COMUNICACIONES REPORTS COMUNICACÕES

ACCIÓN DE UN CAMPO MAGNÉTICO SOBRE UN CULTIVO

AIREADO DE Saccharomyces cerevisiae

José Edgar Zapata Montoya, Margarita Hoyos Ramírez y Germán Moreno Ospina

RESUMEN

El crecimiento de la levadura Saccharomyces cerevisiae en melaza (miel virgen de caña) fue evaluado en presencia de un campo magnético (CM) variable de alta frecuencia y extremadamente baja intensidad. Se compararon los resultados obtenidos en cultivos creciendo bajo la acción del CM y en condiciones ambientales normales (controles). Se hicieron ensayos en fermentadores de 400ml, a 25°C. El flujo de aire utilizado en cada fermentador fue de aproximadamente 1vvm. El CM, con frecuencia de 100kHz y densidad de campo de 250mG fue aplicado por 200s. Los resultados mostraron que el CM puede estimular el crecimiento del cultivo bajo condiciones de aireación y sin ellas, mostrando un límite para el efecto de estimulación, por encima del cual se puede presentar un efecto inhibitorio sobre el creci-

miento del cultivo. Bajo ciertas condiciones, el cultivo presenta una especie de adaptación al efecto del CM y la levadura puede superar la inhibición provocada por éste. 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. La aireación del cultivo puede interactuar con el efecto de los CM sobre su crecimiento y consumo de sustrato. Al aplicar una dosis de tratamiento magnético al cultivo de levadura, se encontró que a las 25h el cultivo con tratamiento presentaba un crecimiento 14,4% mayor que el cultivo control. Al mismo tiempo el consumo de sustrato por parte del cultivo tratado era menor que el del control.

Introducción

Los campos magnéticos (CM) generan efectos de diferente naturaleza sobre las células de los microorganismos. Entre los efectos más importantes encontrados se cuentan cambios en la dirección de migración (Blakemore y Frankel, 1981; Farina et al., 1982; Fa-

rina et al., 1983; Mottas y Lins, 1986; Adamkiewicz et al., 1987), alteración del crecimiento y la reproducción (Jennison, 1937; Kimball, 1938; Moore, 1979), cambios en la síntesis de ADN (Liboff et al., 1984) y en la orientación de biomoléculas y biomembranas (Maret y Dransfeld, 1977), y alteración

del flujo de iones a través de la membrana plasmática (Conti et al., 1985; Collis y Segal, 1988). Estos efectos de manera individual o combinada, generan como resultado neto una modificación en la velocidad de reproducción celular (Gerencser et al., 1962; Pothakamury et al., 1993; Goldsworthy et al., 1999; Zapata et al.,

2002). Los efectos de los CM sobre el crecimiento de los microorganismos pueden ser para incrementarlo o para disminuirlo (Pothakamury *et al.*, 1993). Además, se puede afectar el consumo de sustrato por parte del cultivo (Jung y Sofer, 1997)

En el presente trabajo se evaluó el crecimiento de la le-

PALABRAS CLAVE / Campo Magnético / Consumo de Sustrato / Fermentación Aireada /

Recibido: 27/08/2004. Modificado: 10/05/2005. Aceptado: 19/05/2005.

José Edgar Zapata Montoya. Ingeniero Químico, Universidad de Antioquia (UA), Colombia. M.Sc. en Biotecnología, Universidad Nacional de Colombia. Aspirante a Ph.D., Universidad de Granada, España. Profesor, Universidad de Antioquia, Colombia. Dirección: AA 1226, Medellín, Colombia. e-mail: joseedgar@epm.net.co

Margarita Hoyos Ramírez. Química Farmacéutica. UA, Co-

lombia. Profesora, Universidad de Antioquia, Colombia.

