

## LABORATORIO: METABOLISMO DE LA LEVADURA (1)

Por: Luis Fernando Velásquez (2)

### INTRODUCCION

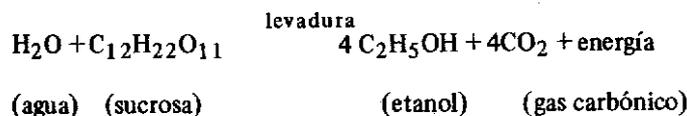
Se ha seleccionado la levadura común para este laboratorio, debido a la facilidad con que se consigue y se trabaja con ella y además porque el estudio de su crecimiento y metabolismo nos ofrecerá una oportunidad para experimentar en muchos otros aspectos de la investigación biológica.

La levadura con la cual vamos a trabajar, deriva su nombre del hecho de que es un hongo consumidor de azúcar, de ahí su nombre:

*Sacharomyces* (*Saccharum*= azúcar; *Mices*= hongos).

Desde 1938, Charles Cagniar-Lateur y más tarde (1860) Louis Pasteur, procuraron explicar como la levadura era capaz de convertir el azúcar en alcohol etílico (etanol) y dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), si se mantenía en condiciones anaeróbicas (sin oxígeno). Este proceso constituye una fermentación alcohólica.

La siguiente ecuación resume lo que sucede en este tipo de fermentación:



Los anteriores párrafos acerca de la levadura nos han dado la noción de que si esta crece convirtiendo el azúcar en alcohol, debe existir una relación entre el azúcar aportado y el número de células de levadura presente en un momento dado. ¿Cuál podría ser esta relación? Para contestar a esta pregunta podríamos medir el  $\text{CO}_2$  producido por cierta cantidad de levadura. La relación podría estar representada por una de las gráficas: A, B, C ó D de la figura 1.

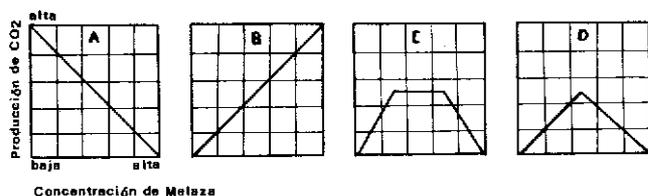


Figura 1 Concentración de melaza y producción de  $\text{CO}_2$ .

(1) BSCS Biological Sciences - Interaction of Experiments and Ideas — N.Y. Prentice Hall, Inc. 1970.

(2) Profesor Departamento de Biología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

¿Cuál relación (gráfica) cree usted que vamos a encontrar? La naturaleza de la pregunta que nos estamos haciendo es la siguiente: Si se agrega más y más azúcar, ¿conseguiríamos una producción de  $\text{CO}_2$  equivalente al azúcar agregado? Para comprobarlo llevemos a cabo el siguiente experimento.

### MATERIALES

Por equipo de 5 estudiantes:

1. Un paquete de levadura Fleischman.
2. Una probeta graduada de 100 ml.
3. Diez tubos de ensayo de 22 x 175 mm.
4. Diez tubos de ensayo de 13 x 100 mm.
5. Dos erlenmeyers de 125 (o 250) ml.
6. Papel milimetrado.
7. Cincuenta ml de melaza.

Prepárela disolviendo una libra de panela en un litro de agua e hirviendo por dos horas.

### PROCEDIMIENTOS

Día 1:

- a. Marque los tubos grandes de 1-10.
- b. Prepare en estos, utilizando el método de diluciones seriadas, concentraciones de melaza en agua, desde 100% hasta 0.19%. Lo anterior puede hacerse como sigue:

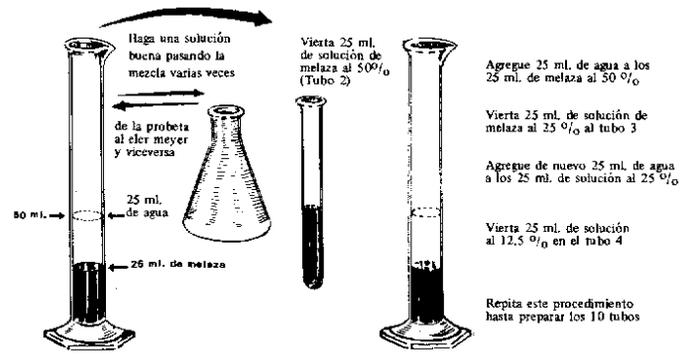


Figura 2 Procedimiento para cada dilución.

**TUBO 1:** Utilizando la probeta mida 25 ml de melaza pura y colóquelos en este tubo. Este tendrá en consecuencia una concentración de melaza del 100o/o.

**TUBO 2:** Mida otros 25 ml de melaza y agregue 25 ml de agua. Procure hacer una solución uniforme vertiendo varias veces el contenido de la probeta en un erlenmeyer limpio. Coloque con cuidado la mitad (25 ml) de esta solución en el tubo No. 2. Guarde la otra mitad sobrante para preparar el tubo No. 3. (Ver Fig. 2). El tubo 2 tendrá una concentración de melaza del 50o/o

**TUBO 3:** Agregue 25 ml de agua a los 25 ml de solución de melaza que quedaron en el paso anterior. De nuevo mezcle bien y agregue la mitad (25 ml) de esta solución al tubo No. 3, el cual tendrá una concentración de melaza del 25o/o.

