
Enzimas: Controversia sobre la fermentación entre Pasteur y Liebig

Autor:

Data de publicació: 21-08-2024

Controversia entre Louis Pasteur y Justus von Liebig sobre la fermentación. M.C.

Pasteur, creyente, sostenía que la fermentación era causada por microorganismos vivos, creados por Dios. El agnóstico Liebig, por su parte, argumentaba que era una reacción puramente química, a la que llamó catálisis, y que los microorganismos no intervenían directamente en la fermentación, la cual podía ser aeróbica.

Finalmente, se demostró que las enzimas responsables de la fermentación son proteínas excretadas por los microorganismos fuera de sus células, no entes vivos, lo que significa que ninguno de los dos tenía la razón completa. Fue el trabajo de Eduard Büchner sobre la fermentación el que aclaró la situación. un trabajo revolucionario que ayudó a la comprensión de las enzimas, que actúan como catalizadores. En 1897, Büchner demostró que la fermentación podía ocurrir en ausencia de células vivas, utilizando extractos de levadura. Este descubrimiento mostró que las enzimas, compuestos químicos; que él llamó "zimasa", eran las responsables de la fermentación.

Este hallazgo fue crucial porque:

- Confirmó la existencia de enzimas: Mostró que las enzimas son catalizadores biológicos que pueden funcionar fuera de las células vivas.
- Cambió la perspectiva científica: La fermentación ya no se veía como un proceso exclusivamente ligado a organismos vivos, como decía Pasteur sino como una reacción química mediada por enzimas.
- Impulsó la bioquímica: Abrió el camino para el estudio detallado de las enzimas y sus funciones, estableciendo las bases de la bioquímica moderna.

El trabajo de Büchner aclaró la controversia entre Pasteur y Liebig, demostrando que ambos tenían parte de razón y que las enzimas eran el puente entre sus teorías.

Historia

La asociación de la fermentación de la levadura con la alimentación ha acompañado a la humanidad a lo largo de la historia. Alrededor del año 6000 a.C., los babilonios consiguieron fabricar cerveza. Hacia el año 4000 a.C., los egipcios aprendieron a utilizar la levadura para fabricar pan. La obtención del vino por fermentación de la uva se menciona en el Antiguo Testamento de la Biblia. Otros procedimientos artesanales conocidos desde antiguo son la preparación del vinagre, el yogur y el queso.

La fermentación fue también uno de los problemas favoritos entre los alquimistas. Ya durante los siglos XVIII y XIX, los químicos intentaron formular la fermentación alcohólica mediante reacciones químicas, siguiendo los métodos que les habían proporcionado tanto éxito en otros fenómenos naturales. Químicos franceses ilustres como Lavoisier (1743-1794), Gay-Lussac (1778-1850), Thénard (1777-1857) y Dumas (1800-1884) estudiaron la transformación de la caña de azúcar en alcohol por métodos cuantitativos. Lavoisier obtuvo una formulación sencilla del proceso que daba la impresión de que se había descubierto la naturaleza del fenómeno, en el que no había lugar para la levadura. Todos los químicos de la época daban por hecho que ésta acompañaba, y probablemente iniciaba, la fermentación. Sin embargo, aunque fuera el iniciador de la reacción, la levadura no parecía tomar parte en ella. Berzelius (1779-1848) denominó catálisis a este extraño fenómeno y definió el término fermento como un ejemplo de actividad catalítica. Poco después, Schwann (1810-1882) descubrió que la pepsina era la sustancia responsable de la digestión albuminosa en el estómago. Creía que esto era lo que Berzelius definía como catalizadores, o la fuerza de las reacciones químicas de los minerales, las sustancias orgánicas y la materia viva. Liebig (1803-1873) se opuso al uso de los términos catalizador y pepsina, ya que sólo eran una idea vaga.

Cagniard de La Tour (1777-1859), Schwann y Kützing (1807-1893) identificaron de forma independiente, en 1837, la levadura como un organismo vivo que se nutre cuando el azúcar fermenta. En 1839, a petición de la Academia de Ciencias de Francia, Turpin (1772-1853) confirmó en París las observaciones microscópicas de Cagniard de La Tour. Berzelius, Liebig y Wöhler (1803-1882) rechazaron esta idea de naturaleza vitalista. Ese mismo año, Liebig y Wöhler publicaron un artículo sobre el papel de las levaduras en la fermentación alcohólica ridiculizando grotescamente la naturaleza orgánica de la levadura. En 1858, Traube (1826-1894) afirmó que todas las fermentaciones producidas por organismos vivos se deben a reacciones químicas en vez de a una fuerza vital.

