



¿Será posible
la fabricación extraterrestre
de alimentos
por la acción de
microorganismos en
una futura colonización
espacial? EL ALIMENTO.

LES DORAMAS



***Sí, afortunadamente, será posible
fabricar yogures, postres lácteos, pan, magdalenas, vino, etc
en una próxima colonización espacial.***

MEMORIA PRESENTADA POR EL EQUIPO INVESTIGADOR
DEL
IES DORAMAS
AL
III PREMIO "BLAS CABRERA"
DE
INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA PARA ESCOLARES

ALUMNOS:

ROSAURA GODOY TRUJILLO	(3°ESO)
LUCRECIA ARENCIBIA CASTELLANO	(3°ESO)
RAÚL EDUARDO ALMEIDA CABRERA	(4°ESO)
ARÍSTIDES GARCÍA MENDOZA	(4°ESO)

PROFESORES:

JOSÉ MANUEL RODRÍGUEZ RODRÍGUEZ Y
(FÍSICA Y QUÍMICA)

JUAN NAVARO DE TUERO
(BIOLOGÍA Y GEOLOGÍA)

IES DORAMAS.

Teléfonos: 928610583 y 928610538

Fax: 928610584

Esta investigación no hubiera sido posible sin la estimada ayuda de:

- Belén, profesora del IES Doramas, que nos proporcionó el kéfir.
- José Manuel, profesor de Matemáticas, que nos cedió el compás.
- Javier, profesor de FyQ del CEO Luján Pérez que nos prestó las células y el cronómetro.
- Mauricio, director del IES Doramas, que nos asesoró en varios temas relacionados.
- Mari, conserje del IES Doramas, que nos explicó cómo utilizar el cuajo.
- Antonio, profesor del IES Guía, que nos prestó el espectrofotómetro.
- Luis Boada, del Departamento de Toxicología de la UPLGC, que nos prestó las micropipetas.
- Nuestros padres y madres que aportaron materiales y consejos.
- Daniel, alumno del IES Doramas, que nos donó los motores de los juguetes.
- José Manuel y Mario, profesores del IES Doramas, que fueron flexibles en las guardias de Centro con nuestros profes.
- María, Profesora del IES Santa Brígida, que revisó la expresión escrita.
- Mila, Doctora en Biología, que nos ayudó en la investigación.
- Muchos amigos y amigas que nos animaron a seguir adelante.

Y sobre todo darles las gracias, infinitas gracias por su comprensión, a las únicas personas que salen perdiendo en toda esta aventura investigadora: las familias de los profesores, María, novia de José (Profesor de Física y Química) y Mila, Rubén y Julia, mujer e hijos de Juan (Profesor de Biología) a las que durante meses les hemos quitado tiempo de ocio y dedicación para que los profes lo emplearan en ayudarnos a nosotros.

INDICE

CAPÍTULO II

ENSAYOS CON MICROORGANISMOS.....	8
1. LA VIDA FUERA DE NUESTRO PLANETA.....	9
1.1. Efectos de la falta de gravedad (microgravedad) sobre el organismo humano	9
1.1.1. Huesos frágiles y músculos atrofiados	
1.1.2. Sangre, corazón y fluidos alterados	
1.1.3. Náuseas y vértigo frecuentes	
1.1.4. Sobreexposición a la radiación electromagnética	
1.1.5. Sistema inmune deprimido	
1.1.6. Sueño "trastocado"	
1.1.7. Incomodidades molestas de la vida en el espacio	
1.1.8. El espacio, mala influencia para los microbios	
1.2. Efectos del exceso de gravedad (hipergravedad) sobre el organismo humano.....	14
2. ¿QUÉ ALIMENTOS PODREMOS FABRICAR FUERA DE LA TIERRA POR LA ACCIÓN DE MICROORGANISMOS?.....	17
2.1. La leche.....	18
Mitos y realidades sobre la leche	
Ventajas de su consumo	
Desventajas de su consumo.	
2.2. La soja.....	20
Origen	
Valor nutritivo	
Ventajas de su consumo	
Desventajas de su consumo	
2.3. El yogur.....	22
¿Qué es?	
¿Cómo se obtiene?	
Valor nutritivo	
Ventajas e inconvenientes de su consumo	
2.4. El <i>kéfir</i>	25
Aplicaciones y ventajas de su consumo	
Composición	
¿Cómo se consigue el <i>kéfir</i> ?	
Instrucciones para la preparación del <i>kéfir</i>	
2.5. El "Actimel".....	29
Origen del cultivo	

Fabricación.	
Efectos beneficiosos.	
Composición.	
Consumo y conservación.	
2.6. El queso.....	32
Proceso de fabricación.	
Cómo obtener el cuajo: quimosina clonada en levaduras.	
2.7. El pan.....	37
Fabricación del pan.	
2.8. El vino y la cerveza.....	38
Fabricación del vino.	
Los beneficios del vino.	
Fabricación de la cerveza.	
3. MATERIALES.....	41
3.1. Medio de cultivo para microorganismos.....	41
3.2. Productos alimenticios comerciales.....	41
3.3. Microscopio óptico binocular.....	42
3.4. Microfotografía.....	42
4. PROCEDIMIENTOS Y MÉTODOS.....	43
4.1. Esterilización de medios y materiales.....	43
4.2. Aislamiento de bacterias del yogur y del <i>actimel</i>	45
4.3. Aislamiento de levaduras.....	46
4.4. Tinción de Gram.....	46
4.5. Recuento directo del número de células al microscopio.....	47
4.6. Recuento directo de células viables por plaqueo.....	48
4.7. Espectrofotometría: Medida de la turbidez del cultivo.....	48
4.8. Determinación de la cantidad de yogur y de <i>actimel</i> necesarias para que cuajen la leche y la soja para obtener yogur.....	49
4.9. Determinación de la cantidad de quimosina necesaria para que cuajen la leche y la soja para producir queso.....	50
4.10. Determinación de la capacidad cualitativa del kéfir para cuajar la leche y la soja.....	51
4.11. Determinación del pH.....	52
4.12. Detección del alcohol resultante en la fermentación etílica.....	53
4.13. Detección del CO ₂ resultante en la fermentación etílica.....	55
5.RESULTADOS.....	57
5.1. ¿Podemos fabricar yogur en otros planetas?.....	57
5.2. ¿Podemos fabricar kéfir en otros planetas?.....	58
5.3. ¿Podemos cuajar leche con <i>actimel</i> en otros planetas?.....	59
5.4. ¿Podemos cuajar leche con quimosina en otros planetas para obtener queso?.....	59

5.5. ¿Crecerán bacterias aisladas del yogur (y del <i>actime</i>) en otros planetas?	60
5.6. ¿Crecerán las levaduras en otros planetas?	61
5.7. Valoración cualitativa del comportamiento de los microorganismos en distintos planetas	63
5.8. Valoración cuantitativa de microorganismos crecidos en distintos planetas	65
6. CONCLUSIONES	68
7. BIBLIOGRAFÍA	69

INTRODUCCIÓN

Una vez conseguida la "máquina generadora de gravedades" estábamos en condiciones de estudiar si sería posible la fabricación de alimentos en las distintas gravedades de los planetas.

Nuestra respuesta ve la luz después de superar numerosos inconvenientes de todo tipo: trabajo con microorganismos y lo que ello supone de riesgo permanente de contaminación de las muestras, falta de materiales necesarios y posterior búsqueda de los mismos fuera del Centro, ensayos con microorganismos que requieren mucho tiempo para su preparación, realización y posterior análisis microbiológico, desánimo ante el fracaso reiterado al comienzo de esta segunda parte de la investigación, etc.

Como comentamos con anterioridad en la anterior entrega, la investigación principalmente se sumergía en dos campos de la Ciencia, la Física y la Biología, con la coordinación, por la envergadura del trabajo, de dos profesores de nuestro IES, el de Física-Química y el de Biología-Geología, y un equipo de cuatro personas, integrado por dos alumnas de 3º ESO y dos alumnos de 4º ESO.

En esta segunda parte se detalla el trabajo realizado con los microorganismos y los resultados obtenidos en la fabricación de yogur, kéfir, etc.

El objeto de nuestro estudio se centra en cómo afecta la gravedad de cada planeta a la vida de diferentes microorganismos. Damos por supuesto que otras variables que condicionan su existencia como son la temperatura, la presión, ambiente químico, radiaciones, etc..., podrán ser manipulables por el ser humano en una próxima colonización espacial y por tanto se alcanzarán las condiciones idóneas si se resuelve la cuestión de la gravedad. Todos los ensayos se realizaron en un pequeño trastero, acondicionado térmicamente a 30°C para la ocasión, con un radiador.

CAPÍTULO II

ENSAYOS CON MICROORGANISMOS

1. LA VIDA FUERA DE NUESTRO PLANETA.

Hasta ahora, el ser humano en persona ha conseguido orbitar alrededor de la Tierra en múltiples ocasiones e incluso ha alunizado varias veces. Estas empresas no han sido fáciles, pero eso, lejos de haber constituido un obstáculo, ha espoleado a la humanidad en el intento -no lejano- de aventurarse en el descubrimiento de otros mundos aún más lejanos. ¿Seremos capaces realmente de lograrlo? Una vez que superemos las dificultades técnicas, **¿PODREMOS ADAPTARNOS A LAS NUEVAS GRAVEDADES? ¿CÓMO VIVIREMOS EN EL ESPACIO?**

Las distancias en el espacio son abismales y llegar hasta un planeta tan cercano como Marte nos llevaría aproximadamente uno o dos años. Hasta que llegásemos estaríamos expuestos a una gravedad casi nula (microgravedad) y al llegar, Marte nos atraería con una aceleración de $3,72 \text{ m/s}^2$ ($0,379 g$) frente a los $9,8 \text{ m/s}^2$ ($1 g$) con que nos atrae nuestro planeta. ¿Nos acostumbraremos? ¿Y qué ocurriría si nos fuésemos a otros planetas (reales o aún por descubrir) donde reinasen gravedades superiores a la nuestra como Júpiter y Saturno, con aceleraciones de $26,39 \text{ m/s}^2$ ($2,69 g$) y $11,67 \text{ m/s}^2$ ($1,19 g$) respectivamente?

A continuación comentamos una selección de las principales consecuencias que la falta (microgravedad) o el exceso (hipergravedad) de gravedad ejerce sobre nuestro organismo.

1.1. EFECTOS DE LA FALTA DE GRAVEDAD (MICROGRAVEDAD) SOBRE EL ORGANISMO HUMANO.

A pesar de la completa y meticulosa preparación de un astronauta, los **efectos de la falta de gravedad son muy dañinos para su organismo**, ya que éste experimenta **cambios anatómicos, fisiológicos y psicológicos**, que se acentúan cuanto mayor tiempo permanece el individuo en microgravedad.

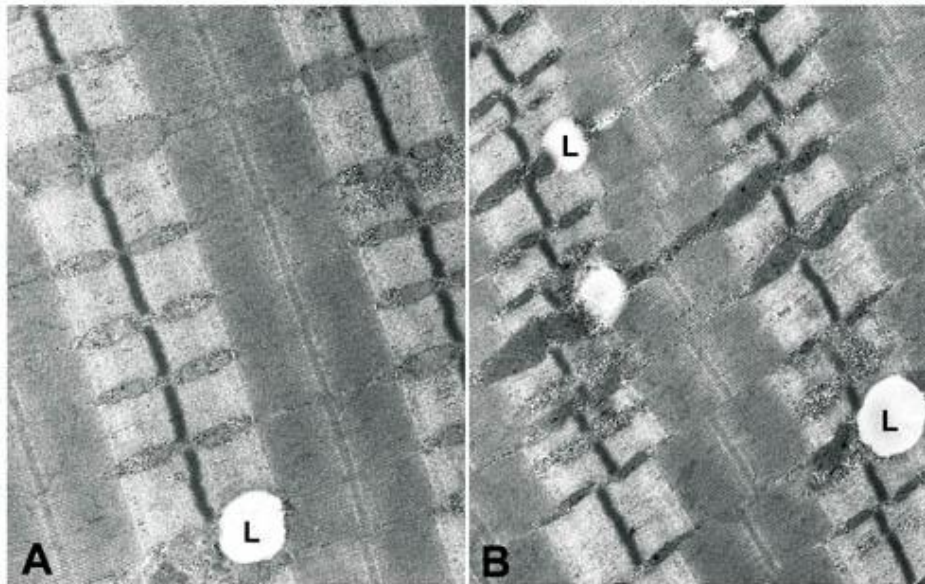
Según estudios clínicos realizados por especialistas de la NASA y de la Agencia Espacial Europea (ESA), como los de la estación MIR rusa, los sistemas más afectados durante las misiones tripuladas son el muscular, el óseo y el cardiovascular. ¡Desglosémoslos!

1.1.1. HUESOS FRÁGILES Y MÚSCULOS ATROFIADOS.

La **descalcificación de los huesos** es uno de los problemas más serios a los que deben enfrentarse los astronautas. A causa de la ingravidez, el cerebro interpreta que no es necesario reforzar el esqueleto y deja de producir osteoblastos (células que restablecen la masa ósea). Pero sí actúan los osteoclastos eliminando las partes del hueso más viejas. La falta de gravedad se traduce en la falta de los estímulos normales para la producción de masa ósea y mantener, así, el equilibrio perfecto entre la osteogénesis y la osteólisis. Esto genera la desaparición progresiva de la masa ósea, que finalmente acaba provocando **osteoporosis** en los astronautas. Por cada mes de viaje espacial, se registra una pérdida del 1-2% de la masa ósea, lo que equivale a la pérdida anual habitual en los adultos mayores en la Tierra. Se desconoce qué ocurre con permanencias superiores a un año, pero de mantenerse esa misma proporción, por ejemplo, en una misión a Marte que ocupara dos años, los astronautas perderían la cuarta parte de su masa ósea.

Unos huesos resultan más afectados que otros. La mitad inferior del cuerpo es la más perjudicada. Se pierde masa ósea de las piernas, las vértebras inferiores, los huesos de la cadera y el cuello del fémur. Ante la falta de exigencia física y de rendimiento muscular, los huesos liberan calcio a destajo, se debilitan y se vuelven muy frágiles. El nivel de calcio sanguíneo sube ostentadamente. Por eso, los astronautas presentan un **riesgo mayor de cálculos renales o calcificaciones en los tejidos blandos**. Como dato curioso, se observa que los astronautas regresan a la Tierra algo más altos. Miden unos cuantos centímetros más de estatura debido a la expansión (descompresión) de los discos de la columna vertebral. Pero esta ganancia suele acarrear dolores de espalda.

Por otro lado, **los músculos se atrofian rápidamente** porque el cuerpo percibe que no los necesita. Los músculos de la cadera y la columna, que contribuyen al mantenimiento de la postura y a la estabilidad, resultan innecesarios en el espacio, por lo que llegan a perder el 20% de su masa. La masa muscular puede desaparecer a una tasa del 5% semanal. Esta pérdida se intenta compensar con un par de horas diarias de bicicleta estática. Si bien el ejercicio durante el vuelo mejora la función del músculo, es insuficiente para prevenir el debilitamiento muscular.



La presencia o ausencia de gravedad afecta los tejidos musculares esqueléticos, como se muestra en estas dos micrografías electrónicas de células del músculo humano de la pantorrilla antes y después de 17 días en microgravedad. Antes del vuelo, la carga gravitatoria estimula la producción de proteínas que mantienen fuertes y simétricas las fibras musculares (A). Luego de 17 días en microgravedad (B), la fuertemente disminuida carga sobre el músculo esquelético ha frenado la producción de proteínas en las células individuales del músculo, las que se han vuelto más irregulares y frágiles a medida que se atrofian. La prevalencia de gotitas blancas de lípidos (L) indica que en microgravedad, los músculos almacenan la grasa en lugar de utilizarla para producir energía. Foto: Danny Riley y James Bain, Colegio Médico de Wisconsin.

1.1.2. SANGRE, CORAZÓN Y FLUIDOS ALTERADOS.

El funcionamiento del sistema cardiovascular depende estrechamente de la gravedad terrestre. En la Tierra, cuando una persona se levanta, la presión sanguínea en sus pies puede ser de unos 200 mmHg; mientras que en el cerebro es de sólo 60 a 80 mmHg. En el espacio, la presión sanguínea se iguala en todo el cuerpo, con un valor uniforme de unos 100 mmHg. El incremento de presión en la cabeza, que frecuentemente provoca que la **visión se nuble**, dispara la alarma. El cerebro interpreta que el cuerpo dispone de demasiada sangre. Consecuentemente, el organismo opta por aumentar la eliminación de líquidos por el riñón para lograr un nuevo equilibrio hemodinámico. De allí la ausencia de sed y la necesidad constante de orinar durante los primeros días, con el peligro de una **deshidratación** del cuerpo.

A los dos o tres días de la misión, los astronautas han perdido hasta el 22% de su volumen sanguíneo (de 1 a 1,5 litros de sangre). Al tener menos sangre con la que trabajar, **el corazón** baja su ritmo de producción y **se atrofia** (de difícil recuperación *a posteriori* en la Tierra). La uniformidad de la presión sanguínea en todo el organismo facilita también la acumulación de líquidos en el tronco y la cabeza. La expresión de los astronautas cambia y el rostro parece congestionado en el denominado "resfriado espacial". Esto explica la **sensación de cabeza hinchada y pesada** que experimentan los astronautas durante las primeras cuatro semanas.

1.1.3. NAÚSEAS Y VÉRTIGO FRECUENTES.

¿Qué está arriba o abajo, horizontal o vertical? Estas cuestiones banales para nosotros en la Tierra resultan del todo infundadas en el espacio en condiciones de microgravedad. Así ésta produce en muchos astronautas **desorientación, mareos al desplazarse, náuseas y pérdida del sentido de la dirección**. Esto ocurre porque el cerebro evalúa la información procedente de numerosos órganos de los sentidos, particularmente de los ojos, de los órganos vestibulares del oído interno y de los mecanorreceptores profundos de los músculos. Estos órganos ayudan al cuerpo a mantener el equilibrio e interpretar su orientación corporal con respecto a su localización y dirección. Como quiera que la información procedente de las piernas no coincide con la que aportada por los ojos o los oídos, el problema está servido.

1.1.4. SOBREEXPOSICIÓN A LA RADIACIÓN ELECTROMAGNÉTICA.

Los astronautas, durante sus misiones espaciales, están expuestos a **elevadísimas dosis de radiación**, especialmente la solar, aunque también a otras como la geomagnética -ubicada alrededor de la Tierra, en los cinturones de Van Allen- y la galáctica -la que proviene del exterior del sistema solar. No es por tanto de extrañar el elevado número de astronautas que con el tiempo desarrollan **cataratas**.

Según datos recogidos por los instrumentos del robot enviado en la misión Odisea Marciana 2001, la radiación en el planeta rojo es dos o tres veces mayor a la de la Tierra debido a la falta de campo magnético.

