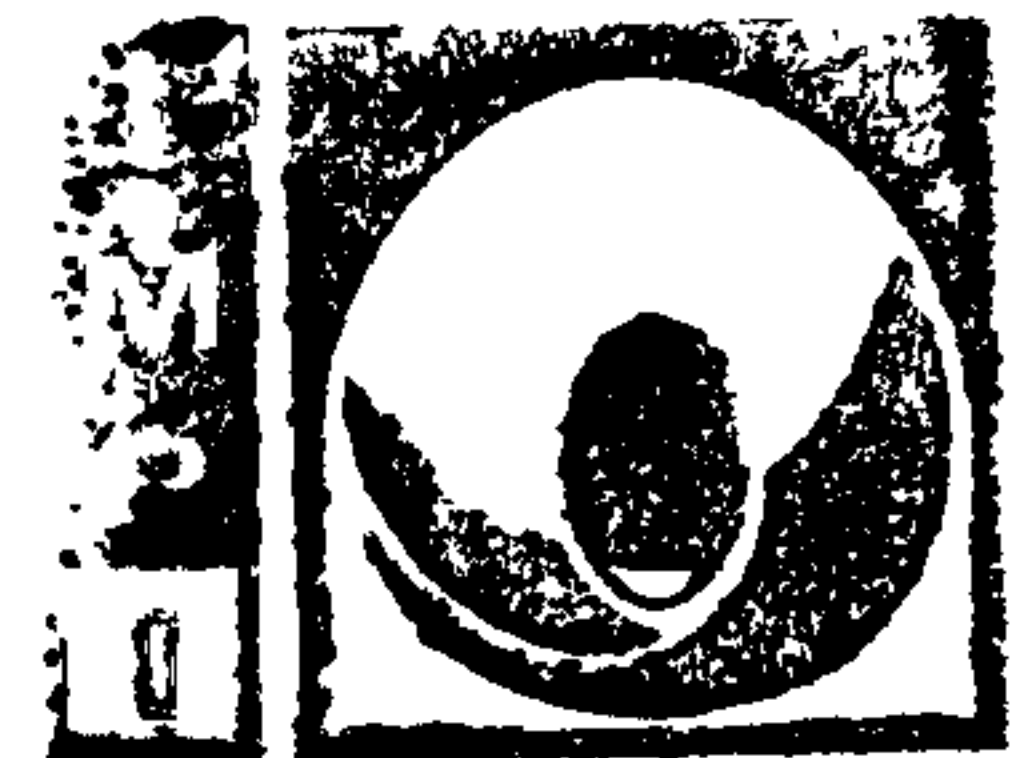
Con la finalidad de mejorar la purificación de los metabolitos y facilitar el monitoreo y control del cultivo, los sólidos del "lodo hidrolizado" se eliminan por medio de un proceso de centrifugación. Las condiciones de centrifugación a utilizar para un tamaño de partícula menor a 0.5 mm, son 30 minutos a 6000xg (6000 veces el equivalente de la aceleración de la gravedad), el equivalente en rpm dependerá del ángulo del rotor. Para partículas más finas se necesitará más tiempo de centrifugación. La centrifugación deberá realizarse en condiciones de esterilidad. Una vez retirados los sólidos, el sobrenadante obtenido contiene todos los elementos necesarios para poderse utilizar como medio de cultivo. A este sobrenadante se le denominará "medio de cultivo líquido derivado de lodos".

El medio de cultivo líquido obtenido a partir de lodos residuales, el cual contiene azúcares, ácidos grasos (carbono total alrededor de 30-50 g por litro de medio en el ejemplo de *S. cerevisiae*), bases nitrogenadas (nitrógeno orgánico de 0.07 a 0.1 g por litro de medio en el ejemplo de *S. cerevisiae*), y minerales (0.8 a 12 g por litro de medio en el ejemplo de *S. cerevisiae*), en una forma asimilable para las levaduras.

Variantes del Proceso de obtención del proceso para obtener un "medio de cultivo líquido a partir de lodos residuales". Las siguientes variantes del proceso anteriormente referido pueden utilizarse sin detrimento en el crecimiento de los microorganismos:

**Etapa III.- Hidrólisis del lodo:**

Alternativamente, la hidrólisis puede realizarse en condiciones alcalinas en lugar de ácidas, en ese caso el ajuste de pH se realizará con un ácido. Para el ajuste del pH pueden utilizarse ácidos o bases diferentes del ácido sulfúrico y sosa. También



puede utilizarse una hidrólisis enzimática utilizando polisacaridasas, lipasas y proteasas, en lugar de la hidrólisis ácido-térmica o alcalino-térmica.

