

# UNEMI

UNIVERSIDAD ESTATAL DE MILAGRO

REPÚBLICA DEL ECUADOR

UNIVERSIDAD ESTATAL DE MILAGRO

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

FACULTAD DE POSGRADOS

INFORME DE INVESTIGACIÓN PREVIO  
A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:

MAGÍSTER EN BIOTECNOLOGÍA

**TEMA:**

"Análisis bibliométrico sobre los avances en Ingeniería  
Genética y Edición de Genes en la Industria Cervecera"

**Autor:**

Castillo Celi Thalía Vanessa  
Espinoza Quezada Yolaine Daniela

**Director:**

Dr. Gustavo Elías Martínez Valenzuela

*Milagro, 2024*

## Derechos de autor

**Sr. Dr.  
Fabricio Guevara Viejó**  
Rector de la Universidad Estatal de Milagro  
Presente.

Yo, **Castillo Celi Thalía Vanessa y Espinoza Quezada Yolaine Daniela** en calidad de autor y titular de los derechos morales y patrimoniales de este informe de investigación, mediante el presente documento, libre y voluntariamente cedo los derechos de Autor de este proyecto de desarrollo, que fue realizada como requisito previo para la obtención de mi Grado, de **Magister en Biotecnología**, como aporte a la Línea de Investigación **Innovación a través de Bioproductos para su Producción Industrial** de conformidad con el Art. 114 del Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, concedo a favor de la Universidad Estatal de Milagro una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos. Conservo a mi favor todos los derechos de autor sobre la obra, establecidos en la normativa citada.

Así mismo, autorizo a la Universidad Estatal de Milagro para que realice la digitalización y publicación de este Proyecto de Investigación en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

El autor declara que la obra objeto de la presente autorización es original en su forma de expresión y no infringe el derecho de autor de terceros, asumiendo la responsabilidad por cualquier reclamación que pudiera presentarse por esta causa y liberando a la Universidad de toda responsabilidad.

Milagro, 15 de febrero del 2024



Espinoza Quezada Yolaine Daniela  
C.I: 0302210067



Castillo Celi Thalía Vanessa  
C.I: 0951236033

## Aprobación del tutor del Trabajo de Titulación

Yo, **Martínez Valenzuela Gustavo Elías** en mi calidad de director del trabajo de titulación, elaborado por **Espinoza Quezada Yolaine Daniela Y Castillo Celi Thalía Vanessa**, cuyo tema es "**Análisis Bibliométrico Sobre Los Avances En Ingeniería Genética Y Edición De Genes En La Industria Cervecera**", que aporta a la Línea de Investigación **Innovación a través de Bioproductos para su Producción Industrial**, previo a la obtención del Grado **Magister en Biotecnología**. Trabajo de titulación que consiste en una propuesta innovadora que contiene, como mínimo, una investigación exploratoria y diagnóstica, base conceptual, conclusiones y fuentes de consulta, considero que el mismo reúne los requisitos y méritos necesarios para ser sometido a la evaluación por parte del tribunal calificador que se designe, por lo que lo **APRUEBO**, a fin de que el trabajo sea habilitado para continuar con el proceso de titulación de la alternativa de Informe de Investigación de la Universidad Estatal de Milagro.

Milagro, 24 de junio del 2024



Martínez Valenzuela Gustavo Elías, PhD.  
C.I. 0922079595

**VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO FACULTAD DE  
POSGRADO  
CERTIFICACIÓN DE LA DEFENSA**

El TRIBUNAL CALIFICADOR previo a la obtención del título de MAGÍSTER EN BIOTECNOLOGÍA, presentado por BIOL. CASTILLO CELI THALÍA VANESSA, otorga al presente proyecto de investigación denominado "ANÁLISIS BIBLIOMÉTRICO SOBRE LOS AVANCES EN INGENIERÍA GENÉTICA Y EDICIÓN DE GENES EN LA INDUSTRIA CERVECERA", las siguientes calificaciones:

TRABAJO ESCRITO	54.67
SUSTENTACIÓN	34.67
<b>PROMEDIO</b>	<b>89.33</b>
<b>EQUIVALENTE</b>	<b>Muy Bueno</b>



UNEMI VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO  
MONICA DEL ROCIO  
VILLAMAR AVEIGA

Msc VILLAMAR AVEIGA MONICA DEL ROCIO  
**PRESIDENTE/A DEL TRIBUNAL**



UNEMI VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO  
ALEXANDRA GABRIELA  
VALENZUELA COBOS

VALENZUELA COBOS ALEXANDRA GABRIELA  
**VOCAL**



UNEMI VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO  
YESSENIA BEATRIZ  
SARANGO ORTEGA

Msc SARANGO ORTEGA YESSENIA BEATRIZ  
**SECRETARIO/A DEL TRIBUNAL**

**VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO FACULTAD DE  
POSGRADO  
CERTIFICACIÓN DE LA DEFENSA**

El TRIBUNAL CALIFICADOR previo a la obtención del título de MAGÍSTER EN BIOTECNOLOGÍA, presentado por LIC. ESPINOZA QUEZADA YOLAINE DANIELA, otorga al presente proyecto de investigación denominado "ANÁLISIS BIBLIOMÉTRICO SOBRE LOS AVANCES EN INGENIERÍA GENÉTICA Y EDICIÓN DE GENES EN LA INDUSTRIA CERVECERA", las siguientes calificaciones:

TRABAJO ESCRITO	54.67
SUSTENTACIÓN	35.00
<b>PROMEDIO</b>	<b>89.67</b>
<b>EQUIVALENTE</b>	<b>Muy Bueno</b>



MONICA DEL ROCIO  
VILLAMAR AVEIGA

Msc VILLAMAR AVEIGA MONICA DEL ROCIO  
**PRESIDENTE/A DEL TRIBUNAL**



ALEXANDRA GABRIELA  
VALENZUELA COBOS

VALENZUELA COBOS ALEXANDRA GABRIELA  
**VOCAL**



YESSENIA BEATRIZ  
SARANGO ORTEGA

Msc SARANGO ORTEGA YESSENIA BEATRIZ  
**SECRETARIO/A DEL TRIBUNAL**

## DEDICATORIA

A mi mamá

Este logro es tanto tuyo como mío. Tu amor incondicional, tus sacrificios silenciosos y tu apoyo constante han sido la base sobre la que he construido mis sueños. Desde las noches de desvelo hasta las palabras de ánimo en los momentos difíciles, has estado a mi lado, guiándome con tu sabiduría y fuerza.

Gracias por creer en mí cuando más lo necesitaba y por enseñarme que con determinación y esfuerzo, todo es posible. Este logro es un reflejo de tu dedicación y el fruto de todo lo que me has dado.

Con todo mi amor y gratitud,

Yolaine Espinoza Quezada

## AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi más profundo agradecimiento en primer lugar a Dios, cuya guía y bendiciones han sido fundamentales a lo largo de este camino académico. Sin Su luz y fortaleza, este logro, no hubiera sido posible.

A mi madre, gracias por tu amor incondicional, tus sacrificios y tu apoyo constante. Tu ejemplo de perseverancia y dedicación ha sido mi mayor inspiración.

A mi prometido, gracias por tu paciencia, comprensión y ánimo inagotable. Tu apoyo emocional y tu fe en mí me han dado la fuerza para superar cada desafío.

Finalmente, extendiendo mi gratitud a la Universidad Estatal de Milagro (UNEMI), por proporcionar el ambiente académico y los recursos necesarios para alcanzar esta meta. Gracias a todos los profesores y personal administrativo por su dedicación y compromiso con la excelencia educativa.

## Resumen

Recientemente, la industria cervecera presenta un creciente interés en el uso de herramientas de ingeniería genética y edición de genes con el propósito de mejorar algunos aspectos del proceso de producción y optimizar las características deseadas en la cerveza. Por ello, este análisis resalta la importancia de tecnologías como CRISPR-Cas9 contribuyendo en mejoras precisas en organismos ejecutados en la producción de cerveza para la calidad y estabilidad del producto. La diversidad genética de las levaduras y el diseño de nuevas cepas a través de la edición genómica son de gran relevancia en la optimización en la fermentación y mejoramiento en la producción de cerveza. Se realizó un análisis descriptivo y retrospectivo mediante un diseño bibliométrico para estudiar datos de publicaciones científicas en bases de datos de PubMed. La búsqueda abarco términos claves enfocados en la ingeniería genética y la producción de cerveza. La recopilación de datos se logró de manera sistemática, garantizando la calidad e importancia de la información. Los resultados mostraron un aumento en la producción de artículos en 2021 seguido de una disminución en los años siguientes, evidenciando fluctuaciones en el interés por este campo de investigación. Sin embargo, la productividad científica y colaboraciones entre autores e instituciones señalan a Wang J como un autor más productivo. Además, el análisis de palabras clave determino que las palabras más frecuentes como fermentación y *Saccharomyces cerevisiae* evidencia la coherencia con la producción de cerveza. Por lo tanto, se resalta el creciente interés en el uso de CRISPR en la optimización de la fermentación y el desarrollo de nuevos sabores; asimismo, lo fundamental de la ingeniería genética en el mejoramiento en la estabilidad de las levaduras y disminuir contaminantes. Estos cambios permiten a la industria cervecera ingresar a nuevos mercados y consumidores, aportando al desarrollo de productos innovadores y sostenibles.

Palabras clave:

Cerveza, *Saccharomyces cerevisiae*, industria cervecera, ingeniería genética, edición de genes



## Abstract

Recently, the brewing industry presented a growing interest in the use of genetic engineering and gene editing tools with the purpose of improving some aspects of the production process and optimizing the desired characteristics in beer. Therefore, this analysis highlights the importance of technologies such as CRISPR-Cas9 in contributing to precise improvements in organisms used in beer production for the quality and stability of the product. The genetic diversity of yeasts and the design of new strains through genomic editing are of great relevance in the optimization of fermentation and improvement in beer production. A descriptive and retrospective analysis was performed using a bibliometric design to study data from scientific publications in PubMed databases. The search covered key terms focused on genetic engineering and beer production. Data collection was achieved in a systematic way, ensuring the quality and relevance of the information. The results showed an increase in the production of articles in 2021 followed by a decrease in the following years, evidencing fluctuations in the interest in this field of research. However, scientific productivity and collaborations between authors and institutions point to Wang J as a more productive author. In addition, keyword analysis determined that the most frequent words such as fermentation and *Saccharomyces cerevisiae* evidenced consistency with beer production. Therefore, it highlights the growing interest in the use of CRISPR in the optimization of fermentation and the development of new flavors, as well as the fundamental role of genetic engineering in improving yeast stability and reducing contaminants. These changes allow the brewing industry to enter new markets and consumers, contributing to the development of innovative and sustainable products.

Key-words:

beer, *Saccharomyces cerevisiae*, brewing industry, genetic engineering, gene editing

## Lista de Figuras

Figura 1 Producción científica anual en el campo de la ingeniería genética y la edición de genes aplicado a la industria cervecera.....	38
Figura 2 Fuente más relevantes de artículos científicos en el campo de la ingeniería genética y edición de genes aplicados a la industria cervecera -----	39
Figura 3 Autores destacados en investigaciones sobre ingeniería genética y edición de genes en industrias cerveceras.....	40
Figura 4 Colaboraciones entre investigadores relacionado a la ingeniería genética y edición de genes en la industria cervecera.....	41
Figura 5 Afiliaciones relevantes en la ingeniería genética y edición de genes en la industria cervecera.....	42
Figura 6 Palabras claves con mayor frecuencia en estudios relacionados a ingeniería genética y edición de genes en la industria cervecera-----	43
Figura 7 Términos relacionados entre diferentes conceptos en la ingeniería genética y edición de genes en la industria cervecera.....	44

## Índice / Sumario

Introducción.....	1
Capítulo I: El problema de la investigación.....	3
1.1 Planteamiento del problema.....	3
1.2 Delimitación del problema.....	3
1.3 Formulación del problema.....	4
1.4 Preguntas de investigación.....	4
1.5 Determinación del tema.....	4
1.6 Objetivo general.....	4
1.7 Objetivos específicos.....	4
1.8 Hipótesis (de existir).....	5
1.9 Declaración de las variables (operacionalización).....	5
1.10 Justificación.....	6
CAPÍTULO II: Marco teórico referencial.....	9
2.1 Antecedentes.....	9
2.2 Contenido teórico que fundamenta la investigación.....	10
2.2.1 Fundamentos de la ingeniería genética.....	10
I. Conceptos básicos de genética y biología molecular.....	11
II. Técnicas de ingeniería genética.....	13
III. Técnicas de edición de genes.....	14
2.2.2 Ingeniería genética en la industria cervecera.....	18
2.2.3 Microorganismos genéticamente modificados.....	24
2.2.4 Edición de genes en la industria cervecera.....	26
2.2.5 Innovaciones en la producción de cerveza mediante ingeniería genética.....	28
2.2.6 Sostenibilidad e impacto ambiental.....	30
2.2.7 Tendencias y avances recientes.....	32
CAPÍTULO III: Diseño metodológico.....	34
3.1 Tipo y diseño de investigación.....	34
3.2 Los métodos y las técnicas.....	34
3.2.1. Metodología.....	34
CAPÍTULO IV: Análisis e interpretación de resultados.....	38
4.1 Análisis de los resultados.....	38
CAPÍTULO V: Conclusiones y Recomendaciones.....	47
5.1 Conclusiones.....	47
5.2 Recomendaciones.....	48

**Bibliografía** .....49

## Introducción

El análisis bibliométrico es de gran importancia en la investigación científica, permitiendo evaluar la producción académica y el progreso en áreas específicas del conocimiento. Centrándose en la ingeniería genética y la edición de genes en la industria cervecera, puede proporcionar información valiosa sobre la evolución de estos campos, identificar tendencias emergentes y evaluar la eficacia de las técnicas de investigación utilizadas (Flores y Contreras, 2023). Asimismo, se ha mencionado que la ingeniería genética tendrá un rol fundamental en el desarrollo de biocombustibles de tercera y cuarta generación, destacando la importancia de esta disciplina en la búsqueda de alternativas sostenibles y eficientes en la industria (Torrentes Espinoza, 2021).

La ingeniería genética ha transformado la industria alimentaria favoreciendo la optimización de procesos y la obtención de compuestos de interés mediante la biología sintética (Ortuno et al., 2021). La industria cervecera requiere de las modificaciones genéticas para mejorar diversos rasgos fenotípicos de las cepas de levadura utilizadas en los procesos de fermentación. La estabilidad genética es fundamental en la elaboración industrial de cerveza permitiendo conservar los perfiles de sabor específicos y otras propiedades de la cerveza (Gorter de Vries et al., 2020). La influencia de la genómica de la levadura en la elaboración de cerveza ha sido un tema de interés, resaltando la importancia de comprender la composición genética de la levadura cervecera para el futuro de la industria (Bird y Smith, 2016). En efecto, el estudio de la dinámica de las proteínas de la levadura de cerveza a lo largo de los procesos de fermentación es importante para entender las características genéticas y moleculares que intervienen en las cepas de levadura cervecera (Garge et al., 2023).

Los avances en las tecnologías de edición de genes, como CRISPR/Cas9, han optimizado significativamente la eficiencia y especificidad de las herramientas de edición de genes, accediendo a modificaciones precisas en diversos organismos, incluido el ganado (Perisse et al., 2020). En la industria cervecera, se han utilizado tecnologías de edición del genoma como CRISPR/Cas9 para modificar genes en hongos filamentosos como *Aspergillus oryzae*, evidenciando su potencial en los procesos industriales (Maruyama, 2021).

Inclusive, un estudio sobre la edición selectiva del genoma muestra los importantes avances en las tecnologías de edición del genoma y sus diversas aplicaciones en ingeniería genética (Perez-Pinera et al., 2012). La diversidad genética y la variabilidad de las cepas de levadura cervecera industrial, principalmente, los genes relacionados con la floculación juegan un papel vital en el proceso de elaboración de la cerveza. Controlar la floculación aporta a separar eficazmente las células de levadura de la cerveza final (Van Mulders et al., 2010). Las levaduras cerveceras lager han sido un foco en la genética moderna, con debates sobre sus orígenes y el papel potencial de la edición del genoma en el desarrollo de cepas de levadura industrial mejoradas (Gorter de Vries et al., 2019). La secuenciación del genoma de cepas de levadura cervecera lager han originado información valiosa sobre su composición genética y uso generalizado en la industria cervecera (Nakao et al., 2009).

Las investigaciones sobre los perfiles de transcripción de las levaduras cerveceras en condiciones de fermentación han impulsado sobre los patrones de expresión génica a lo largo del proceso de elaboración de la cerveza, presentando información esencial para optimizar el rendimiento de la fermentación (T. C. James et al., 2003). También, se ha estudiado la creación de nuevos híbridos de levadura cervecera sin modificaciones genéticas específicas, ofreciendo enfoques alternativos para la mejora genética en la industria cervecera (Krogerus et al., 2017). La edición del genoma ha sido aplicada para generar cepas de levadura del sake con múltiples mutaciones que proporcionan excelentes características cerveceras, indicando el potencial de la ingeniería genética en el desarrollo de cepas de levadura especializadas para aplicaciones cerveceras (Chadani et al., 2021).

En definitiva, el contexto de la ingeniería genética y la edición de genes en la industria cervecera es primordial para abarcar la evolución de estos campos, identificar áreas de investigación emergentes y evaluar el impacto de las tecnologías aplicadas. La integración de la biología sintética, la ingeniería genética y la Industria 4.0 en la producción cervecera representa un área de estudio prometedora que puede impulsar la innovación y el desarrollo sostenible en esta industria.

## **Capítulo I: El problema de la investigación**

### **1.1 Planteamiento del problema**

En la actualidad, la industria cervecera presenta un creciente interés en el uso de herramientas de ingeniería genética y edición de genes con el propósito de mejorar algunos aspectos del proceso de producción y optimizar las características deseadas en la cerveza. Sin embargo, presenta una serie de desafíos y dilemas éticos que tiene que tratarse para garantizar su uso responsable y beneficioso.

Ante todo, la aplicación de ingeniería genética en levaduras cerveceras brinda posibilidades de mejorar el rendimiento, la calidad y las características organolépticas de la cerveza, pese a que genera preocupación con respecto a la seguridad alimentaria y la aceptación pública de productos modificados genéticamente.

Por otro lado, el uso de edición de genes en lúpulos y otros ingredientes promueve nuevas variedades con perfiles de sabor únicos, resistentes a enfermedades o ajustarse a climas específicos. Sin embargo, presenta desafíos como la regulación de las tecnologías a nivel nacional e internacional debido a la falta de estándares claros y consensuados permitiendo dificultar su adaptación y capacidad en la innovación de la industria cervecera.

De esta manera, se analizó críticamente los avances en ingeniería genética y edición de genes en la industria cervecera tanto en oportunidades como los riesgos, dando una visión multidisciplinaria que incluya consideraciones científicas, éticas, legales y económicas fomentando el desarrollo responsable de las herramientas y su empleo en la producción de cerveza.

### **1.2 Delimitación del problema**

La investigación se realizó mediante un análisis bibliométrico de la producción científica asociado a los avances en ingeniería genética y edición de genes aplicados a la industria cervecera. Se revisó artículos científicos y otros documentos publicados en revistas indexadas en las principales bases de datos académicos.

Se tomó en cuenta las publicaciones más recientes, desde el año 2018 hasta la actualidad con el propósito de recopilar los avances más relevantes y las tendencias emergentes en este campo.

### **1.3 Formulación del problema**

¿Cómo impactan los avances en ingeniería genética y edición de genes en la eficiencia de producción y calidad del producto en la industria cervecera?

### **1.4 Preguntas de investigación**

¿Qué tecnologías de edición de genes se están utilizando actualmente en la mejora de levaduras cerveceras y cuáles son sus principales beneficios y limitaciones?

¿Cuáles barreras regulatorias y éticas enfrentan la implementación de organismos genéticamente modificados en la industria cervecera y cómo pueden superarse?

