

Wpływ zmiennego pola elektromagnetycznego na wzrost drożdży *Yarrowia lipolytica*

Streszczenie. W badaniach wykorzystano drożdże *Yarrowia lipolytica*. Drożdże hodowano na pożywce płynnej YPD, w kolbach na wytrząsarce w temperaturze 28°C, przy 180 rpm. Próbkę poddano oddziaływaniu zmiennego pola elektromagnetycznego w czasie 30 – 180 minut, stosując różne natężenia pola (20 mT, 40 mT, 70 mT, 90 mT), przy częstotliwości 50 Hz. Hodowlę prowadzono przez 120 godzin, dokonując pomiaru zmętnienia w skali McFarlanda co 12 godzin. We wszystkich wypadkach przypadkach wzrost drożdży był większy niż w próbce kontrolnej. Dodatkowo przy oddziaływaniu pola o wartości 40 mT, 70 mT i 90 mT maksymalne przyrosty biomasy następowały w 84 godzinie hodowli i były szybsze niż w próbce kontrolnej i przy oddziaływaniu pola 20 mT. Największy wpływ pola magnetycznego na wzrost drożdży obserwowano przy wartości 70 mT.

Abstract. The study used the yeast *Yarrowia lipolytica*. Yeast were grown in YPD liquid medium in shake flasks at 28 ° C, 180 rpm. The samples were exposed to an alternating electromagnetic field for 30 - 180 minutes, using different field strengths (20 mT, 40 mT, 70 mT, 90 mT) at a frequency of 50 Hz. They were maintained for 120 hours, measuring the McFarland turbidity every 12 hours. In all cases where yeast growth was higher than in the control sample. In addition, the impact on the field of 40 mT, 70 mT and 90 mT maximum growth of biomass followed in 84 hrs of culture, and were faster than in the control sample and the impact field 20 mT. The greatest influence of magnetic field on growth of yeast was observed at a value of 70 mT. (**The influence of the AC electromagnetic field on growth of *Yarrowia lipolytica* yeast**)

Słowa kluczowe: drożdże, *Yarrowia lipolytica*, zmienne pole elektromagnetyczne, solenoid

Keywords: yeast, *Yarrowia lipolytica*, AC electromagnetic field, solenoid

Wstęp

Oddziaływanie pola elektrycznego i magnetycznego na organizmy żywe było od dawna przedmiotem zainteresowania nauki. Zainteresowanie ze strony medycyny pojawiło się kilka lat temu, gdy w diagnostyce klinicznej zaczęto powszechnie stosować tomografię magnetyczno-rezonansową (NMR), która w sposób nieinwazyjny pozwala otrzymać obrazy wnętrza ciała. W trakcie badania pacjent leży w środku dużego magnesu, o polu najczęściej 1,5 – 2,0 T (ok. 50 tysięcy razy silniejsze niż pole magnetyczne Ziemi) [11].

Powszechna obecność w naszym otoczeniu pól elektromagnetycznych o różnej częstotliwości i natężeniu wytwarzanych przez urządzenia telekomunikacyjne czy sprzęt gospodarstwa domowego jest powodem prowadzenia intensywnych badań w tej dziedzinie. Do pól wytwarzanych przez cywilizację przemysłową natura nas nie przyzwyczała, a są one wielokrotnie silniejsze niż naturalne. Ponieważ problem ten narasta – nazywany jest coraz częściej „smogiem elektromagnetycznym”.

Nie można jednoznacznie potwierdzić pozytywnego lub negatywnego oddziaływania pól elektromagnetycznych na żywe organizmy. Nie ma prostych zależności typu: „im mniej tym lepiej” lub „im więcej tym gorzej” bo często efekty pól elektromagnetycznych są nieliniowe [1, 5, 6].