Instituto  
Mexicano  
de la Propiedad  
Industrial

5 Para cada microorganismo del reino que se desea cultivar para obtener algún producto de interés industrial, como biomasa y metabolitos se debe ajustar el pH y la concentración de sólidos en la etapa de hidrólisis, de acuerdo con las características fisiológicas de cada microorganismo.

Se presentan a continuación algunos ejemplos de las variantes de cantidad de sólidos y ajuste de pH en la etapa III, para levaduras representativas, además de la descrita anteriormente (*S. cerevisiae*):

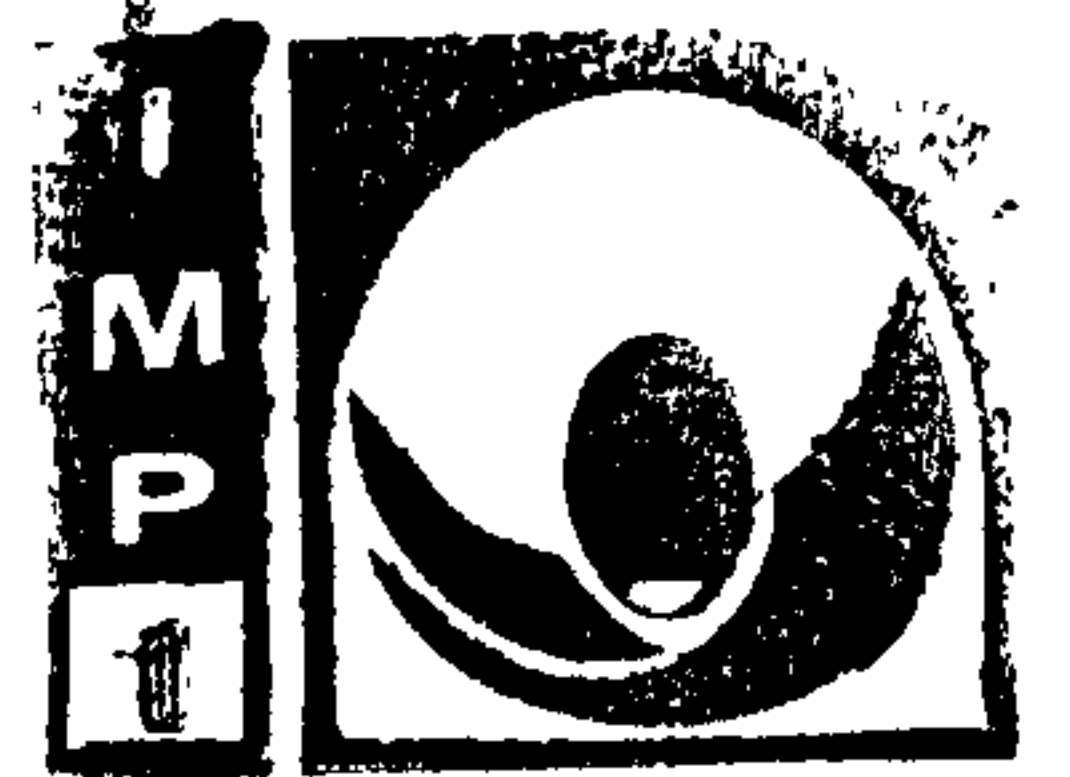
10 En el caso de *Candida utilis*, se utiliza 96 g de lodo molido por litro de ácido o base hidrolizante, el cual se ajusta a un pH de 4, ya sea con ácido o base, después del tratamiento térmico en las mismas condiciones descritas en la etapa III.

15 En el caso de *Yarrowia lipolytica*, se utiliza de 12 a 96 g de lodo molido por litro de ácido o base hidrolizante, el cual se ajusta a un pH de 6, ya sea con ácido o base, después del tratamiento térmico en las mismas condiciones descritas en la etapa III.