¿Cómo perciben los consumidores el uso de levaduras genéticamente modificadas en la producción de cerveza y cómo afecta esto la aceptación del producto en el mercado?

¿Qué estudios de caso existen sobre el uso exitoso o fallido de la ingeniería genética en la producción de cerveza y qué lecciones se pueden extraer de ellos?

### **1.5 Determinación del tema**

Análisis bibliométrico sobre los avances en Ingeniería Genética y Edición de Genes en la Industria Cervecera

### **1.6 Objetivo general**

Evaluar indicadores bibliométricos que nos indiquen el impacto de las ediciones genéticas CRISPR en la mejora de la cerveza.

### **1.7 Objetivos específicos**

a) Identificar las tendencias de investigación en la aplicación de la edición genética CRISPR para mejorar la cerveza.

b) Analizar las aplicaciones de la inmovilización de levaduras y la ingeniería genética en la producción de cerveza a través de un enfoque bibliométrico.

c) Determinar el impacto de la modificación genética de levaduras en la industria cervecera en términos de calidad del producto, eficiencia de la fermentación y aspectos económicos.



### 1.8 Hipótesis (de existir)

La aplicación de técnicas de ingeniería genética y edición de genes en la industria cervecera ha incrementado significativamente en los últimos años, denotando un gradual interés y la importancia de estas tecnologías emergentes para potenciar los procesos de elaboración de cerveza, diseñar nuevas cepas de levadura y estudiar nuevos perfiles de sabor y aroma.

### 1.9 Declaración de las variables (operacionalización)

Se realiza un análisis bibliométrico utilizando publicaciones de alto impacto publicadas en los últimos años, como las indexadas en Scopus y Web of Science, para asegurar la relevancia y actualidad de los datos recopilados.

Variable	Definición	Indicador	Medida	Fuente de datos
Variable dependiente: Avances en Ingeniería Genética y Edición de Genes en la Industria Cervecera	Promedio anual de publicaciones científicas sobre el tema	2010-2020: 18.2 publicaciones/año 2021-2024: 28.8 publicaciones/año	Scopus, Web of Science	
Variable independiente 1: Tipo de publicación	Artículos de investigación, revisiones, comunicaciones cortas, etc.	-Artículos de investigación: 67% -Revisiones: 23% -Comunicaciones cortas: 10%	Porcentaje	Scopus, Web of Science
Variable independiente 2: País de origen de la publicación	País donde se encuentra la institución de los autores	Estados Unidos: 30% China: 19% Alemania: 13% Reino Unido: 11% España: 9%	Porcentaje	Scopus, Web of Science
Variable independiente 3: Institución de origen de la publicación	Institución a la que pertenecen los autores	-Universidad de California, Davis (EE.UU.) -Universidad de Leuven (Bélgica) -Universidad de Nottingham (Reino Unido) -Instituto de Tecnología de Massachusetts (EE.UU.)	Número de publicaciones	Scopus, Web of Science

		-Universidad de Birmingham (Reino Unido)		
Variable independiente 4: Año de publicación	Año en que se publicó la investigación	-Técnica Ingeniería Genética: 2019 -Producción de cervezas con propiedades funcionales: 2020 -Innovación en la cerveza mediante Ingeniería Genética: 2021-2022 -Técnicas de Edición de Genes CRISPR-Cas9: 2021	Frecuencia	Scopus, Web of Science
Variable independiente 5: Palabras clave	Términos más utilizados para describir la investigación	- <i>Saccharomyces cerevisiae</i> -Industria Cervecera -Ingeniería Genética -Edición de Genes -CRISPR-Cas9 -Levaduras -Proteína Cas9 -Trastornos Genéticos -Clonación molecular -Mutagénesis Inducida	Frecuencia	Scopus, Web of Science
Variable independiente 6: Metodología de investigación	Técnicas utilizadas para realizar la investigación	Ingeniería genética de levaduras: 40% Edición de genes CRISPR-Cas9: 38% Análisis de expresión génica: 26% Metabólica: 17%	Porcentaje	Textos completos de las publicaciones

### 1.10 Justificación

El empleo de técnicas de ingeniería genética y edición de genes, como CRISPR-Cas 9 han potenciado a la industria cervecera contribuyendo en la modificación del genoma de los microorganismos que implican en la fermentación, al igual que la introducción de nuevas rutas metabólicas para la producción de compuestos deseables. En ese mismo contexto, la edición de genes ha permitido la optimización de ingredientes como la cebada y el lúpulo usados en la producción de cerveza para mejorar sus características sensoriales y funcionales.

La modificación genética de las cepas de levadura también puede mejorar la resistencia al estrés y la capacidad de fermentación, lo que resulta en una producción

de cerveza más eficiente y consistente. Hoy en día, la modificación genética es más precisa gracias a la rápida evolución de métodos como CRISPR-Cas9. Por lo tanto, la ingeniería genética es un campo de investigación en constante desarrollo que tiene un impacto significativo en una variedad de áreas, desde la medicina hasta la agricultura y la biotecnología industrial. Estos avances no solo tienen una relevancia científica significativa, sino que también puede tener un impacto económico y social profundo. La industria cervecera, al adoptar estos avances, puede aumentar su eficiencia, reducir costos y ofrecer productos innovadores a los consumidores.

Por consiguiente, el análisis bibliométrico proporcionó datos cuantitativos y cualitativos que aprueben o refuten la hipótesis, brindando una percepción actual y del futuro potencial de la ingeniería genética en la producción de cerveza.

#### **Alcance:**

i. La investigación se centró en los avances y desarrollos asociados a la ingeniería genética y la edición de genes aplicados en la industria cervecera. Esto abarca técnicas como la modificación genética de levaduras y cepas de microorganismos empleados en la industria cervecera.

ii. El análisis bibliométrico ayudó a estimar el estado actual, las tendencias de investigación en este campo, determinando áreas de mayor desarrollo, países líderes, instituciones y autores destacados.

iii. Se estableció las tecnologías más destacadas en la industria cervecera como la mejora de cepas de levadura, la optimización de procesos de fermentación y el desarrollo de sabores y aromas.

iv. El análisis bibliométrico brindó información importante sobre la evolución temporal de las publicaciones, las revistas más relevantes y las redes de colaboración entre investigadores y entidades.

#### **Limitaciones:**

i. La investigación se limitó en el campo de la ingeniería genética y la edición de genes en la industria cervecera, excluyendo otras industrias.

ii. La información se adquirió solamente de fuentes bibliográficas indexadas en las bases de datos seleccionadas, omitiendo trabajos no publicados.

iii. El análisis bibliométrico sólo proporcionó una visión general de las tendencias y avances en la ingeniería genética o edición de genes sin detalles técnicos sobre los métodos específicos del campo.

iv. Los resultados fueron limitados por la calidad y exhaustividad de los datos disponibles de las bases de datos revisadas, al igual que la uniformidad en la asignación de palabras claves y descriptores en las publicaciones.

## CAPÍTULO II: Marco teórico referencial

### 2.1 Antecedentes

Los actuales avances en ingeniería genética y edición de genes han revolucionado en la industria cervecera, dando a conocer las tecnologías del ADN como el análisis genético molecular y la secuenciación del ADN de tercera generación que han sido empleadas para combatir la falsificación y la contaminación de los productos cerveceros (Kurniawan et al., 2022; Lazareva et al., 2021). Por ello, estas tecnologías han sido usadas para detectar genes de tolerancia al lúpulo y excluir entre diferentes cepas de levadura, potenciando el control de calidad en los laboratorios cerveceros (Kurniawan et al., 2022). También el uso de las tecnologías de endonucleasas CRISPR-Cas en la edición del genoma de la cebada ha generado resultados prometedores induciendo a la mejora de los procesos de elaboración de cerveza (Willmann et al., 2021).

Esto se debe a la necesidad de enfrentar retos como los fenómenos climáticos extremos que afectan al suministro de cerveza como se menciona en el estudio por Xie et al., (2018). El sistema CRISPR-Cas9 es precisa en la edición de genes con amplias aplicaciones en diversos campos, incluida la agricultura. Por lo que, ha perfeccionado considerablemente la eficiencia de la mejora genética y la caracterización funcional de los genes. Además, favorece al avance de la regulación genética de ajuste fino y la mejora de los rasgos en los cultivos (Wei et al., 2022).

Así que, las técnicas de edición de genes como CRISPR-Cas9 han ayudado a transformado con exactitud los genomas de las levaduras, permitiendo introducir rasgos deseables o descartar los indeseables. Según Dias et al., (2019), esto abre nuevas alternativas para crear perfiles de sabor únicos, estimular los compuestos aromáticos y optimizar la calidad de la cerveza y otras bebidas fermentadas. Por eso, la eficiente maquinaria de recombinación homóloga de la levadura vínica *Saccharomyces cerevisiae* se distingue por la edición del genoma permitiendo crear nuevas cepas de levadura vínica (Bernardi y Wendland, 2020). Estas contribuciones, innovan a la industria cervecera.

Las nuevas técnicas de modificación genética, como CRISPR, son importantes porque permiten a los científicos corregir o editar el código genético en casi cualquier organismo. Es más simple, barato y más preciso que las técnicas de edición de genes anteriores. Además, tienen una variedad de aplicaciones que incluyen la curación de

enfermedades genéticas o la creación de plantas resistentes a condiciones adversas. Por otro lado, gen de la proteína verde fluorescente (GFP) está cobrando gran popularidad en el campo de la biotecnología moderna, ya que ha sido útil en la investigación científica, porque al enfocar células con dicho gen bajo luz ultravioleta y estas brillaran en verde brillante. Esta propiedad se utiliza en diversas aplicaciones biotecnológicas, como fusiones de proteínas, visualización de organismos completos e indicadores transcripcionales. Por lo que en aprovechamiento de las nuevas tecnologías de ADN recombinante y del gen GFP, el cual está teniendo un importante auge en el mercado, se han realizado proyectos de investigación que tiene como fin evaluar la modificación genética de la bacteria *E. coli* y la levadura *S. cerevisiae* utilizando el gen GFP para la inducción de fluorescencia. Se utilizó la técnica de CRISPR para realizar la modificación genética de los microorganismos seleccionados. Además, se realizó la propagación de los microorganismos modificados y no modificados en medios de cultivos formulados para una comparación de sus modelos cinéticos de crecimiento. Para esto, durante su reproducción, se tomaron muestras de cultivo en distintos tiempos para medir la densidad óptica, concentración de biomasa, azúcares totales y obtención de productos. De esta forma se determinaron las curvas de crecimiento celular, consumo de sustrato y obtención de producto en el tiempo, en conjunto con los parámetros cinéticos que permiten realizar predicciones en el tiempo y comparar los efectos que produce una modificación genética (García Solórzano, 2023).

## **2.2 Contenido teórico que fundamenta la investigación**

### **2.2.1 Fundamentos de la ingeniería genética**

La ingeniería genética es un conjunto de conocimientos científicos y tecnológicos para el mejoramiento genético de plantas y animales para producir alimento con propiedades nutricionales mejorada que garantice la seguridad alimentaria. También, tiene connotación en temas sobre clonación humana, mutaciones y pruebas de paternidad y reconocimiento de enfermedades cancerígenas hereditarias. La genética es la ciencia que estudia la transmisión de la información hereditaria de una generación a otra para crear copias exactas del mismo, pero mejorado. La ingeniería genética (también denominada modificación genética) es un proceso que emplea tecnologías de laboratorio para alterar la composición del ADN de un organismo. Eso puede incluir un cambio en un único par de bases (A-T o C-G), la delección de una región del ADN o la adición de un nuevo segmento de ADN.

Por ejemplo, mediante ingeniería genética se puede agregar un gen de una especie a un organismo de otra especie para producir un rasgo deseado. En su uso en la investigación y la industria, la ingeniería genética se ha aplicado a la producción de terapias contra el cáncer, la elaboración de levaduras, y plantas y ganado modificados genéticamente, entre otros usos. (Pazos, 2023)

En la actualidad esta es utilizada por la biotecnología para desarrollar mejoras, en cuanto a calidad y cantidad en alimentos; desarrollo de vacunas entre otras como la clonación de humanos. El ADN cuando se divide en fragmentos, mediante el uso de enzimas de restricción, quedan rodeados por una sustancia pegajosa que hace que se puedan unir a otros fragmentos, dando origen al ADN recombinante. Los alimentos transgénicos son aquellos que se obtienen modificando su ADN; para convertirlos más resistentes a las épocas de sequía prolongadas. En el caso de los animales, los ingenieros combinan diferentes razas para obtener una subespecie, más rica en carne; o que, de más leche, en el caso de las vacas. Gracias a esta ingeniería, obtienen sustancias útiles para el hombre, producidas por bacterias que se utilizan como fábricas de producción. Así se han obtenido la insulina, la hormona de crecimiento, el interferón y el factor VIII de la coagulación sanguínea, algunos tipos de vacunas. También se pretende utilizar a los microorganismos modificados genéticamente para que degraden determinados contaminantes como metales y plásticos. Esta rama de la ingeniería en los seres humanos ha estado por mucho tiempo, sometida a la observación y análisis; desde el punto de vista ético y religioso. Pero actualmente los científicos cuentan con un mayor apoyo de la opinión pública, esto gracias a los avances dados a conocer en la salud; como la prevención de enfermedades hereditarias ligadas a la manipulación genética. La ingeniería genética tiene una gran incógnita que debe resolver en un pronto futuro, es los efectos que causan las modificaciones de ADN. Así como los seres humanos y los alimentos ingeridos, y las mutaciones a las que se ha sometido, para mejorar la calidad de vida en general, es realmente beneficioso o en caso contrario nos afecta, y en qué grado lo hacen. (SergioMeleroRoyo, 2019)

### **I. Conceptos básicos de genética y biología molecular**

**ADN:** es el material hereditario que se encuentra en los seres vivos y en la mayoría de los organismos. Se encuentra almacenado en el núcleo celular y en las mitocondrias (H. James, 2019). Estas moléculas almacenan y transmiten información

genética, también ayuda a comprender las vías de enfermedades, la susceptibilidad genética y la identificación de patógenos. McHughen y McHughen, (2020) estudio la estructura física del ADN, su función y su impacto en la vida cotidiana enfatizando su naturaleza lógica y racional. Chakraborty et al., (2021) indago las propiedades multifuncionales del ADN, incluyendo su uso como biomaterial en la edición de genes, la terapia génica y la ciencia forense. Además, es un sistema de almacenamiento de datos, la cual Bhandari y Bhandari, (2018) puso a prueba la capacidad para almacenar grandes cantidades de datos en un espacio reducido durante largos periodos de tiempo.

**Genes:** son secciones de ADN que suministran unidades físicas y funcionales de la herencia, llevando instrucciones para las características individuales (Badiger, 2020). Es muy relevante en la genealogía genética ya que es un término que interactúa con varias disciplinas y es muy común en los currículos académicos (Nikolova, 2018). Por el contrario, el término gen ha sido mal interpretado con explicaciones simplificadas y conceptos erróneos sobre su rol y función (Lynch, 2018). Por ello, se requiere comprender a profundidad los genes y sus complejos procesos de regulación.

**Mutación:** es el mecanismo principal en la evolución de las plantas, la domesticación de cultivos y la mejora genética, conllevando a cambios heredables en el ADN (Pathirana, 2021). En el desarrollo de software, las pruebas de mutación estiman la idoneidad de un conjunto de ensayos a través de la creación de pequeños fallos artificiales en el programa testeado (Petrovic et al., 2022). A pesar de ello, su desafío consiste en identificar y eliminar mutantes equivalentes al programa original (Ayad et al., 2019). Por esta razón, se ha iniciado una estrategia escalable para las pruebas de mutación, que incluyen pruebas incrementales, filtrado de mutantes y selección basada en el rendimiento histórico.

**Transgénesis:** es un proceso, el cual introducen genes extraños en un organismo con el fin de alterar su composición genética y producir los rasgos deseados. Esto se lleva a cabo a través de diversos métodos como la genética de recombinasa en el pez cebra (Carney y Mosimann, 2018) y los sistemas de cultivo de plantas in vitro para la producción de metabolitos secundarios (Kowalczyk et al., 2020). Éste presenta una variedad de aplicaciones tanto en la investigación biológica y médica como en la agricultura y los xenotrasplantes (Bihon Asfaw y Assefa, 2019).



## II. Técnicas de ingeniería genética

**Transgénesis:** esta tecnología trata de la preparación de un gen de interés utilizando técnicas de edición de genes como CRISPR-Cas9, introduciendo a la célula huésped mediante vectores como plásmidos bacterianos. Su éxito se debe a la correcta incorporación del gen, el cual se comprueba mediante PCR y ELISA (Bihon Asfaw y Assefa, 2019).

**Mutagénesis:** Mutagénesis es el proceso por el cual se producen mutaciones en el material genético de un organismo, ya sea ADN o ARN. Las mutaciones pueden ser causadas por diversos factores, como la radiación, productos químicos o errores durante la replicación del ADN. La mutagénesis inducida ocurre cuando se exponen los organismos a agentes externos que aumentan la tasa de mutación, como la radiación ionizante, los productos químicos mutagénicos o ciertos virus. Estos agentes pueden causar cambios en los nucleótidos individuales del ADN o dañar la estructura general del ADN. La mutagénesis espontánea ocurre de manera natural debido a errores que ocurren durante la replicación del ADN, y también puede ser causada por agentes ambientales como la luz solar ultravioleta. Existen diferentes tipos de mutaciones, como las mutaciones silenciosas, que no tienen efecto sobre la proteína producida, y las mutaciones sin sentido, que pueden dar lugar a proteínas truncadas o ineficaces. (Raúl Corrales-Lerma<sup>1</sup>, 2019)

La mutagénesis es una herramienta muy utilizada en la industria cervecera, ya que mejora las cepas microbianas para el proceso de fermentación. Se han usados métodos tradicionales, como los mutagénicos químicos y el aislamiento manual, sin embargo, han sido sustituidos por la irradiación física y el cribado en placas de microtitulación debido a su alta eficiencia y mayor rendimiento (Yu et al., 2020). Por otro lado, la mutagénesis aleatoria es usada en el proceso de elaboración de la cerveza para mejorar las cepas de microalgas (Trovão et al., 2022). No obstante, la industria cervecera presenta desafíos respecto a las bacterias lácticas alterantes, dado que, causa pérdidas económicas. Debido a esto, se está desarrollando tecnologías avanzadas de detección como la amplificación isotérmica y la secuenciación del ADN para tratar el problema (Suzuki, 2020; Z. Xu et al., 2020).

**Clonación:** La clonación es el proceso mediante el cual, de manera no sexual, se obtienen dos células, moléculas u organismos idénticos ya desarrollados. Un clon es un organismo copia en cuanto a su genética. La clonación parte de tres conceptos principales: a) El proceso de clonación parte de un organismo desarrollado ya que se

busca hacer una copia exacta de ese organismo. b) Dicha copia se obtiene mediante una forma no sexual, ya que ésta no permite realizar copias idénticas por la diversidad de la naturaleza. c) Lo que primero se clona son las células, y lo que se necesita es la secuencia de ADN del organismo.

La clonación es una técnica muy utilizada en el desarrollo de software. Q. Chen et al., (2018) y Kaur, (2018) presentan perspectivas de las técnicas de detección de clones de código en la ingeniería de software, en donde Kaur se dedica a la clasificación de los clones de código y la comparación de las herramientas de detección, en cambio, Qiuyuan estudia los desafíos y las direcciones futuras de este campo. Por el contrario, Bird et al., (2022) brinda una guía fácil de manejar para el ensamblaje Golden Gate, que es un método de clonación conocido en biología molecular. Adicionalmente, Shobha et al., (2021) resalta la importancia de nuevos enfoques en la detección total de clones de código y reducir la creación de gráficos de dependencia de programas.

