



## Estudio del efecto de los campos electromagnéticos sobre la producción de biomasa en *Saccharomyces cerevisiae* variedad *Rhône*.

Alveiro Álvarez-Ovallos<sup>1</sup>, Eliseo Amado-González<sup>1</sup>, Alfonso Quijano-Parra<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Biocombustibles, IBEAR FJ 207, Universidad de Pamplona. Grupo de energía, Transformación química y medio ambiente.

<sup>2</sup>Laboratorio de Control de Calidad, Universidad de Pamplona. [alfonsoquijanoparra@gmail.com](mailto:alfonsoquijanoparra@gmail.com)

### Resumen

La levadura *Saccharomyces cerevisiae* variedad *Rhône* fue expuesta al efecto de campo electromagnético  $B_m=(0,04 \text{ mT}; 0,21 \text{ mT}$  y  $0,39 \text{ mT})$ , tiempo de exposición al campo  $t=(1, 5$  y  $10 \text{ min})$  y  $f=50 \text{ Hz}$ . Se utilizó la relación de la variación de biomasa / tiempo (dbiomasa/dtiempo) para comparar el número de ciclos de crecimiento de los cultivos blanco contra los cultivos sometidos a campo electromagnéticos. Se observa un aumento de la producción de biomasa en las siguientes combinaciones:  $0,04 \text{ mT} / 10 \text{ min}$ ;  $0,21 \text{ mT} / 1 \text{ min}$  y  $0,39 \text{ mT} / 5 \text{ minutos}$  con respecto a la muestra control. Se encuentra que el número de ciclos de crecimiento comparados con el grupo control presenta importantes variaciones con una tendencia a disminuir en el número de ciclos acompañados de un incremento en la producción de biomasa y una disminución en la viabilidad del cultivo.

**Palabras clave:** *Saccharomyces cerevisiae*, *Rhône*, campo electromagnético, biomasa.

### Study of the Effect of Electromagnetic Fields on Biomass Production in *Saccharomyces cerevisiae* variety *Rhône*.

#### Abstract

The yeast *Saccharomyces cerevisiae*, Rhône variety was exposed to the effect of electromagnetic field  $B_m = (0.04 \text{ mT}$  and  $0.21 \text{ mT}$  and  $0.39 \text{ mT})$ , exposure time  $t = (1, 5$  and  $10 \text{ min})$  and  $f = 50 \text{ Hz}$ . The variation of biomass / time (dbiomasa/dtiempo) for comparing the growth cycles of control sample against growth cycles of yeast samples exposed to electromagnetic field was used. Biomass production increased in the following combinations at:  $0.04 \text{ mT} / 10 \text{ min}$ ,  $0.21 \text{ mT} / 1 \text{ min}$  and  $0.39 \text{ mT} / 5 \text{ minutes}$  compared with control sample. The growth cycle's number of exposed yeast samples compared to the control sample shows significant variation: decrease in the number of cycles, increase in biomass production and a decrease in the viability of the culture.

**Bistua 2014 .12(2):14-23.** Alvarez O A, Amado Gonzalez E, Quijano Parra A. Estudio del Efecto de los Campos Electromagnéticos sobre la Producción de Biomasa en *Saccharomyces cerevisiae* variedad *Rhône*.



**Keywords:** *Saccharomyces cerevisiae*, *Rhône*, electromagnetic field, biomass.

\*Para citar este artículo: Álvarez et al. Estudio del efecto de los campos electromagnéticos sobre la producción de biomasa en *Saccharomyces cerevisiae* variedad *Rhône*. Bistua.2014.12(2):14-23

+ Autor para el envío de correspondencia y la solicitud de las separatas: Laboratorio de Biocombustibles, IBEAR FJ 207, Universidad de Pamplona. Grupo de energía, Transformación química y medio ambiente. eamado@unipamplona.edu.co

Recibido: Noviembre 20 de 2013 Aceptado: Junio 22 de 2014

**Bistua 2014 .12(2):14-23.** Alvarez O A, Amado Gonzalez E, Quijano Parra A. Estudio del Efecto de los Campos Electromagnéticos sobre la Producción de Biomasa en *Saccharomyces cerevisiae* variedad *Rhône*.

