



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE INGENIERIA**



**GUÍA DE PRÁCTICAS**

**PERIODO ACADÉMICO: 2023-2S**

**VERSIÓN: 1**

**Página 1 de 4**

<b>CARRERA:</b> Agroindustria	<b>DOCENTE:</b> MSc. Víctor Hugo Valverde	<b>SEMESTRE:</b> Cuarto <b>PARALELO:</b> A
----------------------------------	--	---

<b>NOMBRE DE LA ASIGNATURA:</b> Biotecnología	<b>CÓDIGO DE LA ASIGNATURA:</b> AGP330941	<b>LABORATORIO A UTILIZAR:</b> Control de Calidad
--	--	--

<b>Práctica No.:</b>	<b>Tema:</b>	<b>Duración (horas)</b>	<b>No. Grupos</b>	<b>No. Estudiantes (por Grupo)</b>
6	Introducción a los biorreactores: Producción de Bioetanol	4	3	3 grupos de 3 estudiantes

**Objetivos de la Práctica:**  
El objetivo de esta práctica de laboratorio consiste en conocer el comportamiento y variables implicadas en el diseño de un biorreactor donde se realizará una fermentación alcohólica a partir de azúcares procedentes de cítricos (naranjas y limones) y sacarosa añadida para producir bioetanol. La primera sesión de la práctica consistirá en realizar el proceso de fermentación. Después de cinco días de fermentación a temperatura ambiente, se procederá a realizar una segunda sesión para destilar el bioetanol formado. Durante las dos sesiones prácticas se realizarán mediciones de temperatura, pH y el contenido de azúcares mediante la determinación de los grados Brix con un refractómetro, parámetros de control en el diseño de un biorreactor.

**Equipos, Materiales e Insumos:**  
Materiales:  
- Balanza  
- Matraz Erlenmeyer 1000 mL.  
- Vaso de precipitación de 600 mL.  
- Agitador magnético con calentamiento.  
- Baño termostático.  
- Refractómetro  
- pH metro  
- Vasos de precipitados 100mL  
- Tubos de ensayo y gradilla  
- Pipetas y propipetas de 1 y 5 mL

- Matraz 250 mL
- Tapones

**Reactivos:**

- Agua destilada
- Sacarosa

**Insumos:**

- Cítricos
- Parafilm

**Procedimiento:**

La práctica consiste en realizar, en una primera sesión en el laboratorio, una fermentación alcohólica a partir de azúcares procedentes de cítricos (naranjas y limones) y sacarosa añadida. Transcurridos cinco días de fermentación, se procede a una segunda sesión de laboratorio para destilar el bioetanol formado.

**1ª SESIÓN DE LABORATORIO REAL-FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA**

Los pasos a seguir son los siguientes:

- 1) Extraer el zumo de los cítricos con un exprimidor vertiendo la mezcla a un vaso de precipitados de 600 ml de capacidad. Preparar aproximadamente 300 ml por grupo. Guardar el zumo que sobre aparte en otro vaso de precipitados de 100 ml que cubriremos con Parafilm.
- 2) Añadir 200 ml de agua a la mezcla anterior.
- 3) Mediante una cucharilla colocamos azúcar en una placa Petri hasta pesar 150 gramos con una balanza de precisión.
- 4) Añadimos el azúcar pesado a los 500 ml de la mezcla de agua con zumos.
- 5) Colocamos un imán agitador y mezclamos bien la disolución anterior mediante el uso de un agitador magnético durante 5 minutos.
- 6) Mediante el uso de una cucharilla colocamos la levadura *Saccharomyces Cerevisiae* (leer ficha de seguridad) en un vaso de precipitados de 100 ml hasta pesar 2 gramos. Añadimos 100 ml de agua tibia (caliente no porque a partir de 50°C se desactiva la levadura) y agitamos bien mediante una varilla agitadora de vidrio.
- 7) Una vez todo bien disuelto en ambos vasos de precipitados, vertemos la disolución con levadura lentamente tirando un chorrillo mientras se va agitando con el agitador magnético en el vaso de precipitados grande para obtener finalmente 600 ml de disolución total.
- 8) Dejamos que se homogenice bien durante 10 minutos.

9) Una vez homogeneizado, sacamos el imán agitador y procedemos a medir la temperatura con un termómetro, el pH con un pH-metro, y anotamos ambos valores.

10) Mediante un refractómetro medimos los grados Brix (porcentaje en masa de sacarosa) y así podemos obtener el porcentaje probable de alcohol que obtendremos después de la fermentación (ver página web con las instrucciones). Calibramos primero el refractómetro con agua destilada y giramos el tornillo hasta que la separación de la zona blanca respecto de la de azul indique cero.