Había una razón profunda para que los científicos de la época se mostrasen recelosos con la interpretación vitalista de la fermentación alcohólica. Puesto que esta podía ser descrita mediante una reacción química simple, no tenía sentido explicarla en función de un organismo vivo, en vez de referirse a interacciones químicas y físicas. Pero lo cierto es que, a mediados del siglo XIX, no estaba claro lo que era una fermentación. Había tres teorías principales: química, vitalista y química modificada.

La teoría química era la del químico alemán Liebig. Siguiendo las ideas de Lavoisier, consideraba que la fermentación era una descomposición química causada por la putrefacción de una sustancia animal o vegetal, pero que no requería de la intervención de microorganismos; esto es, no era un proceso biológico. La interpretación que Liebig daba del proceso era que las vibraciones procedentes de la descomposición de la materia orgánica se extendían al azúcar. En el caso de la fermentación alcohólica, Liebig creía que la levadura utilizada era una materia vegetal putrefacta, de tipo albuminoso, que descomponía el azúcar al desencadenar una especie de putrefacción. En esta descomposición se producía alcohol, dióxido de carbono y otros subproductos. En el proceso, se depositaba un producto que Liebig definía como un fermento insoluble. Este fermento, rico en nitrógeno, podía provocar la fermentación en otra disolución de azúcar.

El cambio lo facilitaba el fermento o levadura con las características de un compuesto nitrogenado en estado de putrefacción. El fermento es susceptible al cambio, se somete a descomposición por la acción del aire (que proporciona el oxígeno), agua (que da la humedad) y una temperatura favorable. Antes de ponerse en contacto con el oxígeno, los componentes están juntos sin interactuar. Mediante el oxígeno, el estado de reposo, o equilibrio, de las fuerzas atractivas que mantienen juntos los elementos del fermento es perturbado. Como consecuencia, se forma una separación o una nueva disposición de sus elementos. La fermentación se produce por transferencia de inestabilidad molecular del fermento (átomos en movimiento) a las moléculas de azúcar, y continúa mientras siga su descomposición. De este modo, la teoría de la fermentación de Liebig se corresponde con la visión mecanicista del mundo, en el sentido filosófico que se le daba al término en el siglo XVII a partir de las contribuciones de Newton.

Liebig sostenía también que las sustancias orgánicas en putrefacción (orina, sangre y demás) tenían propiedades fermentativas análogas. De este modo, diferentes fenómenos se explicaban de la misma forma, tanto las fermentaciones clásicas (vino, cerveza y demás) como las putrefacciones y transformaciones que experimentaban los alimentos en la digestión.

Las primeras notas sobre la fermentación del químico francés Pasteur (1822-1895) se encuentran en sus cuadernos de laboratorio en septiembre de 1855. Pero es en 1857 cuando hizo público el desarrollo de su teoría acerca de la fermentación en su *Mémoire sur la fermentation appelée lactique* (*Mémoire en adelante*), así como en otros trabajos posteriores. En esta publicación recogía las ideas de Cagniard de La Tour y Schwann, hacía consideraciones sobre la disimetría molecular de las sustancias orgánicas, refiriéndose a las formas levógira (sinistra) y dextrógira (diestra) del ácido tartárico, y enfatizaba el carácter especulativo de su teoría. *Mémoire* es considerado por los historiadores de la ciencia como uno de los escritos más importantes de Pasteur, aunque el libro no ofrecía evidencias empíricas rigurosas sobre la participación de organismos vivos en la fermentación, algo que proporcionó después en *Nouvelles recherches sur la fermentation alcoolique* (1858) y, sobre todo, en su *Mémoire sur la fermentation alcoolique*, publicada en 1860. Respecto a la relevancia de *Mémoire*, Geison (1974) ha escrito:

“la noción de competencia entre los diversos microorganismos para conseguir el alimento en el medio; la suposición de que el aire puede ser la fuente de los microorganismos que aparecen en la fermentación; y la técnica para cultivar, directa y activamente, con el fin de aislar y purificar el microorganismo supuestamente responsable de una fermentación. nociones que pronto completaron la concepción básica de Pasteur, fueron las técnicas de cultivo de microorganismos (que producen la fermentación) en un medio libre de nitrógeno orgánico, y su noción de fermentación como ‘la vida sin aire’” (Geison, 1974, citado por Latour, 1991: 131-132).

