



# B

# Biotecnología

*para principiantes*

Reinhard Renneberg

EDITORIAL REVERTÉ



---

**Reinhard Renneberg**

Darja Süßbier (Ilustraciones)

# BIOTECNOLOGÍA PARA PRINCIPIANTES



EDITORIAL  
REVERTÉ

Barcelona · Bogotá · Buenos Aires · Caracas · México

*Título de la obra original:*

**Biotechnologie für Einsteiger**

*Versión original publicada en lengua alemana:*

**Elsevier GmbH, Spektrum Akademischer Verlag,**

Slevogtstr. 3-5, 69126 Heidelberg, Germany

Copyright © 2004 Elsevier GmbH, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg

*Edición en español:*

© Editorial Reverté, S. A., 2008

Edición e-book (PDF):

ISBN: 978-84-291-9553-8

Edición en papel:

ISBN: 978-84-291-7483-0

*Versión española por:*

**Dr. Josep Joan Centelles Serra**

Profesor Titular de Bioquímica y Biología Molecular

Universidad de Barcelona

y

**Magdalena Ferrer Peralta**

Traductora diplomada de inglés y alemán

Universidad Autónoma de Barcelona

MAQUETACIÓN: REVERTÉ-AGUILAR S. L.

**Propiedad de:**

**EDITORIAL REVERTÉ, S. A.**

Loreto, 13-15. Local B

08029 Barcelona. ESPAÑA

Tel: (34) 93 419 33 36

reverte@reverte.com

Reservados todos los derechos. Cualquier forma de reproducción, distribución, comunicación pública o transformación de esta obra sólo está permitida con la autorización de sus titulares, salvo excepción prevista en la ley. Diríjase al editor si necesita fotocopiar o escanear algún fragmento de esta obra.



**NO HAY NADA MÁS PODEROSO  
QUE UNA IDEA A LA QUE  
LE HA LLEGADO SU TIEMPO.**

Victor Hugo

**TAN FÁCIL COMO SEA POSIBLE,  
¡PERO NO MÁS FÁCIL!**

Albert Einstein

**LA SUERTE FAVORECE  
AL ESPÍRITU PREPARADO.**

Louis Pasteur

A mis maravillosos  
padres, Ilse y Herbert  
Rennenberg, dedicado  
con amor y  
agradecimiento

# COLABORADORES

## Colaboraciones en todo el libro

**Francesco Bennardo**, Liceo Scientifico S. Valentini, Castrolibero, Cosenza

**David S. Goodsell**, The Scripps Research Institute, La Jolla

**Oliver Kayser**, Rijksuniversiteit Groningen

**Oliver Ullrich**, Hochschule für Angewandte Wissenschaften Hamburg

## Colaboraciones en capítulos individuales

**Rita Bernhardt**, Universität des Saarlandes, Saarbrücken  
**Uwe Bornscheuer**, Ernst-Moritz-Arndt-Universität, Greifswald

**George Cautherley**, R&C Biogenius Hong Kong

**Ananda Chakrabarty**, University of Illinois

**Arnold L. Demain**, Drew University, Madison

**Theodor Dingermann**, Johann Wolfgang Goethe-Universität, Frankfurt am Main

**Stefan Dübel**, Technische Universität Braunschweig

**Peter Fromherz**, Max-Planck-Institut für Biochemie, Martinsried/München

**Saburo Fukui** (†), Kyoto University

**Roland Friedrich**, Justus-Liebig-Universität Gießen

**Dietmar Fuchs**, Universität Innsbruck

Oreste Ghisalba, Novartis AG, Basel

**Horst Grunz**, Universität Duisburg Essen

**Georges Halpern**, University of California at Davis

**Albrecht Hempel**, Krankenhaus Dresden-Friedrichstadt

**Choy-L. Hew**, National University of Singapore

**Bertold Hock**, Technische Universität München

**Martin Holzhauer**, IMTEC, Berlin-Buch

**Woo-Suk Hwang**, Seoul National University

**Hwa A. Lim**, D'Trends Inc., Silicon Valley, Kalifornien

**Inca Lewen-Dörr**, GreenTec., Köln

**Isao Karube**, Tokyo Institute of Technology

**Frank Kempken**, Christian-Albrechts-Universität Kiel

**Albrecht F. Kiderlen**, Robert-Koch-Institut, Berlin

**Uwe Klenz**, Institut für Physikalische Hochtechnologie e.V. Jena

**Jutta Ludwig-Müller**, Technische Universität Dresden

**Stephan Martin**, Deutsches Diabetes-Zentrum, Düsseldorf

**Alex Matter**, Novartis Singapore

**Marc van Montagu**, Max-Planck-Institut für Pflanzenzüchtung, Köln

**Reinhard Niessner**, Technische Universität München

**Susanne Pauly**, Hochschule Biberach

**Jürgen Polle**, Brooklyn College of the City University of New York

**Tom Rapoport**, Harvard Medical School, Boston

**Matthias Reuss**, Universität Stuttgart

**Frieder W. Scheller**, Universität Potsdam

**Andreas Sentker**, Die Zeit, Hamburg

**Matthias Seydack**, 8 sens.biognostic AG, Berlin

**Georg Sprenger**, Universität Stuttgart

**Gary Strobel**, Montana State University, Bozeman

**Eric Stewart**, INSERM - University Paris 5

**Kurt Stüber**, Köln

**Atsuo Tanaka**, Kyoto University

**Dieter Trau**, National University of Singapore

**Thomas Tuschl**, Rockefeller University, New York

**Larry Wadsworth**, Texas A&M University

**Catherine Wan**, Hongkong

**Terence S. M. Wan**, Head of Racing Laboratory, The Hong Kong Jockey Club

**Eckhard Wellmann**, Universität Freiburg

**Dieter Wolf**, Boehringer-Ingelheim, Biberach

**Christian Wandrey**, Institut für Biotechnologie, Forschungszentrum Jülich

**Zeng-yu Wang**, The Noble Foundation, Ardmore, Oklahoma

**Michael Wink**, Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg

**Mengsu Yang**, City University of Hong Kong

**Leonhard Zastrow**, Research and Development Coty Inc., Monaco

## Con las contribuciones de

**Charles Coutelle**, Imperial College, London

**Rainer Erb**, Zentrum für Umweltkommunikation, Osnabrück

**Herrmann Feldmeier**, Institut für Infektionsmedizin der Charité, Berlin

**Ricardo Gent**, Verband der Chemischen Industrie, Frankfurt am Main

**Oreste Ghisalba**, Novartis AG, Basel

**Frank Hatzak**, Novozymes Dänemark

**Stefanie Heiden**, Deutsche Bundesstiftung Umwelt, Osnabrück

**Jörg Knäblein**, Schering AG, Berlin

**Norbert Müllender**, Syngenta, Düsseldorf

Netzwerke TransGen und bioSicherheit, Aachen

**Uwe Perltitz**, Deutsche Bank Research, Frankfurt am Main

**Jens Reich**, Max-Delbrück-Centrum, Berlin-Buch

**Christoph Winthertaler**, Wacker-Chemie GmbH, München

**Eckhard Wolf**, Universität München

**Holger Zinke**, B.R.A.I.N. AG, Zwingenberg

# CONTENIDO

## INTRODUCCIÓN

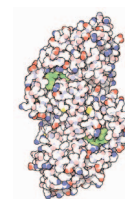
X

### CERVEZA, PAN, QUESO – Suculenta biotecnología

1

**1.1** Al principio fue la cerveza y el vino: la leche materna de la civilización **2** • **1.2** Las levaduras son los burros de carga de la fermentación alcohólica **2** • **1.3** También hoy en la industria cervecera se utilizan levadura, agua, malta y lúpulo **5** • **1.4** Las células funcionan con energía solar **11** • **1.5** El alcohol no es un placer sino una necesidad para las levaduras **11** • **1.6** Los licores muy concentrados se producen mediante destilación **12** • **1.7** Productos bacterianos: ¡La acidez los hace duraderos! **15** • **1.8** Café, cacao, vainilla, tabaco – Fermentación para el placer **18** • **1.9** Los mohos cooperan con las bacterias y producen queso **18** • **1.10** Sake y salsa de soja **22** • **1.11** ¿Qué es en realidad la fermentación? **22**

### Capítulo 1

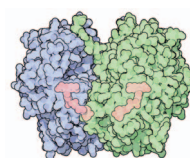


### ENZIMAS – Supercatalizadores moleculares para el hogar y la industria

25

**2.1** Las enzimas son biocatalizadores eficaces y específicos **26** • **2.2** La lisozima: la primera enzima cuya anatomía y función se entendieron en detalles moleculares **27** • **2.3** Los cofactores sirven como herramientas a las enzimas complejas **31** • **2.4** Las enzimas pueden obtenerse de animales, plantas y microorganismos **32** • **2.5** Las hidrolasas extracelulares degradan los biopolímeros en pequeñas unidades utilizables **34** • **2.6** Las amilasas mezclan, cuecen y trenzan **34** • **2.7** Las pectinasas prensan más zumo de fruta y verduras **36** • **2.8** Los biodetergentes son la aplicación más importante de las enzimas hidrolíticas **37** • **2.9** Las proteasas ablandan la carne y curten la piel **38** • **2.10** Inmovilizaciones: cuando se quiere reutilizar las enzimas **40** • **2.11** Glucosa isomerasa y jarabe de fructosa: azúcar con mayor fuerza edulcorante **40** • **2.12** Alimentos y forrajes con enzimas inmovilizadas **42** • **2.13** Los reactores de enzimas de membrana usan regeneración de cofactor **44** • **2.14** Células inmovilizadas **46**

### Capítulo 2

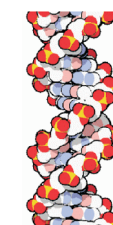


### EL MILAGRO DE LA INGENIERÍA GENÉTICA

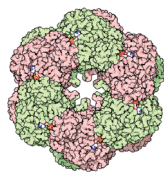
49

**3.1** DNA: La doble hélice porta el material hereditario **50** • **3.2** Las DNA polimerasas catalizan la replicación de la doble hebra de DNA **50** • **3.3** No todos los genes constan de DNA: los virus RNA utilizan RNA de una única hebra **51** • **3.4** La aclaración del código genético **51** • **3.5** El genoma humano – Una enorme enciclopedia de 24 volúmenes **52** • **3.6** El código de DNA se agrieta: el RNA sintético descifra los codones **53** • **3.7** Los genes estructurales cercanos a los fragmentos de DNA controlan la expresión de los genes **58** • **3.8** Ribosomas – La fábrica de proteínas de la célula: una molécula gigante de RNA y proteínas **58** • **3.9** Recombinación: las cartas genéticas se barajan de nuevo **60** • **3.10** Los plásmidos son vectores ideales para el material genético **61** • **3.11** Tijeras y pegamento moleculares: endonucleasas de restricción y DNA ligasas **62** • **3.12** Los primeros experimentos de ingeniería genética: ¿bacterias que croan? **62** • **3.13** Cómo se obtienen los genes **65** • **3.14** ¿Insulina humana a partir de bacterias? **66** • **3.15** Cómo se sintetiza la insulina en humanos: desde la preproinsulina, pasando por la proinsulina, hasta la insulina activa **68** • **3.16** Los inicios de la ingeniería genética con proinsulina de rata **69** • **3.17** Hibridación de DNA: cómo se encuentran bacterias con sondas de DNA **71** • **3.18** Un pequeño desvío: la somatostatina – La primera proteína humana de bacterias **71** • **3.19** Cómo se obtiene enzimáticamente insulina humana a partir de insulina de cerdo **73** • **3.20** ¡Finalmente se consiguió! La primera insulina humana producida por ingeniería genética **73** • **3.21** Asilomar: ¿cuál es el peligro de la nueva ingeniería genética? **74** • **3.22** Proinsulina humana a partir de una única cepa de *E. coli* **76** • **3.23** Levaduras de cocción como productoras de proinsulina **77** • **3.24** Variantes artificiales de la insulina (muteína) mediante ingeniería genética **78** • **3.25** Los genes manipulados de células de mamífero producen proteínas complejas modificadas **78**

### Capítulo 3



## Capítulo 4

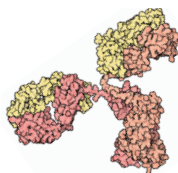


### BIOTECNOLOGÍA BLANCA – Las células como fábricas de síntesis

83

**4.1** El problema de la visión general 84 • **4.2** Adaptación táctica: regulación por retroacoplamiento 86 • **4.3** Adaptación estratégica: producción de enzimas a demanda 87 • **4.4** Un ordenador molecular alostérico: la glutamina sintetasa 89 • **4.5** Represión de catabolitos o cómo se pesca una polimerasa 90 • **4.6** ¡Mohos en lugar de limones! 90 • **4.7** Lisina en abundancia: la retroinhibición de la aspartato quinasa se burla con mutantes 91 • **4.8** L-glutamato: condimento de sopa “levorrotatorio” en exceso 93 • **4.9** ¿Tienen que ser siempre microbios? La síntesis química contra la fermentación 94 • **4.10** Ácido L-ascórbico, la vitamina C 96 • **4.11** Aspartamo – La marcha triunfal de un éster dipeptídico dulce 99 • **4.12** Las células inmovilizadas producen aminoácidos y ácidos orgánicos 101 • **4.13** Mutaciones: un camino hacia la programación selectiva de microbios 101 • **4.14** *Penicillium notatum*: el hongo milagroso de Alexander Fleming 106 • **4.15** *Screening*: biotecnólogos a la caza de hongos 106 • **4.16** El menú de los microbios 107 • **4.17** La biofábrica moderna 110 • **4.18** Calor, frío y sequedad nos mantienen los microbios en el cuello 110 • **4.19** Recuperación del producto: *downstream processing* 114 • **4.20** Estreptomicina y cefalosporina – Los siguientes antibióticos después de la penicilina 115 • **4.21** La competencia con los microbios: resistencias 115 • **4.22** Ciclosporina – Un producto microbiano para trasplantes 117 • **4.23** Hormonas esteroideas: la cortisona y la píldora anticonceptiva 119

## Capítulo 5



### VIRUS, ANTICUERPOS Y VACUNAS

123

**5.1** Virus – La vida prestada 124 • **5.2** De qué forma atacan los virus a las células 124 • **5.3** Cómo se defiende el cuerpo de las infecciones: respuesta inmunitaria humoral mediante anticuerpos 127 • **5.4** Respuesta inmunitaria celular: células T asesinas 129 • **5.5** La primera vacuna: la viruela vacuna contra la viruela humana 134 • **5.6** Las vacunas modernas 137 • **5.7** Las vacunas vivas 139 • **5.8** Anticuerpos monoclonales: balas mágicas de un biorreactor altamente específicas y uniformes 140 • **5.9** Anticuerpos catalíticos 141 • **5.10** Anticuerpos recombinantes 142 • **5.11** Bibliotecas de anticuerpos combinatorias 143 • **5.12** “Auestas” o visualización de fagos – La próxima revolución 144 • **5.13** Visualización de fagos para la hormona del crecimiento de alta afinidad 144 • **5.14** Nuevas esperanzas en el cáncer: rituximab, un anticuerpo recombinante 145

## Capítulo 6

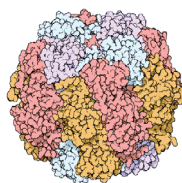


### BIOTECNOLOGÍA DEL MEDIO AMBIENTE – Adiós a los caminos de una dirección, bienvenida a los circuitos

149

**6.1** Agua limpia –Un bioproducto 150 • **6.2** Depuración aeróbica de los vertidos: campos de aguas residuales, tanques depuradores por filtración y lodo activado 152 • **6.3** Biogás 153 • **6.4** ¡El biogás podría salvar bosques! 154 • **6.5** El biogás en los países industrializados: explotación del estiércol líquido 155 • **6.6** SEI alcohol que crece en los campos 156 • **6.7** Los devoradores de petróleo de Ananda Chakrabarty 157 • **6.8** Azúcar y alcohol a partir de la madera 158 • **6.9** ¿Materias primas químicas de biomasa? 160 • **6.10** Minería silenciosa 164 • **6.11** ¿Una nueva vida para los pozos de petróleo agotados? 164 • **6.12** Bioplástica: ¡circuitos en lugar de caminos de una dirección! 165