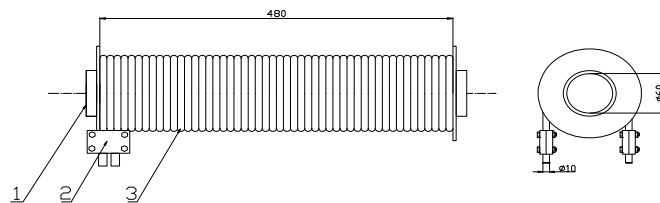
Zanim stosowanie pól elektromagnetycznych wejdzie do arsenału metod leczniczych należy dobrze poznać mechanizmy ich działania na obiektach modelowych, takich jak komórki i tkanki [4,7]. Działaniu pól elektromagnetycznych o różnej częstotliwości i natężeniu poddawano: komórki i tkanki roślinne, bakterie, drożdże, hodowle różnych komórek ludzkich (komórki nabłonka, czerwone krwinki, limfocyty). Bardzo intensywnie badany jest zwłaszcza wpływ słabych pól o natężeniu rzędu od μT do mT i niskich częstotliwości, od kilku Hz do 1000 Hz.

Drożdże to ważny element różnych procesów w przemyśle rolno-spożywczym. Wykorzystywane są między innymi w przemyśle: piekarniczym (ciasta i zakwas chlebowe), piwowarskim, winiarskim i gorzelniczym do produkcji piwa, wina i spirytusu oraz w mleczarstwie do produkcji kefirów. Stosuje się je również w przemyśle

mięsnym, w celu neutralizacji kwasu mlekowego, dzięki czemu polepsza się smak produktów.

Określenie dawki promieniowania elektromagnetycznego powodujące stymulację rozwoju o kilka procent może mieć wymierne efekty ekonomiczne w tych procesach.

Badania były prowadzone w Instytucie Eksploatacji Maszyn, Ergonomii i Procesów Produkcyjnych Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie na stanowisku pomiarowym którego elementem roboczym jest solenoid o długości 480 mm i średnicy pola roboczego 60 mm przedstawiony na rysunku 1.



Rys. 1. Widok elementu roboczego solenoidu [3]

Urządzenie zasilane jest za pomocą specjalnie zaprojektowanego transformatora o mocy 15 kVA. Transformator po stronie wtórnej posiada wyprowadzenia, dzięki którym możliwe było zasilanie wzbudnika różnymi natężeniami prądu. Urządzenie zasilane było za pomocą transformatora o napięciu pierwotnym 230 V i częstotliwości 50 Hz. Zastosowanie specjalnie zaprojektowanego transformatora pozwala na regulację indukcji magnetycznej w środku rdzenia powietrznego solenoidu zgodnie z zależnością (1), gdzie zakres indukcji B uwarunkowany jest wartością prądu przepływającego przez uzwojenie cewki:

$$(1) \quad B = \frac{\mu_0 \cdot n \cdot I}{L} [T]$$

gdzie: B - indukcja w solenoidzie [T], μ_0 - przenikalność magnetyczna w próżni, n - liczba zwojów solenoidu [szt.], I - prąd zasilający solenoid [A], L - długość solenoidu [m]. Interakcja czynników: indukcja magnetyczna i czas stymulacji pozwala na określenie wpływu obu parametrów

na przebieg oddziaływania indukcji na badany materiał. Wprowadzone pojęcie dawki ekspozycyjnej umożliwia porównanie ze sobą kolejnych kombinacji indukcji magnetycznej i czasu, ponieważ możliwe jest w przypadku stymulacji materiału badawczego uzyskanie podobnego efektu przez zwiększenie lub zmniejszenie zastosowanej indukcji magnetycznej lub modyfikację czasu stymulacji zgodnie z ogólnie przyjętym założeniem (2) [7]:

$$(2) \quad D = \frac{10^7}{4 \cdot \pi} \cdot B^2 \cdot t_e [J \cdot m^{-3}]$$

gdzie: B -indukcja magnetyczna [T], t_e -czas ekspozycji [s]. Solenoid pozwala uzyskiwać natężenia pola elektromagnetycznego 20 mT, 40 mT, 70 mT oraz 90 mT przy częstotliwości 50 Hz.