A esto se suman los resultados de estudios recientes que realizaron la ESA y la NASA en los astronautas. Hallaron que si no se reduce drásticamente la radiación que reciben las tripulaciones, éstas tendrían un 40% de probabilidades de desarrollar **tumores causados por mutaciones genéticas y aberraciones cromosómicas**.

1.1.5. SISTEMA INMUNE DEPRIMIDO.

Los viajes espaciales **debilitan el sistema inmunitario**. Los astronautas **presentan en su organismo diez veces más virus y bacterias de lo que es habitual en la Tierra**. También son **más propensos a las infecciones víricas, bacterianas y fúngicas**. El espacio reducido en el que se desenvuelve la misión facilita también el contagio entre los tripulantes.

Ahora, una investigación de la NASA ha permitido comprobar que la falta de gravedad resta eficacia a la acción de un tipo de linfocitos, las células T. La ausencia de gravedad obliga a estas células T a mantener una forma redondeada. En presencia de la gravedad, estas células adaptan su forma a los microorganismos que combaten o

bien adoptan la configuración que ofrezca más superficie de contacto para unirse o comunicarse con otras células defensoras. Todas estas facultades, cuando la célula es redonda, quedan muy mermadas. Nuestros cuerpos están llenos de pequeños invasores: bacterias, virus, protozoarios. Por millones, habitan nuestro intestino, colándose a través de la comida y del aire que respiramos. Usualmente no son un problema. En realidad, algunos son inclusive beneficiosos -- y los que no lo son, son controlados por medio de nuestro poderoso sistema inmune, el cual reconoce y destruye los patógenos antes de que éstos estén fuera de control. Sin el sistema inmune, los seres humanos morirían.

Pero nuestro sistema inmune funciona de manera diferente en el espacio. Este complejo sistema está compuesto, esencialmente, por células que combaten enfermedades, y que pueden viajar a través de todo el cuerpo. Aunque existen muchos tipos de células en el sistema inmune, éstas están típicamente divididas en dos categorías: las células B, las cuales producen anticuerpos -- proteínas que se adhieren a los gérmenes u otros invasores, marcándolos para ser destruidos -- y células T, los soldados del sistema que físicamente atacan y destruyen a los patógenos.

En el espacio, estas células no funcionan de la manera como lo hacen en la Tierra. **Las células T, por ejemplo, no se multiplican adecuadamente;** no hay tantas como debería haber. No se pueden desplazar muy bien. No se comunican unas con otras tan eficientemente. En general, **parecen ser menos capaces de destruir a los gérmenes invasores,** aumentando con ello el riesgo de infecciones.

1.1.6. SUEÑO "TRASTOCADO".

A las actividades técnicas propias de una misión y a las posibles complicaciones que los astronautas deben solucionar se suma la falta de un ciclo día-noche como el de la Tierra para poder descansar. Los astronautas suelen presentar **alteraciones del sueño,** como difícil conciliación y frecuentes interrupciones que reducen en dos horas las ocho programadas. Habitualmente, este trastorno se reduce en vuelo con **fármacos hipnóticos,** que por otro lado tienen **efectos secundarios** como la disminución de la agilidad mental, de la visión periférica y de la memoria.

1.1.7. INCOMODIDADES MOLESTAS DE LA VIDA EN EL ESPACIO.

No debe de ser fácil prescindir de tu intimidad, tener la necesidad de **realizar ejercicio** cada cierto número de horas, tener que adaptarse a vivir en un **reducido espacio** de forma permanente o ver siempre las mismas caras, en definitiva **convivir. Actividades como comer o dormir** o insistimos, interactuar con el resto de la tripulación, pueden no ser tan placenteras en el espacio limitado de una nave.



La NASA ha comprendido desde hace largo tiempo la importancia del ejercicio para batallar contra la atrofia muscular en la microgravedad. Aquí, el astronauta Robert F. Overmyer realiza una sesión de entrenamiento sobre un caminador a bordo del Spacelab en 1985 (izquierda). Dieciséis años más tarde, el astronauta de la Agencia Espacial Europea Umberto Guidoni se entrena sobre una bicicleta ergométrica a bordo del Transbordador Espacial Endeavour (derecha). Aunque estos ejercicios aeróbicos hacen trabajar los músculos de la parte superior de la pierna, Fitts cree que no proporcionan los tipos correctos de carga para prevenir la debilitación del músculo en microgravedad. Foto: NASA

La ausencia de ruidos y movimiento, la iluminación artificial, la monotonía del trabajo y las impredecibles emergencias que se pueden presentar aumentan el riesgo de cuadros agudos de **estrés y depresión**.

1.1.8. EL ESPACIO, MALA INFLUENCIA PARA LOS MICROBIOS.

Al menos un **microbio** que causa enfermedades comunes **se vuelve más virulento** en un ambiente simulado de baja gravedad. Los científicos que estudian este fenómeno esperan llegar a una mejor comprensión de las enfermedades contagiosas.

La vida es un poco diferente en el espacio, incluso para los microbios. La investigación muestra que el patrón de actividad genética en algunos microbios varía con la ingravidez, produciendo diferencias en su comportamiento. Estas diferencias podrían ser la causa de una curiosa observación: un patógeno corriente transmitido por la comida, la salmonela, se vuelve más virulento cuando crece en un tipo de microgravedad simulada.

Esta noticia no es un consuelo para los astronautas cuyos **sistemas inmunológicos ya están debilitados en la ingravidez**, haciendo más probable una infección.

1.2. EFECTOS DEL EXCESO DE GRAVEDAD (HIPERGRAVEDAD) SOBRE EL ORGANISMO HUMANO.

A diferencia de lo que ocurre con la información disponible sobre los efectos de la microgravedad en los seres humanos, que es muy amplia, apenas tenemos datos sobre los efectos de la hipergravedad - que obviamente sólo se han podido lograr en la Tierra merced a centrifugadoras especiales.

La NASA está interesada en estos estudios porque los astronautas en el espacio no sólo experimentan la muy baja gravedad. Están expuestos también a la hipergravedad:

hasta de 3,2-*g* en el lanzamiento y cerca de 1,4-*g* en la reentrada. "Bajo estas condiciones el fluido pesa más ", apunta Malcom Cohen, investigador del Departamento de Biología Humana de la Universidad de Stanford, que también trabaja para la NASA. El corazón tiene que cambiar su forma de operar, bombeando más rápido y trabajando más duro para empujar a la sangre en su camino hasta el cerebro. Esto podría hacer que los astronautas se marearan o, en casos extremos, que llegaran a desmayarse.

Cohen, está tratando de determinar hasta qué punto las personas pueden tolerar una prolongada exposición a una fuerza gravitatoria mayor de lo normal, por medio de una centrifugadora facilitada por la NASA que puede generar 20 *g*. La idea es duplicar la fuerza de gravedad terrestre para analizar en largos períodos de tiempo -hasta 188 horas-, las reacciones de los cuerpos.

Se escogió a unos gusanitos llamados *C. elegans*, de 1 mm a lo largo y que apenas son visibles sin la ayuda de un microscopio, y que tienen aproximadamente 19,000 genes así como nervios, músculos, y órganos semejantes a los que en seres humanos responden a los cambios en la gravedad y se les centrifugó durante 4 días a fuerzas entre 20 y 100 veces la gravedad terrestre (1 *g*). En comparación, pilotos no usando trajes especializados, pierden el conocimiento a fuerzas menores de 3 *g*.

Cuando se analizaron los cultivos tras el experimento, se observaron cambios en la expresión de un número limitado y específico de genes, probablemente con el fin de ayudar al organismo a sobrevivir y compensar los efectos de la gravedad en sus tejidos. El estudio de los mecanismos por los cuales *C. elegans* ajusta la síntesis de proteínas para sobrevivir en condiciones de hipergravedad, a largo plazo, podría permitirnos diseñar tratamientos, y posiblemente medicamentos, administrables oralmente a los astronautas.

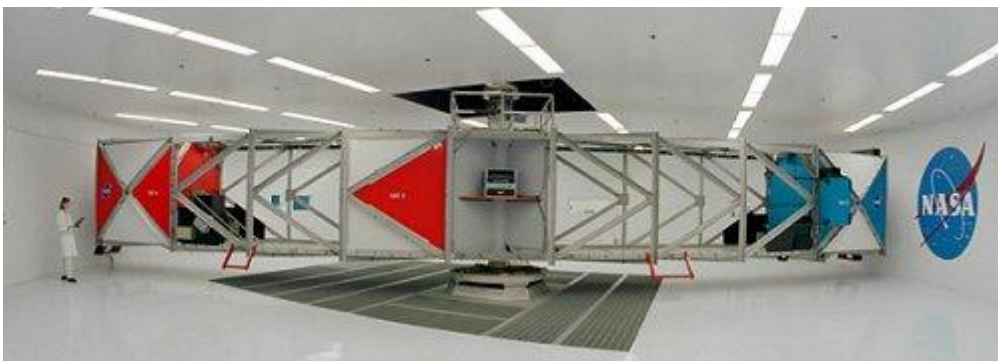


Foto: La centrífuga de 20-*g* en NASA Ames. Cohen utiliza este mecanismo en humanos, exponiéndolos a niveles de gravedad artificial tan altos como 2-*g*. Un sistema de monitoreo médico y dispositivos adicionales de seguridad permiten los estudios sobre humanos desde 1 a 12,5 *g*.

¿Y qué pasa con los "coballas humanas"? Se está aún tratando de determinar cómo afectan las diferentes clases de actividades realizadas con hipergravedad al acondicionamiento cardiovascular. Se encontró que los sujetos de prueba pasaban

mucho tiempo acostados, en parte porque era más cómodo y en parte porque el girarlos los mareaba -un efecto denominado "el síndrome de sopor". Cohen indicó que estaba sorprendido de lo fuerte que era. El siguiente estudio consiste en examinar qué sucede cuando los sujetos desempeñan un rango de actividades predeterminadas, tales como levantarse, en las cuales la fuerza-g pone un mayor estrés sobre el corazón, pero aún no han divulgado sus resultados (o nosotros no los hemos encontrado).

2. ¿QUÉ ALIMENTOS PODREMOS FABRICAR FUERA DE LA TIERRA POR LA ACCIÓN DE MICROORGANISMOS?

Resulta obvio que si vamos a pasar tanto tiempo fuera de nuestro planeta o incluso ni volvamos, **habrá que buscar una manera de fabricar los alimentos**. Pero ... ¿cuáles? **¿QUÉ COMEREMOS?** Siendo más precisos para dar respuesta a la pregunta del trabajo: **¿QUÉ ALIMENTOS PODREMOS FABRICAR CON LA COLABORACIÓN DE MICROORGANISMOS?**

Acabamos de comentar que en el espacio algunos microorganismos se vuelven más patógenos, y encima, nuestro sistema inmune se debilita. ¿Y entonces qué hacemos? Desde luego, como dice el refrán, *"Más vale prevenir que curar"*. Resulta de especial interés ingerir una dieta sana y equilibrada, que a la vez nos proteja de enfermedades. ¿Qué alimentos, cuya confección requiriera de la presencia de microorganismos, podrían ser buenos, sencillos y baratos para cumplir este fin? Sin duda alguna, entre otros sugerimos **LOS PRODUCTOS LÁCTEOS: YOGURES, KÉFIR, ACTIMEL y QUESO!!** Pero ¿quién se imagina una vida futura sin *delicatessen* del tipo del **VINO**, del **PAN** o incluso de una **CERVEZA?!!** Así que incluimos estos alimentos en nuestra lista, porque al igual que los anteriores, y consumidos en las cantidades adecuadas, resultan alimentos nutritivos y sanos, amén de sabrosos. Todos ellos responden a nuestro planteamiento: Se elaboran mediante **MICROORGANISMOS: BACTERIAS y HONGOS (LEVADURAS)**.

A continuación describimos las bondades y defectos de estos alimentos. Como quiera que **LA LECHE**, hasta no hace mucho considerada *"el no va más de la alimentación"* aumenta en número de retractoros ampliamos nuestro trabajo con **LA SOJA** (mal llamada *"leche de soja"*).

2.1. LA LECHE.

MITOS Y REALIDADES SOBRE LA LECHE

La leche no es un alimento tan milagroso como la industria láctea quiere hacernos pensar, pero tampoco una sustancia tóxica como proclaman sus adversarios. Para la mayoría de las personas, sus ventajas sobrepasan sus especulativas desventajas. Lo que resulta claro, es que todas las personas de cualquier edad, especialmente los niños y mujeres jóvenes, requieren calcio para construir masa ósea y hacerlos menos susceptibles a la osteoporosis a medida que envejecen.

La leche no es la única fuente de calcio; otras fuentes comunes son: brócoli y algunos vegetales de hoja, salmón enlatado, leche de soja fortificada con calcio, jugos, cereales, y suplementos comerciales.

VENTAJAS DE SU CONSUMO

1. La leche **contiene una gran variedad de nutrientes**. La leche de vaca es una **fuentes de calcio económica y apetitosa**, que además está **enriquecida con Vitamina D**, que es necesaria para la absorción del calcio y **protege contra el raquitismo** -una deficiencia de vitamina D que en los niños causa deformidades óseas. Además contiene otros nutrientes, **incluyendo potasio, magnesio y riboflavina (una vitamina del complejo B)**. Muchos investigadores consideran que este "cóctel" nutricional explica muchos de los beneficios observados en el control de la hipertensión arterial.
2. El **ácido linoleico conjugado (CLA por sus siglas en inglés)** ha sido identificado como uno de los **componentes de la leche** y sus derivados por más de 20 años (el calentamiento de aceites enriquecidos con ácido linoleico como de soja o maíz también producen CLA). El ácido linoleico conjugado ha demostrado **propiedades inhibitorias en tumores de la piel, el estómago, el colon y los senos en los ratones**.
3. **Previene la osteoporosis**.
4. **Tiene actividad uricosúrica**. Se ha comprobado que el consumo de leche ayuda a bajar los niveles de ácido úrico. Sus proteínas no producen este ácido.
5. El beber leche ayuda a **reducir el riesgo de formar piedras en los riñones**.
6. La leche ayuda a **reducir los riesgos de caries dentales** al actuar como sustituto de la saliva. Además de la humedad, que ayuda a limpiar la cavidad oral de sustancias que promueven las caries dentales, la leche ayuda a neutralizar los ácidos orales y ayuda a **remineralizar** el mismo.
7. Por su alto contenido de nutrientes **ayuda en la formación y regeneración de tejidos**. Resulta especialmente beneficiosas durante el embarazo, la niñez, después de enfermedades convalecientes y tras traumas y cirugías.

DESVENTAJAS DE SU CONSUMO

1. A pesar de que una de las mayores virtudes de la leche es su alto contenido en calcio, muchos expertos discrepan de que esto sea una ventaja, pues aseguran que **no se requieren grandes cantidades de calcio para tener huesos sanos**. Un estudio realizado en 1997 con 78.000 enfermeras, no encontró evidencias de que las mujeres que consumían más calcio sufrieran menos fracturas.
2. Existe una posibilidad, aún no comprobada, de que **los productos lácteos aumenten ligeramente los riesgos de padecer ciertos tipos de cáncer**. Aunque algunas investigaciones apuntan a que los productos lácteos puedan contribuir a proteger contra el cáncer de colon, otros estudios han demostrado una relación con el **cáncer de próstata**.
3. Este riesgo, si es que existe, parece limitarse a niveles de calcio sumamente elevados que solo pueden lograrse ingiriendo suplementos que contengan calcio.
4. **Puede haber una relación entre la leche y la diabetes dependiente a la insulina**.
5. La leche es **deficiente en hierro y vitamina C**.
6. La leche, es una **causa común de alergias y problemas digestivos**, particularmente entre personas de ascendencia africana o asiática, que carecen de la enzima requerida para digerir el azúcar de la leche, la lactosa.
7. Los **productos lácteos son deficientes en fibra y están sobrecargados de grasa y colesterol**.
8. La leche es una fuente concentrada de proteína. Irónicamente, el **excesivo consumo de alimentos altos en proteínas** tales como los productos lácteos puede contribuir a la **osteoporosis**.
9. Un litro de leche **contiene altos valores de sodio** (unos 500 miligramos). Los **pacientes con insuficiencia renal o cardíaca deberán tener sumo cuidado**, pues puede agravar sus condiciones. La misma recomendación se da para pacientes con hipertensión que no se esta controlando bien.
10. También hay una creciente evidencia sobre la **relación entre el consumo de leche y las cataratas**. De acuerdo a estudios científicos, las poblaciones humanas que consumen grandes cantidades de productos lácteos tienen una mayor incidencia de cataratas que aquellos que evitan los productos lácteos.

2.2. LA SOJA.

ORIGEN

La soja, *Glycine max.*, también denominada "soya", **procede del sureste asiático**, concretamente de China y Corea. Fueron los misioneros budistas chinos quienes, en torno al siglo VIII, llevaron la soja a Japón, transformándose en el alimento básico nipón. Además, fue en este lugar precisamente donde más se desarrollaron las posibilidades culinarias de la soja. La introducción de la soja en Occidente estuvo unida al movimiento hippie, principalmente por atención hacia la dieta macrobiótica japonesa. Actualmente, los productos alimenticios derivados de la soja son muy aceptados por movimientos vegetarianos y naturistas tradicionales europeos.

VALOR NUTRITIVO

La soja es un **alimento muy completo y nutritivo** y, junto con el altramuz, constituye la legumbre seca de mayor valor energético. Su **elevado contenido en proteínas**, superior a la de la carne, hace de la soja una fuente proteica vegetal de **gran interés dietético y nutricional**. Igualmente, es también importante su **contenido en fibra**. En cuanto a la **grasa**, aunque se encuentra en una proporción bastante **elevada**, los **ácidos grasos saturados y monoinsaturados son minoritarios en comparación con los ácidos grasos poliinsaturados** que presenta. Además, es después del huevo y el sésamo, uno de los alimentos más **ricos en lecitina**, lo que facilita su aprovechamiento culinario. En comparación con el resto de legumbres, la soja **aporta** mayor cantidad de **calcio, hierro, yodo, magnesio, potasio y fósforo, además de ácido fólico y otras vitaminas como B1, B2, B3 y B6**.

Tabla de composición (por 100 g de porción comestible)

Kcal (n)	Proteínas (g)	Grasas (g)	Hidratos de carbono (g)	Fibra (g)	Hierro (mg)
370,2	35,9	18,6	15,8	15,7	9,7
Zinc (mg)	Potasio (mg)	Calcio (mg)	Vit. B1 (mg)	Vit. B3 (mg)	Folatos (mcg)
4,3	1730	240	0,61	7,9	370

mcg: microgramos.

VENTAJAS DE SU CONSUMO

1. Estudios científicos recientes, ponen de manifiesto que la ingesta habitual de soja y sus derivados, **ricos en isoflavonas**, desempeñan un papel beneficioso **para paliar o tratar los síntomas asociados al climaterio o menopausia** (sofocos, dolores articulares y musculares, irritabilidad, aumento de peso...).
2. Además, dichos compuestos, también denominados **fitoestrógenos**, cumplen **acciones positivas sobre determinados órganos y tejidos como la pared vascular; se reduce el riesgo de alteraciones cardiovasculares**.