## Capítulo 7

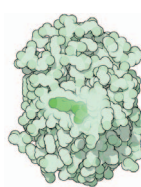


### BIOTECNOLOGÍA VERDE

171

**7.1** Los microbios son comestibles 172 • **7.2** Algas y cianobacterias 172 • **7.3** La proteína *single cell*: la esperanza de las fuentes baratas de proteínas 174 • **7.4** La micoproteína tiene éxito como proteína vegetal para el consumidor 175 • **7.5** ¡La biotecnología “verde” ante portas! 178 • **7.6** El campo en un tubo de ensayo: cultivo de plantas *in vitro* 178 • **7.7** El cultivo de meristemos 179 • **7.8** Cultivos haploides: anteras y ovarios 180 • **7.9** Cultivos de callos y en suspensión 181 • **7.10** Las células vegetales en un biorreactor producen principios activos 183 • **7.11** ¿Qué principios activos vegetales seguirán a la shikonina? 184 • **7.12** *Agrobacterium* –Un parásito como ingeniero genético 185 • **7.13** Transferencia genética biolística: un disparo de DNA 185 • **7.14** Plantas transgénicas: resistencia a los herbicidas 188 • **7.15** Insecticidas biológicos 189 • **7.16** Claveles azules y tomates “antifofos” 193 • **7.17** ¿Son peligrosos los alimentos genéticos? 194 • **7.18** Hay que identificar a los alimentos genéticos? 195 • **7.19** *Gene-Pharming* (granja de producción genética) 195 • **7.20** Plantas transgénicas –Un debate acalorado 198 • **7.21** ¿Palmeras tropicales en Alemania? 198 • **7.22** Las bacterias de los cañones de nieve aseguran las vacaciones de esquí 200

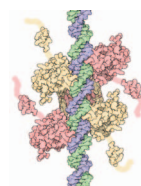
**8.1** Inseminación artificial 204 • **8.2** Transferencia embrionaria y fecundación artificial 204 • **8.3** Las especies en peligro de extinción y amenazadas se pueden salvar mediante la transferencia embrionaria 205 • **8.4** Las quimeras tienen como mínimo cuatro padres genéticos 206 • **8.5** Animales transgénicos: ¿del ratón gigante al toro gigante? 207 • **8.6** Hormonas del crecimiento para bovinos y cerdos 208 • **8.7** *Gene-Pharming*: valiosa proteína humana a partir de huevo y leche 209 • **8.8** Peces transgénicos: del *GloFish*® a la trucha gigante 211 • **8.9** Ratones *knock out* 214 • **8.10** Xenotrasplantes 215 • **8.11** Clonación –Producción masiva de gemelos 215 • **8.12** Clonación de salamandras y ranas 219 • **8.13** Dolly –El descubrimiento decisivo en la clonación 219 • **8.14** Dificultades de la clonación 221 • **8.15** Clonación de gatos –Las diferentes variantes de progenitores 222 • **8.16** ¿Y el ser humano? Clonación, FIV y DPI 223 • **8.17** El embrión cristalino y el proyecto del genoma humano 224



**INFARTO DE MIOCARDIO, CÁNCER Y CÉLULAS MADRE – La biotecnología roja como medio para salvar vidas**

227

**9.1** El infarto de miocardio y los anticoagulantes 228 • **9.2** La fibrinólisis después del infarto de miocardio: disolución enzimática de los coágulos 228 • **9.3** La embolia: una enzima de vampiro sirve de ayuda 229 • **9.4** Factor genético VIII –Una ayuda segura para la hemofilia 232 • **9.5** EPO para enfermos de riñón y deportistas 234 • **9.6** El interferón contra los virus y el cáncer 234 • **9.7** La interleuquina 238 • **9.8** Cáncer: crecimiento celular anormal incontrolado 238 • **9.9** Nuevas terapias contra el cáncer 239 • **9.10** El paclitaxel contra el cáncer 242 • **9.11** La hormona del crecimiento humana 243 • **9.12** La hormona del crecimiento epidérmico –Desaparecen las arrugas y se curan los pies diabéticos 243 • **9.13** Las células madre: ¿la fuente de juventud decisiva? 244 • **9.14** Terapia génica 248 • **9.15** ¿Diamantes en la basura? El RNAi, el RNA que interfiere 249



**BIOTECNOLOGÍA ANALÍTICA Y GENOMA HUMANO**

253

**10.1** Pruebas enzimáticas para millones de diabéticos 254 • **10.2** Biosensores 254 • **10.3** Sensores microbianos: las levaduras miden la carga de los vertidos en cinco minutos 256 • **10.4** Prueba inmunológica del embarazo 257 • **10.5** Pruebas del sida 258 • **10.6** Pruebas para el infarto de miocardio 259 • **10.7** Pruebas *Point-of-Care* (POC) 260 • **10.8** Cómo se analiza el DNA: la electroforesis en gel separa los fragmentos de DNA según su tamaño 260 • **10.9** Vida y muerte: huellas dactilares genéticas para aclarar la paternidad y el asesinato 261 • **10.10** Marcadores de DNA: breves repeticiones en tándem y SNP 263 • **10.11** La reacción en cadena de la polimerasa: el copiator de DNA 264 • **10.12** ¿Se despertará a los saurios y al mamut a una nueva vida? 265 • **10.13** Cómo se secuencian los genes 268 • **10.14** *Southern Blotting* 268 • **10.15** Secuenciación automática de DNA 269 • **10.16** FISH: localización en cromosomas y cantidad de copias genéticas 270 • **10.17** La coronación de la biotecnología: el proyecto del genoma humano 273 • **10.18** Mapas genómicos genéticos 274 • **10.19** Mapas genómicos físicos 274 • **10.20** La lucha de los métodos: Contig contra escopeta 275 • **10.21** ¿Cómo se continúa con el genoma humano? 276 • **10.22** ¿Cómo se puede entender la secuencia genómica? 278 • **10.23** La farmacogenómica 279 • **10.24** Chips de DNA 280 • **10.25** Descubrir las causas de las enfermedades: perfiles de expresión genética 281 • **10.26** La proteómica 281 • **10.27** MALDI: Un gas de iones de proteínas 282 • **10.28** Aptámeros y chips de proteína 282 • **10.29** ¿Finalmente el control a través del genoma humano? 283 • **10.30** ¿*Quo vadis* biotecnología? 283



**CRÉDITOS DE LAS ILUSTRACIONES**

287

**ÍNDICE DE NOMBRES PROPIOS**

289

**ÍNDICE ALFABÉTICO**

291

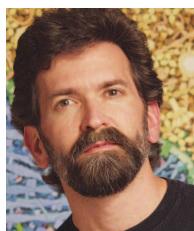


# INTRODUCCIÓN

El autor, tras los experimentos de clonación con los gatos Fortuna I, II, III y IV



Darja Sübbier con el gato Asmar Khan



David Goodsell, gráfico molecular, se confiesa practicante de yoga y visionario de nanobiotecnología

¡Nadie lee las introducciones largas! Así pues, corto: ¿Por qué se originó este libro?

De la **curiosidad y entusiasmo**. Ya cuando era un joven, leía todo lo que el mundo me aportaba. Hoy, como científico, la biotecnología es para mí sobre todo el tema más excitante, pues ¡trata de nosotros y de nuestro futuro! ¿Qué puede ser más excitante?

De la **adicción a todo el saber**. Al leer determino que “sólo sé, que no se nada”, como dijo Sócrates. Me hubiera gustado ser un erudito universal, como fueron algunos científicos del Renacimiento. Pero esto es actualmente del todo imposible. Conseguir tener una visión general sobre un tema, es ahora aún razonablemente viable. Pero para ello se necesita el trabajo en común con investigadores especialistas en temas próximos. Al comprender esto, me uní dos exitosos “Olivers”: Oliver Kayser de Berlín (ahora en Groningen) y Oliver Ullrich de Hamburgo. Ambos cubren una vasta área del conocimiento, leyeron todo el libro e hicieron grandes contribuciones. ¡Gracias! Cuando el tema era complejo, he consultado a varios expertos y he comprimido sus opiniones (a menudo muy resumidas) en Cuadros. Los nombres de estos expertos se

encuentran en la página VI. Les estoy agradecido de todo corazón. ¡Espero no olvidar a nadie!

De la **pereza**. Desde hace diez años enseño Biotecnología analítica y Química en Hong Kong. Mis estudiantes de Química chinos no saben casi nada sobre fabricación de cerveza, enzimas de detergentes, DNA, bacterias comedoras de aceite, “arroz dorado”, GloFish®, infarto de miocardio o del proyecto del genoma humano. Así, mis seminarios tendían a consumir mucho tiempo en desviaciones hacia temas biotecnológicos. La propuesta de una bibliografía de 88 libros no era útil. ¡Los estudiantes querían tener un solo libro! Ahora puedo decirles: “¡Comprad y leed mi libro, que cubre todo lo que necesitáis saber!”

De la **diversión**. “La creatividad lo es todo”, dijo Picasso. Convertir este nuevo tipo de libro de texto en un realidad con la ayuda de Darja Sübbier, que para mí es la mejor “artista bio-gráfica” de Alemania, fue una enorme diversión. Todas mis ideas –a veces espontáneas o inmaduras– se consolidaron y transformaron en maravillosos gráficos. Cualquier otra artista gráfica se habría perdido con mi desorden. ¡Gracias, Dascha!

Que David Goodsell en La Jolla hubiera contribuido al libro con sus estupendos gráficos moleculares, fue para mí un sueño, que se hizo realidad. Como me aburrí el recuento de los átomos de carbono del taxol, Francesco Bennardo de Italia le dio un empujón y por arte de magia en una noche creó los modelos espaciales de las moléculas más importantes. ¡Todo esto ha sido una gigantesca diversión!

De la **adicción a imágenes**. En Asia se representa tradicionalmente todo de forma ilustrada. Durante una búsqueda de imágenes en Google me embriagaron las figuras de Biotecnología. La editorial en principio se aterrorizó al ver cómo a partir el “blanco del bonito libro de texto en dos colores” se convertía gradualmente en una explosión de color. ¡Apenas han quedado algunas zonas blancas!

Un problema fue conseguir los derechos de tantas ilustraciones. Sin embargo, casi todos los propietarios de los derechos reaccionaron positivamente. La editorial Ringier me cedió generosamente todos los derechos de la anterior editorial Urania en Leipzig en mi primer libro “Bio-Horizonte”. El virus del escritor de libros ha interactuado con el lector en jefe de la Urania, Bernd Scheiba: “¡Quien escribe, se queda!”

Algunas empresas, como la GBF Braunschweig, la Roche Penzberg, Degussa, la red Transgen y Bioseguridad han dado el visto bueno a docenas de imágenes, mi servidor ha disfrutado con mails de 10-Megabites. Larry Wadsworth de Texas me ha mandado fotos de todos los animales clonados. Si olvidé citar o conseguir a alguien como autor de las imágenes, por favor informadme. ¡No fue debido a un enfado!

El lector notará seguramente también mis propias fotografías: gatos, aves, ranas, delfines, comidas y bebidas, China y Japón –todo se fotografió para ser utilizado en el libro de Biotecnología. Espero que a usted no le moleste verme a mí en mis experimentos en lugar de a un modelo profesional.

De la **furia de la comunicación**. No había nada más maravilloso que sentarse por la mañana, con una taza de café, frente a una vista del mar de China Meridional, abrir el ordenador portátil y mirar los mensajes que me habían enviado por la noche. Encontraba algunas noticias importantes sobre biotecnología, otras no tanto, o recibía nuevos diseños que me enviaba Dascha desde Berlín. Definitivamente viajaron diez mil correos de aquí para allá, ¡y todo el tiempo fue como en Navidad! Gracias, Internet, sin ti el libro no se habría creado. ¡Me siento en una isla subtropical, presiono algunos botones y en Alemania aparece un hermoso libro! Julio Verne estaría impresionado.

¿Quién tuvo la **idea**? Fue Merlet Behncke-Braunbeck quien me prometió convertir mis ideas en un libro de texto. Esta altamente motivadora, efectiva y al mismo tiempo encantador equipo de conferenciantes con Imme Techentin-Bauer, Bärbel Häcker y Ute Kreutzer a veces en voz baja evadieron seguramente, si debía cambiar de lugar o “ampliar” de nuevo durante la noche un capítulo entero, aunque siempre reconfortaron maravillosamente mi espalda y la de Dascha. ¡Gracias, queridas damas!

### ¿Cómo se puede utilizar este libro?

Como una **introducción** para estudiantes de institutos y universidades, para profesores, periodistas o simplemente para personas interesadas en la Biotecnología.

Como **libro de texto para estudiantes**. Se puede estudiar sistemáticamente todos los capítulos e intentar responder a las ocho preguntas que se encuentran al final de cada capítulo.

Para encontrar **experiencias**: El libro se puede hojear rápidamente, y espero que se sienta suficientemente intrigado e inspirado para buscar más información en otros libros especializados o en Internet.

Como **libro de referencia**: Puede ser el punto de partida para resolver una duda sobre biotecnología. Luego el lector puede buscar más información en Internet o en libros especializados.

¿Si esto va bien? A algunos colegas se les puede torcer sus narices. ¡El libro es un experimento! Odio los libros aburridos: los árboles han muerto en vano por ellos.

Me alegro de cualquier comentario de usuarios de este libro.

Mándenme un mail a: [chrenneb@ust.hk](mailto:chrenneb@ust.hk)

Reinhard Renneberg,



Oliver Ullrich con un ratón normal llamado Ollie ...



Oliver Kayser con su hijo y su hija



Historia de la Biotecnología: Francesco Bennardo disfrutando de un producto de la fermentación (flecha roja), por su efecto fue suspendido en las prácticas de orgánica. Francesco fuma hoy en día delante del ordenador y modela moléculas.





# CERVEZA, PAN, QUESO —

## Suculenta biotecnología

- 1.1 Al principio fue la cerveza y el vino: la leche materna de la civilización 2
- 1.2 Las levaduras son los burros de carga de la fermentación alcohólica 2
- 1.3 También hoy en la industria cervecera se utilizan levadura, agua, malta y lúpulo 5
- 1.4 Las células funcionan con energía solar 11
- 1.5 El alcohol no es un placer sino una necesidad para las levaduras 11
- 1.6 Los licores muy concentrados se producen mediante destilación 12
- 1.7 Productos bacterianos: ¡La acidez los hace duraderos! 15
- 1.8 Café, cacao, vainilla, tabaco – Fermentación para el placer 18
- 1.9 Los mohos cooperan con las bacterias y producen queso 18
- 1.10 Sake y salsa de soja 22
- 1.11 ¿Qué es en realidad la fermentación? 22

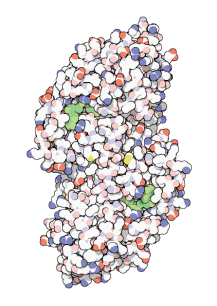




Fig. 1.1 Fabricación de cerveza en Egipto hace 4400 años.



Fig. 1.2 Estatuillas de mujeres haciendo pan hace 6000 años.

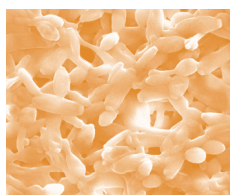


Fig. 1.3 Levaduras en un dibujo de Leeuwenhoek (arriba) y bajo un moderno microscopio electrónico de barrido; claramente se ven los brotes de las células hijas.



Fig. 1.4 Fábrica de cerveza en la Edad Media.

## 1.1. Al principio fue la cerveza y el vino: la leche materna de la civilización

Ya hace 6000 a 8000 años los sumerios en Mesopotamia, el pedazo de tierra entre los ríos Éufrates y Tigris (hoy Irak), dominaron el arte de la preparación de la cerveza. De los cereales germinados produjeron una bebida nutritiva, duradera y embriagadora. Para ello humedecían cebada o trigo Emmer, una antigua forma del trigo, y llevaban el cereal a la germinación. En una tabla pintada sumeria, el Monument Bleu del Louvre en París, del tercer milenio antes de nuestro tiempo, se representan las conchas con Emmer para la preparación de cerveza. De los cereales germinados, la malta, se preparaba entonces el pan de cerveza, se desmenuzaba y se mezclaba con agua. Con un colador trenzado de mimbre se separaba el líquido del residuo y se dejaba en toneles cerrados. Muy pronto aumentaban en los recipientes las burbujas de gas y el líquido empezaba a fermentar.

Del jugo dulce se originaba, en condiciones anaeróbicas mediante **fermentación**, una bebida alcohólica, la cerveza.