### III. Técnicas de edición de genes

**CRISPR-Cas9:** Es una tecnología de edición de genes que involucra dos componentes esenciales: un ARN guía para que coincida con un gen diana deseado, y Cas9 (proteína 9 asociada a CRISPR), una endonucleasa que provoca una rotura del ADN bicatenario, lo que permite modificaciones en el genoma. Una de las aplicaciones más interesantes de CRISPR/Cas9 es su uso potencial para tratar trastornos genéticos causados por mutaciones de un solo gen. Algunos ejemplos de estas enfermedades son la fibrosis quística (FQ), la distrofia muscular de Duchenne (DMD) y las hemoglobinopatías. Hasta ahora, el enfoque solo se ha validado en modelos preclínicos, pero se espera que pronto pueda trasladarse a la práctica clínica. Dos estudios similares han descrito el uso del sistema CRISPR/Cas9 in vivo para aumentar la expresión del gen de la distrofina y mejorar la función muscular en modelos marinos. Otros estudios han utilizado CRISPR/Cas9 para atacar la duplicación de exones en el gen de la distrofina humana in vitro y han demostrado que este enfoque puede conducir a la producción de distrofina de longitud completa en los miotúbulos de un individuo con DMD. CRISPR/Cas9 también podría utilizarse para tratar las hemoglobinopatías. Recientemente se ha demostrado que la alteración del potenciador de BCL11A por CRISPR/Cas9 podría inducir hemoglobina fetal tanto en ratones como en células primarias de eritroblastos humanos. En el futuro, este

enfoque podría permitir que la hemoglobina fetal se exprese en pacientes con hemoglobina adulta anormal. Esto supondría una estrategia terapéutica novedosa en pacientes con enfermedades como la anemia falciforme o las talasemias. La activación de un gen de  $\beta$ -globina completamente funcional es mucho más difícil, razón por la cual este enfoque algo inusual (Velasco Carballo, 2021).

La tecnología de edición de genes relacionada con CRISPR es actualmente una de las herramientas biológicas más populares. Desde 2013, se ha registrado un crecimiento explosivo en el estudio de la tecnología CRISPR, con decenas de miles de artículos relacionados con CRISPR publicados. En octubre de 2020, el Premio Nobel de Química fue otorgado a la microbióloga francesa Emmanuelle Charpentier y a la bióloga estadounidense Jennifer Doudna por "desarrollar un nuevo enfoque para la edición del genoma". El método había sido estudiado por los científicos durante casi tres décadas antes de que recibiera una amplia atención (T. Li et al., 2023).

Existen diversos sistemas CRISPR que en la actualidad se encuentran clasificados en 2 clases, 5 tipos y 16 subtipos, siguiendo un criterio basado en la arquitectura de sus componentes y sus mecanismos de acción. En primer lugar, según quien lleve a cabo la escisión de los ácidos nucleicos invasores, se distinguen sistemas CRISPR de clase 1 y clase 2. De esta forma, bajo la denominación de clase 1 se encuentran todos aquellos sistemas que requieren de un gran complejo de proteínas efectoras guiado por ARN para llevar a cabo la escisión del ADN o ARN foráneo. Por el contrario, los sistemas CRISPR recogidos dentro de la clase 2, precisan de una única proteína endonucleasa efectora, que guiada por ARN lleve a cabo la neutralización del genoma invasivo, como es el caso de Cas9 y Cpf1. Dentro de estas dos clases, se agrupan los distintos tipos de sistemas CRISPR: Clase 1: tipos I, III y IV Clase 2: tipos II, V y VI Los distintos subtipos hacen referencia a distintos mecanismos de generación o biogénesis de los crRNAs. En general, el funcionamiento del sistema CRISPR para la consecución de la inmunidad adquirida se puede dividir en tres etapas bien diferenciadas: etapa de adquisición, etapa de expresión y etapa de interferencia. Cada uno de los diferentes tipos de sistema CRISPR presenta peculiaridades propias de su biología, sin embargo, este trabajo se centrará en analizar el modus operandi del sistema CRISPR Cas9, de tipo II. La etapa de adquisición tiene como objetivo la captación e incorporación de fragmentos de DNA foráneo (ya sea ADN o ARN, plasmídico o vírico, y a los que nos referiremos

con el nombre de protoespaciadores cuando todavía se encuentran formando parte del genoma del ente invasor) al locus CRISPR de la célula hospedadora. Dentro de CRISPR, estos protoespaciadores serán insertados (pasando a denominarse espaciadores) entre las secuencias repetidas y en posición 5´ respecto a la secuencia espaciadora y siempre tras la secuencia líder. En el caso del sistema CRISPR-Cas tipo II, esta fase corre a cargo de las proteínas Cas1 y Cas2, que son las encargadas de escindir el protoespaciador del resto del material genético foráneo e incluirlo dentro del locus CRISPR. A continuación, en la etapa de expresión, CRISPR se transcribe dando lugar a un largo transcrito primario denominado pre-crRNA, que contiene al locus tracrRNA y a todos los espaciadores adquiridos en la etapa anterior separados por secuencias repetidoras. Este pre-crRNA es procesado mediante la endonucleasa RNAasa III, dando lugar a secuencias de ARN constituidas por una única región espaciadora flanqueada por una corta secuencia repetitiva, que servirá como zona de anclaje de Cas9 en la etapa posterior. Estas secuencias son los denominados crRNAs. La etapa de interferencia tiene lugar cuando el genoma de un organismo foráneo reincidente intenta de nuevo infectar la célula. En este estadio, el crRNA maduro se une mediante complementariedad de bases Watson-Crick a la secuencia activadora tracrRNA, formando un híbrido de RNA (tracrRNA:crRNA), necesario para dirigir a la endonucleasa Cas9 hacia la secuencia diana del material genómico invasivo que debe degradar. Mediante el apareamiento de bases del crRNA con la secuencia diana del ente infectivo (formando el complejo cuaternario tracrRNA:crRNA:DNA), Cas9 logrará la neutralización del agente invasivo mediante la generación de una DSB en la secuencia diana del mismo (Piñón, 2017).

**TALENs:** Esta herramienta de edición genética se ha vuelto muy popular en el campo de las plantas debido a su gran precisión y eficacia en la modificación del genoma (Kaya et al., 2020). Su reconocimiento se debe a su capacidad de reconocer y unirse a secuencias específicas de ADN con un alto grado de especificidad y sensibilidad, convirtiéndola en una técnica sumamente importante en el ámbito de la biología sintética y terapéutica (Bhardwaj y Nain, 2021). Al unirse a estas secuencias específicas, las TALENs facilitan la realización de modificaciones genéticas selectivas, permitiendo a los investigadores y científicos realizar cambios precisos en el material genético de organismos vivos (Perez-Quintero & Szurek, 2019).

**ZFNs:** Esta herramienta de edición de genes también ha demostrado ser muy eficaz, ya que es capaz de inducir roturas selectivas en la doble cadena de ADN, lo

que a su vez facilita la eliminación o corrección de genes específicos (Sankar et al., 2020). Debido a su alta especificidad y eficiencia, las ZFNs han sido ampliamente aplicadas en diversos campos, como la agricultura, la medicina y la biotecnología, brindando a los investigadores y científicos la capacidad de realizar modificaciones genéticas dirigidas con gran precisión (Bellm et al., 2019).

Además de su uso en plantas y en la terapia génica, las TALENs y las ZFNs también han demostrado ser herramientas valiosas en la investigación básica, permitiendo a los científicos explorar y comprender mejor los mecanismos subyacentes a la expresión y regulación génica. Estas técnicas de edición genética han abierto nuevas posibilidades en el campo de la biología sintética, donde los investigadores buscan diseñar y construir organismos con funciones y características deseadas. Asimismo, el desarrollo y la aplicación de estas herramientas de edición genética han planteado importantes cuestiones éticas y de seguridad que deben ser abordadas de manera cuidadosa y responsable. La comunidad científica y las autoridades regulatorias trabajan en conjunto para establecer pautas y protocolos que permitan el uso de estas tecnologías de manera segura y ética, con el fin de maximizar sus beneficios y minimizar los riesgos potenciales. (Bellm et al., 2019).

**Edición de bases:** La mayoría de los rasgos agronómicos de interés y las propiedades de las proteínas vienen determinados por cambios de un solo nucleótido (Single Nucleotide Polymorphisms), cambios que resultan difícilmente alcanzables por los métodos de edición genética basados en ZFN, TALEN o CRISPR/Cas. Es por lo que surge un nuevo sistema, denominado, Base-editing, que busca cambios más precisos, a nivel de nucleótido, en la secuencia de ADN. La técnica de Base-editing se presenta como una nueva herramienta que, basada en el sistema CRISPR/Cas, persigue la producción de conversiones de nucleótidos de forma dirigida y sin generar una DSB (rotura de doble hebra) en el DNA. Para lograr este tipo de cambios se emplea una proteína Cas que carezca de actividad endonucleasa (dCas9 o dCas12) o que solo posea actividad nickasa (nCas9) ya que, en Base editing, la función de la Cas es dirigir el complejo de edición a la secuencia diana, no producir una DSB. Sin embargo, sí algunos autores muestran un aumento de la eficacia del cambio de base al emplear nCas9 en vez de dCas9 debido a que, al romper la cadena no editada, se sesga la reparación celular hacia la base editada. El complejo de edición se compone, además de la dCas o nCas, de un RNA guía cuyo diseño depende del tipo de Cas que se emplee y de una enzima que, fusionada con la nucleasa Cas, transforma

químicamente una base en otra al modificar su estructura química. En ocasiones se pueden incorporar elementos adicionales que inhiban procesos de reparación del cambio que queremos producir, este es el caso del inhibidor de la uracil DNA glicosilasa (Vega Sierra, 2024).

Es una técnica que sustituye de una única base de ADN sin requerir roturas de doble cadena ADN o de una plantilla de reparación (X. Xu y Liu, 2021; Zong y Gao, 2019). Se la obtiene por medio del uso de editores de bases de citosina y editores de adenina, reemplazando de C a T (G a A) o de A a G (T a C), respectivamente (Zong y Gao, 2019). Se ha aplicado a varias especies con éxito y presenta aplicaciones potenciales en terapia génica y mejora genética de cultivos (Zong y Gao, 2019). Sin embargo, presenta desafíos y restricciones como los efectos fuera del objetivo y la necesidad de más estudios y desarrollo (Jiang y Yang, 2023; Jianga y Yanga, 2023)

Los sistemas de Base-editing pueden dirigirse a ADN o a RNA, aunque el presente trabajo solo se centra en los de ADN. Los sistemas de Base-editing para ADN se dividen en tres grandes grupos: editores de citosina (Cytosine Base Editor), editores de adenina (Adenine Base Editor) y editores C-G a G-C (C-G to G-C Base Editors). Las primeras herramientas de Base-editing diseñadas fueron las CBEs que consisten en una citosina deaminasa de rata (rAPOBEC1) fusionada a una dCas9 y asociada al RNA guía. El complejo se une al DNA diana en el bucle R donde encuentra una ventana de edición en la que genera la desaminación de la C, que pasa a U. Posteriormente el sistema de reparación del ADN lee el U como T y produce el cambio de bases C-G>T-A. Una segunda generación de CBEs, fusiona al N-terminal de la dCas9 una UGI que evita que las uracil N-glicosilasas (UNGs) endógenas reviertan el cambio producido por el editor aumentando la frecuencia del cambio. Tras esto, han ido surgiendo nuevas generaciones que incorporan nuevas mejoras de editores y nucleasas. La tercera generación emplea nCas9 en vez de la dCas9 anterior, aumentando la eficiencia de la edición y disminuyendo los de off-targets. Finalmente, la cuarta generación emplea dos proteínas UGI en el N-terminal de la nCas9 y una proteína de unión al ADN del bacteriófago Mu (GAM) unida al C-terminal del editor (Vega Sierra, 2024).

### **2.2.2 Ingeniería genética en la industria cervecera**

Se ha discutido a lo largo del texto que la elección de la cepa de levadura y sus características fenotípicas asociadas en el proceso de fermentación de la cerveza es fundamental para la producción de cerveza, ya que pequeñas diferencias

genéticas, con sus correspondientes diferencias fenotípicas, darán lugar a diferentes tipos de cerveza. Un ejemplo de ello son las cervezas alemanas "weizen", las levaduras ale utilizadas para producir estas cervezas difieren de otras en los genes PAD1 y FDC1, al inducir un polimorfismo de un solo nucleótido en estos genes, la variación resultante de su actividad enzimática permite la descarboxilación del ácido ferúlico. En consecuencia, estas cepas dan un aroma similar al clavo y, por lo tanto, solo se utilizan para la producción de vino o de esta peculiar cerveza alemana. Las diferencias genéticas entre cepas pueden afectar a unos pocos genes, como en el caso anterior, o pueden ser mayores y dar lugar a especies diferentes. Esto ha sido muy importante en el desarrollo de los procesos de producción de cerveza ya que, aunque *Saccharomyces cerevisiae* (ale) era originalmente la levadura utilizada, hoy en día las levaduras tipo lager son ampliamente utilizadas. Como ya se mencionó, este grupo incluye a *Saccharomyces pastorianus*, que nació como un híbrido natural de *Saccharomyces cerevisiae* y *Saccharomyces eubayanus*. Este hecho biológico ha dado lugar a que estos dos tipos de levaduras (ale y lager) produzcan cervezas con características organolépticas diferentes y que presenten un comportamiento diferente con respecto a ciertos factores como, por ejemplo, la temperatura de fermentación (Iattici et al., 2019).

En la actualidad y debido a este uso frecuente de levaduras lager, se han realizado algunos esfuerzos de investigación para producir nuevos híbridos específicos cuya descendencia presente ciertas características fenotípicas. En un estudio relacionado, se produjeron nuevas cepas de *S. pastorianus* por fusión de esporas. Así, tras secuenciar el genoma de diferentes cepas de levadura *S. pastorianus*, se comprobó que todas las levaduras lager se agrupaban genotípicamente en dos tipos: "Saaz" y "Frohberg", lo que explicaba la limitada diversidad de perfiles organolépticos de las cervezas lager en comparación con las cervezas ale o el vino. Sobre estas bases, en dicho estudio se cruzaron diferentes cepas de *S. cerevisiae* y *S. eubayanus* con el objetivo de obtener nuevas cepas de los tipos "Saaz" y "Frohberg" que no solo fueran genotípicamente diferentes, sino que también exhibieran características fenotípicas diferentes. Como resultado, se obtuvieron híbridos totalmente nuevos que demostraron, a escala de laboratorio y piloto, la capacidad de crecer adecuadamente, de llevar a cabo la fermentación y, sobre todo, de producir nuevos aromas y sabores. Se podría concluir que estos

nuevos híbridos podrían utilizarse a escala industrial para elaborar nuevas cervezas lager (Jerónimo, 2023).

## **I. Historia y evolución de la aplicación de la ingeniería genética en la producción de cerveza.**

La biotecnología tiene su historia. Comenzó hace miles de años y los avances en la genética dieron lugar a la biotecnología moderna. Hoy es parte de la vida cotidiana. Aunque su nombre apareció públicamente hace pocos años, la biotecnología no es nueva. De hecho, ya se practicaba hace miles de años. Actualmente, de la mano de la ingeniería genética, los productos biotecnológicos abren un abanico de posibilidades en la agricultura, la alimentación, el medioambiente, la industria y la salud. Según los expertos, la biotecnología llegó para quedarse. es biotecnología la fabricación de cerveza a partir de la fermentación de cereales, un producto que se elabora hace 4.000 años. El Convenio sobre la diversidad biológica (CDB), que nació en 1992 en la Conferencia de las Naciones Unidas sobre Medio Ambiente y Desarrollo, define la biotecnología como "toda aplicación tecnológica que utilice sistemas biológicos y organismos vivos o sus derivados para la creación o modificación de productos o procesos para usos específicos (Lopez Pineda, 2019).

Como hemos comentado ya, la manipulación genética (o modificación del genoma) de los seres vivos está en la misma base de la biotecnología y del desarrollo de la humanidad a partir del Neolítico. Al seleccionar organismos con ciertos caracteres en realidad se están seleccionando determinados genes que se transmiten a la descendencia, y que son los causantes de dichos caracteres. Sin embargo, esta forma tradicional de manipular el genoma mediante cruce y selección, además de lenta (pues hay que esperar el tiempo de generación de la especie que se trate para ver el resultado de la selección) es poco precisa, ya que frecuentemente no se selecciona un solo rasgo sino un conjunto de ellos, pues son grupos de genes o incluso genomas completos lo que se transfiere de unas generaciones a otras. Ello significa que junto con una característica deseable se puede heredar otra que lo sea menos, por lo que puede ser necesario repetir el proceso muchas veces para poder ir seleccionando solo el rasgo, o combinación de rasgos, que se desea. Sin embargo, desde las últimas décadas del pasado siglo, la moderna biotecnología ha puesto a disposición de los investigadores herramientas que permiten una manipulación



genética mucho más fina y precisa. En concreto, durante los años 70 se desarrollaron herramientas que permitían en principio cortar y pegar fragmentos de ADN, y transferirlos de unos organismos a otros. La llamada “tecnología del ADN recombinante” o “ingeniería genética” permitió en aquellos momentos hitos tan revolucionarios como la capacidad de producir insulina humana a partir de cultivos de bacterias, gracias a la posibilidad que ofrecieron estas tecnologías de aislar el fragmento de ADN (el gen) que codifica para la insulina a partir de células humanas e introducirlo en bacterias, que al crecer en cultivo producen esta hormona, esencial para el tratamiento de la diabetes. A partir de estas primeras herramientas desarrolladas con bacterias, estas tecnologías se fueron desarrollando y adaptando para permitir el mismo tipo de manipulación en células más complejas, como las levaduras y las que forman los tejidos de animales y plantas. Finalmente, se pusieron a punto estrategias que permiten manipular genéticamente organismos pluricelulares complejos, tanto plantas como animales, si bien los retos tecnológicos han sido formidables y no todas las especies son igualmente fáciles de modificar a este nivel. Las posibilidades que ofrece la manipulación genética son enormes. Por un lado, es posible insertar fragmentos de ADN (o sea, genes) de origen externo, como se ha mencionado con anterioridad al hablar de la insulina producida a partir de la inserción del gen humano en bacterias. Esto es lo que comúnmente se denomina como “transgénesis” u obtención de “organismos transgénicos”, que son aquellos en los que se ha producido este tipo de modificación. La inserción de un gen ajeno a la especie huésped hará que el nuevo organismo produzca la proteína codificada por este gen, que estamos interesados en conseguir. Por otro lado, se puede manipular el propio genoma de la célula, sin que ello conlleve la introducción de material genético externo. En este tipo de abordajes se modifica la secuencia de nucleótidos de genes concretos (o sea, se introduce una mutación), alterando con ello la secuencia de las proteínas que codifican y, por tanto, su funcionalidad. Igualmente, la modificación introducida también puede perseguir la inactivación de la “expresión” de dicho gen, es decir, evitar que se produzca la proteína correspondiente, o bien incrementar su expresión, haciendo que aumente la cantidad de la proteína codificada presente en las células modificadas. En la actualidad se suele usar el término “edición génica” para referirse a las nuevas tecnologías que permiten realizar este tipo de manipulaciones genéticas con gran precisión. La palabra “edición” hace referencia al hecho de que modificar una secuencia de ADN es de alguna forma un proceso análogo al de editar un texto,

eliminando o añadiendo letras y palabras para componer un texto distinto. Si bien la edición génica en sentido amplio lleva siendo posible desde hace décadas, ha sido en los últimos años cuando se han realizado avances revolucionarios en este campo, con el desarrollo de las tecnologías basadas en el sistema CRISPR/Cas2, que facilita de manera extraordinaria esta tarea. Existe una gran variedad de formas de utilizar el sistema CRISPR/Cas para manipular el genoma, y constantemente aparecen nuevas variaciones de esta tecnología, que ofrecen cada vez mayor precisión y flexibilidad. Conviene aclarar que existen otras tecnologías de edición génica, siendo la tecnología CRISPR tan solo la última que se ha unido al catálogo de herramientas disponibles. La diferencia radical estriba en su relativa sencillez, eficacia y su bajo coste, que hace posible que laboratorios con relativamente poca experiencia en este campo adquieran fácilmente la capacidad de aplicar estos abordajes en su campo de estudio, con la posibilidad de usarlo en todo tipo de células y organismos. De alguna forma ha supuesto una especie de “democratización” en el ámbito de la edición génica, y sus implicaciones a futuro son inabarcables (Peláez y Hernáiz Gómez-Dégano, 2022).

