

El estudio de la fermentación en el laboratorio de educación secundaria

Raquel Boronat Gil*, José Pedro López Pérez**

*IES "Antonio Menárguez Acosta". 30710. Los Alcázares. Murcia. España.

**IES "Felipe II". 30870. Mazarrón. Murcia. España.

E-mail: raquel.boronat@murciaeduca.es

[Recibido en septiembre de 2010, aceptado en noviembre de 2010]

Esta comunicación presenta las directrices necesarias para lograr la observación en el laboratorio de Biología de Educación Secundaria de uno de los productos finales de la fermentación de la glucosa por parte de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, el estudio parcial de su metabolismo y su incidencia en la materia de Biología en segundo de Bachillerato.

Palabras clave: Fermentación; Levadura Panificación; *Saccharomyces*; Educación Secundaria.

The studied of the fermentation in compulsory secondary education laboratory

This paper shows the guidelines to ensure the observation in the Biology laboratory of compulsory secondary education one of the resulting products of the glucose fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* yeast, the partial study of its metabolism and the effect on the Biology discipline on the "Bachillerato" (A-level).

Keywords: Fermentation; Bread-making Yeast; *Saccharomyces*; Secondary Education.

Desde la antigüedad se conoce la actividad de transformación de la materia por parte de hongos y bacterias, si bien algunos de sus procesos han sido utilizados para la elaboración de pan, quesos, vinos o cerveza. Las levaduras, organismos eucarióticos pertenecientes al reino de los hongos (ascomicetos), son los microorganismos más importantes y de mayor uso en la industria, empleándose en la fabricación de pan, sirviendo como fuente de alimento a macroescala de cultivo y en la producción de vitaminas y factores de crecimiento (Brock y Madigan, 1993). Son individuos microscópicos ubicuos, pudiéndose aislar en la superficie de frutas con alto contenido en azúcares o incluso en los suelos de cultivo (García *et al.*, 2005). La fermentación es el proceso catabólico responsable, bajo condiciones de anaerobiosis (ausencia de oxígeno), de la degradación de la materia orgánica. Se clasifica atendiendo a la naturaleza del sustrato y productos finales (fermentación láctica, pútrida, acética...).

El estudio y conocimiento de los procesos fermentativos de azúcares es uno de los contenidos que se imparten durante la Educación Secundaria Obligatoria y –su profundización– en Bachillerato (Anónimo, 2007; 2008), si bien este apartado del temario podría completarse con una actividad de laboratorio consistente en el estudio de la producción de dióxido de carbono, producto de la fermentación, por parte de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. De igual modo, la actividad pretende repasar conceptos tan importantes dentro de la Biología como son el catabolismo de los azúcares, vía glucolisis, y el metabolismo anaeróbico del ácido pirúvico hasta la producción de etanol con el desprendimiento de dióxido de carbono (fermentación alcohólica). La figura 1 resume la secuencia de reacciones bioquímicas del proceso.

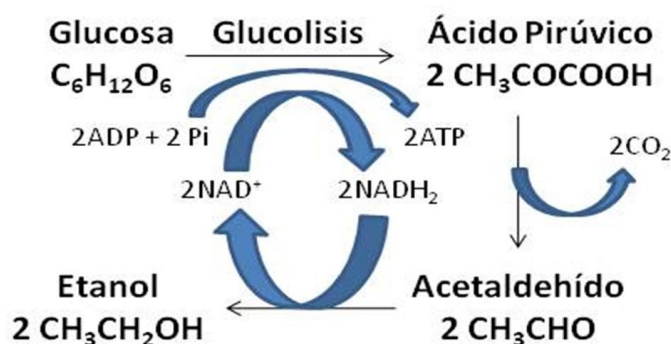


Figura 1.- Síntesis de la secuencia de reacciones bioquímicas del proceso de fermentación alcohólica (se han obviado los pasos intermedios de la ruta glucolítica).

Con el objetivo de lograr el éxito en el laboratorio con esta experiencia, se procederá a la construcción de un “fermentador” con ayuda de una pipeta de 10 ml, dos mangueras de plástico transparente (dimensiones 65 cm $\times$ 1 cm de diámetro y 5 cm $\times$ 0.5 cm de diámetro), un soporte universal y pinzas, tal y como se indica en la figura 2A. El medio de cultivo para las levaduras consistirá en una mezcla homogénea con 20 g de harina de trigo, 10 g de levadura de panificación fresca y 100 ml de agua del grifo. Una parte (20 ml) de esta suspensión se verterá en el interior del fermentador, por el extremo de la manguera de mayor diámetro e insuflando aire posteriormente para llevar la mezcla hasta el extremo superior de la pipeta. En este momento, con ayuda de unas pinzas (similares a las de sujetar folios) se tapona la manguera de menor diámetro y comienza la experiencia. Es importante tomar nota de la temperatura ambiental, ya que cuanto más fría esté más se retrasará el experimento; la temperatura óptima corresponde a valores superiores a los 20 °C.