#### Etapa IV.- Obtención del sobrenadante:

20 Opcionalmente, se pueden retirar los sólidos del lodo hidrolizado por medio de una centrifugación o filtración o una combinación de ambas. Alternativamente si la centrifugación no se realiza en condiciones de esterilidad se puede re-esterilizarse térmicamente a 121°C o por filtración. La filtración para retirar los sólidos puede realizarse con cualquier tipo de filtro con membranas de poro menor al tamaño de partícula de los lodos y la filtración esterilizante con membranas estériles de poro de 0.2 a 0.45 micras.





PROCESO PARA LA OBTENCIÓN DE PRODUCTOS BIOTECNOLÓGICOS MEDIANTE EL CULTIVO DE MICROORGANISMOS FUNGI EN UN MEDIO DE CULTIVO LÍQUIDO A PARTIR DE LODOS.

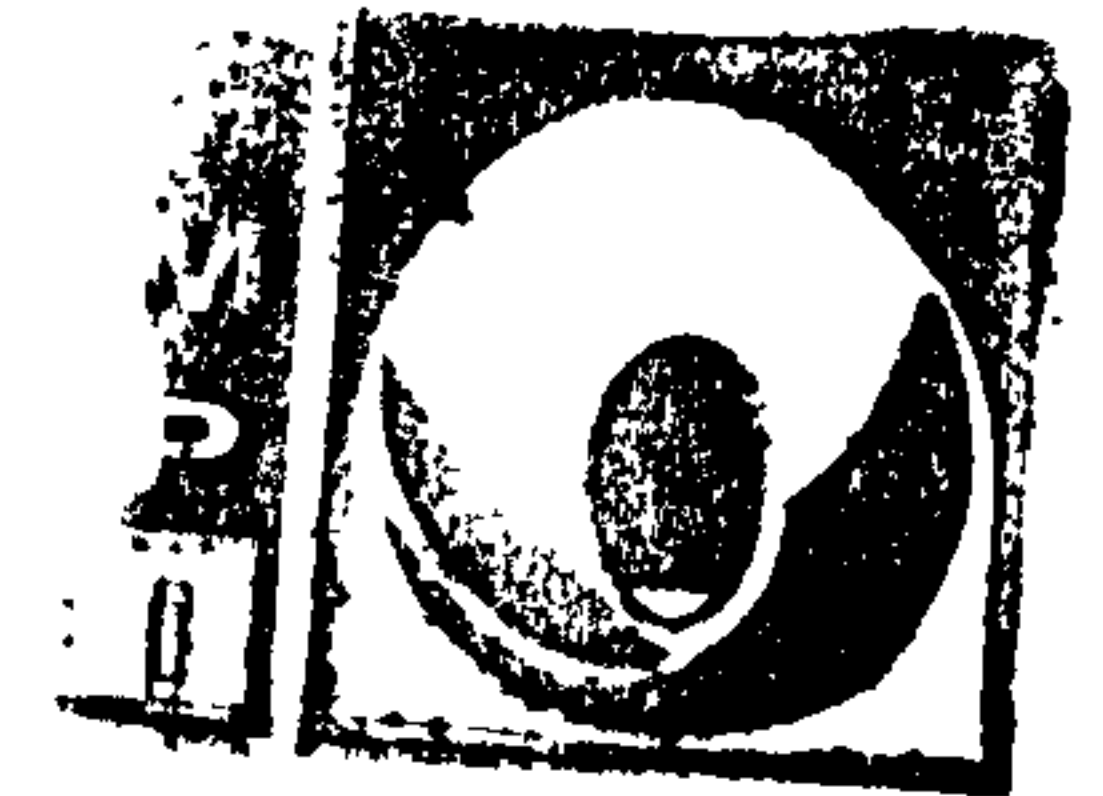
Una vez que se obtuvo el medio de cultivo líquido derivado de lodos conforme a las cuatro etapas anteriores, se procede a realizar el cultivo de levaduras tal como las mencionadas en la figura 1 que se acompaña. Este proceso tiene como objeto obtener a un costo competitivo un producto biotecnológico, tal como biomasa o metabolitos, el proceso consta de las siguientes etapas:

Etapa 1.- Propagación del pre-inoculo:

Para asegurar una cantidad de 100 a 400 millones de células por mL de cultivo para su posterior adaptación y crecimiento en el medio líquido obtenido a partir de lodos residuales; se inoculan en condiciones de esterilidad  $1 \times 10^6$  células/ml de la levadura a un medio de cultivo rico, como el medio YPD (Yeast Peptone Dextrose), que se caracteriza porque contiene 5 g/L de extracto de levadura, 10 g/L de peptona y 10 g/L de dextrosa, el cual se utiliza de manera general para el cultivo de una amplia gama de levaduras. El volumen del inoculo debe representar el 10 % del volumen total de medio de cultivo a propagar, posteriormente se cultiva el microorganismo en el medio YPD durante 12 horas a 28-30 °C y 250 rpm.

