

# REUTILIZACIÓN DE LA LEVADURA EN FERMENTACIONES DE LA CERVEZA: SIMULACIONES POR ORDENADOR

Marta Ginovart<sup>1</sup>, Xavier Portell<sup>2</sup>, Moisés Silbert<sup>3</sup>



1: Departamento de Matemática Aplicada III  
 2: Departamento de Ingeniería Agroalimentaria y Biotecnología  
 Escuela Superior de Agricultura de Barcelona, Universidad Politécnica de Cataluña  
 Edificio D4, Avda. Canal Olímpic 15, 08860-Castelldefels (Barcelona) Spain  
 3: Institute of Food Research, Norwich Research Park Colney, Norwich NR4 7UA, UK



## INTRODUCCIÓN

El envejecimiento replicativo de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* puede medirse con el número de cicatrices de la membrana celular provocadas por la gemación, que determina la **edad genealógica**.

En las fermentaciones de la industria cervecera, la levadura se mantiene y se reutiliza varias veces, (serial repitching), sometiéndola a considerables tensiones o "stresses" que afectan a la vitalidad de la levadura y a la calidad del producto final [1, 2].

Debido a peculiaridades del proceso de fabricación es habitual la formación de un **gradiente de edad genealógica** dentro de los fermentadores. Según el mecanismo utilizado para extraer y reutilizar la levadura se puede obtener **poblaciones de características distintas** [1, 2].

La metodología de los modelos basados en el individuo (IbMs) permite tratar con el proceso descrito. Este tipo de modelización ya se ha utilizado para el estudio de cultivos bacterianos, desarrollando el simulador INDISIM (INDividual DIScrete SIMulations) [3] y de cultivos de levaduras mediante el simulador INDISIM-YEAST [4, 5].

**El objetivo del trabajo es explorar las posibilidades del simulador INDISIM-YEAST para abordar el estudio del impacto de la selección de las edades genealógicas de las células de levadura en los perfiles de la fermentación, así como mostrar las posibilidades de futuro en el diseño de una versión específica para el estudio del proceso que tiene lugar en la fermentación cervecera, que contemple la manipulación y reutilización de la levadura.**

## EL MODELO DE SIMULACIÓN INDISIM-YEAST

Los modelos de simulación pueden ser usados para capturar e imitar poblaciones microbianas, con el fin de poder entonces "experimentar" con ellas y sobre ellas, "experimentar" con los sistemas virtuales generados. Los IbMs, en los que los individuos interactúan dinámicamente entre ellos como elementos estructurales del sistema modelado, ejemplifican este tipo de simulación.

### EL CULTIVO MICROBIANO SIMULADO

El conjunto de  $N(t)$  células de levadura que forman la población se definen por:

$$P(t) = \{Y_1(v_1(t), v_2(t), \dots, v_{10}(t)), \dots, Y_{N(t)}(t)\}$$

$Y_i$  es la célula "i" de características:

- $v_1$ : biomasa celular
- $v_2$ : edad genealógica (número de cicatrices de la membrana)
- $\{v_3, v_4, v_5\}$ : posición en el dominio espacial
- $v_6$ : fase de reproducción en el ciclo celular  
 1: fase de gemación, 2: fase de no gemación
- $v_7$ : masa necesaria para pasar a la fase de gemación
- $v_8$ : biomasa mínima de la gema para completar la reproducción
- $v_9$ : tiempo mínimo requerido para completar la fase de gemación
- $v_{10}$ : tiempo de supervivencia sin satisfacer las necesidades metabólicas

El dominio físico en el que esta población de células crece y evoluciona de acuerdo a unas reglas de comportamiento individual, está formado por un conjunto de  $Q^3$  celdas cúbicas, definidas por

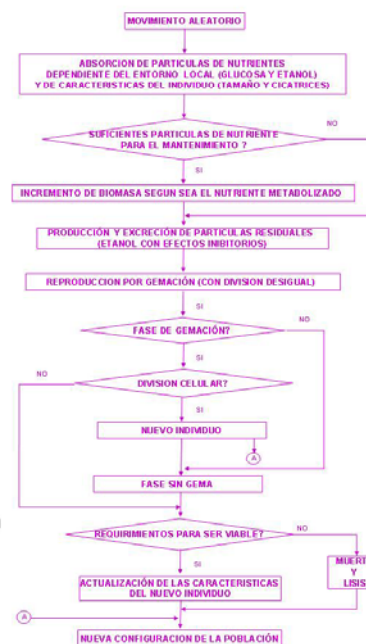
$$G(t) = \{S_{xyz}(s_1(t), s_2(t)), x, y, z = 1, \dots, Q\}$$

$S_{xyz}$  es una celda espacial, con  $s_1(t)$  y  $s_2(t)$  partículas de glucosa y etanol, respectivamente.

