

BIOLOGÍA
ÁREA

LOCAL
CATEGORÍA

INVESTIGACIÓN EXPERIMENTAL
MODALIDAD

**ANÁLISIS DE BIOMOLECULAS Y MICROORGANISMOS EN DOS
TIPOS DE PULQUE**
TÍTULO DEL TRABAJO

7670084
FOLIO DE INSCRIPCIÓN

PUMITAS
PSEUDÓNIMO DE INTEGRANTES

RESUMEN

El pulque es una de las bebidas más representativas del nuestro país ya que posee una gran cantidad de sabores los cuales con el paso de los años se han ido mejorando, así como también la calidad de la preparación ya que en la antigüedad los métodos eran muy poco higiénicos.

En este trabajo se comparan dos tipos de pulque (uno proveniente de Hidalgo y otro del Distrito Federal) para conocer algunas de sus características bioquímicas y microbiológicas y determinar cuál de los dos tipos resulta más nutritivo, se determina si en el pulque se presentan biomoléculas como: proteínas, carbohidratos y lípidos y se reconocen algunos microorganismos presentes en él.

Para realizar este trabajo utilizamos dos muestras de pulque, una obtenida del Distrito Federal y otra de Hidalgo. Con estas realizamos la investigación y obtención de resultados al cuestionarnos si el pulque contenía grasas, proteínas, carbohidratos y lípidos, utilizando los reactivos de: Benedict, Lugol en almidón, Sudán III y Biuret que detectan la presencia de: Glucosa, Almidón, Carbohidratos simples y Proteínas respectivamente.

Se llevó a cabo la observación de las reacciones que detectan la presencia de dichas biomoléculas, en el desarrollo del trabajo se muestran las imágenes que dan cuenta de ello.

Al realizar el experimento pudimos detectar que el pulque del Distrito Federal contiene más carbohidratos y pocas proteínas, en comparación con el de Hidalgo que presenta mayor cantidad de proteínas y poca de carbohidratos.

MARCO TEÓRICO

¿QUÉ ES EL PULQUE?

El pulque es una bebida alcohólica que se fabrica a partir de la fermentación del jugo o aguamiel del agave o maguey, especialmente el maguey pulquero. Actualmente su producción se realiza principalmente en el estado de Hidalgo.



Es la bebida alcohólica más tradicional mexicana del centro del país; su consumo prevalece en las zonas rurales y en menor medida en las ciudades del centro del país.

PULQUE se entiende que es una bebida alcohólica que es muy fuerte y que en la mayoría de los casos no está hecha con las mejores medidas de sanidad; por lo tanto nos llamo la atención la forma de elaboración, el tiempo de fermentación y sus ingredientes. Tomando en cuenta un poco de la

historia se encontró, que en los antiguos mexicanos utilizaron diferentes técnicas para obtener los jugos de los agaves, por ejemplo, mediante el corte y reposado del maguey de manera que la planta, aún viva, exhume sus jugos y estos se acumulan en el nicho así abierto, con el aspecto de un líquido cristalino y viscoso, muy dulce y ligeramente astringente. Por otro lado se encontró que en España le llamaron aguamiel, recién cosechado, este líquido es una bebida refrescante y alimenticia, pero en pocas horas empieza a fermentar y adquiere un color blanco mientras se forma una cierta cantidad de alcoholes.

ENZIMAS Y MICROORGANISMOS PRESENTES EN EL PULQUE

Entre los microorganismos que encontramos en el pulque, están las levaduras que son cuerpos unicelulares que están presentes de forma natural en algunos productos como las frutas, cereales y verduras; son lo que se denominan: organismos anaeróbicos facultativos, es decir que pueden desarrollar sus