## Introducción

En la actualidad una gran cantidad de artefactos productores de campos electromagnéticos (*CEM*) forman parte de nuestro entorno además del generado por la tierra. Entre los que se encuentran los equipos de comunicación personal y los computadores (Frey 1993). Sin embargo, el estudio de los campos electromagnéticos (*CEM*) y sus efectos sobre organismos se ha desarrollado desde el siglo XVIII hasta nuestros días. Aunque muchos estudios han reportado efectos benéficos, los resultados han sido inconsistentes y en algunos casos contradictorios (Shigemitsu 1999).

Este tipo de resultados se presenta debido a las repuestas que tienen los diferentes organismos a los *CEM*, ya que estas dependen del organismo y su estructura, el medio de crecimiento en el cual se encuentre, la fuerza del campo, el tiempo de exposición, la forma y frecuencia del campo, entre otros factores (Dimitrov V et al 2002, Ohshima et al 2007). En la actualidad se ha demostrado, que es factible reducir los *CEM* en los hogares mediante una serie de medidas de precaución (Tomitsch J, Dechant E 2015).

El uso de estimulación del metabolismo celular por *CEM* es una nueva herramienta en procesos no invasivos de estimulación a

organismos vivos (Ramirez et al 2004). Durante las últimas tres décadas las investigaciones en este campo se han venido diversificando y cada vez son más comunes (Takaki et al 2009). La importancia del estudio de los *CEM* sobre las células de los microorganismos, ha sido de interés, generando efectos de diversa naturaleza (Zapata, 2005).

La levadura *Saccharomyces cerevisiae* es considerada como el modelo eucariota unicelular por excelencia y utilizada para explorar los efectos ocasionados por los *CEM* debido a sus características morfológicas, genéticas y metabólicas (Nakasono et al 2003).

La similitud en los mecanismos moleculares asociados con los procesos celulares básicos, entre las diferentes especies de células eucariotas, incluyendo células humanas (Zapata et al 2005).

De otra parte, *S. cerevisiae* ha sido empleado en numerosos procesos, entre los cuales se encuentran la industria de la tecnología de alimentos y químicos, fermentaciones, investigación biomédica y biológica, industrias de la salud y en tecnologías medioambientales, entre otras (Ramirez et al 2010, Zumaqué et al 2009, Cañizares-Villanueva 2000). A partir de la biomasa microbiana pueden desarrollarse muchos productos derivados, dada su riqueza composicional: carbohidratos, lípidos, proteínas, ácidos nucleicos,



17

vitaminas, entre otros (Carrillo et al 2010).

La variedad *Rhône* de *S. cerevisiae*, fue aislada por primera vez en un viñedo de Côtes du Rhône, Francia. Según sus características microbiológicas, esta variedad está formada por una mezcla 50 / 50 de *S. cerevisiae* variedad *cerevisiae* y *S. cerevisiae* variedad *bayanus*. Por sus cualidades aromáticas y fermentativas es muy utilizado en la elaboración de vinos. Algunas de sus propiedades que presenta la variedad *Rhône* son:

- ✓ Buena tolerancia alcohólica de hasta 14% (v/v).
- ✓ Producción de SO<sub>2</sub> muy baja.
- ✓ Producción de H<sub>2</sub>S es nula.
- ✓ Facilidad en el crecimiento en medios ricos en azúcar.

La constante estimulación del *CEM* sobre *S. cerevisiae*, se ha estudiado, buscando entender los efectos inducidos sobre el metabolismo celular (Muniz et al 2007). *S. cerevisiae* fue una de las primeras levaduras utilizadas por el hombre para la producción de bebidas fermentadas (Gualtieri M, Sánchez J, 2003). En la actualidad, *S. cerevisiae* presenta una amplia utilización y aceptación en la industria alimentaria (Zumbado et al 2006).

El objetivo de nuestra investigación es evaluar el efecto de la aplicación de los campos electromagnéticos sobre la producción de biomasa en la variedad *Rhône* de *S. cerevisiae*, y

sobre los ciclos de crecimiento en función de tiempo e intensidad de *CEM*.

## MATERIALES Y MÉTODO.

**Mantenimiento de la Cepa:** Se utilizó una cepa comercial de *S. cerevisiae* variedad *Rhône* 2056 de Lalleman ®. La activación de la levadura se realizó a 28 °C / 24 horas en un medio líquido previamente esterilizado a 121 °C durante 15 minutos. Todos los experimentos para la producción de biomasa se efectuaron en un medio de cultivo líquido cuya composición fue (% p/v): Glucosa 10, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,2; (NH<sub>4</sub>)SO<sub>4</sub> 0,3; MgSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O 0,1; extracto de levadura 0,4; peptona 0,36 (Zapata et al 2002). El pH fue ajustado a un valor de 5.0 con HCl 0,1 N estéril.

