

Incremento de la biomasa de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* con aplicación de un campo magnético de intensidad constante

Siannah María Mas-Diego^{1*}, Guillermo Ribeaux-Kindelán¹, Carlos A. Cabrera-Chamizo²

1. Centro Nacional de Electromagnetismo Aplicado (CNEA). Santiago de Cuba. Cuba.

*siannah@uo.edu.cu, ribeaux@uo.edu.cu

2. Facultad de Ingeniería Química. Universidad de Oriente, Cuba.

RESUMEN

Se estudió la influencia del campo magnético estático sobre la biomasa de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* en fermentadores de 1000 mL a 25 °C. Se evaluó el crecimiento de este microorganismo en miel virgen de caña en presencia de un campo magnético (CM) estático con una media en la región de trabajo de 55,5 mT y 278,8 mT con 3 y 5 pases. Los resultados mostraron que el CM estimula o inhibe la formación de biomasa, en función de la inducción del campo y el número de pases aplicados. Se observó que los CM afectan el consumo de sustrato por parte del cultivo mostrando que bajo ciertas condiciones los microorganismos tratados pueden tener mejor aprovechamiento del sustrato. El tratamiento con una inducción del campo de 278,5 mT y 3 pases presentó una formación de biomasa 24,3 % mayor y un consumo de sustrato 26,9 % menor en comparación con el control.

PALABRAS CLAVE: campo magnético, levadura, *Saccharomyces cerevisiae*.

ABSTRACT

A study of the influence of a static magnetic field on biomass production of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* in fermenters 1000 mL at 25 °C was accomplished. The biomass production of this organism in virgin sugar-cane molasses was evaluated in the presence of a static magnetic field (MF) with an average in the working region of 55,5 mT and 278,8 mT and 3 and 5 passes. The results showed that MF stimulates or inhibits biomass production, depending on the induction field and the number of passes applied. It was observed that MF affects substrate consumption by the culture that under certain conditions the treated microorganisms can make better use of the substrate. The treatment of 278,5 mT and 3 passes produced 24,3 % higher biomass and 26.9 % lower substrate consumption compared to the control.

KEYWORDS: magnetic field, yeast, *Saccharomyces cerevisiae*.

INTRODUCCIÓN

El proceso actual de destilación de alcoholes en la planta destilería Hatuey (Santiago de Cuba) está dividido en dos partes, la obtención de aguardiente a partir de mieles y la obtención de alcoholes de primera y segunda, a partir de alcohol técnico B. Para el proceso de fermentación se utiliza la levadura (alcoholera-panadera) *Saccharomyces cerevisiae*, que se envía desde La Habana.

La primera etapa del proceso de fermentación consiste en lograr un aumento de levaduras para

lo cual se inocula a nivel de laboratorio en un medio esterilizado formado por agua, miel, fosfato, y urea y se deja reposar durante 24 h.

La segunda etapa del proceso de fermentación consiste en pasar el cultivo del laboratorio hasta los tanques cultivadores, donde la temperatura debe mantenerse al igual que en los cultivadores a 34 °C para garantizar una óptima calidad del proceso; se añade agua, miel, fosfato y urea y además se regula el pH con ácido sulfúrico y en este caso se suspende la aireación para que comience la fermentación anaerobia.

Varios investigadores han estudiado los efectos biológicos del campo magnético (1-3). Los microorganismos responden a la exposición de campos magnéticos dependiendo de la energía y la distribución espacial de dicho campo. Existen reportes de cambios en su morfología, características fisiológicas, bioquímicas y en sus características genéticas (4-5).

Experimentos realizados por Otabe *et al.* (1) en la levadura *Candida utilis* a inducciones del campo electromagnético de 500 y 800 Gauss (50 y 80 mT), indican que explorando a niveles de inducción alrededor de 80 mT podrían alcanzarse mejores incrementos en la biomasa celular.

En el presente trabajo se realiza un estudio de la fase de crecimiento de la *Saccharomyces cerevisiae* (segunda etapa), con la finalidad de conocer los parámetros más importantes para su futuro uso en la fermentación alcohólica, en este caso no se proponen los métodos convencionales, sino que, se enfocará la investigación a la aplicación de un campo magnético, buscando las ventajas que puedan ofrecerse en este ámbito.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo experimental se desarrolló en el Laboratorio de Microbiología de la Sala de Fermentación del Centro Nacional de Electromagnetismo Aplicado (CNEA), Santiago de Cuba.

Microorganismo: *Saccharomyces cerevisiae*, procedente de la Destilería Hatuey (Santiago de Cuba).