3. **Disminuye el riesgo de fracturas por osteoporosis** y existe una **menor** tendencia a la **desmineralización del hueso**.
4. Su **elevado aporte de fibra** contribuye a **prevenir y aliviar el estreñimiento**, a hacer más lento el paso de los azúcares a la sangre (**permite regular la glucemia**, lo que es beneficioso para personas con diabetes).
5. **Reduce los niveles de colesterol** en nuestro organismo gracias a su aporte en lecitina e isoflavonas (fitoestrógenos).
6. La soja es una **excelente fuente de proteínas**, la cual se convierte en un complemento idóneo en dietas vegetarianas.
7. **La soja es preventiva de cáncer de próstata** ya que en este órgano hay muchos receptores de estrógenos y la soja ayuda a regularlos.
8. Aquellas personas con estómago delicado, que no toleran bien esta legumbre cocida, pueden optar por su presentación en forma de germinados o fermentados (miso, tempeh, etc.). Además, **con la fermentación, se observa un aumento del contenido en vitaminas del grupo B, incluyendo la B12** (exclusiva de alimentos de origen animal). Esto es **muy importante para personas que siguen una dieta vegetariana**, ya que estos productos junto con el huevo y los lácteos, son la única fuente de dicha vitamina esencial, que el organismo es incapaz de sintetizar por sí mismo.
9. La soja, además de nutritiva, es un **alimento muy versátil** y con ella se pueden preparar yogures, salchichas, hamburguesas, patés, galletas y muchos otros preparados.

INCONVENIENTES DE SU CONSUMO

El único inconveniente serio que hemos podido encontrar es **su sabor peculiar**, que puede no ser del gusto de muchas personas.

2.3. EL YOGUR.

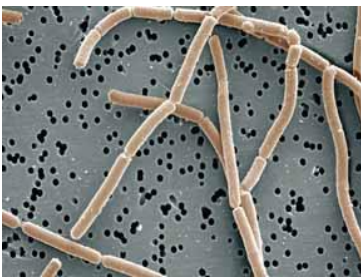
¿QUÉ ES?

El yogur es un producto alimenticio de consistencia semisólida que procede de la leche, generalmente de vaca, la cual se somete a un proceso de fermentación por lo que también se lo suele denominar "leche fermentada o acidificada".

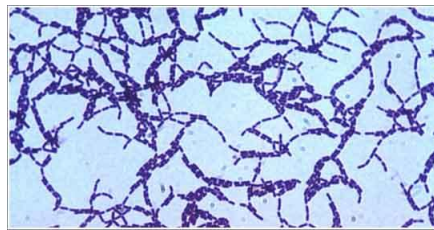


¿CÓMO SE OBTIENE?

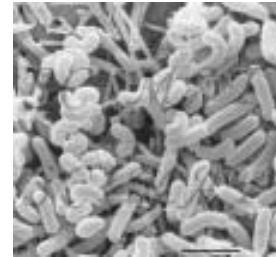
Para su obtención, se añade a la leche previamente pasteurizada y homogeneizada ciertas bacterias o microorganismos (fundamentalmente *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus bulgaricus*; aunque existen otras de reciente aparición en el mercado tales como: *Lactobacillus casei imunitass*, *Lactobacillus acidophilus 1*, *Lactobacillus casei shirota*, *Bifidobacterium bifidus*...) cuando se encuentra a una temperatura de unos 40-45°C, que transforman sus componentes nutritivos:



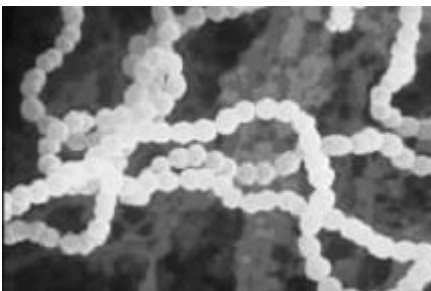
L.casei



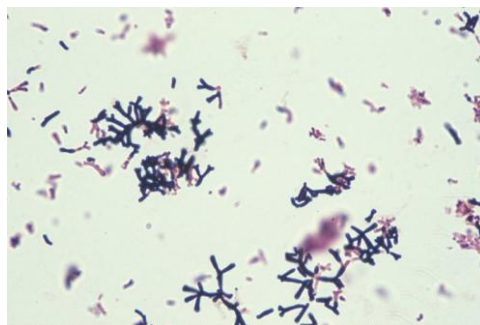
L.bulgaricus



L. casei

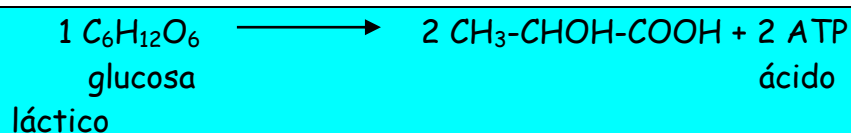


S.thermophil



Bifidobacterium sp.

* La lactosa (azúcar propio de la leche) pasa a ser ácido láctico lo que produce una acidificación y hace que las proteínas de la leche coagulen. La reacción de la **fermentación láctica** es la siguiente:



* Las grasas y proteínas sufren una predigestión, transformándose en sustancias más sencillas y digeribles por parte de nuestro organismo.

Todos estos procesos, además de hacer que el yogur sea un **producto más digerible que la leche líquida**, también determinan su sabor, aroma y consistencia final.

VALOR NUTRITIVO

Es muy similar al de la leche de la cual procede, a excepción de la lactosa, que se encuentra en concentraciones mínimas debido a su transformación en ácido láctico. Es **rico en proteínas de alto valor biológico, calcio de fácil asimilación, vitaminas del grupo B (especialmente, B2 o riboflavina) y vitaminas liposolubles A y D**. En cuanto a su contenido graso y de vitaminas A y D (están junto con la grasa), este dependerá de si se trata de un yogur completo, enriquecido en nata, con o sin queso o desnatado, siendo la mayor parte de las mismas grasas saturadas. Su valor calórico es función de la cantidad de grasa, pero también de si se han añadido o no durante el proceso de elaboración ciertos ingredientes adicionales: azúcar, edulcorantes no calóricos, mermelada, frutas frescas o desecadas, cereales, frutos secos, etc.

Kcal (n)	Proteínas (g)	Grasas (g)	Hidratos de carbono (g)	Calcio (mg)	Vit. B2 (mg)	Vit. A (mcg)	Vit. D (mcg)
81,25	4,4	4,2	6,9	167,5	0,24	34,5	0,1

Tabla de composición nutritiva (1 unidad comercial de 125 g -yogur natural sin azucarar).

VENTAJAS E INCOVENIENTES DE SU CONSUMO

Los nutrientes del yogur se asimilan y aprovechan mejor que los de la leche, gracias a la fermentación producida por las **bacterias acidolácticas**. La mayor parte de quienes padecen de intolerancia a la lactosa, pueden incluirlo en su **alimentación cotidiana**, ya que la presencia de lactosa es mínima dada su transformación en ácido láctico. Por otro lado, bajo estudios científicamente demostrados, se sabe que las **bacterias vivas de este producto, contribuyen a equilibrar la flora bacteriana de nuestro intestino y a potenciar nuestro sistema de defensas** contra infecciones y otras enfermedades; **el yogur es por tanto un ALIMENTO PROBIÓTICO**. Los probióticos son microorganismos que estimulan las funciones protectoras del tracto digestivo; también son conocidos como bioterapéuticos, bioprotectores o bioprolifáticos. Dado que las leches fermentadas presentan un efecto modulador sobre la mucosa intestinal, podrían ejercer un **mecanismo preventivo contra enfermedades infecciosas y un mantenimiento en la homeostasis del sistema inmune**, sin la inducción de efectos perjudiciales, como alergias o reacciones autoinmunes.

Los yogures están especialmente recomendados tras un periodo de diarrea, la ingesta de antibióticos y para personas con dificultades en la digestión (las **leches fermentadas con bifidus activo** llamados **yogures "bio"**, son menos ácidos y en

ocasiones mejor tolerados que los yogures convencionales). No deben tomarlo aquellas personas que tienen alergia a la proteína de la leche de vaca.

Para que un microorganismo pueda cumplir con esta función de protección tiene que poseer características tales como: Ser habitante normal del intestino, tener un tiempo corto de reproducción, ser capaz de producir compuestos antimicrobianos y ser estable durante el proceso de producción, comercialización y distribución para que pueda estar vivo en el intestino.

El Sistema Inmune intestinal permanece "no reactivo" a la microflora residente, lo cual es interpretado como una manifestación de tolerancia inmunológica. Este proceso es de vital importancia en la integridad del intestino, un fallo en este mecanismo puede conllevar a procesos inflamatorios patológicos. Los mecanismos mediante los cuales los microorganismos autóctonos contribuyen a la modulación de la reactividad en la defensa intestinal contra los patógenos para preservar la integridad del intestino, se ha llamado **efecto barrera**.

(Información aportada por la Lcda. Ada Lydia de las Cagigas Reig, el Dr. Troadio González Pérez y la Dra. Ascensión Marcos, del Instituto de Nutrición del CSIC en Madrid).

Dos últimas ventajas a añadir a esta lista: la **exquisitez del yogur en cuanto a su variedad de sabores, cremosidad, etc.** (¡¡ no digamos nada de los famosos yogures franceses y holandeses !!) y su **antigüedad como alimento tradicional**, que sin lugar a dudas es su mejor aval.

Resumiendo, los astronautas tienen un aliado en el **"YOGUR 10"** en cuanto:

1. Es apto para sujetos con intolerancia a la lactosa.
2. Es un alimento altamente nutritivo.
3. No resulta pesado (al ser un alimento probiótico).
4. Nos protege del ataque de posibles organismos patógenos.
5. Refuerza nuestro sistema inmunitario.
6. Aporta bacterias que nos proporcionan vitaminas.
7. Aporta calcio, elemento harto útil para evitar la descalcificación ósea si se acompaña de ejercicio físico .
8. Parece que evita o dificulta la absorción de mutágenos y carcinógenos en el intestino.
9. Nos resulta un "viejo conocido" de nuestra alimentación.
10. Es sabroso.

2.4. EL KÉFIR.

El *Kéfir* es la leche fermentada más antigua que existe. Su origen se sitúa en las montañas del Cáucaso. Tiene especiales y valiosísimas propiedades, según lo evidencia la longevidad de los pueblos que lo consumen habitualmente, desde hace miles de años.

APLICACIONES Y VENTAJAS DE SU CONSUMO:

Enfermedades de tipo nervioso, úlceras internas, catarros bronquiales, esclerosis, infarto cardíaco, problemas de vesícula, de hígado, riñones, ictericia, enfermedades del estómago e intestinos, diarreas, estreñimiento, intestino perezoso, anemia, leucemia, dermatitis y eczemas. Su uso continuado produce muy buenos efectos en convalecencia después de graves enfermedades. También da buenos resultados en alergias de la piel, embarazo y en las molestias femeninas del bajo vientre.

El *Kéfir* previene putrefacciones intestinales y contribuye a la depuración del organismo. Se debe beber diariamente, no altera la digestión y es asimilado con rapidez por la sangre. Cuando se tienen afecciones crónicas, se debe beber gran cantidad de *Kéfir* de agua, por la mañana, al mediodía y por la noche, $\frac{1}{2}$ litro cada vez.

El *Kéfir* no es un remedio universal. Cuando exista enfermedad, siempre se debe acudir al médico. El *Kéfir* puede ayudar a la Medicina por su efecto desintoxicante en muchas enfermedades.

El *Kéfir* de 24 horas actúa como laxante y se debe tomar por la noche, con una duración de 2 a 4 semanas. En cambio, el de 48 horas, regula y restablece la función intestinal.

El *Kéfir* de agua tiene unas propiedades con efectos superiores al *Kéfir* de leche. Se puede tomar en mucha más cantidad (de 1 a 3 litros al día). Sus gránulos son casi transparentes, sueltos y de un color acaramelado.

También normaliza la presión arterial y el peso físico.

La acción fermentadora de las bacterias y levaduras del *Kéfir*:

1. Incrementa el valor biológico de las proteínas de la leche.
2. Produce la **síntesis de vitaminas del complejo B**, siendo una fuente importante de potasio, fósforo, calcio y vitaminas.
3. **Restablece y equilibra la flora intestinal**, siendo un **alimento probiótico** y previniendo gran número de enfermedades.
4. Sintetiza ácido láctico, reduciendo la lactosa y **favoreciendo la digestibilidad de la leche**.

Nervios	1 litro diario
Úlceras	1 litro diario (desaparecen después de 2 meses)
Catarro bronquial	1 litro diario
Asma	1 litro diario (durante más tiempo)
Leucemia, Anemia	1 litro diario. 2 litros diarios en casos graves. (Comprobar si después de 3 meses la sangre es normal).
Esclerosis	1 litro diario.
Alergias, Dermatitis, Eczemas	$\frac{1}{2}$ litro diario + aplicación sobre la parte afectada dejándolo secar. Lavarse cara i manos (de 2 a 4 semanas desaparece la alergia más rebelde).
Cistitis	1 litro diario
Problemas renales	1 litro diario
Afecciones de la vesícula biliar	1 litro diario (después de 2 a 6 meses los problemas de la bilis desaparecen).

Tabla que muestra la dosis de kéfir a tomar vs. la afección o enfermedad.

Las **propiedades bactericidas** del *kéfir* son bien conocidas. La calidad y el buen estado de la leche son muy importantes a la hora de elaborar un buen kéfir, aunque también lo es la calidad de los nódulos del kéfir.

Solo existe un sistema para ingerir la leche entera asimilando todas las propiedades y es transformándola en yogur, pues ya es sabido que la ebullición, la esterilización y sus múltiples derivados, desnaturalizan a este producto, reduciendo la cantidad de caseína y alterando sus azúcares, lo mismo que sus diastasas y otros elementos vitalizantes.

COMPOSICIÓN

El *Kéfir* es una estructura polisacárida donde conviven en simbiosis diversos microorganismos. Aunque se ha comparado con el yogur, la microflora del *Kéfir* es mucho más compleja. Las bebidas que se obtienen tienen propiedades curativas. Hay tres tipos de *Kéfir*, el de leche, el de agua y el de té. Del primero, el *Kéfir* de leche, se obtiene una especie de yogurt, del segundo, una bebida parecida a una limonada con gas, y del tercero, una bebida de hierbas. La mayoría de gente conoce más el *Kéfir* de leche. En realidad, los tres tipos son el mismo *Kéfir*, con la misma microflora, pero adaptados a medios distintos.

El *Kéfir* se realiza mediante siembra directa de un cultivo con la siguiente composición:

- *Lactococcus lactis*.
- *Lactococcus cremoris*.
- *L.biovar diacetylactis*.
- *Leuconostoc mesenteroides subs. cremoris*.
- *Lactobacillus plantarum*.
- *Lactobacillus casei*.
- *Kluyveromices marxianus var. fragilis* (Torula kéfir)

¿CÓMO SE CONSIGUE EL KÉFIR?

Entraña alguna dificultad encontrar en nuestro país el *kéfir*, pero últimamente en las tiendas de alimentación naturista se dispone de él, y en caso contrario puede encargarse. En nuestro caso fue una compañera del Instituto la que nos lo pasó.



La confección del *kéfir* es sencilla, partiendo de la base de que este hongo unicelular debe permanecer siempre en contacto con la leche. En un bote de cristal bien limpio, se colocará la espora del *kéfir* con leche pura de vaca, entera, sin hervir, en el mercado venden paquetes preparados de esta clase de leche, el cual flota y se desarrolla, crece, lo que hace que se pueda repartir *kéfir* entre las amistades. A ser posible se utilizará leche fresca y no leche hervida, esterilizada, pasteurizada ni homogeneizada, pues esas leches se han desnaturalizado y carecen de enzimas y sustancias responsables de las virtudes alimenticias que presenta el *kéfir*.

Es importante que el recipiente donde se halla el *kéfir* y la leche esté cerrado herméticamente y es necesario que se quede un tercio del bote sin leche, pues de esta manera el aire que permanece en el recipiente, ayuda al proceso de transformación.

Cada 24 horas se debe extraer la leche transformada ya en *kéfir*, y añadir acto seguido nueva leche cruda, preservando el espacio de aire anteriormente indicado. Jamás se debe poner la espora de *kéfir* en el frigorífico, pues morirá, de la misma manera que moriría si se queda sin leche. Estos son dos enemigos del *kéfir*, el frío y la falta de contacto con la leche. El bote debe estar siempre a la temperatura ambiente. El grano de *kéfir* se lavará en verano cada ocho días y en invierno cada quince, con agua clara del grifo. Una vez limpio se coloca de nuevo en el bote, que también se habrá lavado cuidadosamente y que estará en condiciones de producir otra vez yogur. Una vez extraída la leche y transformada en *kéfir*, sí se puede poner en la nevera como si de un yogur se tratara.

Hay que saber que el *kéfir* de veinticuatro horas es laxante y el de más de treinta y seis horas, astringente.

INSTRUCCIONES PARA LA PREPARACIÓN DEL KÉFIR

- 1º- Preparar tres cuartos de litro de leche (de vaca, cabra, oveja, etc.) sin hervir y poner en un frasco bien limpio de 1 litro de capacidad.
- 2º- Poner 150 g de *kéfir* en su interior.
- 3º- Dejarlo 24 horas en reposo a temperatura ambiente.
- 4º- Pasadas las 24 horas, colar el contenido del frasco, procurando que no caiga el nódulo de *kéfir*.

5°- El recipiente donde ha caído la colación, ya convertida en yogur, puede comerse y guardarse en la nevera.

6°- Rellenar nuevamente con tres cuartos de litro de leche.

Este es en resumen todo el proceso que se sigue para conseguir el *kéfir*, un alimento tan antiguo como el hombre y cuya cita en la Biblia nos relata que fue el primer alimento que tomó Noé, después del Diluvio Universal por indicaciones de Dios.

2.5. EL "ACTIMEL".

ORIGEN DEL CULTIVO

La cepa *Lactobacillus casei* DN-114 001 que contiene el *actimel* se ha aislado a partir de leche fermentada. Los científicos de Danone Vitapole la seleccionaron de entre su colección por sus **cualidades probióticas**, entre las que cabe **destacar la supervivencia de los microorganismos prebióticos que contiene el producto**. *L. casei* DN-114 001 es una cepa de origen natural del género *Lactobacillus* que se encuentra en la leche fermentada, en verduras fermentadas y en el intestino, donde cumple una importante misión.

La concentración de *L. casei* DN-114 001 en *actimel* es de 108 unidades formadoras de colonias (ufc)/ml, lo que equivale a 1010 ufc por ración hasta el final de la fecha de caducidad del producto en condiciones normales de almacenamiento (*Actimel* tiene que almacenarse en el frigorífico). Por otra parte, *actimel* también contiene *Lactobacillus bulgaricus* (107 ufc/ml) y *Streptococcus thermophilus* (108 ufc/ml).