**Campo Electromagnético:** La generación del *CEM* se realizó con una bobina tipo helmholtz que presenta las siguientes características: Diámetro de 10 cm, altura 17 cm, 2130 vueltas en alambre magneto (cobre), núcleo de aire, base de madera (figura 1). La calibración se realizó con un sensor estilo sonda de efecto Hall la cual fue introducida en el centro de la bobina y fue conectada a un teslámetro que reporta la intensidad del campo en *mT* según la corriente suministrada en *mA*. La bobina fue diseñada para generar *CEM* de 0,04 *mT* hasta 0,39 *mT*.



18

**Aplicación del CEM:** Se tomó el medio líquido inoculado con la levadura y se introdujo en la bobina, para los correspondientes  $B_m$  de 0,04; 0,21 y 0.39  $mT$  por tiempos de exposición de 1, 5 y 10 minutos. Luego de la aplicación del CEM se incubaron las muestras a la temperatura de 30 °C, se tomaron muestras (10 mL) cada dos horas para ser analizadas (producción de biomasa).

**Cuantificación de la Biomasa:** La cuantificación de la biomasa se calculó por el método del peso seco, reportando resultados obtenidos como g/mL (Zapata 2007).

## RESULTADOS Y DISCUSION.

La producción de biomasa (fig 2A), en los tres tiempos de aplicación de un  $B_m = 0,04 mT$ , indica que a los 10 minutos de exposición al campo y hasta las 28 horas de incubación, la levadura presentó su mayor producción. Los cultivos con una exposición de 1 y 5 min a  $B_m = 0,04 mT$ , presentan una inhibición o menor producción de biomasa. La figura 2B, se observa el comportamiento de  $dbiomasa/dt$  para las primeras 38 h de incubación. La muestra control presenta cuatro máximos de crecimiento a las 9 h, 14 h, 22 h y 30 h. La muestra con una exposición de un 1 min presenta a 14 h y 22 h los máximos de producción mientras que

la muestra con exposición de 5 min solo tiene un máximo a 14 h. La muestra con un tiempo de exposición de 10 min presenta cuatro máximos a 2 h, 6 h, 13 h y 19 h con una mayor producción de biomasa, aproximadamente un 16% más con respecto al control. Los estudios del efectos de CEM sobre la fotosíntesis y crecimiento de la Cyanobacteria *Spirulina platensis* muestran que se produjo un incremento en la rata de crecimiento de *S. platensis* acompañado de la activación del sistema de transferencia de electrónica de la fotosíntesis y el incremento en el contenido de fitocianinas (Hirano et al 1998).

Los resultados obtenidos (fig 3A) a  $B_m=0,21 mT$ , indica que a los 5 min de exposición se observa una producción mayor con respecto al control. En los cultivos expuestos a  $B_m=0,21 mT$  por tiempos de 5 min y 10 min, se presenta baja producción de biomasa, lo que indica que la mejor combinación para estimular la producción es de 0,21  $mT$  y  $t=1$  min de exposición. En la fig 3B se observa que la variación de  $dbiomasa/dt$  para el cultivo a un  $t=1$  min con un máximos a 2 h, 9 h y 16 h. Para el cultivo a un  $t=5$  min presenta máximos a 5 h, 8 h y 12 h. Mientras que el cultivo a un  $t=10$  min solo presenta máximos a 9 h y 13 h. La muerte celular para el cultivo a un  $t=10$  min se alcanza a las 24 h con la mayor producción de biomasa del 13% con respecto al control.



19

La figura 4A, presenta una disminución considerable con respecto al control cuando la levadura es expuesta a  $t=1$  min y  $t=10$  min a  $B_m=0,39$  mT. A  $t=5$  min de exposición a  $B_m=0,39$  mT, se observa un incremento en la producción de biomasa con respecto al control. En la figura 4B, para la variación de la relación  $dbiomasa/dt$  se observa para el cultivo expuesto a  $t=1$  min solo un máximo a  $t=13$  h y la muerte celular a las 25 h. Para un  $t=5$  min a  $B_m=0,39$  mT, se encuentran máximos a  $t=5$  h,  $t=16$  h y  $t=23$  min y muerte celular a 32 h. Los cultivos sometidos a  $t=10$  min a  $B_m=0,39$  mT, se encuentran máximos a  $t=4$  h,  $t=12$  h y  $t=23$  h. A  $t=5$  min de exposición a  $B_m=0,39$  mT es donde se presenta mayor producción, aproximadamente un 13% más que la muestra control en las primeras 8 h de incubación. Nascimento et al (2003) encontró en experimento con *E.coli* que la concentración en solución de glucosa disminuía en cultivos expuestos a CEM como resultado del aumento del transporte de glucosa a través de la membrana al interior con un aumento en el metabolismo celular.