En esta misma memoria, Pasteur escribió lo siguiente sobre la interpretación de la fermentación según Liebig:

“A los ojos de [Liebig] un fermento es una sustancia excesivamente alterable que se descompone por sí misma y de ese modo estimula la fermentación como consecuencia de su alteración, perturbando mediante la comunicación y desmontando el grupo molecular de la materia fermentable. Según Liebig, esta es la causa principal de todas las

fermentaciones y el origen de la mayoría de las enfermedades contagiosas. Berzelius cree que el acto químico de la fermentación debe hacer referencia a la acción de contacto” (Latour, 1991: 133).

La elección de la fermentación láctica, responsable de la acidez de la leche, en vez de la fermentación alcohólica en la que había trabajado intensamente durante 1855 y 1856, obedeció a motivos estratégicos. Esta fermentación, que era químicamente la más simple posible, consiste en el desdoblamiento del azúcar en dos mitades que son las moléculas de ácido láctico. Si conseguía demostrar que el proceso necesitaba de un organismo vivo (la levadura), podía servir de modelo general para otras fermentaciones.

En experimentos posteriores sobre la fermentación alcohólica, Pasteur usó dos matraces, uno de ellos con cuello de cisne. Vertió caldo en ambos matraces y los calentó por la parte inferior. Después de que el líquido hirviera, lo dejó enfriar. Entonces observó que el caldo del matraz con cuello de cisne quedaba claro, salvo si se lo sacudía. Interpretó este hecho diciendo que el cuello del matraz podía detener el paso de la mayoría de las partículas y, por eso, el líquido se mantenía inalterado. Por el contrario, el líquido del otro matraz se degeneraba. Concluyó que esta fermentación necesitaba de la levadura, que estaba viva, pero no requería oxígeno; es decir, se trataba de una fermentación anaeróbica, que Pasteur describió como la “vida sin aire”, característica de algunos microorganismos (tales como ciertas bacterias y levaduras). Cuando se permite que la levadura crezca, la sustancia se pudre con el tiempo. La interpretación de Pasteur de estas observaciones fue que los organismos vivos son los responsables del proceso de fermentación. Por tanto, es un proceso biológico, no un proceso químico de oxidación-reducción. Así pues, puede decirse que su teoría de la fermentación cae bajo el vitalismo.

En suma, para Pasteur la causa de la fermentación era la actividad biológica de determinadas levaduras (microorganismos). Al contrario que Liebig, formuló la hipótesis de que la levadura era un organismo vivo (posición vitalista), y que su acción sobre el azúcar no tenía que ver con procesos de desorganización o putrefacción. Lo deja bien claro al final de su Mémoire de 1857:

“[...] cualquiera que juzgue imparcialmente los resultados de este trabajo, y lo que publicaré en breve, reconocerá conmigo que la fermentación parece ser correlativa a la vida y a la organización de glóbulos, y no a su muerte y putrefacción; en lugar de un fenómeno debido al contacto, en el que la transformación del azúcar se llevaría a cabo en presencia del fermento [...] sin tomar cualquier cosa de él” (Latour, 1991: 133).

¿Era válido este concepto de fermentación para todos los fenómenos que Liebig intentó explicar con su teoría? Pasteur lo resolvió a su modo, considerando que las fermentaciones verdaderas, según su teoría, se debían a la acción de microorganismos.

La tercera teoría era la del químico francés Berthelot (1827-1907). Al igual que Pasteur, admitía que podía haber una relación entre la fermentación y la actividad de una levadura, pero a diferencia de éste no creía que con ello se justificara una que actuaba sobre el azúcar y la transformaba. Esta sustancia sería comparable a la interpretación vitalista. Según Berthelot, la levadura segregaba una sustancia química que hoy llamamos enzimas. Como Berthelot recordaba, la existencia de estos fermentos solubles se había mostrado experimentalmente, e incluso podían actuar sin la presencia del organismo del que procedía. En su obra *Química orgánica basada en la síntesis* (1860), afirmó que “el fermento no es el organismo vivo, sino la sustancia que este produce”. Cabe destacar que esta interpretación, junto con la noción de enzima como biocatalizador, es la que se considera correcta hoy. La transformación del azúcar está provocada por enzimas en las fermentaciones alcohólica y láctica.