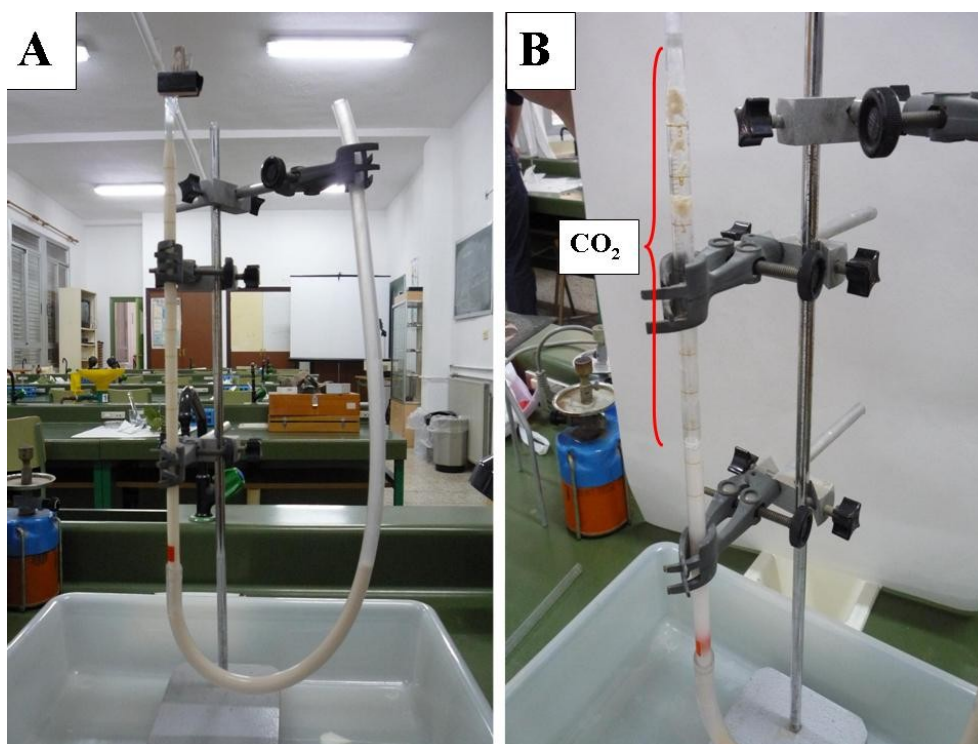


Figura 2. (A) “Fermentador” de cultivo de levaduras sobre soporte universal. La temperatura ambiental era 18 °C. (B) Desplazamiento del cultivo tras la producción de dióxido de carbono en el interior de la pipeta (tiempo de incubación: 6.5 horas).

El almidón presente en el trigo es una reserva alimenticia que es hidrolizado por las levaduras hasta generar restos de glucosa. Se define como una mezcla de glucanos que las plantas sintetizan como fuente de reserva, depositándose en el citoplasma de las células a modo de gránulos insolubles. Bioquímicamente está constituido por α -amilosa y por amilopectina. La amilosa es un polímero lineal que consta de varias subunidades de glucosa unidas por enlace $\alpha(1\rightarrow4)$. Por el contrario, la amilopectina está formada por restos de glucosa unidos por enlace $\alpha(1\rightarrow4)$ y $\alpha(1\rightarrow6)$, siendo una molécula ramificada. La digestión del almidón se lleva a cabo gracias a la α -amilasa, capaz de hidrolizar al azar todos los enlaces $\alpha(1\rightarrow4)$, excepto en los extremos y en las ramificaciones de la molécula (Voet y Voet, 1992). La digestión total se lleva a cabo mediante la dextrinasa, que hidroliza los enlaces $\alpha(1\rightarrow4)$ y $\alpha(1\rightarrow6)$, y la maltasa, que escinde los restos de maltosa (disacárido constituido por dos subunidades de α -D-glucosa).