funciones biológicas sin oxígeno. Se puede decir que el 96% de la producción de etanol la llevan a cabo hongos microscópicos, diferentes especies de levaduras, entre las que se encuentran principalmente *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces fragilis*, *Torulaspota* y *Zymomonas mobilis*. Los microorganismos responsables de la fermentación son de tres tipos: bacterias, mohos y levaduras. En algunos casos son capaces de proporcionar un sabor característico al producto final (como en el caso de los vinos o cervezas). A veces estos microorganismos no actúan solos, sino que cooperan entre sí para la obtención del proceso global de fermentación. Las propias levaduras se han empleado a veces en la alimentación humana como un subproducto industrial. Se ha descubierto que en algunos casos es mejor inmovilizar (reducir el movimiento) de algunas levaduras para que pueda atacar enzimáticamente mejor y con mayor eficiencia sobre el sustrato de hidratos de carbono evitando que los microorganismos se difundan facilitando su recuperación (los biocatalizadores suelen ser caros), para ello se emplean 'fijadores' como agar, alginato de calcio, astillas de madera de bálsamo, etcétera. Algunas cepas de bacterias tienen eficiencias de fermentación altas sin necesidad de fijación, incluso a relativas velocidades de movilidad, tal y como puede ser el caso de *Zymomonas mobilis* (cuyo genoma completo se hizo público en el año 2005).

Aunque hay distintos tipos de levaduras con diferentes tolerancias a las concentraciones de azúcares y de etanol, el límite suele estar en torno a los 14° de alcohol para las levaduras del vino. Los azúcares empleados en la fermentación suelen ser: dextrosa, maltosa, sacarosa y lactosa (azúcar de la leche).¹³ Los microorganismos actúan específicamente sobre los hidratos de carbono, siendo la maltosa la más afectada por las levaduras. Otros factores como el número de levaduras (contadas en el laboratorio, o la industria, a veces mediante cámaras de Neubauer).

Algunas enzimas participan en la fermentación, como puede ser la diastasa o la invertasa. Aunque la única responsable de convertir los hidratos de carbono en etanol y dióxido de carbono es la zimasa. La zimasa es la responsable final de dirigir la reacción bioquímica que convierte la glucosa en etanol.

BIOMOLÉCULAS PRESENTES EN EL PULQUE

El pulque es una bebida mexicana milenaria que es fuente de salud para quien la ingiere. Datos estadísticos muestran su gran contenido nutricional.

Muchos experimentos se han realizado para encontrar la fuente de la juventud sin encontrar resultados convincentes. Haciendo una búsqueda en la historia de la alimentación tradicional mexicana, se ha encontrado que una bebida de origen vegetal llamada pulque (octli) ha sido desde tiempos inmemorables parte fundamental en la dieta del nativo mexicano.

Se ha podido comprobar que los nativos que consumían o consumen esta bebida eran o son personas sanas, fuertes y longevas. Ahondando en esta historia encontramos que los mismos españoles, a su llegada a México, consideraron a la planta de donde se obtiene esta bebida el "árbol de las maravillas".

Después de varios años de analizar el cultivo, reproducción y composición del pulque, bebida natural prehispánica y milenaria, y que actualmente es considerada la bebida de los "pobres", biotecnólogos del Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada (CIBA) del Instituto Politécnico Nacional en Tlaxcala lograron establecer y estabilizar las características de un pulque de excelente calidad. Los investigadores encontraron en esta bebida microorganismos que inhiben el crecimiento de bacterias patógenas intestinales.

En otra línea de investigación identificaron y desarrollaron cepas especiales de bacterias y levaduras útiles para la elaboración de productos derivados como mieles, bebidas ácidas, jarabes y jugos de frutas de sabor agradable y alto valor nutricional, además de la formulación de licores destilados del pulque.

Más de 30 especies de cepas de bacterias y levaduras han sido identificadas en el pulque. Entre las bacterias se encuentran *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Micricoccus*, *Sarcine* y *Bacillus*. Así como las *Zymomonas* spp, bacterias que aparentemente producen el etanol durante la fermentación del pulque.

De las cepas de levaduras se encuentran los géneros *Saccharomyces*, *Pichia*, *Cándida*, *Rhodoforula*, *Torulopsis* y *Kloeckera*.