La principal dificultad en la época era debida al significado tan impreciso que tenía el término “fermentación”, tanto en el lenguaje común como en el de los científicos. El propio Berthelot mencionaba el ácido sulfúrico como un fermento. Sin embargo, se había conseguido establecer cierto orden que diferenciaba entre fermentos insolubles (microorganismos) y fermentos solubles, que incluían muchas sustancias que hoy se clasifican como enzimas.

Los argumentos de Pasteur para legitimar su teoría no fueron siempre precisos. Para ello, utilizó una estrategia semántica, que consistía en convertir en definición su teoría. Así, estableció que las fermentaciones verdaderas eran las de carácter biológico, excluyendo a las fermentaciones químicas, que para él no eran auténticas. En efecto, Pasteur usó muchas veces la expresión “fermentaciones propiamente dichas”, como escribiera en 1860:

“[...] en consecuencia, la oposición que el Sr. Berthelot cree encontrar entre mis enunciados y los hechos reales, responde solamente a la extensión que le da a la palabra fermento, mientras que yo la he aplicado únicamente a las sustancias que producen las fermentaciones propiamente dichas” (Thuillier, 1990: 425).

Pasteur se aseguraba siempre tener la razón con este tipo de razonamiento circular. En efecto, era muy hábil en el uso de la retórica y las estrategias semánticas con el fin de persuadir a los demás, unas habilidades que desplegó con éxito en esta controversia y en la de la generación espontánea frente a Pouchet (Farley y Geison, 1994; Geison, 1995).

Aunque es cierto que es necesaria la presencia de células vivas para que se produzca la fermentación alcohólica o la fermentación láctica, la teoría de Pasteur estaba muy lejos de la explicación que se admite hoy. Sin embargo, su interpretación del fenómeno abrió el camino para hacer otras investigaciones muy fructíferas y, sobre todo, tuvo éxito en numerosos aspectos prácticos relativos a la mejora de las técnicas de fermentación; de ahí el éxito que tuvo en su época. Por el contrario, Liebig tenía razón en insistir en el carácter químico de las fermentaciones; pero su concepción de los fermentos como sustancias en estado de descomposición daba una idea muy inexacta del fenómeno, que además resultó poco fecunda.

En un sentido estricto, Pasteur no definía la fermentación. Para ello, habría tenido que disponer de una teoría estructural que diera cuenta del mecanismo de la fermentación con precisión. Esto era algo que nadie conocía entonces. Se limitaba a señalar, de forma muy general, las causas de la fermentación y a dar una lista de reacciones para ilustrar este proceso. Del mismo modo que Liebig, Pasteur seleccionó algunos casos. Aunque su lista de ejemplos era incierta, discutible y hasta arbitraria, cumplía un doble objetivo. Por un lado, intentaba ordenar un conjunto de fenómenos mal conocidos y heterogéneos, y, por otro, establecer algunos esquemas generales que permitieran a la vez comprobar experimentalmente y justificar tal clasificación. Esta forma de proceder era un buen punto de partida para generar investigaciones útiles, por lo que el programa de investigación de Pasteur resultaba razonable, aunque pudiera parecer poco racional. Su lista de casos estaba más próxima a las fermentaciones clásicas que la de los partidarios de la teoría química de Liebig:

“Llamo fermentaciones propiamente dichas [...] a las fermentaciones que he estudiado y que comprenden todas las fermentaciones mejor caracterizadas, aquellas que son tan viejas como el mundo, las que intervienen en la formación del pan, el vino, la cerveza, la leche agria, la transformación de la orina en amoníaco, etc., aquellas cuyos fermentos son, según mis investigaciones, seres vivos que nacen y se multiplican durante el acto de la fermentación” (Thuillier, 1990: 431).

Hablando de sus trabajos sobre la fermentación, en su *Mémoire* Pasteur reconoce que partió de ideas preconcebidas, que fue más allá de los hechos y que, en rigor, sus ideas no podían demostrarse de manera irrefutable; pero que, a pesar de todo ello, procedía de manera lógica.