Germán Moreno Ospina. Ingeniero Electricista, Universidad Nacional de Colombia. M.Sc. y D.Sc. en Ingeniería Eléctrica, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil. Profesor, Facultad de Ingeniería, Universidad de Antioquia, Colombia. e-mail: gmoreno@udea.edu.co

SUMMARY

The growth of a Saccharomyces cerevisiae culture in cane molasses was evaluated under the action of a variable magnetic field (MF) of high frequency and very low flux density. Cultures growing under MF action were compared against cultures in normal environment (control). Tests were performed in 400ml reactors at 25°C. The air flux in the reactors was approximately 1 vvm. A 100kHz MF of 250mG was applied for 200s. Results show that the MF can stimulate culture growth with and without aeration and that there is a limit for the stimulation over which growing inhibition appears. Under certain conditions, the culture

presents a sort of adaptation to the MF action and the yeast can overcome the inhibition. It was noticed that MF affects substrate consumption, which means that under certain conditions MF treated micro-organisms can make better use of the substrate. Culture aeration interacts with the MF effect on growth and substrate consumption. After application on a single MF treatment to the yeast culture, it was noticed that after 25h the culture showed a 14.4% growth increment compared to the control. Also, substrate consumption by the treated culture was lower than in the control culture.

RESUMO

O crescimento do fermento Saccharomyces cerevisiae em melaço (mel virgem de cana) foi avaliado na presença de um campo magnético (CM) variável de alta freqüência e extremamente baixa intensidade. Compararam-se os resultados obtidos em cultivos crescendo sob a ação do CM e em condições ambientais normais (controles). Fizeram-se ensaios em fermentadores de 400ml, a 25°C. O fluxo de ar utilizado em cada fermentador foi de aproximadamente 1vvm. O CM, com freqüência de 100kHz e densidade de campo de 250mG foi aplicado por 200s. Os resultados mostraram que o CM pode estimular o crescimento do cultivo sob condições de arejamento e sem elas, mostrando um limite para o efeito de estimulação, por encima do qual se pode apresentar um efeito inibitório sobre o crescimento do cul-

tivo. Sob certas condições, o cultivo apresenta uma espécie de adaptação ao efeito do CM e o fermento pode superar a inibição provocada por este. Observou-se que os CM afetam o consumo de substrato por parte do cultivo, mostrando que sob certas condições os microorganismos tratados podem ter melhor aproveitamento do substrato. O arejamento do cultivo pode interatuar com o efeito dos CM sobre seu crescimento e consumo de substrato. Ao aplicar uma dose de tratamento magnético ao cultivo da levedura, se encontrou que após 25h o cultivo com tratamento apresentava um crescimento 14,4% maior que o cultivo controle. Ao mesmo tempo o consumo de substrato por parte do cultivo tratado era menor que o do controle.

vadura Saccharomyces cerevisiae en melasa (miel virgen), en presencia de un CM variable de alta frecuencia y extremadamente baja intensidad. Se compararon los resultados obtenidos en cultivos creciendo bajo la acción del CM y cultivos creciendo en condiciones ambientales normales (control), en sistemas aireados y no aireados, considerando para la comparación el crecimiento del cultivo y el consumo de sustrato.

Materiales y Métodos

Microbiológicos

La cepa. Se utilizó una cepa comercial de Saccharomyces cerevisiae panaria, la cual se adquirió deshidratada en un supermercado local de la ciudad de Medellín, Colombia. La cepa inicial fue reactivada inoculando la levadura al 3% (p/v) en un medio de cultivo líquido, durante 24h a 30°C. El medio líquido fue previamente esterilizado a 121°C y contenía (% p/p) miel virgen de caña (20), KH₂PO₄ (0,2), (NH₄)SO₄ (0,3), MgSO₄7H₂O

(0,1), extracto de levadura (0,4), y peptona (0,36). Este mismo medio fue utilizado como medio de cultivo durante las fermentaciones. Tras 24h de cultivo en medio líquido, la levadura se extendió sobre agar Saboureaud sólido y se mantuvo a 30°C, por 24h como mínimo, para tener una provisión de la cepa para los diferentes ensayos.

Condiciones de cultivo. Se utilizaron fermentadores cilíndricos de 600ml de capacidad, con un diámetro de 8,1cm, sin agitación mecánica y aireados por medio de un aspersor de vidrio con aire previamente filtrado. Para las fermentaciones se partió de los microorganismos en los tubos en agar Saboureaud sólido. De estos tubos se tomaron las células por disolución en medio líquido, se llevaron a los recipientes de fermentación, cada uno con 400ml de medio líquido, buscando en cada caso que la absorbancia fuera entre 0,15 y 0,20 (0,6g/l). El flujo de aire utilizado en cada fermentador fue de aproximadamente 1vvm y la temperatura de 25°C.