REACTIVOS ÚTILES EN LA IDENTIFICACIÓN DE BIOMOLÉCULAS

- Ensayo de Benedict: El ensayo de Benedict permite el reconocimiento de carbohidratos reductores, al igual que el reactivo de Felhing, el de Benedict contiene ion cúprico en medio alcalino que se reduce hasta óxido cuproso en presencia de azúcares con el hidroxilo hemiacetálico libre. Al inicio, el reactivo presenta una coloración azul cielo, y al ponerlo al calor, se produce una reacción y los carbohidratos se precipitan, tomando una coloración naranja.
- Ensayo con Lugol: El reactivo de Lugol que contiene una mezcla de yodo y yoduro, permite reconocer polisacáridos, particularmente el almidón por la

formación de una coloración azul-violeta intensa y el glicógeno y las dextrinas por formación de coloración roja.

- Reactivo de Biuret: Reactivo que se emplea para determinar la presencia de proteínas se comercializa bajo el nombre de “reactivo de Biuret”. Al principio, el reactivo es de color azul, y al entrar en contacto con las proteínas toma una coloración lila.
- Reactivo Sudán III: El Sudán es un colorante que se utiliza para detectar específicamente las grasas, porque es insoluble en agua y en cambio es soluble en las grasas. Al ser de color rojo, cuando se disuelve tiñe las grasas de un color rojo anaranjado.

OBJETIVO DE LA INVESTIGACIÓN

- Comparar dos tipos de pulque (uno proveniente de Hidalgo y otro del Distrito Federal) para conocer algunas de sus características bioquímicas y microbiológicas y determinar cuál de los dos tipos resulta más nutritivo.
- Determinar si en el pulque se presentan biomoléculas como: proteínas, carbohidratos y lípidos.
- Reconocer algunos microorganismos presentes en el pulque.

PROBLEMA

¿Cómo identificar las moléculas que se presentan en dos muestras de pulque con diferente procedencia, así como, llevar a cabo la observación microscópica del pulque para observar sus componentes microbiológicos? Y comprobar mediante este trabajo de investigación, si el pulque tiene valor nutritivo.

HIPÓTESIS

Partiendo de la idea de que el pulque es una bebida alcohólica nutritiva, creemos encontrar en ella un alto contenido de proteínas, en menor cantidad carbohidratos y un bajo contenido de grasas. Además al considerar que el pulque es una bebida producto de la fermentación alcohólica, será posible que en el análisis microbiológico encontremos bacterias y levaduras.

DESARROLLO

Material

- Microscopio Óptico
- 10 tubos de ensayo 16x150
- Gradilla
- Matraz elenmayer 250
- Pinzas para tubo de ensayo
- Probeta 100 ml
- Probeta 50 ml
- Soporte universal
- Lata de alcohol
- 5 porta objetos
- 5 cubre objetos
- Gotero

Muestras biológicas

- Pulque proveniente de Hidalgo
- Pulque proveniente del Distrito Federal

Reactivos usados

- Sudan III
- Benedic
- Lugol para almidon
- Biuret

Procedimiento

- 1- Una de las muestras de pulque fue obtenida en Tizayuca, Hidalgo mientras que la otra se obtuvo en el Distrito Federal
- 2- Las muestras fueron llevadas al laboratorio de biología para su análisis.
- 3- Se realizó el análisis microscópico de cada una de las muestras, para observar las bacterias y hongos presentes en el pulque
- 4- En el laboratorio se colocaron 5 ml de cada tipo de pulque en cinco tubos de ensayo.
- 5- Cinco de los tubos de ensayo corresponde a pulque de Hidalgo y los restantes a pulque del Distrito Federal.
- 6- A cada uno de los tubos se le agregaron los reactivos de la siguiente manera:

Tabla 1. Muestra los resultados al poner en evidencia la presencia de glucosa, almidón, proteínas y grasas en el pulque.