El efecto combinado de los factores evaluados es difícil de explicar porque depende de distintos factores para ser estimulado o inhibido, en la relación a la producción de metabolitos. En el estudio de Deutmeyer et al (2011) sobre el efecto de CEM en la cinética de

fermentación de *S cerevisiae*, se encontró que si el CEM era homogéneo no había efecto pero si el CEM era estático no homogéneo, se producía un incremento del 8 % en la concentración de etanol.

## CONCLUSIONES.

En el presente estudio se evaluó el efecto de diferentes intensidades de CEM y tiempos de exposición, con el objetivo de observar el comportamiento de la levadura *S. cerevisiae* variedad *Rhône* sobre la producción de biomasa. Se encontró que dependiendo del tiempo de aplicación e intensidad del campo la levadura respondía de manera positiva o negativa, es decir, aumentó o disminuyó la producción de biomasa con respecto al control.

Las mejores combinaciones de CEM y tiempo de aplicación para un aumento en la producción de biomasa fueron las siguientes:  $0,04$  mT / 10 minutos, con un 16% de biomasa más que la muestra control;  $0,21$  mT / 1 minuto, con un 13% más que la muestra control y  $0,39$  mT / 5 minutos con un 13% mayor que el control.

El uso de CEM de baja intensidad, representa un avance en el estudio de la estimulación en el crecimiento y producción de biomasa, ya que en la gran mayoría de estudios reportados en la literatura, se realizan tratamientos con intensidades mayores e incluso con tiempos de



20

exposición de horas (Crouzier et al 2009, Fojt et al 2004).

## Referencias

Cañizares-Villanueva R (2000). Biosorción de metales pesados mediante el uso de biomasa microbiana. *Rev. Latinoam. Microbiol.* **42**:131-143.

Carrillo M, Aguilar M, Wong J, Muñiz D (2010). Producción de biomasa de *Candida utilis*(HENNEBERG) a partir de melaza. *Rev.Unacar Tecnocien.* **4**: 32 – 40.

Cellini L, Grande R, Di Campli E, Di Bartolomeo S, Di Giulio M, Robuffo L, Trubiani O, Marigió M (2008). Bacterial response to the exposure of 50 Hz electromagnetic fields. *Bioelectrom.* **29**: 302 – 311.

Crouzier D, Perrin A, Torres G, Dabouis V, Debouzy J (2009). Pulsed electromagnetic field at 9.71 GHz increase free radical production in yeast (*Saccharomyces cerevisiae*). *Pathologie Biol.* **57**: 245–251.

Deutmeyer A, Raman R, Murphy P, Pandey S (2011). Effect of magnetic field on the fermentation kinetics of *Saccharomyces cerevisiae*. *Adv. Biosci. Biotech.* **2**: 207-213.

Dimitrov V, Stoimenova M, Tsoneva I (2002). Electrically induced

concentration fluctuations in *Escherichia coli* suspensions. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Engineer. Aspects.* **2**: 201-205.

Fojt L, Strasak L, Vetterl V, Smarda J (2004). Comparison of the low-frequency magnetic field effects on bacteria *Escherichia coli*, *Leclercia adecarboxylata* and *Staphylococcus aureus*. *Bioelectrochem.* **63**:337– 341.

Frey A (1993). Electromagnetic interactions with biological systems. *Faseb J.* **7** : 272-281.

Gualtieri M, Sánchez J (2003). Producción de proteína unicelular de levaduras crecidas en desechos de harina de maíz precocida (*Zea mays*). *Rev.Fac. Farm. ULA.* **45**:17 – 22.

Hirano M, Ohta A, Abe K (1998). Magnetic Field Effects on Photosynthesis and Growth of the Cyanobacterium *Spirulina platensis*. *J Fermentation Bioeng.* **86**:313-316.

Muniz J, Marcelino M, da Motta M, Schuler A, Alves M (2007). Influence of Static Magnetic Fields on *S. cerevisiae* Biomass Growth. *Braz. Arch. Biol. Technol.* **50**: 515 – 520.