Una parte del grano germinado se secaba al sol —esto corresponde al actual secadero— y se mantenía como mercancía duradera para tiempos sin cereales frescos. La cerveza babilónica tenía un sabor ligeramente agrio, que provenía de una **fermentación láctica** paralela escurrida. Con el ácido láctico aumentaba esencialmente la durabilidad de la cerveza, porque en medio ácido muchos microbios no pueden prosperar. En los climas calurosos de Oriente esto era de gran importancia, pues con ello se encontraba disponible una mezcla higiénicamente perfecta para disfrutar de ella.

El alcohol es azúcar fermentado, un producto final del metabolismo de las levaduras. Un 2 o 3 % de alcohol cambia la permeabilidad (fluidez) de la membrana citoplasmática de las bacterias e inhibe con ello su crecimiento. En los climas calurosos de Oriente, el medio de fermentación inhibidor de microbios es una ventajosa, si no decisiva, cualidad higiénica. Gracias a la agricultura la población creció enormemente. El agua potable limpia resultó de repente un problema, como también sucedió en el siglo XIX en Europa. Recordemos también las imágenes actuales de los rituales sagrados en el Ganges. Las heces animales y humanas contaminan y ensucian incluso hoy el agua potable. ¡El agua impura puede ser altamente peligrosa! Los productos de la fermentación, cerveza, vino y vinagre, estaban, sin embargo, exentos de gérmenes peligrosos. Incluso se podía preparar con agua potable ligeramente

sucia, porque no sólo el alcohol sino también los ácidos orgánicos inhibían a los patógenos existentes. El agua no calmó, pues, la sed de nuestros antepasados, sino la cerveza, el vino y el vinagre. Ellos fueron, por así decirlo, la “leche materna de la civilización”. La biotecnología más antigua del mundo era nutritiva, estimulante y también segura —un avance revolucionario, que debió ser sencillamente favorable.

También los egipcios prepararon cerveza. Una antigua pintura de la pared de un santuario egipcio de hace 4400 años muestra el proceso de fabricación del producto (Fig. 1.1).

Los egipcios ya sabían que la fermentación empezaba más rápido si se utilizaban de nuevo los restos de una cerveza próspera. Las cervezas egipcias eran principalmente oscuras; se preparaban de panes de cerveza tostados. Algunas tenían un contenido de alcohol del 12 al 15 %. Los egipcios descubrieron también la botella de cerveza: en la edificación de una pirámide se repartía cerveza en jarras en el lugar de la construcción.

Los celtas y los germánicos prefirieron el aguamiel, una cerveza ácida, que se guardaba en recipientes de hasta 500 litros a unos 10 °C bajo tierra y se mezclaba con miel. Sin embargo, primero se desarrolló la fabricación de cerveza como un arte, cuando los monjes asumieron el tema en el siglo VI. Agradecemos al lema *liquida non fragrant ieunum* (“el líquido no viola la regla de ayuno”) la especial fuerza y contenido de alcohol de las cervezas fuertes.

La palabra “bier” (en alemán *cerveza*) se debió obtener de los antiguos sajones *bere*, o sea cebada. Los fabricantes de cerveza prósperos del pasado no podían saber, por supuesto, que la fermentación era causada por seres vivos, las levaduras.

Fue **Antonie van Leeuwenhoek** (1632-1723) quien vio las primeras bacterias (cuadro 1.1), y con su microscopio de una lente también fue el primer ser humano que encontró perlas amarillas de levadura en una muestra de cerveza (Fig. 1.3). En los tiempos de Leeuwenhoek se utilizaban ya levaduras de forma concentrada y purificada, tanto para la cocción del pan como para la fabricación de cerveza y la preparación del vino.

## 1.2 Las levaduras son los burros de carga de la fermentación alcohólica

Las levaduras se cuentan entre los hongos (*fungi*), en concreto pertenecen a la clase de los hongos con micelio tabicado (*Ascomycetes*), el tipo más abundante de la clasificación de los hongos.

En contraste con las bacterias procariotas, los **eucariotas** (del griego *karyon*, núcleo) tienen una estruc-

### Cuadro 1.1 Historia de la biotecnología: Leeuwenhoek



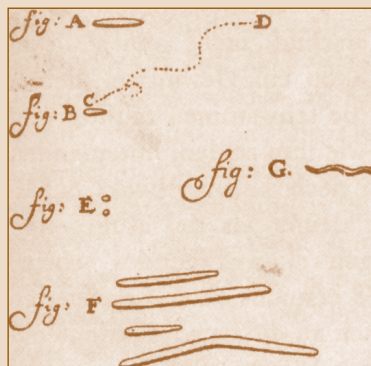
Antonie van Leeuwenhoek trabajando con su microscopio de una lente; con él ampliaba unas 200 veces.

“Teníamos un movimiento muy fuerte y rápido ante nosotros, y disparaban en el líquido como si fuese un humo espeso a través del agua. Estos seres vivos eran muy pocos en número. El segundo tipo tenía una forma como en B. Éstos giraban frecuentemente en círculos y tomaban entonces un movimiento como en C y D. Existían en grupos mucho mayores en número. Al tercer tipo no le pude dar una forma, porque por un lado parecían como un óvalo y por otro lado como un círculo. Eran tan pequeños que no los podía ver más grandes que como en la Fig. E y por ello zumbaban tan rápidamente en la confusión, que era como tener un gran enjambre de moscas o mosquitos ante mí.

Eran tan numerosos, como granos de arena, que creí ver mil en la mezcla de agua, o también en la saliva (disminuye con la materia mencionada), aunque había conseguido la muestra entre los dientes incisivos y las muelas. Principalmente constaba la materia de una cantidad de estructuras en forma de palo de longitudes muy diferentes y en cambio del mismo grosor, que se doblaban en ángulo, otras rectas, como en la Fig. F, que se disponían desordenadas en la confusión.” (Fuente: Paul de Kruif, Cazadores de microbios, 1940.)

Con esta observación microscópica de su placa dental, un científico autodidacta, el mercader Sr. **Antonie van Leeuwenhoek** (1632-1723), abrió en la pequeña ciudad holandesa de Delft un nuevo mundo a la humanidad. Fue la primera persona que vio bacterias y las dibujó. Todo ello empezó cuando Leeuwenhoek observó de un fabricante de gafas en un mercado anual el arte de un pulidor de lentes. Con obsesión hasta

la locura, empezó a pulir lentes de cristal cada vez más gruesas, hasta que alcanzó con su arte aumentos de 200 veces en el microscopio. Durante horas le pudo cautivar, bajo su microscopio de una lente, convertir un fino pelo de oveja en una gruesa sog.



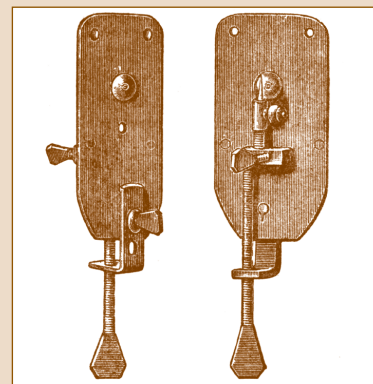
El primer dibujo de bacterias por Leeuwenhoek. Del publicista científico británico Brian F. Ford se analizó una imagen a través del microscopio de Leeuwenhoek. ¡Leeuwenhoek en realidad pudo ver espirilos (Fig. G)!.

Un día, Leeuwenhoek tuvo la idea de investigar una gota de agua de una cuba de lluvia. No se sobresaltó poco cuando vio bajo el microscopio una multitud de pequeños seres vivos. Nadaban enérgicamente por todas partes y jugaban unos con otros, como le pareció a él. Los seres vivos eran, según Leeuwenhoek, tesoros mil veces más pequeños que el ojo de un piojo.

Por la presión de un amigo, Leeuwenhoek escribió en 1673 por primera vez una carta entusiasta en holandés a la agrupación más importante de científicos del mundo en ese momento, la Royal Society de Londres. Los hombres eruditos leyeron con asombro la descripción de la “miserable pequeña bestezuela”, como denominó Leeuwenhoek a los raros animalillos.

El investigador inglés **Robert Hooke** (1635-1703), como socio de la Royal Society era en ese tiempo responsable de cada encuentro para conocer a los que mostraban nuevos experimentos. Él mismo investigó con su microscopio de varias lentes en forma de corcho de botella, y con él descubrió una muestra ordenada regularmente de pequeños agujeros, que denominó “células”. Hooke construyó con la información de Leeuwenhoek el microscopio de Holländer y pudo confirmar sus observaciones. No sospechó que los pequeños “animalillos” también constaban de células, o al menos de una úni-

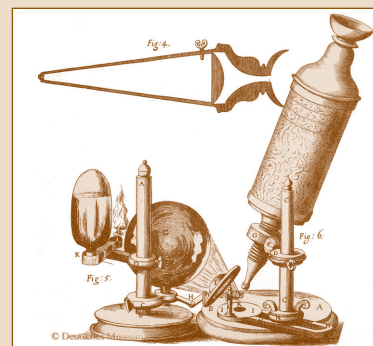
ca célula. Los científicos de la Royal Society se convencieron sólo con sus propios ojos de la existencia microscópica de seres vivos más pequeños. Las “miserables bestezuelas” provocaron su activo interés. Leeuwenhoek, que no había asistido a ninguna Universidad, fue escogido en 1680 por unanimidad como socio de la Royal Society, por su habilidad, curiosidad y resistencia más conseguidas que las de muchos científicos de su tiempo, que ante la pregunta de cuántos dientes tiene un burro consultaban en las escrituras del antiguo maestro griego Aristóteles antes que mirar en la boca de un animal gris.



Microscopio de Leeuwenhoek. Él fabricó aproximadamente 500 microscopios de una lente.

Reyes, príncipes y científicos de todos los países se interesaron en los descubrimientos de Leeuwenhoek. La reina de Inglaterra y Federico I de Prusia lo visitaron, así como el Zar de Rusia Pedro el Grande, que se detuvieron con nombres falsos en Holanda para estudiar la construcción naval.

Las “bestezuelas” maravillaron durante largo tiempo como curiosidad y luego pasaron de nuevo al olvido.



Microscopio de varias lentes de Robert Hooke, con el que investigó estrechos cortes delgados de corcho y describió las “células”.



### Cuadro 1.2 Las fábricas de cerveza actuales

La cerveza se hace en Alemania según se preparaba en Baviera ya en 1516 bajo la vigencia de la **ley de pureza** (véase pág. 21) a partir de cebada de malta, lúpulo y agua, y la adición de levadura.

Los cereales que contienen almidón no pueden fermentar directamente, sino que primero, mediante las **enzimas fragmentadoras de almidón (amilasas)**, deben convertirse en cereales germinados y activarlos a azúcar de malta (maltosa) y “romperlos” a azúcar de uva (glucosa). A la fabricación de la cerveza pertenecen, por lo tanto, los procesos de preparación de la malta, preparación del mosto y fermentación.

Primero, la cebada mana al **contenedor de malta** tras la limpieza y clasificación uno o dos días con agua. Se dejan germinar los granos de cebada a 15-18 °C en grandes cajas germinadoras con agitación automática y se interrumpe el proceso de germinación tras siete días.

En la **malta verde** así obtenida sólo se alcanza en parte la degradación enzimática del almidón a maltosa. Se seca (secadero) y luego, aumentando gradualmente la temperatura (primero a 45 °C, luego a 60-80 °C, para la cerveza negra hasta 105 °C), con agitación y agrupación se obtiene la **malta agitada**.

En la **fabricación de cerveza**, para la preparación del mosto, la malta cocida se remoja, es decir, se agita y se calienta con mucha agua. En la **malta remojada** se superan en fases de parada los procesos de degradación enzimáticos: a 50 °C las  $\beta$ -glucosidasas degradan el “material elástico”, que impide la filtración. A 50-60 °C se consigue la “parada de proteína”: las proteínas se fragmentan. En la “parada de azúcar” (60-74 °C) las enzimas degradadoras de almidón ( $\alpha$ - y  $\beta$ -amilasas) separan los restos completamente del almidón en glucosa y maltosa, y se degradan fragmentos de almidón mayores (dextrinas).

La disolución escurrida (**mosto**) tras la precipitación o filtración se cuece con lúpulo, para concentrarla, liberarla de gérmenes y aromatizarla. El lúpulo con su contenido en material amargo, resinas y aceites esenciales, aporta a la cerveza el sabor amargo estimulante y una mejor durabilidad.

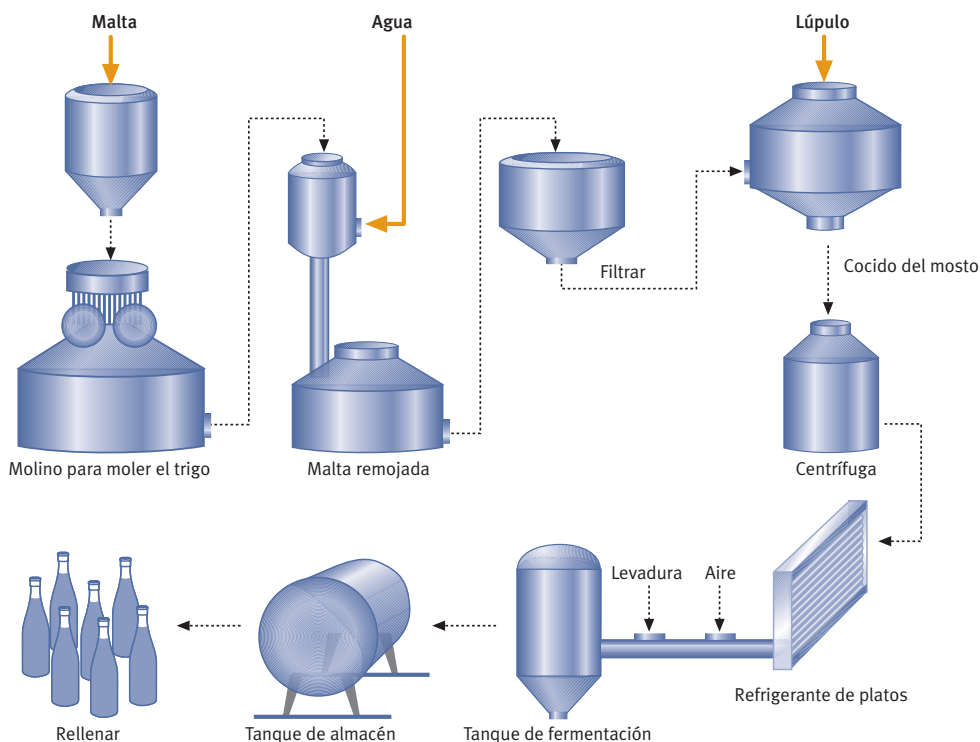
El **contenido de mosto troncal** es el contenido en materiales solubles extraídos, como glucosa y maltosa, en gramos de sustancia seca por 100 gramos de mosto, y está estipulado claramente en la ley de la pureza de la cerveza: las cervezas sencillas contienen un 2 a 5,5 % de mosto troncal, las cervezas límite 7-8 %, las cervezas completas 11-14 % y las cervezas fuertes por encima de un 16 %. El

mosto con lúpulo se rebaja y se filtra (se **purifica** en cubas de purificación). Las enzimas que fragmentan almidón se inactivan por cocción, de modo que en la posterior fermentación con levaduras sólo se degraden la glucosa y la maltosa, pero no los fragmentos de almidón cortos (dextrina) indeseados en la cerveza.

Tras el enfriamiento del mosto y la captación de oxígeno se produce la **fermentación mediante la levadura introducida** (trazas de cultivo purificado de *Saccharomyces cerevisiae*). La levadura necesita oxígeno para crecer y proliferar.

Las cervezas (Pilsen, de Dortmund y de Munich, Bock) son duraderas gracias a una lenta **subfermentación** (en 8-10 días), cervezas Lager que pueden ser enviadas, mientras que en una rápida **sobrefermentación** (4-6 días) se originan cervezas más ligeras. Subfermentados son todos los tipos de cerveza corrientes, y también la cerveza de barril. Sobrefermentadas son la cerveza blanca de Berlín, Kölsch y Alt, la cerveza Karamel, así como los tipos de cerveza inglesas Ale, Porter y Stout.

Para terminar se permite a la cerveza la maduración final en sótanos frescos y una posterior fermentación lenta durante varias semanas a 0-2 °C en barriles en almacén, de los cuales se rellenan barriles de envío o, tras la filtración, botellas.