El empleo de la ingeniería genética en la producción de cerveza es reciente, enfocándose en la mejora de la elaboración y calidad de la cerveza. A pesar de que las técnicas tradicionales de elaboración de cerveza, como la fermentación, se han usado durante milenios (Dias et al., 2019), también se ha orientado a no transgénicos como la bioprospección, la hibridación y la evolución adaptativa en laboratorio (Gibson et al., 2020).

Igualmente se ha incluido el uso de cepas de levadura silvestre para aumentar la diversidad genética y desarrollar nuevos productos de fermentación (Molinet y Cubillos, 2020). Recientes investigaciones han profundizado la comprensión de las características genéticas de las levaduras cerveceras, principalmente, las levaduras ale y lager (Kato y Takahashi, 2023). El desarrollo de nuevos y variados estilos de cerveza potencian en la mejora de la calidad general de la cerveza en la industria cervecera.

## **II. Métodos y técnicas de ingeniería genética utilizados en la industria cervecera.**

Los métodos y técnicas de ingeniería genética cada vez son más utilizados en la industria cervecera para corregir los procesos de fermentación que participan las levaduras y otros microorganismos. Al mismo tiempo, mejorar las características del

lúpulo y la cebada. A continuación, se detallará algunos métodos y técnicas más utilizados:

**Tecnología CRISPR-Cas9:** es una revolucionaria herramienta en edición de genes, la cual ha cambiado a la investigación biológica englobando un gran potencial para la terapia génica. Se enfoca en la edición del ADN y la modulación de la expresión génica en células y organismos eucariotas (Williams y Warman, 2017). Aunque presenta limitaciones, como la entrega eficiente y la seguridad, se considera una herramienta rentable y fácil de manejar para la edición de genes (Karimian et al., 2019). La endonucleasa Cas9 proviene de organismos procariotas, la cual desempeña un papel importante en la defensa inmunológica y la ingeniería genética (Galluzzi, 2020). Los esfuerzos para minimizar los efectos fuera del objetivo y mejorar la precisión han incrementado sus estudios en la investigación biológica y la medicina, a su vez, el desarrollo de líneas celulares, modelos animales y una posible terapia génica (Wang, 2014).

**Enfoques de biología sintética:** es un campo en la interacción de la biología y la tecnología comprendiendo la creación de sistemas vivos artificiales por medio del rediseño de sistemas existentes o la generación de sistemas cuasi biológicos (Macovei, 2020). Es una herramienta valiosa para explorar fármacos ayudando así a la industria farmacéutica en la creación de nuevos productos innovadores (Brooking, 2020). Este campo aumenta el deseo de desarrollar nuevos tipos de biología para varias aplicaciones, incrementando la interpretación de los procesos naturales y adquirir conocimientos sobre el origen de la vida. Comprende enfoques descendentes y ascendentes priorizando la creación de comunidades y la colaboración (Ces y Elani, 2019).

**Ingeniería metabólica:** esta tecnología interviene en la manipulación del metabolismo microbiano optimizando la producción de moléculas económicamente valiosas. Se lo desarrolla mediante una combinación de modelado fundamentado en restricciones y aprendizaje automático analizando y mejorando los parámetros de fermentación (Khaleghi et al., 2021). La eliminación de productos de fermentación indeseables es un método para mejorar el rendimiento de los biocombustibles deseados (Roy et al., 2020). Por otro lado, los pasos de diseño, construcción, prueba y aprendizaje son esenciales para el logro de una campaña de ingeniería metabólica que intervienen aplicaciones como la síntesis química y de combustible, el uso de sustratos y la robustez del huésped (Volk et al., 2023). Por consiguiente, la aplicación

de la ingeniería metabólica ayuda a mejorar la eficiencia de la biofabricación del ácido acético (Gao et al., 2020).

**Manipulación del genoma y la evolución dirigida:** es una técnica que ha generado impacto en la industria cervecera, principalmente en el desarrollo de nuevas cepas de levadura para la producción de cerveza. Éstas ayudan a optimizar el rendimiento de las especies de *Saccharomyces* en ambientes industriales, dando lugar a nuevas cepas de alta productividad (Giannakou et al., 2020). Por ejemplo, la aplicación de la ingeniería moderna en levaduras cerveceras lager han contribuido a mejorar sus complejas arquitecturas genómicas expandiendo nuevas oportunidades para la mejora industrial de cepas (Gorter de Vries et al., 2019). En otras palabras, es una tecnología valiosa en la mejora de cepas microbianas industriales, alcanzando la aceleración de la evolución dirigida y la mejora de fenotipos deseables (L. Chen et al., 2020). Asimismo, la creación de nuevas levaduras para la elaboración de cerveza artesanal aporta a la combinación de la biodiversidad natural y la biotecnología, especialmente en el desarrollo de nuevos cultivos iniciadores ajustados a estilos de cerveza específicos (Iattici et al., 2019).

### **III. Impacto de la ingeniería genética en la mejora de levaduras y lúpulos para la producción cervecera.**

La ingeniería genética ha generado una importancia en la mejora de las levaduras y el lúpulo para la producción de cerveza. Iattici et al., (2019) y Nasuti y Solieri, (2024) señalan el potencial de la ingeniería genética en la mejora del sabor biológico de la levadura colaborando en la diversificación del aroma de la cerveza y fomentando la sostenibilidad ambiental. En cambio, Iattici et al., (2019) estudia el manejo de enfoques libres de ingeniería genética incrementando el fondo genético y la biodiversidad de las levaduras cerveceras, resultando al desarrollo de nuevos cultivos iniciadores. Gorter de Vries et al., (2019) destaca el papel de la genética moderna en el descubrimiento de complejas arquitecturas genómicas de las levaduras cerveceras lager, otorgando conocimientos sobre su aparición y domesticación. Estas investigaciones proporcionan un efecto en las industrias cerveceras mejorando la calidad y diversidad de los productos cerveceros.

#### **2.2.3 Microorganismos genéticamente modificados**

##### **I. Modificación genética de levaduras y otros microorganismos para optimizar la fermentación y mejorar las características de la cerveza.**

Existen diversos métodos de modificación de genética que ayudan a potenciar la fermentación y mejorar las características de la cerveza. A su vez, han aportado en la mejora de rasgos deseables de las levaduras cerveceras como por ejemplo, la optimización de la maltotriosa, la disminución de sabores extraños en la producción y el crecimiento del rendimiento alcohólico (Willaert, 2020).

En unas las investigaciones de Gibson et al., (2020), resalta el empleo de no transgénicos como la bioprespección, la hibridación y la evolución adaptativa de laboratorio en la optimización eficiente de la elaboración de la cerveza. Asimismo, Cerda y Bond, (2019) enfatiza la aplicación de la evolución acelerada para fortalecer los perfiles de sabor en cepas de levadura lager.

En cambio, (Ахметжанова et al., 2023) crea cepas versátiles de levadura cervecera aplicando genética clásica. Por otro lado, Karabín et al., (2018) resalta la importancia de la modificación genética dirigida en la optimización de la calidad de la cerveza y la economía de la producción.

Por el contrario, el empleo de cepas de levaduras silvestres ha aportado en la mejora del proceso de fermentación y características de la cerveza. Estas tienen la capacidad de usar sustratos específicos o en perfiles de sabor único que benefician en la producción de la cerveza (Molinet y Cubillos, 2020). Por ello, los cerveceros al introducir cepas selectivas de levadura silvestre en la elaboración de cerveza pueden afinar la fermentación y fortalecer la calidad y características generales del producto final.

## **II. Beneficios y posibles preocupaciones éticas relacionados con los microorganismos genéticamente modificados en la industria cervecera.**

Los microorganismos genéticamente modificados tienen utilidad en la industria cervecera, una de ellas es aportar al valor nutricional del grano usado por los cerveceros y el aumento del rendimiento de la producción de enzimas alimentarias (Bianco et al., 2020; Deckers et al., 2020). También contribuyen en la eficacia de la fermentación y de los perfiles de sabor (Sadat et al., 2019), además, se pueden diseñar cepas de levaduras con rasgos deseables permitiendo mayor homogeneidad y calidad en la producción de cerveza (D. Li et al., 2020). A pesar de ello, el manejo de estos microorganismos genera problemas éticos y de seguridad. Por ejemplo, un problema de seguridad es la presencia de micotoxinas en los granos usados por los cerveceros y la necesidad de controlar las cepas de microorganismos genéticamente

modificados en la preparación de enzimas alimentarias (Bianco et al., 2020; Deckers et al., 2020).

Otro de los problemas en la elaboración de la cerveza, es la degradación de la calidad del producto final debido a la contaminación, provocando alteración del microbiota (Rodhouse y Carbonero, 2019). El empleo de bacterias lácticas modificadas genéticamente en la elaboración de la cerveza es otra preocupación debido a la diseminación en el ambiente y la propagación de marcadores resistentes a los antibióticos (Plavec y Berlec, 2020). Por tal razón, la aplicación de microorganismos genéticamente modificados en la industria cervecera requiere una cuidadosa consideración en las preocupaciones éticas y de seguridad.

## **2.2.4 Edición de genes en la industria cervecera**

### **I. Desarrollo y avances en las técnicas de edición de genes aplicados a microorganismos cerveceros.**

Inmovilización de levaduras: ésta se enfoca en confinar físicamente células intactas de un espacio determinado, aportando abundantes beneficios, tales como altas densidades celulares, mayor rendimiento del producto y menor riesgo de contaminación (Moreno-García et al., 2018). Uno de los métodos de inmovilización, es la biocápsula de levadura, la cual, las células de *Saccharomyces cerevisiae* se adhieren a las hifas de *Penicillium chrysogenum* contribuyendo a una fijación segura para la levadura en la fermentación (Ogawa et al., 2019). Por consiguiente, el subproducto, es rico en nutrientes y se lo puede reutilizar en varias aplicaciones como usos alimentarios y no alimentarios (Jaeger et al., 2020). La importancia de la selección de las cepas de levadura en el proceso de elaboración de cerveza ayuda a las propiedades únicas del producto final (Iorizzo et al., 2021).

**Edición génica con oligonucleótidos dirigidos:** esta tecnología se ha usado con éxito en el hongo filamentoso industrial *Aspergillus oryzae*, comúnmente utilizado en la elaboración de cerveza japonesa mejorando sus características cerveceras (Maruyama, 2021). A su vez, la edición selectiva del genoma se ha empleado para introducir múltiples mutaciones en la levadura del sake, dando como resultado, cepas con mejores características de elaboración (Chadani et al., 2021). La incorporación de nuevas tecnologías ha mejorado significativamente la productividad y precisión de la edición de genes en la industria cervecera, con aplicaciones potenciales en otras

áreas biotecnológicas (Saha et al., 2019).

**Aplicación de las ciencias ómicas:** Las ciencias ómicas que interviene la genómica, proteómica y la metabolómica, se están aplicando en la industria cervecera para entender el rol de las comunidades microbianas en la fermentación y el impacto en las propiedades del producto (Rizo et al., 2020). A su vez, es acompañada de tecnologías de fabricación inteligente e Internet de las cosas (IoT) contribuyendo al rendimiento operativo y la productividad en las fábricas de cerveza (Nimbalkar y Wenning, 2019). El empleo de esta tecnología ayuda a mejorar la producción, el control, la entrega y la calidad del producto final de las cervezas (Violino et al., 2020). Asimismo, las tecnologías de procesamiento emergentes, como los campos eléctricos pulsados, los ultrasonidos y el procesamiento a alta presión se manifiestan mejorando la calidad de la cerveza y contribuyendo a la eficiencia del procesamiento (Carvalho et al., 2023).

**Aplicación de bioinformática:** este campo juega un rol importante en la industria cervecera principalmente, en los ámbitos de la autenticación de productos, el uso de residuos y la selección de ingredientes. Las tecnologías del ADN son empleadas para enfrentar la falsificación y la contaminación de los productos (Lazareva et al., 2021), en tanto, los conocimientos de bioquímica constituyen en la producción de cerveza abarcando a las enzimas y la fermentación (Gerber Hornink, 2019).

Además, estudia el desarrollo de biorrefinerías en el grano utilizado por los cerveceros resaltando la importancia de transferir tecnología de la investigación a la industria (Evaristo et al., 2023). Así pues, se considera el empleo de recursos biológicos autóctonos como los ingredientes locales, para mejorando la calidad de la cerveza y minimizar el impacto ambiental (De Simone et al., 2021).

#### **I. Mejoras en la fermentación y producción de cerveza mediante la edición de genes**

**Modificación de cepas de levadura para mejorar la fermentación:** en un estudio Chadani et al., (2021) y Lee et al., (2021) demostraron el uso de CRISPR para mejorar las características de fermentación de *Saccharomyces cerevisiae*, en donde Lee mejora la calidad y el sabor de los alimentos fermentados y Chadani se enfocó en la generación de cepas de levaduras del sake con características de elaboración específicas. Sipiczki, (2019) argumentó el uso de la hibridación intergenérica e interespecies optimizando la osmotolerancia en cepas de levadura usadas en la

fermentación con alto contenido de azúcar. Por otro lado, Akhmetov et al., (2018) expuso un protocolo de edición genómica de precisión de un solo paso con la finalidad de modificar cualquier gen de levadura de importancia, la cual se emplearía para mejorar las características de fermentación. Estas investigaciones ayudan potencialmente en la edición de genes para mejorar las cepas de levadura en el proceso de fermentación.

**Levaduras resistentes a estrés y tolerantes al alcohol:** En una investigación por Gan et al., (2018), uso el conjunto de herramientas de edición múltiple asistida por TALENs para ayudar a mejorar la tolerancia al estrés de cepas industriales de *Saccharomyces cerevisiae* dirigiéndose al aumento de las capacidades de fermentación. Mientras que Zhang et al., (2019) uso una estrategia de evolución adaptativa de laboratorio con el fin de seleccionar una cepa de *S. cerevisiae* resistente al estrés con capacidad de producción de bioetanol.

Nakamura y Shima, (2018) investigó el uso de la modificación génica relacionada a la autoclonación permitiendo mejorar la tolerancia al estrés de la levadura, en cambio, Kocaefe-Özşen et al., (2022) empleo la ingeniería evolutiva para producir una cepa de *S. cerevisiae* que rechace al estrés oxidativo con una mayor producción de trehalosa y glucógeno.

**Levaduras con perfiles de sabor y aroma específicos:** es muy común el uso de tecnologías de edición génica para desarrollar cepas de levadura con perfiles de sabor y aroma específicos. Por ejemplo, Mertens et al., (2019) uso la herramienta CRISPR para minimizar los malos sabores fenólicos en levaduras de cerveza lager.

Por su parte, Chadani et al., (2021) incluyo mutaciones en levaduras de sake para optimizar las características de elaboración. También, Lee et al., (2021) y Vilela, (2021) enfatizaron el uso de CRISPR-Cas9 en la fermentación del vino y los alimentos para mejorar los compuestos de sabor y seguridad.

## **2.2.5 Innovaciones en la producción de cerveza mediante ingeniería genética**

### **I. Optimización de procesos de fermentación**

Varios estudios han analizado el uso de la ingeniería genética en la optimización de procesos de fermentación, así como Chuo et al., (2021) que empleo un algoritmo genético para incrementar la productividad de la levadura y reducir el subproducto etanol. En el caso de Wang et al., (2019), elaboro una cepa de *Bacillus*



sp. con el propósito de aumentar la producción de diacetilo. Moore et al., (2022) explico las estrategias prácticas para mantener la expresión génica en fermentaciones de fase dual, estabilizando el crecimiento y la síntesis de compuestos. Rugbjerg y Sommer, (2019) resaltó el interés de detectar y mitigar la heterogeneidad genética en las fermentaciones industriales ayudando a mejorar la calidad y el rendimiento del producto.

## **II. Producción de cervezas con propiedades funcionales**

Las cepas de levadura silvestre que presentan variables genéticas adecuadas son utilizadas en programas de cría para desarrollar cepas mejoradas genéticamente en el proceso de fermentación de la cerveza, generando nuevos perfiles aromáticos, mayor tolerancia al estrés y minimizar la producción de etanol (Molinet y Cubillos, 2020). Por otro lado, se han producido parámetros de fermentación estandarizados mediante cepas de levadura modificadas genéticamente como *S. cerevisiae* NCIM 3580 con el propósito de producir cerveza de alta calidad con un pH adecuado, bajos taninos y alto contenido de alcohol (Mesta et al., 2018).

En cambio, Reitenbach et al., (2021) elaboró con éxito una cerveza probiótica añadiendo *Saccharomyces boulardii*, un microorganismo probiótico a una cerveza estilo Pilsen. Al contrario, Denby et al., (2018) y Karabín et al., (2018), se enfocaron en el rendimiento de las levaduras cerveceras, en donde, Karabín explico los procesos tradicionales y la ingeniería metabólica racional, mientras que Denby, creo una levadura cervecera que biosintetice moléculas monoterpénicas aromáticas aportando un sabor a lúpulo a la cerveza.

La aplicación de estas técnicas de ingeniería genética muestra un potencial para mejorar cepas de levadura y las condiciones de fermentación para generar cervezas con propiedades funcionales mejoradas. Por lo que su estudio es de gran importancia

para seguir optimizando los métodos para la producción comercial de la cerveza y garantizar la seguridad y el cumplimiento de las normativas de los productos cerveceros obtenidos por ingeniería genética.

## **III. Reducción de subproductos no deseados y mejora de la eficiencia energética**

Diversos estudios han explorado varias estrategias para reducir los subproductos y mejorar la eficiencia energética, por ejemplo, Ifeanyi-Nze et al., (2024) utilizó membranas de acetato de celulosa provenientes del grano usado en industrias

cerveceras para el tratamiento de aguas residuales, con el fin de reducir la demanda bioquímica de oxígeno. Por el contrario, Pavlova et al., (2020) empleo la metodología de la ingeniería de transición a fin de desarrollar una estrategia de eficiencia energética para una empresa cervecera. Ortiz et al., (2019), resaltó la viabilidad de la recuperación de energía mediante residuos sólidos como la cascarilla de grano en el proceso de fabricación de cerveza, aportando a la economía circular. Por otro lado, Beaton et al., (2019) se enfocó en mejorar la capacidad de la levadura usando restos de granos a fin de producir etanol aplicando ingeniería genética para así mejorar el metabolismo del carbono y la eficiencia del proceso.

#### **IV. Impacto económico y comercial en la aplicación de tecnologías genómicas en la industria cervecera.**

La aplicación de herramientas genéticas en la industria cervecera ayuda a reducir costes y mejora la eficiencia, es decir, tiene beneficios económicos y comerciales. El empleo de datos genómicos contribuye en los procesos de elaboración de cerveza de manera personalizada y optimizándolos para crear nuevas variedades de cerveza y sabores ajustando a las preferencias de los consumidores. Por consiguiente, es necesario aplicar incentivos y reglamentos con el fin de optimizar la integración de las tecnologías genómicas en la cadena de producción de la industria cervecera (Laviolle et al., 2019).

La ingeniería genética, a su vez, aporta a la sostenibilidad en la industria cervecera al minimizar la dependencia de pesticidas y productos químicos en el cultivo de ingredientes como la cebada y el lúpulo. Se ha comprobado en investigaciones, que la biotecnología ha contribuido en reducir costos y en el impacto ambiental en ciertas empresas. Es por eso que la aplicación de tecnologías genéticas podría contribuir en la optimización de los procesos, reducción de costos e innovar en el sector cervecero (Soledispa et al., 2022).

