

Registro del calor desarrollado por levadura seca en presencia de sacarosa por microcalorimetría isotérmica

Juan Carlos Moreno y Liliana Giraldo.*

Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de los Andes. *Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia.

Recibido: 30 de septiembre de 2004. Aceptado: 9 de diciembre de 2005.

Palabras clave: microcalorimetría de levaduras, calor total levadura-sacarosa, registro microcalorimétrico de levaduras.
Key words: microcalorimetry of yeasts, total heat yeast-sucrose, microcalorimetric registration of yeasts.

RESUMEN. Se determinan los calores producidos cuando se ponen en contacto levadura seca y disoluciones diluidas de sacarosa. Los calores obtenidos se encuentran entre 10 y 200 J aproximadamente. Se muestran los registros microcalorimétricos para distintas condiciones experimentales, con variación en el peso de la levadura seca y en la concentración de la disolución de sacarosa.

ABSTRACT. The heat produced when dry yeast and diluted saccharose solutions get in touch is determined. The obtained heats are approximately between 10 and 200 J. The microcalorimetric registrations for different experimental conditions are shown, with variation in the weight of the dry yeast and in the concentration of saccharose solution.

INTRODUCCION

Las técnicas calorimétricas se han utilizado en las últimas dos décadas en las áreas bioquímica y biológica, no solo para obtener parámetros termodinámicos importantes como ΔH y C_p de los procesos considerados, sino también, como una herramienta analítica útil, en el caso de sustratos complejos como los que se involucran en las áreas citadas.¹ Como muchos de estos estudios se llevan a cabo en disolución, es interesante conocer las interacciones de diferentes solutos con el disolvente en el cual se encuentran, y de esta forma extender los resultados que se obtienen a sistemas más complejos. De especial importancia resultan los trabajos calorimétricos en los que el agua actúa como disolvente y el estudio de las interacciones de esta con los diversos solutos.

Sin el agua la vida no podría existir, es por ello que los estudios de las propiedades del agua y de las

interacciones mutuas entre ella y las sustancias bioquímicas, como también de los modelos teóricos que se construyen a partir de estos, forman la parte central de la biotermodinámica. Los trabajos termodinámicos obtenidos con compuestos simples, permiten plantear simulaciones con sustancias bioquímicas más complejas y tienen la ventaja de presentar propiedades bien definidas, lográndose así concepciones que pueden llegar a afectar el punto de vista existente acerca de la estructura y propiedades de reacción de los sistemas bioquímicos.²

En las últimas dos décadas, la microcalorimetría isotérmica se ha empleado con una amplia aceptación en la determinación del calor desarrollado en muchos procesos, dada la sensibilidad y capacidad para medir cantidades de calor que se desprenden del sistema en forma lenta. La microcalorimetría isotérmica

permite emprender estudios que suministran datos termodinámicos cinéticos y analíticos; la potencialidad de la técnica es tal que G. Buckton³ comenta "La microcalorimetría isotérmica tiene la capacidad de registrar todos los procesos físicos y químicos. El rango de aplicación de esta técnica está limitado solamente por la imaginación del investigador y la capacidad de control del experimento".

Esencialmente, todos los procesos físicos y químicos están acompañados de una generación o absorción de calor y así los calorímetros se emplean en un amplio intervalo de aplicaciones entre las que se pueden mencionar, por ejemplo, los estudios de unión de ligandos, medidas de disolución y sorción, estimados de la estabilidad química de sustancias y productos técnicos y medidas de reacciones metabólicas en sistemas celulares vivos.⁴

