

REPORTE PARA LA FERMENTACIÓN Y RECUPERACIÓN DE BIOETANOL

CRISTIAN MARTINEZ ,SANTIAGO GONZALEZ,WILSON FIGUEROA

SERVICIO NACIONAL DE APRENDIZAJE SENA
40 TGQIN FICHA 3142075 BOGOTÁ 24/03/2026 COLOMBIA

INSTRUCTORA SONIA MARCELA BUITRAGO

PROGRAMA QUIMICA APLICADA A LA INDUSTRIA

GRUPO PROYECTO # 5

1. Introducción

El presente reporte evalúa la obtención de bioetanol mediante la valorización de residuos de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*). El proceso biotecnológico se fundamenta en una fase previa de acondicionamiento e hidrólisis del material lignocelulósico, seguido de una fermentación alcohólica empleando la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. Este microorganismo es el encargado de metabolizar los azúcares reductores liberados para su conversión en etanol y dióxido de carbono bajo condiciones anaeróbicas.

Desde el punto de vista fisicoquímico, la eficiencia de esta bioconversión depende estrictamente del control de variables críticas como el pH y la concentración de sólidos solubles (°Brix). Un pH inicial cercano a 6.0 garantiza un entorno óptimo tanto para la estabilidad del sustrato como para la viabilidad celular de la levadura, mientras que el monitoreo de los azúcares permite evaluar el rendimiento metabólico durante el tiempo de residencia del bioproceso.

El objetivo general de este estudio fue realizar la fermentación de un sustrato a base de cáscara de naranja y ejecutar los procesos de recuperación del bioproducto (etanol). Este objetivo se logró mediante el control riguroso de la fermentación durante 72 horas, seguido de técnicas de separación física por centrifugación para remover la biomasa, y una destilación simple final para purificar y cuantificar el rendimiento volumétrico y el grado alcohólico del etanol obtenido.

2. Materiales y Métodos

Para la elaboración del inóculo se utilizó una cepa de *Saccharomyces cerevisiae* (levadura comercial). Inicialmente se preparó un preinóculo en tubos con 5 mL de caldo Sabouraud estéril, los cuales fueron inoculados y homogeneizados mediante agitación en vortex.

Posteriormente, los cultivos fueron incubados durante 24 horas a una temperatura aproximada de 24 °C. Luego se realizó un proceso de centrifugación a 5000 rpm durante 10 minutos para concentrar la biomasa celular.

Se registraron los parámetros fisicoquímicos del medio, obteniéndose un pH de 6.03 y un valor de 1.9 °Brix.

2.1 Control de pureza

La pureza del inóculo fue verificada mediante tinción de Gram y observación microscópica a 100X, evidenciando la presencia de células levaduriformes sin contaminación.

2.2 Concentración de microorganismos

La concentración celular fue determinada mediante conteo en cámara de Neubauer, obteniendo un valor aproximado de 1.6×10^9 células/mL.

2.2.1 Fermentación alcohólica

Se utilizó cáscara de naranja macerada como materia prima, trabajando con un volumen aproximado de 250 mL. Posteriormente, se adicionaron 500 mL de buffer fosfato para el control del pH, 50 mL de enzima lignocelulósica para la hidrólisis del material vegetal y extracto de levadura al 10 % como fuente de nutrientes.

El sustrato fue sometido a esterilización en autoclave a 7 libras durante 7 minutos. Posteriormente, se midió el pH obteniendo un valor de 6.03, el cual se mantuvo dentro del rango adecuado.

2.2.2 Control de la fermentación

Se realizó un seguimiento de 72 horas para controlar el pH mediante un pHmetro y los sólidos solubles totales (°Brix) haciendo uso de un refractómetro. Para la recuperación del producto, se empleó una centrífuga de alta velocidad a 4600 RPM durante 30 minutos a una temperatura de 16 °C. Posteriormente, se realizó un balance de masa para cuantificar la biomasa (pellet) y el sobrenadante destinado a la destilación simple a 78 °C.

3. Resultados y análisis

3.1 Condiciones iniciales del inóculo y sustrato

Para la etapa de fermentación se empleó una cepa comercial de *Saccharomyces cerevisiae* (Figura 1), la cual asegura una alta viabilidad celular inicial para el bioproceso. A partir de esta levadura, se preparó el inóculo obteniendo un conteo celular de 1.6×10^9 células/mL, el cual fue adicionado a 250 mL de sustrato de cáscara de naranja estéril con un pH previamente ajustado a 6.03.



Figura 1. Presentación comercial de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* empleada como inóculo.

3.2 Control de Fermentación

Durante el proceso fermentativo se realizó un monitoreo de las variables críticas para evaluar el consumo de azúcares por parte de la levadura.

Tabla 1. Monitoreo de variables durante la fermentación

Fecha	Hora	Pureza	Microorganismos	Actividad enzimática	Azúcares (°Brix)	pH
Día 1	7:00 pm	Puro	1.6×10^9 cel/mL	N/A	N/R	6.03
Día 3	7:00 pm	Puro	N/R	N/A	4.2	5.15

*N/R: Dato no registrado durante la práctica.

