

Ejercicio 7. Fermentación

Capítulo 9: Biology, 6ta Edición. Campbell

Introducción

Podemos definir la **fermentación** como el uso de un sustrato de manera anaeróbica. Estos sustratos pueden ser variados, así como las rutas fermentativas y sus diferentes productos. Hoy estudiaremos dos rutas fermentativas que permiten el uso anaeróbico de muchos hidratos de Carbono. Estas rutas son la **fermentación láctica** y la **Alcohólica**. Estas fermentaciones tienen una gran importancia para la industria de los alimentos y es parte importante en la elaboración de diversos productos entre otros, vino, cerveza y yogurt.

La fermentación láctica ($C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2C_3H_6O_3$) es un proceso que ocurre comúnmente en los músculos de los animales durante el **ejercicio anaeróbico**. Esta fermentación resulta en la acumulación de ácido láctico (he ahí el origen de su nombre, **ver Figura 1**). También ocurre en algunos microorganismos como en las bacterias de los géneros *Lactobacillus* y *Streptococcus*.

Las especies *Lactobacillus acidophilus* y *Streptococcus lactis* se pueden utilizar para la producción de Yogurt. Un cultivo activo de estos organismos se puede utilizar para fermentar leche a $41.5^\circ C$ durante varias horas y de esta manera obtendríamos Yogurt.

La **fermentación alcohólica** ($C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2C_2H_5OH + 2CO_2$), aunque puede ser llevada a cabo por algunas bacterias, es más común en levaduras (Figura 2). Tradicionalmente se ha usado la levadura *Sacharomyces cerevisiae* para la producción de vino y cerveza y para leudar la masa en la elaboración de pan.

Las primeras dos partes de ambos tipos de fermentación son iguales y consisten del proceso de glucólisis. La glucólisis es una ruta metabólica prácticamente universal. Está presente en las células de casi todo tipo de organismo, tanto procariontico como eucariótico.