Origen del pulque	No. De tubo	Reactivo	Cantidad (gotas)
Hidalgo	1	Sudan III	5
Hidalgo	2	Benedic	5
Hidalgo	3	Lugol	5
Hidalgo	4	Biuret	5
Hidalgo	5	Sin reactivo	
Distrito Federal	6	Sudan III	5
Distrito Federal	7	Benedic	5
Distrito Federal	8	Lugol	5
Distrito Federal	9	Biuret	5
Distrito Federal	10	Sin reactivo	

Nota: El tubo cinco y diez fueron utilizados como grupo control de referencia para observar las diferencias entre aquellos a los que si se les agregó el reactivo.

- 7- Se llevó a cabo la observación y comparación de cada muestra para determinar la presencia o ausencia de las biomoléculas.

RESULTADOS

Una vez llevado a cabo la observación y análisis de las muestras se obtuvieron los siguientes resultados:



Fig. 1 Se muestran los microorganismos observados en el pulque traído de Hidalgo, principalmente levaduras y bacterias.



Fig. 2 Se muestran los microorganismos observados en el pulque traído del Distrito Federal principalmente levaduras y bacterias.

Aunque no se llevo a cabo la cuantificación de cada uno de los organismos en cada muestra de manera cualitativa se pudo determinar que el pulque traído de Hidalgo presentaba una mayor cantidad de levaduras que el pulque del Distrito Federal, como se puede observar en las figuras 1 y 2.

En cuanto a los resultados obtenidos sobre la presencia de biomoléculas en los dos tipos de pulque se obtuvo lo siguiente:



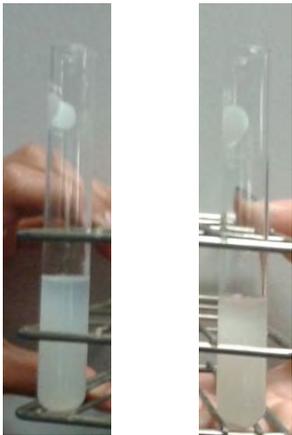
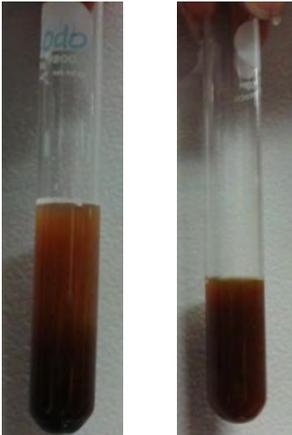
Figura 3. Vista panorámica de los resultados obtenidos al agregar los diferentes tipos de reactivos

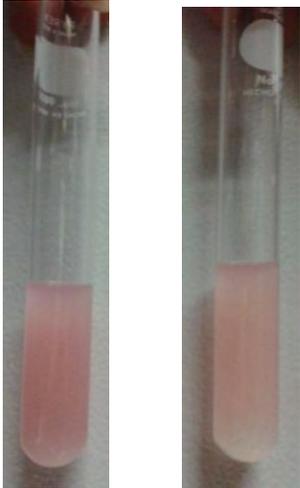
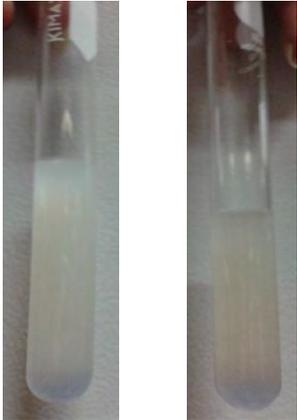
Tabla 2. Muestra la comparación entre las características de las dos muestras al aplicarles los reactivos para detección de biomoléculas.