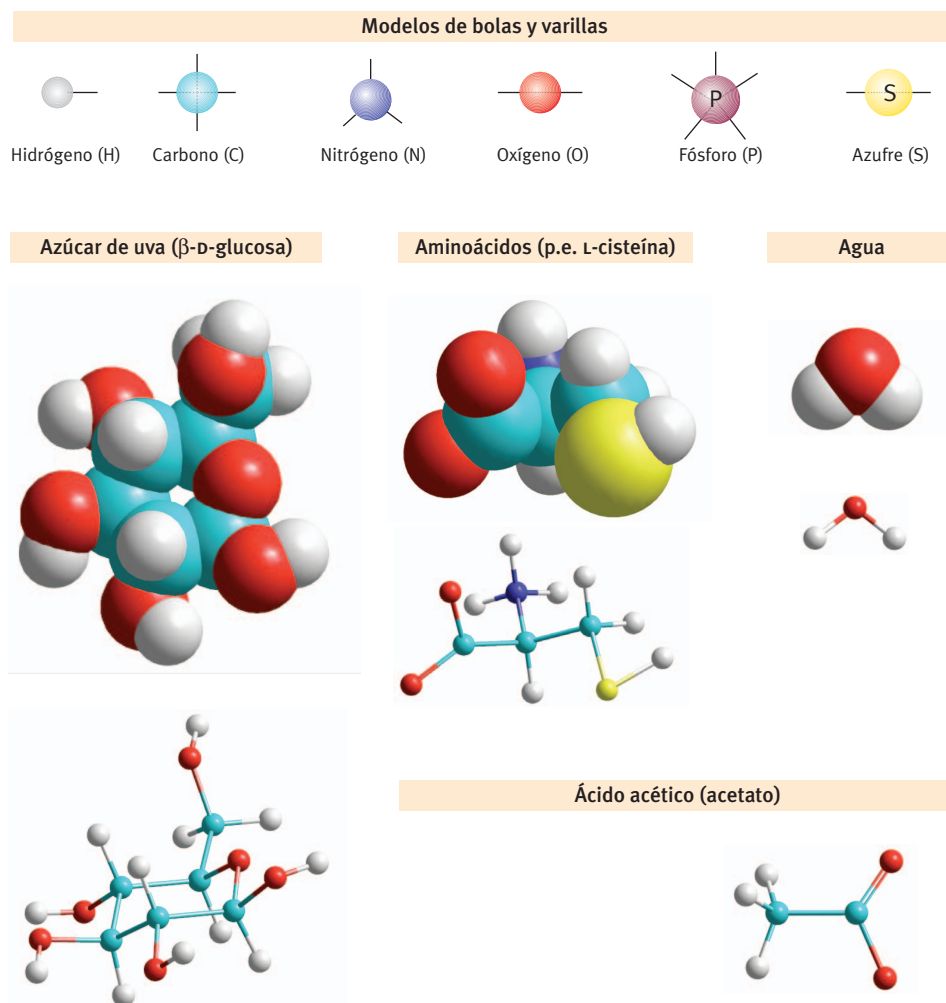


Fig. 1.5 En este libro se presentan los átomos y las moléculas en diferentes representaciones.

tura celular compleja (compartimentos como mitocondrias) y un **auténtico núcleo celular**. Se denominan también hongos productores de esporas, porque se multiplican sobre todo asexualmente (vegetativos) mediante esporulación. Sin embargo, también se pueden reproducir sexualmente por copulación de dos células esporas haploides. Éstos tienen una composición cromosómica completa simple. Las levaduras se clasifican según el tipo de reproducción de los diferentes tipos de hongos.

Las levaduras constan solamente de una única célula. Esta célula madre forma en la esporulación varias protuberancias, brotes hijos, que se separan, son a su vez viables y pueden formar nuevas células (Fig. 1.3). Crecen de modo heterótrofo (a partir de nutrientes, sin fotosíntesis) preferentemente a valores de pH ácidos. Su pared celular consta, como la sustancia del esqueleto de los insectos, de quitina, y además de hemicelulosa. La cerveza se origina mediante fermentación alcohólica a partir de los hidratos de carbono de las semillas de los cereales. Sin embargo,

éstos se encuentran en gran parte como polisacáridos y están disponibles para las enzimas de la glucólisis de las células de la levadura (Fig. 1.15), si son degradados a disacáridos y monosacáridos por las amilasas.

### 1.3 También hoy en la industria cervecera se utilizan levadura, agua, malta y lúpulo

También hoy la fabricación de cerveza empieza, como ya hacían los sumerios con el germen de cebada, con su conversión en la **malta que contiene enzimas** (cuadro 1.2).

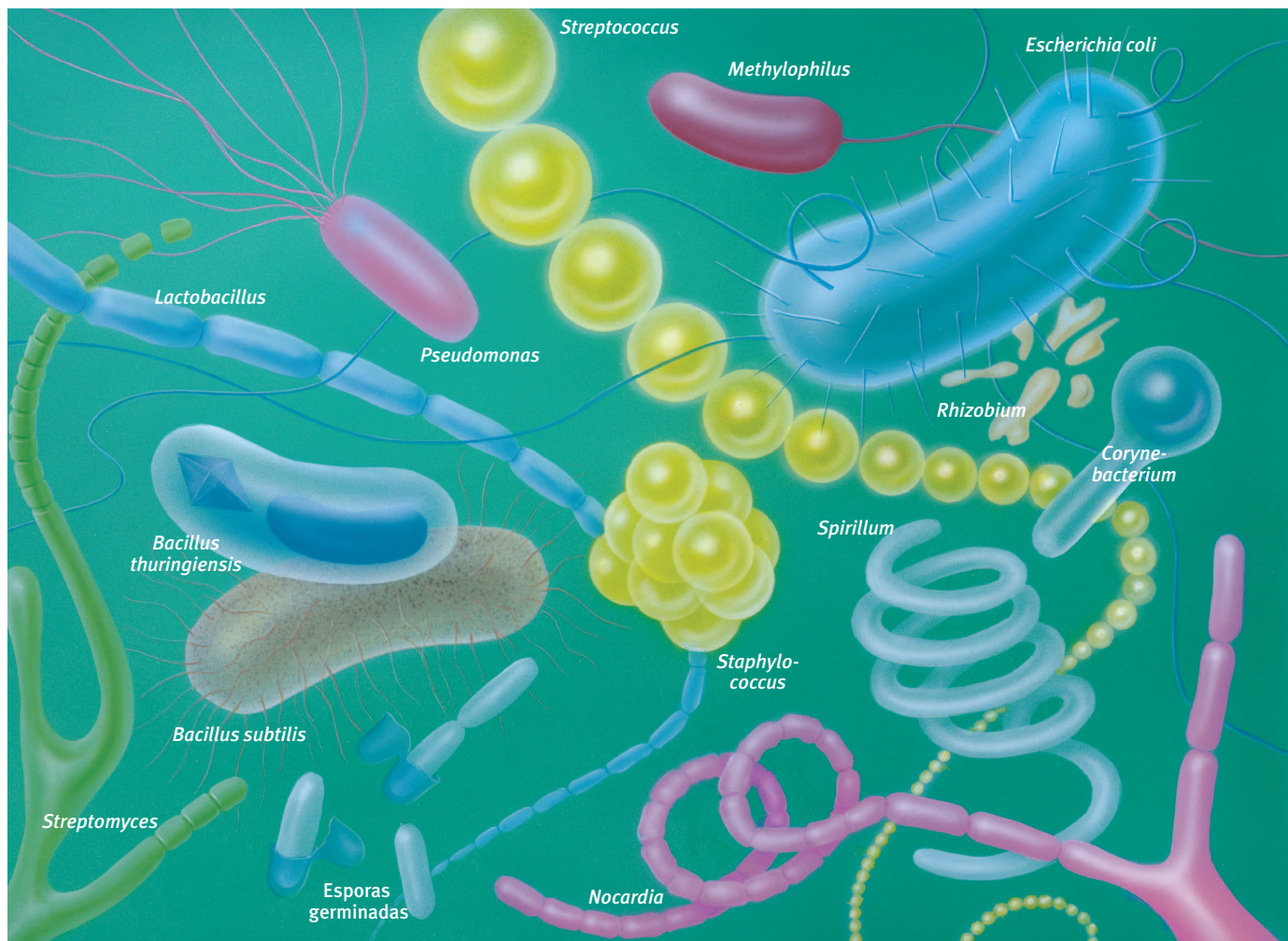
La malta se tritura entonces y se mezcla con agua templada. Esta **malta remojada** se introduce en un tanque, donde a partir del almidón de los cereales, que se guarda en los granos, gracias al efecto de las enzimas que degradan almidón (amilasas) se originan en unas horas azúcar de malta (maltosa), azúcar de uva (glucosa) y otros azúcares. Las enzimas que degradan la pared celular ( **$\beta$ -celulasas**) destruyen las envolturas externas de los granos de cereal,



Fig. 1.6 Fábrica de cerveza en el antiguo Egipto.



Fig. 1.7 Cerveza con burbujas de dióxido de carbono claramente visibles.



**Fig. 1.8 Bacterias**

Las bacterias son procariotas, es decir, su información genética no está localizada en un núcleo celular sino que se encuentra libre en el citoplasma como DNA de doble hebra en forma de anillo.

Les faltan los típicos orgánulos subcelulares de los eucariotas (levaduras, células de plantas y animales superiores), como las mitocondrias (para la respiración celular) o los cloroplastos (para la fotosíntesis) y el retículo endoplasmático.

Las bacterias viven predominantemente de modo heterótrofo, es decir, captan su energía de la materia orgánica. Sin embargo, también existen tipos que pueden captar energía fotosintéticamente o de enlaces inorgánicos (por ejemplo azufre).

Entre las bacterias hay unicelulares móviles e inmóviles (por ejemplo pequeños bacilos), pero también pluricelulares, por ejemplo asociaciones celulares del género *Nocardia* y redes similares a hilos de hongos (micelios) del tipo de *Streptomyces*.

La ilustración muestra las bacterias con importancia en biotecnología. Sus paredes celulares están construidas de manera diferente (Cap. 4). Por su coloración bajo el microscopio se distinguen las bacterias grampositivas de las gramnegativas.

A los **bacilos y cocos gramnegativos aeróbicos** pertenecen *Pseudomonas* (utilización de hidrocarburos, oxidación de esteroides) y *Acetobacter* (formación de ácido acético), *Rhizobium* (oxidación de nitrógeno) y *Methylophilus* (proteína unicelular, oxidación de metanol).

Los **bacilos gramnegativos anaeróbicos facultativos** son, por el contrario, las bacterias intestinales *Escherichia coli*, los “animales de compañía” del ingeniero genético.

*Bacillus* (producción de enzimas) y *Clostridium* (producción de acetona y butanol) pertenecen a los **bacilos y cocos grampositivos formadores de esporas**.

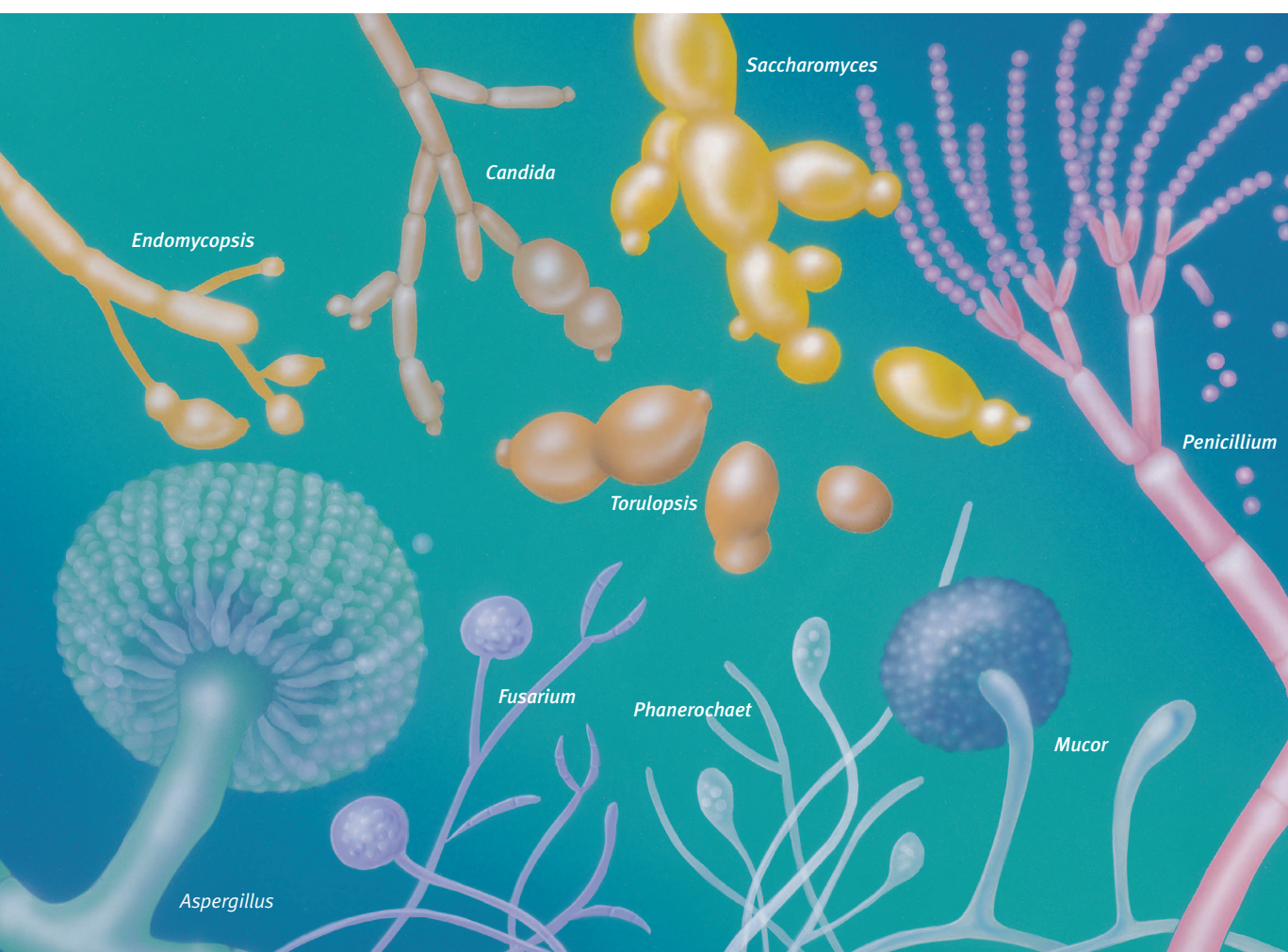
Los grampositivos en forma de maza del tipo *Corynebacterium* forman aminoácidos.

Los cocos grampositivos son los formadores de ácido láctico, como *Streptococcus*, *Staphylococcus* (intoxicación de alimentos), *Propionibacterium* (vitamina B<sub>12</sub>, preparación de queso), *Nocardia* (oxidación de hidrocarburos) y estreptomicetos (antibióticos, enzimas).

*Lactobacillus* (formación de ácido láctico) se cuentan entre las **bacterias grampositivas no formadoras de esporas**.

Las bacterias producen un gran daño al causar enfermedades y estropear alimentos, pero sin embargo también tienen un enorme significado económico en los procesos biotecnológicos.





**Fig. 1.9 Hongos**

Los hongos desempeñan un papel destacado en los ciclos de la naturaleza, sobre todo en los procesos de degradación. Se han clasificado hasta ahora aproximadamente 70 000 hongos.

Las **levaduras** pertenecen, como todos los hongos, a los eucariotas, es decir, su material genético está concentrado en un núcleo celular. Son **hongos productores de esporas (endomicetos)**.

A partir de levaduras salvajes se obtienen cultivos de levaduras que tienen un gran significado industrial, como las levaduras de cerveza (por ejemplo *Saccharomyces carlsbergensis*), levaduras de vino y de pan (*S. cerevisiae*) y levaduras del forraje (*Candida*). *Candida utilis* crece sobre las aguas residuales de sulfito de las fábricas de celulosa como levadura de forraje. *Candida maltosa* se alimenta de alcanos (parafinas) del petróleo y puede generar forraje. *Trichosporon cutaneum* es un importante aeróbico que se encuentra en aguas residuales, que incluso puede degradar fenol —un veneno para otros hongos. *Trichosporon* y la levadura *Arxula adenivorans* se utilizan como sensores

microbianos en aguas residuales (Capítulos 6 y 10).

Los **mohos** pertenecen a los **mohos con sacos esporales o esporangios en forma de manguera (ascomicetos)**, que con 20 000 tipos es el grupo mayor de los hongos. Tienen, en contraste con las levaduras redondeadas, largas células estiradas, y viven principalmente estrictamente aeróbicos. Los mohos forman esporas asexualmente mediante división de los núcleos celulares de los sacos esporales, que en general se expanden en el aire del micelio. Las esporas maduras se propagan con facilidad con el viento. Si caen en un sustrato apropiado, germinan y forman nuevos micelios.

