



Unidad B.2: Las estructuras y los organismos
Ciencias (Biología)
Actividad de aprendizaje – Laboratorio de respiración celular

Glucólisis:



En ausencia de oxígeno, luego de la glucólisis se lleva a cabo fermentación (respiración celular anaeróbica). Algunas bacterias sólo llevan a cabo fermentación, mientras que la gran mayoría de los organismos (incluidos los humanos) pueden llevar a cabo respiración celular aeróbica y anaeróbica.

Respiración celular aeróbica:

La respiración celular aeróbica es el conjunto de reacciones en las cuales el ácido pirúvico producido por la glucólisis se transforma en CO_2 y H_2O , y en el proceso, se producen **36 moléculas de ATP**. En las células eucariotas este proceso ocurre en la mitocondria en dos etapas llamadas el Ciclo de Krebs (o ciclo de ácido cítrico) y la cadena de transporte de electrones¹.

Reacción de transición:



Ciclo de Krebs:



En el ciclo de Krebs se producen:

4CO_2 , 6NADH , 2FADH_2 y 2ATP por cada molécula inicial de glucosa

Unidad B.2: Las estructuras y los organismos

Ciencias (Biología)

Actividad de aprendizaje – Laboratorio de respiración celular

Cadena de transporte de electrones

En la cadena de transporte de electrones, los electrones producidos en glucólisis y en el ciclo de Krebs pasan a niveles más bajos de energía y se libera energía para formar ATP. Durante este transporte de electrones las moléculas transportadoras se oxidan y se reducen. El último aceptador de electrones de la cadena es el oxígeno. En la cadena se producen **34 moléculas de ATP** a partir de una molécula inicial de glucosa.

Respiración celular anaeróbica

La respiración celular anaeróbica ocurre en ausencia de oxígeno. Este mecanismo no es tan eficiente como la respiración aeróbica, ya que sólo produce 2 moléculas de ATP, pero al menos permite obtener alguna energía a partir del piruvato que se produjo en la glucólisis. Hay dos tipos de respiración celular anaeróbica: fermentación láctica y fermentación alcohólica.

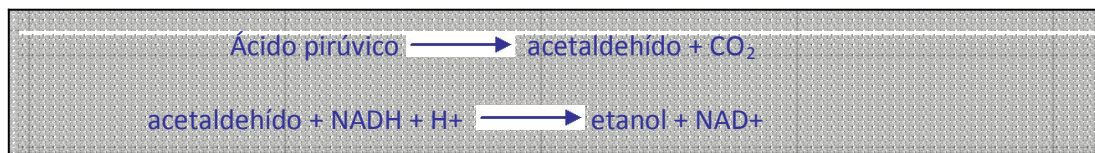
Fermentación láctica:



La fermentación láctica ocurre en algunas bacterias y gracias a este proceso obtenemos productos de origen lácteo tales como yogurt, crema agria y quesos. Este proceso sucede también en el músculo esquelético humano cuando hay deficiencia de oxígeno, como por ejemplo, durante el ejercicio fuerte y continuo. La acumulación del ácido láctico causa el dolor característico cuando ejercitamos los músculos excesivamente.

Fermentación alcohólica:

En la fermentación alcohólica suceden dos reacciones consecutivas:



Este tipo de fermentación ocurre en levaduras, ciertos hongos y algunas bacterias, produciéndose CO_2 y alcohol etílico (etanol); ambos productos se usan en la producción de pan, cerveza y vino.

Unidad B.2: Las estructuras y los organismos
Ciencias (Biología)
Actividad de aprendizaje – Laboratorio de respiración celular

Ejercicio 1: Respiración celular anaeróbica

A. Fermentación alcohólica en levaduras

En este ejercicio se estudiará el proceso de fermentación alcohólica que llevan a cabo las levaduras. Estos organismos llevan a cabo respiración aeróbica en presencia de oxígeno y respiración anaeróbica en ausencia de éste. La levadura que se usará es *Saccharomyces cerevisiae*, la misma que se utiliza para la producción de pan, cerveza y vino. En la fermentación alcohólica se produce bióxido de carbono y alcohol etílico (etanol). El bióxido de carbono crea la efervescencia en la cerveza y hace que el pan “suba” dentro del horno. El etanol que se produce es el alcohol presente en la cerveza y los vinos. Se usarán varias soluciones de carbohidratos para determinar cuáles pueden metabolizarse mediante la fermentación.