W tabeli 1 przedstawiono dawki ekspozycyjne dla wybranych natężeń pola elektromagnetycznego zastosowane do stymulacji drożdży *Yarrowia lipolytica*.

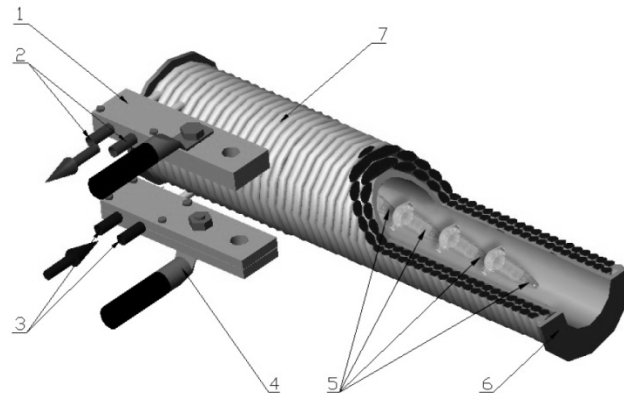
Tabela 1. Dawki ekspozycyjne dla danego natężenia pola magnetycznego i przyjętych czasów ekspozycyjnych

Natężenie pola magnetycznego mT	Czas	Dawka ekspozycyjna kJ·m ⁻³
	Min.	
20	30	573
	60	1146
	90	1720
	120	2293
	150	2866
	180	3439
40	30	2293
	60	4586
	90	6879
	120	9172
	150	11465
	180	13758
70	30	7022
	60	14045
	90	21067
	120	28089
	150	35111
	180	42134
90	30	11608
	60	23217
	90	34825
	120	46433
	150	58041
	180	69650

Sposób stymulacji drożdży poglądowo przedstawiono na rysunku 2. Stanowisko zostało przebadane za pomocą teslomierza SMS - 102 Smart Magnetic Sensor, a pomiar wykonany został wzdłuż osi cewki z rozdzielczością 1 cm.

Po dokonaniu pomiarów przeprowadzono stymulację na drożdżach *Yarrowia lipolytica*. W czasie pomiarów był także dokonywany pomiar temperatury w obszarze roboczym. Stałość temperatury była stabilizowana poprzez regulację strumienia cieczy chłodzącej. Materiał badawczy to gatunek grzybów z rzędu drożdżakowców, z monotypowego rodzaju *Yarrowia*, wykorzystujących tłuszcze jako źródło węgla i energii. Stwierdzono występowanie *Y lipolytica* w niektórych gatunkach serów [9] oraz suchych kielbas dojrzewających. Obecnie drożdże te są stosowane jako szczepionki do produkcji przemysłowej serów [10]. Wykorzystywane są do przetwarzania tłuszców odpadowych na biomasę drożdżową stanowiącą uzupełnienie pasz dla zwierząt. Biomasa charakteryzuje się wyższym udziałem aminokwasów egzogennych niż drożdże paszowe.

Dodatkowo drożdże *Y lipolytica* stosowane są do biosyntezy kwasu cytrynowego [8] oraz erytrytu [2].



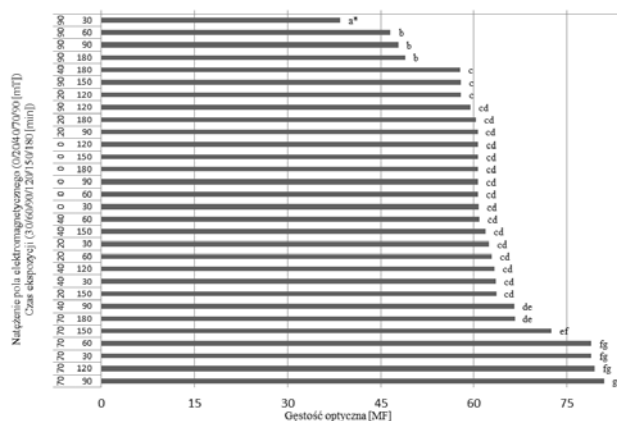
Rys. 2. Schemat solenoidu do magnetycznej stymulacji drożdży w epenforach: 1 – klamra zasilająca; 2 – wylot cieczy chłodzącej; 3 – wlot cieczy chłodzącej; 4 – przewody zasilające; 5 – ependorfy z próbkami drożdży; 6 – karkas; 7 – uzwojenie