Reactivos	Distrito Federal ("A")	Observaciones	Hidalgo ("B")	Observaciones
Sin reactivo	A1	Se puede observar que la muestra es de un color blanco lechoso	B1	Se puede observar que la muestra es de color blanco, pero un tanto opaco
Lugol para almidón	A2	Se observa que no hay un cambio que demuestre la presencia de almidón, por lo tanto, no lo contiene	B2	Se observa que no hay un cambio que demuestre la presencia de almidón, por lo tanto, no lo contiene
Sudán III	A3	Se observa que no hay un cambio que demuestre la presencia de grasas	B3	Se observa que no hay un cambio que demuestre la presencia de grasas
Benedict	A4	Se observa que hay un ligero cambio de color, y si se puede ver en la parte de abajo, hay cierto color amarillento, por lo	B4	Se observa que no hay un cambio al colocar el reactivo, por lo tanto no tiene carbohidratos

		tanto, contiene un poco cantidad de carbohidratos		
Biuret	A5	Se observa que hay un ligero cambio en el color morado, por lo tanto, hay poca cantidad de proteínas	B5	Se observa que hay un mayor cambio en el color morado, por lo tanto, hay más cantidad de proteínas

Tabla 3. Muestra los resultados al poner en evidencia la presencia de glucosa, almidón, proteínas y grasas en el pulque.

Reactivos	Muestras (foto)	Observaciones
Sin reactivo		Se observa que la muestra traída del Distrito Federal es de un color blanco lechoso, al contrario de la muestra traída de Hidalgo, que tiene un color blanco opaco.
Lugol		Como se aprecia en las imágenes se nota que el ninguna de las dos muestras hubo una reacción, por lo tanto no hay presencia de almidón.

Sudán III		En ninguna de las muestras hay un cambio notable, por lo tanto se determina que no hay presencia de grasas.
Benedict		En la muestra del Distrito Federal, se puede notar un ligero tono amarillento en la parte de abajo del tubo de ensayo, lo cual indica que existe una pequeña cantidad de carbohidratos, mientras que la muestra de Hidalgo no mostró presencia alguna.
Biuret		En ambas muestras, hubo un cambio de coloración a un tono morado, sin embargo, en la muestra de hidalgo la coloración es más intensa.

Nota: Los tubos que se muestran de lado izquierdo pertenecen a la muestra traída del Distrito Federal, los de la derecha pertenecen a la muestra traída de Hidalgo.

Tabla 4. Muestra los resultados individuales de la muestra traída de Hidalgo

Reactivos	Hidalgo	Figura que muestra el resultado obtenido.
Benedict	No reaccionó	
Lugol	No reaccionó	
Biuret	Hubo reacción	

Sudán III	No reaccionó	
-----------	--------------	--

Tabla 5. Muestra los resultados individuales de la muestra traída del Distrito Federal

Reactivos	D.F.	Figura que muestra el resultado obtenido
Benedict	Hubo una ligera reacción	
Lugol	No reaccionó	

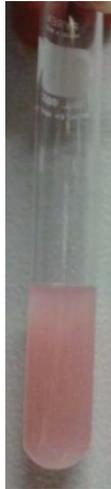
Biuret	Se evidencia menor cantidad de proteínas	
Sudán III	No reaccionó	

Tabla 6. Muestra la relación de resultados a nivel macro-micro-molecular.

Características macroscópicas	Observación microscópica	Análisis de biomoléculas
El pulque de Hidalgo se observa con una coloración amarillenta y mayor turbidez	Se observa mayor aglutinamiento de microorganismos unicelulares (levaduras y bacterias)	Es más evidente la reacción para detectar la presencia de proteínas, sin embargo la reacción para detectar carbohidratos es menos evidente.
El pulque del Distrito Federal se observa de un color blanco y poca turbidez.	Se observa que los microorganismos unicelulares están más dispersos.	En este pulque la reacción para detectar proteínas fue menos evidente, pero la reacción para detectar carbohidratos fue más clara.

ANÁLISIS DE RESULTADOS

Encontramos mayor cantidad de microorganismos en el pulque de Hidalgo en comparación con el del Distrito Federal, esto se puede explicar al considerar que cada uno de los pulques fue producido en lugares y bajo condiciones diferentes; pues recordemos que en la fermentación intervienen diferentes factores como la temperatura, el pH, concentración de carbohidratos así como el método de elaboración.

