

Mito o realidad en la atribución de actividad antimicrobiana a la miel. Análisis y observación en un laboratorio de enseñanza secundaria

Myth or reality in the attribution of antimicrobial activity to honey. Analysis and observation in a Compulsory Education Secondary Laboratory

Raquel Boronat Gil¹ & José Pedro López Pérez²

1. IES Antonio Menárguez Costa. 30710. Los Alcázares. Murcia.

raquel.boronat@murciaeduca.es

2. IES Ricardo Ortega. 30320. Fuente Álamo. Murcia.

josepedro.lopez@murciaeduca.es

Recibido: 5 de diciembre de 2019. Aceptado: 2 de marzo de 2020.

Publicado en formato electrónico: 7 de junio de 2020.

PALABRAS CLAVE: Actividad antimicrobiana, Educación Secundaria Obligatoria, Microbiología, Miel, Nutrición.

KEY WORDS: Antimicrobial activity, Compulsory Education Secondary, Microbiology, Honey, nutrition.

RESUMEN

La miel ha sido utilizada desde tiempo inmemorial, tanto desde el punto de vista culinario, como por sus propiedades terapéuticas. En esta comunicación se ensaya en un laboratorio de educación secundaria (con las carencias que esto puede conllevar en la investigación microbiológica), la propiedad antimicrobiana de este alimento frente a bacterias aisladas de la superficie de la piel de los alumnos. El trabajo describe una metodología del ensayo de la actividad "antibiótica" natural del alimento, con resultados muy positivos en la observación y análisis por parte del alumno, la evaluación por el docente, así como por ser reproducible por el resto de la comunidad científico-educativa. Los resultados mostraron que si bien no fue posible evidenciar la actividad antimicrobiana de la miel sobre las bacterias ensayadas, se encontró que esta impedía el crecimiento bacteriano en medios de cultivo que la contenían en determinados porcentajes. La práctica permitió aumentar la consideración y la motivación del alumnado por la materia de ciencias, contrastar el trabajo cooperativo necesario para su ejecución y la necesidad de tutorización constante por parte del docente.

ABSTRACT

Honey has been used since time immemorial, both for the culinary point of view and for its therapeutic properties. In this communication, the antimicrobial property of this food against bacteria isolated from the surface of the students skin is tested in a Compulsory Education Secondary laboratory (with the deficiencies that this may lead to microbiological research). The paper describes a methodology of testing the natural "antibiotic" activity of the food, with very positive results in the observation and analysis by the student and the evaluation by the teacher. This experiment can be reproduced by the rest of the scientific-educational community. The results showed that although it was not possible to demonstrate the activity of honey on the bacteria tested, it was found that it prevented bacterial growth in culture media containing it by certain percentages. The practice increased the consideration and motivation of students towards the sciences subject, contrasting the cooperative work necessary for its execution and the need constant tutoring by the teacher.

I. INTRODUCCIÓN

Nutrición y alimentación son dos conceptos muy interesantes para analizar en la etapa de la enseñanza secundaria. En palabras del profesor GRANDE COVIÁN (2010), se entiende por nutrición el conjunto de procesos mediante los cuales el organismo utiliza, transforma e incorpora en sus estructuras biológicas una serie de sustancias,

los nutrientes, que forman parte de los alimentos; eliminando los productos de su transformación. Asimismo, define también la alimentación como la parte externa del proceso nutritivo, es decir, el acto mediante el cual se introducen en nuestro organismo los distintos alimentos que nos servirán de sustento. Con estas dos definiciones, queda clara la conveniencia de ser abordadas en la etapa de Enseñanza Secundaria Obligatoria (ESO), su importancia y la valoración por parte de los discentes, quedando recogidas ambas en los currículos educativos (BOE, 2015; BORM, 2015). Las bondades, las propiedades y el aporte nutricional y calórico de los alimentos son concepciones y procedimientos de estudio que el docente puede trabajar con el alumnado, con el objetivo de profundizar en la didáctica de la nutrición y salud. Más allá de las valoraciones sobre determinados alimentos y sus bondades para la salud, esta comunicación quiere enfatizar la parte de trabajo práctico que se puede realizar en el laboratorio frente a la teoría, que es la que habitualmente se explica en las aulas, intentando comprobar experimentalmente cómo cierto grupo –o algún ejemplo del mismo, caso de la miel– llevan a cabo su acción.

La miel es una sustancia viscosa, generalmente amarillenta y rica en azúcares, producida por las abejas modificando en su estómago el néctar que liban de las flores y regurgitándolo por la boca para llenar con ella las celdillas de los panales y servir de alimento a las crías (DEL BAÑO, 2000). Utilizada como alimento desde la antigüedad, llega hasta nuestros días como un alimento venerado, al que se le atribuyen multitud de propiedades, entre las que cabe destacar la antioxidante, la antimicrobiana, la antiséptica, la antitumoral y la antiinflamatoria (BOGDANOV *et al.*, 2008; ULLOA *et al.*, 2010; ODUWOLE *et al.*, 2018). Si bien sería muy interesante llevar a cabo un análisis de todas estas propiedades, la viabilidad de llevarlo a cabo en un laboratorio de ESO parece imposible debido a la carencia de los medios necesarios para ello. No obstante, con creatividad e ingenio, se ha llevado a cabo este estudio parcial que refleja la propiedad antimicrobiana de la miel, en el que también se discute una selecta bibliografía y se hacen aportaciones con material gráfico de este proceso.

1.1. Origen de la experiencia

Los trabajos prácticos constituyen una de las actividades más importantes en la enseñanza de las ciencias, ya que (1) motivan al alumnado, (2) permiten acercar un conocimiento vivido por el discente y dar explicación con la práctica a la comprensión de ideas y concepciones, (3) proporcionan experiencia en el manejo de instrumental y la técnica de laboratorio que permite acercar a los procedimientos propios de la indagación científica y (4) constituyen una oportunidad única de trabajo en equipo entre compañeros de clase. Su bondad es considerable en el aprendizaje científico, permiten una multiplicidad de objetivos, tales como la familiarización, observación e interpretación de los fenómenos que son objeto de estudio en las aulas de ciencias, el contraste de hipótesis, el aprendizaje, el manejo de material de laboratorio... y, en definitiva, la comprensión procedimental de la propia ciencia y de la indagación científica (CAAMAÑO, 2010).