##### **2.2.6 Sostenibilidad e impacto ambiental**

#### **I. Aplicación de la ingeniería genética para reducir el impacto ambiental en la industria cervecera.**

La expansión constante de la ingeniería genética, con su capacidad de manipular la materia viva en su construcción molecular más fundamental, está

generando importantes debates éticos y filosóficos. Sobre todo, preocupan sus aplicaciones prácticas debido a su peligro potencial. Las consecuencias a largo plazo para la humanidad son igualmente significativas, incluso mayores que la aplicación de técnicas genéticas a los seres humanos. Si la ética ha de tener alguna influencia en los procesos de toma de decisiones que tarde o temprano afectarán al ambiente, debe considerar, antes que nada, los efectos potenciales de la ingeniería genética. La ética ambiental proporciona un abanico de principios morales, que va desde el fundamentalismo recalcitrante hasta un amplio pluralismo moral, pero generalmente todas las propuestas carecen de recomendaciones prácticas viables. Además, el lenguaje que usa la mayoría de los autores en esta disciplina frecuentemente es obsoleto, incluso totalmente fuera de tono en términos de la biología moderna. Abundan varios mitos, como el de “la bondad de la naturaleza” o el de su “integridad”, que aun para sus propios autores resultan difíciles de definir, sobre todo de poner en contexto, tanto en lo académico como en sus aspectos prácticos (ANGIE-PAOLA, SANTACRUZ-SALAS, 2023).

Las industrias cerveceras para reducir su impacto ambiental desarrollan microorganismos genéticamente modificados que requieran menos agua, pesticidas y fertilizantes durante el cultivo. Dicho de otra manera, minimiza los residuos de pesticidas, la contaminación de las aguas subterráneas y la exposición de sustancias químicas nocivas hacia los trabajadores (Zerga, 2019). Es por ello, que algunos investigadores han realizado estudios para reducir el impacto ambiental en las industrias cerveceras, por ejemplo, Moreira et al., (2022) resalta la importancia de la sostenibilidad en las cervecerías artesanales, enfatizando el consumo local y su impacto en los recursos hídricos. Por otro lado, Marson et al., (2020) examina el potencial de levadura de cerveza como una fuente de molécula de alto valor para mejorar la sostenibilidad. Mientras que, Sovacool et al., (2021) presenta alternativas para la descarbonización en las industrias de alimentación y bebidas para posibles soluciones de ingeniería genética. Además, Beres et al., (2020) menciona que el sector agrícola requiere de sistemas de producción resistentes y transformadores que se alcanza aplicando ingeniería genética. En definitiva, la aplicación de ingeniería genética ayudaría a levaduras y granos a mejorar la eficiencia en la fermentación, reduciendo el uso de energía y recursos durante la elaboración de la cerveza (Zerga, 2019).

La ingeniería genética despierta muchas controversias debido a su amplio

potencial para transformar radicalmente el mundo en que vivimos. Tan solo sus incipientes aplicaciones en la agricultura están actual mente afectando varios aspectos de nuestra vida personal, a varios grupos sociales, así como a algunos individuos. A causa de sus implicaciones económicas, los cambios en las actitudes y prácticas de la gestión agrícola ligadas a la estructura y a la organización industrial no sólo seguirán, sino que se irán incrementando rápidamente con el transcurso del tiempo. Serán cambios excitantes y prometedores para unos, y amenazas incuestionables para otros (ANGIE-PAOLA, SANTACRUZ-SALAS, 2023).

## **II. Mejora del uso de recursos y reducción de residuos.**

Estudios recientes han explorado herramientas para contribuir en el uso de los recursos y minimizar los residuos en las fábricas de cerveza. Dicho con lo anterior, una investigación realizada por Elliott y Ball, (2021) subraya la capacidad de las tecnologías de recuperación de recursos como los biorreactores de membrana relacionando a residuos comerciales. En cuanto Moreira et al., (2022), se enfoca en estudios de casos y herramientas de sostenibilidad resaltando la importancia de la sostenibilidad en las cervecerías artesanales. Zhou et al., (2020) uso un sistema de depósito- reembolso para envases de bebidas contribuyendo a la reutilización y reciclaje con la finalidad de reducir los residuos. En cambio, Bijla et al., (2022) analizo los pozos de café que son subproductos en la elaboración de la cerveza como una alternativa sostenible para productos de alto valor. Sin embargo, el desarrollo de estas investigaciones para mejorar el uso de los recursos y reducir los residuos en las industrias cerveceras, requieren de asociaciones con universidades con el fin de crear nuevas fórmulas para así mantener la calidad del producto reduciendo el consumo de agua y malta durante la producción (Bonato, 2020).

### **2.2.7 Tendencias y avances recientes**

#### **I. Tendencia en la utilización de la ingeniería genética y la edición de genes en la producción de cerveza.**

Los avances actuales sobre ingeniería genética y edición de genes ha sido tendencia en los últimos años en las industrias cerveceras. La herramienta más utilizada es la tecnología CRISPR-Cas9 en la modificación de cepas de levadura empleadas en el proceso de fermentación de la cerveza (Ullah et al., 2020). Asimismo, hay un gran interés de esta tecnología para generar enzimas específicas para mejorar los procesos de elaboración de la cerveza. Un ejemplo de ello es la

descomposición de hidratos de carbono para mejorar el rendimiento de alcohol y a su vez, agilizar los tiempos de fermentación (Čechová y Andrlíková, 2021).

No obstante, persiste el interés de contaminación por micotoxinas en la producción de cerveza principalmente en los adjuntos de maíz (Buczynski et al., 2023). El criterio del público con respecto a la ingeniería genética es diverso ya que la aplicación de terapia génica en tratamiento de enfermedades es aceptada, pero para mejorar líneas germinales se oponen (Ramos et al., 2023). Por otro lado, hay que mencionar que el uso de ingredientes modificados genéticamente en la elaboración de la cerveza es un tema que sigue preocupando debido a la seguridad alimentaria potencial y los impactos ambientales (Van Eenennaam et al., 2019).

## **II. Revisión de casos y aplicaciones exitosas.**

Últimamente, ha sido un éxito la aplicación de ingeniería genética en la industria cervecera. Un ejemplo de ello es el empleo de hibridación intraespecífica en el desarrollo de levaduras genéticamente mejoradas en la fermentación del vino y la cerveza, presentando rasgos mejorados tales como, niveles bajos de compuestos azufrados, nuevos perfiles aromáticos, mayor tolerancia al estrés y baja producción de etanol (Molinet y Cubillos, 2020). También, se ha aplicado ingeniería transcripcional en *Saccharomyces cerevisiae*, microorganismo usado en la elaboración de la cerveza con la finalidad de mejorar la tolerancia y la producción de etanol (Qiu, 2017).

Por otro lado, se ha explorado la capacidad de la ingeniería ribosomal en la mejora de cepas, filtrado de nuevos metabolitos y la mejora del potencial de producción de las levaduras cerveceras (Qiu, 2017). Iattici et al., (2019) en su estudio de enfoques libres de ingeniería genética permite ampliar el fondo genético y la biodiversidad fenotípica de las levaduras cerveceras, generando nuevos cultivos iniciadores. Sirve de ejemplo la cepa de levadura *Brettanomyces*, el cual aporta sabores únicos y optimiza el proceso de producción (Serra Colomer et al., 2019).

A su vez, la aplicación de ingeniería metabólica ha contribuido en la optimización de la producción de compuestos deseables como, el incremento del suministro de malonil-CoA en *S. cerevisiae* (Qiu, 2017). Estas investigaciones resaltan el éxito de la aplicación de la ingeniería genética en la industria cervecera, principalmente en la generación de nuevas cepas de levaduras con el propósito de complacer la alta demanda de productos cerveceros diversificados.

## CAPÍTULO III: Diseño metodológico

### 3.1 Tipo y diseño de investigación

El tipo de investigación del presente estudio es de carácter descriptivo y retrospectivo. Es descriptivo porque se analizan y se describen las características, patrones y tendencias de las publicaciones científicas existentes relacionadas con temas específicos, como los avances de la ingeniería genética y la edición de genes aplicados a la industria cervecera. Es retrospectivo porque se examinan y evalúan documentos y publicaciones del pasado, sin la participación directa del fenómeno estudiado en el momento actual. El diseño de investigación empleado es de tipo bibliométrico descriptivo. Este enfoque implica recopilar y analizar datos bibliográficos de las publicaciones relacionadas con el tema de interés, a partir de reconocidas bases de datos como Web of Science, Scopus y PubMed. Posteriormente, se utilizan técnicas de análisis bibliométrico, con el apoyo de software especializado como Bibliometrix, para realizar un estudio cuantitativo y cualitativo de la literatura científica en este campo. La metodología bibliométrica permite obtener una visión global y detallada de la producción científica, las tendencias, las redes de colaboración, los autores más influyentes, las revistas más relevantes y otros indicadores clave que contribuyen a comprender el estado actual y la evolución de la investigación relacionada con la ingeniería genética y la edición de genes aplicados a la industria cervecera. Este enfoque sistemático y riguroso facilita la identificación de patrones, vacíos y oportunidades de investigación en este ámbito de estudio.

### 3.2 Los métodos y las técnicas

#### 3.2.1. Metodología

**Definición del Tema y Objetivos de la Investigación:** En este proyecto de investigación, se abordará el tema de los avances en ingeniería genética y edición de genes aplicados específicamente a la industria cervecera. Este campo ha experimentado un rápido desarrollo en los últimos años, con importantes implicaciones tanto a nivel científico como en el ámbito comercial y productivo.

**Selección de Bases de Datos:** Se eligieron bases de datos relevantes y confiables ya que son un paso crucial para garantizar el éxito de la investigación sobre ingeniería genética y biotecnología aplicada a la industria cervecera. Se consideró cuidadosamente las bases de datos que se utilizaron, ya que estas son la fuente

principal de información académica y científica para el proyecto. Algunas de las bases de datos utilizadas para este tipo de investigación son Web of Science, Scopus, PubMed y Google Scholar. Estas plataformas nos ofrecen acceso a una amplia gama de publicaciones revisadas por pares, que abarcan temas relacionados con la biología molecular, la ingeniería genética y las aplicaciones industriales de estas tecnologías. Además de asegurarnos de que las bases de datos seleccionadas cubran adecuadamente el área de interés, también evaluamos la calidad y la relevancia de los estudios y publicaciones que se encuentren en ellas. Esto lo logramos mediante la revisión de los factores de impacto de las revistas, el prestigio de las instituciones y los autores, y la actualidad y pertinencia de la información. El uso de múltiples bases nos proporcionó una visión más completa y equilibrada de la literatura existente, permitiendo identificar tendencias, vacíos de conocimiento y oportunidades de investigación más sólidas. Esto, a su vez, contribuyó a la formulación de hipótesis y objetivos de investigación más relevantes y fundamentados.

**Estrategia de Búsqueda Avanzada:** Definimos palabras clave y combinaciones de términos de búsqueda relevantes y específicos al tema de interés ya que es un paso fundamental en cualquier proceso de investigación. Para nuestro estudio sobre la ingeniería genética y sus aplicaciones en la industria cervecera, las palabras clave son: "ingeniería genética", "edición de genes", "CRISPR", "industria cervecera", "producción de cerveza" y "*Saccharomyces cerevisiae*".

**Extracción de Datos:** En esta fase, descargamos y recopilamos de manera sistemática toda la información bibliográfica relevante obtenida a partir de las búsquedas realizadas en las diferentes bases de datos y fuentes de información científica. Incluimos en esta extracción todos los metadatos clave de cada registro bibliográfico, como los títulos de los documentos, los resúmenes o abstracts, las palabras clave utilizadas, los nombres de los autores y sus afiliaciones institucionales, los títulos de las revistas o publicaciones, así como los años de publicación. Esto nos facilitó la síntesis y evaluación crítica de los hallazgos, así como la identificación de tendencias, vacíos de conocimiento y áreas de oportunidad para futuras investigaciones.

**Depuración de Datos:** En esta etapa realizamos la limpieza y organización de los datos, con el objetivo de garantizar su calidad, integridad y confiabilidad. En primer lugar, eliminamos los registros duplicados, que pueden generar distorsiones y redundancias en los datos. Esto lo logramos mediante la identificación y eliminación

de entradas que contienen la misma información, asegurando que cada observación sea única y representativa. Además, se eliminaron los registros irrelevantes o que no aporten valor al análisis. Al estandarizar estos datos, se evitamos problemas de ambigüedad y se garantizó la coherencia en la representación de los autores y sus filiaciones.

### **3.2.2. Técnicas de Análisis Bibliométrico**

**Análisis de Productividad Científica:** Se midió la cantidad de publicaciones científicas producidas por un autor, revista, institución o país en un específico tiempo.

**Conteo de Publicaciones:** Aquí visualizamos el número de artículos publicados por año para identificar tendencias temporales, así como la productividad de autores identificación de los autores más prolíficos en el área de estudio. También realizamos un análisis de revistas identificando las revistas que publican más artículos sobre el tema.

**Análisis de Redes de Coautoría:** Realizamos un Mapeo de Colaboraciones Utilizando software como VOSviewer o Gephi para visualizar redes de colaboración entre autores, instituciones y países, también realizamos un Análisis de Clusters identificando los grupos de investigación y colaboración.

#### **Análisis de Palabras Clave y Temáticas:**

**Frecuencia de Palabras Clave:** Identificamos las palabras clave más utilizadas.

**Mapeo de Términos:** Visualizar la co-ocurrencia de términos para identificar los temas de investigación más comunes y emergentes.

#### **Análisis de Co-Citación:**

**Redes de Co-Citación:** Identificamos grupos de artículos que son citados conjuntamente, lo que puede indicar la formación de subcampos de investigación.

#### **Herramientas de Software**

VOSviewer: Para la visualización y análisis de redes bibliométricas.

Gephi: Para el análisis y visualización de redes complejas.

BibExcel: Para la manipulación de datos bibliográficos.

HistCite: Para el análisis histórico de citas.

CiteSpace: Para la visualización de patrones y tendencias en la literatura científica.

#### **Ejemplo de Procedimiento**



**Búsqueda Inicial:** Buscamos en Scopus usando la combinación de términos: ("genetic engineering" AND "beer industry") OR ("gene editing" AND "brewery").

**Descarga y Depuración de Datos:** Exportamos los resultados en formato CSV o RIS. Utilizamos herramientas como EndNote o Mendeley para eliminar duplicados.

**Análisis y Visualización:** Importamos los datos a VOSviewer para crear mapas de coautoría y co-citación. Analizamos los patrones de citas con HistCite.

**Interpretación de Resultados:** Interpretamos los mapas y gráficos generados para extraer conclusiones sobre las tendencias y áreas de investigación más relevantes.

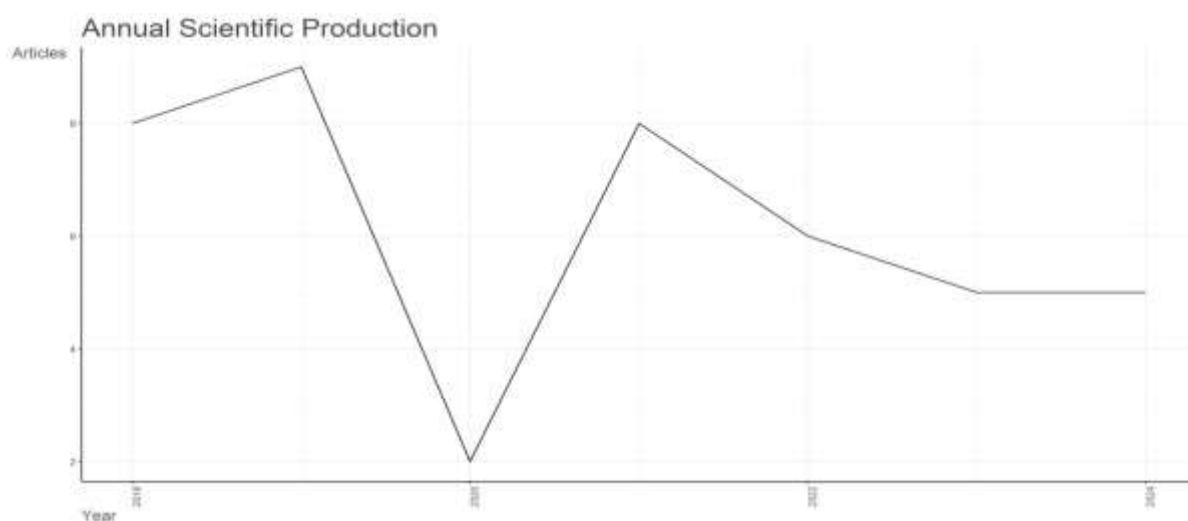
## CAPÍTULO IV: Análisis e interpretación de resultados

### 4.1 Análisis de los resultados

#### 4.1.1 Análisis de productividad científica

La figura 1 muestra un patrón característico en forma de V invertida, en donde al inicio la producción científica era baja en los años 2019-2020. Sin embargo, experimento un aumento en el 2021 alcanzando un pico máximo de publicaciones. No obstante, se produjo un descenso de artículos publicados en los años siguientes.

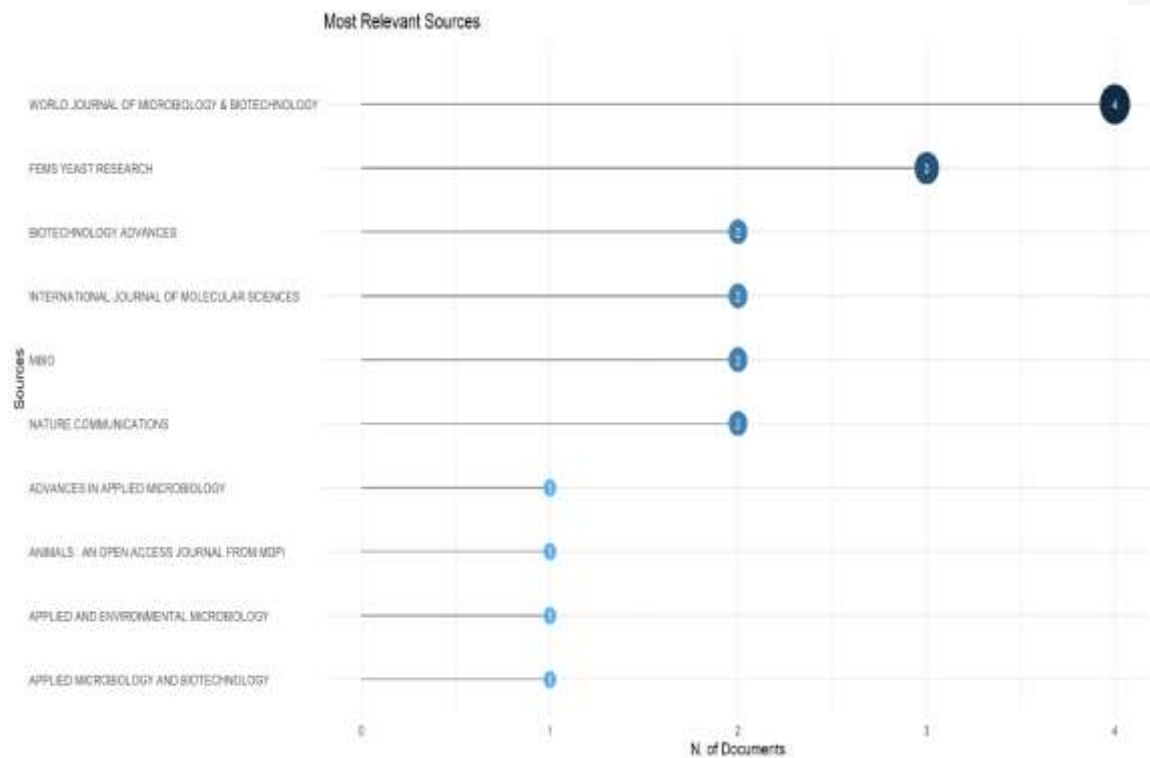
Figura 1 Producción científica anual en el campo de la ingeniería genética y la edición de genes aplicado a la industria cervecera.



Esto explica el gran interés que hubo en las investigaciones de aplicación de técnicas de ingeniería genética y edición de genes en la industria cervecera a principios del 2019, pero se ha ido reduciendo la actividad científica progresivamente.