Muchos hongos se clasifican según su apariencia (morfología) y el color de sus sacos esporales (esporangios), porque el micelio generalmente es difícil de distinguir, pues es incoloro y representa un desorden en forma de tubo. Puesto que los hongos más importantes industrialmente se introducen (sumergen) principalmente en tanques como grumos móviles de micelios, no forman esporas.

En cuanto a alimentación, los mohos son similares a las levaduras, aunque se tratan más versátilmente. Así, algunos pueden —en contraste con las levaduras— crecer también sobre celulosa (*Trichoderma reesei*) o lignina (*Phanerochaete chrysosporium*) (Cap. 6).

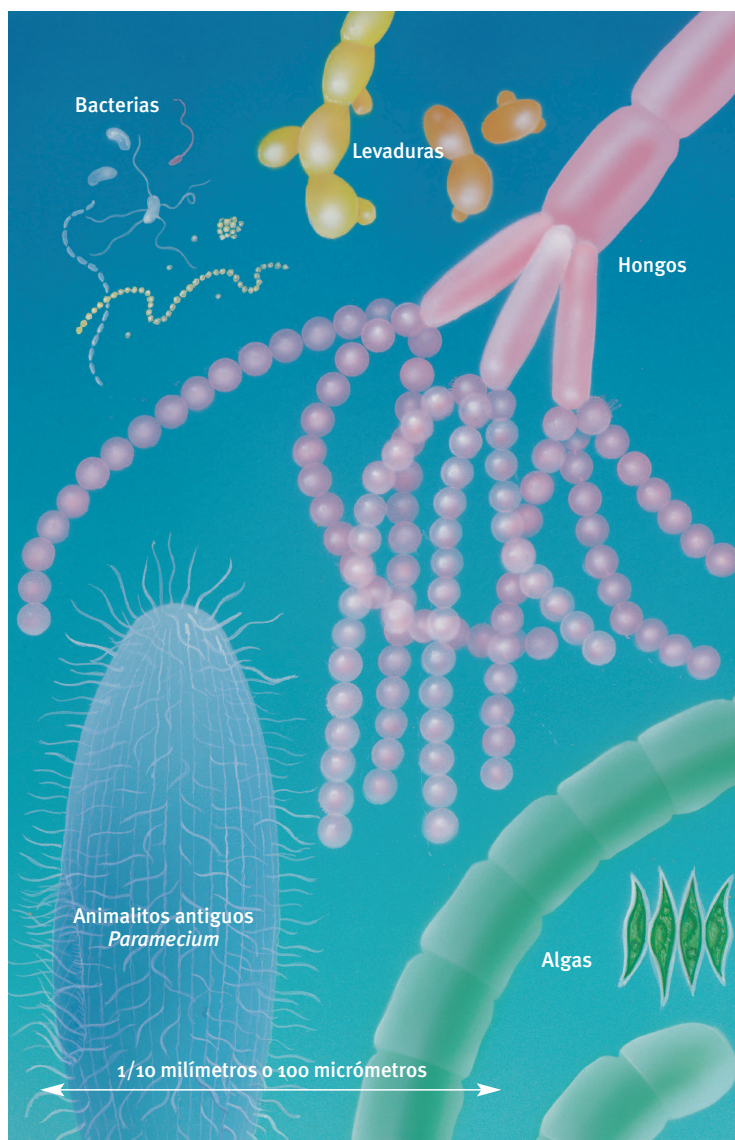
Los mohos del género *Aspergillus* (mohos con esporangios en forma de regadera) y *Penicillium* (mohos con esporangio en forma de pincel) son la base para muchas fermentaciones, particularmente para la degradación del almidón y las proteínas en la cebada, el arroz y las habas de soja.

*Aspergillus niger* produce ácido cítrico. *Penicillium chrysogenum* es el productor de penicilina (Cap. 4).

Otros mohos con esporangio en forma de pincel generan quesos como el camembert y el roquefort. Las amilasas y proteasas generadas por hongos se obtienen también como preparados enzimáticos industriales (Cap. 2).

*Endomycopsis* y *Mucor* producen también enzimas industriales.

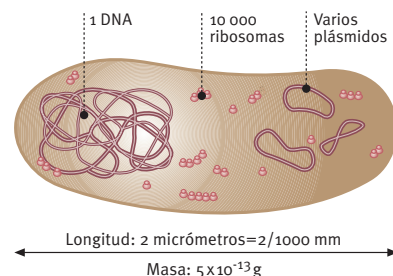
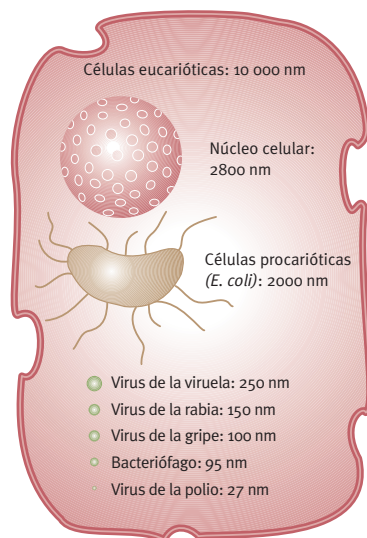
*Fusarium* se utiliza para la producción de proteínas para la alimentación humana ("Quorn", Cap. 6).



**Fig. 1.10** Comparación de la medida de importantes microorganismos biotecnológicos. La longitud de los cilios (*Paramecium*) indica el grosor de un pelo humano: 1/10 milímetros o 100 micrómetros.

**Fig. 1.11, derecha:** Proporciones de células eucarióticas y procarióticas y virus.

**Fig. 1.12, derecha más allá:** Una célula bacteriana (*Escherichia coli*) en cifras.



#### Número de moléculas y porcentaje en peso

Agua	$10^{10}$	80,0%
Proteínas	$10^6 \cdot 10^7$	10,0%
Azúcar	$10^7$	2,0%
Lípidos	$10^8$	2,0%
Aminoácidos y ácidos orgánicos	$10^6 \cdot 10^7$	1,3%
DNA	1	0,4%
RNA	$10^5 \cdot 10^6$	3,0%
Materia inorgánica	$10^8$	1,3%

para que la  $\alpha$ -amilasa pueda atrapar el almidón del interior de las semillas. A continuación se filtran los componentes sólidos de la malta remojada y se lleva la parte líquida dulce al caldero de la mezcla. Se añade entonces el lúpulo, que aporta a la cerveza su sabor amargo especiado.

El **mosto** así creado es vertido por el fabricante de cerveza a un tanque de fermentación y se añaden las levaduras de la **fabricación de la cerveza**.

Entonces empieza la **fermentación alcohólica**. Tras la fermentación se guarda la cerveza algún tiempo en tanques, para madurar. Para terminar, la cerveza se calienta brevemente para destruir microbios perjudiciales, y entonces se vierte en botellas, latas o barriles.

Los procesos fundamentales en la fabricación de cerveza moderna son, pues, los mismos desde hace más de mil años. Pero entonces los seres humanos utilizaron los microorganismos inconscientemente para sus propósitos.

Casi todos los pueblos de la Tierra hicieron en la antigüedad descubrimientos similares a los de los sumerios. El **vino** se inventó seguramente hace 6000 años en la zona del monte Ararat. Sin embargo, los más recientes hallazgos remiten a los chinos como los descubridores del vino hace 9000 años, en la Edad de Piedra (cuadro 1.7).

Los antiguos griegos y romanos preferían el jugo fermentado de las uvas, el vino (cuadro 1.3). Los romanos fueron, pues, los que llevaron el desarrollo y la fabricación del vino al Rhin y Mosel. Del mijo, los africanos obtuvieron con *Schizosaccharomyces pombe* la **cerveza pombe**; el pueblo de la estepa asiática fermentó leche de yegua en botas de cuero para el **kumys**; los japoneses preparaban **sake**, una bebida



### Cuadro 1.3 Vino y licores

Para la preparación del vino primero se aplastan las uvas en las prensas. En la fabricación del vino blanco sigue enseguida el **prensado** (prensas) o el pisado, y el jugo (mosto) se separa de los tallos, las pieles y los granos (como residuo, denominado orujo). La adición de **pectinasas** (Capítulo 2) incrementa el rendimiento del jugo considerablemente y conduce a un mosto más claro. En la producción de vino **tinto** se mantiene sin separar el prensado directo del fermentado principal, pues el colorante de las antocianinas está localizado principalmente en las pieles de las uvas rojas y azules, y pasan a la disolución con la formación de alcohol. Por ello este prensado se separa tras 4 o 5 días en reposo.

La fermentación tiene lugar a través de la parte exterior de los granos de uva por las bacterias encargadas de ello o por la inocuidad y calidad tras una anterior pasteurización mediante la adición de cultivos purificados de **levadura** (cepas de *Saccharomyces cerevisiae*). El proceso transcurre con una enorme formación de espuma. El “mosto del vino” así originado, que nubla las células de levadura, en algunas zonas es apreciado como bebida. Durante los cuatro a ocho días que dura la **fermentación principal** se utiliza casi el azúcar total. Las proteínas y pectinas se segregan en forma insoluble y se unen con las levaduras como almacenadoras de los restos descritos, que se separan del vino. En el primer año, en una lenta posfermentación en las frías bodegas fermenta aún el azúcar restante (crecimiento); entonces se origina un segundo almacenamiento. Simultáneamente se forman en el vino los materiales aromáticos que originan el bouquet (aroma, flores). El vino joven disponible tras la terminación de la fermentación se tapa herméticamente, antes de rellenar los barriles de almacenamiento ensulfatados, en los cuales (de vez en cuando con aireación temporal) se consigue su **maduración**. Durante este tiempo empieza también el tratamiento en la bodega. Éste sirve en primera instancia para aumentar la durabilidad (por ejemplo mediante azufre, pues el dióxido de azufre es más venenoso para las bacterias que para las levaduras) y la clarificación. Los principales vinos tienen un contenido en etanol entre el 10 y el 12%.

Un proceso más importante es la **degradación del ácido málico (malato)**, mediante bacterias lácticas, a ácido láctico (lactato) esencialmente débil. Sin esta *fermentación*

*maloláctica* los vinos alemanes, debido a su alto contenido ácido (de 8 a 10 g/L), no podrían beberse.

La **diferenciación de los vinos** tiene lugar según el color (principalmente vino blanco y tinto), el origen y el tipo de vid (por ejemplo Riesling, Trollinger, Spätburgunder, Silvaner). El **contenido restante de azúcar** se produce interrumpiendo la fermentación o la adición del mosto: seco (max. 9 g/L), semiseco (max. 18 g/L) y dulce (más de 18 g/L). Los **vinos reforzados**, como Madeira, Jerez, Oporto o Vermut, son vinos a los cuales se añade azúcar, etanol y a veces hierbas. Los microbios no intervienen para nada.

El **champán y otros vinos espumosos** requieren una fermentación doble. Se incluye deliberadamente CO<sub>2</sub> dentro de la botella. A una mezcla de vino blanco se le añade jarabe de azúcar y se rellenan botellas tapándolas especialmente fuerte con corchos. Las botellas se almacenan en un estante (pulpito), donde el vino puede fermentar lentamente. Una levadura de champán especial crece en la botella. Durante meses se dejan depositar lentamente, con las botellas boca abajo. Las levaduras y los residuos se almacenan entonces sobre el corcho. En ese momento se reemplaza rápidamente el corcho y se añade jarabe de azúcar y brandy. Así se origina un vino noble duradero, que gotea con lágrima fina durante largo tiempo después de abrirlo. En el **vino espumoso**, en cambio, se añade CO<sub>2</sub> bajo presión a un vino tranquilo.

Entre los **espirituosos** (del latín *spiritus*, espíritu) se encuentran los aguardientes, licores, ponches y bebidas mezcladas (cócteles). Son bebidas ya fermentadas, como el vino o productos de féculas, o bien disoluciones de azúcar, como zumo de fruta o melazas, que después de la fermentación se procesan hasta licor, es decir, se destilan. En los denominados licores nobles (brandy, coñac, ron, arrak, whisky, genciana, ginebra y licores de frutas) permanecen los productos originados junto al etanol (éster, alcoholes superiores, aldehídos, ácidos, acetato, etc.), debido a su sabor aromático agradable, completamente o en parte en el destilado. Si se fermentan productos fuertes, se origina poco alcohol.

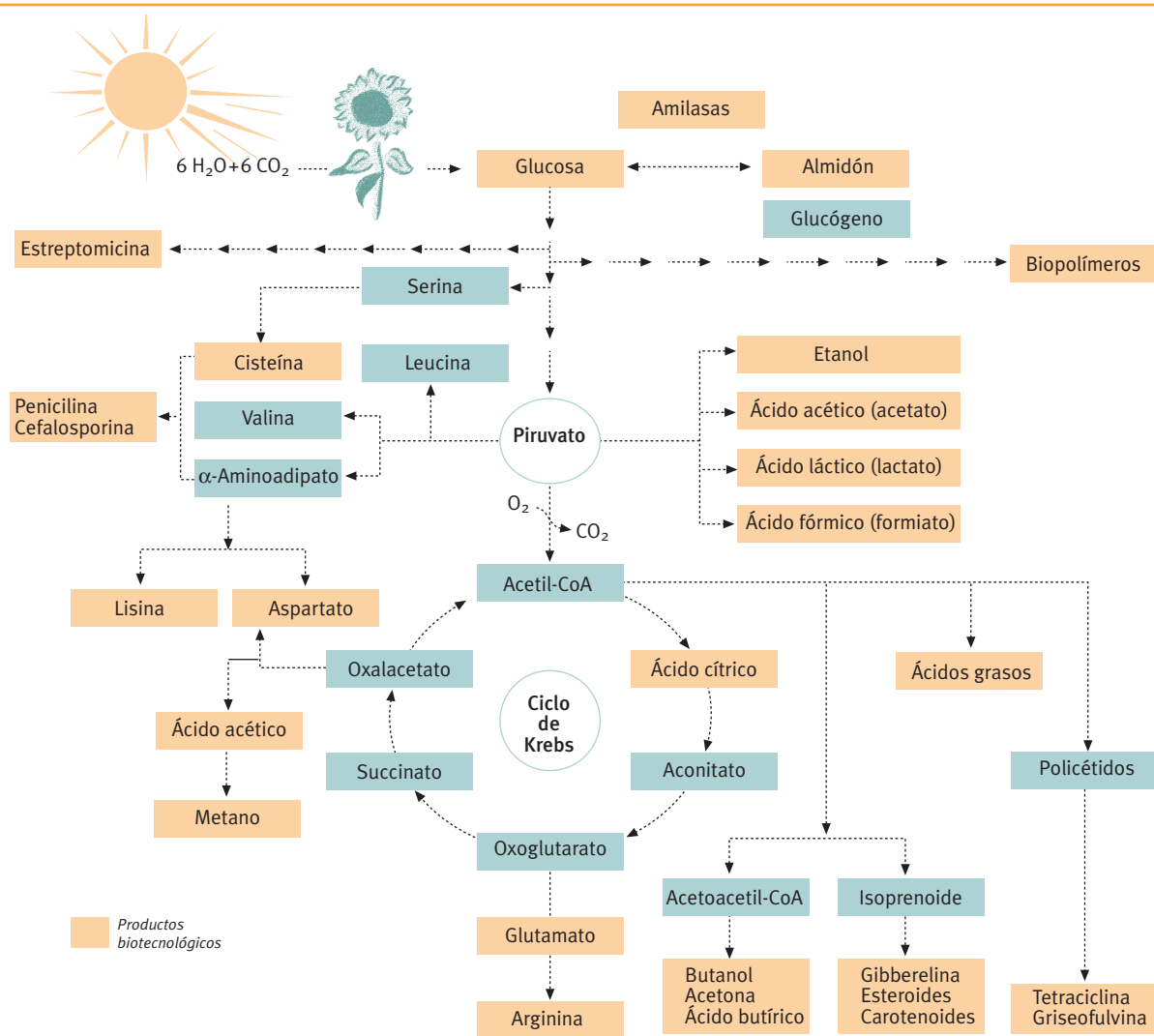
Las **bebidas aguardientes** habituales se producen en general simplemente por rutas frías mediante mezclas de licores primarios con agua y con determinadas sustancias sabrosas (por ejemplo anís, hinojo, comino,

enebro) descritas como especias. Deben contener al menos un 32 % en volumen de etanol. Los **aguardientes de cereales** (también denominados aguardiente de trigo o licor de trigo) pueden ser de centeno, trigo, trigo sarraceno, avena o cebada. En el **whisky** original procedente de Escocia o Irlanda (al menos 43 % en volumen de etanol), los granos de malta se exponen a menudo directamente a humo de turba o carbón. El **vodka** con un 40 a 60 % en volumen de etanol consta de centeno, patatas u otras plantas feculentas, y se consigue a través de varias destilaciones contracorrente de afrecho. La ginebra se consigue añadiendo bayas de enebro a la malta remojada de cereales o de la extracción de bayas de enebro por destilación.