Las ciencias en la etapa de la enseñanza media y el bachillerato requieren de todos estos estímulos para llamar la atención del alumnado. Están necesitadas por ello de nuevas contribuciones y experiencias educativas por parte de docentes que trabajen diariamente en el aula, buscando los intereses entre los discentes y su atención dispersa. En un cuestionario anual que el equipo de profesionales docentes del Centro de Recursos y Profesorado de la Región de Murcia elaboró para el próximo curso 2019-2020, con una muestra de profesores que superó las expectativas, con 8921 participantes, se llegó a la conclusión de que la línea prioritaria de necesidad formativa entre los mismos era la actualización e innovación científica y didáctica, con 4832 peticiones (CPR, 2019).

Esta comunicación no pretende innovar en aspectos teóricos de didáctica de las ciencias sino aportar nuevas experiencias prácticas, cotidianas para el alumnado, confeccionadas con materiales sencillos y con una base metodológica rigurosa cuya actividad consiste en una réplica de una posible actividad de investigación, bien conocida por el docente que la dirige y que apoya el trabajo de sus alumnos, aportando realidad en el lugar donde quiere llevarse a cabo, el aula laboratorio de un centro de enseñanza media.

1.2. Objetivos

Siguiendo esta premisa final indicada en la introducción, la actividad práctica que se presenta en esta comunicación marca unos objetivos muy precisos de trabajo en el aula: (1) Dar a conocer los aspectos básicos de la microbiología y el cultivo de microorganismos sobre placas de Petri que portan medios sólidos y (2) comprobar el efecto antimicrobiano de la miel sobre dos cepas microbianas. (3) Para conseguir estos dos primeros objetivos, el alumno deberá ser capaz de manejar el material básico de laboratorio, (4) discutir una bioquímica sencilla derivada del conjunto de reacciones que pueden presentarse una vez analizada la experiencia, (5) confeccionar un cuaderno de trabajo donde se refleje todo el proceso de investigación realizada en el aula-laboratorio, así como (6) elaborar unas conclusiones parciales que intenten dilucidar el problema objeto de estudio.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Aislamiento de bacterias

Con el objetivo de obtener una microbiota de trabajo más próxima al alumnado, se procedió con una metodología de aislamiento de microorganismos de la superficie de las manos, tal y como describen LÓPEZ (2009; 2011) y LÓPEZ & BORONAT (2018; 2019). Antes de proceder, será necesario la limpieza escrupulosa del área de trabajo y de la manos de los estudiantes responsables del proceso. En un matraz Erlenmeyer de 250 ml se vertieron 100 ml de agua del grifo, ¼ de cubito de caldo de carne concentrado para suministrar vitaminas y oligonutrientes, 1 g de glucosa anhidra (en su defecto azúcar de mesa) como fuente de carbono, 0.2 g de cloruro de sodio (NaCl) como sal reguladora del equilibrio iónico de la solución final y 1.2 gramos de agar-agar como sustancia para solidificar el medio. Tras llevar a ebullición durante 2 minutos, manteniendo las medidas oportunas para prevenir lesiones entre el alumnado, se vertieron unos 25 ml del medio aún caliente en placas de Petri estériles de 90 mm de diámetro.

Tras dejar solidificar durante 24 horas, los alumnos marcaron los dedos sobre la superficie del medio solidificado. La incubación de las placas de Petri con el medio inoculado se llevó a cabo a temperatura ambiente, durante un tiempo de cinco a diez días (si no se dispone de incubadora), protegidas dentro de una bolsa de plástico resellable para evitar la contaminación bacteriana o fúngica exógena. Como control de la experiencia una placa con medio pero sin inóculo, se incubó junto al resto. Tras el crecimiento de las colonias microbianas, con ayuda de un asa de Kolle (si bien valdría igualmente, si no se dispone de la misma, un hisopo o bastoncillo de los que se utilizan en la higiene diaria) se tomó una colonia y se extendió sobre una placa de Petri provista de medio virgen para obtener una gran masa de microorganismos, con la finalidad de obtener un monocultivo. En nuestro caso se aislaron dos colonias representativas y fácilmente distinguibles por su color y morfología al estereomicroscopio y microscopio óptico: amarilla (sarcina lútea, *Micrococcus luteus*) y rosada (con posibilidad de poder ser atribuida a *Roseomonas* sp.). Estas últimas placas de Petri se iban resembrando para tener una población abundante y reciente de bacterias en fase exponencial de crecimiento, muy útil para los ensayos de antibiosis y comprobación de actividad antimicrobiana.

2.2. Observación de la actividad antimicrobiana de la miel

Para la observación y medida de la actividad antimicrobiana de la miel se procedió con dos metodologías de trabajo: (1) Difusión de los compuestos presentes en la miel sobre un césped microbiano en crecimiento sobre un medio de cultivo en una placa de Petri y (2) elaboración de medio de cultivo complejo donde la miel era un ingrediente esencial y siembra en superficie de microorganismos.

2.2.1. Difusión de compuestos sobre cultivos microbianos

Placas de Petri provistas de medio de cultivo sólido, tal y como se especifica en el apartado 2.1. de Material y Métodos (Aislamiento de bacterias) se frotaron con un hisopo que contenía una colonia microbiana procedente de un cultivo puro de una de las cepas microbianas. A continuación, en tres zonas de la superficie de la placa, se

realizaron tres oquedades en el agar de cultivo con una aguja enmangada esterilizada a la llama, y disponiendo una gota de miel en dos de los agujeros (Figura 1C) con ayuda de una pipeta Pasteur de vidrio (sellada en uno de los extremos y esterilizada a la llama de un mechero Bunsen) y una gota de agua del grifo tinalizada en el restante (Figura 1D). La procedencia de la miel era: (a) comercial de un supermercado y (b) directamente adquirida de un apicultor local. Las placas de incubaron a temperatura ambiente durante cinco días, dentro de una bolsa de plástico resellable para evitar contaminación exógena.

2.2.2. Desarrollo de bacterias sobre un medio de cultivo elaborado con miel

Para esta experiencia se requirieron seis matraces Erlenmeyer de 250 ml a los que se les añadieron los siguientes ingredientes para elaboración del caldo de cultivo y su posterior solidificación (Tabla 1).

Tabla 1. Composición química del medio complejo elaborado con miel con el objetivo de comprobar la actividad antimicrobiana.

Matraz Erlenmeyer	Materiales comunes	Agua (ml)	Miel* (ml)
1		100	-
2	¼ de cubito de caldo de carne procedente de concentrado.	90	10
3	1 g de glucosa anhidra	80	20
4	0.2 g de cloruro de sodio	70	30
5	1.2 g de agar	60	40
6		50	50

(*) Miel de romero proporcionada por un apicultor local.