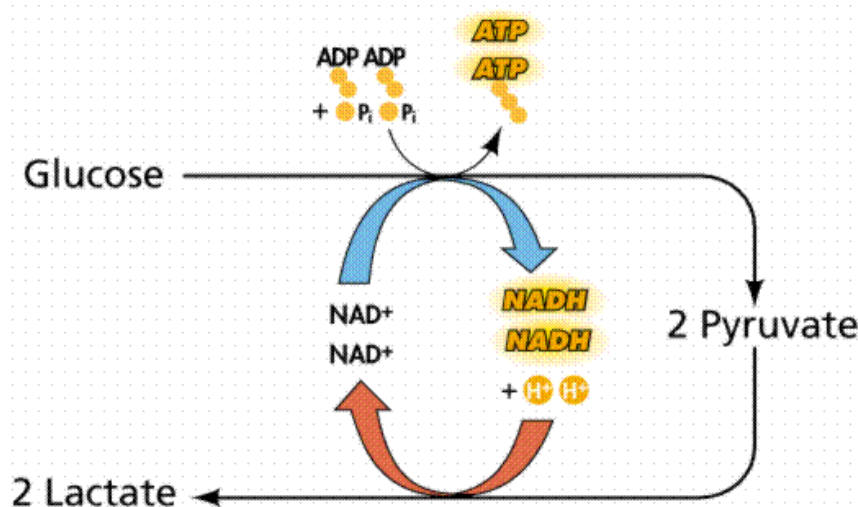


Figura 1: Fermentación Láctica

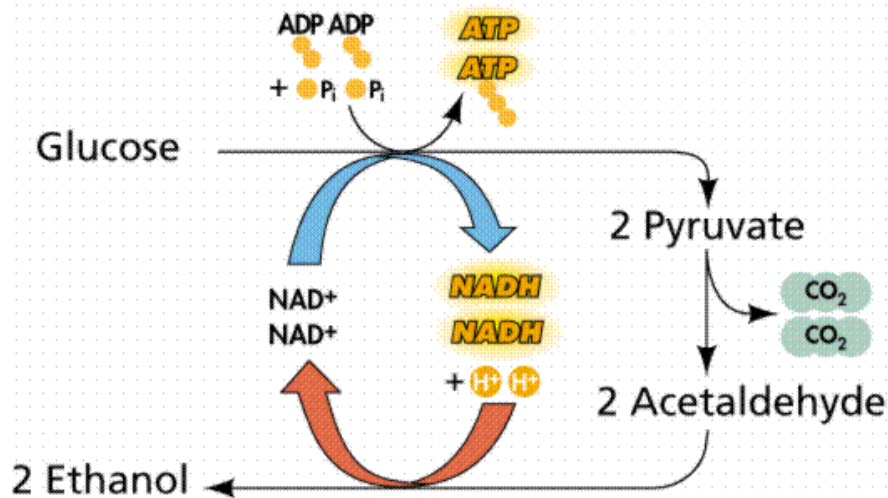
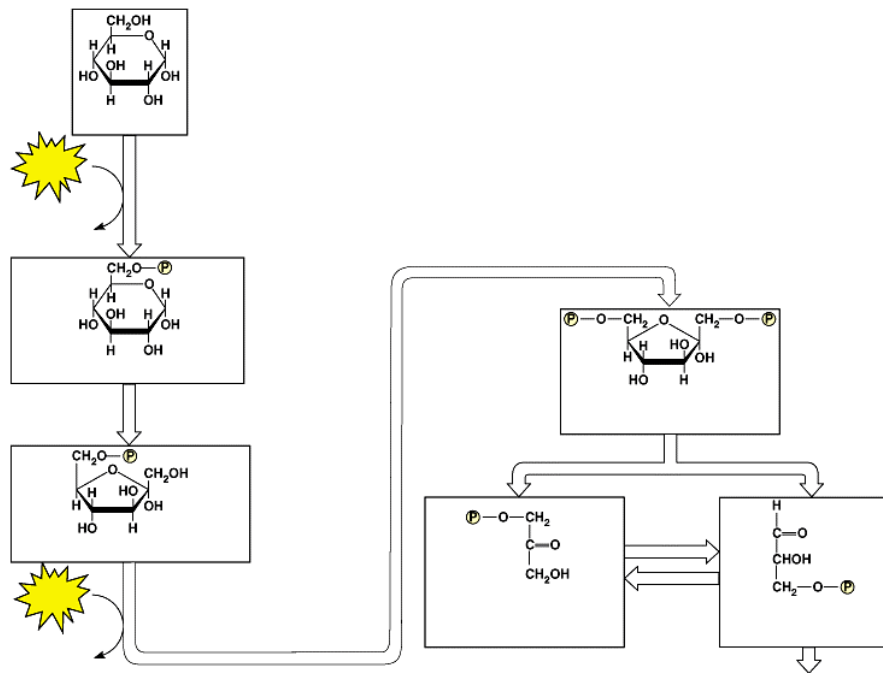


Figura 2: Fermentación Alcohólica 1

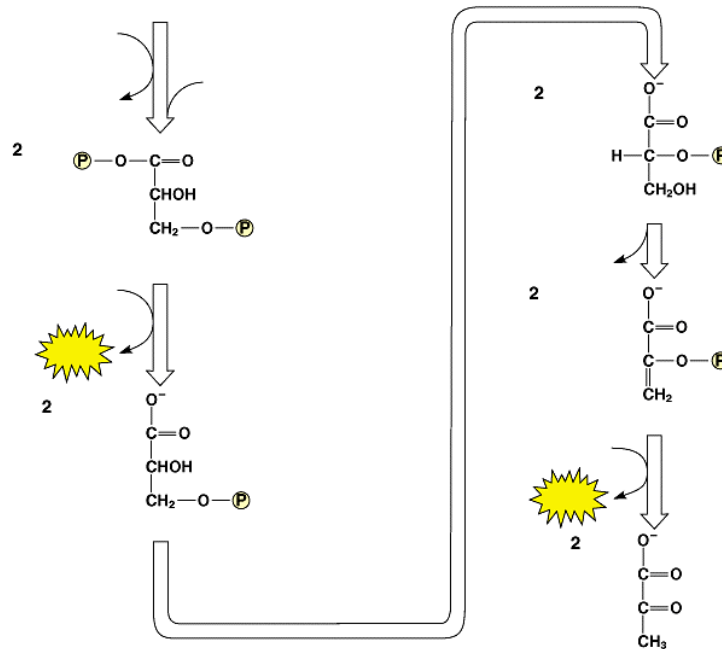
En la glucólisis podemos definir dos fases: la **fase de activación** en la que la glucosa se transforma en una serie de reacciones en fructosa 1,6 difosfato. La fructosa 1,6 difosfato se rompe en dos triosas; dihidroxiacetona fosfatada y 3 fosfogliceraldehido. En la misma se consumen dos moléculas de ATP.



Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

Figura 3: Glucólisis parte I (Complete esta figura antes de llegar a su sección de Laboratorio)

La segunda fase se llama la **fase de oxidación** y permite la oxidación de estas triosas hasta formar dos moléculas de piruvato. Durante esta fase se sintetizan cuatro moléculas de ATP a nivel de sustrato y se reducen dos moléculas de NAD⁺ a NADH. La ganancia neta de ATP por cada glucosa será de solo 2 moléculas de ATP considerando que invertimos 2 moléculas durante la fase de activación.



Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

Figura 4: Glucólisis parte II (Complete esta figura antes de llegar a su sección de Laboratorio)

Bajo condiciones aeróbicas las moléculas de NADH pueden donar electrones a un sistema de transporte de electrones y se recupera el NAD^+ . Sin embargo, anaeróbicamente y en ausencia de una cadena de transporte de electrones existe una tercera fase que llamamos la fase de reducción. En esta, los electrones son donados a un aceptador orgánico que es piruvato, en el caso de la fermentación láctica (Fig. 1). En el caso de la fermentación alcohólica el piruvato se decarboxila a acetaldehído y CO_2 y luego el acetaldehído actúa como aceptador final de electrones transformándose en etanol (Fig. 2).

Objetivos

Al finalizar este laboratorio los estudiantes serán capaces identificar las condiciones óptimas de la respiración celular. Fortalecerán su entendimiento del cambio sufrido por las moléculas de carbohidratos ante las diferentes condiciones anaeróbicas y cambios en temperatura.

Materiales

- Balanza
- tubos de fermentación
- sol de glucosa al 10%
- papel sin pelusa (Kimwipes)
- baño de María
- goma
- levadura (*Sacharomyces*)
- agua destilada
- detergente y cepillo para fregar
- platos de pesaje
- sol de sacarosa al 10%
- sol de almidón al 10%
- vasos de precipitado
- reglas- matraz con tapa y tubo de
- papel secante
- lápiz de cera
- termómetro

Métodos

En el laboratorio de hoy estudiaremos el efecto de la temperatura y el sustrato sobre la fermentación. Utilizaremos las soluciones de glucosa (monosacárido), sacarosa (disacárido) y almidón (polisacárido) como materia prima de la fermentación llevada a cabo por la levadura *Sacharomyces*.

Fermentación de Carbohidratos por Levaduras.

Para activar la levadura que se necesitará para toda la sección, **una sola persona** debe pesar 8.5g de levadura seca y se la añade a 85ml de agua destilada tibia (aproximadamente a 37 grados Celsius).

A. Fermentación de glucosa

1. Mezcle 30ml de la solución de glucosa con 10ml de la levadura activa.
2. inmediatamente coloque la mezcla en dos tubos de fermentación. Asegurese de que no quede aire atrapado en el tubo.
3. Deje un tubo a temperatura ambiente y coloque el otro en un baño de María a 35 grados Celsius.
4. A los 15 minutos de haber llenado el tubo, utilice una regla para medir el tamaño (altura en mm) de la burbuja que se formó. Debe ser muy cuidadoso de no mover el tubo bruscamente y permitir que se escape el gas. Anote en la Tabla 7.1
5. Repita la medición a intervalos de 15 minutos (30 y 45 minutos). Anote en la Tabla 7.1

¿Cuál es el propósito del tubo de fermentación que es mantenido a temperatura de ambiente?