Este procedimiento se realiza habitualmente en la industria del vino midiendo directamente en el campo el grado de azúcar del mosto de la uva para saber el grado alcohólico probable del vino a producir después de la fermentación.

11) Vertimos la disolución en el fermentador ( biorreactor) con un embudo. Nuestro biorreactor/fermentador utilizado será un matraz Erlenmeyer de un litro.

12) Se tapa el fermentador con un tapón que contiene un tubo en el medio para que esté en condiciones anaerobias. El tubo se introduce en un vaso de precipitados de 600 ml con agua para que podamos ver como al producirse la fermentación se libera CO<sub>2</sub> que se observa al burbujear.

13) Dejamos el fermentador en el laboratorio durante 5 días hasta la siguiente sesión.

## 2ª SESIÓN DE LABORATORIO REAL-DESTILACIÓN

1. Medimos la temperatura, pH y grados Brix del mismo modo después de cinco días de fermentación y anotamos también ambos valores.
2. Cogemos 200 ml del fermentador y lo vertimos con un embudo en el matraz de 250 ml del montaje de destilación.
3. Ponemos vaselina en todas las juntas esmeriladas del montaje de destilación.
4. Colocamos el acople Pobel de vidrio dónde se coloca el termómetro en el matraz de 250 ml. Para asegurarnos que no se desconecte durante la fermentación tenemos que acoplar en la junta de unión de ambas piezas una pinza metálica de unión.
5. Introducimos el termómetro a la altura adecuada para que quede bien sumergido en el líquido y cerramos bien la rosca de plástico para que quede cerrado de forma hermética.
6. Conectamos otro acople para conectar la boca ancha del acople Pobel a la boca estrecha del serpentín refrigerante.
7. Colocamos el serpentín refrigerante.
8. Recordar conectar todas las piezas después de haber puesto un poco de silicona en los esmerilados de unión.
9. Situamos dos pies con una pinza de sujeción cada uno.
10. Situamos todas las piezas en las pinzas de sujeción de los pies y colocamos un manta calefactora debajo del matraz de destilación de 250 ml.
11. Colocamos un tubo de goma desde el grifo hasta la entrada del serpentín y otro tubo desde la salida del serpentín a un desagüe. Es necesario colocar una brida de plástico en la unión de los tubos de goma al serpentín para evitar que pueda saltar la goma debido a la presión del agua.
12. Abrimos el agua del grifo con cuidado de no generar excesiva presión que pueda hacer saltar las gomas.
13. Colocamos un vaso de precipitados de 600 ml para recoger el destilado.
14. Conectamos la manta calefactora y esperamos a que empiece la destilación que en el caso del etanol se produce a 70-75°C.
15. Cuando terminamos de recoger el destilado procedemos a hacer la prueba de quemar con un mechero o cerillas en un crisol. De este modo se comprueba que se ha formado bioetanol y que el contenido de éste es superior al 50%.

**Resultados:**

El estudiante estará en capacidades de reconocer las etapas y fases implicadas en el uso de un biorreactor y relacionar los principios que los rigen con diversas aplicaciones industriales.

**Recomendaciones:**

- Todo alumno debe llevar bata, guantes y gafas durante la realización de las prácticas de laboratorio y seguir siempre las instrucciones impartidas por el profesor y técnico del laboratorio.
- Siempre que se vaya a utilizar un reactivo se deberá leer su ficha de seguridad para tomar las precauciones oportunas.
- Todos los residuos generados serán gestionados de forma responsable

**Referencias bibliográficas:**

- BANET, E. Innovación curricular y enseñanza de las ciencias en educación secundaria. Editorial: Murcia: Universidad de Murcia, 2000.

[https://www.researchgate.net/publication/330281280\\_Practicas\\_de\\_laboratorio\\_para\\_futuros\\_cientificos\\_trabajo\\_en\\_equipo\\_interdisciplinar\\_con\\_alumnos\\_de\\_diferentes\\_grados\\_universitarios\\_guiados\\_por\\_WebQuest\\_AICLE](https://www.researchgate.net/publication/330281280_Practicas_de_laboratorio_para_futuros_cientificos_trabajo_en_equipo_interdisciplinar_con_alumnos_de_diferentes_grados_universitarios_guiados_por_WebQuest_AICLE)

- <https://biorreactores.webs.com/pr-cticas>

**Fecha de Revisión y Aprobación:** 15 de octubre de 2023.

---

**Firma Director de Carrera**

---

**Firma Docente**