Una vez mezclados los diferentes ingredientes en los matraces Erlenmeyer, se llevaron a ebullición durante 2 minutos, manteniendo las medidas oportunas para prevenir lesiones entre el alumnado, vertiéndose unos 25 ml del medio aún caliente en placas de Petri estériles de 90 mm de diámetro (Figura 2D). Tras dejar solidificar, los alumnos frotaron sobre la superficie y con la ayuda de un hisopo estéril (de los que se utilizan en la limpieza diaria) la superficie de las placas elaboradas. Las placas fueron guardadas en el interior de una bolsa de plástico resellable e incubadas a temperatura ambiente durante 5 días.

2.3. Metodología en el aula-laboratorio y características del alumnado

Se apostó por una metodología de trabajo en el aula que promoviera un entorno activo y participativo entre el alumnado. La actividad planteada en esta comunicación se llevó a cabo en dos clases independientes: 4º de ESO (opción de curso académico con iniciación al bachillerato) del IES "Antonio Menárguez Costa" de Los Alcázares (Murcia) y de 1º de Bachillerato (modalidad de ciencias) que cursaban en el IES "Ricardo Ortega" de Fuente Álamo (Murcia), constituidas por 18 y 20 alumnos, respectivamente. El alumnado se repartía en las mesas de trabajo del aula laboratorio en grupos de cuatro.

La experiencia de laboratorio presentada en esta comunicación requirió tres sesiones de trabajo, si bien debe de tenerse presente que partió de un trabajo inicial de varios meses en metodologías activas de trabajo en el aula laboratorio y, en particular, en la materia de microbiología, destacando como manual de prácticas las aportaciones de LÓPEZ & BORONAT (2018).

En una primera sesión, se pidió al alumnado la búsqueda de información en Internet sobre las propiedades antimicrobianas de la miel. Esta fase de percepción e identificación del problema fue muy útil para conceptualizar el problema y emitir las posibles hipótesis de trabajo (la miel tiene acción –o no– antimicrobiana sobre algunas cepas de elección). Es importante puntualizar que, previamente al inicio de la práctica, se disponía de las cepas de trabajo y aisladas de la superficie de las manos de los discentes del grupo, para comprobar la actividad de este alimento. Además, se profundizó en lo

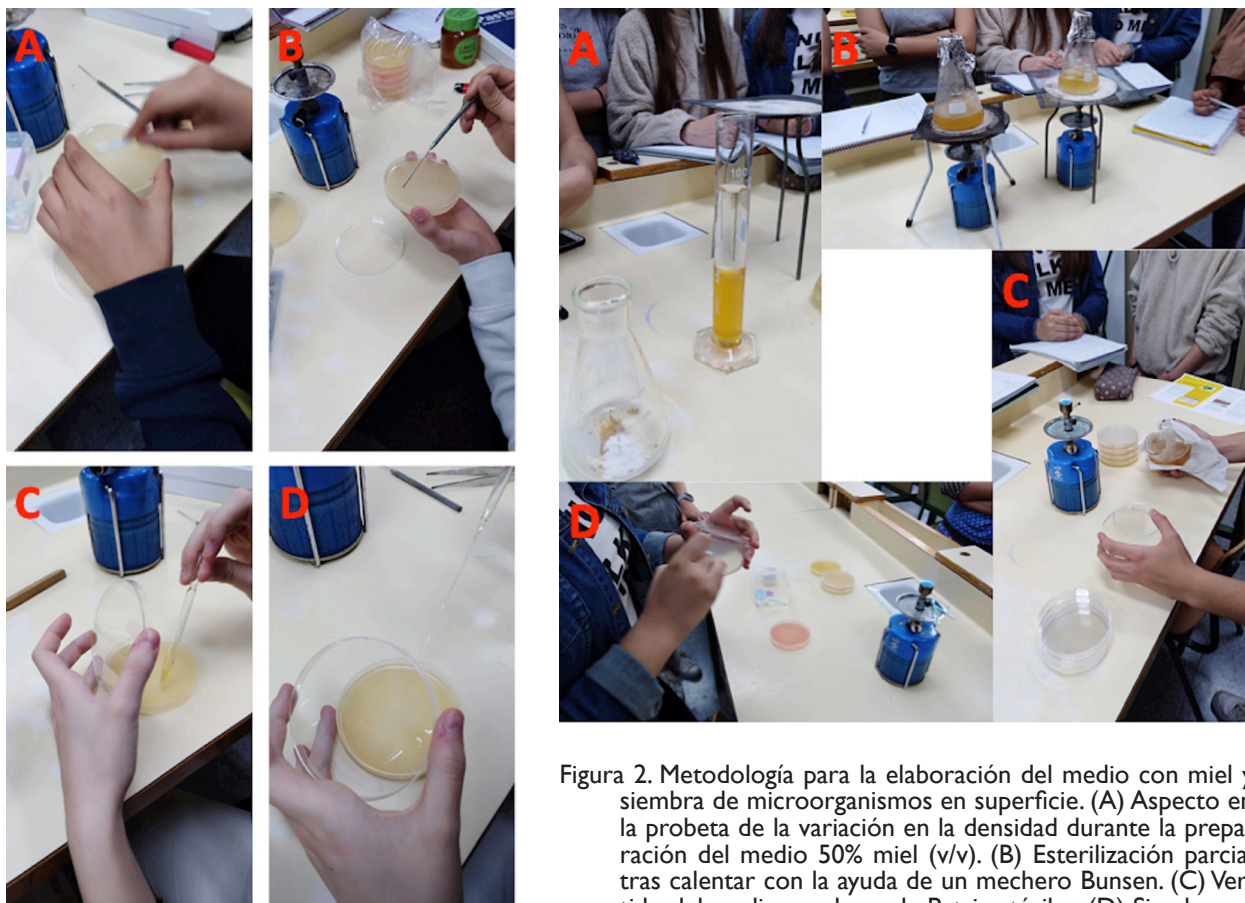


Figura 1. Metodología de trabajo diseñada para esta experiencia. (A) Siembra de la colonia microbiana sobre el medio de cultivo solidificado en el interior de una placa de Petri. (B) Elaboración de oquedades en el agar para el depósito posterior de la miel. (C) Depósito de miel sobre el medio de cultivo, dentro del agujero elaborado en el medio. (D) Adición de agua del grifo tinalizada como control de la experiencia. Fotos: J.P. López & R. Boronat.

