

FERMENTACIÓN ALCOHOLICA CON CATALIZADOR INMOVILIZADO

*Stella Maris Bertoluzzo¹ María Guadalupe Bertoluzzo¹

¹Taller de Física

FBioyF-UNR- Suipacha 531.(2000) Rosario, Santa Fe

E-mail: sbertoluzzo@hotmail.com

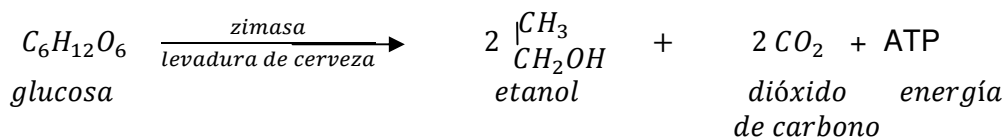
La presente propuesta tiene por un lado a la investigación como base de la enseñanza y como modelo ejemplar para el encuentro con el conocimiento, y, por otro lado al proceso de fermentación alcohólica, como tema fundamental desde el punto de vista de su fecundidad, ya que permite la integración de varios conocimientos relacionados entre sí, de manera que queda de manifiesto el carácter estructural de la enseñanza de las ciencias. Compartimos la premisa de que hacer ciencia es la mejor manera de aprender ciencia. [1] A través de sencillas experiencias de laboratorio se introduce a los estudiantes mediante el proceso de fermentación alcohólica, en temas de bioquímica.

fermentación alcohólica- levadura de cerveza- biocatalizadores inmovilizados- enzimas-zimasa

Introducción y objetivos de la propuesta

Se denomina *fermentación* (del latín *fervere*: hervir) al proceso por el cual algunas sustancias orgánicas experimentan transformaciones por la acción de otras llamadas fermentos. Las fermentaciones son producidas por sustancias generalmente nitrogenadas llamadas *fermentos solubles o enzimas* que pueden ser segregadas por bacterias, hongos o levaduras o producidas en los organismos animales o vegetales como, por ejemplo, la *zimasa* segregada por la *levadura de cerveza* (*saccharomyces cerevisiae*). Los fermentos actúan como verdaderos catalizadores orgánicos activando aquellas reacciones que se producirían en otra proporción sin su presencia. Las enzimas no crean reacciones: activan el proceso. Por eso son específicas y cada proceso de fermentación requiere su enzima.

La fermentación alcohólica, denominada también fermentación del etanol o fermentación etílica, consiste en someter a la glucosa a la acción de la *levadura de cerveza* (*saccharomyces cerevisiae*) en un proceso anaeróbico. En plena ausencia de oxígeno, la levadura procesa los hidratos de carbono (preferentemente glucosa, fructosa, sacarosa y almidón) para obtener las moléculas de energía (ATP) que corresponden a su metabolismo energético anaeróbico. En este proceso el microorganismo obtiene la energía necesaria segregando un fermento o enzima llamada zimasa que actúa sobre la glucosa disociándola en alcohol y dióxido de carbono como productos de desecho de la fermentación. [2]



De modo que, desde el punto de vista microbiano podemos decir que la fermentación alcohólica es la obtención de la energía para la supervivencia de los organismos unicelulares (levaduras) anaeróbicos. Pero también se puede considerar como un proceso bioquímico para la obtención de etanol como vía alternativa a su obtención mediante procesos químicos industriales como la reacción de oxidación del eteno. El proceso de fermentación se utiliza, desde muy antiguo, para la producción de etanol destinado a la elaboración de bebidas alcohólicas como el vino, la cerveza, la sidra, etc. Es la base de la vinificación, ya que el proceso por el cual se transforma el mosto en vino es precisamente por la fermentación alcohólica usando como sustrato los azúcares simples presentes en el jugo de uva. Actualmente la biotecnología ha intentado emplear el etanol resultante de la

fermentación alcohólica de los desechos agrícolas (biomasa) para la obtención de biocombustibles empleados en los motores de vehículos. De manera que una de las opciones para producir etanol es por fermentación a partir de materias primas ricas en carbohidratos (azúcar, almidón, celulosa, etcétera). Por tal razón, es común designar al etanol obtenido por esta vía "bioetanol". Entre estas materias primas se encuentran las frutas y vegetales como la caña de azúcar y la remolacha, los cereales (trigo, maíz, sorgo), los tubérculos (papas, yuca) y en general, materias provenientes de residuos orgánicos. En este proceso, las principales responsables de esta transformación son las levaduras y de ellas la *Saccharomyces cerevisiae*, es la especie de levadura que se usa con más frecuencia. Sin embargo existen estudios para producir alcohol con otros hongos y bacterias, como la *Zymomonas mobilis*, pero la explotación a nivel industrial es mínima. En el proceso de fermentación alcohólica la secuencia de transformaciones para degradar la glucosa hasta dos moléculas de alcohol y dos moléculas de bióxido de carbono es un proceso muy complejo porque al mismo tiempo la levadura utiliza la glucosa y nutrientes adicionales para reproducirse.[3] El objetivo del presente trabajo es desarrollar una experiencia de laboratorio que permita conceptualizar el proceso de la fermentación alcohólica con enzima libre y con biocatalizador inmovilizado, es decir, con la enzima, confinada o localizada en cierta región definida del espacio, con retención de su actividad catalítica y, si es necesario, de su viabilidad, y que pueden ser usado de modo repetido y continuo.[4]

Descripción de la propuesta educativa

Con ayuda de bibliografía o buscando en internet ¿podrías describir qué es la levadura?

- ✓ Colocar en un recipiente contenedor de medición 1g (equivale a una cuchara pequeña al ras) de levadura de cerveza. Agregar luego 20 ml de agua a temperatura ambiente, mezclar hasta disolver la levadura y obtener una muestra homogénea. (la llamaremos solución "A")



recipiente contenedor de medición



levadura de cerveza.