Materiales

- Gradilla para tubos de ensayo
- Cuatro tubos de ensayo medianos
- Cuatro pipetas graduadas de 1 mL
- Azúcar o melaza
- Vaso (*beaker*) de 200 mL
- Papel de parafina (*Parafilm*)
- Soluciones de sacarosa, galactosa, maltosa y lactosa
- Cuatro pipetas Pasteur desechables
- Lápiz de cera
- Un sobre de levadura

Procedimiento

1. Prepare una suspensión de levadura por laboratorio mezclando:
 - Un paquete de levadura
 - 2 g de sacarosa o melaza
 - 100 mL de agua tibia
2. Rotule cuatro tubos del 1 al 4. Añada y mezcle bien lo siguiente:
 - Tubo 1: 2 mL de solución de sacarosa y 2 mL de suspensión de levadura
 - Tubo 2: 2 mL de solución de galactosa y 2 mL de suspensión de levadura
 - Tubo 3: 2 mL de solución de maltosa y 2 mL de suspensión de levadura
 - Tubo 4: 2 mL de solución de lactosa y 2 mL de suspensión de levadura
3. Para cada tubo:
 - a. Llene una pipeta graduada con la solución del tubo.



Unidad B.2: Las estructuras y los organismos Ciencias (Biología)

Actividad de aprendizaje – Laboratorio de respiración celular

- Tape el extremo con el dedo mientras sella el lado opuesto con papel de parafina
- Utilizando la pipeta Pasteur, continúe llenando la pipeta graduada con la solución hasta que se desborde.
- Invierta la pipeta, colocándola en el tubo de ensayo.

Pasos para el experimento de fermentación.

- Durante la fermentación, el CO_2 subirá y se acumulará en el extremo superior de la pipeta. Anote la producción de CO_2 en cada pipeta a intervalos de 5 minutos durante 20 minutos y anótelos en la siguiente tabla:

Tabla 1: Producción de CO_2 durante la fermentación

Tiempo (en minutos)	Tubo 1	Tubo 2	Tubo 3	Tubo 4
5				
10				
15				

- ¿Cuál fue la producción final de CO_2 (mL/20 min) para cada tubo?
- ¿Qué tipo de fermentación ocurrió?
- ¿Puede la levadura usar diferentes carbohidratos para la fermentación?
- ¿Qué sucedería si no sella con parafina el extremo superior de la pipeta?

Ejercicio 2: Respiración celular aeróbica

A. Respiración celular en plantas y animales

En el siguiente ejercicio se comparará el proceso de respiración celular en varios organismos que viven en agua dulce. El CO_2 que producen estos organismos durante la respiración celular se



Unidad B.2: Las estructuras y los organismos Ciencias (Biología)

Actividad de aprendizaje – Laboratorio de respiración celular

convierte en un ácido (ácido carbónico), cuya concentración se medirá por medio de una titulación² usando un indicador de pH (fenolftaleína). Con este indicador se observará el punto de cambio en pH, donde se obtiene el equilibrio entre pH ácido y básico. Este cambio en pH sucede al añadirle una solución básica de NaOH a la muestra ácida, y se observa por un cambio en color; de esta forma se podrá calcular la producción de CO₂ para cada organismo. Se estudiará una planta acuática para determinar si lleva a cabo respiración celular en la oscuridad y en presencia de luz.

