Estudio de los efectos de campo magnético estático en la longitud de la bacteria *Escherichia coli* y de sus propiedades eléctricas

A. Z. Martínez-Elena [1,2], J. L. Terán-Melo[2]
[1]Escuela Superior de Ingeniería Mecánica y Eléctrica, Instituto Politécnico Nacional, Edif. 1-5, UPALM-Zacatenco, 07738 México D. F., México. Teléfono (55) 5729-6000, Ext. 54600 E-mail: zefe_2@yahoo.com.mx
[2]Universidad de Nuevas Ciencias médicas S. C., Av. Insurgentes Norte 1865,
Col. Tepeyac Insurgentes, 07020, CDMX, México. Teléfono (55) 5577-0058, juan.teran@escuelaisaacgoiz.com

Resumen — **El siguiente trabajo estudia los cambios de longitud promedio de la bacteria *Escherichia coli* (*E. coli*) al ser expuesta a campo magnético estático (CME) de intensidad de 0.1 T generado por imanes de ferrita. Las bacterias se colocaron en tubos de ensayo y se expusieron al CME en las configuraciones con imán cara norte, cara sur y cara norte-sur y diferentes tiempos de exposición. En nuestros experimentos observamos que el CME tiene efectos en la longitud de *E. coli*, disminuyendo para todas las configuraciones a partir de los 20 minutos y recuperándola después de 18 horas únicamente para imán cara norte-sur. El estudio de las propiedades eléctricas de la bacteria se realizó con espectroscopía de impedancia. En las diferentes configuraciones, las mediciones eléctricas mostraron cambios en la conductividad eléctrica de la bacteria a partir de 10^3 *Hz*.**

Palabras Clave – ***E. coli*, campo magnético, conductividad**

Abstract — **The following work studies the average length changes of the *Escherichia coli* (*E. coli*) when exposed to a static magnetic field (SMF) of intensity of 0.1 T generated by ferrite magnets. Bacteria were placed in test tubes and exposed to SMF in north-face, south-face, and north-south magnet configurations and different exposure times. In our experiments we observed that the SMF has effects on the length of *E. coli*, decreasing for all configurations after 20 minutes and recovering after 18 hours only for the north-south facing magnet. The study of the electrical properties of the bacteria was carried out with impedance spectroscopy. In the different configurations, electrical measurements showed changes in the electrical conductivity of the bacteria starting from 10^3 Hz.**

Keywords — ***E. coli*, magnetic field, conductivity**

I. Introducción

En los últimos años ha sido de interés científico estudiar los efectos causados por la exposición de campo magnético estático en la materia biológica. Se considera que el CME afecta diversas propiedades físicas [1], reacciones bioquímicas [2] y procesos propios de los sistemas biológicos [3]. El CME tiene aplicaciones actualmente en la industria, en la medicina y el cuidado de la salud [4, 5, 6].

Cuando hablamos de investigación con estimulación con CME en sistemas biológicos nos referimos a un amplio campo de estudio el cual es complicado de abordar en su totalidad en este trabajo, y por tal motivo seleccionamos estudiar un solo microorganismo, *E. coli.* Este microorganismo es de nuestro interés ya que habita y se reproduce fácilmente en ambientes compartidos con el ser humano.

Históricamente, la bacteria *E. coli* es uno de los microorganismos más estudiados y en particular, nuestro estudio se enfoca en los efectos e influencias del CME sobre la longitud de esta bacteria. Es importante para nosotros mencionar algunos resultados que se han obtenido por diferentes grupos de investigación relacionados con algunos componentes de las células. Por ejemplo, G. Asghary afirman que *E. coli* tiene la capacidad de migrar a zonas en las que la intensidad de CME es mayor, a este fenómeno se conoce como magnetotaxis [7]. S. Mousavian-Roshanzamir, y su equipo expusieron a la bacteria a CME de intensidades en el rango de 2, 4, 6, 9, 14, 16, 18 y 20 mT con tiempos de exposición de 0, 15, 30, 45, 60, 75 y 90 minutos y encontraron que de 18 a 20 mT influye en la eficiencia del crecimiento celular [8]. El equipo de F. H. Kamel, aplicaron CME dipolar de intensidad 400, 800, 1200 y 1600 Gauss, en periodos de: 24, 48 y 72 horas y reportan cambios en la morfología de las colonias, además, observaron que los CME pueden inducir mutaciones en el microorganismo [9]. Otros trabajos, como el de H. Li mencionan que la aplicación de un CME de 250 mT reduce significativamente el diámetro de las unidades formadoras de colonias (UFC) de *E. coli*, pero no tiene impacto en el número de UFC [10]. M. E. Oboh narra que la acción del CME sobre *E. coli* desencadena una respuesta al estrés oxidativo y esto conduce a la inhibición del crecimiento de estas bacterias [11].