Medio de cultivo: Miel virgen de caña (20 g); KH_2PO_4 (0,2 g), $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (0,3 g), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,1 g), Extracto de levadura (0,4 g), Peptona (0,36 g) sobre la base de 1 L, con un pH ajustado a 5,4 (6). Se esterilizó a 1 atm de presión y 121 °C durante 20 min.

Diseño experimental: Factorial 2^2 , se consideraron dos variables independientes:

X_1 : Inducción electromagnética (B: mT)

X_2 : número de pases aplicados

Se exploró en dos niveles:

X_1 : 55,5 y 275,8 mT

X_2 : 3 y 5 pases

Los intervalos de trabajo fueron escogidos sobre la base de la experiencia acumulada en estudios anteriores, donde fue posible determinar las inducciones electromagnéticas y tiempos de exposición que producían un efecto evidente sobre el desarrollo celular, de acuerdo con las particularidades del estimulador magnético empleado. Se realizaron tres réplicas por cada tratamiento.

Las variables dependientes fueron:

Y_1 : biomasa (g de células/L) mediante gravimetría.

Y_2 : azúcares reductores totales (g/L) por el método de Eynon y Lane (6).

Y_3 : velocidad específica de crecimiento (h^{-1}).

Y_4 : factor de conversión de sustrato en célula (g/g).

Y_5 : productividad de biomasa (g/L · h).

Las variables fijas fueron:

Y_6 : temperatura = $25,3 \pm 1,2$ °C.

Y_7 : pH = $4,0 \pm 0,5$.

Y_8 : aireación = 0,5 v.v.m. (litros de aire por litro de medio por minuto).

Para procesar los datos experimentales se usó el paquete estadístico StatSoft, Inc. (2014). STATISTICA (Data Analysis Software System), versión 12.

Tratamiento magnético: se empleó un circuito magnético con núcleo de hierro e imanes permanentes de tierras raras (NeFeB), con dimensiones 40 x 40 x 4 mm.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados demuestran que la aplicación de un campo magnético influye sobre el crecimiento celular de la *S. cerevisiae* en función de la intensidad del campo y el número de pases aplicados (figura 1). Como se observa, en comparación al control se acelera el crecimiento, con 3 pases para un campo de 278,5 mT, con 5 pases para un campo de 278,5 mT y con 3 pases para un campo de 55,5 mT, de mayor a menor influencia en este mismo orden.

Estos resultados son similares a los obtenidos por Berlot en el crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae* expuesta a un campo magnético estático de 140 mT. Según Berlot *et al.* no se observaron cambios notables en la estructura celular, pero se obtuvo un crecimiento más rápido. Los mejores resultados para la producción de biomasa representaron un incremento de un 28 % con respecto a la levadura no tratada (7).

Como se observa de la figura 1, a las 18,4 horas después de haber aplicado el tratamiento con un campo de 278,5 mT y con 3 pases, se alcanza el máximo valor de biomasa. Esto tiene una implicación tecnológica, ya que si se aplica este tratamiento al inóculo, una vez transcurridas 18,4 horas se puede suspender la aireación al cultivador para que comience la fermentación anaerobia. De esta forma se ahorra en cada ciclo de fermentación 5,6 horas.

El factor de conversión sustrato en células (yS/X) en los cultivos tratados fue superior al con-

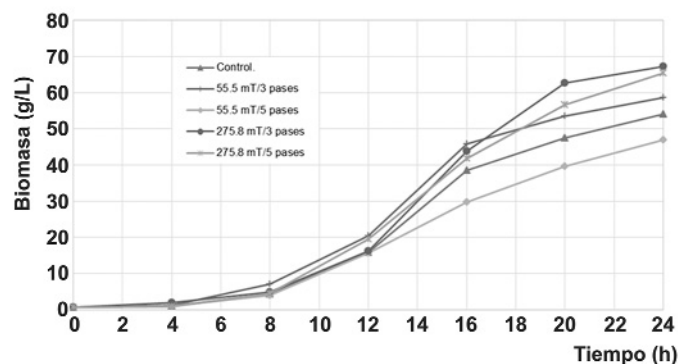


Figura 1. Producción de biomasa de *S. cerevisiae*, sin tratamiento y con 3 y 5 pases con campos de 55,5 y 278,5 mT.