Determinaciones analíticas. Se tomaron muestras del caldo de fermentación a intervalos de tiempo variable (entre 4 y 8h). De estas muestras se hicieron análisis de azúcar y biomasa. Se adoptó el método de peso seco para el análisis de biomasa (García et al., 1991) y para el análisis de azúcares se utilizó el método de antrona (Castaño y Gómez, 1995). Se tomaron dos fermentadores como controles (sin aplicación de CM) y a los otros dos se les aplicó el tratamiento con CM. Se graficó la concentración de biomasa contra el tiempo y la concentración de azúcar contra el tiempo. En cada punto de las gráficas se señaló la variabilidad de los datos como +/la desviación estándar de las dos réplicas realizadas.

Magnéticos

Sistema de aplicación de CM. El sistema para generación de CM se constituyó de dos componentes principales, el generador de señal y el sistema de bobinas. La medición del campo se realizó con un Gausíme-

tro de efecto Hall, marca F.W. Bell, modelo 9550.

La señal eléctrica usada para alimentar las bobinas se basó en el sistema propuesto por Goldsworthy et al. (1999), con algunas modificaciones. El generador entregó una onda cuadrada de amplitud pico-pico variable de 0-25v, con frecuencia entre 10 y 120kHz, la cual fue modulada en amplitud por otra onda cuadrada de frecuencia entre 0 y 3kHz. La señal, que fue monitoreada en un osciloscopio, se liberaba como una serie de pulsos con una relación marca:espacio 1:1 y con una frecuencia de repetición definido por la onda moduladora de 1kHz. Esta señal se generó modulando una onda cuadrada de 100kHz, con otra onda cuadrada de 1kHz. La señal se entregaba a una bobina en el interior de la cual se colocaron los fermentadores, por un tiempo de 200s. La densidad de campo usada fue de 250mG.

Diseño de las bobinas. Se diseñaron bobinas para una frecuencia de 100kHz, las cuales se elaboraron en alambre trenzado, con un tubo de cartón como soporte, con diámetro interior de 8,2cm, altura de 15cm y núcleo de aire, en el interior del cual se colocaron los recipientes de fermentación durante el tratamiento con CM. Las dimensiones de las bobinas se definieron con base en las dimensiones de los recipientes usados para contener el cultivo durante la aplicación del campo, buscando que el cultivo se ubicara en la región donde el campo es más uniforme, es decir el centro geométrico del cilindro conformado por la bobina (Kaufman y Seidman, 1982).

Modo de Operación

Tipo de ensayos. Se aplicaron tratamientos con CM de la siguiente forma:

A- Una dosis sin aireación: Aplicación de un tratamiento antes de iniciar la fermentación sin aireación.

B- Una dosis con aireación: Aplicación de un tratamiento antes de iniciar la fermentación con aireación.

C- Dos dosis con aireación: Aplicación de un tratamiento antes de iniciar la fermentación y otro a las 4 horas con aireación.

D- Tres dosis con aireación: Aplicación de un tratamiento antes de iniciar la fermentación, otro a las 2 horas y otro a las 4 horas con aireación.

Resultados y Discusión

Ensayo A - Una dosis sin aireación

El objetivo de este experimento fue evaluar la acción de los campos magnético sobre un cultivo con el menor número de perturbaciones posibles, y tener un punto de referencia para comparar la posible interacción de los CM con la presencia del oxígeno. En la Figura 1a se presenta la curva de crecimiento de un cultivo de levadura bajo la acción de CM, comparado con la de un cultivo control (sin CM). En la figura se aprecia como las curvas de crecimiento para los dos cultivos proceden de forma prácti-

camente igual durante las primeras horas, presentando diferencias después de iniciada la fase de crecimiento exponencial. Esta diferencia se incrementó levemente a través del tiempo, hasta que finalizó la fase exponencial. Después de 10h, el cultivo que recibió el tratamiento con CM manifestó un crecimiento celular 4,4% mayor que el control. Este resultado se corresponde con las observaciones de Goldsworthy et al. (1999) y Zapata et al. (2002), quienes aplicaron CM de extremadamente baja intensidad y alta frecuencia, sobre S. cerevisiae provocando estimulación en su crecimiento.