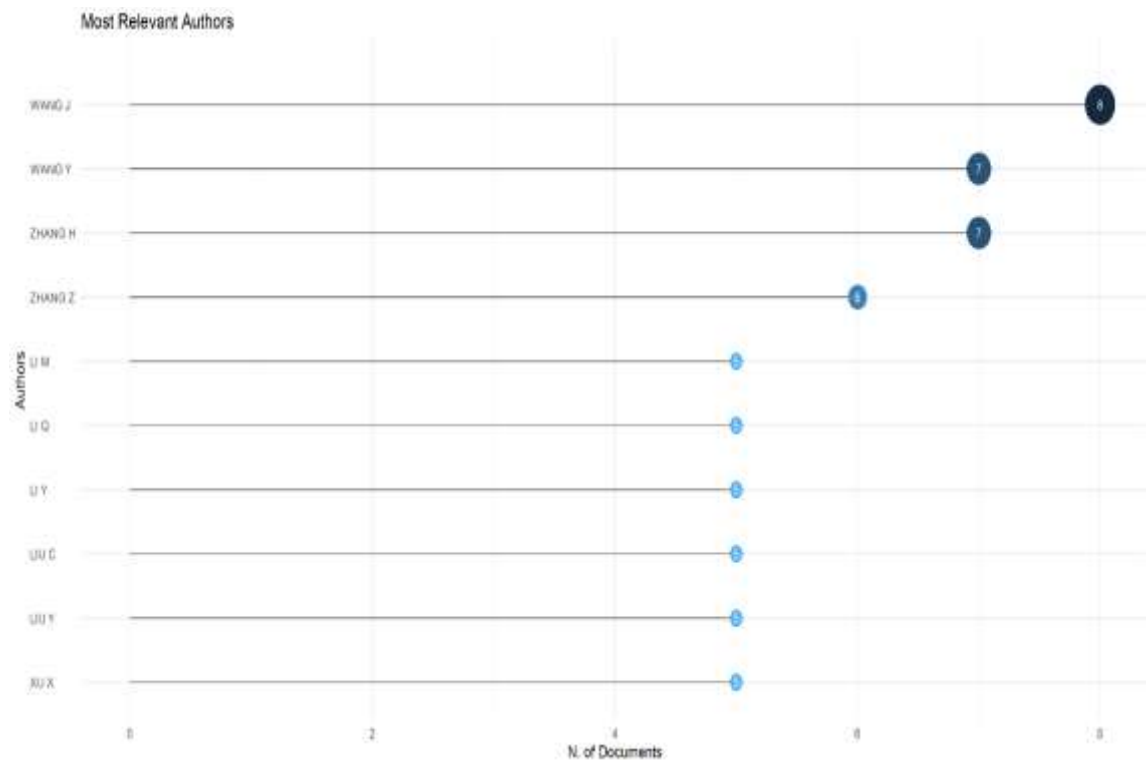
Por otro lado, podemos observar que en la figura 2 muestra el número de artículos publicados en las diferentes fuentes, en donde la barra más larga representa a la fuente que mayor artículo ha publicado sobre este tema específico. Se puede visualizar que la fuente World Journal of Microbiology y Biotechnology presenta 4 artículos publicados seguido de FEMS Yeast Research y Biotechnology Advances con tres y dos artículos publicados respectivamente. Otras fuentes relevantes que han publicado en este campo, pero en menor cantidad es MBIO, Nature Communications, Advances in Applied Microbiology, entre otras revistas enfocadas en microbiología, biotecnología y ciencias moleculares.

Figura 2 Fuente más relevantes de artículos científicos en el campo de la ingeniería genética y edición de genes aplicados a la industria cervecera.



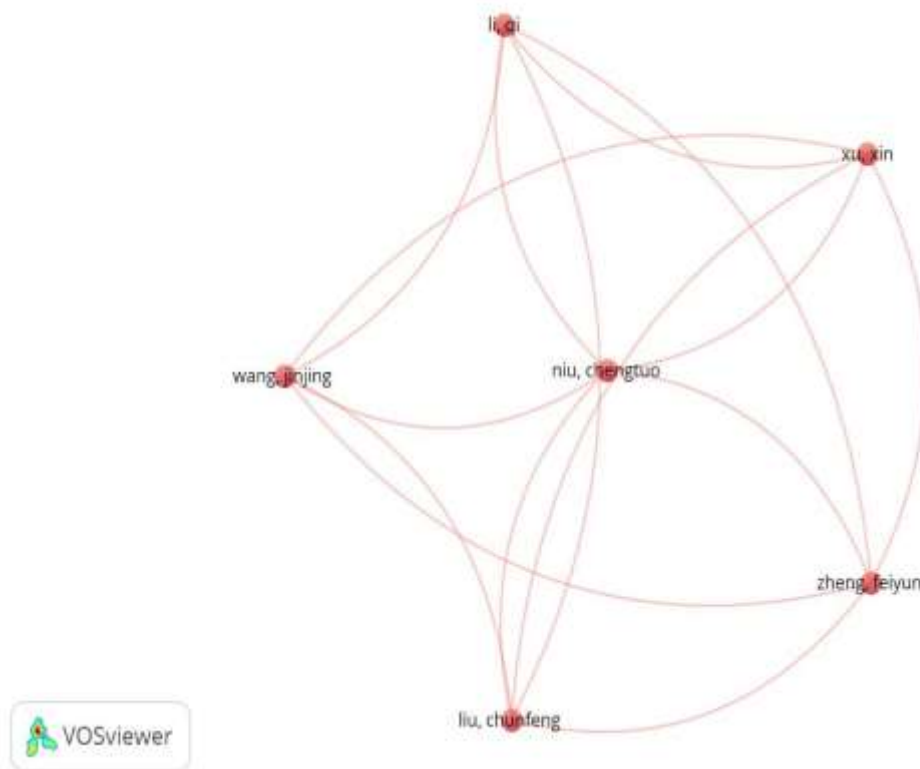
En cambio, en la figura 3 nos muestra los autores más relevantes en investigaciones de ingeniería genética y edición de genes en industrias cerveceras. El autor con mayores documentos publicados es Wang J con 8 artículos, seguido Zhang Z con 6 artículos. El resto de los autores con 5 artículos cada uno. Esta representación visual ayuda a detectar de manera rápida a los autores que mayor aportación han tenido en la ingeniería genética y edición de genes aplicado a la industria cervecera.

Figura 3 Autores destacados en investigaciones sobre ingeniería genética y edición de genes en industrias cerveceras.



Asimismo, tenemos las colaboraciones entre distintos autores en el área de estudio mencionado. En la figura 4, se visualiza que Wang Jinjing es el que presenta mayor conexión con otros autores ya que se refleja un nodo más grande. También está Li Qi y Xu Xin entre los autores que presenta conexiones con otros investigadores. A su vez, Niu Chengtuo, Liu Chunfeng y Zheng Feiyun presenta colaboraciones frecuentes con el resto de los investigadores. Esto permite identificar los investigadores claves que están relacionados en el campo de estudio.

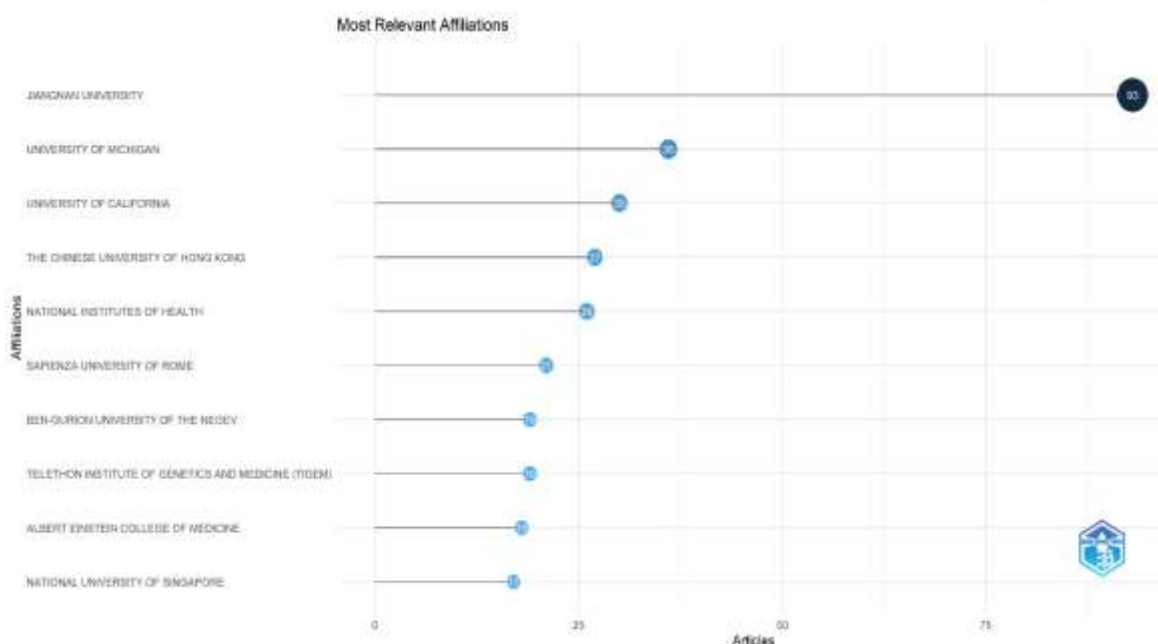
Figura 4 Colaboraciones entre investigadores relacionado a la ingeniería genética y edición de genes en la industria cervecera.



Otro de los temas a tratar son las afiliaciones que han contribuido en las investigaciones sobre ingeniería genética y edición de genes en la industria cervecera mostradas en la figura 5. En la imagen podemos visualizar que la institución Jiangnan University cuenta con 93 artículos publicados destacándose entre las más productivas en investigaciones relacionadas a este campo. Luego le sigue University of Michigan y University of California con 30 artículos cada uno, The Chinese University of Hong King con 27 artículos y Natinal Institutes of Health con 26 artículos.

Las instituciones que presentan menor cantidad de artículos publicados son Sapienza University of Rome con 21 artículos, Ben-Gurion University of the Negev con 18 artículos Telethon Institute of Genetics and Medicine con 16 artículos Albert Einstein College of Medicine con 13 artículos y por último National University of Singapore con 7 artículos.

Figura 5 Afiliaciones relevantes en la ingeniería genética y edición de genes en la industria cervecera.



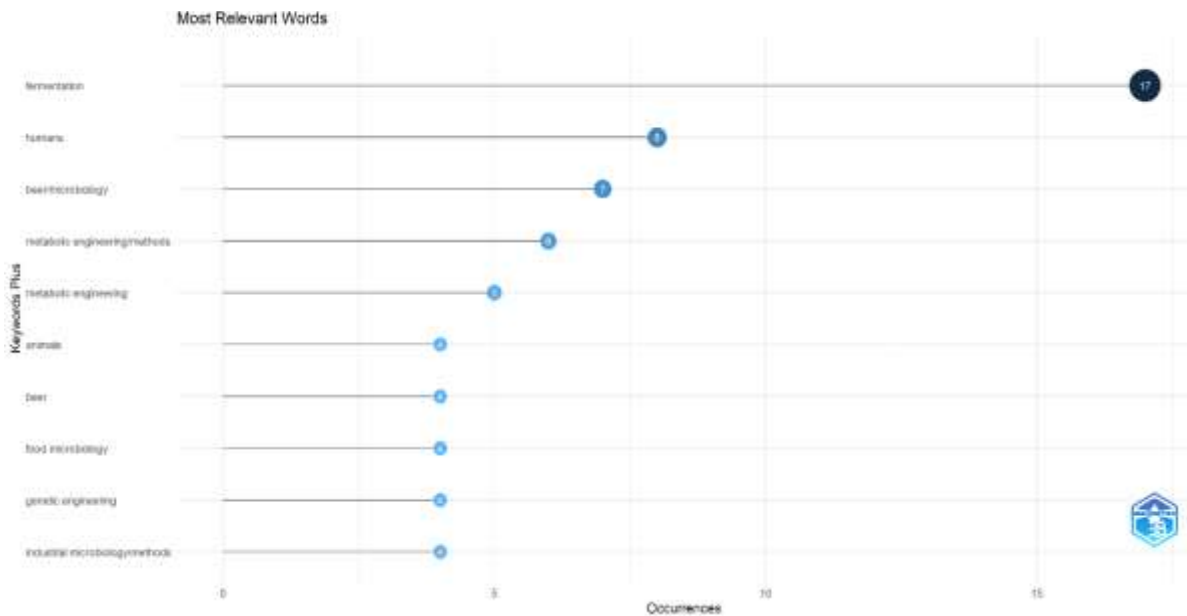
#### 4.1.2 Análisis de palabras claves y temáticas

En la figura 6 detalla las palabras más frecuentes que han sido identificadas en los artículos relacionados a ingeniería genética y edición de genes en la industria cervecera, en donde se visualiza que la palabra que mayor se repite es fermentación con 17 ocurrencias indicando coherencia en el tema de la industria cervecera. La siguiente palabra que le sigue es humana con 9 ocurrencias, esto se debe a estudios o aplicaciones que involucran seres humanos.

Otras palabras que también se ha encontrado son cerveza/microbiología con 7 ocurrencias, ingeniería metabólica/métodos con 6 ocurrencias, solo la palabra ingeniería metabólica cuenta con 5 ocurrencias, en cambio las palabras cerveza,

microbiología en alimentos, ingeniería genética y microbiología industrial/métodos cuenta con 4 ocurrencias cada una.

Figura 6 Palabras claves con mayor frecuencia en estudios relacionados a ingeniería genética y edición de genes en la industria cervecera.

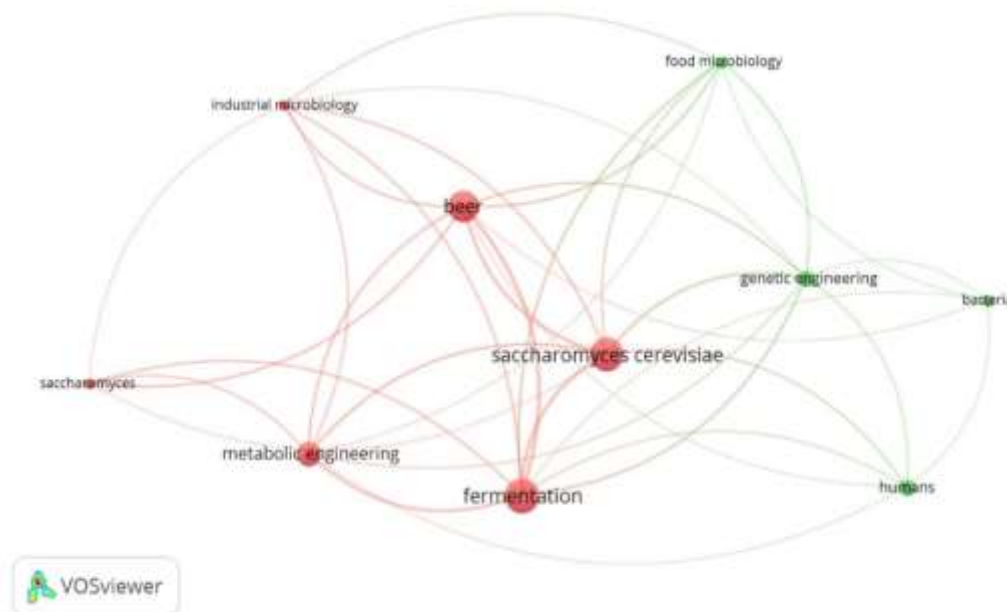


Con respecto a su correlación entre los diferentes conceptos que abarcan en la ingeniería genética y edición de genes en la industria cervecera tenemos el término cerveza recomendando en análisis bibliométrico relacionado a la aplicación de técnicas en la producción de cerveza como se visualiza en la figura 7. A su alrededor se encuentra varios términos como fermentación, que es un proceso en el cual los microorganismos transforman los azúcares en alcohol. Otros de los términos que engloba es *Saccharomyces cerevisiae*, clave en la fermentación de la cerveza y otros procesos industriales.

Asimismo, tenemos términos relacionados como ingeniería metabólica, ingeniería genética, microbiología de alimentos, son campos que intervienen en los diferentes procesos industriales de la cerveza. Por último, se menciona a bacterias y humanos.

Este análisis permite explorar las interconexiones entre áreas y su empleo en el desarrollo y mejora de la producción de la cerveza a través de técnicas de ingeniería genética y edición de genes.

Figura 7 Términos relacionados entre diferentes conceptos en la ingeniería genética y edición de genes en la industria cervecera.



#### 4.2 Tecnología CRISPR-Cas9 en la industria cervecera

La tecnología CRISPR-Cas9 es una herramienta que ha revolucionado la edición de genes que se ha adaptado a la industria cervecera, principalmente para mejorar la levadura y otros microorganismos utilizados en la fermentación.

CRISPR-Cas9 permite la modificación precisa del ADN y la modulación de la expresión genética, lo cual es esencial para optimizar el rendimiento de la fermentación y mejorar las propiedades sensoriales de la cerveza. La edición de genes utilizando CRISPR-Cas9 ha creado cepas de levadura con propiedades deseables, como una mayor tolerancia al alcohol y la capacidad de fermentar a temperaturas más bajas, lo que beneficiaría la producción de cerveza. Además, la modificación de genes específicos puede reducir la formación de compuestos indeseables que afectan el sabor y la estabilidad de la



cerveza (Williams y Warman, 2017).

Gracias a la biología sintética, las cepas de levadura han optimizado las curvas de fermentación, mejorando así la eficiencia y la calidad del proceso de elaboración de cerveza. Esta tecnología puede crear nuevos compuestos aromáticos y sabores, haciendo que los productos se destaquen en un mercado competitivo (Macovei, 2020; Brooking, 2020).

Así mismo permiten generar cepas de *S. cerevisiae* con mayor eficiencia de fermentación, mejor tolerancia a condiciones de estrés y propiedades aromáticas mejoradas. La evolución dirigida acelera la adquisición de fenotipos deseados esenciales para la producción de cerveza industrial (Giannakou et al., 2020; Gorter de Vries et al., 2019).

La combinación de biotecnología y biodiversidad natural ha resultado en nuevas levaduras adaptadas a estilos específicos de cerveza artesanal, enriqueciendo la diversidad del mercado cervecero (L. Chen et al., 2020; Iattici et al., 2019).

#### **4.3 Impacto de la Ingeniería Genética en la Mejora de Levaduras y Lúpulos para la Producción Cervecera**

Según Iattici et al. (2019) y Nasuti y Solieri (2024), la ingeniería genética ha permitido el desarrollo de levaduras que aumentan la capacidad de producir compuestos aromáticos específicos, diversificando así significativamente el perfil de sabor de la cerveza. Esta variedad es esencial para satisfacer la demanda de los consumidores de productos innovadores y de alta calidad. Además, la mejora genética de la levadura contribuye a la sostenibilidad medioambiental al optimizar el proceso de fermentación, reduciendo el consumo de recursos y la generación de residuos.

La genética moderna ha revelado la compleja estructura genómica de las levaduras cerveceras, proporcionando nuevos conocimientos sobre su origen y domesticación. Este conocimiento es esencial para la mejora continua de las cepas de levadura y la producción de cerveza de alta calidad (Gorter de Vries et al., 2019).

Las técnicas de modificación genética mejoran la fermentación al optimizar la utilización de la maltotriosa, reducir los sabores desagradables y aumentar la producción de alcohol (Willaert, 2020). El uso de cepas de levadura silvestre

mejora el proceso de fermentación y las características de la cerveza, proporciona perfiles de sabor únicos y aumenta la calidad general del producto final (Molinet y Cubillos, 2020).

Este enfoque permite a los cerveceros ajustar la fermentación y mejorar las características únicas de su producto.