FABRICACIÓN

El proceso de fabricación de *actimel* es similar al que se utiliza para la fabricación de yogures para beber. Comprende la asociación de leche fermentada con *L. casei* DN-114 001 y leche fermentada edulcorada con cultivos de yogur preparados siguiendo el método tradicional de fabricación de yogures por agitación.

EFFECTOS BENEFICIOSOS

Se han realizado numerosos estudios en modelos experimentales y en seres humanos con *actimel* y *L. casei* DN-114 001 que ayudan a comprender sus efectos beneficiosos para las defensas naturales del tubo digestivo. En estos estudios se han demostrado sus efectos en la **optimización de la función de barrera de la microflora, el epitelio y el sistema inmune intestinales**. Asimismo, estos estudios sirven para avalar y ampliar los estudios clínicos de los efectos saludables de *actimel*.

La diarrea infecciosa que puede ser de etiología parasitaria, bacteriana o vírica, viene acompañada de deshidratación, cuya gravedad depende de los casos. En los países desarrollados, la diarrea vírica es la más frecuente, seguida de la diarrea bacteriana. Los niños que viven en comunidades (guarderías, orfanatos) se ven especialmente expuestos a este tipo de infección. El hecho de que el agente infeccioso (bacteria o virus) pase a la circulación sistémica indica que se han burlado las tres líneas de defensa del aparato digestivo (la microflora, el epitelio y el sistema inmune digestivo).

Por ello la diarrea constituye un modelo pertinente para evaluar los efectos clínicos de *L. casei* DN-114 001 en los sistemas de defensa natural del organismo.

***Lactobacillus casei* DN-114 001 sobrevive y es metabólicamente activo en el tubo digestivo.** *L. casei* DN-114 001 es la cepa probiótica que se ha seleccionado para *Actimel* al haber demostrado que supera el paso por un medio tan severo (ácido y bilis) como el estómago y el duodeno a concentraciones relativamente elevadas si se compara con otras cepas de *L. casei* y otros tipos de bacterias. La supervivencia en el tubo digestivo constituye una condición indispensable esencial de todo alimento probiótico. Gracias a que puede llegar viva hasta el colon, **puede modificar de forma transitoria la microflora intestinal.**

- Diversos estudios han demostrado que el consumo de *actimel* mejora los distintos parámetros de las defensas naturales del organismo:
 - **Acción beneficiosa para la microflora intestinal;**
 - **Mejora del funcionalismo del epitelio intestinal;**
 - **Optimización del sistema inmune.**
- En estudios clínicos y preclínicos, *Actimel* ha demostrado ser beneficioso en la reducción de la frecuencia, gravedad y duración de la diarrea.
- Si bien se están analizando actualmente otras consecuencias clínicas de los efectos observados, los datos considerados en su conjunto indican que el consumo de *actimel* es beneficioso para las defensas naturales.
- **En ratones, *actimel* aumenta la supervivencia en caso de infección por *Salmonella typhimurium*.**
- ***Actimel* protege a las ratas frente a la diarrea causada por rotavirus.**

COMPOSICIÓN

El *Actimel* no contiene colorantes artificiales, sabores artificiales ni conservantes.

ACTIMEL ORIGINAL	
DÍA DE FABRICACIÓN DEL PRODUCTO+ 24 HORAS	
Materia seca total	18.4–19.4%
pH	3.9–4.2
Viscosidad (mPa a 10°C)	10–14
Densidad	1.066

Tabla. Características de *Actimel*®

VALORES TÍPICOS POR RACIÓN DE 100 G (POR FRASCO)		
VARIETADES	NATURAL	0% (SIN GRASA)
Valor energético (Kcal)	88	34
Valor energético (KJ)	371	146
Proteínas (g)	3.0	2.9

Grasa (g)	1.7	0.05
Hidratos de carbono (g)	15.1	5.1
Sacarosa	14.1	<0.05
Lactosa	3.0	2.8
Dextrosa	0.3	<0.25
Fructosa	0	0.6
Fibra soluble	0	1.9
Calcio (mg)	104	109
Sodio (mg)	–	40

CONSUMO Y CONSERVACIÓN

- *Actimel* es idóneo para toda la familia y puede incluirse en una dieta equilibrada. Pueden tomarlo todos los niños de edad igual o superior al año.
- Para consumir *actimel* con regularidad se puede tomar, por ejemplo, un frasco cada día con el desayuno.
- *Actimel* es una leche fermentada que se vende fría y que no debe calentarse, ya que se destruirían sus cultivos vivos. Debe consumirse antes de la fecha de caducidad.

2.6. EL QUESO.

Queso es el producto fresco o madurado obtenido por coagulación y separación de cualquiera de los siguientes productos: leche, nata, leche desnatada (total o parcialmente), suero de mantequilla o de una mezcla de cualquiera de ellos.

PROCESO DE FABRICACIÓN

1. RECEPCIÓN Y PRETRATAMIENTO

La leche cuando se recibe, se higieniza con el fin de eliminar las impurezas sólidas que procedan de la ganadería. Una vez higienizada, la leche se homogeniza si se quiere que la leche tenga unos parámetros definidos de materia grasa, para ello se utilizan desnatadoras que a través de procedimientos centrífugos separa la grasa láctea. En el caso de no realizar tratamientos de homogenización, se dice que el queso se ha fabricado con leche entera. Posteriormente si la leche no se fuera a someter al proceso de fabricación en ese mismo momento, se enfría a 3-4°, que es la temperatura óptima de conservación.

2. TRATAMIENTOS TÉRMICOS DE LA LECHE

Antes de comenzar la fabricación, bien con leche recién ordeñada, bien con leche refrigerada procedente de ordeños anteriores, la leche se puede someter a un proceso térmico a 70-80° durante 15-40 segundos. A dicho proceso se le llama pasteurización y el objeto es eliminar microbios patógenos de la leche. Cuando este proceso no se aplica se dice que el queso está fabricado con leche cruda.

El queso fabricado con leche cruda, es exquisito, y se puede consumir sin ningún problema siempre que tengan más de 60 días de curación, o bien con una maduración inferior si la leche procede de ganaderías higiénicamente aceptadas. Es importante decir que antiguamente, no se solía aplicar procesos térmicos a la leche puesto que no existían los pasteurizadores.

	Ventajas
LECHE PASTEURIZADA	Se han eliminado los microorganismos patógenos, lo que minimiza el riesgo de ser perjudiciales para el hombre en quesos con curación menor a 60 días.
LECHE CRUDA	Al no haber sido sometido a procesos térmicos los microorganismos "buenos" no han sido eliminados con lo que se obtiene un queso mucho más intenso y sabroso.

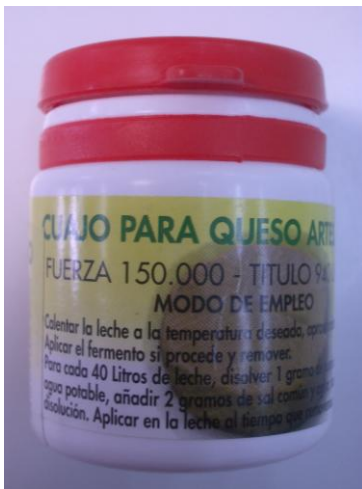
3. LLENADO DE CUBA Y ADICIÓN DE FERMENTOS

Una vez disponemos de leche tratada o no, térmicamente, esta se vierte en una cuba, llevándose a cabo un proceso de calentamiento hasta 25-30° temperatura, en la que se

añaden cultivos de bacterias lácticas, fermentos, mohos cuya misión es que crezcan y aporten aromas y sabores que se desarrollarán en el proceso de maduración.

4. COAGULACIÓN

Acto seguido, se añade el cuajo (extracto obtenido del cuajar del estómago de los rumiantes -cuajo animal- o a partir de determinadas plantas -cuajo vegetal). Es en este momento cuando la leche pasa a transformarse en queso puesto que la caseína (la más importante proteína de la leche) es coagulada a unos 30-32°, englobando la mayor parte de la grasa y otros componentes.



En combinación con el ácido láctico producido por las bacterias lácticas de la leche, la **renina** (cuajo) precipita las proteínas lácticas formando un producto sólido, la **cuajada** (futuro queso), que se separa posteriormente del componente líquido, el **siero lácteo**.

Otra forma de coagulación es la que se consigue mediante la **acidificación de la leche**, ya que si ésta se deja a temperatura ambiente, su acidez va subiendo progresivamente, hasta que adquiere un aspecto de **cuajada** o de "leche cortada".

5. CORTE

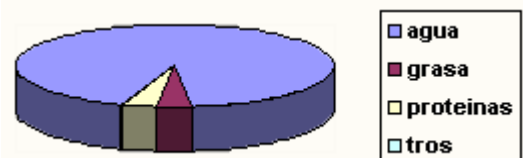
Cuando la coagulación ha finalizado, la gran masa cuajada, pasa a ser cortada mediante cuchillas o liras. El objeto de cortar la masa es conseguir granos de mayor o menor tamaño dependiendo del suero que se quiera retener.

Normalmente un queso más húmedo está formado por grano más grande, que actúa a modo de "esponja". Es en esta fase cuando se extrae el suero sobrante (suero = parte líquida de la leche que no ha sido aprovechada en la fabricación del queso) leche -> queso + suero.

6. CALENTAMIENTO

La pasta una vez ha sido cortada y desuerada, se procede al calentamiento entre 30 y 48°C, mientras es agitada para que los granos permanezcan separados y no se vuelvan a unir. Cuanto más se caliente el grano, más seco resultará el queso, puesto que el incremento de temperatura, provoca un mayor desprendimiento de suero. En función de la temperatura a la que ha sido sometida la pasta, hablamos de pasta blanda, pasta semicocida y pasta cocida.

COMPOSICIÓN DE LA LECHE



COMPOSICIÓN DEL QUESO



7. PRENSADO

Finalizado el calentamiento, se procede al llenado de los moldes (recipientes que dan la forma y el tamaño al queso). Los moldes pueden ser sometidos o no a una presión exterior. Esta presión produce una expulsión del suero y permite al queso adoptar formas mucho más acentuadas. Hablamos de quesos de pasta prensada y quesos de pasta no prensada. Los "ojos" de los quesos, muchas veces se producen en esta fase, si el grano se prensa con mucho suero, se consigue que los granos se fundan entre sí y que por consiguiente no haya ningún ojo. Si por el contrario los moldes se llenan con grano seco, el corte del queso aparecerá con gran cantidad de "ojos". Salvo en casos muy contados, (butírico etc.), la presencia o no de ojos no supone un indicativo de que el queso sea mejor o peor.



8. SALADO

Una vez el queso está prensado, se pasa a la fase del salado, ésta puede ser en seco, aplicándola directamente sobre la masa, o por inmersión en agua con sal o salmuera.

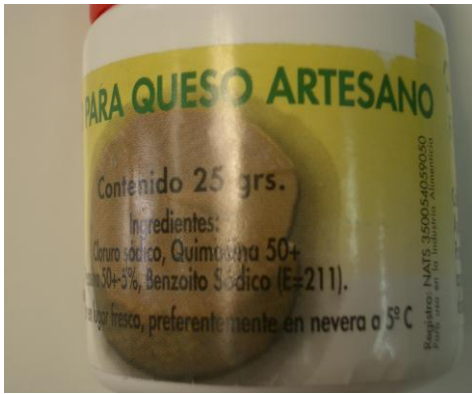
9. MADURADO

La maduración es la última fase de la fabricación, ésta puede durar desde unas horas, hasta varios meses. En la maduración se desarrollan una gran cantidad de aromas y sabores. La curación se lleva a cabo en zonas especialmente acondicionadas para ello, donde la temperatura y la humedad son las adecuadas para cada tipo de quesos. Estas bodegas de maduración pueden ser naturales, como las cuevas donde maduran los *quesos de Cabrales* o cámaras especialmente preparadas para ello.

A lo largo de la maduración, el queso va perdiendo progresivamente humedad mediante la evaporación. Esto provoca una disminución en su peso y un incremento también progresivo del extracto seco porcentual en el peso total del queso. Esto significa que si por ejemplo 1Kg. de queso, el primer día está compuesto por 450 grs. de materia seca y 550 grs. de agua, al cabo de un tiempo de maduración este queso, ya no pesará 1 kg., sino 900 grs., y la composición será, los mismos 450 grs. de materia seca y 450 grs. de agua. En función del tiempo que está un queso madurando en las cámaras se habla de queso fresco, tierno, oreado, curado, viejo y añejo.

CÓMO OBTENER EL CUAJO: QUIMOSINA CLONADA EN LEVADURAS

El **cuajo**, como hemos dicho, es el extracto obtenido del cuajar del estómago de los rumiantes *-cuajo animal-* o a partir de determinadas plantas *-cuajo vegetal-*. Parece estar meridianamente claro que llevar un rumiante al espacio sería hartamente difícil y si encima luego lo tuviésemos que sacrificar para obtener su estómago nos quedaríamos sin animales. Con las plantas parece el asunto más factible: podríamos cultivar en el espacio por ejemplo el cardo, para de él obtener el cuajo vegetal con el que elaborar el famoso "*queso de flor*" de Guía.



No obstante, nos cuestionamos si aprovechando los avances de la biotecnología alguien habría clonado "el gen de cuajar" en algún organismo. Así fue como descubrimos que un grupo científicos de la Unidad de Investigación del Hospital Universitario de La Candelaria, en Tenerife, utilizando la técnica del ADN recombinante, **había conseguido reproducir en LEVADURAS de uso alimentario la QUIMOSINA**, que es el componente activo del

cuajo (estómago) de los cabritos utilizado para coagular los quesos. Este estudio, publicado en la revista científica *Journal of Biotechnology*, fue dirigido por Félix Claverie y en él participaron María Vega, Alicia Gómez y Jesús Villar.

De esta forma se puede producir el queso tradicional a una mayor escala sin tener que sacrificar a los cabritos jóvenes para obtener el cuajo.

Para realizar este trabajo se aisló del estómago del cabrito el material genético que codifica la quimosina y, con la ayuda de un vector, este material **se introdujo en las mismas levaduras que se utilizan para la elaboración del pan o la cerveza.**

Los investigadores constataron que estas levaduras se convirtieron en pequeñas fábricas del mismo elemento que se produce en el estómago del cabrito, con la ventaja de que, a través de la manipulación, la quimosina obtenida es más pura y carece de elementos infecciosos. Claverie puntualizó que **se comprobó que esta quimosina es capaz de coagular la leche**, por lo que supone una alternativa al cuajo de cabrito en la elaboración de quesos de cabra.

El experto recordó que las queserías tradicionales utilizan el cuajo de cabritos de pocos días para coagular la leche pero esta técnica no se puede realizar a gran escala, dado que el estómago de este animal tiene que reunir una serie de condicionantes para poder ser utilizado. Señaló que las fábricas a mayor escala usan agentes coagulantes procedentes de otros animales como la ternera o de hongos. Aseguró que **el producto final es el queso tradicional que no ve para nada alterado su sabor** y que incluso está más purificado al no contener otros elementos que no intervienen en el proceso de coagulación pero que sí están presentes en el estómago del animal.

Este descubrimiento se puso en práctica en una quesería del norte de Tenerife con 100 litros de leche y se constató que puede ser utilizado para uso industrial.

El siguiente paso sería la producción de esta enzima en mayor cantidad y de hecho el autor ha solicitado una patente, que está en tramitación, para proteger este invento.

Nos aventuramos a solicitar al autor un poco de **levadura recombinante**, convencidos de que así, cuando hiciésemos nuestros experimentos para obtener alimentos en otros planetas, podríamos crecer la levadura no sólo para elaborar vino o pan, sino también queso si se utiliza este recombinante. Como quiera que el producto está pendiente de patente, la solicitud fue naturalmente rechazada (se adjunta la respuesta del autor).

Estimado Sr. Navarro:

Gracias por su interés en nuestro trabajo. Al tratarse de un microorganismo recombinante y estar todavía pendiente de patente, no me es posible distribuirlo. Quizás podríamos proporcionarle un poco de quimosina bovina recombinante para hacer una pequeña prueba de coagulación.

Saludos

Félix Claverie-Martín, Ph.D.
Unidad de Investigación
Hospital Universitario N. S. de Candelaria
Carretera del Rosario, s/n
38010 Santa Cruz de Tenerife
Spain

Tel.: (34) 922 600566/602389

Fax: (34) 922 600562

e-mail: fclamar@gobiernodecanarias.org

En cualquier caso, es muy interesante saber que existe la posibilidad real de elaborar queso en el espacio utilizando dicha levadura recombinante. ¡¡Ya no necesitamos llevar a un rebaño en la nave espacial!!

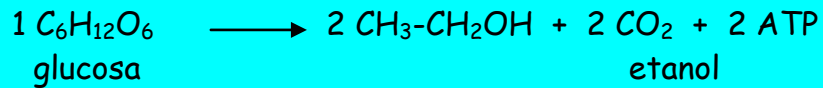
2.7. EL PAN.

FABRICACIÓN DEL PAN

Los microorganismos que intervienen en la fabricación del pan son **LEVADURAS** de la especie *Saccharomyces cerevisiae*, las cuales llevan a cabo una **fermentación alcohólica** que emplea como sustratos de fermentación los azúcares presentes en la harina de trigo.



Los productos obtenidos en la fermentación son: **etanol**, que se evapora en la cocción, y **CO₂**, responsable de que la masa "suba", es decir, aumente de volumen y se esponje. La reacción de la **fermentación alcohólica** es la siguiente:



La elaboración del pan consiste en **mezclar**, en un primer paso, **harina, agua, sal y levadura**. Al entrar en contacto con el agua, las amilasas presentes en la harina se activan e hidrolizan el almidón a mono y disacáridos, azúcares que son rápidamente fermentados por la levadura. El **CO₂** resultante queda atrapado en el interior de la masa y forma un gran número de pequeñas burbujas que determinan el aspecto esponjoso de la misma.

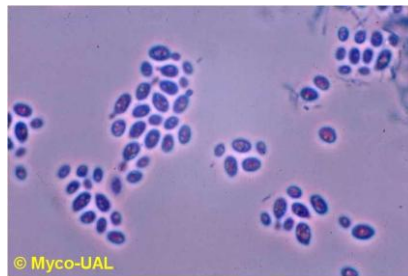
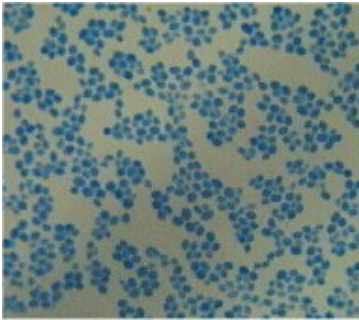
La cocción de la masa elimina el etanol producido en la fermentación y destruye las células de la levadura. Así mismo, tiene lugar una reducción importante en el contenido de agua.



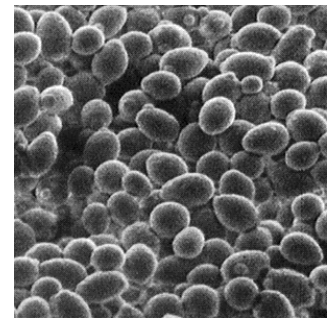
2.8. EL VINO Y LA CERVEZA.