Por otro lado, es bien conocido que la exposición de material biológico a CME induce campos eléctricos, magnéticos y corrientes eléctricas [12 y 13], una de las estructuras celulares susceptibles a cambios bioeléctricos es la membrana celular [14]. Una de las herramientas más eficientes para la caracterización eléctrica de sistemas biológicos es la espectroscopía de impedancia eléctrica [15]. La espectroscopía de impedancia se ha utilizado para medir el potencial de membrana de bacterias vivas y los valores obtenidos, utilizando esta técnica, concuerdan bien usando métodos tradicionales [16], también, la espectroscopía de

impedancia se ha usado para detectar cambios en la resistencia eléctrica para diferentes concentraciones de bacterias vivas y muertas [17].

En este estudio expusimos *E. coli* a CME de mediana intensidad de 0.1 T con el fin de probar los efectos en la conductividad eléctrica, así como cuantificar cambios en la longitud celular.

II. Metodología

A. Cepa bacteriana y condiciones de cultivo

E. coli ATCC 25922 fue cultivada y preservada en agar Müller-Hinton. Después de incubar durante 24 horas a 37 °C, colonias individuales fueron tomadas para inocular 2 ml de medio mínimo que contiene NaCl al 0.9% suplementado con 0.5% de glucosa e incubado a 37 °C.

B. Campo magnético estático

Para obtener el CME utilizamos imanes de ferrita conocidos comercialmente como imanes de dominó, con intensidades promedio de 0.1 Tesla y con dimensiones de $5\ cm\ x\ 2\ cm\ x\ 1\ cm$. La intensidad de los imanes se midió con un teslámetro de la compañía Lake Shore modelo F71-Multi-axis

C. Ensayo de longitud celular y CME

Para probar el efecto del CME en la longitud de *E. coli*, las bacterias fueron cultivadas en tubos de ensayo con 2 ml de medio mínimo a 37 °C. Después de 1 hora de incubación, los imanes de ferrita fueron colocados a los lados de los tubos con las siguientes configuraciones: norte, sur y norte-sur. De cada tubo se tomaron muestras a los 20, 40 y 60 minutos de exposición. Finalmente se tomó una muestra a las 18 horas de exposición. Un tubo con *E. coli* sin exposición al CME fue utilizado como control.

Las muestras obtenidas para cada configuración fueron colocadas en portaobjetos. Las bacterias fueron fijadas con calor y teñidas con cristal violeta al 1%. Posteriormente, las preparaciones se observaron en el microscopio óptico (Olympus BX41) con el objetivo 100x. Mediante una cámara digital se obtuvieron imágenes para su análisis con el software ImageJ

D. Impedancia eléctrica

La espectroscopía de impedancia eléctrica o también conocida como espectroscopía de impedancia dieléctrica es una técnica utilizada para caracterizar o estudiar los diversos mecanismos de conductividad eléctrica, los cuales también se pueden entender a través de la dinámica que adquieren los portadores de carga eléctrica presentes en forma de cargas libres, cargas superficiales, granos, fronteras de granos, iones, moléculas polares, electrones, en un amplio rango de frecuencias [15 y 18]. Esta técnica es comúnmente utilizada para estudiar las propiedades eléctricas de la materia en múltiples áreas de la ciencia, por ejemplo, en el diseño e ingeniería de nuevos materiales, en telecomunicaciones, en ciencias de la tierra, resistencia de materiales, almacenamiento de energía, entre otros. Esta técnica recientemente se ha comenzado a utilizar en la medicina, biología, y áreas relacionadas a la salud del hombre, animales y plantas. En este contexto la impedancia eléctrica se ha utilizado para estudiar las dinámicas eléctricas de células sanas y cancerígenas, en eritrocitos, leucocitos, bacterias, virus, hongos, parásitos y radicales libres en las células [19 y 20].

En este trabajo las mediciones eléctricas se llevaron a cabo con un analizador de impedancias de la marca HP 4284A en un intervalo de frecuencias de 20 Hz a 1 MHz.