## CAPÍTULO V: Conclusiones y Recomendaciones

### 5.1 Conclusiones

1. La investigación actual sobre el uso de CRISPR-Cas9 para mejorar la cerveza se centra en modificaciones precisas de la levadura para optimizar las propiedades de sabor y aroma, aumentar la eficiencia de la fermentación y aumentar la resistencia a contaminantes y condiciones adversas. Estas tendencias reflejan un enfoque en la personalización del producto final y la sostenibilidad en la elaboración de cerveza, lo que demuestra el potencial de CRISPR para revolucionar la industria.

2. El análisis bibliométrico muestra un aumento significativo en el número de publicaciones sobre inmovilización de levaduras e ingeniería genética en la producción de cerveza en la última década. Las aplicaciones clave incluyen mejorar la estabilidad y procesabilidad de la levadura y optimizar los procesos de fermentación para aumentar la eficiencia y reducir los costos. Estos avances subrayan la importancia de la biotecnología en los métodos de elaboración de cerveza modernos.

3. Se ha demostrado que la modificación genética de la levadura tiene un impacto positivo significativo en la industria cervecera al mejorar la calidad del producto y crear perfiles de sabor más complejos y deseables. Además, optimiza la eficiencia de la fermentación, haciendo que el proceso sea más rápido y suave. Desde una perspectiva económica, estas mejoras reducen los costos y aumentan la competitividad del mercado, destacando el valor de la biotecnología en la producción moderna de cerveza.

## 5.2 Recomendaciones

1. Se recomienda a las empresas cerveceras y a las instituciones de investigación que aumenten su inversión en proyectos de investigación y desarrollo para aplicaciones CRISPR-Cas9. Esta tecnología tiene el potencial de revolucionar la industria cervecera mediante la creación de levadura personalizada que optimiza las propiedades de sabor y aroma de la cerveza, así como la eficiencia de la fermentación.

2. En las cervecerías actuales, es fundamental utilizar la tecnología de inmovilización de levaduras y otros avances de la biotecnología. Estas tecnologías pueden mejorar significativamente la estabilidad y trabajabilidad de la levadura, optimizar el proceso de fermentación y reducir costos, aumentando así la eficiencia y sostenibilidad de la producción de cerveza.

3. Se recomienda a las cervecerías que consideren implementar estrategias de modificación genética para mejorar la calidad del producto y la eficiencia del proceso de fermentación. Estas mejoras no sólo reducen los costos operativos, sino que también aumentan la competitividad del mercado al crear cervezas con perfiles de sabor más complejos y atractivos para el consumidor.

## Bibliografía

- Akhmetov, A., Laurent, J., Gollihar, J., Gardner, E., Garge, R., Ellington, A., Kachroo, A., & Marcotte, E. (2018). Single-step Precision Genome Editing in Yeast Using CRISPR-Cas9. *BIO-PROTOCOL*, 8(6).  
<https://doi.org/10.21769/BioProtoc.2765>
- Ayad, A., Marsit, I., Loh, J., Omri, M., & Mili, A. (2019). Quantitative Metrics for Mutation Testing: *Proceedings of the 14th International Conference on Software Technologies*, 49-59. <https://doi.org/10.5220/0007841800490059>
- Badiger, V. B. (2020). *Gene Therapy: An Overview*.  
<https://www.semanticscholar.org/paper/Gene-Therapy%3A-An-Overview-Badiger/0720ba597c764a277369cd08d3101940ce9ad0da>
- Beaton, A., Tucker, N., Escalettes, F., & Magneschi, L. (2019). Waste not, want not: Enhancing the ability of yeast to utilise its own leftovers from the brewing industry to fuel the transport industry with ethanol. *Access Microbiology*, 1(1A).  
<https://doi.org/10.1099/acmi.ac2019.po0412>
- Bellm, E. C., Kulkarni, S. R., Graham, M. J., Dekany, R., Smith, R. M., Riddle, R., Masci, F. J., Helou, G., Prince, T. A., Adams, S. M., Barbarino, C., Barlow, T., Bauer, J., Beck, R., Belicki, J., Biswas, R., Blagorodnova, N., Bodewits, D., Bolin, B., ... Zolkower, J. (2019). The Zwicky Transient Facility: System Overview, Performance, and First Results. *Publications of the Astronomical Society of the Pacific*, 131(995), 018002. <https://doi.org/10.1088/1538-3873/aaecbe>
- Beres, B. L., Rahmani, E., Clarke, J. M., Grassini, P., Pozniak, C. J., Geddes, C. M., Porker, K. D., May, W. E., & Ransom, J. K. (2020). A Systematic Review of Durum Wheat: Enhancing Production Systems by Exploring Genotype, Environment, and Management (G × E × M) Synergies. *Frontiers in Plant Science*, 11, 568657. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.568657>
- Bernardi, B., & Wendland, J. (2020). Homologous Recombination: A GRAS Yeast Genome Editing Tool. *Fermentation*, 6(2), 57.  
<https://doi.org/10.3390/fermentation6020057>
- Bhandari, M. N., & Bhandari, M. L. (2018). *DNA: The New Age Data Storage System*.  
<https://www.semanticscholar.org/paper/DNA%3A-The-New-Age-Data->

Storage-System-Bhandari-

Bhandari/4d857ecb44eacc352e04f0692eded2b911101420

- Bhardwaj, A., & Nain, V. (2021). TALENs—an indispensable tool in the era of CRISPR: A mini review. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 19(1), 125. <https://doi.org/10.1186/s43141-021-00225-z>
- Bianco, A., Budroni, M., Zara, S., Mannazzu, I., Fancello, F., & Zara, G. (2020). The role of microorganisms on biotransformation of brewers' spent grain. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(20), 8661-8678. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10843-1>
- Bihon Asfaw, A., & Assefa, A. (2019). Animal transgenesis technology: A review. *Cogent Food & Agriculture*, 5(1), 1686802. <https://doi.org/10.1080/23311932.2019.1686802>
- Bijla, L., Aissa, R., Lankifli, A., Bouyahya, A., Harhar, H., & Gharby, S. (2022). Spent coffee grounds: A sustainable approach toward novel perspectives of valorization. *Journal of Food Biochemistry*, 46(8). <https://doi.org/10.1111/jfbc.14190>
- Bird, J. E., Marles-Wright, J., & Giachino, A. (2022). A User's Guide to Golden Gate Cloning Methods and Standards. *ACS Synthetic Biology*, 11(11), 3551-3563. <https://doi.org/10.1021/acssynbio.2c00355>
- Bonato, S. (2020). Análise das práticas de Educação Ambiental das cervejarias do Rio Grande do Sul. *REMEA - Revista Eletrônica do Mestrado em Educação Ambiental*, 37, 9-26. <https://doi.org/10.14295/remea.v35i1.7323>
- Brooking, S. (2020). Synthetic biology – reimagine drug discovery. *Drug Discovery Today*, 25(1), 4-6. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2019.10.009>
- Buczynski, A., Bittencourt, J. V. M., Nascimento, M. M. F. D., & Hashimoto, E. H. (2023). Occurrence of fumonisins and strategies for biocontrol in beer production: A systematic review. *Biotechnology Research and Innovation*, 7(1), e2023003. <https://doi.org/10.4322/biori.00032023>
- Carney, T. J., & Mosimann, C. (2018). Switch and Trace: Recombinase Genetics in Zebrafish. *Trends in Genetics*, 34(5), 362-378. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2018.01.004>
- Carvalho, G., Leite, A. C., Leal, R., & Pereira, R. (2023). The Role of Emergent Processing Technologies in Beer Production. *Beverages*, 9(1), 7. <https://doi.org/10.3390/beverages9010007>

- Čechová, M., & Andrlíková, M. (2021). Boosting the potential of cattle breeding using molecular biology, genetics, and bioinformatics approaches – a review. *Acta Veterinaria Brno*, 90(2), 145-154. <https://doi.org/10.2754/avb202190020145>
- Cerda, R. de la, & Bond, U. (2019). Accelerated evolution of lager yeast strains for improved flavour profiles. *Access Microbiology*. <https://www.semanticscholar.org/paper/Accelerated-evolution-of-lager-yeast-strains-for-Cerda-Bond/f924571d8fa151092bed409eabd9a46c2dc61461>
- Ces, O., & Elani, Y. (2019). Community building in synthetic biology. *Experimental Biology and Medicine*, 244(4), 281-282. <https://doi.org/10.1177/1535370219832279>
- Chadani, T., Ohnuki, S., Isogai, A., Goshima, T., Kashima, M., Ghanegolmohammadi, F., Nishi, T., Hirata, D., Watanabe, D., Kitamoto, K., Akao, T., & Ohya, Y. (2021). Genome Editing to Generate Sake Yeast Strains with Eight Mutations That Confer Excellent Brewing Characteristics. *Cells*, 10(6), 1299. <https://doi.org/10.3390/cells10061299>
- Chakraborty, A., Ravi, S. P., Shamiya, Y., Cui, C., & Paul, A. (2021). Harnessing the physicochemical properties of DNA as a multifunctional biomaterial for biomedical and other applications. *Chemical Society Reviews*, 50(13), 7779-7819. <https://doi.org/10.1039/D0CS01387K>
- Chen, L., Xin, Q.-H., Ma, L.-M., Li, R.-F., & Bian, K. (2020). Applications and research advance of genome shuffling for industrial microbial strains improvement. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 36(10), 158. <https://doi.org/10.1007/s11274-020-02936-w>
- Chen, Q., Li, S., Meng, Y., & Xin, X. (2018). *Code Clone Detection: A Literature Review*. <https://www.semanticscholar.org/paper/Code-Clone-Detection%3A-A-Literature-Review-Chen-Li/47c7d49c0f30b2e1ccae04dfbd2ecd67121045d7>
- Chuo, H. S. E., Lo, C. Y. K., Tan, M. K., Tham, H. J., Kumaresan, S., & Teo, K. T. K. (2021). Optimization of Yeast Fermentation Process using Genetic Algorithm. *2021 IEEE International Conference on Artificial Intelligence in Engineering and Technology (IICAJET)*, 1-6. <https://doi.org/10.1109/IICAJET51634.2021.9573732>
- De Simone, N., Russo, P., Tufariello, M., Fragasso, M., Solimando, M., Capozzi, V., Grieco, F., & Spano, G. (2021). Autochthonous Biological Resources for the Production of Regional Craft Beers: Exploring Possible Contributions of

- Cereals, Hops, Microbes, and Other Ingredients. *Foods*, 10(8), 1831. <https://doi.org/10.3390/foods10081831>
- Deckers, M., Deforce, D., Fraiture, M.-A., & Roosens, N. H. C. (2020). Genetically Modified Micro-Organisms for Industrial Food Enzyme Production: An Overview. *Foods*, 9(3), 326. <https://doi.org/10.3390/foods9030326>
- Denby, C. M., Li, R. A., Vu, V. T., Costello, Z., Lin, W., Chan, L. J. G., Williams, J., Donaldson, B., Bamforth, C. W., Petzold, C. J., Scheller, H. V., Martin, H. G., & Keasling, J. D. (2018). Industrial brewing yeast engineered for the production of primary flavor determinants in hopped beer. *Nature Communications*, 9(1), 965. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-03293-x>
- Dias, R., Zepka, L., & Jacob-Lopes, E. (2019). *Introductory Chapter: Biotechnology and Bioengineering*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.86380>
- Elliott, J. A. K., & Ball, A. S. (2021). Selection of Industrial Trade Waste Resource Recovery Technologies—A Systematic Review. *Resources*, 10(4), 29. <https://doi.org/10.3390/resources10040029>
- Evaristo, R. B. W., Costa, A. A., Nascimento, P. G. B. D., & Ghesti, G. F. (2023). Biorefinery Development Based on Brewers' Spent Grain (BSG) Conversion: A Forecasting Technology Study in the Brazilian Scenario. *Biomass*, 3(3), 217-237. <https://doi.org/10.3390/biomass3030013>
- Flores, C. L. V., & Contreras, L. V. (2023). Microcréditos y autonomía económica de las mujeres en situación de pobreza: Un análisis bibliométrico. *región y sociedad*, 35, e1719-e1719. <https://doi.org/10.22198/rys2023/35/1719>
- Galluzzi, L. (2020). *CRISPR-CAS9 Technology*. <https://www.semanticscholar.org/paper/CRISPR-CAS9-Technology-Galluzzi/ff9750c0df55bebf8badc6336b1fed73434773a>
- Gan, Y., Lin, Y., Guo, Y., Qi, X., & Wang, Q. (2018). Metabolic and genomic characterisation of stress-tolerant industrial *Saccharomyces cerevisiae* strains from TALENs-assisted multiplex editing. *FEMS Yeast Research*, 18(5). <https://doi.org/10.1093/femsyr/foy045>
- Gao, L., Wu, X., Zhu, C., Jin, Z., Wang, W., & Xia, X. (2020). Metabolic engineering to improve the biomanufacturing efficiency of acetic acid bacteria: Advances and prospects. *Critical Reviews in Biotechnology*, 40(4), 522-538. <https://doi.org/10.1080/07388551.2020.1743231>
- García Solórzano, E. E. (2023). *Modificación genética de microorganismos utilizando*



- el gen GFP para la inducción de fluorescencia.*  
<https://repositorio.uvg.edu.gt/xmlui/handle/123456789/4470>
- Garge, R. K., Geck, R. C., Armstrong, J. O., Dunn, B., Boutz, D. R., Battenhouse, A., Leutert, M., Dang, V., Jiang, P., Kwiatkowski, D., Peiser, T., McElroy, H., Marcotte, E. M., & Dunham, M. J. (2023). *Systematic Profiling of Ale Yeast Protein Dynamics across Fermentation and Repitching* (p. 2023.09.21.558736). bioRxiv. <https://doi.org/10.1101/2023.09.21.558736>
- Gerber Hornink, G. (2019). Biochemistry in the context of Beer Science. *Revista de Ensino de Bioquímica*, 17, 110. <https://doi.org/10.16923/reb.v17i0.890>
- Giannakou, K., Cotterrell, M., & Delneri, D. (2020). Genomic Adaptation of *Saccharomyces* Species to Industrial Environments. *Frontiers in Genetics*, 11, 916. <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.00916>
- Gibson, B., Dahabieh, M., Krogerus, K., Jouhten, P., Magalhães, F., Pereira, R., Siewers, V., & Vidgren, V. (2020). Adaptive Laboratory Evolution of Ale and Lager Yeasts for Improved Brewing Efficiency and Beer Quality. *Annual Review of Food Science and Technology*, 11(1), 23-44. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-032519-051715>
- Gorter de Vries, A. R., Knibbe, E., van Roosmalen, R., van den Broek, M., de la Torre Cortés, P., O'Herne, S. F., Vijverberg, P. A., el Masoudi, A., Brouwers, N., Pronk, J. T., & Daran, J.-M. G. (2020). Improving Industrially Relevant Phenotypic Traits by Engineering Chromosome Copy Number in *Saccharomyces pastorianus*. *Frontiers in Genetics*, 11, 518. <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.00518>
- Gorter de Vries, A. R., Pronk, J. T., & Daran, J.-M. G. (2019). Lager-brewing yeasts in the era of modern genetics. *FEMS Yeast Research*, 19(7), foz063. <https://doi.org/10.1093/femsyr/foz063>
- Iattici, F., Catallo, M., & Solieri, L. (2019). *Designing New Yeasts for Craft Brewing: When Natural Biodiversity Meets Biotechnology.* <https://doi.org/10.20944/preprints201911.0265.v1>
- Ifeanyi-Nze, F. O., Ohaeri, P. N., Akpotabor, E. M., Odeh, L. E., Esho, F. T., Onwumelu, D. C., Marcus, E., Oyewole, M. O., Chukwu, J. O., Onwuka, M. K., Adeleke, O. J., Akinmulegun, O. D., Otiti, G., & Onyishi, C. L. (2024). Sustainable wastewater management in the brewing industry: Utilizing cellulose acetate membranes derived from brewers' spent grain for enhanced

- treatment efficiency. *European Journal of Sustainable Development Research*, 8(1), em0246. <https://doi.org/10.29333/ejosdr/14105>
- Iorizzo, M., Coppola, F., Letizia, F., Testa, B., & Sorrentino, E. (2021). Role of Yeasts in the Brewing Process: Tradition and Innovation. *Processes*, 9(5), 839. <https://doi.org/10.3390/pr9050839>
- Jaeger, A., Arendt, E. K., Zannini, E., & Sahin, A. W. (2020). Brewer's Spent Yeast (BSY), an Underutilized Brewing By-Product. *Fermentation*, 6(4), 123. <https://doi.org/10.3390/fermentation6040123>
- James, H. (2019). *Overview of Deoxyribonucleic Acid (DNA)*. [https://www.semanticscholar.org/paper/Overview-of-Deoxyribonucleic-Acid-\(DNA\)-James/6668d0e15a19e99dfc0a9a4d5a033a18d58f547e](https://www.semanticscholar.org/paper/Overview-of-Deoxyribonucleic-Acid-(DNA)-James/6668d0e15a19e99dfc0a9a4d5a033a18d58f547e)
- James, T. C., Campbell, S., Donnelly, D., & Bond, U. (2003). Transcription profile of brewery yeast under fermentation conditions. *Journal of Applied Microbiology*, 94(3), 432-448. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2003.01849.x>
- Jiang, W., & Yang, R. (2023). Base editing therapy forges ahead. *Hematology and Oncology Discovery*, 2(1). <https://doi.org/10.15212/HOD-2023-0001>
- Jianga, W., & Yanga, R. (2023). *Review Base editing therapy forges ahead*. <https://www.semanticscholar.org/paper/Review-Base-editing-therapy-forges-ahead-Jianga-Yanga/b25aabba3fdeec2b9800c20691874188626c40b2>
- Karabín, M., Jelínek, L., Kotrba, P., Cejnar, R., & Dostálek, P. (2018). Enhancing the performance of brewing yeasts. *Biotechnology Advances*, 36(3), 691-706. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2017.12.014>
- Karimian, A., Azizian, K., Parsian, H., Rafieian, S., Shafiei-Irannejad, V., Kheyrollah, M., Yousefi, M., Majidinia, M., & Yousefi, B. (2019). CRISPR/Cas9 technology as a potent molecular tool for gene therapy. *Journal of Cellular Physiology*, 234(8), 12267-12277. <https://doi.org/10.1002/jcp.27972>
- Kato, T., & Takahashi, T. (2023). Studies on the Genetic Characteristics of the Brewing Yeasts *Saccharomyces*: A Review. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 81(2), 199-210. <https://doi.org/10.1080/03610470.2022.2134972>
- Kaur, G., & Sharma, E. S. (2018). *The Survey of the Code Clone Detection Techniques and Process with Types ( I , II , III and IV )*. [https://www.semanticscholar.org/paper/The-Survey-of-the-Code-Clone-Detection-Techniques-\(-Kaur-Sharma/f5600f495f863fd9f62ed29873d509939cd09ca0](https://www.semanticscholar.org/paper/The-Survey-of-the-Code-Clone-Detection-Techniques-(-Kaur-Sharma/f5600f495f863fd9f62ed29873d509939cd09ca0)