FABRICACIÓN DEL VINO

En la fabricación del VINO y la cerveza interviene la LEVADURA *Saccharomyces cerevisiae*, que realiza una **fermentación alcohólica** semejante a la descrita en el proceso de elaboración del pan.



Levadura del pan



En el caso del vino, el sustrato de fermentación lo constituyen los azúcares presentes en el **mosto**, el zumo natural de las uvas rico en fructosa y glucosa. La levadura, que se encuentra de forma natural sobre la piel de las uvas, **transforma** estos **azúcares en etanol y CO₂**.

Cuando termina la fermentación, **el vino se aclara mediante filtrado**, aunque también se añaden algunos compuestos que facilitan la precipitación de los elementos en suspensión. A continuación se embotella, si se desea obtener vinos jóvenes, o se somete a un proceso de maduración para envejecerlo.

LOS BENEFICIOS DEL VINO

1. Acción antioxidante y Reducción del riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares.

Se descubrió que el pellejo de las uvas negras contiene un amplio rango de **compuestos fenólicos**. Concretamente **ácidos fenólicos, flavonoides y resveratrol** que tienen una gran capacidad de **proteger** a las **lipoproteínas LDL de la oxidación**. (Inhiben el colesterol "malo", que una vez oxidado pasaría a formar una placa de ateroma en la pared de las arterias). De ahí el que una copa de vino tinto en las comidas contribuye a evitar que las plaquetas sanguíneas se aglutinen.



2. Neutraliza radicales libres.

Hoy se sabe que el proceso de envejecimiento así como la aparición de algunas enfermedades, se debe al efecto de los "radicales libres". Es decir, a ciertas partículas que oxidan nuestras células. Tienen un cometido útil en el caso de que nuestro organismo deba luchar contra las bacterias, pero en contrapartida son responsables del endurecimiento de nuestras arterias (arteriosclerosis).

Podemos combatir los radicales libres consumiendo antioxidantes artificiales (vitamina C, vitamina E, betacarotenos) o recurriendo a una alimentación sana con altas dosis de verduras y frutas frescas, aceite de oliva y vino tinto con moderación.

3. Retrasa el envejecimiento y previene de enfermedades geriátricas.

Recientemente, un grupo de investigadores de la Universidad de Harvard ha demostrado que el **resveratrol**, que abunda en la piel de la uva negra, es capaz de estimular, las **sirtuinas**, unas enzimas celulares que regulan el envejecimiento de todos los organismos vivos. De todos los compuestos que probaron los investigadores, el que más estimuló a la enzima fue el resveratrol, por lo que el consumo moderado de vino tinto puede ayudar a retrasar el envejecimiento y **prevenir enfermedades geriátricas como el Alzheimer.**

4. Acción antiespasmódica.

5. Activación de la secreción biliar.

6. Acción antibacteriana.

7. Efecto antihistamínico, que atenúa las reacciones alérgicas.

Como el vino es un poderoso antioxidante y antiinflamatorio, por lo que actúa como inhibidor en las primeras fases de la arterioesclerosis.

8. Protege las paredes arteriales, al fortalecer el colágeno y la elastina que las forman.

El consumo moderado de vino puede reducir hasta en un 11% el riesgo de enfermedad coronaria.

9. Aporta minerales y oligoelementos.

Magnesio: disminuye el estrés

Zinc: mejora las defensas inmunitarias

Litio: equilibra el sistema nervioso

Calcio y potasio: garantizan un adecuado equilibrio iónico y eléctrico

10. Recomendado en casos de anemia ya que contiene medio miligramo de hierro. Además el alcohol ayuda a la absorción del hierro.

11. El consumo de vino tinto moderado durante las comidas *palia la pérdida de memoria por insuficiencia circulatoria cerebral propias de personas de edad avanzada.*

12. Actúa contra una enfermedad muy de moda: la anorexia o falta de apetito al estimular los órganos olfativos y gustativos.



13. **Protege los riñones.**

Si bien se sabe que los radicales libres y el estrés oxidativo juegan cierto papel en el mecanismo de las enfermedades renales, hasta la fecha no había estudios científicos a nivel mundial que consideraran que el riñón también podía ser protegido por la acción de los antioxidantes.

Un equipo de la Facultad de Medicina y del Hospital Clínico de la Universidad de Chile demostró dicha relación (*Nephrology Dialysis Transplantation* y *Free Radical Biology and Medicine*).

14. **Protección bucodental.** (*British Dental Journal*)

15. **Actividad antivírica antiherpética.**

16. **Protección frente a las cataratas.**

17. **Facilita el tránsito intestinal.**

No hay que olvidarse del papel que juegan las fibras insolubles como la celulosa, y las solubles como la pectina, que facilitan el tránsito intestinal e impiden la absorción de una parte de los glúcidos y lípidos de la comida.

18. **Es tonificante, relajante, tranquiliza el espíritu, favorece el diálogo y el humor, y combate estrés.**

El estudio, publicado en las revistas *Atherosclerosis* y *American Journal of Clinical Nutrition*, incide en que sólo se puede hablar de efectos beneficiosos en el caso de consumo moderado.

No nos sorprende por tanto que Pasteur afirmara que **"El Vino puede ser considerado como la más higiénica de las bebidas"**.

FABRICACIÓN DE LA CERVEZA

La **CERVEZA** es el resultado de un procedimiento de fabricación más complicado desde el punto de vista tecnológico, ya que implica la germinación de las semillas de cebada para obtener malta y su tueste posterior, en un proceso que se conoce como **malteado**. Los azúcares presentes en la malta constituyen el sustrato para la **fermentación alcohólica**, llevada a cabo por la **LEVADURA *Saccharomyces cerevisiae***. El producto final se consigue mediante la incorporación de algunos aditivos, como las flores de **lúpulo**, responsables del sabor amargo de la cerveza.



3. MATERIALES

3.1. MEDIO DE CULTIVO PARA MICROORGANISMOS.

Utilizamos como **medios líquidos** para crecer a los microorganismos la **leche** y la **soja**. También empleamos el **medio LB**: 10 g/l bacto triptona, 5 g/l extracto de levadura, 10 g/l cloruro sódico (NaCl), 1 g/l glucosa y 0,5 ml/l hidróxido sódico (NaOH) 2N.

En los casos en que empleamos **medios sólidos**, en concreto para preparar las placas de Petri, añadimos 15 g/l de agar-agar al medio LB.

Preparación de placas de Petri con medio.



Raúl preparando medio de cultivo



3.2. PRODUCTOS ALIMENTICIOS COMERCIALES.

Utilizamos yogur natural y *actimel* natural azucarado de la marca *Hacendado*, leche entera Calcio de *Supersol*, soja de *Pascual*, cuajo para elaborar queso y levadura.



3.3. MICROSCOPIO ÓPTICO BINOCULAR.

Utilizamos un microscopio binocular con un ocular 10x y objetivos 4x, 10x, 40x y 100x. Este último era de inmersión con lo que podíamos observar las levaduras y las bacterias con muchísima más claridad (con 1000x aumentos en total), frente a los 400x aumentos a que estábamos acostumbrados (10x 40x).



3.4. MICROFOTOGRAFÍA.

Para fotografiar las preparaciones de bacterias y levaduras empleamos una cámara digital OPTIKAM USB para capturar imágenes en el PC desde el microscopio o la lupa (mencionadas anteriormente) y tratarlas, guardarlas o imprimirlas.

4083.6



4083.6 **OPTIKAM USB:**
OPTIKAM es una tele cámara dedicada a quien desea de modo fácil e intuitivo transferir imágenes o video al ordenador. Dotada de conexión USB, OPTIKAM permite a través del software incorporado, la adquisición de imágenes microscópicas y efectuar su análisis completo. La tele cámara esta dotada de dos adaptadores especiales para microscopios, diseñados para ser utilizados con microscopios monoculares y binoculares. El uso con microscopios trinoculares es posible gracias a que el objetivo de 8 mm. incorporado, se puede desatornillar y su paso universal (paso "C") es compatible con todos los adaptadores CCD de todos los microscopios trinoculares. La telecamera viene suministrada con:

- objetivo 8mm
- adaptador para microscopios biológicos
- adaptador para estereomicroscopios
- ocular WF10x
- mouse de control para captura de la imagen
- CD-Rom para instalación del software
- manual de instrucciones

A través del software suministrado (en inglés), es posible realizar las siguientes operaciones:

- captura y gestión de la imagen
- cuenta automática de objetos como células, partículas, etc.
- medidas de longitud y distancia
- medidas de perímetros
- cálculo de superficies
- medidas de ángulos
- retoque de la imagen.

Características técnicas:

- sensor CMOS de 1/3"- objetivo 8 mm
- distancia de trabajo desde 3 cm a infinito
- video output: RGB, 24 bit, 16 millones de colores
- control automático de la ganancia
- control electrónico de la luminosidad
- 300.000 pixels totales
- resolución max 640x480 pixels (VGA)
- sensibilidad 3 lux min.
- relación señal/rumor >48dB
- alimentación mediante conexión USB
- dimensiones del embalaje: 22,5x17x8,5 cm

Requisitos mínimos del sistema:

- Windows™ 95, 98, Me/2000, XP
- procesador 233MHz o superior; lector CD-ROM
- tarjeta video VGA; puerta USB
- 100 MB espacio libre en HD; RAM 32 MB



4. PROCEDIMIENTOS Y MÉTODOS

Si vamos a trabajar con microorganismos, en concreto con bacterias y levaduras, nos hará falta disponer de **medios de cultivo** donde crecerlos, que a su vez estén **estériles** - para tener la seguridad de que lo que nos crece es lo que hemos cultivado.

Obviamente el uso del **microscopio** es obligatorio y una buena **tinción** de los microorganismos facilita su mejor visualización y reconocimiento. La ayuda de unas **cámaras fotográficas** para ilustrar nuestro proceder tanto a nivel macroscópico como microscópico fue valiosísimo.

El estudio cualitativo, más fácil de abordar que el cuantitativo, nos permitió además aprender a **determinar el pH** de una solución mediante tiras de papel y a **detectar la presencia o ausencia de alcohol** en una solución mediante dicromato potásico. Quisimos **determinar el CO₂** producido por levaduras para nuestros volúmenes reducidos (de 1 ml), pero no nos ha sido posible hasta el momento por motivos técnicos y de falta de tiempo.

Para abordar el estudio cuantitativo de los microorganismos empleamos tres técnicas diferentes: **espectrofotometría**, **recuento celular mediante cámara de Thoma** y **plaqueo** (de microorganismos en placas de Petri).

4.1. ESTERILIZACIÓN DE MEDIOS Y MATERIALES.

¿Cómo esterilizar nuestro medio LB, nuestros eppendorfs y nuestras puntas de pipeta (azules y amarillas)? Para eso existe el **AUTOCLAVE**, un instrumento habitual en los laboratorios de cultivo *in vitro*. En esencia, un autoclave es un recipiente en el que se consigue exponer el material a esterilizar a temperaturas superiores a la de ebullición del agua, gracias a aumentar la presión.

Los **autoclaves** funcionan permitiendo la entrada o generación de vapor de agua pero restringiendo su salida, hasta obtener una presión interna de 103 **kPa**, lo cual provoca que el vapor alcance una temperatura de 121 °C. Un tiempo típico de **esterilización** a esta **temperatura** y **presión** es de 15 minutos.

La utilización de un **autoclave inactiva todos los virus y bacterias**, aunque recientemente se ha llegado a saber de algunos microorganismos, así como los **priones**, que pueden soportar las temperaturas de autoclave.



El problema era que NO teníamos ninguna, que no sabíamos de nadie que nos pudiese prestar una durante todo el tiempo que duraron los experimentos y además, ii la **más barata** que ofertaban en el mercado **costaba** alrededor de **650 €** (de 8 litros de capacidad); la de 7 litros costaba casi **1000€** y la de 12 litros superaba los 2700€ !!

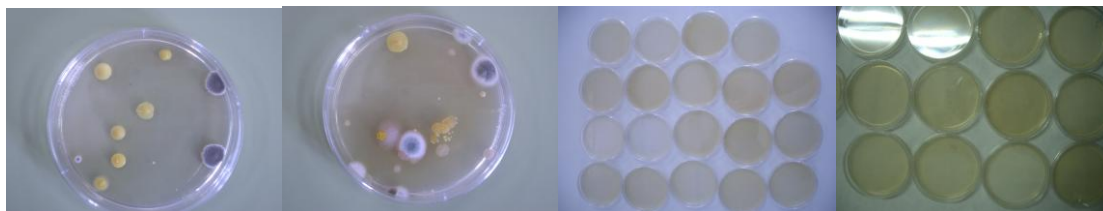
Habida cuenta de que nuestro presupuesto era escaso y dado que tanto en su aspecto externo como de funcionamiento una **OLLA A PRESIÓN** es como un autoclave, ¿por qué no intentar esterilizar con una olla a presión normal y corriente?



Raúl poniendo la olla a presión al fuego de mayor potencia de la cocina.

Tras los primeros intentos vimos que el invento no funcionaba: había claras contaminaciones de los medios, ya fueran líquidos o sólidos. Pero la lógica nos decía que fuerte calor y alta presión debían destruir a los microorganismos. Así que aumentamos el **tiempo (34 minutos desde que empezaba a salir el vapor de agua por la válvula)** y la **intensidad de calentamiento (en el fuego de mayor potencia de la cocina portátil del laboratorio)**. El resultado esta vez fue óptimo tal y como se muestra en la foto inferior derecha ii Rara era la vez en que se nos contaminaba alguna placa de Petri (probablemente por la manipulación a la hora de preparar las placas), y nunca se nos contaminó un medio de cultivo líquido!! Como quiera que la olla nos la prestó un profesor, el balance económico salió positivo.

La cesta de nuestro autoclave particular fue confeccionada por el padre de Rosaura a partir de una vieja freidora de papas.



Se muestra cómo sí que había fuertes contaminaciones antes de la correcta puesta a punto de nuestra olla a presión –las dos fotos de la izquierda (se dejó crecer durante una semana a los contaminantes para su mejor apreciación). Estas contaminaciones desaparecieron tras conseguir las condiciones óptimas – las dos fotos de la derecha.

En todo momento tuvimos en cuenta algunas normas para la correcta esterilización del material: Los recipientes con cierre hermético, tanto de los frascos de plástico para el medio LB como de los botes de cristal para los *ependorfs* eran introducidos en el autoclave sin cerrar totalmente el tapón o la tapa, para facilitar la entrada del vapor durante el proceso. Al vaciar el autoclave después de la esterilización procedíamos a cerrar totalmente los recipientes. (Foto: Lucrecia rellenando frascos de cristal con tubos *ependorfs* para su esterilización).



4.2. AISLAMIENTO DE BACTERIAS DEL YOGUR Y DEL ACTIMEL.

Tras esterilizar un asa de siembra poniéndola al rojo con ayuda del mechero de alcohol, la introdujimos en el yogur e hicimos una siembra en zig-zag en una placa de Petri con medio de cultivo LB con agar.



Placas de Petri con medio de cultivo solo (izquierda), bacterias del yogur (colonia 8) y bacterias del actimel (colonia 4) (derecha).

Al día siguiente se cogió una colonia, se creció en medio LB líquido y se volvió a hacer un plaqueo. De esta forma aislamos varias bacterias del yogur. Cuando las visualizamos al microscopio óptico observamos que todas tenían una morfología de coco.

De igual manera procedimos con el *actimel*. En este caso observamos tanto cocos como bacilos, estos últimos suponemos que eran *Lactobacillus casei*.

4.3. AISLAMIENTO DE LEVADURAS

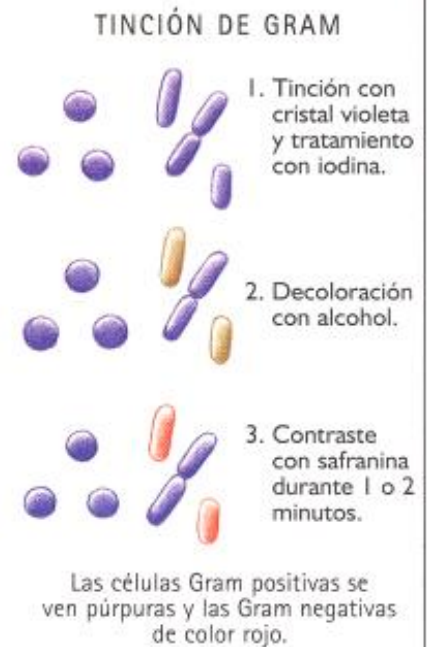
Colocamos un poco de levadura de pan (*Saccharomyces cerevisiae*) en un 1 ml de medio LB y la dejamos crecer un día a 30°C. Con el asa de siembra se procedió a hacer una siembra y se seleccionaron las colonias que estaban mejor definidas.

4.4. TINCIÓN DE GRAM.

Dependiendo de la estructura de la pared, las bacterias se dividen en dos grupos: **bacterias Gram positivas** y **bacterias Gram negativas**. El nombre se debe a que inicialmente la distinción entre ambos grupos se llevó a cabo utilizando una tinción diferencial denominada **tinción de Gram**.

Para realizar la tinción nos guiamos por el protocolo que indicaba el comerciante. Como quiera que los tiempos de exposición a los colorantes eran orientativos tuvimos que ajustarlos. Los pasos a seguir fueron los siguientes:

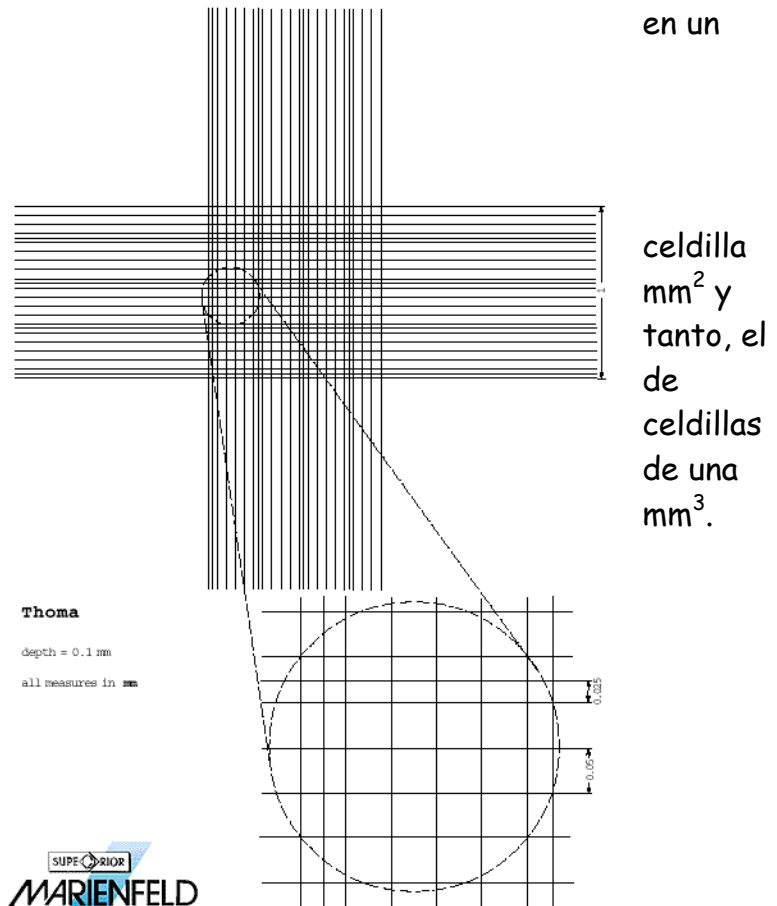
1. Preparar los frotis bacterianos. Extender las bacterias en el portaobjetos y calentar suavemente para que éstas se fijen.
2. Teñir con cristal violeta 2 min.
3. Lavar con abundante agua el exceso de colorante.
4. Cubrir con lugol 2 min.
5. Lavar con agua el exceso de lugol.
6. Decolorar con alcohol-acetona hasta que la preparación deje de perder color (5 seg).
7. Lavar con abundante agua para eliminar el resto de disolvente.
8. Teñir con safranina 2 min.
9. Lavar con agua para eliminar el colorante de contraste.
10. Secar la preparación.
11. Examinar al microscopio fijándose sobre todo en el color de cada preparación.