- ✓ Con ayuda de una pipeta de Pasteur, colocar una gota de la solución en un portaobjeto y observar al microscopio la muestra con un aumento de 45X.

Seguramente podrás observar lo siguiente:

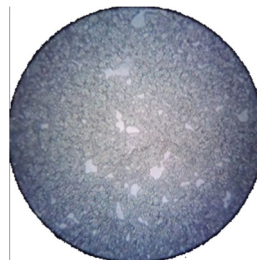
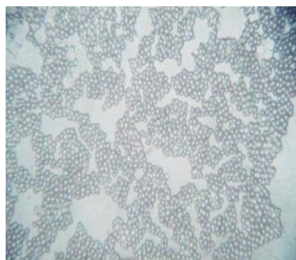


Foto de muestras de levadura vista al microscopio

Entonces: ¿Qué forma y qué tamaño aproximado tienen las levaduras?

- ✓ Colocar en un recipiente contenedor de medición 4g de sacarosa (azúcar de mesa) equivalente a dos cucharadas medias llenas al ras y agregar 20 ml de agua, revolver hasta que se disuelva el azúcar completamente. La llamaremos solución B.



Recipiente contenedor de medición



Sacarosa (azúcar de mesa)

Entonces:

¿Cuál es la concentración en % Peso- Volumen de la solución de sacarosa?

- ✓ En un tubo de ensayo chico colocar 4 ml de la solución "A" y completar al ras con unos 3ml de solución de sacarosa (solución B) agitar bien para mezclar ambas soluciones.



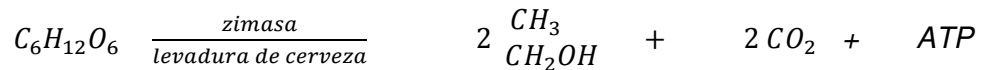
- ✓ Colocar finalmente un globo cerrando herméticamente el tubo de ensayo y dejarlo reposar dentro de un recipiente con agua tibia (30°C o 37°C aproximadamente).



- ✓ Dejar transcurrir unos diez o quince minutos y observar los cambios que puedan evidenciarse.

Para completar la actividad:

- ✓ *Describí lo que ocurre en el tubo con tus palabras,*
- ✓ *¿Qué significa para vos la presencia de burbujas en el tubo al cabo de unos minutos?*
- ✓ *Teniendo en cuenta lo descripto en la introducción, ¿qué representa el proceso de fermentación?*
- ✓ *En la siguiente expresión que representa el proceso de fermentación, ¿podrías escribir el nombre de cada compuesto químico que interviene?*



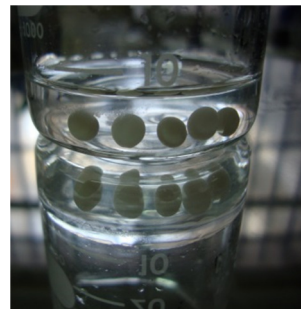
- ✓ *¿Cómo se denomina la enzima que actúa acelerando el proceso de disociación de la sacarosa?*
- ✓ *Las burbujas que observaste, ¿a qué compuesto químico de la fermentación corresponden?*
- ✓ *¿La levadura interviene para formar algún producto de reacción?*
- ✓ *¿Por qué es importante que se incuben los tubos conteniendo ambas soluciones A y B en agua tibia?*
- ✓ *¿Para qué las levaduras necesitan disociar la sacarosa?*

Vamos a repetir la experiencia pero esta vez inmovilizando la enzima, para ello:

- ✓ *Pesar 0,2 g de alginato de sodio y agregarle lentamente y mezclando 10 ml del extracto de levadura hasta formar una pasta homogénea pero no demasiado espesa.*
- ✓ *Preparar una solución de cloruro de calcio, pesando 0,4 g de cloruro de calcio en 20 ml de agua.*
- ✓ *Gotear con la pipeta la solución que contiene la levadura y el alginato de sodio en la solución de cloruro de calcio para obtener esferas de Alginato de Calcio que contienen en su interior levadura*



Esferitas de Alginato de Calcio conteniendo levadura en su interior



Esferitas de Alginato de Calcio conteniendo levadura en su interior (enzima inmovilizada)

- ✓ En un tubo de ensayo chico colocar varias de éstas esferitas y completar al ras con unos 3ml de solución de sacarosa (solución B) agitar bien para mezclar ambas soluciones.

- ✓ Colocar finalmente un globo cerrando herméticamente el tubo de ensayo y dejarlo reposar dentro de un recipiente con agua tibia (30°C o 37°C aproximadamente).

- ✓ Dejar transcurrir unos diez o quince minutos y observar los cambios que puedan evidenciarse.

Para completar la actividad:

- a) *Describí lo que ocurre en el tubo con tus palabras,*
- b) *Entonces, con las esferitas de Alginato de Calcio obtenidas con la levadura en su interior, ¿se produce el proceso de fermentación? ¿por qué?*
- c) *¿Por qué llamamos inmovilización enzimática?*
- d) *¿Por qué resulta útil la posibilidad de inmovilizar la enzima para provocar el proceso de fermentación?*

Bibliografía

- [1] Diego A. Golombek, *Aprender y enseñar ciencias: del laboratorio al aula y viceversa*- F Santillana
- [2] Héctor Fernández Serventi, *Química Orgánica*, 1975, Ed. Losada
- [3] *Fermentación alcohólica EcuRed* http://www.ecured.cu/index.php/Fermentacion_alcoholica
- [4] M.G. Bertoluzzo, SMBertoluzzo, *Memorias Del 19° Taller De Fisica* ,2013, Ed Corpus-Rosario