III. Resultados

A. Efecto del CME en la longitud celular de E. coli

La bacteria *E. coli* es un bacilo cuya forma geométrica es cilíndrica. Con el fin de estudiar el efecto del CME en la longitud de *E. coli*, se tomaron muestras de los tubos a los 20 min, 40 min, 60 min y 18 horas de exposición colocando imanes de ferrita de 0.1 T a los lados de los tubos (Fig. 1). Se realizaron preparaciones en portaobjetos tal como se describe en la metodología. Las imágenes microscópicas fueron analizadas con ImageJ, midiendo la longitud promedio de al menos 50 bacterias. La preparación control sirvió de comparación.

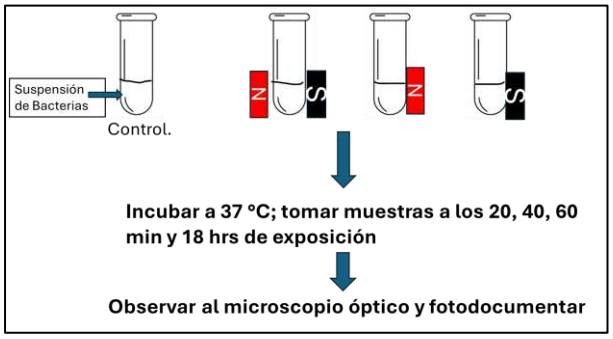

Fig. 1. Diseño experimental para estudiar el efecto del CME en la longitud celular de *E. coli.*

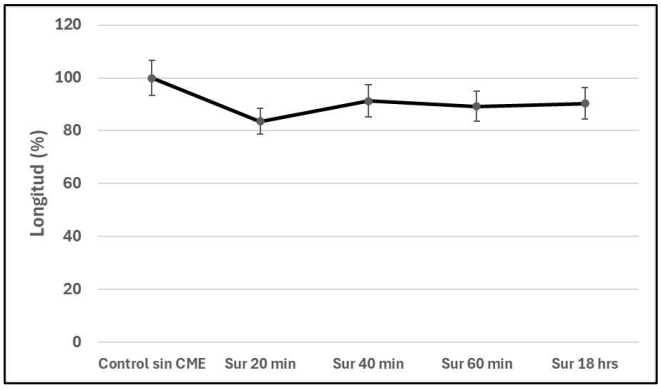

Fig. 2. Efecto de la cara sur del imán de ferrita en la longitud de *E. coli* en diferentes tiempos de exposición.

Los resultados obtenidos muestran que la longitud promedio de *E. coli* varía en función del tiempo de exposición, considerando que la longitud en el control representa el 100%, al exponer las bacterias a la cara Sur del imán la longitud disminuye hasta el 83% a los 20 minutos y después de 18 horas recupera el 90% (Fig. 2).

En el caso de la cara Norte, observamos que después de 40 minutos la longitud disminuye al 87% (Fig. 3). De manera interesante, al colocar las caras norte-sur disminuyó a los 60 minutos hasta un 85% recuperando la longitud después de 18 horas de exposición (Fig. 4).

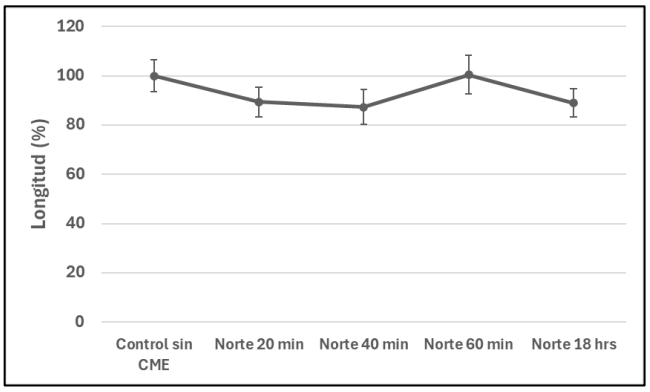

Fig. 3. Efecto de la cara norte del imán de ferrita en la longitud de *E. coli* en diferentes tiempos de exposición.