En la Figura 1b se presentan las curvas de concentración de sustrato contra tiempo para los dos cultivos. Se observa que la concentración de azúcar en los controles es mayor que en los tratamientos. Con la forma de las curvas en la Figura 1, se observa que aunque los CM afectan el crecimiento de la S. cerevisiae, no afectan de manera apreciable su capacidad para consumir sustrato, bajo las condiciones de operación presentes (sin aireación). Por eso la leve diferencia entre las curvas de sustrato (Figura 1b) se puede explicar con base en que los cultivos sometidos a CM tienen una mayor concentración de células de levadura, por lo que el consumo de sustrato es mayor en ellos. Se debe tener en cuenta que en un cultivo sin aireación, éste se orienta hacia la fermentación más que hacia la producción de biomasa (Duarte, 1998).

Ensayo B - Una dosis con aireación

Se aplicó un tratamiento (una dosis) de CM al cultivo, durante los primeros minutos del proceso de fermentación aireada. En la Figura 2a se presenta la curva de crecimiento de este cultivo, comparado con un cultivo control (sin CM). En esta figura se observa que los dos cultivos permanecen prácticamente iguales durante las primeras horas, presentándose diferencias a partir de 10h. A las 25h, el cultivo con tratamiento

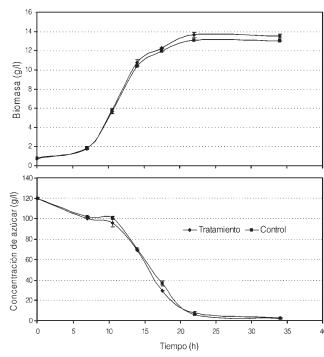


Figura 1. a: crecimiento y b: consumo de sustrato en el cultivo de *S. cerevisiae* en miel virgen, con aplicación de una dosis de CM en un cultivo no aireado.

presenta un crecimiento 14,4% mayor que el cultivo control. Obsérvese que tanto en el ensa-yo A como en el B, se presenta un cierto nivel de incremento en el crecimiento del cultivo

tratado con respecto al control, siendo mayor este incremento en el ensayo B. Esto se debe en parte a la presencia del O_2 en el ensayo B, que hace que el cultivo se oriente hacia la

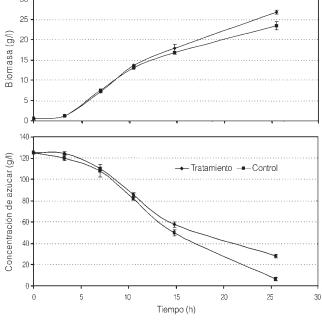


Figura 2. a: crecimiento y b: consumo de sustrato en el cultivo de *S. cerevisiae* en miel virgen, con aplicación de una dosis de CM en un cultivo aireado.

producción de biomasa. También se puede atribuir a la turbulencia producida por la aireación, que genera un mayor efecto del CM al combinar el efecto entre el movimiento de las partículas en suspensión y la oscilación del campo (Higashitani et al., 1992; Goldsworthy et al., 1999). Además, se ha observado que el CM puede afectar la adsorción-desorción del O2 en solución y de esta forma afectar la utilización del O2 por parte de los organismos vivos (Ueno y Harada, 1982).