Los **aguardientes de frutas** (al menos 38 % en volumen de etanol) se obtienen a partir de una destilación directa del fermentado completo de frutas o bayas, o de sus jugos, sin adición de azúcar, más etanol y colorantes. El licor de cerezas, el licor de ciruelas o Slivowitz, y el “**espirituoso**” (aguardiente de frambuesas, aguardiente de enebro) constan de frutas de bayas, albaricoques y melocotones no fermentados con la adición de alcohol. El brandy (al menos 38 % en volumen de etanol) sólo puede producirse de vino.

El nombre de **coñac** es exclusivo del brandy que se produce de uvas, cosechadas en la zona de los departamentos de Charente-Maritime, Charente, Dordogne y Deux-Sèvres. El **ron** se obtiene del jugo y de los remanentes de la caña de azúcar mediante fermentación y destilación (contenido medio de etanol 38 % en volumen). El producto de partida para el **arrak** es arroz o el jugo de dátiles de palmera.

Para obtener **licores**, los espirituosos se tratan con azúcar y determinados productos aromáticos, maceración o destilación con plantas y frutas. Los **ponches** (del hindú *panscha*, cinco) son preparaciones calientes con cinco ingredientes: etanol, condimentos, zumo de limón, azúcar y un poco de té o agua. Los cócteles (en inglés **cocktail**, cola de gallo), bebidas mezcladas que contienen etanol, estimulantes del apetito, reciben su nombre de la guerra de la independencia americana. Entonces se esforzaban en colocar diferentes tipos de líquidos sin mezclar unos sobre otros, de modo que la bebida se asemejaba a una magnífica cola de gallo.



#### Cuadro 1.4 Cómo se transforma la glucosa

La degradación de la glucosa (**glucólisis**) empieza en la célula con un traslado enzimático de un grupo fosfato del cofactor adenosina trifosfato (ATP) (Fig. 1.15). Esta transformación utiliza energía. En los siguientes pasos, la energía se libera de los productos.

Se forman los **cofactores nicotinamida adenina dinucleótido (NADH)** y **ATP**. Los cofactores son importantes productos de ayuda regenerables para enzimas (véase Cap. 2). Los seis átomos de carbono originales que contiene la molécula de glucosa por degradación enzimática se fragmentan en dos partes; finalmente se origina **piruvato** (ácido pirúvico) de glucosa, tras una secuencia de reacciones enzimáticas.

El piruvato desempeña un papel central en el metabolismo. La parte principal del piruvato se oxida y se libera "ácido acético activado" (acetil-coenzima A). Con ello se origina también por primera vez un producto final de la combustión de glucosa:  $\text{CO}_2$ . Ahora quedan en el acetil-coenzima A sólo dos átomos de carbono. Una pequeña cantidad de piruvato se convierte en oxalacetato. Con esta pequeña cantidad de oxalacetato empieza el denominado **ciclo de Krebs** (por su descubridor, el bioquímico alemán emigrado a Inglaterra y ganador del premio Nobel Sir Hans Krebs), también denominado ciclo de los ácidos tricarbónicos, en el cual los dos átomos de carbono del acetil-coenzima A entran en un ciclo y se oxidan a dos moléculas de  $\text{CO}_2$ . Los productos intermedios del ciclo de Krebs, como el ácido cítrico, están disponibles normalmente a concentra-

ciones menores; se decide en un equilibrio de flujos (Cap. 4). En la degradación de glucosa, la deshidrogenación (pérdida de hidrógenos) libera energía. Para ello interviene el cofactor oxidado  $\text{NAD}^+$ , sobre el cual se transfiere el hidrógeno con el tiempo. Sin embargo, el cofactor reducido (NADH) debe "liberar" hidrógeno de nuevo, porque si no no podrían producirse las reacciones de degradación de glucosa que liberan energía. Esto ocurre mediante reacciones enzimáticas en las mitocondrias, en la denominada **cadena de respiración**. En la cadena de respiración, el hidrógeno del NADH lo utiliza la enzima **citocromo oxidasa** (Fig. 1.14 y Cap. 2), descubierta por Otto Warburg, para quemar hidrógeno con una elevada obtención de energía "fría" a agua. Con ello se obtiene energía.

alcohólica de arroz; los rusos **kwass** con tipos de *Lactobacillus* y el moho *Aspergillus oryzae* para azucarar.

Hasta hoy la **producción del vino** (Cuadro 1.3) ha cambiado sólo un poco: de uvas rojas y blancas, tras la vendimia se obtiene por aplastamiento y presión (prensas de vino) jugo de uva. Este jugo filtrado fermenta en barriles cerrados. Antes eran barriles de madera, hoy se utilizan tanques de metal con capacidad de hasta 250 000 litros. Mundialmente se producen cada año alrededor de quinientos millones de hectolitros.

## 1.4 Las células funcionan con energía solar

Diariamente la esfera incandescente del Sol manda cuatro miles de billones de kWh de energía a la Tierra. El Sol, por consiguiente, cada 30 minutos suministra gratis la energía que utilizan todos los habitantes de la Tierra juntos en un año. Sólo tres milésimas de esta energía solar se transforman en energía química mediante fotosíntesis en las plantas verdes.

El agua, con la ayuda de un cuanto de luz energético, se destruye en los cloroplastos de las células (Cap. 7) en sus componentes oxígeno (anualmente 100 000 millones de toneladas) e hidrógeno, y solamente el oxígeno se libera en forma molecular, gaseosa. Lo utilizan todos los seres vivos que respiran para la “combustión fría” de las sustancias. El hidrógeno liberado en la fotosíntesis, en cambio, se estabiliza en un tiempo breve mediante el enlace anualmente con 200 000 millones de toneladas de carbono y se une temporalmente a hidratos de carbono (azúcares).

Los **hidratos de carbono** son productos cuantitativamente habituales en la fotosíntesis y, por ello, son la fuente de energía para los principales seres vivos.

Con la respiración, el hidrógeno se separa de nuevo de su unión a la materia carbonada y se libera gradualmente en una “reacción de explosión gaseosa bioquímica” produciendo energía en la cadena de respiración. Al final, ¡toda la energía viene del Sol!

Las células necesitan, tanto durante el crecimiento como en el estado de reposo, un suministro permanente de energía, que se obtiene mediante el intercambio dirigido de las sustancias dentro de las células (**metabolismo o intercambio de materia**). Las fuentes de energía son los alimentos ingeridos. Se transforman mediante una serie de reacciones enzimáticas dispuestas una tras otra en rutas metabólicas.

Así originan los **componentes** y la **energía** para las síntesis y otros procesos complejos energéticos: pri-

mero los alimentos se degradan en pequeños trozos y se transforman en compuestos de bajo peso molecular, a partir de los cuales se construyen los componentes de la célula: azúcar de uva (glucosa), aminoácidos, nucleótidos (bases pirimidínicas y purínicas y azúcares-fosfato), ácidos orgánicos y lípidos.

A partir de ellos se construyen las “enormes moléculas” de las proteínas, los ácidos nucleicos y los componentes de la pared celular.

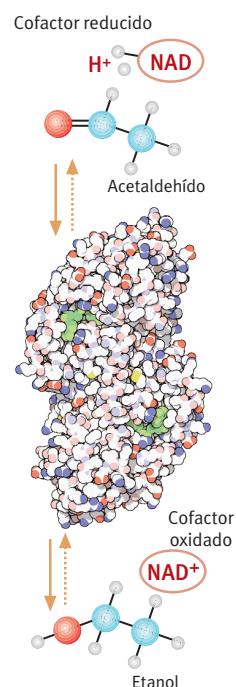
Puesto que los hidratos de carbono son cuantitativamente los productos habituales de la fotosíntesis, y con ello, al mismo tiempo, el alimento para la mayoría de los seres vivos, salen en primer lugar de la **glucosa** (azúcar de la uva). De la misma manera en que la producción de muchos productos de biotecnología depende de la degradación de glucosa en las células.

## 1.5 El alcohol no es un placer sino una necesidad para las levaduras

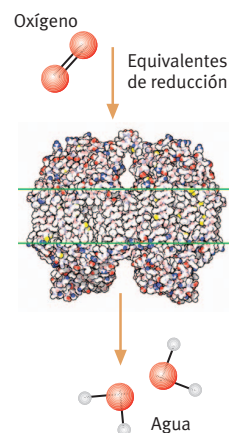
Pasemos ahora a la bioquímica, para responder a una “pregunta vital” de las células de levadura. Las levaduras pueden vivir como **respiradores (aeróbicos)** o **fermentadores (anaeróbicos)**, y por lo tanto son aeróbicos facultativos. En presencia de oxígeno las levaduras crecen espléndidamente, con la respiración convierten azúcar en  $\text{CO}_2$  y agua, y originan con ello energía, que utilizan para el crecimiento y la producción de nuevas células.

Si se detiene el suministro de aire a las levaduras, los microbios interrumpen su metabolismo de fermentación en la medida de la necesidad. La fermentación les ayuda a sobrevivir en tiempos hostiles, a pesar de ser energéticamente desfavorable. Louis Pasteur descubrió en 1861 que una levadura sin oxígeno utilizaba más glucosa. Esto se denominó **efecto Pasteur**. Las levaduras en condiciones anaeróbicas procesan más moléculas de azúcar para compensar las pérdidas de energía. Puesto que no hay más oxígeno para utilizar, tampoco puede quemarse en la cadena de respiración con el cofactor  $\text{NADH} + \text{H}^+$  acumulado. La degradación de glucosa permanece, por lo tanto, en la fase de piruvato (Cuadro 1.4).

La célula transforma piruvato en acetaldehído. Con ello se libera  $\text{CO}_2$ . El ciclo de Krebs ya no puede ser utilizado. Para utilizar el  $\text{NADH} + \text{H}^+$  acumulado, que no puede reoxidarse a  $\text{NAD}^+$  en la “combustión fría” debido a la deficiencia de  $\text{O}_2$ , a la célula le queda solamente un camino: utiliza la **alcoholdehidrogenasa** (Fig. 1.3) y forma, a partir de acetaldehído, con la utilización de  $\text{NADH} + \text{H}^+$ , etanol y  $\text{NAD}^+$ .

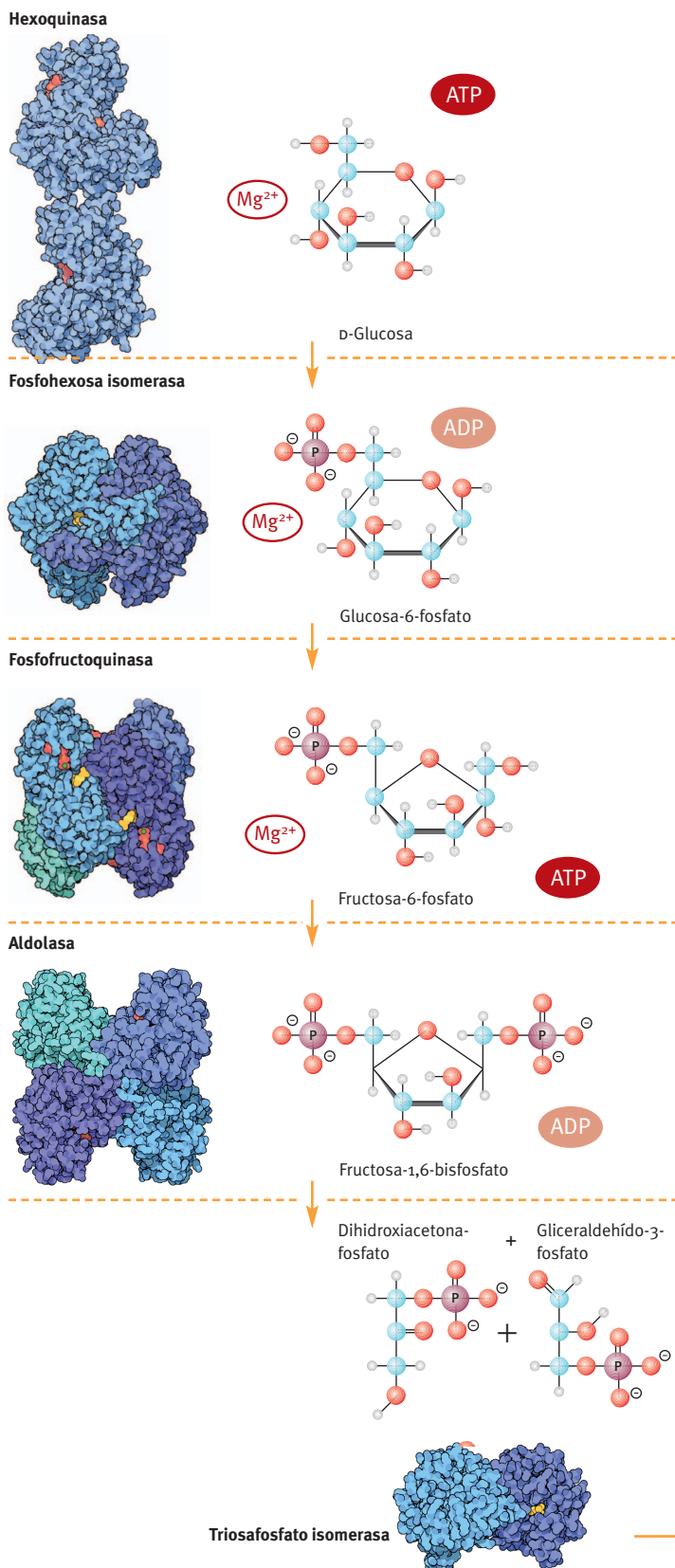


**Fig. 1.13** La alcohol deshidrogenasa de la levadura transforma acetaldehído en etanol. Para propósitos bioanalíticos (Capítulo 10) se utiliza la reacción inversa para analizar la presencia de etanol en sangre.



**Fig. 1.14** La citocromo oxidasa, “fermento de la respiración”, descubierta por Otto Warburg. Transforma en una “combustión fría” hidrógeno en agua con utilización de energía.

**Fig. 1.15** La glucólisis y sus enzimas.  
Degradación de glucosa a piruvato (simplificada).



La glucosa se “quema” finalmente de modo incompleto a alcohol y CO<sub>2</sub>. En la fermentación de una molécula de glucosa se originan sólo una a cuatro moléculas de “moneda de cambio energético” ATP (en lugar de un máximo de 38 en la respiración con oxígeno); esto es suficiente para sobrevivir.

El alcohol no es, por lo tanto, un placer para la levadura, más bien una necesidad, pero muere si el contenido de alcohol supera un determinado valor. Contrariamente a la opinión clásica, el etanol también puede producirse aeróbicamente (efecto *Crabtree*) si el medio de alimentación contiene más de 100 mg de glucosa por litro. En esta “reacción en exceso” el piruvato no se oxida siguiendo el ciclo de Krebs, sino que se reduce a etanol.

Con la ayuda de los modernos **chips genéticos** (Cap. 10) para RNAm de levadura (un ácido nucleico de una única hebra, que desde el DNA del núcleo celular alcanza los ribosomas con las instrucciones de construcción para las proteínas, véase Cap. 3) se observa que cuando hay deficiencia de oxígeno las levaduras anaeróbicas producen otras enzimas diferentes a las de las levaduras aeróbicas. Es decir, los genes (DNA) se escogen de manera diferente y expresan diferentes proteínas, según la situación de oxígeno de la célula de levadura.

Otros fermentadores, las bacterias, forman **ácido láctico** (*Lactobacillus*), **ácido butírico** (*Clostridium butyricum*), **ácido propiónico** (*Propionibacterium*), **acetona** y **butanol** (*Clostridium acetobutylicum*) (Cap. 6), así como otros productos con gasto de ATP, y los secretan.

Los productos de la fermentación se forman, pues, en grandes cantidades, ya que sólo la transformación libera mucha más cantidad de alimentos en ausencia de oxígeno que energía requerida en forma de ATP de las células.