Transcurridas las dos primeras horas de incubación, en la pipeta empieza a acumularse dióxido de carbono que posibilita el desplazamiento de la masa de harina y levadura por el interior de la manguera de mayor diámetro (figura 2B), como consecuencia de la fermentación de las subunidades de glucosa bajo condiciones anaeróbicas. Al cabo seis horas y media se puede comprobar una producción –aproximada– de 10 ml de CO_2 (teniendo presente una temperatura ambiental de 18 °C). El otro producto de la fermentación, el etanol, es fácilmente detectado por el olor que desprende el cultivo de levaduras. No obstante, es preciso indicar en este punto que, si bien el sistema está abierto por el extremo de la manguera de mayor diámetro para facilitar el movimiento del cultivo, las condiciones de aireación son mínimas como para que se produzca una inhibición en la producción de etanol o efecto Pasteur. Esta inhibición es consecuencia de la oxidación total de la glucosa, sin favorecer un catabolismo parcial en el que el aceptor de los hidrógenos es una molécula orgánica (figura 1) y los productos finales del proceso son sustancias orgánicas que no llegan a descomponerse (etanol), siendo el dióxido de carbono el principal producto final del metabolismo aeróbico, indicativo de un mayor rendimiento energético frente a la fermentación (Voet y Voet, 1992, pp. 480).

El tiempo estimado en el desarrollo de esta experiencia es de 55 minutos (una clase). No obstante, es recomendable empezar la actividad durante un período de recreo, como consecuencia de la larga evolución de la experiencia, que puede llegar incluso a superar las 2 horas. Con ayuda de una pipeta Pasteur pueden tomarse alícuotas del cultivo y realizar observaciones de los microorganismos responsables bajo el microscopio de campo claro y tinción con reactivo de Lugol (figura 3), o bajo microscopía de contraste de fase. Es importante poner de manifiesto la inmovilidad de las células de levadura al microscopio, así como en el “fermentador” transcurridas unas horas (alojándose la masa en el fondo de la U y ausencia de turbiedad en el ascenso de la columna de agua).

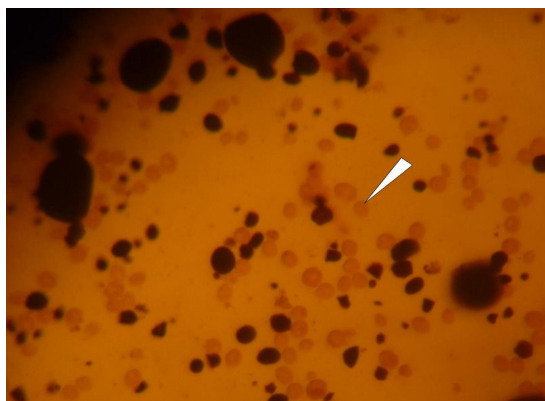


Figura 3. Imagen al microscopio óptico de campo claro de una tinción con Lugol de levaduras del cultivo.

Finalizada la experiencia y como medida básica de higiene, es aconsejable el lavado de las manos con agua y jabón. El material de trabajo (pipeta, mangueras...) debe dejarse algunas horas en hipoclorito de sodio para facilitar su limpieza.

Sería interesante, como experiencia complementaria, proceder a relacionar el modelo de laboratorio que se ha estado trabajando con los procesos industriales, caso de la elaboración de un poco de masa de pan. En este caso, en un vaso de precipitados se mezclarán 20 g de harina de trigo, 10 g de levadura de panificación fresca y 30 ml de agua del grifo. Transcurridas 2 horas de incubación a temperatura ambiente, se podrá comprobar la “crecida de la masa de panificación”, relacionándola con la liberación de dióxido de carbono, primer producto de la fermentación de los azúcares por parte de las levaduras (figura 1), así como la comprobación organoléptica (en este caso, el olor) de la producción de alcohol.

Referencias bibliográficas

- Anónimo. 2007. Real Decreto 1467/2007, de 2 de noviembre, por el que se establece la estructura del bachillerato y se fijan sus enseñanzas mínimas. BOE 6 de noviembre de 2007. pp. 45436-45439.
- Anónimo 2008. Decreto 262/2008, de 5 de septiembre, por el que se establece el currículo del Bachillerato en la Comunidad Autónoma de la Región de Murcia. BORM 10 de septiembre de 2008. pp. 28093-28095.
- Brock, T. y Madigan, M. 1993. *Microbiología*. 6ª edición. Prentice-Hall. pp. 402-407.
- García, M., Furió, J. García M.A., Sendra R. y Varela X. 2005. *Biología. 2º Bachillerato*. Editorial Ecir.
- Voet, D. y J.G. Voet. 1992. *Bioquímica*. Ediciones Omega. pp. 276-277.