B. Fermentación de sacarosa

6. Mezcle 30ml de la solución de sacarosa al 10% con 10ml de la levadura activa.
7. inmediatamente coloque la mezcla en dos tubos de fermentación. Asegurese de que no quede aire atrapado en el tubo.
8. Deje un tubo a temperatura ambiente y coloque el otro en un baño de María a 35 grados Celsius.
9. A los 15 minutos de haber llenado el tubo, utilice una regla para medir el tamaño (altura en mm) de la burbuja que se formó. Debe ser muy cuidadoso de no mover el tubo bruscamente y permitir que se escape el gas. Anote en la Tabla 7.1
10. Repita la medición a intervalos de 15 minutos (30 y 45 minutos). Anote en la Tabla 7.1

C. Fermentación de Almidón.

11. Mezcle 30ml de la solución de almidón con 10ml de la levadura activa.
12. inmediatamente coloque la mezcla en dos tubos de fermentación. Asegurese de que no quede aire atrapado en el tubo.
13. Deje un tubo a temperatura ambiente y coloque el otro en un baño de María a 35 grados Celsius.

14. A los 15 minutos de haber llenado el tubo, utilice una regla para medir el tamaño (altura en mm) de la burbuja que se formó. Debe ser muy cuidadoso de no mover el tubo bruscamente y permitir que se escape el gas. Anote en la Tabla 7.1
15. Repita la medición a intervalos de 15 minutos (30 y 45 minutos). Anote en la Tabla 7.1

Tabla 7.1 Resultados Fermentación de Carbohidratos por Levaduras (Tamaño de la Burbuja de Gases (mm) vs Tiempo)

Sustrato	0 min	15 min	30 min	45 min
Glucosa 35° C				
Glucosa Temp. Ambiente				
Sacarosa 35° C				
Sacarosa Temp. Ambiente				
Almidón 35° C				
Almidón Temp. Ambiente				

De acuerdo a sus resultados, ¿a qué conclusiones puede llegar sobre los sustratos y la velocidad de fermentación?

De acuerdo a sus resultados, ¿a qué conclusiones puede llegar sobre el efecto de la temperatura?

Preguntas de Análisis Crítico

1. Mencione las diferencias entre fermentación alcohólica y fermentación láctica.
2. En términos evolutivos, ¿cuál de las dos rutas debió surgir primero?
3. ¿Cuál es el propósito de la fermentación?
4. ¿Qué pasaría si en vez de llevar cabo fermentación láctica nosotros utilizáramos fermentación alcohólica?

5. ¿El Mabí contiene alcohol?
6. ¿En que parte de una célula eucariótica debe ocurrir la fermentación?

Receta de Mabí

Chef Carmen Santos de Curran

1 onza de Corteza de Mabí
1 onza de Jengibre (fresco)
1 Palito de Canela
1 ½tasas de Agua

12 Tasas de Agua
2 ½tasas de Azúcar Refinada
2 ½tasas de Azúcar Negra (Sin refinar)

El Pie: 2 tasas de Mabí ya preparado

Coloque los primeros cuatro ingredientes en un caldero grande y ponga a hervir por 5 minutos. Remueva del calor, cuele y deje enfriar. Coloque los siguientes tres ingredientes en un caldero grande y mezcle bien. Añada el extracto obtenido en el primer paso y las 2 tasas de mabí (el pie). Mezcle bien hasta que se comience a formar espuma en la parte superior. Llene los recipientes con mabí, pero asegúrese de dejar un espacio con aire (¼ parte). Tape los recipientes con tela o gasa. Deje reposar por 3 o 4 días en un lugar fresco, no en la nevera, ni en lugares muy calientes.

No tape los recipientes herméticamente pues pueden estallar. Recuerde, es una fermentación.

Bibliografía

Dolphin, Warren D. 1997. *Biology Laboratory Manual*. 4th Ed.

Mader, Sylvia S. 2000. *Inquiry into life, Laboratory Manual* 9th Ed.

Vodopich & Moore. 2002. *Biology Laboratory Manual*. 6th Ed.

Referencias en Internet

www.salohogar.com

Figuras Tomadas de:

Mike Farabee, PhD. Estrella Mountain Community College

<http://www.emc.maricopa.edu/faculty/farabee/BIOBK/BioBookGlyc.html>

Campbell. Biology, 6ta. Edición. Capítulo 9.

Receta de Mabí:

Chef Carmen Santos de Curran

www.elboricua.com,

Esta separata fue revisada, ampliada y editada en Octubre 2004 por JGR.

Esta separata fue revisada y editada en febrero 2004 por el Prof. David Forestier.