Figura 2. Metodología para la elaboración del medio con miel y siembra de microorganismos en superficie. (A) Aspecto en la probeta de la variación en la densidad durante la preparación del medio 50% miel (v/v). (B) Esterilización parcial tras calentar con la ayuda de un mechero Bunsen. (C) Verterido del medio en placas de Petri estériles. (D) Siembra en superficie de las colonias de bacterias seleccionadas. Fotos: J.P. López & R. Boronat.

que CAAMAÑO (2010) y DÍAZ & JIMÉNEZ (1999) argumentan como fase de planificación, donde el estudiante fija las variables independientes (la que se ha de variar en el proceso de experimentación), caso del tipo de miel utilizada, la cepa ensayada o la constitución variable del medio de cultivo a partir de miel, o las dependientes, caso de la invariante del medio de cultivo ensayado para el crecimiento y observación de bacterias.

En una segunda sesión, se llevó a cabo la experiencia en el aula laboratorio, repartiéndose el alumnado en grupos de 5 integrantes (ya que la disponibilidad de material es limitada). Se trabajó con los discentes un nivel I de indagación de trabajo práctico, averiguando el alumno el resultado de forma autónoma (HERRON, 1971). La toma de instrumentos de medida adecuados (balanza, probetas, matraces Erlenmeyer, pipetas Pasteur...), el montaje de la experiencia y los cálculos de las cantidades necesarias en las pesadas o volúmenes supusieron el principal objetivo de atención del alumnado. La siembra de microorganismos se llevó a cabo en los primeros minutos de la siguiente sesión teórica, dejándose entonces a incubar en el laboratorio.

Finalmente, en una tercera sesión, se interpretaron los resultados, comparándose los obtenidos con los de los otros grupos. El trabajo de laboratorio siempre requiere la elaboración de un informe de la práctica, especificándose en el mismo apartados concretos que cualquier proyecto requiere: introducción, material y metodología,

resultados y discusión de los mismos, así como una bibliografía (o webgrafía) que documente la experiencia realizada.

El análisis del informe de trabajo elaborado por los estudiantes, los comentarios ofrecidos en la sesión de ideas y aspectos teóricos de la experiencia, y el procedimiento desarrollado en el laboratorio fueron valiosos instrumentos de evaluación del grupo de alumnos motivados por las ciencias. Los criterios de evaluación y estándares de aprendizaje que se pretendían conseguir con esta actividad práctica de trabajo en el laboratorio se especifican en la Tabla 2.

Tabla 2. Registro de criterios de evaluación y estándares de aprendizaje empleados en el proceso de evaluación de esta actividad.

Criterio de evaluación	Estándar de aprendizaje	
1.- Utilizar adecuadamente el vocabulario científico en un contexto preciso y adecuado a su nivel.	1.1.- Identifica los términos más frecuentes del vocabulario científico, expresándose de forma correcta tanto oralmente como por escrito.	Bloque 1. Habilidades, destrezas y estrategias. Metodología científica.
2.- Buscar, seleccionar e interpretar la información de carácter científico y utilizar dicha información para formarse una opinión propia, expresarse con precisión y argumentar sobre problemas relacionados con el medio natural.	2.1.- Busca, selecciona e interpreta la información de carácter científico a partir de la utilización de diversas fuentes. 2.2.- Transmite la información seleccionada de manera precisa utilizando diversos soportes.	
3.- Realizar un trabajo experimental con ayuda de un guión de prácticas de laboratorio o de campo describiendo su ejecución e interpretando sus resultados.	3.1.- Conoce y respeta las normas de seguridad en el laboratorio, respetando y cuidando los instrumentos y el material empleado. 3.2.- Describe la ejecución de la experiencia en un informe. (*) 3.3.- Interpreta los resultados obtenidos en la experiencia diseñada. (*)	
4.- Planear, aplicar, e integrar las destrezas y habilidades propias del trabajo científico.	4.1.- Integra y aplica las destrezas propias de los métodos de la ciencia.	Bloque 4. Proyecto de investigación.
5.- Elaborar hipótesis y contrastarlas a través de la experimentación o la observación y argumentación.	5.1.- Utiliza argumentos justificando las hipótesis que propone.	
6.- Discriminar y decidir sobre las fuentes de información y los métodos empleados para su obtención.	6.1.- Utiliza diferentes fuentes de información, apoyándose en las TIC, para la elaboración y presentación de sus investigaciones.	
7.- Participar, valorar y respetar el trabajo individual y en grupo.	7.1.- Participa, valora y respeta el trabajo individual y grupal.	
8.- Presentar y defender en público el proyecto de investigación realizado.	8.1.- Diseña pequeños trabajos de investigación sobre animales y/o plantas, los ecosistemas de su entorno o la alimentación y nutrición humana para su presentación y defensa en el aula. 8.2.- Expresa con precisión y coherencia, tanto verbalmente como por escrito, las conclusiones de sus investigaciones.	
(*) Estándar de aprendizaje que se ha añadido a la evaluación, no estando recogido en los Decretos Ley relacionados con la materia de Biología y Geología.		

El análisis estadístico de los resultados de cada grupo se llevó a cabo mediante el cálculo de la media aritmética y la desviación típica de las calificaciones obtenidas por los discentes, para cada estándar de aprendizaje ensayado y curso trabajado, durante la realización de esta actividad.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Actividad antimicrobiana de la difusión de los compuestos de la miel sobre bacterias

La incubación durante 5 días a temperatura ambiente de las placas portadoras de los cultivos microbianos a los que se quería comprobar el efecto antimicrobiano de algunos compuestos de la miel, mostraron resultados destacables y que se recogen en la Figura 3. Muy al contrario de lo que autores consagrados en este campo, citados en gran número de ocasiones por multitud de páginas web y tras publicaciones que