Ahora está claro por qué los primeros procesos de biotecnología que utilizaron los humanos fueron la fermentación del alcohol y del ácido láctico: las fermentaciones liberan grandes cantidades de producto en un breve tiempo y son, por lo tanto, altamente efectivas.

## 1.6 Los licores muy concentrados se producen mediante destilación

Las levaduras forman alcohol sólo hasta una determinada concentración, pues con porcentajes altos de alcohol mueren. La cerveza y el vino contienen alcohol únicamente en forma diluida. El vino tie-



ne un 12 a 13% de alcohol y el sake alrededor del 16 a 18%.

Se conoce una forma concentrada (aguardientes o licores) ya desde el siglo XII, cuando se calentó (destiló) vino en una caldera cerrada.

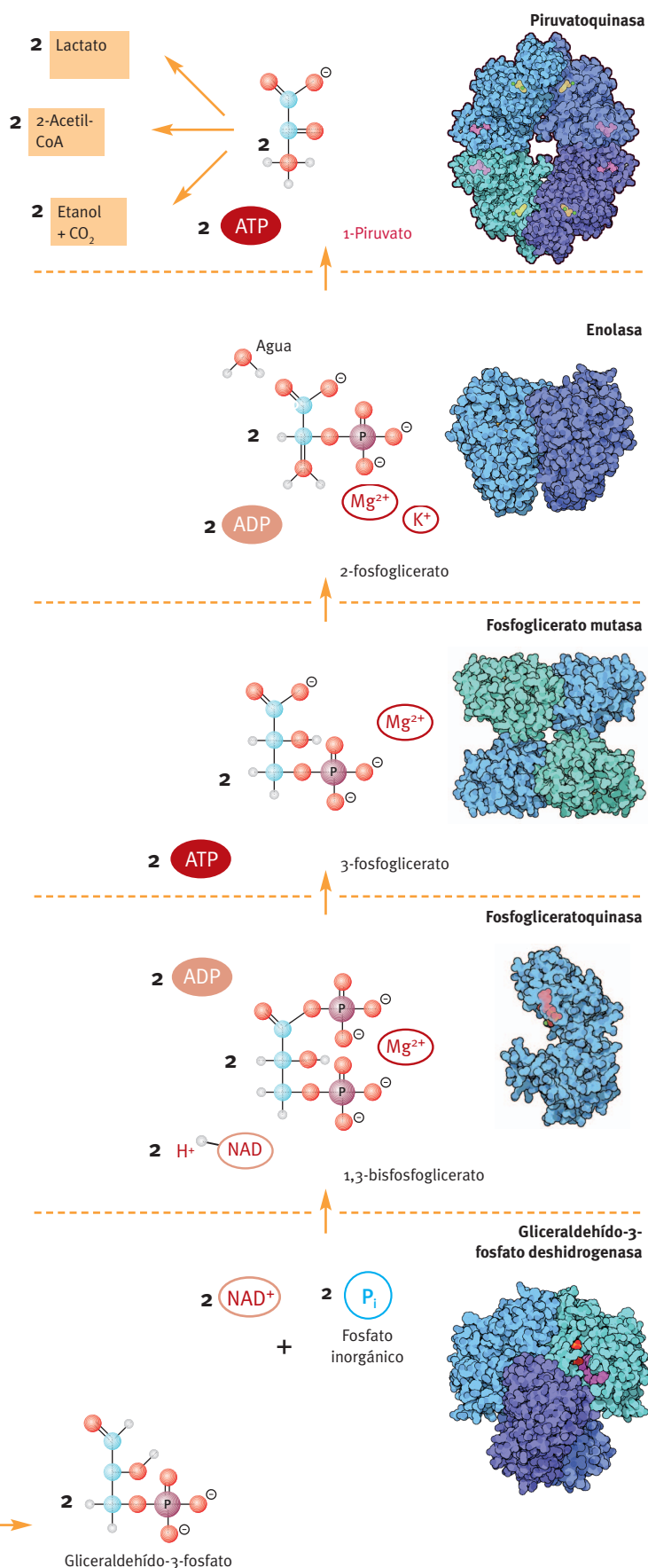
El truco de la **destilación de alcohol** (o sea la rectificación) es que el alcohol se evapora a 78 °C, o sea, bastante antes que el agua, que hierve a 100 °C. El vapor de alcohol creado se conduce a un refrigerante a través del que gira agua fría, se enfría y se condensa en forma de gotas. El alcohol altamente concentrado se introduce en un recipiente.

Los **licores** o espirituosos (del latín *spiritus*, espíritu) son aguardientes con al menos un 32% en volumen de etanol (Cuadro 1.3). Mencionaremos solamente el coñac, el aguardiente alemán, el armañac, el licor de frutas, el whisky, el vodka y la ginebra.

El famoso **coñac** se descubrió a principios del siglo XV por los cultivadores de vino en la Charente francesa, cuando debieron responder a la menor calidad de su vino frente a la calidad del vino de la vecina región de Burdeos. Tuvieron la idea de destilar su vino. Más tarde el producto se destiló incluso dos veces, una tras otra. También todavía hoy el coñac joven viene con un contenido en alcohol del 70% en barriles de roble de Limousin, donde madura parcialmente durante años hasta alcanzar la grandeza completa, asumiendo el color del tonel y el sabor. Solamente después se diluye a un 40%.

Hoy se obtiene en las destilerías modernas **alcohol puro** de almidón de cereales o patata. Éste se transforma primero mediante amilasas degradadoras de almidón en azúcar, que se fermenta con las levaduras a alcohol, se calienta y el alcohol se destila entonces hasta el límite superior del 96%. Un argumento de los amantes del alcohol es que el alcohol más concentrado destruye los gérmenes. En realidad, el alcohol al 70% se aplica en medicina para la desinfección externa de la piel.

A concentraciones del 2 o 3% el alcohol ya aumenta la permeabilidad de la membrana citoplasmática de las bacterias e inhibe su crecimiento. Está claro que el alcohol altamente concentrado inhibe aún mejor. Las frutas confitadas en alcohol, por ejemplo en los ponches de fruta y ron, duran mucho tiempo y demuestran claramente el efecto inhibitor de los microbios que tiene el alcohol. Dentro de los microorganismos, los que pudren e intoxican alimentos son principalmente sensibles al alcohol y se destruyen.





### Cuadro 1.5 Productos de leche agria y queso

Los productos de leche agria se obtienen utilizando bacterias lácticas.



Preparación del camembert

La **leche agria** se produce con leche pasteurizada a la cual se añaden cultivos de *Streptococcus cremoris*, *Streptococcus lactis* y *Leuconostoc cremoris*, como bacterias aromáticas, unas 16 horas en el tanque de acidificación.

Para la **producción de yogur** se toma leche de cabra, oveja o vaca. El cultivo de yogur consta de bacterias lácticas termófilas (que les gusta el calor), como *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus bulgaricus*. Ambas existen conjuntamente (simbiosis): *Lactobacillus* produce el producto de fragmentación de la proteína de la leche, caseína, requerido



Camembert, un trabajo de mohos con esporangio en forma de pincel

por *Streptococcus*; *Streptococcus* forma en cambio ácido fórmico, que actúa como conservante.

El **kéfir** es una bebida espesa, densa, ligera, con gas. Contiene un 0,8 a 1% de ácido láctico, un 0,3 a 0,8% de etanol y dióxido de carbono, que junto a bajas cantidades de diacetilo, acetaldehído y acetona contribuyen esencialmente al sabor del kéfir. Los granos de kéfir, llamados por los musulmanes el

mijo del Profeta, adoptan forma de coliflor, en nódulos del tamaño de una avellana, que constan de caseína coagulada y azúcar de la leche fermentado por levaduras, como *Saccharomyces kefir* y *Torula kefir*, algunos tipos de *Lactobacillus* y *Streptococcus*, los aromatizantes que forman *Leuconostoc* y también bacterias del ácido acético.



Diferentes clases de queso de Córcega

El **kumys** se hace con leche de yegua, que se fermenta con una mezcla de bacterias lácticas y levaduras.

También la **mantequilla de nata agria** es un producto de microbios. Después de obtener la nata y tratarla con calor, se enfría y “madura”. Con ello cristaliza la grasa de la leche. Tras la infección con acidificadores (*S. lactis*, *S. cremoris* y *Leuconostoc cremoris*) se convierte el azúcar de la leche (lactosa) en ácido láctico y “aroma de mantequilla” (diacetilo) y acetofona. El suero de la mantequilla es un producto colateral de la fabricación de la mantequilla.



Roquefort con entradas de aire para el crecimiento de los hongos

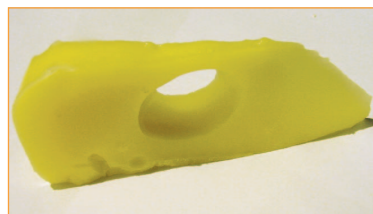
La **preparación del queso** empieza principalmente con la infección de la leche pasteurizada con bacterias lácticas y mohos (cultivos iniciadores). Mediante el aporte de la enzima coaguladora se coagula la leche durante una hora y se espesa. Se corta con

cuidado la gelatina en dados (quebrado) de un centímetro. Se retira el suero, se da formas al quebrado.

Después de varios cambios y un baño de sal, el queso **Emmental** (queso suizo) se seca (aproximadamente durante dos semanas) y se almacena en un sótano caliente durante seis a ocho semanas. Entonces las bacterias propiónicas fermentan el ácido láctico a  $\text{CO}_2$  y ácido propiónico, con lo cual se forman los característicos agujeros y el sabor del queso suizo. Luego el queso madura durante seis meses.

El queso **Limburger** se lubrica varias veces tras el secado, es decir, se trata con un “cultivo de lubricante rojo” (*Brevibacterium linens*).

El **Camembert**, infectado con esporas de *Penicillium caseicolum* de rápido crecimiento o del tradicional *P. camemberti*, se desarrolla en un sótano seco después de tres a cuatro días de crecimiento del moho, y tras nueve a once días se puede empaquetar y vender. El camembert a menudo sigue madurando después de comprarlo: las enzimas fragmentadoras de las proteínas del moho ablandan la masa del queso y liberan materias aromáticas y amoníaco (aroma muy fuerte).



Los conocidos agujeros en el queso: trabajo de las bacterias propiónicas

El **Roquefort** auténtico se produce con leche de oveja cruda fresca. El quebrado se infecta con esporas de *Penicillium roqueforti*. Tras darle forma se transportan los quesos de toda Francia, desde Córcega hasta los Pirineos, a Roquefort, donde se salan y pinchan con agujas (amoscado) para crear entradas de aire para el crecimiento de los hongos. La maduración sigue finalmente en cuevas naturales de las montañas en Roquefort. Los quesos maduran aeróbicamente durante 20 días y luego en hojas de estaño tres meses en ausencia de aire (anaeróbicamente), donde luego actúan las enzimas de los mohos fragmentadoras de proteínas y grasas.

### Cuadro 1.6 Sake, salsa de soja y otros productos fermentados asiáticos

La producción del **sake** japonés (**vino de arroz**) se parece más a la fabricación de cerveza que a la del vino, porque el almidón contenido en el arroz debe convertirse primero en azúcar fermentable por las amilasas fragmentadoras. Las esporas del moho *Aspergillus oryzae* se mezclan con arroz cocido. La mezcla se mantiene cinco a seis días a 35 °C, para producir el denominado *Koji*, que contiene en altas concentraciones las enzimas de los hongos fragmentadoras de almidón y proteínas. *Koji*, mezcla de grandes cantidades de arroz cocido y cultivo iniciador (*Moto*) de cepas de levadura, como *Saccharomyces cerevisiae*, fermenta durante tres meses como Moromi el arroz a sake. El sake contiene aproximadamente un 20 % en volumen de alcohol.

En la **salsa de soja** (*Shoyu* en Japón, *Chiang-siu* en China, *Siau* en Hong Kong) se procede de forma similar. Se coloca el Moromi de las habas de soja, trigo y *Koji* con grandes cantidades de sal de cocina y se fermenta durante ocho a doce meses con *Aspergillus soyae* y *A. oryzae*. La bacteria *Pedococcus soyae*, la levadura *Saccharomyces rouxii*, y cepas de *Hansenula* y de *Torulopsis*, a menudo se añaden como cultivos iniciadores que forman ácido láctico y alcohol. Tras la fermentación, la salsa de soja se prensa; se

utiliza el prensado como forraje. La salsa de soja contiene, además de un 18 % de sal de cocina, más de un 1 % de la sal del aminoácido **glutamato** (véase Cap. 4) reforzador del sabor, y un 2 % de alcohol.



Barriles de sake, apilados frente a un templo japonés

El **miso** es una pasta de soja fermentada, que desde la antigüedad ha servido en Japón como aporte de proteínas principales. Se elabora también con *Koji* previo. El **tofu** (o **sufu**) es la proteína de soja coagulada con ácido, que se fermenta de *Mucor sufu*.

El **natto**, que huele fuertemente (¡a amoníaco!), se hace con habas de soja filtradas, envueltas en hojitas de abeto rojo, que se infectan con *Koji* (*Aspergillus oryzae*) y tras varios meses se fermentan con *Streptococcus* y *Pedococcus* otra vez.

El **angkak** (arroz rojo) se produce con arroz filtrado a través del hongo *Monascus purpureus*, y se utiliza en China, Indonesia y Filipinas como especia picante y como colorante.



Habas de soja fermentadas con mohos: *Natto*

El **tempeh** son habas de soja cocidas, que se envuelven en hojas de plátano.



Salsa de soja (*Shoyu*) con *Wasabi* (rábano picante rayado, que contiene peroxidasa, véase Cap. 2).

Al menos en los albores de la humanidad, la fermentación del alcohol fue pues importante para la obtención de comida perfecta, duradera e higiénica.

## 1.7 Productos bacterianos: ¡La acidez los hace duraderos!

Las bacterias son procariotas y unas diez veces más pequeñas que las células de las levaduras. Para hacernos una idea del tamaño de las bacterias, nos podemos imaginar un dado diminuto de 1 mm de longitud de arista (o sea, con 1 mm<sup>3</sup> de volumen). En él caben no menos de mil millones de bacterias.

Las bacterias (Fig. 1.8) a menudo tienen forma de pequeños bastones. Conocemos también bacterias en forma de esfera, los **cocos** (del griego *kokkos*, grano redondo); las de forma de coma, constantemente temblando, los **vibriones** (del latín *vibrare*, temblar, vibrar), y las serpenteantes en forma de tornillo, los **espirilos** (del latín *spirillum*, pequeños tornillos). Muchas bacterias tienen flagelos, largos

apéndices, con los cuales se pueden mover rápidamente. Las bacterias en general reproducen sus células dividiéndose por la mitad. Por ello inicialmente se denominaron “células separadoras” (Fig 1.16). La mayoría de las células hijas así formadas se separan. Si se mantienen juntas, unas con otras, se originan cadenas de células bacterianas y se denominan **estreptococos** (del griego *streptos*, cadena). Si se agrupan en forma de racimo de uvas se llaman **estafilococos** (del griego *staphyle*, uva).

Además de las levaduras estuvieron y están las bacterias, que producen una variedad de alimentos y forraje, así como productos estimulantes. Incluso para la producción de alcohol se utilizan bacterias especiales. Los antiguos habitantes de México utilizaron inconscientemente durante siglos, para la preparación del **pulque** (y de la forma especial **tequila**, que viene de la ciudad Tequila en México), el jugo fermentado de ágaves y el vino de palma, la bacteria *Zymomonas mobilis*. Como ya se estableció en los



Fig. 1.16 El Profesor Koch observando los “esquizomicetos” de un cultivo purificado (caricatura contemporánea).



Fig. 1.17 Los productos del pan son el trabajo de bacterias lácticas y levaduras.





Fig. 1.18 Cocción del pan en la Edad Media.



Fig. 1.19 Cocción del pan industrial hoy: los procesos básicos no han cambiado.

#### Pasteurización

Louis Pasteur advirtió que es suficiente calentar brevemente el vino para matar las bacterias, que lo estropeaban. Esto también era válido para evitar que la leche se agriase.



Este proceso, en el que se mata la mayoría de microorganismos que contiene una sustancia, se denomina hoy pasteurización en honor a Pasteur. ¡Después de todo, 1 ml (1 cm<sup>3</sup>) de leche cruda “pobre en gérmenes” contiene 250 000 a 500 000 microbios! Hoy, la leche para beber se pasteuriza principalmente calentándola un tiempo corto entre 71 y 74 °C. Con ello se mata un 98 a 99,5 % de los microorganismos. La denominada leche-H, que se mantiene cuatro semanas sin refrigerar, se calienta con vapor de agua durante corto tiempo a 120 °C y se almacena en recipientes pasteurizados.