Etapa 2.-Propagación del inoculo.

Con el objetivo de adaptar el microorganismo al medio de cultivo líquido obtenido a partir de lodos residuales, y de disminuir los costos de obtención del inoculo para una fermentación a escala industrial, se inoculan en condiciones de esterilidad al medio de cultivo líquido obtenido a partir de lodos residuales,  $1 \times 10^6$  células/ml de levaduras, a partir del pre-inoculo de la etapa 1 del método de cultivo, de



manera que el volumen del inóculo represente el 10 % del volumen total de medio de cultivo a propagar, posteriormente se propaga en promedio 48 horas a 28-30°C y 250 rpm para alcanzar la concentración celular máxima. Esta propagación se repite las veces que sea necesario para alcanzar el 10% del volumen total del cultivo final.

Etapa 3.-Obtención de biomasa de levaduras mediante el cultivo de levaduras en el medio de cultivo líquido obtenido a partir de lodos residuales.

En condiciones de esterilidad se lleva el inóculo final de la etapa 2 del método de cultivo al medio líquido de cultivo obtenido en la etapa IV de los procesos para obtener el medio de cultivo a partir de lodos residuales, de manera que el volumen del inóculo represente el 10 % del volumen total de medio de cultivo a fermentar.

Dependiendo de las condiciones en las que se produzca la biomasa o metabolito de interés se realiza el cultivo con las siguientes VARIANTES:

Cultivo en condiciones aeróbicas.

En estas condiciones se pueden obtener productos como biomasa, glucanos, enzimas, ácidos orgánicos, aromas, entre otros. Después de agregar el inóculo final de la etapa 2 del método de cultivo al medio de lodos residuales, se propaga en promedio de 24 a 120 horas a 25-35 °C, con suministro de oxígeno, ya sea por aeración mecánica o por burbujeo de aire.

Cultivo en condiciones anaeróbicas.

En estas condiciones se puede obtener alcohol, enzimas, glicerol, ácidos orgánicos, antibióticos, entre otros. Después de agregar el inóculo final de la etapa 2 del método de cultivo al medio de lodos residuales, se propaga en promedio de 24 a 120 horas a una temperatura de 25 a 40°C sin aeración.



El uso del **medio derivado de lodos** como medio de cultivo para levaduras presenta las siguientes ventajas:

- i) Contribuye a la disposición ecológica de los lodos de tratamiento de aguas.
- ii) El crecimiento moderado de las levaduras en este tipo de medios lo hace particularmente adecuado para la producción de metabolitos secundarios, tales como antibióticos, enzimas y aromas, entre otros. Así como componentes de la pared celular, tales como los glucanos.
- iii) Los costos de producción de dichos metabolitos se reducen considerablemente al utilizar un material de desecho gratuito y disponible en grandes cantidades.
- iv) Se disminuyen los costos de disposición de los lodos y se da una solución a este problema ambiental, al transformarlos en productos de valor agregado, tales como antibióticos, enzimas y aromas, entre otros. Así como componentes de la pared celular, tales como los glucanos.

15

#### EJEMPLOS DE APLICACIÓN DE LA INVENCION

Usar el **medio de cultivo derivado de lodos**, descrito en la presente invención, tiene un costo diez veces menor que usar el medio rico tradicional YPD. Enseguida se describe un ejemplo de aplicación.