Material es

Por mesa:

- Cinco vasos de precipitación (beakers) de 150 mL
- Cinco vasos de precipitación (beakers) de 100 mL
- Papel de aluminio
- Fenolftaleína

Por laboratorio:

- Solución de NaOH 0.25 M (para diluir 1:100)
- Bureta para titular
- Pipetas graduadas de 5 y 10 mL
- Pipeteador para pipetas pequeñas
- Peces o camarones de agua dulce
- Caracoles
- *Elodea* fresca
- Anticloro
- Lámpara

Procedimiento

1. Determine el volumen que se añadió al producirse ácido carbónico en el agua para cada organismo a utilizarse (pez o camarón, caracol, *Elodea*) y anote la información en la Tabla 2. Para determinar el volumen siga estos pasos:
 - a. Añada el organismo a un vaso (beaker) pequeño con 50 mL de agua
 - b. Haga una marca donde queda el menisco.
 - c. Remueva el organismo.
 - d. Con una pipeta llena añada agua hasta llegar a la marca.
 - e. La diferencia de lectura en la pipeta indicará el volumen del organismo.
 - f. Repita para cada organismo.
2. Rotule cinco vasos (150 mL) del 1 al 5 y añádale a cada uno:
 - 1: 100 mL de agua + 1 pez o camarón
 - 2: 25 mL de agua + un caracol grande (o dos caracoles pequeños)
 - 3: 100 mL de agua + 5 cm de *Elodea* fresca
 - 4: 100 mL de agua + 5 cm de *Elodea* fresca



**Unidad B.2: Las estructuras y los organismos
Ciencias (Biología)**

Actividad de aprendizaje – Laboratorio de respiración celular

- 5: 100 mL de agua
3. Tape la boca de los vasos con papel de aluminio, excepto el vaso 4 que se cubrirá por completo para mantener la Elodea en oscuridad.
 4. Coloque el vaso 3 cerca de una bombilla.
 5. Después de 30 minutos, remueva los organismos y devuélvalos a los recipientes correspondientes en la mesa del instructor.
 6. Transfiera 25 ml de la solución del vaso 1 a un vaso pequeño.
 7. Añada cuatro gotas de fenolftaleína y mezcle.
 8. Llene la bureta de titulación con la solución de 0.0025 M de NaOH.
 9. Mueva el vaso en círculos y añada gotas de la solución de NaOH hasta obtener un color rosado persistente.
 10. Anote en la Tabla 8.2 la cantidad de NaOH que utilizó para la titulación.
 11. Repita el proceso con los demás vasos.
 12. Calcule la producción de CO₂ para cada vaso mediante esta ecuación:

$\begin{array}{l} \text{Producción} \\ \text{de} \\ \text{CO}_2 \end{array} = \frac{[\text{ml NaOH (experimental)} - \text{ml NaOH (control*)}] \times 2.5 \text{ ml NaOH}}{\text{Volumen del organismo (ml)}}$

*Se obtiene al titular el agua del vaso 5.

13. Coloque los resultados en la Tabla 2.

Tabla 2: Respiración celular aeróbica en plantas y animales

Vaso de precipitación	Organismo	NaOH (mL)	Volumen del organismo (mL)	Cantidad de CO ₂ (mL)
1	Pez o camarón			
2	Caracol			
3	<i>Elodea</i> (en luz)			
4	<i>Elodea</i> (en oscuridad)			
5	Agua (control)			



Unidad B.2: Las estructuras y los organismos
Ciencias (Biología)
Actividad de aprendizaje – Laboratorio de respiración celular

13. ¿Qué organismo tiene el metabolismo más alto? ¿Por qué?



Unidad B.2: Las estructuras y los organismos
Ciencias (Biología)
Actividad de aprendizaje – Laboratorio de respiración celular

14. ¿Qué organismo tiene el metabolismo más bajo? ¿Por qué?
15. ¿Por qué la planta lleva a cabo fotosíntesis y también respiración celular?
16. Compare los resultados de *Elodea* en la oscuridad y en la luz. ¿Cuál tiene una mayor tasa de respiración celular? ¿Por qué?
17. Identifique lo siguiente para este experimento: hipótesis, variables dependiente e independiente, réplicas, control.

Manejo del laboratorio:

- Debe prepararse la suspensión de levaduras antes del laboratorio:
 - 1 paquete de levadura
 - 2 gramos de sacarosa o melaza
 - 100 mL de agua tibia

Ejercicio 2: Respiración

- Antes de realizar el experimento, diluya la solución de NaOH a 0.0025 M (1:100).
- Dependiendo de cuántos peces y caracoles se tengan disponibles, se dividirá el laboratorio en 2 a 4 grupos