4.5. RECUENTO DIRECTO DEL N° DE CÉLULAS AL MICROSCOPIO.

Se trata de un **método directo** para medir el crecimiento microbiano. Se utilizan portas especialmente diseñados para el recuento celular y denominados **cámaras de recuento**. Existen varios tipos, una de ellas es la **cámara de Thoma**, que es la que nosotros utilizamos.

La cámara de recuento consiste en un porta modificado con una hendidura de 0,1 mm de profundidad. Está dividida en 16 cuadrados y éstos a su vez divididos en 16 celdillas. Cada una tiene una superficie de 0,0025 mm² y una profundidad de 0,1 mm. Por lo tanto, el volumen de cada celdilla (V_c) es 0,00025 mm³. Como hay 16 celdillas por cuadrado, el volumen total de una celda (V_T) es de $V_c \times 16 = 0,004$ mm³. Como $1 \text{ mm}^3 = 10^{-3} \text{ ml}$.



en un
celdilla
mm² y
tanto, el
de
celdillas
de una
mm³.

$$V = 4 \times 10^{-6} \text{ ml (volumen de una celda)}$$

Se cuentan 6 celdas al azar, se calcula la media (Z) de células por celda y se expresa la concentración en células (Y) por ml:

$$Y = Z \times 25 \times 10^4 \text{ células/ml}$$

Una de las mayores ventajas del recuento microscópico es brindar información adicional sobre el tamaño y la morfología de los objetos contados.

Este método tiene el inconveniente de que no diferencia entre células viables y no viables. Además es poco preciso, porque las células pueden disponerse a distintos niveles en las celdillas dificultando con ello el recuento.

4.6. RECUENTO DIRECTO DE CÉLULAS VIABLES POR PLAQUEO.

Como en el caso anterior, se trata de un **método directo** para medir el crecimiento microbiano. Haciendo diluciones apropiadas seguidas de siembra sobre placas de Petri podemos obtener crecimiento de colonias aisladas procedentes cada una de una única célula. Si se multiplica por el factor de dilución tendremos el número de células en cultivo.

Sólo detecta células viables pero es un método lento y caro por el elevado número de placas que hay que utilizar para que los resultados sean significativos.

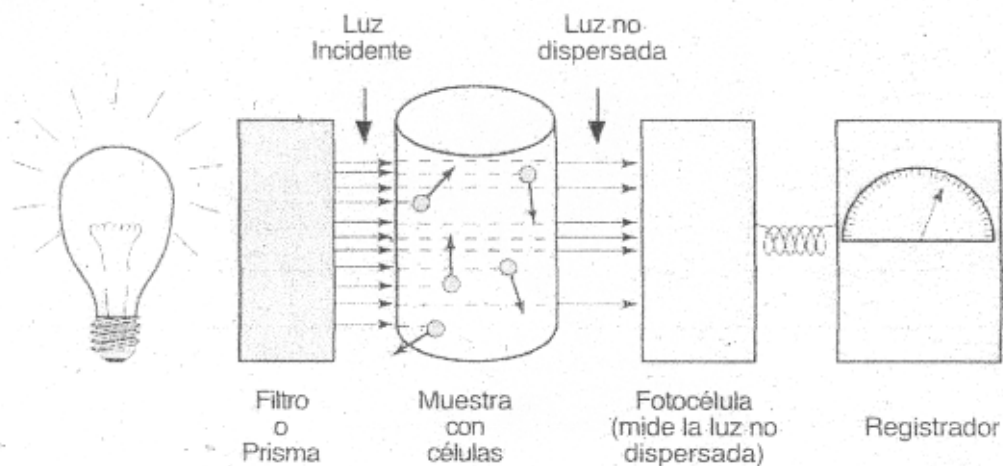
4.7. ESPECTROFOTOMETRÍA: MEDIDA DE LA TURBIDEZ DEL CULTIVO.

Se trata de un **método indirecto** para medir el crecimiento microbiano. Se basa en la capacidad de las células y partículas en general de absorber y/o dispersar la luz que incide sobre ellas. Un cultivo celular aparece turbio porque las células dispersan la luz que atraviesa la suspensión. La turbidez es proporcional al número de células y puede medirse utilizando un **espectrofotómetro**. Éste es un aparato que hace pasar la luz a través de una suspensión celular y detecta la luz no dispersada.

Este instrumento mide la relación de intensidad entre la luz incidente y la emergente después de atravesar la muestra. Cuando mayor sea el número de células mayor es la turbidez del cultivo o densidad óptica (DO) y menor la cantidad de luz no dispersada que emerge tras atravesar la muestra. Por tanto, la DO de un cultivo es proporcional a la densidad celular.



Lucrecia colocando un cultivo bacteriano en la cubeta del espectrofotómetro para medir su absorbancia.



Sin embargo, esto es así dentro de ciertos límites, puesto que a elevadas concentraciones pueden formarse agregados celulares y producirse un efecto "pantalla" de unas células sobre otras (en el caso de *S. cerevisiae* la relación entre la DO y la concentración de células es lineal hasta un valor de DO de aproximadamente 0,3). Por tanto, en algunos casos será necesario **diluir la muestra** antes de realizar la medida (ej. Para hacer una dilución 1/10 se mezclaría 1 ml de cultivo con 9 ml de medio de cultivo). Cuando la dilución sea alta (mayor de 1/10) conviene hacer diluciones seriadas para reducir el error (ej. para una dilución 1/50 primero se hace una dilución 1/10 y después se hace una dilución 1/5 de la dilución 1/10).

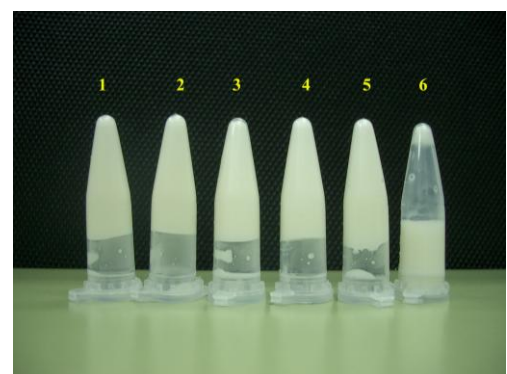
En las medidas realizadas utilizamos una longitud de onda de 660 nm.

4.8. DETERMINACIÓN DE LA CANTIDAD DE YOGUR Y DE ACTIMEL NECESARIAS PARA QUE CUAJEN LA LECHE Y LA SOJA PARA OBTENER YOGUR.



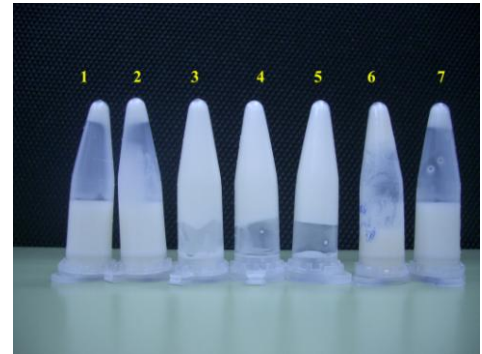
Partimos de lo que la experiencia casera nos enseña: cuando se elabora yogur en una yogurtera, se distribuye el contenido de un yogur entre los 7 vasos de la yogurtera, lo que equivale aproximadamente a dos cucharadas para cada uno.

En un vaso de precipitados se echaron 10 ml de yogur sólido y 10 ml de leche, con el fin de licuarlo lo suficiente como para poder pipetearlo. A continuación se añadió a tubos eppendorfs con 1 ml de **leche** diferentes cantidades de este "yogur diluido": 20 mcl (tubo 1), 40 mcl (tubo 2), 60 mcl (tubo 3), 80 mcl (tubo 4) y

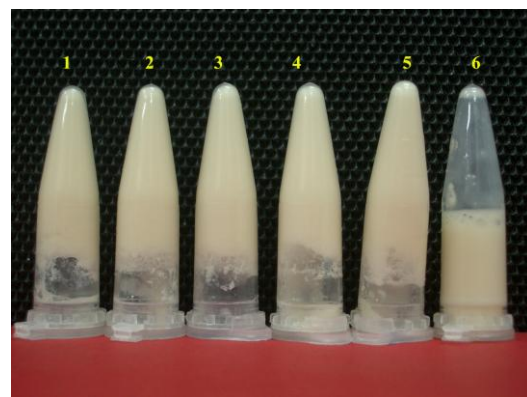
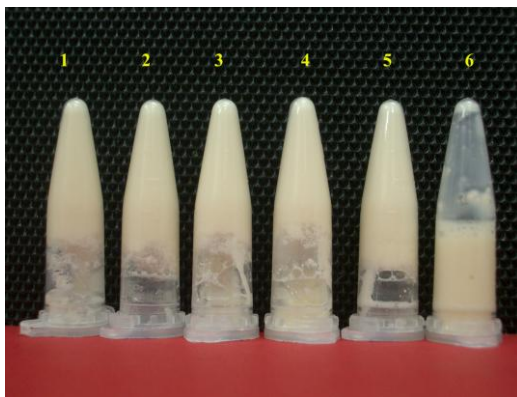


100 mcl (tubo 5). El tubo control tan solo tenía leche (tubo 6). Se dejaron los tubos 24 horas a 30°C encima de la mesa. Al día siguiente se comprobaba si había cuajado la leche o no. Como puede observarse en la foto derecha, el yogur diluido fue capaz de cuajar 1 ml de leche incluso con cantidades muy pequeñas de yogur. Esto se evidencia al volcar los eppendorfs y comprobar que la leche cuajada no desciende, cosa que sí ocurre con la leche no cuajada del control.

Para cuajar la leche con el actimel se procedió de igual forma, sólo que como el actimel es líquido no hizo falta hacer diluciones. También se añadió 20 mcl, 40 mcl, 60 mcl, 80 mcl y 100 mcl, a parte de un tubo con 1 ml de actimel y otro tubo control con leche solamente (tubos del 1 al 7 respectivamente). Se concluyó que la cantidad mínima de actimel necesaria para cuajar la leche era de 60 mcl.

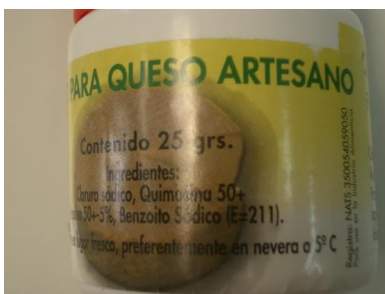


Se repitieron exactamente los mismos ensayos, pero esta vez utilizamos soja en vez de leche. Concluimos que tanto el yogur diluido como el actimel cuajaban la soja desde 20 mcl (fotos inferiores izquierda y derecha respectivamente).



Era necesario disponer de estos datos para saber qué cantidad de microorganismos (en volumen) era necesario añadir a los ensayos en distintos planetas.

4.9. DETERMINACIÓN DE LA CANTIDAD DE QUIMOSINA (CUAJO) NECESARIA PARA QUE CUAJEN LA LECHE Y LA SOJA PARA PRODUCIR QUESO.



El bote de quimosina (cuajo para queso) de venta en supermercados detalla qué cantidades hay que coger de la enzima (0,0025g/100 ml leche) y cómo se ha de proceder en la elaboración del queso: disolver bien el cuajo en el agua, añadir el mismo a la leche - que ha de estar a una temperatura entre 30 y 35°C - y por último poner la sal.

Seguimos las instrucciones y empleamos como tiempo de espera 1 día a 30°C, pero no nos cuajaba la leche, con lo que aumentamos la concentración de cuajo. De hecho, las concentraciones de cuajo por 100 ml (de leche o soja) que añadimos a cada tubo eppendorf de 1 ml de leche o soja (fotografía inferior, izquierda y derecha respectivamente) fueron las siguientes: 0,25 - 0,15 - 0,05 - 0,01 - 0,005 - 0,0025 (tubos del 1 al 6 respectivamente). Como control pusimos un tubo de leche o de soja, según el caso (tubos 7).

Como se observa, la quimosina es capaz de cuajar a la leche a una concentración mínima de 0,05 g/100 ml leche (tubo 3, foto izquierda). Esto supone una concentración 20 veces superior a la indicada en la etiqueta, si bien es cierto que el que la leche cuaje depende de diversos parámetros como son la temperatura, el tipo de leche, etc. En cualquier caso está claro que podemos hacer queso empleando la menor cantidad posible de enzima para que altere lo menos posible el sabor y las características del queso resultante.

No encontramos ninguna concentración de cuajo capaz de cuajar a la soja (foto derecha). Por tanto concluimos que no podemos elaborar queso a partir de soja.



4.10. DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD CUALITATIVA DEL KÉFIR PARA CUAJAR LA LECHE Y LA SOJA.

Para saber si el *kéfir* era capaz de cuajar la leche y la soja, extrajimos un trozo del hongo y con ayuda de unas pinzas y un bisturí cortamos fragmentos muy pequeños que colocamos en el interior de los tubos eppendorfs conteniendo 1 ml de leche o de soja. En ambos casos se comprobó que podía cuajarlos sin dificultad. (Se muestran estos resultados en el estudio de los planetas).



Como quiera que el hongo del *kéfir* vive en la leche, y por tanto en compañía de bacterias lácticas, se nos ocurrió lavar bien el hongo con agua destilada, con la

intención de arrastrar el mayor número posible de bacterias, para analizar la capacidad del hongo aislado de cuajar. El resultado obtenido fue que también en estas condiciones cuajaba la leche y la soja. (Se muestran estos resultados en el estudio de los planetas).

4.11. DETERMINACIÓN DEL pH.

Mediante tiras de papel de pH (*Panpeha*) determinamos como pH del yogur 4 - del *actimel* 4,5 - del *kéfir* 4,5 - de la leche 6,5 - de la soja 6,5 - y del queso (leche cuajada con quimosina) también 6,5 (tiras de la 1 a la 6 respectivamente). Como referente observamos la paleta de colores que nos ofrece la caja de referencia. Obsérvese cómo la coloración de la tercera banda empezando por debajo torna de una tonalidad azulada (tiras 4, 5 y 6) típico de pH 6,5 a otra verdosa (tiras 1, 2 y 3) característica de pH en torno a 4 ó 4,5. Igualmente la cuarta banda empezando por debajo torna de lila hacia una tonalidad amarilla. (Ver foto de la derecha).



Puesto que las bacterias lácticas transforman la glucosa en ácido láctico mediante la fermentación láctica, era de esperar que el pH de la leche y de la soja cambiaran cuando estuvieran presentes aquellas (24 horas, 30°C). En todos los ensayos realizados pudimos comprobar que la leche (tira 3) y la soja (tira 1) disminuían su pH desde 6-6,5 hasta 4-4,5 aproximadamente (tiras 4 y 2 respectivamente) cuando eran fermentadas por el *kéfir*. Lo mismo ocurría cuando era el yogur diluido o el *actimel* el responsable de la fermentación.

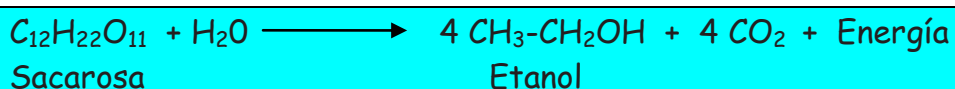


4.12. DETECCIÓN DEL ALCOHOL RESULTANTE EN LA FERMENTACIÓN ETÍLICA.

La fermentación es un proceso metabólico para la obtención de energía en ausencia de O_2 (respiración anaerobia).

Las **levaduras** son hongos Ascomicetos que pueden obtener su energía mediante fermentación o a través de respiración aerobia, según las condiciones del medio.

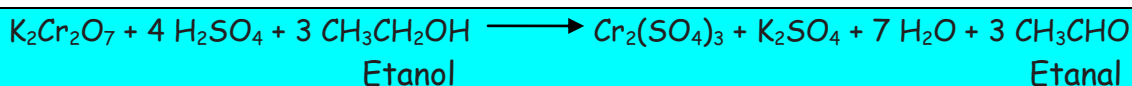
Las levaduras toman del medio azúcares (como sacarosa) y mediante la fermentación los transforman en energía, CO_2 y etanol. Estos dos últimos productos son expulsados al medio.



Nos pareció que confirmar que si pudiésemos confirmar la existencia de alcohol en los tubos donde habíamos puesto levadura sería todo un indicativo fehaciente de que allí realmente lo que había crecido era levadura. Se trataba de aportar otra prueba a parte de la mera observación microscópica.

Se puede **detectar el etanol de varias maneras**. Una porque es un alcohol con una temperatura de ebullición de $70\text{ }^\circ\text{C}$, que **se inflama fácilmente**; otra por su **olor característico**, que lo permite identificar con facilidad. Y existe, al menos, una tercera, la del dicromato potásico.

Sabíamos que **el dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) se utiliza para la detección de etanol**. El dicromato de potasio en disolución acuosa acidificada con ácido sulfúrico es de color naranja. Si lo ponemos **en contacto con etanol se produce** una reacción química de oxidación-reducción y paulatinamente se produce un **cambio de color desde el naranja hasta el verde**.

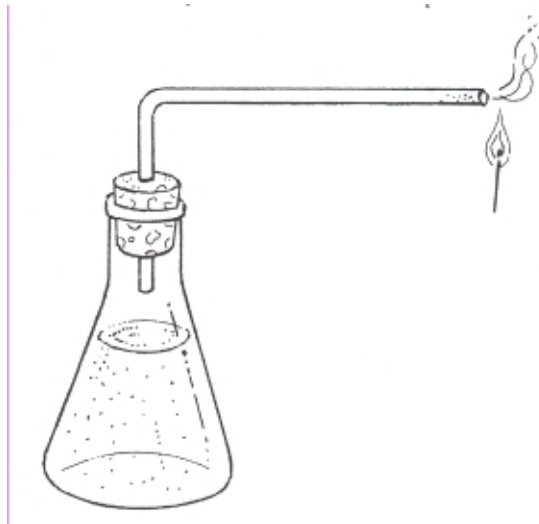
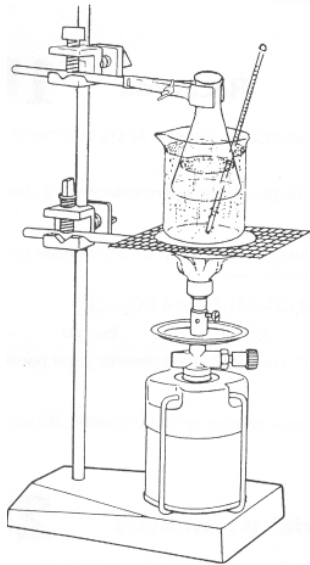


Esta reacción es la base de la que **se emplea** cuando la **policía** exige que se sople por el tubo en el reconocimiento de alcohol en el aliento (**test de alcoholemia**).