En la calorimetría isotérmica, los alrededores y la celda tienen la misma temperatura constante ($T_{\text{Alrededores}} = T_{\text{Celda}} = \text{constante}$). Si se tienen en cuenta dichos requisitos, en condiciones estrictamente isotérmicas T_A y T_C pueden permanecer constantes en el tiempo y en el espacio, pero entonces no se presenta flujo de calor. En los casos reales, se presenta un flujo de calor entre la celda y los alrededores, flujo que se detecta por medio de los sensores térmicos colocados entre ellos. El flujo es debido a la generalmente pequeña diferencia de temperatura existente entre T_A

y T_c durante la ocurrencia del proceso observado; la magnitud de esta diferencia de temperatura depende de la cantidad de calor liberada por unidad de tiempo, de las conductividades térmicas y geometría de la celda y del tipo de aislamiento que posean los sensores térmicos.^{5,6}

Microcalorimetría isotérmica de conducción de calor

En los equipos microcalorimétricos de conducción de calor, la energía puesta en juego en el proceso físico químico considerado y que se desarrolla dentro de una celda interna de reacción, se transfiere a un cuerpo externo que constituye los alrededores de la celda; generalmente se emplean para este fin masas metálicas, conocidas como depósitos de calor,⁷ que presentan conductividades y difusividades térmicas elevadas, para lograr flujos de calor rápidos entre la celda y los alrededores. Las figuras 1 y 2 corresponden a esquemas de las unidades calorimétricas metálicas con diferente disposición de las celdas de control y de los sistemas sensores de los efectos térmicos resultantes.

Entre la celda y los alrededores se colocan sensores adecuados que registran alguna propiedad, P , que es proporcional al flujo de calor, ϕ . La cantidad total de calor Q , involucrada en un intervalo de tiempo dt , es:

$$Q = \int \phi dt \quad (1)$$

y en términos de la propiedad P , la ecuación anterior se puede escribir:

$$Q = \epsilon \int P dt \quad (2)$$

donde ϵ es la constante de proporcionalidad.⁸

Procesos microbiológicos. Generación de calor

El crecimiento de microorganismos está relacionado con la generación de calor, ya sea en forma aeróbica o anaeróbica y que el producto final sean biomasa o metabolitos. Buena parte del calor generado se debe a la degradación del sustrato orgánico, que sirve como fuente de carbono y de energía.

Los procesos catabólicos se asocian con un decrecimiento de la energía libre; parte de la energía liberada se conserva en enlaces de gran energía de adenosin trifosfato (ATP) o en otros compuestos almacenadores de energía, que la suministran cuando es requerida para la biosíntesis y la actividad metabólica. El resto de



Fig. 1. Esquema de unidad calorimétrica tipo gemelo.

energía de los sustratos originales es liberada como calor, además, la producción de calor durante el catabolismo de nutrientes ricos en energía más la energía liberada como calor en la utilización del ATP en la actividad celular, suministran un medio para el crecimiento microbológico y otras funciones celulares.⁹

Se presenta entonces, que el calor producido es dependiente del tipo de vía catabólica por la cual el sustrato orgánico es metabolizado; variaciones en el calor microbiológico reflejan la actividad y el grado en el cual se completan el catabolismo y anabolismo celular. El calor total generado en un período de crecimiento microbiano puede ser representado como sigue:

$$\Delta Q = (-\Delta H_s)(-\Delta S) + (-\Delta H_n)(-\Delta N) - (-\Delta H_c)(\Delta X) - (-\Delta H_{pi})(\Delta Pi) \quad (3)$$

donde:

$-\Delta H_s$ calor de combustión del sustrato de carbono.

ΔH_n calor de combustión de la fuente de nitrógeno.

ΔH_c calor de combustión de las células microbiológicas.

ΔH_{pi} calor de combustión de los productos.

ΔS cantidad de sustrato utilizado.

ΔN cantidad de nitrógeno utilizado.

ΔX cantidad de células producidas.

ΔPi cantidad de productos producidos.

En este trabajo se muestran los resultados y termogramas obtenidos en un microcalorímetro de conducción de calor cuando levadura seca se coloca en disoluciones diluidas de sacarosa y cómo se modifica el valor del calor total cuando se varían las concentraciones.