Obtención de biomasa: En un tubo estéril se pre-inoculan  $5 \times 10^6$  células de la levadura *S. cerevisiae* en 5 ml del medio de cultivo rico YPD y se incuba a 30°C y 250 rpm por 12 horas. Posteriormente del pre-inóculo, se toma estérilmente, aproximadamente 1 ml para tener alrededor de  $1 \times 10^6$  células de *S. cerevisiae* y se inoculan en otro tubo estéril conteniendo 10 ml del **medio de cultivo líquido para levaduras obtenido a partir de lodos residuales**, preparado con una concentración de 120 g/L de lodo y ajustado a pH 4



como se describe en la etapa III del proceso del proceso de obtención del medio de cultivo a partir de lodos residuales. Posteriormente, se incubó a 30°C y 250 r.p.m. durante 16 horas, hasta alcanzar la concentración celular máxima. Este inóculo se agrega nuevamente a un matraz estéril de 250 ml con 100 ml de medio de cultivo líquido para levaduras obtenido a partir de lodos residuales, preparado con una concentración de 120g/L de lodo y ajustado a pH 4 como se describe en la etapa III del proceso de obtención del medio de cultivo a partir de lodos residuales. Posteriormente, se incubó a 30°C y 250 r.p.m. durante 16 horas hasta alcanzar la concentración celular máxima. Este inóculo se lleva a un litro del medio de cultivo derivado de lodos preparado con una concentración de 120 g/L de lodo y ajustado a pH 4 como se describe en la etapa III del proceso de acondicionamiento de los lodos.

En la figura 1 se presentan gráficas de crecimiento de diferentes levaduras usando únicamente el sobrenadante de la etapa IV del proceso de obtención del medio de cultivo a partir de lodos residuales, sin adición de otros nutrientes. Las condiciones utilizadas fueron de un pre-incóculo en YPD y un inóculo en lodo sobrenadante, cultivo aeróbico y 96 g/L de lodos, pH 4, 30°C para *C. utilis*, 120 g/L de lodos, pH 4, 30°C para *S. cerevisiae* y 12 g/L de lodos, pH 6, 28°C para *Y. lipolytica*.

De acuerdo con el comportamiento observado, se puede constatar que el medio de lodos puede ser utilizado como substrato para el crecimiento de diferentes levaduras con diversos fines biotecnológicos, sólo se tiene que ajustar la concentración de los sólidos y el pH de acuerdo con las características de la fisiológicas de cada microorganismo.