Así pues, decidimos comprobar que podíamos detectar el alcohol producido por la fermentación de la sacarosa.

Introducimos en un matraz *erlenmeyer* 8 g de sacarosa, 8 g de levadura y agua hasta 50 ml, lo agitamos hasta lograr una suspensión homogénea y lo sumergimos en un baño

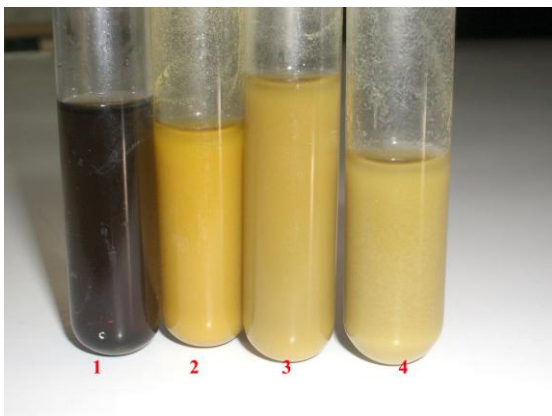
de agua mantenido a 37-40°C durante 20 minutos para que las levaduras fermentaran la sacarosa. Después tapamos el matraz erlenmeyer con un tapón horadado en el que previamente habíamos instalado un tubo de vidrio largo y acodado. Colocamos el matraz sobre una rejilla y llevamos el cultivo a ebullición mediante una llama pequeña para que el cultivo hirviera despacio.



En la varilla se condensa el gas que sale por ella. Cuando dicho gas llega al extremo de la varilla, **huele a etanol** y si aplicamos un **fósforo encendido** se observa que **se produce una llama**.

Para comprobar si la prueba del dicromato detecta el alcohol, añadimos un poco de la misma sobre un poco del cultivo, apareciendo una coloración verdusca.

Nos pareció que debíamos repetir la experiencia con controles positivos y negativos, de manera que diseñamos la siguiente experiencia. Cogimos 4 tubos de ensayo. Al rotulado con el n° 1 le pusimos agua y sacarosa (control negativo), al n° 2 agua y levadura (control negativo), al n° 3 agua, sacarosa y levadura (tubo problema) y al n° 4 agua, sacarosa y etanol (control positivo). Incubamos los tubos durante 20 minutos a 37 °C en un baño maría y después añadimos la solución de dicromato potásico.

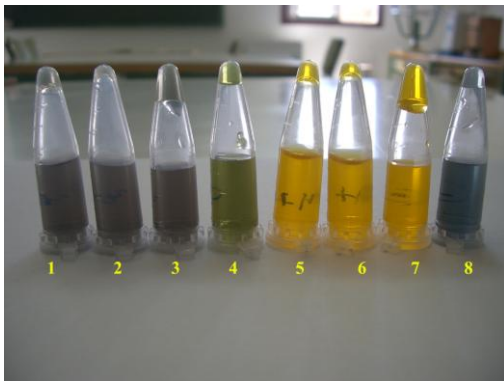


Observamos que, efectivamente, es necesario la presencia conjunta de levadura y sacarosa para que ocurra la fermentación alcohólica y por tanto, para que el dicromato torne a verde (tubo 3). El tubo 1, con agua y sacarosa, tornó a una coloración más azulada debido a que el dicromato se redujo y oxidó al azúcar.

¿Qué ocurrirá si en vez de trabajar con volúmenes grandes de levadura y sacarosa empleamos volúmenes muy pequeños y escasa cantidad de levadura y sacarosa? ¿Será sensible la prueba del dicromato potásico para estas condiciones?

A continuación se muestra en una tabla la experiencia realizada. Las levaduras y las bacterias empleadas en cada eppendorf se corresponden con la mitad del sedimento de 1 ml de cultivo crecido con el microorganismo (24 horas a 30 °C).

	Tubo 1	Tubo 2	Tubo 3	Tubo 4	Tubo 5	Tubo 6	Tubo 7	Tubo 8
Agua	+	+	+	+	+	+	+	+
Bacteria	+				+			
Levadura		+				+		
Sacarosa	+	+	+	+				
Etanol				+				+
K ₂ Cr ₂ O ₇	+	+	+	+	+	+	+	+



Como se puede observar, los controles positivos (tubos 4 y 8) fueron correctos, pero el tubo n° 4, que era de esperar que adquiriera una coloración similar a la del tubo 4, no viró a verde. Esto se puede deber a que las concentraciones de levadura y/o sacarosa no son las adecuadas, o a que quizás sí que se produzca etanol pero en cantidades tan pequeñas que el dicromato no lo detecte.

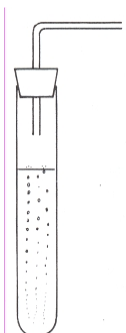
Estos resultados tan solo nos confirman que el método aún no lo tenemos ajustado para los volúmenes y las condiciones que manejamos cuando ensayamos los cultivos en otras gravedades. Una vez más, i será cuestión de perseverancia !

4.13. DETECCIÓN DEL CO₂ RESULTANTE EN LA FERMENTACIÓN ETÍLICA.

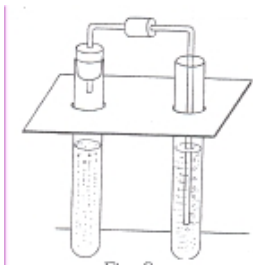
Como ya se mostró en el procedimiento anterior, además de energía, en la fermentación de las levaduras se forman **dióxido de carbono** y **etanol**, como productos finales de desecho.

El CO₂ se disuelve en agua y forma ácido carbónico. La tintura de tornasol es un líquido indicador que cambia de color según sea la acidez o basicidad del medio. Para la determinación cualitativa también pueden utilizarse otros indicadores como agua de cal o agua de cal + fenolftaleína.

Colocamos en un tubo de ensayo 2 g de levadura y añadimos 2 g de sacarosa. Vertimos agua hasta llenar los 2/3 del tubo y lo agitamos para formar una



solución homogénea. Colocamos un tapón en la rama corta del tubo acodado y tapamos el tubo con la levadura.



En otro tubo de ensayo echamos agua hasta la mitad, añadimos 30 gotas de tintura de tornasol y lo mezclamos. Conectamos ambos tubos y lo dejamos en reposo 20-30 minutos.

Observamos una superficie de separación entre la zona que tiene CO_2 disuelto (de color rojo vino) y la que no lo tiene (de color azul).

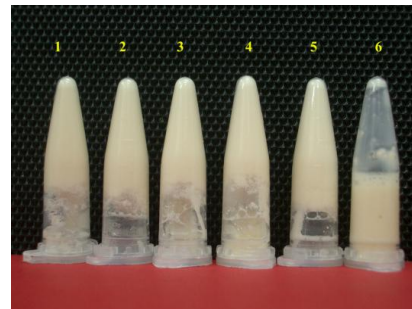
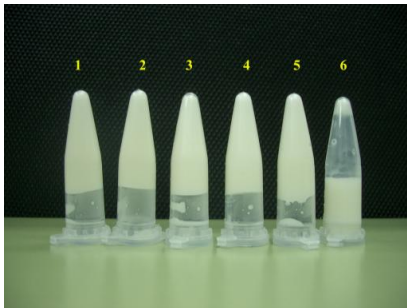
Comprobamos por tanto que el CO_2 desprendido se disuelve en agua y forma ácido carbónico que es el responsable de la acidificación de la disolución de tornasol

Hemos de confesar que este procedimiento, "a gran escala", no presenta ninguna dificultad, pero sí a la escala de los volúmenes que manejamos (1 ml por tubo). Ello se debe a la dificultad de que la infraestructura necesaria se ajuste a nuestros *ependorfs* y a que es muy probable que la cantidad de CO_2 producido no sea suficiente para operar un cambio en la tintura.

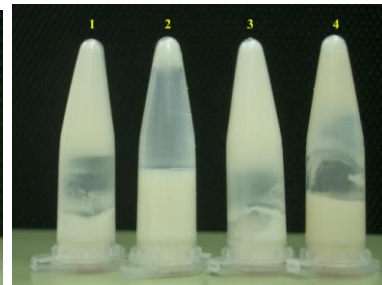
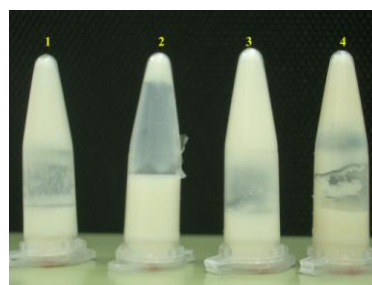
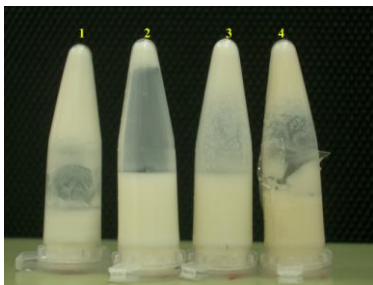
5. RESULTADOS.

5.1. ¿PODEMOS FABRICAR YOGUR EN OTROS PLANETAS?

Basándonos en los procedimientos descritos bajo el epígrafe 4.8 y con la experiencia allí descrita, teníamos claro que **se puede cuajar la leche** (foto izquierda) y **la soja** (foto derecha), **en la Tierra en ausencia de movimiento**. Para ello incubamos a 30°C durante 24 h la leche o la soja con un poco de yogur diluido a la mitad. Los tubos del 1 al 5 tienen respectivamente 20-40-60-80-ó 100 mcl de yogur diluido $\frac{1}{2}$; el tubo 6 es el control respectivo de leche o soja sin yogur.

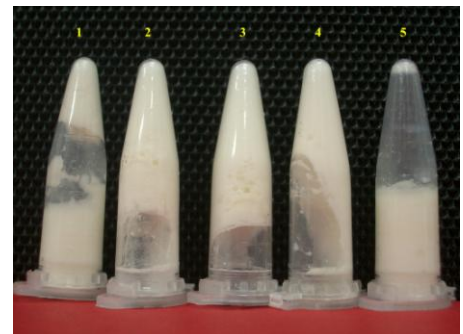


Este yogur también cuaja la leche en la Tierra con movimiento (foto izquierda), en Marte (foto central) y en Venus (foto derecha) (tubos 1 respectivos: leche + yogur; tubos 2: controles de leche sola).



En cuanto a si el yogur cuaja la leche en los planetas de mayor gravedad que la Tierra la respuesta es afirmativa. Los tubos del 1 al 4 representan la Tierra, Saturno, Urano y Neptuno respectivamente con leche y yogur. El tubo 5 es el control de leche sola.

Comprobamos que la leche cuajada a partir de esas cantidades mínimas de yogur líquido se había acidificado (pH 4,5) respecto de la leche (pH 6,5) (ver apartado 4.11).

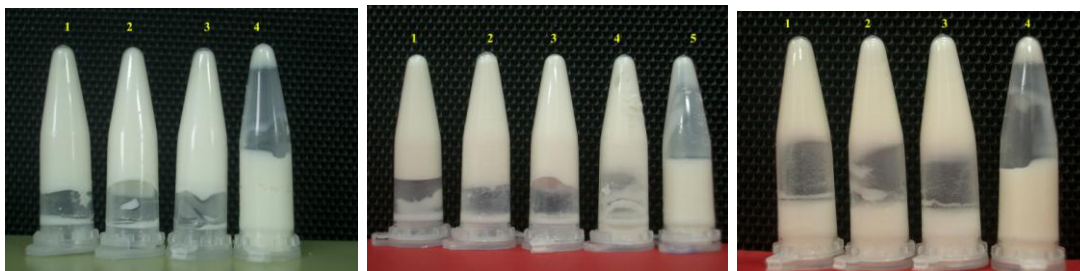


5.2. ¿PODEMOS FABRICAR KÉFIR EN OTROS PLANETAS?

En el apartado 4.10 de los procedimientos y métodos ya comentamos que analizamos la capacidad del kéfir tal cual (con sus fermentos del yogur) o del kéfir lavado con abundante agua (supuestamente queda casi solo el hongo) para fermentar la leche y la soja.

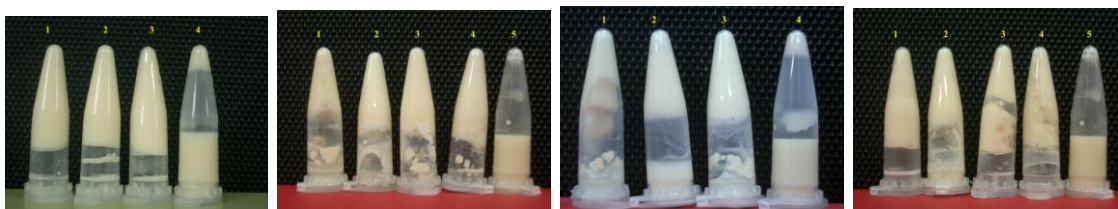
Los resultados obtenidos fueron que el **kéfir normal**, tras 1 día de incubación a 30°C, **cuaja a la leche** en la Tierra, Marte y Venus (foto izquierda, tubos del 1 al 3 respectivamente) y en la Tierra, Saturno, Urano y Neptuno (foto central, tubos del 1 al 4 respectivamente; el tubo 5 es el control de la leche sola). Este último experimento está pendiente de repetirse para su constatación.

También observamos que el **kéfir "lavado"** cuaja también la leche en la Tierra, Marte y Venus (foto derecha, tubos 1 al 3 respectivamente; tubo 4 control de leche sola).



El **kéfir** también **cuaja a la soja** en todos los planetas estudiados: Tierra, Marte y Venus (foto izquierda, tubos del 1 al 3 respectivamente; tubo 4 control de leche sin kéfir) y Tierra, Saturno, Urano y Neptuno (foto central-izquierda, tubos del 1 al 4 respectivamente; tubo 5 control de leche sin kéfir).

También el **kéfir "lavado"** tiene la capacidad de **cuajar a la soja** en la Tierra, Marte y Venus (foto central-derecha) y en Tierra, Saturno, Urano y Neptuno (foto derecha).

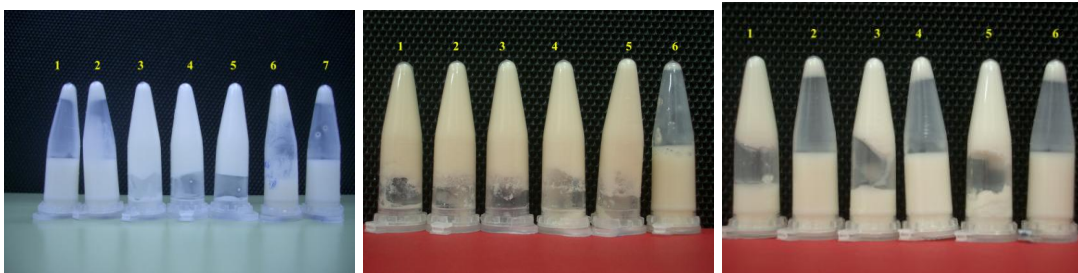


Comprobamos que la leche cuajada a partir del kéfir se había acidificado (pH 4,5) respecto de la leche (pH 6,5) (ver apartado 4.11).

5.3. ¿PODEMOS CUAJAR LECHE CON *ACTIMEL* EN OTROS PLANETAS?

Volviendo a los procedimientos y métodos descritos en el apartado 4.8 recordamos que el *actimel* es capaz de cuajar tanto a la leche (a partir de 60 mcl) (foto izquierda; tubos del 1 al 6 con 1 ml de leche y 20-40-60-80 y 100 mcl de *actimel*; tubo 7 control de leche sola) como a la soja (a partir de 20 mcl) (foto central; tubos del 1 al 5 con 1 ml de soja y 20-40-60-80 y 100 mcl; tubo 6 control de soja sola).

El *actimel* es también capaz de cuajar la leche en Tierra, Marte y Venus (foto derecha; tubos 1, 3 y 5 corresponden a la Tierra, Marte y Venus respectivamente; tubos 2, 4 y 6 son controles de leche sola en dichos planetas respectivos).



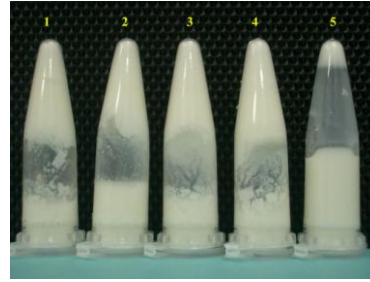
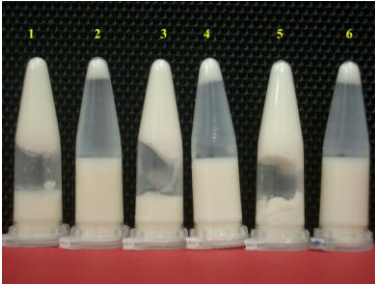
No tenemos claro si el *actimel* cuaja la leche en los planetas de mayor gravedad que la terrestre. Hemos de repetirlo pues sólo disponemos de un único análisis.

Comprobamos que la leche cuajada a partir del *actimel* se había acidificado (pH 4,5) respecto de la leche (pH 6,5) (ver apartado 4.11).

5.4. ¿PODEMOS CUAJAR LECHE CON QUIMOSINA EN OTROS PLANETAS PARA OBTENER QUESO?

Nos remitimos al apartado 4.9 de los procedimientos y métodos sobre la determinación de la cantidad de quimosina necesaria para que cuaje la leche para producir queso.

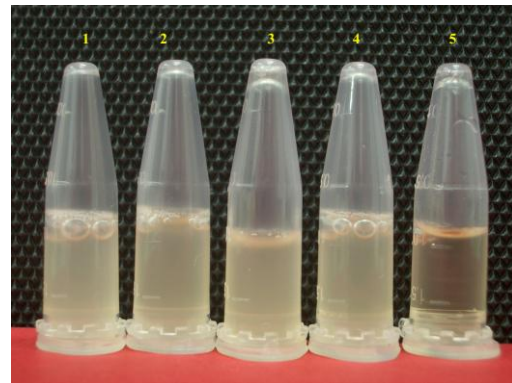
Cuando analizamos qué ocurría en la Tierra, Marte y Venus comprobamos que la leche cuaja en esas condiciones gravitatorias (foto izquierda; tubos 1, 3 y 5 corresponden a la Tierra, Marte y Venus respectivamente; tubos 2, 4 y 6 son controles de leche sola en dichos planetas respectivos). También parece que la leche cuaja en la Tierra, Saturno, Urano y Neptuno (foto derecha, tubos del 1 al 4 respectivamente; tubo 5 control de leche sola).