**TUBOS 4-10:** Repita la operación anterior (teniendo en cuenta los 25 ml de solución de melaza que deben sobrar cada vez en la probeta) para obtener las concentraciones respectivas de estos tubos. Descarte los últimos 25 ml de dilución 0.19o/o. Observe que cada uno de los 10 tubos deberá contener 25 ml de solución y que cada nueva solución posee una concentración que es la mitad de la solución anterior. (Ver Fig. 3).

Haga una solución buena pasando la mezcla varias veces de la probeta al erlenmeyer y viceversa

Vierta 25 ml. de solución de melaza al 50o/o (Tubo 2)

Agregue 25 ml. de agua a los 25 ml. de melaza al 50 o/o

Vierta 25 ml. de solución de melaza al 25 o/o al tubo 3

Agregue de nuevo 25 ml. de agua a los 25 ml. de solución al 25 o/o

Vierta 25 ml. de solución al 12,5 o/o en el tubo 4

Repita este procedimiento hasta preparar los 10 tubos

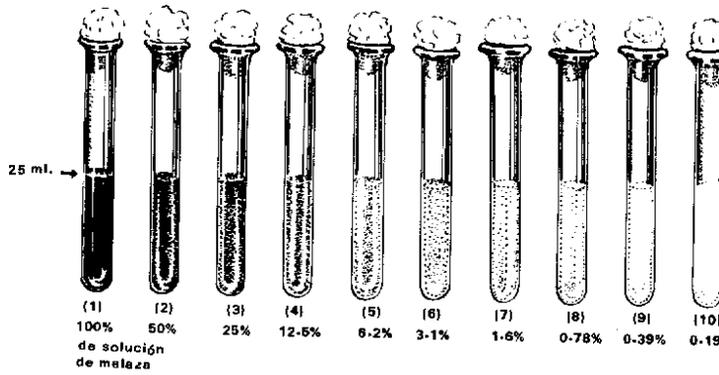


Figura 3 Técnica de diluciones.

- Prepare una solución de levadura disolviendo un gramo de esta en 100 ml de agua y agite un poco. Agregue una gota de esta solución a cada tubo grande. Agite bien cada tubo hasta lograr una buena distribución de levadura.
- Invierta un tubo de ensayo pequeño en cada uno de los 10 tubos grandes que contienen la mezcla de melaza y levadura. Deje que cada uno de los tubos pequeños se llene completamente con la suspensión. A propósito se requiere un poco de cuidado con esta técnica ya que es común que queden burbujas de aire dentro del tubo pequeño. Moviéndolo cuidadosamente el tubo grande es posible llenar completamente el tubo pequeño (Fig. 4). Al completar la operación cada tubo deberá parecerse al último tubo de la Fig. 4.
- Coloque los tubos en un lugar apropiado del laboratorio a temperatura ambiente.

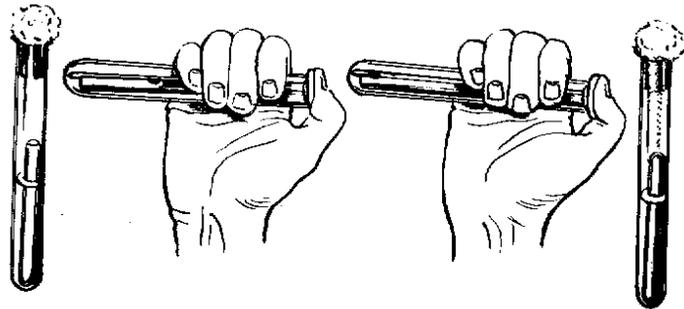


Figura 4 Preparación de los tubos de Fermentación.

**Día 2:**

- Examine los tubos. ¿Qué cambios se presentan en los tubos pequeños?
- Anote sus observaciones y téngalas listas para una discusión posterior en clase.
- Mida comparativamente las cantidades de gas carbónico (espacio vacío en los tubos pequeños) recogidas en la parte superior de cada tubo pequeño, midiendo la

altura de este espacio con una regla. Anote los resultados en mm.

- d. Haga una gráfica, colocando las diferentes concentraciones de melaza en el eje horizontal y la cantidad de  $\text{CO}_2$  producida en 24 horas (tamaño del espacio vacío en mm) en el eje vertical.
- e. Saque un promedio de la producción de  $\text{CO}_2$  en cada tubo. (No. 1 en todos los equipos; No. 2 en todos los equipos y así sucesivamente).
- f. Haga una gráfica con los valores promedios reportados por cada equipo.

## DISCUSION

- a) Compare la gráfica obtenida de los promedios con la gráfica seleccionada por su propio equipo al comienzo del experimento (Fig. 1).
- b) Basado solamente en los resultados observados en este laboratorio, describa la relación que parece existir entre la concentración de melaza y la producción de  $\text{CO}_2$  en la levadura.

altura de este espacio con una regla. Anote los resultados en mm.

- d. Haga una gráfica, colocando las diferentes concentraciones de melaza en el eje horizontal y la cantidad de  $\text{CO}_2$  producida en 24 horas (tamaño del espacio vacío en mm) en el eje vertical.
- e. Saque un promedio de la producción de  $\text{CO}_2$  en cada tubo. (No. 1 en todos los equipos; No. 2 en todos los equipos y así sucesivamente).
- f. Haga una gráfica con los valores promedios reportados por cada equipo.

## DISCUSION

- a) Compare la gráfica obtenida de los promedios con la gráfica seleccionada por su propio equipo al comienzo del experimento (Fig. 1).
- b) Basado solamente en los resultados observados en este laboratorio, describa la relación que parece existir entre la concentración de melaza y la producción de  $\text{CO}_2$  en la levadura.