METODOLOGIA EXPERIMENTAL

Las determinaciones calorimétricas se llevaron a cabo en un mi-

crocalorímetro de conducción de calor tipo *batch*,^{10,11} al cual se le modificaron las celdas de reacción y de referencia para realizar la mezcla entre la disolución de sacarosa y la cantidad determinada de la levadura seca. Las celdas se construyeron de vidrio de forma rectangular (dimensiones: 45 mm de ancho, 35 mm de alto y 10 mm de espesor) y con una tapa superior hermética construida en nylon. La celda está provista de una pared central que forman dos compartimentos de aproximadamente 3,5 mL, uno en el cual se coloca la levadura seca y en el otro (3,0 \pm 0,2) mL, de la disolución de sacarosa; la mezcla se realiza al girar 180° el conjunto calorimétrico. La figura 3 muestra un esquema de las celdas microcalorimétricas utilizadas.

En este trabajo se utilizó sacarosa reactivo analítico (Merck) y las disoluciones se prepararon con agua destilada en el momento de realizar la determinación calorimétrica de tal forma que la disolución siempre estuviera recién preparada y libre de contaminación ambiental. Las disoluciones se prepararon por pesada de sus dos componentes con una precisión de \pm 0,000 2 g.

La levadura, seca se pesó directamente en uno de los compartimientos de la celda de reacción, para pesos que se encuentran entre 50 a 200 mg; en el otro compartimiento se colocaron 3,0 mL de disolución; en la celda de referencia se colocaron 3,0 mL de disolución en uno de los compartimientos.

Determinación microcalorimétrica. Una vez colocadas las celdas de reacción y de referencia dentro del calorímetro, se deja estabilizar a la temperatura del equipo que es de (25 \pm 0,01) °C durante un período de 45 a 60 min. Cuando la línea base

Pieza	Nombre	Cant.
1	Tapa inoxidable	1
2	Caja inoxidable	1
3	Alojamiento superior aluminio	1
4	Alojamiento inferior aluminio	1
5	Tapa aluminio	1
6	Base nylon	1
7	Tapa nylon	1
8	Sujetador probeta	1
9	Sellante cónico	1
10	Buje nylon	1
11	Posicionador	1
12	Conector hembra 2 pines	4
13	Conector macho 2 pines	2
14	Tapa inferior aluminio	1
15	Tornillo 1/4 X 2 1/4 Bristol	4
16	Tornillo avellanado 1/4 X 1/2	3
17	Conectores tipo banana	6
18	Pasador sellante nylon	1
19	Posicionador guía	1
20	Sujetador pasador	1