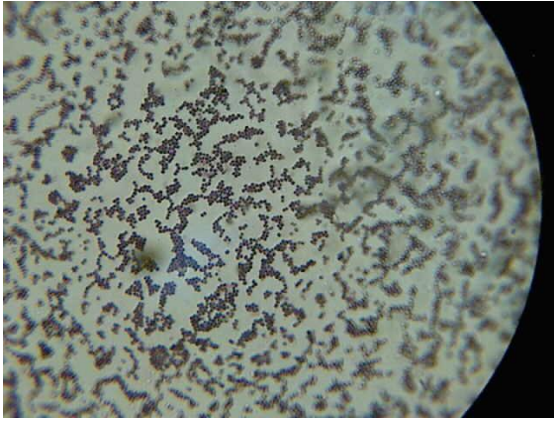
Comprobamos que la leche cuajada a partir de la quimosina no se había acidificado y mantenía su pH en 6,5 aproximadamente (ver apartado 4.11).

5.5. ¿CRECERÁN BACTERIAS AISLADAS DEL YOGUR (Y DEL ACTIMEL) EN OTROS PLANETAS?

Aquí hacemos referencia a los procedimientos descritos en el apartado 4.2. Una vez aislada la bacteria del yogur, se inoculaba en tubos eppendorf en 1 ml de medio y se crecía a 30°C durante 1 día en las condiciones gravitatorias deseadas. Su reproducción da lugar a que el medio se enturbie. Así vimos que la bacteria del yogur denominada colonia 8 crece en la Tierra, Marte y Venus (foto izquierda, tubos 1, 2 y 3 respectivamente; el tubo 4 es un control de medio sin inocular), así como en la Tierra, Saturno, Urano y Neptuno (foto derecha, tubos del 1 al 4 respectivamente; el tubo 5 es un control de medio sin inocular).

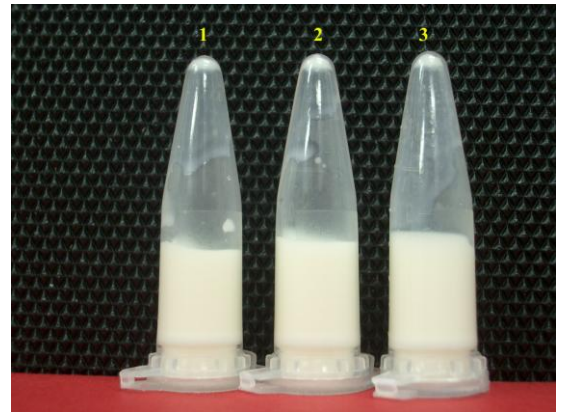


¿Cómo sabemos que se trata realmente de una bacteria del yogur? Hicimos un frotis bacteriano que teñimos con la tinción de Gram (ver procedimientos 4.4). Sabíamos que todas las bacterias del yogur son **Gram positivas**, y esto fue justo lo que observamos cuando las visualizamos a 1000x en el microscopio. Por otro lado, su **morfología** era la típica redondeada **de un coco**, como la bacteria de la que partimos para hacer el crecimiento (es la que llamamos **colonia 8**). Curiosamente, cuando hicimos el aislamiento de la colonia 8, todas las que nos aparecieron eran cocos. Esto nos chocó pues esperábamos encontrarnos también bacilos del *Lactobacillus casei*. Al final obtuvimos estos últimos aislándolos del *actimel*.



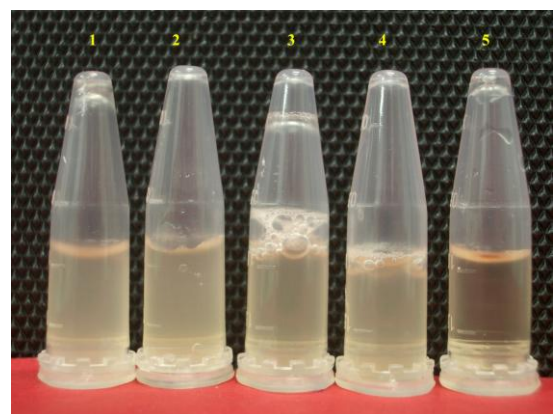
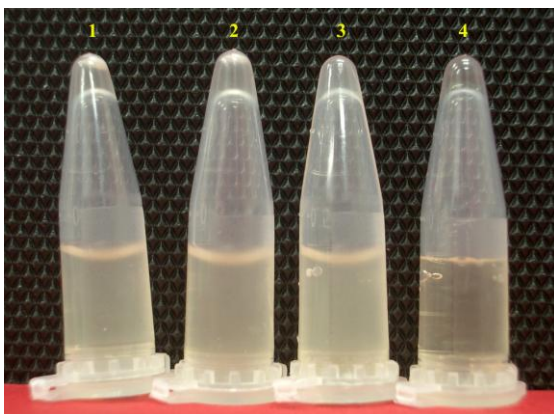
Fotos: Cocos (del yogur) y bacilos (del actimel) fotografiados con la cámara Optikam USB del laboratorio.

Para aportar más pruebas de que realmente estábamos ante las mismas bacterias que aislamos del yogur, nos pareció interesante conseguir cuajar la leche con estos microorganismos. Sin embargo, este último resultado no nos salió como lo demuestra la foto de la derecha (los tubos 1, 2 y 3 son respectivamente, leche con bacterias de la colonia 8, leche con levaduras de la colonia 4 y leche sola). Esto se puede deber a que la cantidad de microorganismos para cuajar la leche no sea suficiente. En ese sentido ya estamos pensando en tratar de concentrar las bacterias mediante una centrifugadora y repetir el experimento.

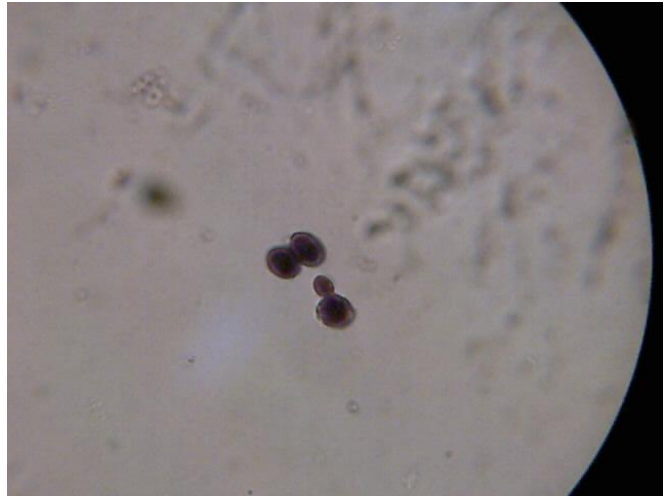


5.6. ¿CRECERÁN LAS LEVADURAS EN OTROS PLANETAS?

La levadura de la colonia 4 **crece** tras 1 día de incubación a 30°C tanto en la **Tierra, Marte y Venus** (foto izquierda, tubos 1, 2 y 3 respectivamente; el tubo 4 es el control del medio de cultivo) como en la Tierra, **Saturno, Urano y Neptuno** (foto derecha, tubos 1, 2, 3 y 4 respectivamente; el tubo 5 es el control del medio de cultivo). Esto se ve fácilmente por la turbidez que adquiere el medio en su presencia y la claridad del medio de cultivo en su ausencia.



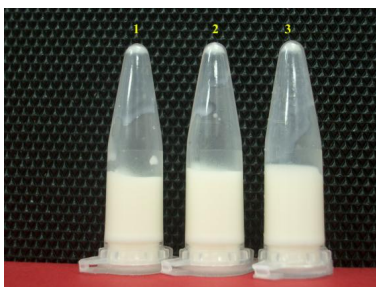
Ya en el momento del aislamiento inicial a partir de levadura del paquete nos sorprendió el aspecto que tenían y su tamaño y el que se hubieran teñido con el colorante de Gram. Al tratarse de células eucariotas era previsible que su tamaño fuera mayor que el de las bacterias y el ver lo que parecía una **gemación** -proceso de división celular típico de levaduras -(captada en la fotografía de la izquierda) nos afianzaba más aún en nuestra teoría.



Para saber si lo que había crecido en los diferentes planetas eran levaduras recurrimos a diversas estrategias de reconocimiento, unas con mayor acierto que otras. En teoría no debería de ser otra cosa, puesto que levaduras fue lo que sembramos en su momento (foto izquierda).

Hicimos una extensión de las levaduras crecidas sobre un porta, lo teñimos según la tinción de Gram y la observamos al microscopio. Vimos que tras el cultivo las células tendían a formar filamentos, lo cual nos sorprendió. Sin embargo, el olor que tenían no se parecía al de las bacterias, ni su forma. O bien estábamos ante un contaminante o bien se trataba de levaduras.

Para salir de dudas intentamos detectar el etanol que se desprende en la fermentación alcohólica mediante dicromato potásico (ver apartado 4.12 de los procedimientos), desafortunadamente sin éxito.



La foto muestra en todos los tubos leche, acompañada de bacterias colonia 8 (tubo 1) o de levaduras colonia 4 (tubo 2); el tubo 3 es el control de leche sola.

El hecho de que no lo hayamos logrado sugiere que o bien lo que tenemos no son levaduras o que no hemos dado con las condiciones adecuadas de concentración del microorganismo para los microvolúmenes que utilizamos.

Dado que en la fermentación alcohólica también se desprende CO_2 , otra posibilidad es detectarlo (ver apartado 4.13 de los procedimientos). Sin embargo, la envergadura del trabajo, los exámenes y el hecho de que ya había que entregar el trabajo nos impidió profundizar en este sentido.

5.7. VALORACIÓN CUALITATIVA DEL COMPORTAMIENTO DE LOS MICROORGANISMOS EN DISTINTOS PLANETAS.

Como son muchos los planetas visitados por diferentes microorganismos nos ha parecido apropiado presentar una tabla que resume los resultados descritos.

Como se puede observar, **todos los microorganismos estudiados crecen en condiciones de menor gravedad o hipergravedad**. Eso significa que si alguna vez nos enfrascamos en la conquista del espacio, lo podremos hacer en compañía de bacterias lácteas, que nos proporcionarán **yogur y actimel**, con los cuales podremos **cuajar tanto la leche como la soja**. El **kéfir**, donde viven asociados unos hongos y bacterias lácticas, también lo podremos llevar y producir en nuestra visita espacial. Lo mismo ocurre con la bacteria aislada (colonia 8) y con la levadura.

El hecho de que la levadura crezca en todos los planetas nos ofrece enormes ventajas desde el punto de vista de la cocina espacial: en teoría podríamos hacer **pan, vino o cerveza**.

COMPORTAMIENTO DE LOS MICROORGANISMOS EN DISTINTOS PLANETAS

	Tierra sin movimiento	Venus 0,920 g 8,85 m/s ²	Marte / Mercurio 0,379g 3,72 m/s ² / 3,70 m/s ²	Tierra g 9,80 m/s ²	Saturno 1,19 g 11,67 m/s ²	Urano 1,165 g 11,43 m/s ²	Neptuno 1,128 g 11,07 m/s ²	Júpiter 2,69 g 26,39 m/s ²
a 8	+	+	+	+	+	+	+	
ra 4	+	+	+	+	+	+	+	
leche	C	C	C	C	C	C	C	
soja	C	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
leche	C	C	C	C	C?	C?	C?	
soja	C	C	C	C	C	C	C	
) - Leche	C	C	C	C	ND	ND	ND	
) - Soja	ND	ND	C	C	C	C	C	
leche	C	C	C	C	-?	-?	-?	
leche	C							
leche	C	C	C	C	C	C	C	
soja	-							

+ : Presencia
confirmar

ND : No Determinado

C: Cuaja

- : Ausencia

? : Por

5.8. VALORACIÓN CUANTITATIVA DE MICROORGANISMOS CRECIDOS EN DISTINTOS PLANETAS.

Una vez aclarado que los microorganismos crecen en cualquier planeta de los aquí estudiados, nos surge una duda: **¿Dónde crecen mejor?** Con la ayuda de Internet y de los profes determinamos el crecimiento microbiano por tres métodos diferentes: espectrofotometría (método indirecto), recuento directo del número de células al microscopio (método directo) y recuento directo del número de células viables por plaqueo. Todos estos procedimientos se comentan bajo los epígrafes 4.7, 4.5 y 4.6 respectivamente.

En la tabla siguiente se representan los datos cuantitativos para los diferentes métodos.

Téngase en cuenta que los experimentos se hacían en tandas de planetas con *g* relacionadas: Tierra-Marte-Venus y Tierra-Saturno-Urano. El planeta Tierra siempre se incluía como control y como referente de comparación.

Los resultados por **espectrofotometría** muestran absorbancias similares entre los diferentes planetas, tanto para las bacterias (colonia 8) como para las levaduras (colonia 4).



Sin embargo, ¿hasta qué punto son de fiar estas determinaciones, puesto que a elevadas concentraciones pueden formarse agregados celulares y producirse un efecto "pantalla" de unas células sobre otras (en el caso de *S. cerevisiae* la relación entre la DO y la concentración de células es lineal hasta un valor de DO de aproximadamente 0,3). Por tanto, en algunos casos será necesario **diluir la muestra** antes de realizar la medida. (Foto: Rosaura y Lucrecia colaboran en la determinación de la absorbancia.).

Los resultados del **plaqueo** y posterior recuento de las ufc (unidades formadoras de colonias) fueron escasos por la dificultad de tener que disponer de un gran número de placas y de acertar con la dilución, Aún así, los datos tampoco varían excesivamente entre planetas diferentes. Este método lo bueno que tiene a diferencia del anterior es que **sólo mide las células viables**.

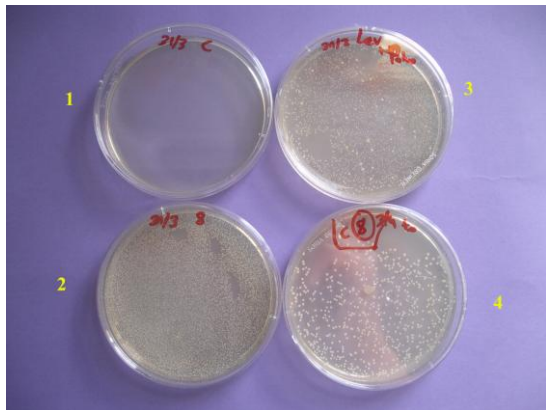


Foto: Placa Petri n° 1 representa el control, esto es la placa con medio de cultivo; placas n° 2 y 4 son cultivos de la bacteria 8 ; placa 3 representa un cultivo de levaduras.

El recuento de ufc se llevaba a cabo por Lucrecia y Rosaura normalmente.



El tercer método para determinar cuantitativamente la cantidad de microorganismos en otros planetas fue el recuento directo de células (viables o no) mediante la **cámara de Thoma**.

Los resultados, aunque escasos, sugieren nuevamente valores más o menos similares de crecimiento bacteriano en nuestro sistema solar (1 día, 30 min).

Para contar las células aprovechamos la videocámara del laboratorio que se acopla al microscopio (o a la lupa).

A continuación se muestra una tabla que ordena los datos obtenidos hasta el momento diferenciando en los métodos empleados.

DATOS CUANTITATIVOS PARA LOS DIFERENTES MÉTODOS UTILIZADOS

		Espectrofotometría (Absorbancia)		Plaqueo (ufc/ml).10 ⁶		Cámara de Thoma (células/ml).10 ⁶	
		Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo 1	Ensayo 2
Bacteria 8	Venus	1,174	1,496	ND	30	63,2	50
	Marte	1,253	1,556	ND	5,26	117,2	64
	Tierra	1,176	1,563	ND	7,3	231	71,2
	Saturno	1,453	ND	ND	ND	ND	ND
	Urano	1,493	1,377	ND	ND	ND	ND
	Neptuno	1,545	1,388	ND	ND	ND	ND
	Tierra*	ND	1,468	ND	ND	ND	ND
Levadura 4	Venus	1,074	1,575	12,36	2,53	ND	16,8
	Marte	1,149	1,230	9,54	14,27	ND	18
	Tierra	1,018	1,158	15,09	90,5	ND	22
	Saturno	1,210	0,950	ND	ND	ND	ND
	Urano	1,211	1,076	ND	ND	ND	ND
	Neptuno	1,166	ND	ND	ND	ND	ND
	Tierra*	1,030	1,234	ND	ND	ND	ND

ND: No determinado

6. CONCLUSIONES.

1. Respetando las reglas de la Física, hemos sido capaces de construir un **artilugio** con el que simulamos las gravedades de otros planetas.
2. La **olla a presión** es una buena alternativa al autoclave.
3. El **yogur** cuaja a la leche independientemente del planeta. El **yogur** diluido con leche es capaz de cuajar la leche en una relación 1/500.
4. Las bacterias del **actimel** cuajan a la leche en Venus, Marte y Tierra. El **actimel** es capaz de cuajar la leche en una relación de 1/17. También cuaja a la soja en una relación 1/500.
5. La cantidad de **quimosina** necesaria para elaborar queso fue de 0,05 g/100 ml leche, lo que es 20x superior a la propuesta por el comerciante en la etiqueta del bote. Con ella hemos conseguido cuajar la leche en Venus, Mercurio y Marte, Saturno, Urano y Neptuno.
6. No pudimos cuajar soja con **quimosina** utilizando concentraciones que oscilaban entre 0,25 y 0,0025 g/100 ml soja. Esto sugiere que no se puede elaborar queso a partir de la soja.
7. El **kéfir** tal cual y el **kéfir** lavado (sin restos apreciables de yogur) cuajan la leche y la soja.
8. El **kéfir**, el **actimel** y el yogur acidifican a la leche y a la soja tras 1 día a 30°C.
9. Bacterias aisladas del yogur o del **actimel** son capaces de desarrollarse en todos los planetas estudiados: M-V-M-T-S-U-N.
10. **Levaduras aisladas** del bote comercial son capaces de desarrollarse en todos los planetas estudiados: M-V-M-T-S-U-N. Esto abre las puertas a la confección de pan, vino o cerveza
11. **A nivel cuantitativo** parece ser que las bacterias crecen con una tasa bastante similar independientemente del planeta donde se encuentren. De igual forma parece ocurrir con las bacterias.

7. BIBLIOGRAFÍA.

La búsqueda de información se ha realizado casi en exclusiva por internet aprovechando los ordenadores que tenemos en casa y los que hay en el instituto, en concreto en el laboratorio de Biología. Por ello, citar todas las páginas web consultadas de donde hemos sacado la información sobre las bondades y defectos de los productos lácteos, o sobre en qué consiste el espectrofotómetro o la cámara de Thoma, sería una tarea enorme que no creemos necesaria.

Básicamente cuando queríamos profundizar en algún tema tecleábamos en la página Google lo que queríamos buscar, y a partir de allí "navegábamos" hacia donde nos llevara la corriente, hasta que diésemos un golpe de timón.