En la Figura 2b se presentan las curvas de concentración de sustrato contra tiempo para los dos cultivos. Se observa que el consumo de azúcar por parte del cultivo control es mayor que el del tratamiento con CM. Una probable causa de esto es que el tratamiento con CM genere un mejor aprovechamiento del sustrato que ingresa a la célula y de esa forma aunque la población microbiana en el cultivo sea mayor, el consumo de sustrato es menor. En efecto, el CM puede acelerar la entrada de algunos iones de importancia metabólica como Ca⁺⁺ (Conti et al., 1985; Dihel et al., 1985; Pothakamury et al., 1993) y Na+ (Collis y Segal, 1988), y de esta forma aumentar la velocidad de las bombas de Na+/Ca++ o K+/Ca++, resultando en un mayor flujo de Ca++ o de otros iones a través de la membrana (Liboff, 1985); de esta manera, parte de la energía magnética transferida al ión desde el campo magnético variable, ayuda a cumplir una acción fisiológica (transporte de Ca++), con lo que la célula puede ahorrar parte de su energía y en consecuencia requerir menos sustrato para su metabolismo. Esto se puede explicar considerando que los gradientes de concentración electroquímicos que se generan con las bombas de Na-K (y con otras bombas) aportan energía suficiente para el transporte activo de diversas sustancias esenciales. En estos sistemas, una proteína portadora puede co-transportar moléculas de importancia metabólica contra su gradiente de concentración, mientras se desplazan iones Na⁺, K⁺ o H⁺ a favor de su gradiente de concentración (Solomon *et al.*, 2001).

Ensayo C - Dos dosis con aireación

En este caso se aplicó una dosis de CM al cultivo durante los primeros minutos del proceso de fermentación aireada y una segunda dosis tras 4h de cultivo. En la Figura 3a se presenta la curva de crecimiento de este cultivo, comparado con un cultivo control. Se observa que aunque el cultivo con aplicación del tratamiento con CM, inicialmente estaba un poco por encima del control, después de la aplicación de la segunda dosis, los dos cultivos se igualan y al final del tiempo de cultivo los controles están 8,6%, por encima del cultivo tratado con CM. Este comportamiento se puede explicar teniendo en cuenta que el efecto fisiológico logrado con una dosis de CM puede convertirse en un efecto adverso para el crecimiento, cuando el tiempo de aplicación supera un cierto valor. Este resultado concuerda con lo observado por Goldsworthy et al. en 1999 y por Zapata et al. en 2002, quienes observaron que al aplicar CM variables de extremadamente baja intensidad y alta frecuencia sobre cultivos de S. cerevisiae con diferentes tiempos de tratamiento, existía un tiempo al cual la estimulación del cultivo tratado era máxima con respecto al control, pero que por encima de ese tiempo, se presentaba una inhibición del cultivo tratado con respecto al control.

En la Figura 3b se presentan las curvas de concentración de sustrato contra tiempo para los dos cultivos. Allí la concentración de sustrato del cultivo con tratamiento está un poco por debajo con respecto al cultivo control v se mantiene así durante todo el proceso de fermentación. Teniendo en cuenta que el cultivo tratado con CM tiene un crecimiento de biomasa menor que el control, parecería contradictorio que tuviera un mayor consumo de sustrato. La posible explicación está en

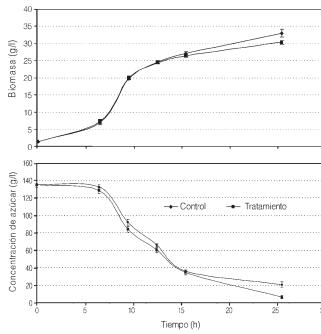


Figura 3. a: crecimiento de *S. cerevisiae*, y b: consumo de sustrato en el cultivo en miel virgen, con aplicación de dos dosis de CM en un cultivo aireado.

que el cultivo tratado puede estar sometido a una condición de estrés por acción de la doble aplicación del tratamiento con CM (dos dosis), lo cual le puede representar un mayor desgaste de energía y en últimas un mayor consumo de sustrato, aunque su crecimiento celular no sea mayor.

Ensayo D - Tres dosis con aireación

Se aplicó una dosis de CM durante los primeros minutos del proceso de fermentación aireada, una segunda dosis a las

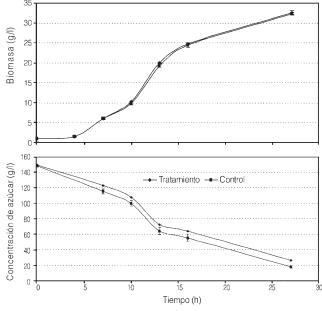


Figura 4. a: crecimiento de *S. cerevisiae*, y b: consumo de sustrato en el cultivo en miel virgen, con aplicación de tres dosis de CM en un cultivo aireado.