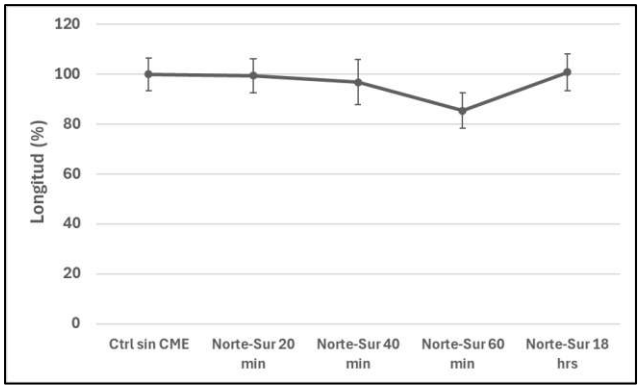

Fig. 4. Efecto de la cara norte-sur de imanes de ferrita en la longitud de *E. coli* en diferentes tiempos de exposición.

B. Mediciones eléctricas

Las mediciones eléctricas se realizaron en el intervalo de frecuencias de 20 Hz a 1 MHz, y en la geometría transversal con la ayuda de un Test-Fixture 16451B, como se muestra en la Fig. 5. El medio de cultivo agar Müller-Hinton, además de proporcionar la superficie para el desarrollo de microorganismos, sirve como soporte para las mediciones eléctricas. En el interior de la Fig. 5 se ilustra una fotografía de una muestra de corte cúbico de agar Müller-Hinton con tamaño $1.5\ cm\ x\ 1.5\ cm\ x\ 0.5\ cm$. Esta sección cúbica de agar se coloca en los platos paralelos (ver Fig.5) y se aplica un campo eléctrico variable en el tiempo a través de la sección transversal. Las mediciones se realizaron sobre tres muestras, primero sobre el medio de cultivo agar el cual sirve como referencia o control, luego sobre agar con *E. coli* y por último sobre agar con *E. coli* en presencia de CME.

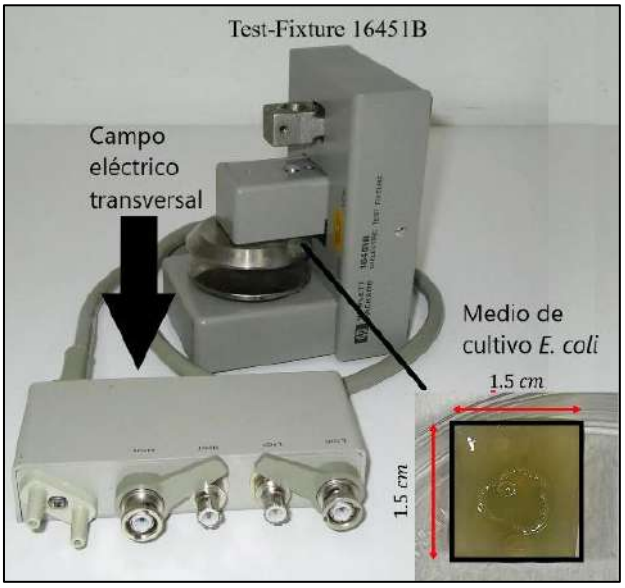

Fig. 5. Imagen del Test-Fixture 16451B para realizar mediciones eléctricas en la configuración transversal

En la Fig. 5 a) se muestran las curvas de impedancia eléctrica $Z''vs\,Z'$, b) $Z'vs\,f$ y c) conductividad eléctrica $s'\ vs\ f$. Para describir nuestros resultados es indispensable para nosotros las tres representaciones mostradas en la figura 5 a), b) y c), ya que los fenómenos eléctricos aparecen con mayor claridad en cada una de ellas y nos permiten realizar un mejor análisis de los resultados. La impedancia eléctrica Z^* es una función compleja definida por la ecuación 1

$$Z^* = Z' + iZ'' \qquad (1)$$

Dónde Z' corresponde a la resistencia real, Z''es la parte imaginaria del material, i es el número complejo. La representación de impedancia Z^* indica primero la presencia de procesos de polarización interfacial electrodo-material y segundo, nos proporciona información del tipo de portador de carga o de la dinámica de los portadores de carga dentro del material. La curva $Z'vs\ f$ nos indica de forma específica en qué frecuencia ocurren los diversos procesos de movimiento de carga presentes en el material. Y la conductividad eléctrica compleja s^* nos indica la capacidad del material de transportar carga eléctrica. La conductividad eléctrica compleja s^* se describe por la ecuación 2

$$s^* = s' + is'' \qquad (2)$$

Dónde $s'\ y\ s''$ son la parte real e imaginaria de la conductividad eléctrica. La parte real de la conductividad eléctrica s' frecuentemente se analiza separándola en dos componentes

$$s' = s_{cd} + s_{ca} \qquad (3)$$

Dónde s_{cd} es la conductividad a corriente directa, la cual es independiente de la frecuencia, mientras que s_{ca} es la conductividad dependiente de la frecuencia y sigue una ley universal de potencias.

$$s_{ac} = A\omega^{\alpha} \qquad (4)$$

Dónde $\omega = 2\pi f$, es la frecuencia angular, A es una constante que depende de la temperatura y $0 < \alpha < 1$.