últimos años, la bacteria puede crecer también en medios con una concentración de azúcar mucho más alta. Así produce alcohol seis o siete veces más rápido que las mejores cepas de levaduras.

La **cocción del pan**, en el sentido actual, se inventó probablemente tras la fabricación de la cerveza. Primero se conocía solamente el sólido pan plano. Ya hace alrededor de 6000 años, los panaderos egipcios produjeron un pan poroso de una papilla ácida (fermentada).

El fermento se forma a partir de bacterias lácticas (del tipo *Lactobacillus*) y levaduras tolerantes al ácido. Éstas son levaduras que no sólo pueden vivir en medio neutro sino también en medio ácido, como *S. cerevisiae*, *Candida krusei* y *Pichia saitoi*.

Los productos colaterales de la masa fermentada, como alcohol, ácido acético, acetoina, diacetilo y alcohol de fusel, son los que confieren el aroma y el sabor al pan.

El principal producto deseado de la fermentación no es aquí, sin embargo, alcohol, sino **dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>)**, cuyas burbujas gaseosas hinchon la masa. La masa “reposa” y se convierte en porosa. Como fuente de hidratos de carbono para el fermentado escurrido sirve el azúcar existente en la harina o los azúcares libres aportados, como **glucosa** (azúcar de la uva), **fructosa** (azúcar de la fruta) y **sacarina** (azúcar de remolacha), así como la glucosa y la **maltosa** (azúcar de malta) que se forman mediante las enzimas de cereales (amilasas) a partir del almidón de la harina. Al cocer termina la fermentación, pues el gran calor en el horno mata las levaduras y bacterias. El alcohol formado en la fermentación se evapora, y en la masa cocinada permanecen sólo los espacios huecos en forma de panales de las burbujas de CO<sub>2</sub>, que se pueden reconocer en cada rebanada de pan.

Hoy se produce el pan a partir de una mezcla de harina, levadura, sal y agua, a la cual se agrega el fermento acabado. La masa se amasa y se deja fermentar varias horas. Finalmente, una máquina divide la masa en pedazos de la medida de un pan. Las porciones deben fermentarse de nuevo, se enrollan y se rellenan moldes de cocción.

Antes de que la masa vaya al horno “reposa” otra vez. Tras aproximadamente 20 minutos de cocción se sacan los panes crujientes del horno y se dejan enfriar. Para panes blancos y masa de pasteles se mezclan sólo levaduras con harina y agua, es decir, no tiene lugar ninguna fermentación de ácido láctico.

La **levadura de cocción** (*Saccharomyces cerevisiae*) para pan y pasteles se cultiva sobre el rema-

nente del procesado del azúcar de remolacha (melaza). ¡Anualmente se producen en todo el mundo 1,5 millones de toneladas! Se elabora levadura prensada con un valor de productividad de quinientos millones de euros.

Cuando el ser humano empezó a domesticar ovejas, cabras y vacas, y obtuvo la leche de sus animales caseros, se conoció también la **leche agria** (Cuadro 1.5). Se originó “ella sola”, cuando la leche fresca se dejó reposar algún tiempo. La leche cocinada, sin embargo, no se estropeaba tan rápido. En leche fresca ordeñada se pueden multiplicar las bacterias del ácido láctico y parte del azúcar de la leche (lactosa) se fermenta a **ácido láctico (lactato)**. La multiplicación de los causantes de la putrefacción y la enfermedad, como los estafilococos, no es posible en un medio ácido. Se origina un producto duradero, aceptable y nutritivo.

La leche agria se digiere bien, porque la proteína de la leche **caseína** precipita en escamas finas por acidificación. La leche agria reacciona además en el estómago con el mineral calcio, importante para la formación de los huesos, a lactato de calcio, que se puede captar fácilmente de nuevo por la pared del intestino.

Por ello, el calcio no se pierde en el cuerpo. En las diferentes regiones de la Tierra, debido a las influencias climáticas y la naturaleza de la leche, podemos ver diferentes costumbres en el tratamiento de la leche (Cuadro 1.5). En Europa se elaboró **leche agria (cuajada)** y **quark**, en los Balcanes y el Oeste Medio **yogur**, en el Cáucaso **kefir**, en Asia central **kumys**, en India **dahi** y en Egipto **laben**.

En las preparaciones de **mantequilla**, la leche se pasteuriza al principio (véase el margen izquierdo de esta página y el Cap. 4). Se obtiene la nata y se añade un “despertador ácido”, con un cultivo mezcla de bacterias lácticas. Durante 16 a 30 horas la nata madura en tanques. Las bacterias forman ácidos y acetoina, que cambia por oxidación al típico “aroma de mantequilla” (diacetil). En la mantecación en una mantquera se produce **suero de la manteca** como producto secundario.

“¡El ácido es divertido!” Evidentemente, un cierto sabor ácido suave resulta agradable en las comidas. Un proceso de fermentación antiguo es la **acidificación** de la **col** y los **pepinos**. Los pepinos más pequeños se fermentan a menudo con otras verduras (*mixed pickles*). Para ello, *Lactobacillus plantarum* es la bacteria más importante. Los pepinos ácidos se recomiendan por la mañana, tras una noche de gozar los placeres del alcohol... También las **aceitunas** (después de un ligero tratamiento con sosa cáustica

para separar el componente amargo oleuropeína) se hacen duraderas con bacterias lácticas: las frutas no maduras pasan a aceitunas verdes, las maduras a negras.

Para producir **col fermentada** (*choucroute*), la col blanca finamente cortada se cubre largo tiempo con sal de cocina (a veces también con condimentos), hasta que el líquido de las células vegetales destruidas cubre la col. En un lugar frío empieza a fermentar muy pronto. La col blanca fresca en salmuera se convierte gradualmente, en ausencia de aire, en aceptable *choucroute*. Puesto que los microorganismos causantes de la putrefacción no pueden prosperar en el medio fuertemente ácido creado por los ácidos láctico y acético, el *choucroute* es largamente duradero. Hoy se produce *choucroute* en recipientes de hasta 80 t de capacidad en siete a nueve días. A menudo, el *choucroute* originado se calienta (blanquea), lo que mata las bacterias lácticas y acaba la acidificación. Este procedimiento genera un *choucroute* más suave.

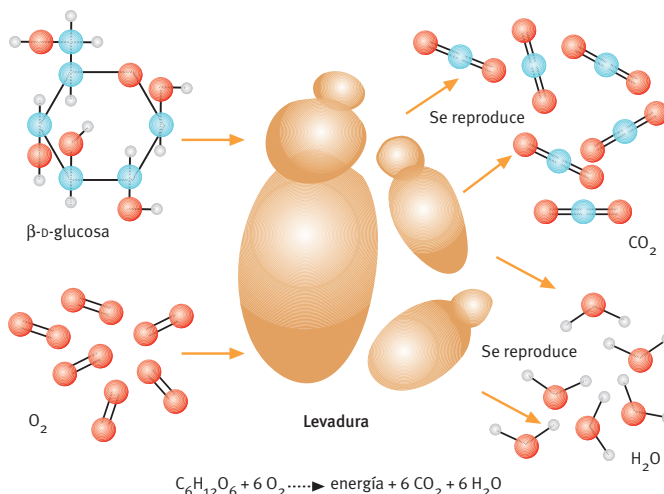
También al ganado le gustan los ácidos: **proceso de ensilado**. En agricultura se corta el forraje verde, maíz y hojas de nabos, se empaqueta fuertemente apretado en el silo y se acidifica para el invierno. Se produce así el ensilado nutritivo de larga duración.

Al inicio del ensilado crecen las bacterias aeróbicas y utilizan oxígeno. El descenso de oxígeno y el creciente contenido de ácido exigen la multiplicación de tipos de *Lactobacillus*, *Streptococcus* y *Leuconostoc*.

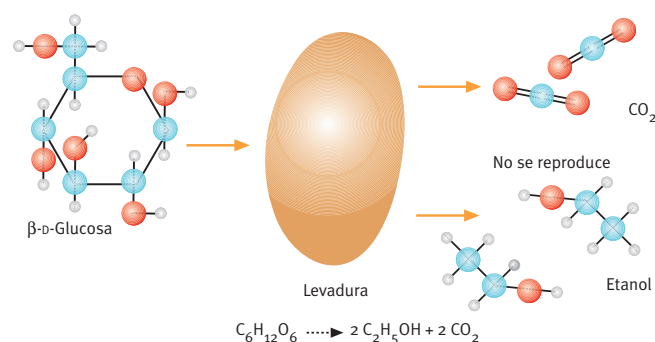
Por el contrario, con insuficiente formación de ácido láctico se multiplican –reconocible por un olor punzante– **bacterias butíricas** (*Clostridium butyricum*). El autor de este libro fue educado de joven en el campo alemán y sabe que las vacas no deben ser alimentadas con ensilado estropeado, pues les produce “flatulencia inmediata”.

También para hacer embutidos, al preparar la **materia prima de las salchichas** (como salami, salchichón ahumado, longaniza) (Fig. 1.22) se produce una fermentación láctica. A la carne picada de vaca y cerdo se añaden bacterias lácticas y bacterias de la familia *Micrococcus*; son los llamados **cultivos de arranque**. Las bacterias lácticas fermentan el azúcar, que debe añadirse a la carne, porque la carne es pobre en azúcar. El ácido láctico formado no sólo es productor del sabor sino que también inhibe, juntamente con la sal de salmuera añadida (mezcla de sal de cocina y el polémico nitrito sódico), los microbios indeseados, y contribuye a la firmeza de las futuras salchichas. La masa de la salchicha, introducida en una tripa, se cuelga en el recinto de madu-

### Respiración



### Fermentación



ración, donde madura dos semanas, mientras se ahuma y entonces prosigue la maduración.

Si el vino se deja largo tiempo al aire o el barril de fermentación no está completamente cerrado, en lugar de vino se produce un líquido ácido, el **vinagre**.

Se puede observar fácilmente en casa la transformación de alcohol en vinagre si los restos de cerveza o de vino se dejan al aire en un lugar caliente. También los sumerios conocieron ya la preparación de vinagre. Como material de partida utilizaron el jugo de palmera y el jarabe de dátiles, y más tarde también la cerveza y el vino. Los griegos y los romanos bebían vinagre de vino diluido como bebida refrescante. En la Edad Media, en Francia se produjo industrialmente vinagre de vino con la preparación de Orléans aún poco conocida. Hoy se produce vinagre industrialmente, en un “proceso rápido”. Las **bacterias del ácido acético** (*Acetobacter suboxydans*) oxidan en seguida el alcohol a vinagre en biorreactores con la ayuda del oxígeno del aire. La **fermentación del ácido acético** no es una auténtica fermentación, pues no ocurre en ausencia de aire. Los estimulantes, como el café, el cacao, el té,

**Fig. 1.20** Comparación entre respiración y fermentación en una molécula de glucosa mediante células de levadura.



**Fig. 1.21** Auténtico vinagre balsámico de Módena.



**Fig. 1.22** Conservación de las salchichas y los embutidos gracias a la fermentación del ácido láctico.

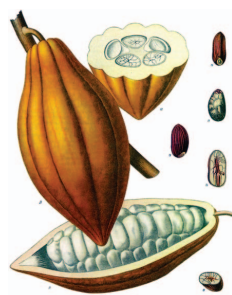


Fig. 1.23 El fruto del árbol del cacao (*Theobroma cacao*) se encuentra en el tronco y requiere nueve meses para madurar. *Theobroma* significa en griego “comida de los dioses”.



Fig. 1.24 La vainilla (*Vanilla planifolia*), una orquídea, libera su aroma tras la fermentación.



Fig. 1.25 Fermentación de té en China.



Fig. 1.26 Tabaco (*Nicotiana tabacum*).

el tabaco y la vainilla, se fermentan como siempre, es decir, mediante microorganismos y enzimas propios de las plantas.

### ■ 1.8 Café, cacao, vainilla, tabaco – Fermentación para el placer

En la **fermentación del café** se degrada la pulpa mediante bacterias, que forman las enzimas que fragmentan pectina (pectinasas) y degradan las sustancias de sostén de todas las frutas (pectina).

Las levaduras degradan la pulpa de las semillas de **cacao** (sarcotesta, Fig. 1.23) y a continuación el alcohol es utilizado por las bacterias del vinagre. Por ello la liberación de calor es importante para la calidad del cacao. Las semillas mueren, originan polifenoles, que pierden el aroma del cacao, y los taninos se degradan, originando el color marrón del chocolate. Entonces se tuestan las semillas.

Las enzimas producen con su trabajo el aroma de fruta de la orquídea **vainilla** (*Vanilla planifolia*) (Fig. 1.24). Los frutos no maduros se cultivan, se secan a la luz del sol y toman el típico color marrón oscuro. Enzimáticamente se origina del glicósido vainillina.

Las **hojas de té** se dejan marchitar durante un día y a continuación se enrollan. Con ello se rompen las células y su líquido cubre la superficie de las hojas. Gracias al trabajo oxidativo de las enzimas de las plantas, las bacterias y levaduras desarrollan el sabor y olor característicos del té (Fig. 1.25).

Esto se produce sobre todo por los componentes orgánicos de las hojas, los polifenoles, bien visibles por el cambio de color originado, incipiente por los bordes de las hojas y lentamente hacia el centro de las hojas. Las antes hojas verdes cambian de color a castaño rojizo y más tarde de marrón oscuro a violeta.

En Europa se consume principalmente té negro. Se trata, en comparación con el verde, de té fermentado. Según el tiempo de fermentación se obtiene el té oolong, el té amarillo o el té blanco no fermentado.

Para producir el té oolong, té blanco o té amarillo, el fabricante de té debe detener el proceso de oxidación en el momento adecuado. En una reacción corta, el té no desarrolla aroma y no sabe a nada. Si el proceso es demasiado largo se genera té “quemado” y entonces tiene un sabor amargo.

También en el **tabaco** se producen procesos enzimáticos y microbianos parecidos (Fig. 1.26). El tabaco de los cigarros puros pasa casi siempre por una fermentación natural. Para ello las hojas, antes

de secar, se atan en manojos que se ponen unos sobre otros en palos (montones). Debido al calentamiento propio (hasta 50 °C), el tabaco debe girarse una y otra vez. La fermentación que tiene lugar a esta temperatura causa el cambio de color de las hojas de tabaco. A menudo es posible mejorar los colores. Este tipo de fermentación dura tres o cuatro meses. También se garantiza con ello la posterior posibilidad de almacenamiento.

La **fermentación de los alimentos** se descubrió indudablemente por casualidad, pero sus efectos ventajosos (almacenamiento duradero, mejor digeribles, aroma más rico, y experiencia embriagadora con los productos que contienen alcohol) fueron tan obvios que pronto se consiguieron productos de fermentación de muchos cultivos. La fermentación, por consiguiente, fue una primera forma de **refinación** de los alimentos.

En realidad, los primeros pueblos sedentarios conocían sólo el secado y la conservación con sal de los alimentos. Por eso la sal era a menudo un tesoro (Cap. 4).

Con la introducción de la fermentación se pudo elaborar productos más aceptables y más diversos; y también disminuyó claramente el riesgo de intoxicaciones alimentarias.

Mientras que hoy, en los países muy industrializados, el **valor del placer** de los alimentos fermentados está en primer plano, en los países en desarrollo tienen su original importante valor. En estos países todavía se estropea un tercio de los alimentos. La fermentación es, en comparación con las modernas técnicas de enfriamiento, conservación química y liofilización, más barata y puede realizarse fácilmente, no requiere aparatos caros y sus productos se aceptan psicológicamente de modo tradicional. Además, permite crear puestos de trabajo.

### ■ 1.9 Los mohos cooperan con las bacterias y producen queso

La leche es rica en todos los nutrientes, vitaminas y minerales; por lo tanto, ya era importante en los albores de la agricultura y la ganadería, para conseguir este contenido en materia. El profesor de fisiología Jared Diamond considera la utilización del ganado como un factor crucial del desarrollo de los continentes: solamente en Eurasia había **animales domesticables**. Gracias a la cabra, el cerdo y especialmente los bueyes adiestrados, se aceleró el desarrollo agrícola. El caballo llevó a una movilidad insospechada. En América solamente se domesticaron llamas y alpacas; en Australia ningún animal. Los animales domésticos proporcionaban carne,