Metodyka badań

Wszystkie doświadczenia prowadzone były w zmiennym polu elektromagnetycznym. Drożdże hodowano na pożywce płynnej YPD (Ekstrakt drożdżowy Pepton Dekstroza) w kolbach Erlenmayer'a na wytrząsarce, w temperaturze 28°C, przy 180 rpm. Pożywkę sterylizowano w autoklawie mikrofalowym MicroJet. Hodowlę inokulum prowadzono przez 18 godzin. Po tym czasie ustalano wyjściową gęstość optyczną równą 0,8 MF. Następnie przenoszono po 25 cm³ hodowli do sterylnych pojemników. Próbkę poddano oddziaływaniu zmiennego pola elektromagnetycznego w czasie od 30 do 180 minut (co 30 minut), stosując różne natężenia pola (20 mT, 40 mT, 70 mT, 90 mT), przy stałej częstotliwości 50 Hz. Każdorazowo po zakończonym eksperymencie próbki przenoszono do sterylnych kolbek Erlenmayer'a i hodowano na wytrząsarce, w temperaturze 28°C, 180 rpm. Hodowlę prowadzono przez 120 godzin, dokonując co 12 godzin pomiaru zmętnienia w skali McFarlanda za pomocą densytometru.

Wyniki

Do analizy statystycznej danych wykorzystano program Statistica 12 (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA).



*średnie oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie wg testu Tukey'a ($\alpha=0,05$)

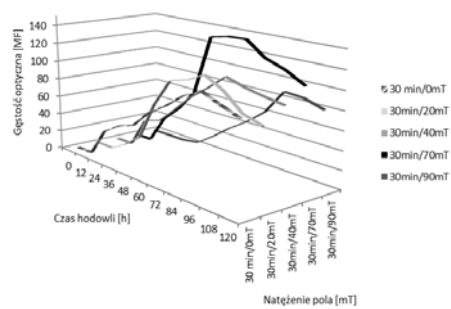
Rys. 3. Średnie wartości gęstości optycznej zawiesiny drożdży *Yarrowia lipolytica* [MF] po oddziaływaniu pola elektromagnetycznego o różnym natężeniu [mT] oraz różnym czasie ekspozycji [min].

Przeprowadzono dwuczynnikową analizę wariancji (ANOVA), a istotność różnic pomiędzy średnimi zweryfikowano testem Tukey'a ($\alpha=0,05$).

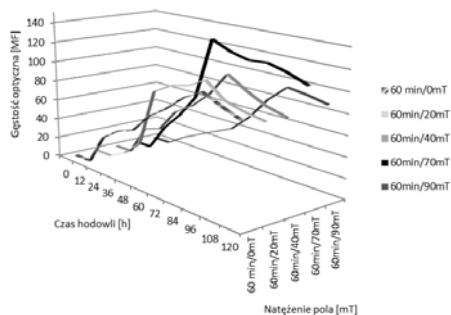
Wyniki badań średnie wartości gęstości optycznej zawiesiny drożdży *Yarrowia lipolytica* po oddziaływaniu pola elektromagnetycznego o różnym natężeniu oraz różnym czasie ekspozycji przedstawiono na rysunku 3.

Na rysunku 4 a-f przedstawiono oddziaływanie pola elektromagnetycznego o różnym natężeniu na wzrost drożdży *Yarrowia lipolytica* z uwzględnieniem czasu hodowli oraz czasu ekspozycji (a) 30 min (b) 60 min (c) 90 min (d) 120 min (e) 150 min (f) 180 min.