Nascimento L, Botura G, Mota R (2003). Glucose consume and growth of *E. coli* under electromagnetic field. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo* **45**(2):65-67.



21

Nakasono S, Laramée C, Saiki H, McLeod K (2003). Effect of power frequency magnetic fields on genome-scale gene expression in *Saccharomyces cerevisiae*, *Radiat. Res.* **160**: 25–37.

Ohshima T, Tamura T, Sato M (2007). Influence of pulsed electric field on various enzyme activities. *J. Electrostat.* **65**: 156-161.

Orberá-Ratón T (2004). Molecular identification methods of yeasts of biotechnological interest. *Rev. Ibero. Micol.* **21**: 15 -19.

Ramírez D, Galindo A, Zapata P, Rojas D, Fernández C, Atehortúa L (2010). Efecto de los campos eléctricos sobre la producción de biomasa micelial del hongo medicinal *Ganoderma lucidum* [(W. Curt.: Fr.) P. Karst. (Ganodermataceae)] *Actualidades Biol.* **32**:5-17.

Ruiz M, Prieto M, Ristori E, Martínez M (2004). Static and 50 Hz magnetic fields of 0.35 and 2.45 mT have no effect on the growth of *Saccharomyces cerevisiae*. *Bioelectrochem.* **64**: 151–155.

Shigemitsu T (1999). Biological and agricultural studies on application of discharge plasma and electromagnetic fields. Effects of electrical fields, air ion and corona

discharge on plants. *J. Plasma Fusion Res. series.* **75**: 659-665.

Takaki K, Yamazaki N, Mukaigawa S, Fujiwara T, Kofujita H (2009). Improvement of edible mushroom yield by electric stimulations. *J. Plasma Fusion Res. Series.* **8**: 556-559.

Tomitsch J, Dechant E (2015). Exposure to Electromagnetic Fields in Households Trends From 2006 to 2012. *Bioelectromagnetics* **36**:77-85.

Zapata J, Hoyos R, Quinchía, B (2005). Kinetic parameters of growth of *Saccharomyces cerevisiae* affected by a varying magnetic field of low intensity and high frequency. *VITAE* **12**: 39 – 44.

Zumaqué L, Lara C, Mizger M (2009). Levaduras autóctonas con capacidad fermentativa en la producción de etanol a partir de pulpa de excedentes de plátano *Musa* (AAB Simmonds) en el departamento de Córdoba, Colombia. *Rev. Col. de Biotec.* **11**:40 - 47.

Zakhem H, Lanoisellè J, Lebovka N, Nonus M, Vorobiev E (2006). The early stages of *Saccharomyces cerevisiae* yeast suspensions damage in moderate pulsed electric field. *Coll. surf. B: Biointerfaces.* **47**: 189 – 197.

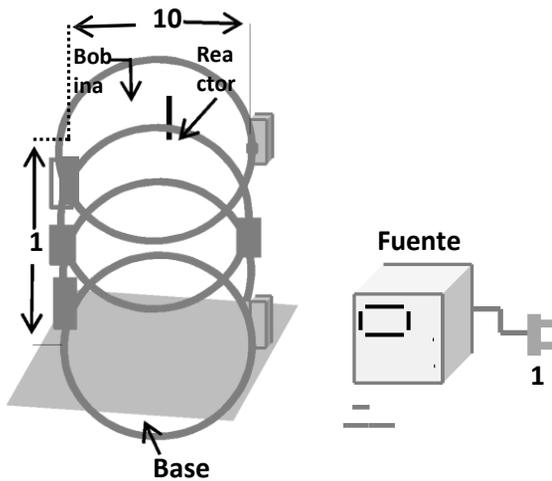
22

Zapata J, Moreno G., Márquez E (2002). Efecto de los Campos Electromagnéticos sobre el crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae*. *Interciencia*. **27**: 544 – 550.