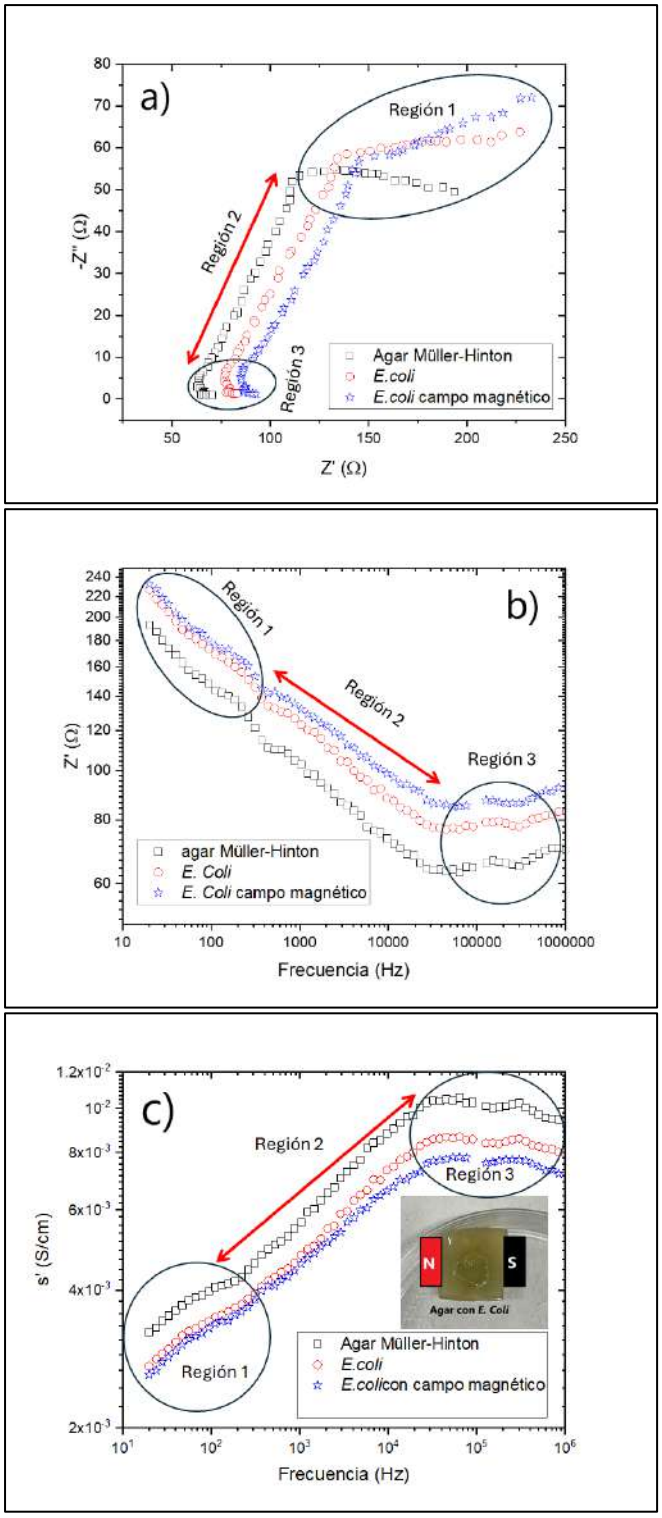

Fig. 6. Curva de mediciones de conductividad eléctrica

IV. Discusión

En los últimos años han sido reportados varios efectos biológicos del CME en *E. coli*, que incluyen la disminución de la viabilidad, cambios en la forma celular, daños a la superficie de las células y fenómenos de agregación, así como de movilidad. [7-11].