## DOCUMENTOS CITADOS

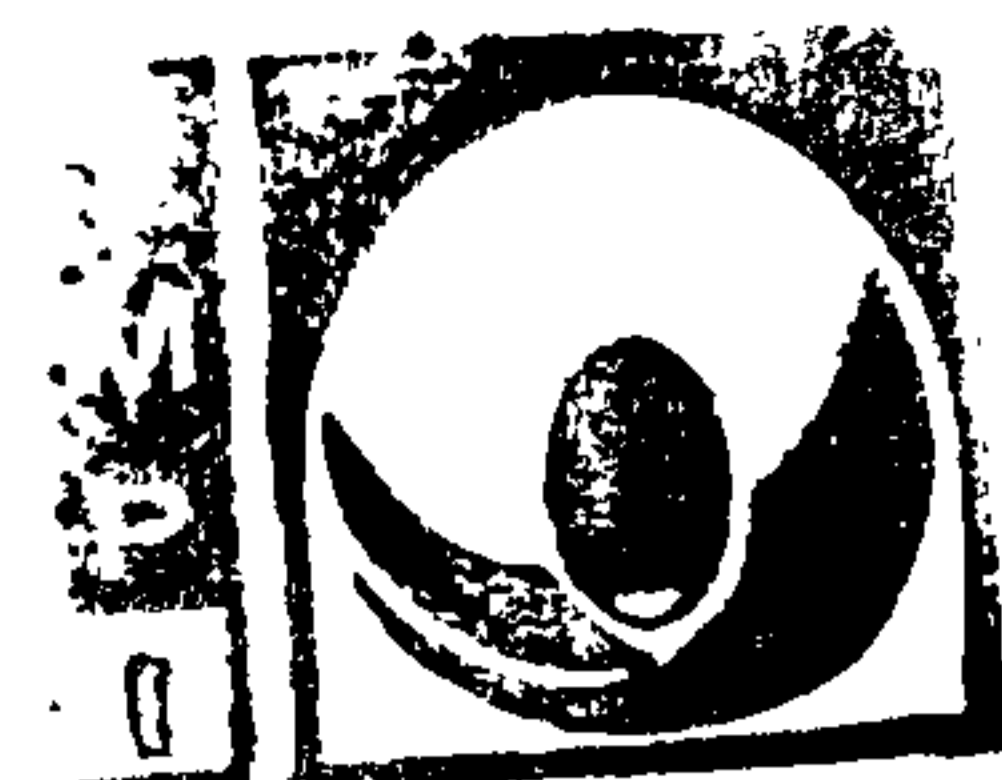


- Capalbo DM *et al.* Novel culture media for preparation of a biological insecticide based on *Bacillus thuringensis*. Chemical abstracts, abstract No. 189850n, 120(15). (1994).
- Kay M. What to do with sludge? Pulp & Paper International (PPI), pp. 19-21. August (2003).
- Capalbo DM *et al.* Novel culture media for preparation of a biological insecticide based on *Bacillus thuringensis*. Chemical abstracts, abstract No. 189850n, 120(15). (1994).
- Kay M. What to do with sludge? Pulp & Paper International (PPI), pp. 19-21. August (2003).
- Nakasaki K and Adashi T. Effects of intermittent addition of cellulose for production of L-lactic acid from wastewater sludge by simultaneous saccharification and fermentation. *Biotechnology & Bioengineering*, 82:263-270 (2003).
- Rebah FB, Tyagi RD and Prevost D. Production of *S. metiloti* using wastewater sludge as raw material: effect of nutrient addition and pH control. *Environmental Technology* 23:623-629 (2002).
- Tyagi RD *et al.* Process for cultivating *Bacillus thuringiensis* biopesticides in wastewater treatment sludges. WO 95/35365 (1995).
- Vesilind PA. Treatment and disposal of wastewaters sludges. Ann Arbor Science Publishers, USA. (1980).

## REIVINDICACIONES

Después de haber descrito lo suficiente nuestra invención, consideramos de nuestra exclusiva propiedad lo contenido en las siguientes cláusulas:

- 5 1.- Proceso para obtener “**biomasa de levaduras a partir de lodos residuales**” caracterizado porque comprende las siguientes etapas: i) secar el lodo proveniente de plantas de tratamiento de aguas a temperatura ambiente hasta obtener una humedad del 0 – 10 %, ii) moler el lodo seco hasta obtener tamaño de partículas de 0.04 – 0.5 mm, iii) hidrolizar el lodo adicionando ácido sulfúrico a una concentración de 2 N en una concentración que va de 12 a 120 g/l que se somete a un tratamiento térmico a 121 ° C
- 10 durante 30 minutos y se ajusta el pH a una concentración de 2N con sosa, iv) obtener el sobrenadante centrifugado para un tamaño de partícula menor a 0.5 mm durante 30 minutos a 6000 x g en condiciones de esterilidad, v) propagar el pre-inoculo con  $1 \times 10^6$  células/ml de levaduras en un medio de cultivo rico como el YPD en un promedio de 12 horas a 28 – 30 ° C y 250 rpm,
- 15 vi) propagar el inoculo con  $1 \times 10^6$  células/ml de levaduras en el medio de cultivo líquido obtenido a partir de lodos residuales, a partir del pre-inoculo en un promedio de 48 horas a 28 – 30 ° C y 250 rpm, hasta alcanzar la concentración celular máxima para alcanzar el 10% del volumen total del
- 20 cultivo final, vii) producción de biomasa adicionando un volumen de inoculo que represente el 10 % del volumen total de medio de cultivo a fermentar, en el medio de cultivo líquido obtenido a partir de lodos residuales, ya sea en condiciones aeróbicas de 24 a 120 horas a 25-35 °C, con suministro de oxígeno, ya sea por aeración mecánica o por burbujeo de aire, o en



condiciones anaeróbicas de 24 a 120 horas a una temperatura de 25 a 40 °C sin aeración.

5

2.- El proceso de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque la hidrólisis puede hacerse en la etapa iii) en condiciones alcalinas, ajustando el pH con un ácido.

3.- El proceso de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque la hidrólisis en la etapa iii) puede realizarse en condiciones enzimáticas.

10

4.- El proceso de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque el medio de cultivo líquido obtenido en la etapa iv) comprende azúcares y ácidos grasos con un total de carbono de alrededor de 30 a 50 g/l, bases nitrogenadas con un total de 0.07 a 0.1 g/l de nitrógeno orgánico, y minerales con un total de 0.8 a 12 g/l.

15

5.- El proceso de conformidad con la reivindicación 4, caracterizado porque el medio de cultivo líquido comprende un contenido de sólidos a una concentración de 12 - 120 g/l y un pH de 4.5.