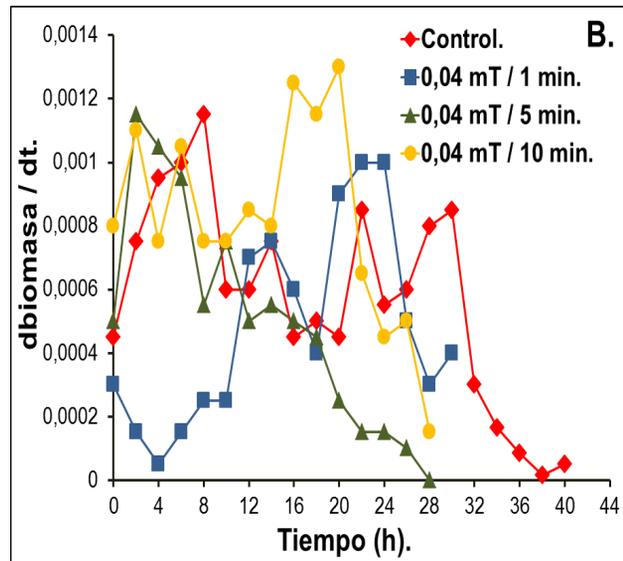
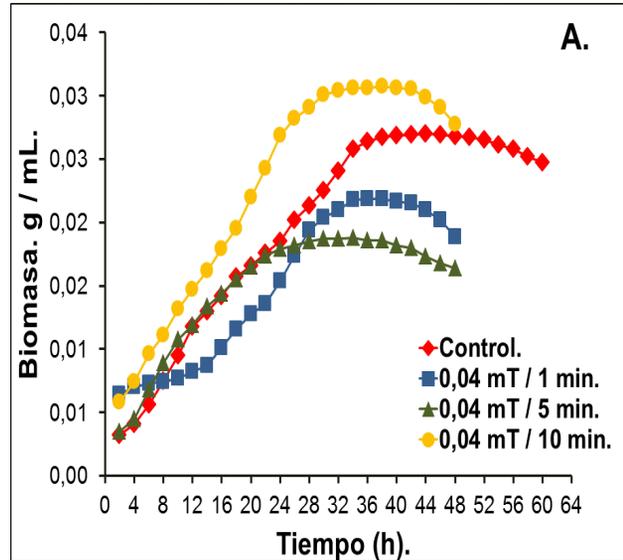
Zapata P (2007). Producción de biomasa y exopolisacáridos de *Grifóla frondosa* bajo cultivo sumergido utilizando fuentes de carbono no convencionales. *Rev. EIA Sch. Eng. Ant.* **7**: 137-144.

Zumbado W, Esquivel P, Wong E (2006). Selección de una levadura para la producción de biomasa: Crecimiento en suero de queso. *Agro.Mesoamericana*. **17**: 151 – 160.

**Figura 2.** Producción de biomasa (A) y análisis del efecto (B) del CEM a una intensidad de 0,04 mT

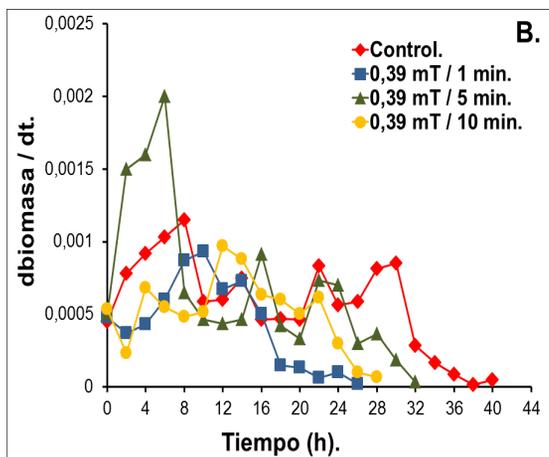
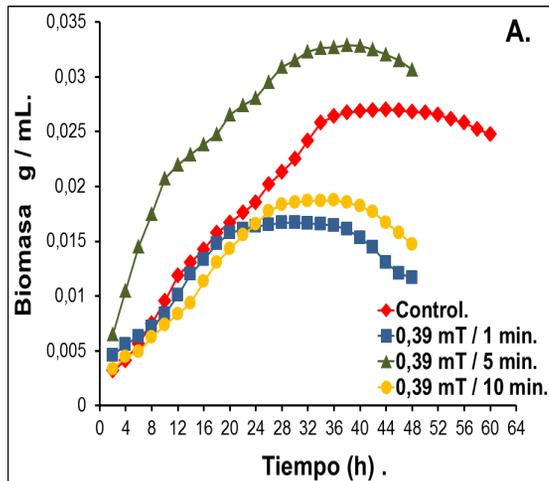


**Figura 1.** Bobina generadora de Campos Electromagnéticos



23

**Figura 3.** Producción de biomasa (A) y análisis del efecto (B) del CEM a una intensidad de 0,21 mT



**Figura 4.** Producción de biomasa (A) y análisis del efecto (B) del CEM a una intensidad de 0,39 mT.