2h de cultivo y una tercera a las 4h. En la Figura 4a se presenta la curva de crecimiento de este cultivo, comparado con un cultivo control. En ella se observa que los dos cultivos presentan un crecimiento similar hasta 7h, después de lo cual el cultivo con tratamiento se eleva por encima de los controles llegando a una diferencia máxima de 3,9% a las 13h. Al final del ensayo, las diferencias entre los tratamientos y los controles, se aminora, sin llegar a igualarse. Al analizar estos resultados conjuntamente con los de las Figuras 1, 3 y 5, se denota un mecanismo complejo de interacción entre los CM y el cultivo de levadura. Parece ser que la aplicación de una tercera dosis reactiva el metabolismo de las células de levadura, activando mecanismos de estimulación que no se presentaban con la aplicación de un número de dosis inferior. Otra posible explicación es la adaptación del microorganismo a la presencia del CM después de un cierto tiempo de exposición, quizás por una mayor presión selectiva al aplicar dosis de CM magnético a intervalos de tiempo menores. Esto es consecuente con lo observado por Gerencser et al. en 1962, quienes al someter un cultivo de Serratia marcescens al efecto de CM, observaron que el crecimiento del cultivo tratado era superior inicialmente, después de algún tiempo estaba por debajo, y al final estaba considerablemente por encima del control. A esto se le atribuyó una adaptación del cultivo a la presencia del CM.

En la Figura 4b se observa que el consumo de sustrato del cultivo control y del tratado, durante las primeras horas es muy similar. Después de 7h, el control tiene menor consumo y al final del proceso de fermentación, el cultivo tratado tiene menor consumo de sustrato. Se llega a un resultado similar al presentado en las Figuras 2a y b, en las que a pesar de tenerse un mayor crecimiento de la biomasa se tiene un menor consumo de sustrato, con lo que se manifiesta un mejor aprovechamiento del sustrato por parte del cultivo sometido al CM.

Conclusiones

Con base en los resultados presentados sobre el crecimiento de la levadura y el consumo de sustrato en presencia de CM, se puede concluir:

Los CM afectan el crecimiento de los cultivos de levadura y pueden incrementar la concentración celular por aplicación de una o varias dosis. Además pueden afectar la eficiencia en el consumo de sustrato, puesto que los cultivos tratados con CM presentan, en algunos casos, menores consumos de sustrato que los controles, a pesar de tener mayor concentración de biomasa.

La presencia de un sistema de aireación puede interactuar con el CM, debido al movimiento de las partículas en el interior del fluido que cruzan las líneas de campo, modificando su forma de acción, además del efecto que los CM sobre el O₂ disuelto en un medio líquido.

El efecto de los CM sobre el crecimiento del cultivo no siempre es de incremento, y bajo ciertas condiciones se presenta descenso del crecimiento del cultivo tratado con respecto a sus controles. Aunque para este fenómeno no se tiene una explicación, parece ser que el efecto metabólico que los CM generan sobre las células de levadura, puede ser nocivo para su crecimiento si se supera un cierto umbral. Por otro lado, se observa que cultivos sometidos a tratamientos inclusive por encima de dicho umbral, pueden llegar a presentar una especie de adaptación al ambiente magnetizado, presentando al final un crecimiento mayor que los cultivos control.

Por la complejidad de la interacción del CM con los organismos vivos, se requiere adelantar estudios que examinen el fenómeno en cuanto al metabolismo celular, para evaluar si existen algunas proteínas ya sea actuando como sistemas enzimáticos o como proteínas transportadoras, que se vean afectadas por la presencia del

CM. Además, se debe estudiar con más detalle el efecto del CM sobre el transporte a través de las membranas celulares.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Lyda Quinchia, Hernán Restrepo, Marjory Jiménez, Alexander Giraldo, Jhon Serna y Jaime Cano, estudiantes de la facultad de Química Farmacéutica de la Universidad de Antioquia, y al CODI de la Universidad de Antioquia por el apoyo financiero.