Por muy temerarias que fueran las generalizaciones de Pasteur, le permitían avanzar. Es lo que, en términos del filósofo Lakatos, se conoce como un programa de investigación progresivo, que se mostró fecundo durante un tiempo. Y todo ello, a pesar de que en sus textos más científicos recurriera con frecuencia a hechos discutibles, manifestaciones dogmáticas, astucias retóricas, alusiones frecuentes a las necesidades industriales y hasta patriotismo nacionalista, como en el siguiente escrito:

“En el momento en el que yo emprendo aquí, contra el Sr. Liebig, la defensa de una opinión que, después de todo, pertenece a la ciencia francesa, ¿por qué el Sr. Fremy se proclama, de forma al menos inoportuna, campeón de la ciencia alemana, con la que estoy anheloso de volver a emprender un combate del que me he apartado a pesar mío?” (Thuillier, 1990: 432).

Estos aspectos han dado pie a que, desde el último cuarto del siglo XX, se haya privilegiado la perspectiva sociológica en muchas publicaciones sobre Pasteur. En ellas se enfatizan los aspectos sociales, económicos, políticos, ideológicos y religiosos, pasando a segundo plano los análisis epistemológicos. Por ejemplo, se resalta la influencia que tuvo el hecho de que Pasteur fuera un fiel seguidor del emperador Luis Napoleón (Napoleón III) y que éste apoyara sus investigaciones más prácticas, ayudándole a conseguir recursos económicos para continuarlas. Asimismo, respecto a lo económico, se destaca que Pasteur utilizara un nuevo método para eliminar los microorganismos que pueden degradar el vino, el cual consistía en encerrar el líquido en cubas bien selladas y elevar su temperatura hasta 45°C-50°C durante un tiempo breve, protegiéndolo del oxígeno. A pesar del rechazo inicial de la industria vinatera a calentar el vino, experimentos controlados con lotes de vino calentado y sin calentar demostraron la efectividad del procedimiento. De este modo nació la pasteurización. Pasteur y su colega Claude Bernard (1813-1878) realizaron la primera pasteurización el 20 de abril de 1864. La fermentación puede producir nutrientes o eliminar anti-nutrientes. Los alimentos pueden preservarse por fermentación, ya que ésta usa energía de los alimentos y puede crear condiciones inadecuadas para los organismos indeseables; por ejemplo, avinagrando el ácido producido por la bacteria dominante se inhibe el crecimiento de los demás microorganismos.

Aunque los aspectos anteriores permiten conocer mejor algunas realidades históricas contextuales muy interesantes, hay que intentar mantener el equilibrio necesario. No hay que rechazar el punto de vista sociológico en los estudios sobre las investigaciones de Pasteur, pero tampoco el epistemológico, pues ambos son las dos caras de la misma moneda.

La controversia entre Pasteur y Liebig sobre la naturaleza de la fermentación alcohólica fue aclarada años después por el químico alemán Eduard Büchner (1860-1917). Influido por su hermano, el bacteriólogo Hans Büchner (1850-1902), se interesó por el proceso de la fermentación alcohólica, en el que la levadura descompone el azúcar en alcohol y dióxido de carbono. Publicó su primer artículo en 1885, mostrando que la fermentación puede ocurrir en presencia de oxígeno (fermentación aeróbica), una conclusión contraria a la teoría de Pasteur.

Hacia 1893, Eduard Büchner estaba dedicado por completo a la búsqueda del agente activo de la fermentación. Obtuvo muestras puras del fluido interior de las células de levadura mediante su pulverización dentro de una mezcla de arena y tierra de diatomeas, para pasar luego la mezcla a través de un filtro de tela. Este procedimiento evitaba el uso de disolventes y altas temperaturas, un método drástico y destructivo que había frustrado investigaciones anteriores. Suponía que el líquido recogido sería incapaz de producir la fermentación porque las células de levadura estaban muertas. Sin embargo, cuando intentaba mantener el líquido en el azúcar concentrado, observó la liberación de dióxido de carbono; una señal de que se estaba produciendo la fermentación. Büchner estableció entonces la hipótesis de que la fermentación era causada por una enzima a la que llamó "zimasa". En 1897 publicó que la fermentación era el resultado de procesos químicos, tanto en el interior como en el exterior de las células.

La disputa entre Liebig y Pasteur ralentizó, en cierto modo, el avance de la ciencia en el área de la fermentación y las enzimas, pues ninguno de los dos tenía razón del todo. No obstante, las ideas en conflicto también aceleraron la investigación en el mismo campo por las contribuciones de otros científicos. Gracias al trabajo de Büchner sobre la fermentación, se allanó el camino a los estudios de enzimas y la fermentación, lo que fue un momento clave de la historia de la química moderna.