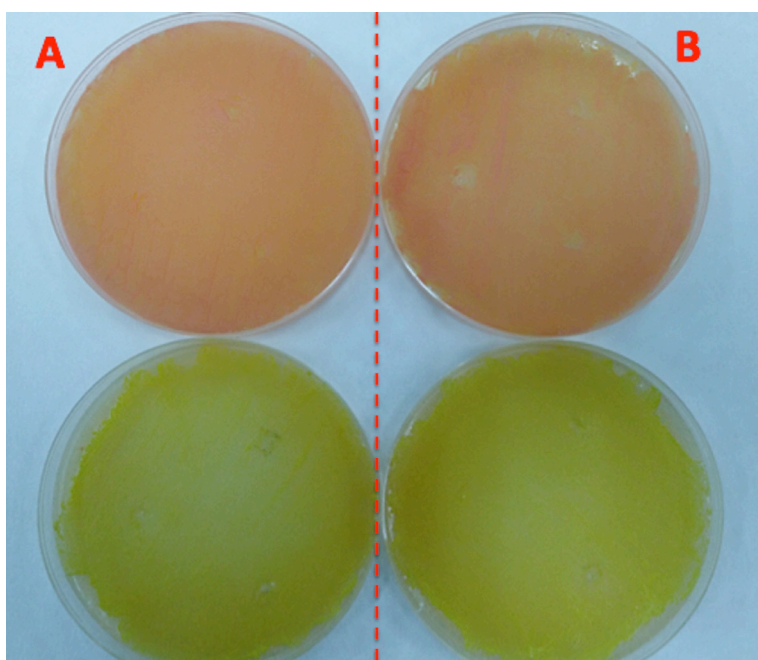


Figura 3. Actividad antimicrobiana NEGATIVA de gotas de miel sobre cultivos de bacterias: *Roseomonas* sp (placas superiores) y *Micrococcus luteus* (placas inferiores). Como control de la experiencia se utilizó agua del grifo tindalizada. (A) Miel comercializada en supermercado. (B) Miel procedente de un apicultor local, si tratamiento. Para más información ver Apartado 3.2.1. Difusión de compuestos sobre cultivos microbianos, de Material y Métodos. Foto: J.P. López.

argumentan las notables propiedades de este alimento para alcanzar una óptima salud (MOLAN, 1992; BOGDANOV *et al.*, 2008; ISRAILI, 2014), nuestros resultados muestran todo lo contrario y ofrecen mayor trabajo de discusión con el alumnado de clase. La ciencia implica cambios, paradigmas, y el contraste de los resultados da bondad al avance de la misma, formulando nuevas preguntas o mejorando las tecnologías para lograr avances sustanciosos. Para estos autores, las propiedades antimicrobianas de la miel se han asociado a la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides, compuestos aromáticos ácidos, moléculas peptídicas, actividades enzimáticas en el alimento (caso de la catalasa o glucosa oxidasa), con la producción o degradación del peróxido de hidrógeno (BOGDANOV *et al.*, 2008; ISRAILI, 2014). Sea como fuere, la cantidad de miel suministrada en los pocillos labrados en el agar fue lo suficientemente importante como para demostrar la presencia de actividad si la hubiere, consecuencia de albergar alguno de estos compuestos antimicrobianos. Este tipo de discusión es muy importante entre los discentes, de acuerdo con los trabajos previos

de LÓPEZ (2011) y LÓPEZ & BORONAT (2018; 2019), donde se trabajó comprobando y discutiendo las propiedades antimicrobianas de las liliáceas, ajo y cebolla. Empleando alimentos cotidianos, sin tratamiento alguno y en cantidades familiarizadas con el alumnado (cantidad de alimento equivalente al que pudiera albergar una cucharilla de café y que puede suministrarse –por ejemplo- en la alimentación diaria tras la ingesta o aliño de ensaladas), se consiguió comprobar la inhibición del desarrollo de ciertos grupos microbianos, como los que se exponen en esta comunicación y que, tras la búsqueda bibliográfica pertinente, los discentes pudieron atribuir a compuestos químicos singulares.

Paralelamente, algunos autores atribuyen asimismo propiedades antibacterianas a extractos o concentrados de aceites esenciales de algunas plantas de la familia Labiadas, caso del tomillo o romero (MONTERO *et al.*, 2018, y citas varias en esta referencia). No obstante, aunque ahí están esos resultados, debemos presentar la idea a nuestros alumnos de que en la alimentación cotidiana no se emplean estos macerados o destilados de plantas, sino más bien material pulverizado que no alberga la adecuada concentración de sustancias con carácter inhibitorio. Este tipo de publicaciones da cabida a fraudes importantes en alimentación, atribuyendo propiedades muy eficaces en laboratorio pero, bien distintas, en una rutina diaria con el uso no apropiado de las mismas. No obstante, para los docentes y el trabajo práctico desarrollado en el laboratorio, la discusión de este tipo de resultados es muy útil en el planteamiento y orientación de la práctica con alumnos. Es lo que NIEDA (1994) y GIL & VALDÉS (1996) atribuyen a unas prácticas como investigaciones.

3.2. Cultivo microbiano sobre medios complejos elaborados con miel

Si bien no fue posible comprobar la actividad antimicrobiana de la miel sobre las bacterias ensayadas, se intentó comprobar si la miel impedía el crecimiento bacteriano en acuerdo a la riqueza en azúcares simples que muestra su composición química. BOGDANOV *et al.* (2008) determinaron la cantidad de 79.7 gramos de azúcares por cada 100 gramos de alimento, infiriendo con ello -años antes- ALCALÁ (1977) la A_w entre 0.4 y 0.6 en mieles comerciales. Esta reducida actividad del agua impide y limita el

crecimiento de gran número de organismos microbianos. Para alcanzar este objetivo se elaboró un medio de cultivo tal y como figura en el apartado 2.2.2 de Material y Métodos (Desarrollo de bacterias sobre un medio de cultivo elaborado con miel). Los resultados de la incubación de los dos géneros de cepas microbianas ensayadas en esta comunicación se muestran en la Figura 4¹. El análisis de estos resultados fue muy interesante y de fácil discusión con los alumnos. En primer lugar se destacó el crecimiento importante de ambos grupos en la placa control, donde no había agente selectivo que pudiera impedir el desarrollo. La inhibición en el crecimiento se producía cuando en las placas de Petri portadoras de medio solidificado presentaban cantidades importantes de miel, superando el 10% (v/v). Se destaca como *Micrococcus luteus* (colonia amarilla) no crece cuando en el medio hay la cantidad de miel ensayada en nuestra experiencia, datos que concuerdan con los aportados por MOLAN (1992) con metodologías de laboratorio distintas (trabajando en pocillos de crecimiento similar el descrito para tecnologías ELISA). Por el contrario, integrantes gram-negativos que hemos atribuido a *Roseomonas* sp. (pigmentación bajo el estereomicroscopio y morfología al microscopio óptico) mostraron inhibición en su desarrollo con concentraciones de miel en el medio de cultivo por encima del 30% (v/v). Esta inhibición observada puede corroborar las propiedades y funciones que se le han atribuido a las cataplasmas de miel durante la antigüedad hasta llegar a nuestros días, para el tratamiento de las heridas o las úlceras infectadas (DE JAIME, 2018), ya que se impide con su aplicación el desarrollo de agentes microbianos presentes en la superficie de la piel o sobre la herida infectada, así como no permitir el crecimiento de todos aquellos gérmenes que pudieran llegar tras un contacto.