- Kaya, H. B., Rai, R., & Bogdanove, A. J. (2020). Using TALENs for genome editing in plants. En *Genome editing for precision crop breeding*. Burleigh Dodds Science Publishing.
- Khaleghi, M. K., Savizi, I. S. P., Lewis, N. E., & Shojaosadati, S. A. (2021). Synergisms of machine learning and constraint-based modeling of metabolism for analysis and optimization of fermentation parameters. *Biotechnology Journal*, 16(11), 2100212. <https://doi.org/10.1002/biot.202100212>
- Kocaefe-Özşen, N., Yilmaz, B., Alkim, C., Arslan, M., Topaloğlu, A., Kısakesen, H. L., Gülsev, E., & Çakar, Z. P. (2022). Physiological and Molecular Characterization of an Oxidative Stress-Resistant *Saccharomyces cerevisiae* Strain Obtained by Evolutionary Engineering. *Frontiers in Microbiology*, 13, 822864. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.822864>
- Kowalczyk, T., Wieczfinska, J., Skala, E., Śliwiński, T., & Sitarek, P. (2020). Transgenesis as a Tool for the Efficient Production of Selected Secondary Metabolites from Plant in Vitro Cultures. *Plants*, 9(2), 132. <https://doi.org/10.3390/plants9020132>
- Krogerus, K., Magalhães, F., Vidgren, V., & Gibson, B. (2017). Novel brewing yeast hybrids: Creation and application. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 101(1), 65-78. <https://doi.org/10.1007/s00253-016-8007-5>
- Kurniawan, Y. N., Shinohara, Y., Sakai, H., Magarifuchi, T., & Suzuki, K. (2022). Applications of the Third-Generation DNA Sequencing Technology to the Detection of Hop Tolerance Genes and Discrimination of *Saccharomyces* Yeast Strains. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 80(2), 161-168. <https://doi.org/10.1080/03610470.2021.1939606>
- Laviolle, B., Denèfle, P., Gueyffier, F., & participants of Giens XXXIV Round Table “Translational research”. (2019). The contribution of genomics in the medicine of tomorrow, clinical applications and issues. *Therapie*, 74(1), 9-15. <https://doi.org/10.1016/j.therap.2018.11.012>
- Lazareva, E. G., Gilmanov, Kh. Kh., Bigaeva, A. V., Tuylkin, S. V., & Vafin, R. R. (2021). Potential for the application of DNA technologies in the brewing industry. *Food systems*, 4(1), 19-25. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-1-19-25>
- Lee, Y.-G., Kim, B.-Y., Bae, J.-M., Wang, Y., & Jin, Y.-S. (2021). Genome-Edited *Saccharomyces cerevisiae* Strains for Improving Quality, Safety, and Flavor of

- Fermented Foods. SSRN Electronic Journal.  
<https://doi.org/10.2139/ssrn.3915507>
- Li, D., Gao, C., Zhang, F., Yang, R., Lan, C., Ma, Y., & Wang, J. (2020). Seven facts and five initiatives for gut microbiome research. *Protein & Cell*, 11(6), 391-400.  
<https://doi.org/10.1007/s13238-020-00697-8>
- Li, T., Yang, Y., Qi, H., Cui, W., Zhang, L., Fu, X., He, X., Liu, M., Li, P., & Yu, T. (2023). CRISPR/Cas9 therapeutics: Progress and prospects. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 8(1), 1-23.  
<https://doi.org/10.1038/s41392-023-01309-7>
- Lopez Pineda, M. (2019). Biotecnología actual de la Industria de la Cerveza. *Universidad Privada Telesup - UTELESUP*.  
<https://repositorio.utelesup.edu.pe/handle/UTELESUP/1430>
- Lynch, S. A. (2018). Careful what you say. *European Journal of Human Genetics*, 26(10), 1558-1558. <https://doi.org/10.1038/s41431-018-0178-3>
- Macovei, O. (2020). Conceptual Delimitations related to the Philosophical Approaches on Synthetic Biology. *Logos Universality Mentality Education Novelty: Philosophy & Humanistic Sciences*, 8(2), 83-104.  
<https://doi.org/10.18662/lumenphs/8.2/47>
- Marson, G. V., De Castro, R. J. S., Belleville, M.-P., & Hubinger, M. D. (2020). Spent brewer's yeast as a source of high added value molecules: A systematic review on its characteristics, processing and potential applications. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 36(7), 95. <https://doi.org/10.1007/s11274-020-02866-7>
- Maruyama, J. (2021). Genome Editing Technology and Its Application Potentials in the Industrial Filamentous Fungus *Aspergillus oryzae*. *Journal of Fungi*, 7(8), Article 8. <https://doi.org/10.3390/jof7080638>
- McHughen, A., & McHughen, A. (2020). *Introduction*. C0-C0.N15.  
<https://doi.org/10.1093/oso/9780190092962.003.0001>
- Mertens, S., Gallone, B., Steensels, J., Herrera-Malaver, B., Cortebeek, J., Nolmans, R., Saels, V., Vyas, V. K., & Verstrepen, K. J. (2019). Reducing phenolic off-flavors through CRISPR-based gene editing of the FDC1 gene in *Saccharomyces cerevisiae* x *Saccharomyces eubayanus* hybrid lager beer yeasts. *PLOS ONE*, 14(1), e0209124.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0209124>

- Mesta, S., Shirnalli, G., & Ashwini, M. (2018). Standardization of Fermentation Parameters for Beer Production from Sweet Sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) Grains. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7, 659-665. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.707.080>
- Molinet, J., & Cubillos, F. A. (2020). Wild Yeast for the Future: Exploring the Use of Wild Strains for Wine and Beer Fermentation. *Frontiers in Genetics*, 11, 589350. <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.589350>
- Moore, J. C., Ramos, I., & Van Dien, S. (2022). Practical genetic control strategies for industrial bioprocesses. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 49(2), kuab088. <https://doi.org/10.1093/jimb/kuab088>
- Moreira, R. F. R. de R., Cavalcanti, & Martins, M. D. F. (2022). *Sustainability in Craft Breweries: A Systematic Literature Review*. <https://www.semanticscholar.org/paper/Sustainability-in-Craft-Breweries%3A-A-Systematic-Moreira-Cavalcanti/a02bf86958350e1717af77b4d82aa8634c3d41b3>
- Moreno-García, J., García-Martínez, T., Mauricio, J. C., & Moreno, J. (2018). Yeast Immobilization Systems for Alcoholic Wine Fermentations: Actual Trends and Future Perspectives. *Frontiers in Microbiology*, 9, 241. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00241>
- Nakamura, T., & Shima, J. (2018). Selection and Development of Stress-tolerant Yeasts for Bioethanol Production. *Japan Agricultural Research Quarterly: JARQ*, 52(2), 137-142. <https://doi.org/10.6090/jarq.52.137>
- Nakao, Y., Kanamori, T., Itoh, T., Kodama, Y., Rainieri, S., Nakamura, N., Shimonaga, T., Hattori, M., & Ashikari, T. (2009). Genome sequence of the lager brewing yeast, an interspecies hybrid. *DNA Research: An International Journal for Rapid Publication of Reports on Genes and Genomes*, 16(2), 115-129. <https://doi.org/10.1093/dnares/dsp003>
- Nasuti, C., & Solieri, L. (2024). Yeast Bioflavoring in Beer: Complexity Decoded and Built up Again. *Fermentation*, 10(4), 183. <https://doi.org/10.3390/fermentation10040183>
- Nikolova, L. (2018). Genetic Genealogy as an Emerging Research Branch of Human Ancestry and Origin (Review of Curricula and Other Learning Sources). *International Journal of Humanities, Social Sciences and Education*, 5(3). <https://doi.org/10.20431/2349-0381.0503018>

- Nimbalkar, S. U., & Wenning, T. (2019). *Enhancing Operational Performance and Productivity Benefits by Implementing Smart Manufacturing Technologies in Breweries*. <https://www.semanticscholar.org/paper/Enhancing-Operational-Performance-and-Productivity-Nimbalkar-Wenning/b3fcd817c3e9797176ce4898d0e895aa7a752c3b>
- Ogawa, M., Bisson, L. F., García-Martínez, T., Mauricio, J. C., & Moreno-García, J. (2019). New insights on yeast and filamentous fungus adhesion in a natural co-immobilization system: Proposed advances and applications in wine industry. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103(12), 4723-4731. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-09870-4>
- Ortiz, I., Torreiro, Y., Molina, G., Maroño, M., & Sánchez, J. M. (2019). A Feasible Application of Circular Economy: Spent Grain Energy Recovery in the Beer Industry. *Waste and Biomass Valorization*, 10(12), 3809-3819. <https://doi.org/10.1007/s12649-019-00677-y>
- Ortuno, M. P., Chacón-Halabi, J., Flores-Espinoza, M., & Aguilar-Bravo, R. (2021). Biología sintética en la ingeniería de rutas metabólicas de microorganismos para la obtención de compuestos de interés para la industria alimentaria. *Revista Tecnología en Marcha*, 34. <https://doi.org/10.18845/tm.v34i1.4830>
- Pathirana, R. (2021). Mutations in plant evolution, crop domestication and breeding. *Tropical Agricultural Research and Extension*, 24(3), 124. <https://doi.org/10.4038/tare.v24i3.5551>
- Pavlova, A. S., Daniliuk, M. A., & Pavlov, A. S. (2020). *Application of Transition Engineering Methodology to Energy Efficiency Development in the Brewery Company*: International Scientific Conference «Far East Con» (ISCFEC 2020), Vladivostok, Russia. <https://doi.org/10.2991/aebmr.k.200312.464>
- Peláez, F., & Hernáiz Gómez-Dégano, M. J. (2022). La Biotecnología: Por una vida mejor. *Encuentros multidisciplinares*, 24(70), 13.
- Perez-Pinera, P., Ousterout, D. G., & Gersbach, C. A. (2012). Advances in Targeted Genome Editing. *Current opinion in chemical biology*, 16(3-4), 268-277. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2012.06.007>
- Perez-Quintero, A. L., & Szurek, B. (2019). A Decade Decoded: Spies and Hackers in the History of TAL Effectors Research. *Annual Review of Phytopathology*, 57, 459-481. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082718-100026>

- Perisse, I. V., Fan, Z., Singina, G. N., White, K. L., & Polejaeva, I. A. (2020). Improvements in Gene Editing Technology Boost Its Applications in Livestock. *Frontiers in Genetics*, 11, 614688. <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.614688>
- Petrovic, G., Ivankovic, M., Fraser, G., & Just, R. (2022). Practical Mutation Testing at Scale: A view from Google. *IEEE Transactions on Software Engineering*, 48(10), 3900-3912. <https://doi.org/10.1109/TSE.2021.3107634>
- Piñón, M. P. (2017). *Descripción del sistema CRISPR-Cas y diseño de sgRNAs («single guide RNAs») para edición de ADN genómico en levaduras.* <https://www.semanticscholar.org/paper/Descripci%C3%B3n-del-sistema-CRISPR-Cas-y-dise%C3%B1o-de-para-Pi%C3%B1%C3%B3n/23763112bdc2b520fc66f216ba0a9cb222a6f3d6>
- Plavec, T. V., & Berlec, A. (2020). Safety Aspects of Genetically Modified Lactic Acid Bacteria. *Microorganisms*. <https://www.semanticscholar.org/paper/Safety-Aspects-of-Genetically-Modified-Lactic-Acid-Plavec-Berlec/80142f57fb26771b2adeb114402778a16d781491>
- Qiu, Z. (2017). *Engineering saccharomyces for biofuel production improvement* [Thesis]. <https://doi.org/10.32657/10356/72681>
- Ramos, P. D., Almeida, M. S., & Olsson, I. A. S. (2023). What do people think about genetic engineering? A systematic review of questionnaire surveys before and after the introduction of CRISPR. *Frontiers in Genome Editing*, 5, 1284547. <https://doi.org/10.3389/fgeed.2023.1284547>
- Reitenbach, A. F., Iwassa, I. J., & Barros, B. C. B. (2021). Production of functional beer with the addition of probiotic: *Saccharomyces boulardii*. *Research, Society and Development*, 10(2), e5010212211. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i2.12211>
- Rizo, J., Guillén, D., Farrés, A., Díaz-Ruiz, G., Sánchez, S., Wachter, C., & Rodríguez-Sanoja, R. (2020). Omics in traditional vegetable fermented foods and beverages. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(5), 791-809. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1551189>
- Rodhouse, L., & Carbonero, F. (2019). Overview of craft brewing specificities and potentially associated microbiota. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(3), 462-473. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1378616>
- Roy, L., Chakraborty, S., Bera, D., & Adak, S. (2020). *Application of metabolic engineering for elimination of undesirable fermentation products during biofuel*

- production from lignocellulosics*. 63-80. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817953-6.00005-1>
- Rugbjerg, P., & Sommer, M. O. A. (2019). Overcoming genetic heterogeneity in industrial fermentations. *Nature Biotechnology*, 37(8), 869-876. <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0171-6>
- Sadat, A., Nurunnabi, M., Mozaffor, M., Tabassum, M., Saikat, R., Kabir, N., Hossain, M., & Head. (2019). *Societal Concerns with Biotechnology and Necessity of Regulations*.
- Saha, S. K., Saikot, F. K., Rahman, Md. S., Jamal, M. A. H. M., Rahman, S. M. K., Islam, S. M. R., & Kim, K.-H. (2019). Programmable Molecular Scissors: Applications of a New Tool for Genome Editing in Biotech. *Molecular Therapy - Nucleic Acids*, 14, 212-238. <https://doi.org/10.1016/j.omtn.2018.11.016>
- Sankar, S. S., Karthick, K., Sangeetha, K., Karmakar, A., & Kundu, S. (2020). Transition-Metal-Based Zeolite Imidazolate Framework Nanofibers via an Electrospinning Approach: A Review. *ACS Omega*, 5(1), 57-67. <https://doi.org/10.1021/acsomega.9b03615>
- Serra Colomer, M., Funch, B., & Forster, J. (2019). The raise of *Brettanomyces* yeast species for beer production. *Current Opinion in Biotechnology*, 56, 30-35. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2018.07.009>
- Shobha, G., Rana, A., Kansal, V., & Tanwar, S. (2021). Code Clone Detection—A Systematic Review. En A. E. Hassanien, S. Bhattacharyya, S. Chakrabati, A. Bhattacharya, & S. Dutta (Eds.), *Emerging Technologies in Data Mining and Information Security* (pp. 645-655). Springer Nature. [https://doi.org/10.1007/978-981-33-4367-2\\_61](https://doi.org/10.1007/978-981-33-4367-2_61)
- Sipiczki, M. (2019). Yeast two- and three-species hybrids and high-sugar fermentation. *Microbial Biotechnology*, 12(6), 1101-1108. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.13390>
- Soledispa, D. J. V., Rodríguez, A. N. B., Pilay, Y. H. C., & Márquez, N. del C. Á. (2022). La biotecnología y su impacto con el uso de las tecnologías. *Journal TechInnovation*, 1(2), Article 2. <https://doi.org/10.47230/Journal.TechInnovation.v1.n2.2022.78-87>
- Sovacool, B. K., Bazilian, M., Griffiths, S., Kim, J., Foley, A., & Rooney, D. (2021). Decarbonizing the food and beverages industry: A critical and systematic review of developments, sociotechnical systems and policy options. *Renewable*



- and Sustainable Energy Reviews*, 143, 110856.  
<https://doi.org/10.1016/j.rser.2021.110856>
- Suzuki, K. (2020). Emergence of New Spoilage Microorganisms in the Brewing Industry and Development of Microbiological Quality Control Methods to Cope with This Phenomenon: A Review. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 78(4), 245-259. <https://doi.org/10.1080/03610470.2020.1782101>
- Torrentes Espinoza, G. (2021). Retrospectiva y Prospectiva del Desarrollo de las Generaciones de Biocombustibles. *Ciencia y tecnología*, 21, 4.
- Trovão, M., Schüler, L. M., Machado, A., Bombo, G., Navalho, S., Barros, A., Pereira, H., Silva, J., Freitas, F., & Varela, J. (2022). Random Mutagenesis as a Promising Tool for Microalgal Strain Improvement towards Industrial Production. *Marine Drugs*, 20(7), 440. <https://doi.org/10.3390/md20070440>
- Ullah, A., Ahmed, H., hasan, syed, & Malik, A. (2020). Revolutions of CRISPR/Cas9 in modern era as genome editing tool. *World Journal of Biology and Biotechnology*, 5, 47-50. <https://doi.org/10.33865/wjb.005.02.0301>
- Van Eenennaam, A. L., Wells, K. D., & Murray, J. D. (2019). Proposed U.S. regulation of gene-edited food animals is not fit for purpose. *NPJ Science of Food*, 3, 3. <https://doi.org/10.1038/s41538-019-0035-y>
- Van Mulders, S. E., Ghequire, M., Daenen, L., Verbelen, P. J., Verstrepen, K. J., & Delvaux, F. R. (2010). Flocculation gene variability in industrial brewer's yeast strains. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 88(6), 1321-1331. <https://doi.org/10.1007/s00253-010-2843-5>
- Vega Sierra, D. (2024). *Comparación de sistemas de edición genética y edición de bases basados en la tecnología CRISPR/Cas9 y CRISPR/Cas12*. <https://riunet.upv.es/handle/10251/202652>
- Velasco Carballo, F. J. (2021). *Sistema CRISPR -CAS: La nueva era en genética aplicada*. <http://crea.ujaen.es/jspui/handle/10953.1/13999>
- Vilela, A. (2021). An Overview of CRISPR-Based Technologies in Wine Yeasts to Improve Wine Flavor and Safety. *Fermentation*, 7(1), 5. <https://doi.org/10.3390/fermentation7010005>
- Violino, S., Figorilli, S., Costa, C., & Pallottino, F. (2020). Internet of Beer: A Review on Smart Technologies from Mash to Pint. *Foods*, 9(7), 950. <https://doi.org/10.3390/foods9070950>
- Volk, M. J., Tran, V. G., Tan, S.-I., Mishra, S., Fatma, Z., Boob, A., Li, H., Xue, P.,

- Martin, T. A., & Zhao, H. (2023). Metabolic Engineering: Methodologies and Applications. *Chemical Reviews*, 123(9), 5521-5570. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.2c00403>
- Wang, Y. (2014). Developing CRISPR/Cas9 Technologies for Research and Medicine. *MOJ Cell Science & Report*, 1(1). <https://doi.org/10.15406/mojcsr.2014.01.00006>
- Wang, Y., Sun, W., Zheng, S., Zhang, Y., & Bao, Y. (2019). Genetic engineering of *Bacillus* sp. And fermentation process optimizing for diacetyl production. *Journal of Biotechnology*, 301, 2-10. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2019.05.308>
- Wei, X., Pu, A., Liu, Q., Hou, Q., Zhang, Y., An, X., Long, Y., Jiang, Y., Dong, Z., Wu, S., & Wan, X. (2022). The Bibliometric Landscape of Gene Editing Innovation and Regulation in the Worldwide. *Cells*, 11(17), 2682. <https://doi.org/10.3390/cells11172682>
- Willaert, R. G. (Ed.). (2020). *Yeast Biotechnology 3.0*. MDPI - Multidisciplinary Digital Publishing Institute. <https://doi.org/10.3390/books978-3-03943-187-8>
- Williams, B. O., & Warman, M. L. (2017). CRISPR/CAS9 Technologies. *Journal of Bone and Mineral Research*, 32(5), 883-888. <https://doi.org/10.1002/jbmr.3086>
- Willmann, M. R., Becker, M., & Hensel, G. (2021). *Genome editing of barley*. 325-340. <https://doi.org/10.1201/9781003048237-14>
- Xie, W., Xiong, W., Pan, J., Ali, T., Cui, Q., Guan, D., Meng, J., Mueller, N. D., Lin, E., & Davis, S. J. (2018). Decreases in global beer supply due to extreme drought and heat. *Nature Plants*, 4(11), 964-973. <https://doi.org/10.1038/s41477-018-0263-1>
- Xu, X., & Liu, M. (2021). [Recent advances and applications of base editing systems]. *Sheng Wu Gong Cheng Xue Bao = Chinese Journal of Biotechnology*. <https://www.semanticscholar.org/paper/%5BRecent-advances-and-applications-of-base-editing-Xu-Liu/647a89e13aa959a2d43a7d98a96b403efcf3d9b2>
- Xu, Z., Luo, Y., Mao, Y., Peng, R., Chen, J., Soteyome, T., Bai, C., Chen, L., Liang, Y., Su, J., Wang, K., Liu, J., & Kjellerup, B. V. (2020). Spoilage Lactic Acid Bacteria in the Brewing Industry. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30(7), 955-961. <https://doi.org/10.4014/jmb.1908.08069>
- Yu, Q., Li, Y., Wu, B., Hu, W., He, M., & Hu, G. (2020). Novel mutagenesis and

# UNEMI

UNIVERSIDAD ESTATAL DE MILAGRO

*¡Evolución académica!*

@UNEMIEcuador