En ambos pulques encontramos la presencia de proteínas y carbohidratos, así como la ausencia de lípidos. Sin embargo, en el pulque de Hidalgo se encontró una mayor cantidad de proteínas y menos cantidad de carbohidratos; se puede explicar lo anterior debido a que en el procesos de fermentación los carbohidratos son degradados por los microorganismos, por lo tanto, si tenemos una mayor cantidad de microorganismos en este pulque habrá menos carbohidratos y mayor cantidad de proteínas, formando parte de la membrana celular de los microorganismos. Por otro lado en el pulque del Distrito Federal se encontró menos cantidad de proteínas y mayor cantidad de carbohidratos, lo cual se puede explicar que el proceso de fermentación es más lento por la menor cantidad de microorganismos presentes.

La ausencia de lípidos se puede explicar con base en el origen vegetal del pulque, pues es proveniente del maguey y aunque si puede haber lípidos estos resultaron imperceptibles.

CONCLUSIONES

Con este trabajo logramos los objetivos planteados tras realizar las pruebas necesarias. A partir de las pruebas bioquímicas logramos identificar que el pulque contiene los nutrientes que reporta la bibliografía al tener varias ideas sobre los resultados, los experimentos que realizamos satisficieron nuestra curiosidad, pruebas y reacciones se llevaron a cabo de manera ejemplar y con resultados concisos como se muestra en las tablas de reactivos y resultados. El trabajo es sumamente importante ya que nos permitió saber si el consumo de esta bebida es sano.

Nos permitió desarrollar conocimientos acerca del pulque, conocer y utilizar reactivos para la identificación de biomoléculas, revisar bibliografía sobre el tema y concluir que el pulque es una bebida que tiene microorganismos pero además que hay diferencias entre estas bebidas según su procedencia. Específicamente nosotros encontramos que el pulque de Hidalgo contiene mayor cantidad de microorganismos, y proteínas lo que lo hace de mejor calidad que el del Distrito Federal.

Este trabajo puede representar la primera etapa de uno más completo en el que se pueda realizar la cuantificación de proteínas y carbohidratos presentes en el pulque el realizar estudios cuantitativos de la presencia de biomoléculas en el pulque puede dar un panorama más amplio en cuanto a su valor nutritivo. No sólo a nivel de si se presentan o no las moléculas sino también conociendo en qué concentraciones se encuentran.

Finalmente, la planeación, ejecución y análisis de este proyecto nos deja una experiencia de trabajo en equipo y una muestra del esfuerzo, dedicación y empeño que hay que poner en la realización de un trabajo de investigación escolar.

BIBLIOGRAFÍA

- Audesirk, T., *et al. La Vida en la Tierra*, 6ª edición, Prentice Hall, México, 2003.
- Curtis, H., *et al. Biología*, 6ª edición en español, Editorial Médica Panamericana, España, 2000.
- Gonçalves De Lima Oswaldo, *El maguey y el pulque en los códices mexicanos*, México, Fondo de Cultura Económica, 1956.
- Guerrero Guerrero, Raúl, *El pulque*, México D.F. J. Mortiz, 1985, pags. 299
- Loloya Montemayor, Elías, *La industria del pulque*, México D.F. Banco de México. Departamento de investigaciones industriales, 1956, pags 348
- Purves, W. K., *et al. Vida. La Ciencia de la Biología*, 6ª edición, Editorial Médica Panamericana, México, 2002.
- Sánchez Marroquín, Alfredo, *Los agaves de México en la industria alimentaria de México*, Centro de Estudios Económicos y Sociales del Tercer Mundo, 1979.
- Solomon, E. P., *et al. Biología*, 5ª edición. McGraw-Hill Interamericana, México, 2001.

MESOGRAFÍA

- <http://enrique-dominguez-galvan.suite101.net/el-elixir-de-los-dioses-a19324>
- Lozano Tadeo Jorge. . Reconocimiento y Diferenciación de Carbohidratos. Laboratorio de Química Orgánica 502502. Extraída de http://www.utadeo.edu.co/comunidades/estudiantes/ciencias_basicas/organica/guia_7_carbohidratos.pdf 1997.