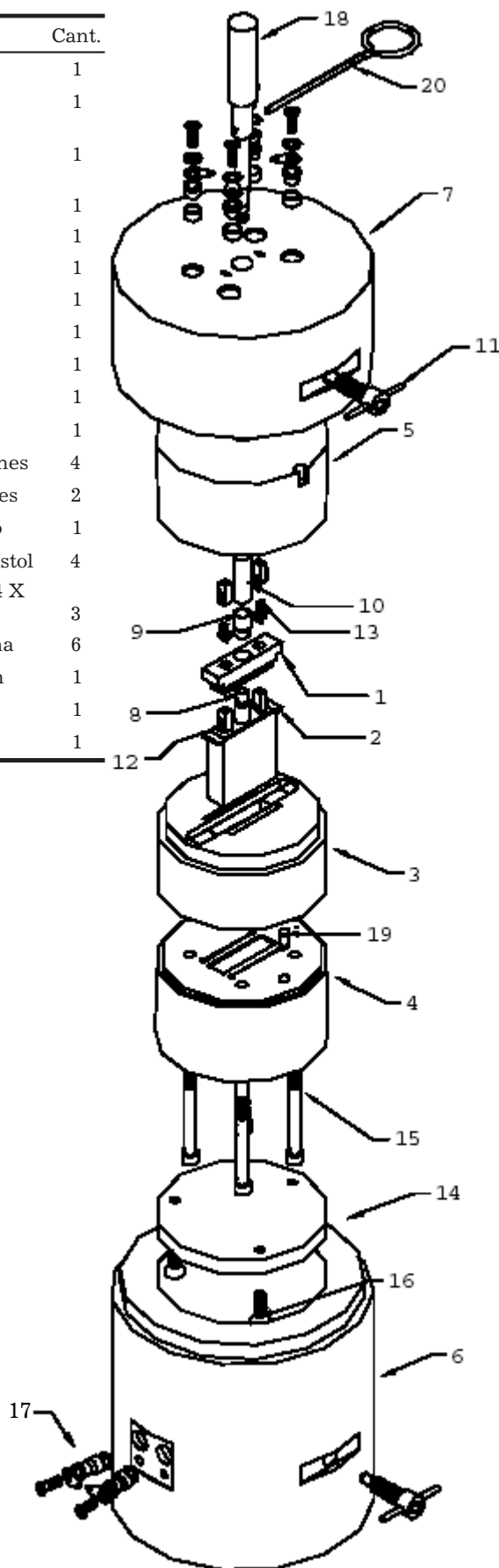


Fig. 2. Esquema de unidad calorimétrica con celda en acero inoxidable.

del equipo permanezca estable por un valor de 10 mV se pueden comenzar las mediciones del potencial de

salida del equipo en función del tiempo, esto se realiza durante 15 a 20 min, con mediciones del poten-

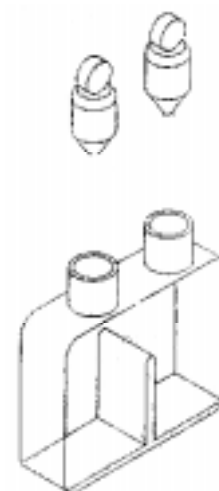


Fig. 3. Esquema de las celdas microcalorimétricas rectangulares.

cial cada 30 s, pasado este tiempo se realiza la mezcla entre la levadura seca y la disolución de azúcar y se continúan las mediciones del potencial cada 30 s por aproximadamente 10 h, tiempo en el cual se genera el calor del proceso hasta que nuevamente se llegue a un potencial similar al de la línea base. Finalmente, se calibra el sistema eléctricamente por medio de la disipación de un trabajo eléctrico de aproximadamente 4,0 J en la celda de reacción.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados que se muestran a continuación son parte de un conjunto de medidas que se han llevado a cabo para determinar el calor total que se genera cuando la levadura seca usada en la elaboración de pan se pone en contacto con disoluciones de azúcares como fuente de carbono,¹² de esta forma no solo es interesante evaluar el calor producido, sino también, observar la curva calorimétrica y la información que puede suministrar con respecto a los tiempos de desarrollo del efecto y su intensidad.

La figura 4 muestra un registro microcalorimétrico típico para el efecto térmico que tiene lugar cuando se colocan aproximadamente 100 mg de levadura seca en una disolución de sacarosa con una concentración de $0,093 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$. Se pueden apreciar dos picos. El primero corresponde al calor total desarrollado en el proceso y el segundo es la respuesta a un calentamiento eléctrico que se lleva a cabo como calibración del sistema.

Se observa que a pesar de generar calores de pequeña magnitud, el registro de la curva es bien definido y al calcular el área bajo el pico se

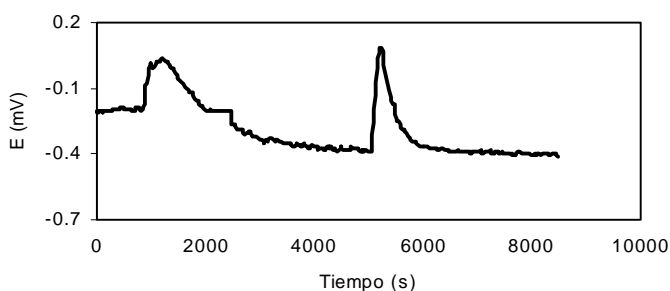


Fig. 4. Potenciograma de levadura seca en disolución de sacarosa 0,093 g · mL⁻¹ a 25 °C .

puede obtener el calor producido, conociendo el parámetro de calibración que es característico del equipo.