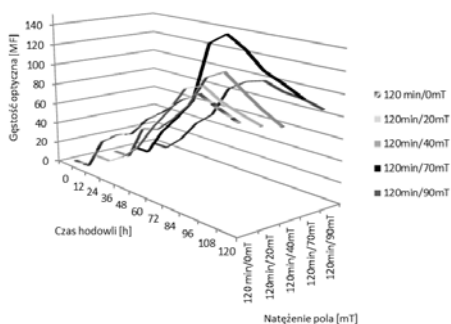
Najwyższe wartości gęstości optycznej zawiesiny drożdży obserwowano po 90 minutach ekspozycji próbek w polu elektromagnetycznym o natężeniu 70 mT, najniższe zaś po 30 minutach ekspozycji w polu o natężeniu 90 mT. Wartości gęstości optycznej w próbkach po zastosowaniu pola elektromagnetycznego o natężeniu 70 mT były istotnie wyższe w porównaniu do próbek kontrolnych ($p<0,05$). 30 minutowa ekspozycja próbek w polu o natężeniu 90 mT spowodowała istotny spadek gęstości optycznej zawiesiny drożdży w porównaniu do próbek kontrolnych, nie wystawionych na działanie pola elektromagnetycznego ($p<0,05$). Nie stwierdzono istotnych różnic w gęstości optycznej pomiędzy próbkami kontrolnymi, a próbkami po zastosowaniu pola o natężeniu 20 mT i 40 mT, niezależnie od czasu ekspozycji ($p>0,05$).



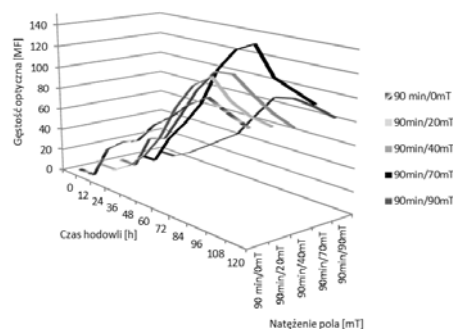
a)



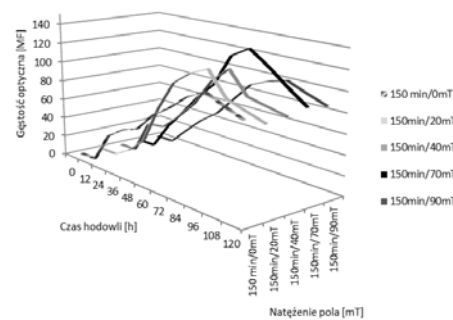
b)



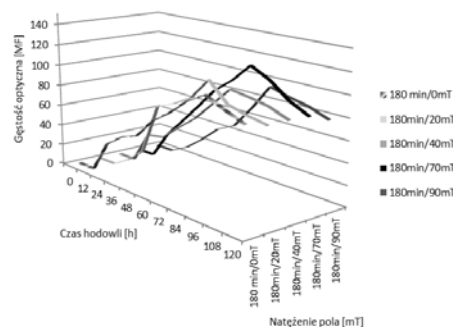
c)



d)



e)



f)

Rys. 4. Oddziaływanie pola elektromagnetycznego o różnym natężeniu [mT] na wzrost drożdży *Yarrowia lipolytica* z uwzględnieniem czasu hodowli [h] oraz czasu ekspozycji [min]: (a) 30 min (b) 60 min (c) 90 min (d) 120 min (e) 150 min (f) 180 min

Wnioski

Uzyskane wyniki pokazały, że wszystkie wartości natężenia pola elektromagnetycznego powodowały większe przyrosty biomasy drożdży w stosunku do próbki kontrolnej. Najlepsze przyrosty obserwowano przy wartości natężenia pola elektromagnetycznego równego 70 mT. Wyniki te obserwowano przy różnych czasach oddziaływania pola elektromagnetycznego na badane próbki. W przypadku oddziaływania pola elektromagnetycznego o natężeniach: 40 mT, 70 mT i 90 mT maksymalne przyrosty biomasy drożdży obserwowano w 84 godzinie hodowli i po 120 minutach oddziaływania pola, natomiast w próbce kontrolnej i poddanej oddziaływaniu pola o wartości natężenia 20 mT maksymalny przyrost biomasy następował w 96 godzinie hodowli i również po 120 minutach oddziaływania pola.