Otro aspecto tratado con el alumnado es si la presencia de ciertas sustancias con carácter inhibitorio, comentadas en el apartado anterior, requerirían de elevadas concentraciones para poder realizar su efecto inhibitorio. Esto estaría perfectamente bien encuadrado en este apartado, si bien no tendría mucha influencia en la ingesta diaria de este alimento y la atribución de la inhibición de la actividad microbiana. Es decir, con la recomendación de la Organización Mundial de la Salud de reducir el consumo de azúcares libres a menos del 5% de la ingesta calórica total (OMS, 2015), no parece tener sentido tomar concentraciones superiores al 10% de este alimento, como se especifica en esta comunicación, para presentar actividad inhibitoria sobre posibles bacterias patógenas, cuando los efectos secundarios de su abuso pueden ser incluso perjudiciales para la salud humana a corto y medio plazo.

Finalmente, es preciso indicarse ante la claridad de los resultados y las imágenes ofrecidas en este trabajo, que la actividad presentada ha sido llevada a cabo en un laboratorio de enseñanza media, con alumnado en formación y con la precariedad que subyace en su ejecución, aportando su realización un claro ejemplo de innovación educativa más que un relevante hallazgo científico.

3.3. ¿Cómo se llevó a cabo esta experiencia? Evaluación

Los trabajos prácticos experimentales son considerados como una de las actividades más importantes en la enseñanza de las ciencias (NICOLÁS, 2016; LÓPEZ & BORONAT, 2018). Tal y como señala CAAMAÑO (1992), los trabajos prácticos se han empleado siempre en el aula como un tipo de metodologías activas que permiten enseñar el uso instrumental o las técnicas de experimentación. Además, este tipo de actividades van más allá, englobando la resolución de una gran cantidad de problemas científicos (CARMEN, 2000).

La actividad presentada en esta comunicación permitió la motivación directa del alumnado con un tipo de trabajos prácticos de laboratorio distintos, alejados de los rutinarios presentados hasta el momento en el aula y que se describen convencionalmente en los libros de texto utilizados por los docentes, permitiendo un conocimiento vivencial del fenómeno propuesto (cercanía del alimento y mostrar la actividad antimicrobiana ensayada), la búsqueda de variables y su significación (dependencia e independencia, caso del tipo de bacteria testada o la concentración de miel utilizada en la confección del medio de cultivo). Además, y en palabras de CAAMAÑO

1. Del análisis de la Figura 4 puede destacarse el excelente valor procedimental de este tipo de actividad práctica, trabajada con alumnos de enseñanza media y con las limitaciones que ofrece el laboratorio del centro de estudios. La asepsia conseguida en el medio de cultivo, mediante pasteurización, permitió el desarrollo de las poblaciones microbianas de interés y en el tiempo preciso. No se encontró contaminación exógena a las placas de Petri ni derivada de los propios ingredientes que se usaron en la confección del medio de cultivo.

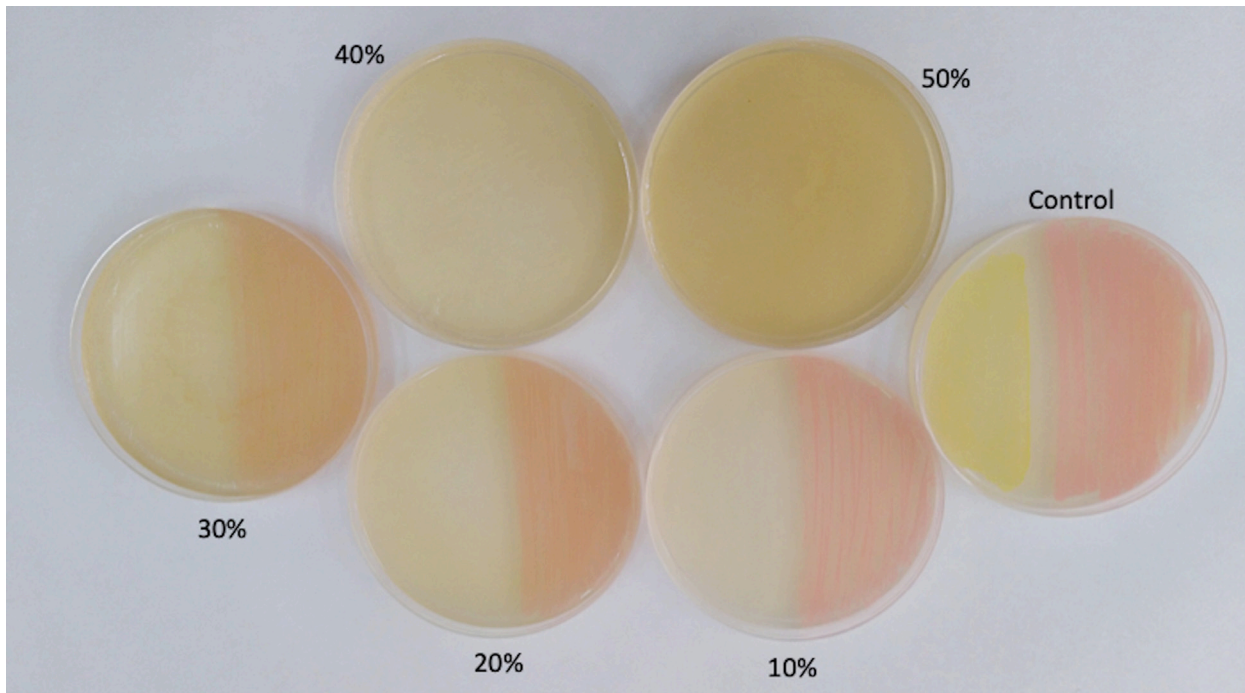


Figura 4. Crecimiento de dos cepas (*Micrococcus luteus* y *Roseomonas* sp.) sobre medio de cultivo suplementado con miel. Se destaca el fuerte crecimiento de las bacterias en el medio control y la inhibición total del desarrollo de la cepa bacteriana *Micrococcus* (pigmentación amarilla) ensayada en medio con miel. *Roseomonas* sp. (pigmentación rosada), por el contrario, muestra inhibición en el desarrollo cuando el medio se suplementa por encima del 30% (v/v) de miel. Los resultados parecen indicar que el fuerte choque osmótico o una baja A_w ocasionada por una elevada concentración de azúcares simples presentes en la miel, pueden ser responsables de la respuesta antimicrobiana descrita. Foto: J.P. López.