La tabla 1 presenta algunos resultados del calor desarrollado por la levadura seca en disoluciones de sacarosa de diferentes concentraciones, cuando se han tomado los termogramas a 25 °C . El peso de la levadura en estos ensayos se ha mantenido constante con el propósito de observar la influencia de la concentración en el calor.

Se puede apreciar (Tabla 1) que a medida que aumenta la concentración de la sacarosa, para un peso de aproximadamente 100 mg de levadura seca, el calor total producido también aumenta, siguiendo un comportamiento lineal (Fig. 5).

La figura 6 muestra dos curvas microcalorimétricas en las que se han modificado las condiciones experimentales.

En la primera curva, en línea continua, se muestra el registro microcalorimétrico correspondiente a 200 mg de levadura seca en una disolución de 0,139 g · mL⁻¹ y en la otra, en línea punteada, se muestra el registro obtenido para una cantidad de levadura menor, 50 mg, que se pone en contacto con una disolución de sacarosa de menor concentración 0,079 g · mL⁻¹. Como se puede observar para esta última condición, el calor desarrollado es menor y lo interesante es que se puede realizar su registro y cálculo de una manera muy clara.

Por último, la figura 7 y la tabla 2 muestran los resultados obtenidos cuando se mantiene constante la concentración de la disolución de sacarosa en 0,139 g · mL⁻¹ y se cambia el peso de la levadura seca. En la primera, se observa que a medida que se aumenta la cantidad de levadura el efecto térmico generado es mayor; sin embargo, dicho aumento es mayor cuando se varía la concentración que cuando se modifica el peso de la levadura seca.

CONCLUSIONES

Se determinan calores totales para un proceso que involucra levaduras en un medio que proporciona carbono como es la sacarosa. Se trabaja con concentraciones que varían entre 0,079 y 0,205 g · mL⁻¹, que re-

presentan disoluciones diluidas; los calores obtenidos se encuentran aproximadamente entre 10 y 200 J, magnitudes pequeñas para su registro si se tiene en cuenta que su evolución no es rápida.

Se observa un aumento del calor total producido a medida que se aumenta la concentración de la sacarosa, que actúa como fuente de carbono.

Al mantener constante la concentración de las disolución y modificar las cantidades de levadura seca, se obtienen cambios del calor total, pero en una proporción menor a la que se aprecia cuando se varían las concentraciones.

BIBLIOGRAFIA

1. Beezer A.E., Newell R.D. and Tyrell J.V., Anal. Chemistry, **49**, 253, 1977.

Tabla 1. Determinación microcalorimétrica del calor generado por la levadura seca de panadería en contacto con disoluciones de sacarosa de diferente concentración a 25 °C .

Concentración de sacarosa (g · mL ⁻¹)	Peso de la levadura (mg)	Cantidad de calor desarrollado (J)
0,079	109,8	7,96
0,093	108,1	50,7
0,115	102,4	72,8
0,139	106,2	82,3
0,155	105,2	172,4
0,178	103,4	198,4
0,205	102,3	216,1

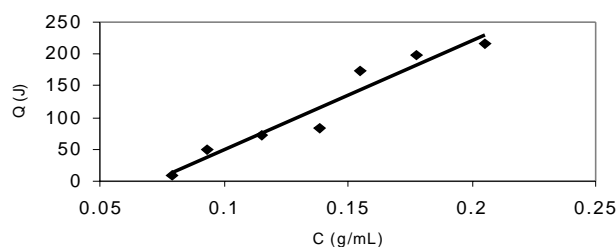


Fig. 5. Resultados del calor total producido por la levadura seca en disoluciones de sacarosa de diferente concentración. Peso constante de levadura en 100 mg .