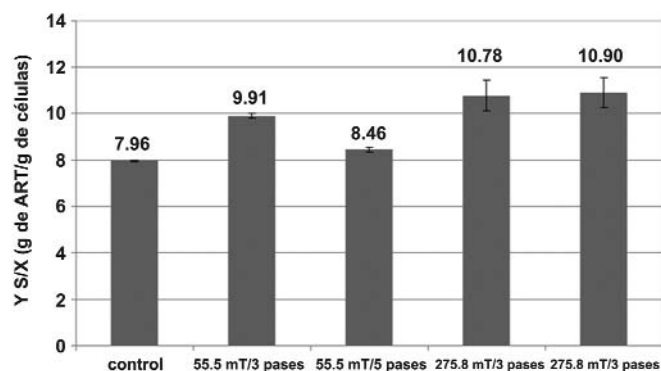


Figura 2. Factor de conversión sustrato en células (yS/X) para *S. cerevisiae*, sin tratamiento y con 3 y 5 pases con campos de 55,5 y 278,5 mT.

trol (figura 2). En los experimentos con tratamiento magnético existe un mayor aprovechamiento de este, es decir, se produce mayor cantidad de biomasa con menor consumo de sustrato.

El modelo matemático que se obtuvo para esta variable se muestra a continuación:

$$Y_{x/s} = 12,504 - 8,707 \cdot 10^{-3} \cdot B + 3,623 \cdot 10^{-3} \cdot B \cdot N_p \quad (\text{Ec. 1})$$

Si se mantienen constantes las variables que normalmente inciden en el crecimiento celular, como temperatura, pH, nivel de oxígeno disuelto, etc., la conversión de sustrato en célula solo depende de los valores del campo y la combinación entre los valores del campo y el número de pases. Este modelo posee un ajuste de 0,8892. Para mayores valores de inducción del campo se obtienen mayores valores para la conversión de sustrato en célula, lo mismo que cuando se combina el efecto de los valores de inducciones con el número de pases, es decir, se obtiene mayor conversión cuando se aplican mayores valores de inducción con menor número de pases.

Experimentos realizados por Mattar *et al.* (8) en *S. cerevisiae* cultivada bajo campos magnéticos pulsantes reportaron un incremento en la conductividad eléctrica durante y después del tratamiento, lo que se vio reflejado en la formación de poros en la membrana celular. El mecanismo propuesto por Lin (4) plantea que el campo magnético actúa mediante la reorientación de los fosfolípidos de la membrana celular y que esta orientación provoca un cambio en los canales iónicos, afectando su cinética de activación. El incremento del flujo de nutrientes hacia el medio intracelular puede ser la causa de una aceleración del metabolismo y un mejor aprovechamiento del sustrato.

CONCLUSIONES

La aplicación de un campo magnético estático a *Saccharomyces cerevisiae* con una inducción del campo de una media en la región de trabajo de 278,5 mT con 3 pases, incrementa la formación de biomasa en un 24,3 % y disminuye el consumo de sustrato en 26,9 % en comparación con el control, disminuyendo el tiempo en el tanque cultivador en 5,6 horas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Otabe E S, Kuroki S, Nikawa J, Matsumoto Y, Ooba T, Kiso K, Hayashi H. Yeast cells proliferation on various strong static magnetic fields and temperatures, *Journal of Physics, Conference Series*, pág. 156, 2009.
2. Ruiz-Gomez M.J., Prieto-Barcia M.I, Ristori-Bogajo E, Martínez-Morillo M. Static and 50 Hz magnetic fields of 0.35 and 2.45 mT have no effect on the growth of *Saccharomyces cerevisiae*. *Bioelectrochemistry* 64: 151-155. 2004.
3. Oliveira L, Monte R, Garcia C, Cuellar J. Effects of magnetic fields on biomass and glutathione production by the yeast *Saccharomyces cerevisiae*, *Process Biochemistry*, 45: 1362-1367, 2010.
4. Lin JC. *Electromagnetic fields in biological systems*. CRC Press, Boca Raton, USA. 2011.

5. Zapata J, Germán O, Edna J, Márquez F. Efectos de los campos magnéticos sobre el crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae*, *Interciencia* 27 (10): 544-550, 2002.
 6. De Whalley H C S (Ed). ICUMSA Methods of Sugar Analysis: Official and Tentative Methods Recommended by the International Commission for Uniform Methods of Sugar Analysis (ICUMSA). Elsevier, 166 p. 2013.
 7. Berlot M, Rehar T, Fefer D, Berovic M. The influence of treatment of *Saccharomyces cerevisiae* inoculum with a magnetic field on subsequent grape must fermentation, *Chem. Biochem. Eng. Q.*, 27 (4): 423-429. 2013.
 8. Mattar J R, Turk M F, Nonus M, Lebovka N I, El Zakhem H, Vorobiev E. *S. cerevisiae* fermentation activity after moderate pulsed electric field pre-treatments, *Bioelectrochemistry*, 103: 92-97. 2015.
-