Autorzy: dr inż. Marek OSTAFIN, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Katedra Mikrobiologii, E-mail: mostafin@ar.krakow.pl, dr inż. Tomasz DRÓŻDŻ, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Wydział Inżynierii Produkcji i Energetyki, E-mail: Tomasz.Drozd@ur.krakow.pl, mgr inż. Karol BULSKI, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Katedra Mikrobiologii dr inż. Piotr NAWARA,

Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Wydział Inżynierii Produkcji i Energetyki, dr inż. Krzysztof NĘCKA, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Wydział Inżynierii Produkcji i Energetyki; dr inż. Stanisław LIS, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Wydział Inżynierii Produkcji i Energetyki, dr hab. inż. Paweł KIELBASA, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Wydział Inżynierii Produkcji i Energetyki, E-mail: Pawel.Kielbasa@ur.krakow.pl, dr inż. Marcin TOMASIK, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Wydział Inżynierii Produkcji i Energetyki; dr inż. Maciej OZIEMBLÓWSKI, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Nauk o Żywności, E-mail: Maciej.Oziemblowski@up.wroc.pl.

LITERATURA

- [1] Lipiec J., Janas P., Barabas W., *Effecto of oscillating magnetic field pulses on the survival of selected microorganisms*, International Agrophysics, (2004), nr 18
- [2] Marcinkiewicz M., Juszczak P., Rywińska A., Rymowicz W., *Wpływ warunków hodowli drożdży Yarrowia lipolytica na wydajność syntezy erytrytolu z glicerolu*, Nauki Inżynierskie i Technologie Engineering Sciences and Technologies, (2012) nr 3 (6), s. 90-98
- [3] Marks N., Szczółka P., *Wpływ stymulacji sadzeńiaków zmiennym polem magnetycznym na plonowanie ziemniaków*, Acta Agrophysica, (2011) nr 17(1), s. 135-150
- [4] Marks N., *Wpływ zmiennego pola magnetycznego na straty przechowalnicze bulw ziemniaka*, Inżynieria Rolnicza, (2005), nr 10 (70), s. 295-302
- [5] Mertens B., Knorr D., *Development of nontemperatural process for food preservation*, Food Technology, (1992) 46 (5)
- [6] Pazur A, Scheer H., *The growth of freshwater green algae in weak alternating magnetic fields of 7.8 Hz frequency*, Z Naturforsch., (1992) 47c:690–694
- [7] Pietruszewski S. *Magnetyczna biostymulacja materiału siewnego pszenicy jarej*, AR Lublin, Rozprawy Naukowe Akademii Rolniczej w Lublinie, (1999) (220)
- [8] Rywińska A., Rymowicz W., *Biosynteza kwasu cytrynowego z glicerolu przez Yarrowia lipolytica w hodowli stacjonarnej powtórzeniowej aromatów i enzymów*, Inżynieria i Aparatura Chemiczna, (2009) 3, s. 101–102
- [9] Suzzi G., Lanorte M. T., Galgano F., Andrighetto C., Lombardi A., Lanciotti R., Guerzoni M. E., *Proteolytic, lipolytic and molecular characterisation of Yarrowia lipolytica isolated from cheese*, International Journal of Food Microbiology, (2001) nr 9, 69 (1-2), s. 69-77
- [10] Tempel van den T., Jakobsen M., *The technological characteristics of Debaryomyces hansenii and Yarrowia lipolytica and their potential as starter cultures for production of Danablu*, International Dairy Journal. (2000) 19 (4), s. 263-270
- [11] Zhadin M. N., *Review of Russian Literature of Biological Action of DC and Low-Frequency AC Magnetic Fields*, Bioelectromagnetics, (2001), 22:27-45.