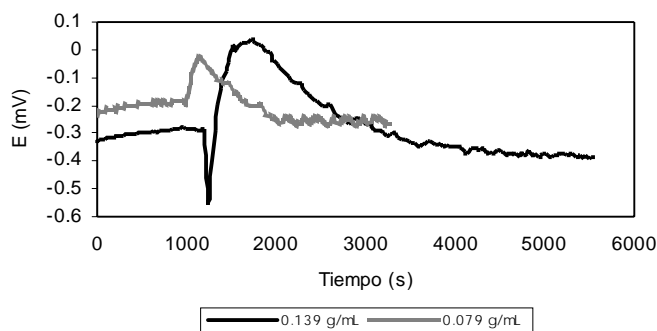


Fig. 6. Registros microcalorimétricos de levadura seca para condiciones experimentales diferentes.

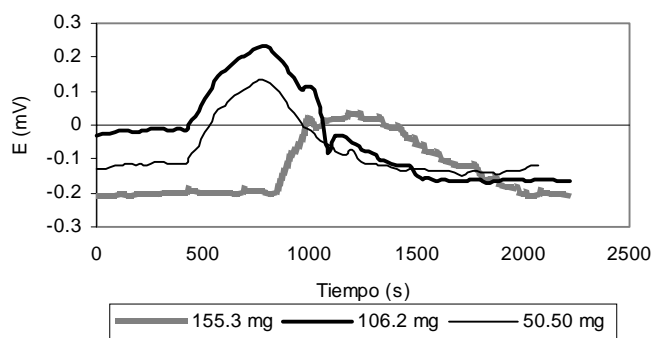


Fig. 7. Registros microcalorimétricos de levadura seca cuando se mantiene constante la concentración de la solución de sacarosa $0,139 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$.

Tabla 2. Determinación microcalorimétrica del calor generado por diferentes pesos de levadura seca de panadería en contacto con una disolución de sacarosa de $0,139 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$.

Concentración de sacarosa ($\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	Peso de la levadura (mg)	Cantidad de calor desarrollado (J)
0,139	50,50	64,6
	106,2	82,3
	155,3	96,8

2. Wadso I., *New Tech. Biophys. Cell Biol.*, **2**, 85, 1975.
3. Buckton G., Applications of isothermal microcalorimetry in the pharmaceutical sciences. *Thermochim. Acta*, **248**, 117, 1995.
4. Wadso I. Standards in isothermal microcalorimetry. *Pure Appl. Chem.*, **73**, 1625, 2001.
5. Hemminger W. and Hohne G. Calorimetry fundamentals and practice. Ed. Verlag Chemie. Florida, 1984.

6. Giraldo L. Construcción de un Microcalorímetro de Conducción de Calor de Flujo y su aplicación a la determinación de entalpías de transferencia de solutos. Departamento de Química. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, 1997.
7. Wadso I. Isothermal microcalorimetry near ambient temperature: An overview and discussion. *Thermochim. Acta*, **294**, 1, 1997.
8. Giraldo L., Moreno J.C. y Gómez A.. Desarrollos Instrumentales En Microcalorimetría De Conducción De Calor. *Rev. Col. Quím.*, **24**, 57, 1995.
9. Luong L.H. Heat evolution during the microbial process. In *Advances in Biochemical Engineering Biotechnology*. Ed. Fricther. Beuling Flein-delbing. New York. 1993.
10. Moreno J.C., Giraldo L., Gómez A.. A Batch-Type Heat Conduction Microcalorimeter For Immersion Heat Determinations: Design And Calibration. *Thermochim. Acta*, **290**, 1, 1996.
11. Moreno J.C., Giraldo L.. Determination Of The Immersion Enthalpy Of Activated Carbon By Microcalorimetry Of The Heat Conduction. *Instrumentation Science & Technology*, **28**, 171, 2000.
12. Giraldo L., Moreno J.C.. Microcalorimetric Determination Of The Global Heat Generated Between Dry Yeast Used For Elaboration Of Bread And Sucrose, Glucose And Fructose Solutions. *Instrumentation Science & Technology*, **29**, 329, 2001.