6.- El proceso de conformidad con la reivindicación 5 caracterizado porque la levadura es *Saccharomyces cerevisiae*.

20

7.- El proceso de conformidad con la reivindicación 4, caracterizado porque el medio de cultivo líquido comprende un contenido de sólidos a una concentración de 96 g/l y un pH de 4.

8.- El proceso de conformidad con la reivindicación 7 caracterizado porque la levadura es *Candida utilis*.

25

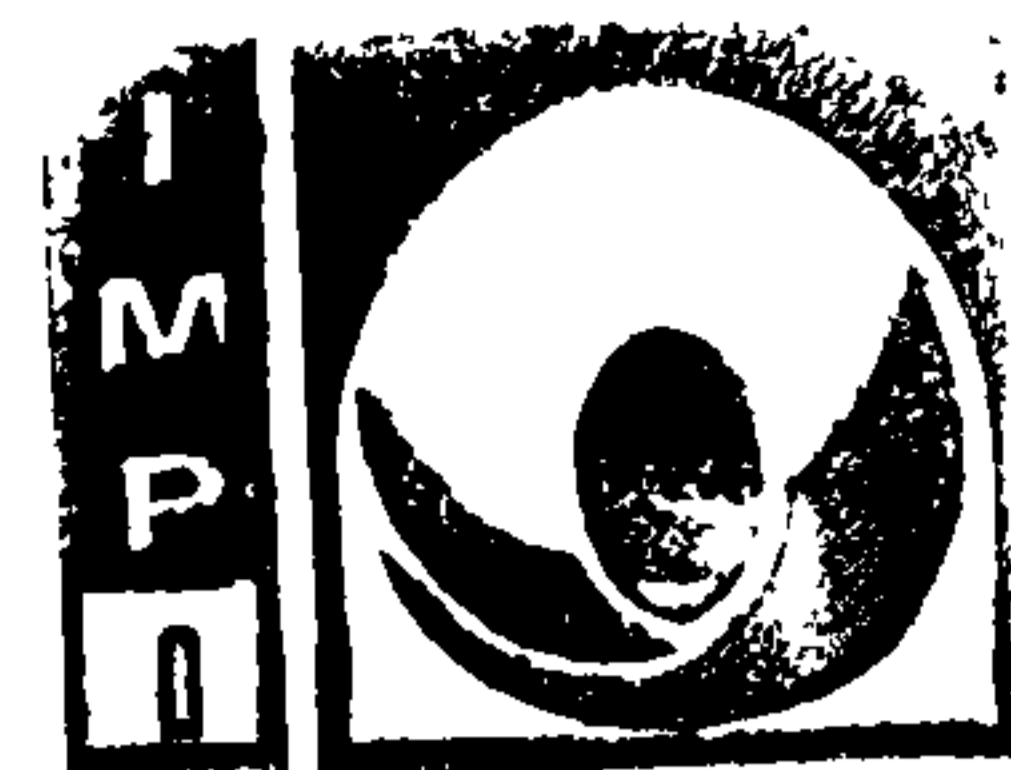
9.- El proceso de conformidad con la reivindicación 4, caracterizado porque el medio de cultivo líquido comprende un contenido de sólidos a una concentración de 12 a 96 g/l y un pH de 6.



10.- El proceso de conformidad con la reivindicación 9 caracterizado por la levadura es *Yarrowia lipolytica*.

**Instituto  
Mexicano  
de la Propiedad  
Industrial**





Instituto  
Mexicano  
de la Propiedad  
Industrial

## RESUMEN DE LA INVENCION

La presente invención se refiere al uso de los lodos primarios, secundarios y terciarios provenientes del tratamiento de aguas residuales domésticas, municipales e industriales, como nutriente para cultivar microorganismos eucariotes del reino Fungi tales como hongos y levaduras, así como al proceso para acondicionar dichos lodos.

El uso del **medio derivado de lodos** como medio de cultivo para microorganismos eucariotes presenta las siguientes ventajas; contribuye a la disposición ecológica de los lodos de tratamiento de aguas.

El crecimiento moderado de los microorganismos eucariotes en este tipo de medios lo hace particularmente adecuado para la producción de metabolitos secundarios, tales como antibióticos, enzimas y aromas, entre otros. Así como componentes de la pared celular de las levaduras, tales como los glucanos.

FIG. 1