El control de las variables reportado en la *Tabla 1* evidencia la dinámica metabólica de la levadura. Aunque el valor inicial de sólidos solubles no fue registrado cuantitativamente, el valor final de 4.2 °Brix indica una baja concentración de azúcares residuales en el medio. Esto, sumado al alto rendimiento alcohólico obtenido posteriormente, permite deducir que hubo un consumo exhaustivo de los azúcares fermentables por parte de los microorganismos. Por otro lado, el pH presentó un ligero descenso de 6.03 a 5.15, manteniéndose en un rango estable gracias al efecto del buffer fosfato, lo que evitó la inhibición de la levadura por exceso de acidez.

"Este comportamiento de reducción de azúcares y estabilización del pH es coherente con las rutas metabólicas de la glucólisis y la fermentación alcohólica descritas en la literatura bioquímica para esta levadura (Nelson & Cox, 2017; Sánchez & Cardona, 2008)."

3.3 Producción de Biomasa

Tras la etapa de fermentación, el caldo fue sometido a centrifugación a 4600 RPM por 30 minutos. Se realizó el siguiente balance de masa para la separación celular:

- Peso del frasco de centrifuga vacío (Tara): 126.10 g
- Peso del frasco con volumen transferido: 520.67 g
- Peso neto de la biomasa húmeda (Pellet): 394.57 g
- Volumen final de sobrenadante recuperado: 500 mL



Figura 2. Registro fotográfico del pesaje para el balance de masa de la biomasa en la etapa de centrifugación.

Posteriormente, el fermentado fue sometido a un proceso de destilación simple con el fin de separar el etanol del resto de componentes presentes en la mezcla, aprovechando la diferencia en los puntos de ebullición. Durante este proceso, el etanol se evaporó aproximadamente a 78 °C, siendo posteriormente condensado y recolectado como destilado.

Una vez obtenido el producto, se realizó su análisis mediante un densímetro digital Anton Paar DMA 35, con el fin de determinar el contenido de alcohol. El equipo arrojó un valor de 19.3% v/v de alcohol a una temperatura de 23.1°C.

Estos resultados indican que el proceso de fermentación permitió la producción de etanol, aunque en una concentración moderada, lo cual puede estar influenciado por factores como la composición del sustrato, las condiciones de fermentación y posibles pérdidas durante el proceso de destilación.

Adicionalmente, se determinó el rendimiento volumétrico del proceso de destilación mediante la siguiente relación:

% Rendimiento = (Volumen de destilado final / Volumen de sobrenadante destilado) x 100
Sustituyendo los valores, (80 mL / 500 mL) x 100 se obtuvo un rendimiento de [16%], un valor coherente para la obtención de alcoholes a partir de esta biomasa.”

3.2 Caracterización fisicoquímica al producto final



Figura 3. Toma mediante un densímetro digital

Tabla 2 Características fisicoquímicas del bioproducto.

Parámetro	Resultado
% Alcohol	19.3% v/v
Temperatura	23.1 °C
Método	Densitometría
Equipo	Densitometro digital

4. Conclusión

El bioproceso de fermentación a partir de cáscara de naranja demostró ser viable bajo las condiciones controladas de laboratorio. La ausencia de contaminantes externos al finalizar la fermentación garantiza que la reducción de los azúcares se debió exclusivamente a la actividad de la *Saccharomyces cerevisiae*, optimizando así la pureza del etanol recuperado. El monitoreo de 72 horas permitió evidenciar la actividad metabólica de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* mediante el consumo de los azúcares presentes en el medio, reflejado en la disminución de los sólidos solubles (°Brix). Asimismo, el control del pH inicial en 6.03 fue un factor determinante para mantener un entorno favorable para la fermentación y la actividad de las enzimas lignocelulósicas añadidas.

La técnica de recuperación mediante centrifugación a 4600 RPM resultó fundamental para separar la biomasa de manera eficiente, lo que permitió someter un sobrenadante limpio a destilación. Finalmente, a través de la destilación simple a 78 °C se obtuvo etanol, el cual fue medido arrojando un valor de 19.3% v/v a 23.1 °C. Este rendimiento confirma la efectividad de la integración de las etapas de hidrólisis enzimática, fermentación y separación física para la obtención de bioetanol con una pureza alcohólica considerable, cumpliendo con los objetivos del proceso biotecnológico.

5. Referencias bibliográficas

- Madigan, M. T., Bender, K. S., Buckley, D. H., Sattley, W. M., & Stahl, D. A. (2021). Brock Biology of Microorganisms (16th ed.). Pearson Education.
- Prescott, L. M., Harley, J. P., & Klein, D. A. (2004). Microbiología (6ª ed.). McGraw-Hill Interamericana.
- Tortora, G. J., Funke, B. R., & Case, C. L. (2016). Introducción a la microbiología (12ª ed.). Pearson Educación.
- Nelson, D. L., & Cox, M. M. (2017). Lehninger Principios de Bioquímica (7ª ed.). Editorial Omega.
- Sánchez, Ó. J., & Cardona, C. A. (2008). Trends in biotechnological production of fuel ethanol from different feedstocks. Bioresource Technology, 99(13), 5270–5295.