### MODELIZACIÓN DEL COMPORTAMIENTO DE UNA CÉLULA DE LEVADURA

Acciones individuales controladas:

- movimiento
- absorción de glucosa
- mantenimiento celular
- producción de nueva biomasa
- excreción al exterior del etanol
- reproducción por gemación con dos fases diferenciadas, la fase 1 o de no gemación, donde la célula se prepara para generar una nueva gema, y la fase 2 o de gemación, donde la gema crece hasta poder separarse de la célula madre, apareciendo una nueva levadura hija, de edad genealógica 0 (o célula virgen), con lo que la célula madre incrementa en uno el número de sus cicatrices
- control de la viabilidad celular, con la posible pérdida de ésta, etc.



En la página Web <https://aneto.upc.es/simulacio/hoja-portada> se puede encontrar una versión base de INDISIM-YEAST que permite ejecutar simulaciones de fermentaciones y visualizar las representaciones gráficas de algunas de las variables controladas por el simulador [5].

## RESULTADOS I DISCUSIÓN

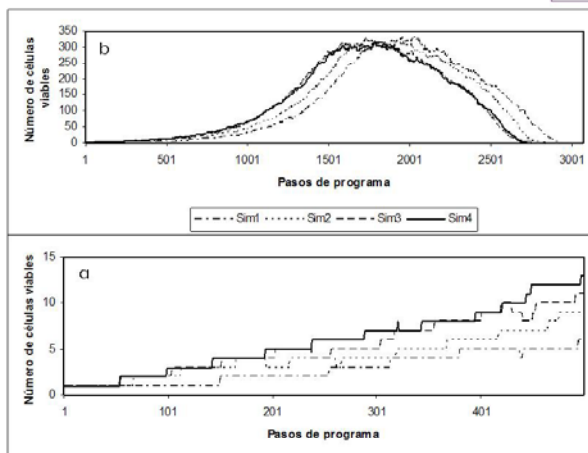


Figura 1. Evolución del número de células viables en las simulaciones de fermentación realizadas con INDISIM-YEAST. a) Detalle del crecimiento inicial, b) Evolución completa. La edad genealógica de la célula inicial es: 0 en Sim1, 3 en Sim2, 7 en Sim3 y 10 en Sim4.

Una primera simulación para obtener el "inoculo" inicial y poder arrancar las "simulaciones experimento", cada una de ellas con una célula de edad genealógica determinada.

La edad de la célula genera diferencias en el crecimiento de la población y en la tasa de utilización del azúcar y de la producción de etanol.

Los resultados simulados obtenidos se corresponden con los de trabajos experimentales de Powell y coautores [1, 2].

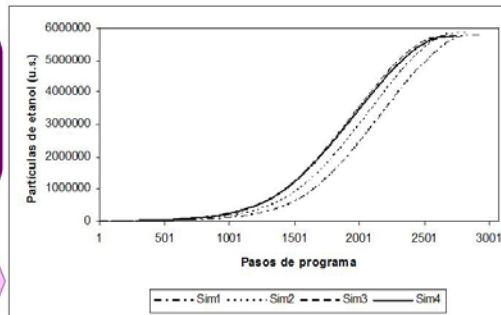


Figura 2. Evolución temporal del etanol producido por la población de levaduras en las simulaciones de fermentación realizadas con INDISIM-YEAST. La edad genealógica de la célula inicial que origina la población es: 0 en Sim1, 3 en Sim2, 7 en Sim3 y 10 en Sim4.

### TRABAJO FUTURO

ESTE ENFOQUE PODRIA AYUDAR A ENTENDER EL PROCESO QUE TIENE LUGAR EN LA FERMENTACION Y APOYAR LOS PROCEDIMIENTOS EMPÍRICOS EN LA SELECCIÓN DE LEVADURAS A UTILIZAR DURANTE EL "SERIAL REPITCHING".

**Agradecimientos** Reconocemos y agradecemos gratamente la ayuda financiera recibida del plan Nacional I+D+i del Ministerio de Educación y Ciencia CGL2007-65142/BOS, así como de la European Social Fund y AGAUR-Generalitat de Catalunya 2008FIA-00307. También queremos agradecer a la Dra. Rosa Carbó sus comentarios y sugerencias.

### REFERENCIAS

1. C.D. Powell, S.M. Van Zandycke, D.E. Quain y K.A. Smart, "Replicative ageing and senescence in *Saccharomyces cerevisiae* and the impact on brewing fermentations", *Microbiology* Vol. 14, pp. 1023-1034, (2000).
2. C.D. Powell, D.E. Quain y K.A. Smart, "The impact of brewing yeast cell age on fermentation performance, attenuation and flocculation", *FEMS Yeast Research* Vol. 3, pp. 149-157, (2003).
3. M. Ginovart, D. López y J. Valls, "INDISIM, an individual-based simulation model to study bacterial cultures", *J. Theor. Biol.* Vol. 214, pp. 305-309, (2002).
4. M. Ginovart, J. Xifré, D. López y M. Silbert, INDISIM-YEAST, an individual-based model to study yeast population in batch cultures. En: A. Méndez-Vilas (Ed.), *Microbiology Book Series* nº 1 Vol. 1, Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology, Formatex, Badajoz (2007), pp. 401-409.
5. M. Ginovart y J.C. Cañadas, "INDISIM-YEAST: an individual-based simulator on a website for experimenting and investigating diverse dynamics of yeast populations in liquid media", *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* Vol. 35, pp. 1359-1366, (2008).