REFERENCIAS

- Adamkiewicz VW, Bassous C, Morency D, Lorranin P, Lepage JL (1987) Magnetic response in cultures of Streptococcus mutans ATCC-27607. Exp. Biol. 46: 127-132.
- Blakemore R, Frankel R (1981) Magnetic navegation in bacteria. Scientific American 245: 58-65.
- Castaño H, Gómez J (1995) Determinación de la cinética de una fermentación alcohólica utilizando como sustrato miel. Tesis. Facultad Nacional de Minas. Universidad Nacional de Colombia. Medellín, Colombia. 307 pp.
- Collis CS, Segal MB (1988) Effects of pulsed electromagnetic fields on Na+ fluxes across stripped rabbit colon epithelium. *J. Appl. Physiol.* 65: 124-130.
- Conti P, Gigante GE, Alesse E, Fieschi C, Reale M, Angeletti PU (1985) A role for Ca²⁺ in the effect of low frecuency electromagnetic field on the blastogenesis of human lymphocytes. FEBS Lett. 181: 28-32.
- Dihel L, Smith J, Middaugh R (1985) Effects of extremely low frequency electromagnetic field on the cell division rate and plasma membrane of *Paramecium tetraurelia*. *Bioelectromagnetics* 6: 61-71.
- Duarte A (1998) *Ingeniería Bioquímica*. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia. 529 pp.
- Farina M, Lins H, Mottas D, Danon J (1982) Microorganismes magnetotactiques de la region de Rio de Janeiro. *Centro Brasilero* de Pesquisas Físicas CBPF 039. pp. 1-5.
- Farina M, Lins H, Mottas D, Danon J (1983) Electron microscopy and ultrastructure of a magnetic microorganism. *Centro Brasilero de Pesquisas Físicas CBPF 022*. pp. 1-5.

- García MJ, Zúñiga M, Uruburu F (1991) Métodos directos de medida del crecimiento microbiano. Alimentaria. pp. 31-34.
- Gerencser V, Barnothy M, Barnothy J (1962) Inhibition of bacterial growth by magnetic fields. *Nature 196*: 539-541.
- Goldsworthy A, Whitney H, Morris E (1999) Biological effects of physically conditioned water. *Water Res.* 33: 1618-1626.
- Higashitani K, Okuhara K, Hatade S (1992) Effects of magnetic fields on stability of nonmagnetic ultrafine colloidal particles. *J. Coll. Interface Sci.* 152: 125-131.
- Jennison M (1937) The growth of bacteria, yeast and molds in a strong magnetic fields. *J. Bateriol.* 33: 15-16.
- Jung JT, Sofer S (1997) Enhancement of phenol biodegradation by south magnetic field exposure. J. Chem. Technol. Biotechnol. 70: 299-303.
- Kaufman M, Seidman A (1982) Manual para ingenieros y técnicas en electrónica. McGraw Hill. México. 25 pp.
- Kimball G (1938) The growth of yeast in a magnetic field. *J. Bateriol.* 35: 109-122.
- Liboff A (1985) Cyclotron resonance in membrane transport. Schawn Ser. A: Life Sci. 97: 281-296.
- Liboff A, Williams T, Strong D, Wistair R (1984) Time varying magnetic fields: Effect on DNA synthesis. *Science* 223: 818-820.
- Maret G, Dransfeld K (1977) Macromolecules and membranes in high magnetic fields. *Physica* 86-88B: 1077-1083.
- Moore R (1979) Biological effects of magnetic fields: Studies with microorganisms. *Can. J. Microbiol.* 25: 1145-1151.
- Mottas D, Lins H (1986) Motion of magnetotactic microorganisms. J. Exp. Biol. 121: 153-163.
- Pothakamury U, Barletta B, Barbosa G, Swanson B (1993) Inactivación de microorganismos en alimentos usando campos magnéticos oscilantes. Revista Esp. Ciencia Tecnol. Alim. 33: 479-489.
- Solomon EP, Berg LR, Martin DW (2001) *Biología*. McGraw Hill. Mexico. 1237 pp.
- Ueno S, Harada K (1982) Redistribution of dissolved oxygen concentration under strong DC magnetic fields. IEEE Trans. Magn. 18: 1704-1706.
- Zapata JE, Moreno G, Márquez EJ (2002) Efectos de los campos magnéticos sobre el crecimiento de Saccharomyces cerevisiae. Interciencia 27: 544-550.