(2010), la actividad ofreció contrastar y comprobar la hipótesis (de si el alimento mostraba o no actividad antimicrobiana), proporcionando para ello el manejo de un instrumental sencillo y el uso de una técnica básica de laboratorio. También se permitió con ello la posibilidad de acercar al discente la metodología y los procedimientos propios de la indagación (CAAMAÑO, 2012), a través del planteamiento del problema (comprobación de la actividad antimicrobiana en algunos alimentos), la planificación del método, la realización experimental, la evaluación y la comunicación mediante un informe de trabajo (GIL & VALDÉS, 1996). Todos estos aspectos han sido trabajados en esta experiencia de laboratorio, lo que ha permitido mejorar la comprensión procedimental de la ciencia.

El registro de criterios de evaluación y estándares de aprendizaje (Tabla 2, Tabla 3) fueron muy positivos en las dos clases, de dos centros de enseñanza secundaria distintos, con los que se trabajó. El gran problema encontrado con este tipo de actividades de laboratorio es la necesidad constante del profesor de aula para la asignación del procedimiento de estudio en clase y el análisis de los resultados. No obstante, el alumnado agradeció muy positivamente este tipo de nuevas prácticas de laboratorio, mediante los comentarios escritos en su cuaderno de clase tras la confección del informe del trabajo desarrollado, la cercanía de los materiales presentados y la singularidad de los mismos (actividad antimicrobiana de la miel), consiguiéndose con ello una gran motivación durante la realización de la actividad, así como el trabajo cooperativo requerido para conseguir el objetivo final.

Junto al registro de estándares de aprendizaje evaluables, el análisis del informe de trabajo elaborado por los estudiantes, los comentarios ofrecidos durante la sesión de ideas previas, el análisis y discusión de los resultados, así como los aspectos teóricos que pudieran definirse con la realización de la experiencia, fueron valiosos instrumentos y muy positivos para la evaluación del grupo de alumnos.

Tabla 3. Valores medios y desviación típica obtenidos en la evaluación de los alumnos de ESO y Bachillerato al realizar esta actividad.

Estándar trabajado	Grupo 4º ESO		Grupo 1º Bachillerato	
	Media aritmética	Desviación típica	Media aritmética	Desviación típica
1.1.	7,13	1,67	7,61	1,01
2.1.	7,56	1,40	7,59	1,10
2.2.	7,56	1,87	7,50	1,04
3.1.	8,39	1,85	9,10	0,30
4.1.	7,88	1,48	7,39	1,01
5.1.	6,11	1,80	6,70	0,96
6.1.	7,58	1,44	7,59	1,10
7.1.	8,67	0,97	9,10	0,30
8.1.	7,14	1,28	7,05	0,98
Valor medio grupal	7,56		7,73	

4. CONCLUSIÓN

Esta experiencia pone de manifiesto una técnica de laboratorio sencilla para demostrar la actividad antimicrobiana de algunos alimentos, como la miel. El modelo permite observar y comentar con el alumnado la discusión de unos resultados contradictorios con los observados tras una amplia revisión bibliográfica en Internet. No se muestra inhibición alguna de la miel sobre frotis superficiales de bacterias desarrolladas sobre medios de cultivo (MITO, en lugar de realidad); hecho este que parece indicar la ausencia de compuestos difusibles con actividad antibacteriana. La inhibición del desarrollo se puso de manifiesto en cultivos de microorganismos sobre medios portadores de concentraciones importantes de este alimento. Esto podría indicar estrés en el crecimiento condicionado por un descenso en la A_w o presencia de alguna sustancia que, a gran concentración, pudiera tener ese efecto indeseable para el desarrollo.

La investigación no permite contrastar si la presencia accidental en la miel de antibióticos propios del apiario, de uso veterinario, u otros elementos con posibles efectos antimicrobianos (que tanto son discutidos en la bibliografía), caso de los pesticidas, que podrían ser los responsables de la actividad observada.

Esta actividad práctica pretende contribuir a un mejor conocimiento de la ciencia como asignatura cercana y posible de llevar a cabo en laboratorios convencionales de Educación Secundaria, favoreciendo con ello una mayor cercanía científica, una mejor comprensión y aportando nuevas herramientas didácticas para el docente.

El desarrollo de la experiencia con alumnos de estos grupos académicos permitió definir: (1) la tutorización constante por parte del docente para el correcto proceso de la actividad, (2) la consideración muy positiva por parte del alumno de este tipo de trabajos prácticos en el laboratorio, (3) la importante motivación lograda durante la realización de la misma y (4) el decidido trabajo cooperativo para conseguir el objetivo final.

AGRADECIMIENTOS

Los autores quieren expresar su más profundo agradecimiento a los alumnos de 1º de Bachillerato de las materias de Biología-Geología y Anatomía aplicada del IES "Ricardo Ortega" de Fuente Álamo (Murcia), y a los de 4º de ESO de Cultura Científica del IES "Antonio Menéndez Costa" de Los Alcázares (Murcia), curso 2018-2019, por el interesante trabajo desarrollado que ha culminado en la elaboración de esta comunicación y su difusión al ámbito docente y científico.

BIBLIOGRAFÍA

- ALCALÁ, M. 1977. Actividad del agua de la miel y crecimiento de microorganismos osmotolerantes. *Trabajos científicos de la Universidad de Córdoba*, 20: 3-19. <https://helvia.uco.es/xmlui/bitstream/handle/10396/5775/trabajos20_1977.pdf?sequence=1&isAllowed=y> [Consulta: 13-2-2019].
- BOE. 2015. Real Decreto 1105/2014, de 26 de diciembre, por el que se establece el currículo básico de la Educación Secundaria Obligatoria y del Bachillerato. *Boletín Oficial del Estado*, 3: 169-546. <<https://www.boe.es/boe/dias/2015/01/03/pdfs/BOE-A-2015-37.pdf>> [Consulta: 3-3-2019].
- BOGDANOV, S., JURENDIC, T., SIEBER, R. & GALLMANN, P. 2008. Honey for nutrition and health: a Review. *American Journal of the College of Nutrition*, 27: 677-689. <https://www.researchgate.net/publication/23803275_Honey_for_Nutrition_and_Health_A_Review> [Consulta: 15-2-2019].
- BORM. 2015. Decreto nº 220/2015, de 2 de septiembre de 2015, por el que se establece el currículo de la Educación Secundaria Obligatoria en la Comunidad Autónoma de la Región de Murcia. *Boletín Oficial de la Región de Murcia*, 203: 30729-31593. <[https://www.carm.es/web/pagina?IDCONTENIDO=21221&IDTIPO=100&RASTRO=c77\\$m4507,3993](https://www.carm.es/web/pagina?IDCONTENIDO=21221&IDTIPO=100&RASTRO=c77$m4507,3993)> [Consulta: 3-3-2019].
- CAAMAÑO, A. 1992. Los trabajos prácticos en ciencias experimentales. Una reflexión sobre sus objetivos y una propuesta para su diversificación. *Aula de Innovación Educativa*, 9: 61-68.
- 2010. Los trabajos prácticos en ciencias. En: M.P. JIMÉNEZ (Coordinador), A. CAAMAÑO, A. OÑORBE, E. PEDRINACI & A. DE PRO. *Enseñar ciencias*. págs. 95-118. Editorial Graó. Barcelona.
- 2012. ¿Cómo introducir la indagación en el aula?: los trabajos prácticos investigativos. *Alambique. Didáctica de las Ciencias Experimentales*, 18(70): 83-91.
- CARMEN, L. 2000. Los trabajos prácticos. En: F.J. PERALES & P. CAÑAL, Eds. *Didáctica de las Ciencias Experimentales. Teoría y práctica de la enseñanza de las ciencias*. págs. 267-282. Editorial Marfil. Alcoy.
- CPR. 2019. *Resultado del proceso de detección de necesidades en las 8 extensiones del CPR Región de Murcia. Curso 2019/2020*. Informe inédito del Centro de Recursos y Profesores de la Región de Murcia. Murcia.
- DEL BAÑO, F. 2000. *Mieles y pólenes. Palinoteca de la Región de Murcia*. Región de Murcia. Consejería de Agricultura, Agua y Medio Ambiente Murcia. 130 págs.
- DE JAIME, J.M. 2018. *Miel: dulce farmacia*. <<http://www.academiadefarmaciadearagon.es/docs/Documentos/Documento105.pdf>> [Consulta: 10-3-2019].
- DÍAZ, J. & JIMÉNEZ, M.P. 1999. Aprender ciencias, hacer ciencias: resolver problemas en clase. *Alambique. Didáctica de las Ciencias Experimentales*, 20: 9-16.
- GIL, D. & VALDÉS, P. 1996. La orientación de las prácticas de laboratorio como investigación: un ejemplo ilustrativo. *Enseñanza de las ciencias*, 14(2): 155-163. <<https://www.raco.cat/index.php/Ensenanza/article/download/21444/93407>> [Consulta: 4-3-2019].
- GRANDE, F. 2010. *Nutrición y salud, Mitos, peligros y errores de las dietas de adelgazamiento*. Madrid. Temas de hoy. Vivir mejor. 220 págs.
- HERRON, M.D. 1971. The nature of scientific inquiry. *School Review*. 79:171-212.
- ISRAILI, Z.H. 2014. Antimicrobial properties of honey. *American Journal of Therapeutics*, 21(4): 304-323.
- LÓPEZ, J.P. 2009. Microbiología básica en la educación secundaria obligatoria: el lavado de las manos. *Revista Eureka sobre Enseñanza y Divulgación de las Ciencias*, 6(2): 319-324. <<https://revistas.uca.es/pre/index.php/eureka/article/download/3708/3295/+&cd=4&hl=es&ct=clnk&gl=es>> [Consulta: 3-3-2019].
- 2011. Observación de la actividad antimicrobiana del ajo (*Allium sativum*) en el laboratorio de Educación Secundaria. *Revista Eureka sobre Enseñanza y Divulgación de las Ciencias*, 8(Núm. Extraordinario): 491-494. <<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=92022427017>> [Consulta: 3-3-2019].
- 2018. *Prácticas de microbiología básica en el laboratorio de educación secundaria. Una experiencia de 12 años de trabajo*. Comunidad Autónoma de la Región de Murcia. Consejería de Educación, Juventud y Deportes. Murcia. 184 págs. <[http://www.carm.es/web/pagina?IDCONTENIDO=17499&IDTIPO=246&RASTRO=c2709\\$m4331,4330](http://www.carm.es/web/pagina?IDCONTENIDO=17499&IDTIPO=246&RASTRO=c2709$m4331,4330)> [Consulta: 3-3-2019].
- 2019. Estudio y observación de la actividad antimicrobiana de la cebolla (*Allium cepa* L.) en un laboratorio de Educación Secundaria. *Aula, Museos y Colecciones*, 6: 167-175. <<http://www.rsehn.es/index.php?d=publicaciones&num=71&w=453>> [Consulta: 25-10-2019].
- MOLAN, P. 1992. The antibacterial activity of honey. I. The nature of the antibacterial activity. *Bee World*, 73(1): 5-28. <<https://researchcommons.waikato.ac.nz/handle/10289/2094>> [Consulta: 3-5-2019].
- MONTERO, M., MIRA, J.C., AVILÉS, D., PAZMIÑO, P. & ERAZO, R. 2018. Eficacia antimicrobiana del aceite esencial de tomillo (*Thymus vulgaris*) sobre una cepa de *Staphylococcus aureus*. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 29(2): 588-593. <<http://www.scielo.org.pe/pdf/rivep/v29n2/a23v29n2.pdf>> [Consulta: 5-4-2019].
- NICOLÁS, C. 2016. “Salud y enfermedad” mediante trabajos prácticos: una propuesta de innovación educativa desarrollada en un grupo de 3º de ESO. Trabajo fin de máster. Universidad de Murcia.

- NIEDA, J. 1994. Algunas minucias sobre los trabajos prácticos en la enseñanza secundaria. *Alambique: Didáctica de las Ciencias Experimentales*, 2: 15-20.
- ODUWOLE, O., Udoh, E.E., Oyo-lta, A. & Meremikwu, M.M. 2018. Honey for acute cough in children (Review). *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 4. <<https://www.cochranelibrary.com/cdsr/doi/10.1002/14651858.CD007094.pub5/epdf/abstract>> [Consulta: 2-5-2019].
- OMS. 2015. *Nota informativa sobre la ingesta de azúcares recomendada en la directriz de la OMS para adultos y niños*. WHO/NMH/NHD/15.3. Ginebra. Organización Mundial de la salud. <https://www.who.int/nutrition/publications/guidelines/sugar_intake_information_note_es.pdf> [Consulta: : 2-5-2019].
- ULLOA, J., MONDRAGÓN, P., RODRÍGUEZ, R., RESÉNDIZ, J.A. & ROSAS, M.C. 2010. La miel de abeja y su importancia. *Revista Fuente*, 2(4): 11-18. <<https://ciatej.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1023/512/1/La%20miel.pdf>> [Consulta: : 4-5-2019].