En el presente estudio, discutimos el efecto del CME en la longitud bacteriana de *E. coli*, existen reportes que muestran que el CME puede contribuir a cambiar la forma cilíndrica de la bacteria a una forma esférica [21], sin embargo, bajo las condiciones experimentales de este estudio observamos una disminución de la longitud sin llegar a formar una esfera. Esta discrepancia puede deberse a diferencias en las condiciones experimentales incluyendo la dirección de las líneas de campo magnético que inciden en las bacterias. De manera natural *E. coli* regula la longitud celular como parte de los procesos de adaptación, fisiología y control del flujo de nutrientes. Es posible que los efectos observados en este estudio se deban a la interacción del CME con las proteínas que participan en tales mecanismos principalmente controlando el tráfico de sustancias hacia afuera de la célula. [22].

La figura 6 a) muestra la típica representación de Z'' vs Z'para el agar, agar con *E. coli* y agar con *E. coli* en presencia de CME. Para esta representación, las frecuencias bajas se encuentran en el lado derecho de las curvas, mientras que las frecuencias altas están pegadas al cero del gráfico (en el origen del sistema de referencia). Los resultados de la Fig. 6 a) muestran la presencia de tres procesos de polarización eléctricos o tres regiones de conductividad eléctrica (Fig. 6c). A bajas frecuencias observamos la contribución de polarización debido a los contactos electrodos-agar. En la región intermedia de nuestro intervalo de medición, no aparece el típico arco, lo cual indica que tenemos un material con alta concentración de portadores carga del tipo iónico. Para la región de frecuencias altas no se alcanza a distinguir con claridad en las curvas, la dinámica de los portadores, por lo que más adelante, vamos a hacer uso de las Fig. 6b) y 6c) para llevar a cabo la discusión. Continuando con el análisis de la fig. 5a), observamos que las curvas muestran una ligera separación entre ellas cuando se agrega la bacteria y, cuando se aplica el CME. Esto nos indica claramente que las bacterias contribuyen a incrementar la resistencia eléctrica del agar, mostrando un comportamiento dieléctrico. Al aplicar CME, la resistencia eléctrica del sistema continúa incrementando, esto podría indicar que las bacterias se ordenan en oposición al CME aplicado, creando posiblemente una respuesta diamagnética, y los cambios en la longitud celular observados puede estar afectando la medición eléctrica

La Fig. 6b) muestra la dependencia de la resistencia eléctrica del material en función de la frecuencia. Después de los 300 Hz (región 1 en la Fig. 6b) la contribución de contacto-agar deja de actuar e inicia la contribución de la resistencia de los iones del material (región 2 en la Fig. 6b) mostrando una dependencia decreciente con el incremento de la frecuencia hasta los 30 kHz. Después de esta frecuencia se observa que la resistencia del material se vuelve constante y los portadores de carga dejan de seguir el campo eléctrico. En estas curvas también se observan claramente la contribución de la bacteria y el CME generado por los imanes.

La Fig. 6c) muestra la dependencia de la conductividad eléctrica contra la frecuencia, las curvas muestran tres regiones. La primera se refiere a la carga eléctrica generada entre los contactos electrodo-agar. La región 2 inicia en los 30 kHz y corresponde a la conductividad de tipo iónica. Después de los 40 kHz la conductividad permanece constante, es decir ya no cambia con la frecuencia

V. Conclusiones

Para poder diferenciar la contribución eléctrica de *E. coli* y los cambios en la longitud de la bacteria cuando se expone a un CME; es de mucha importancia conocer el tipo de portadores de carga que contiene el medio de cultivo bacteriano agar Müller-Hinton De las curvas de impedancia determinamos que sus portadores son del tipo iónico y se activan alrededor de los 30 kHz. *E. coli* agrega un comportamiento dieléctrico. El CME externo aplicado, modifica la longitud de la bacteria y por tanto cambia la respuesta eléctrica de *E. coli.* La bacteria parce tener un comportamiento diamagnético. El cambio de longitud del microorganismo en la presencia del CME está relacionado con los mecanismos que regulan la longitud bacteriana, así como con las proteínas que participan principalmente controlando el tráfico de sustancias hacia afuera de la bacteria. Determinamos que la configuración de imanes norte-sur contribuyen para mantener un equilibrio en la longitud de *E. coli*.

Finalmente, las bacterias son microorganismos que, dependiendo de la especie, pueden ser bastante manejables en el laboratorio. En este trabajo notamos que *E. coli* es un buen modelo para estudiar la integración del CME lo cual permite modular la fisiología y el control de procesos biológicos. El estudio de esta integración podría explicar los efectos observados en este y otros trabajos. Conociendo las bases de la interacción del CME con estructuras biológicas los siguientes estudios podrán incluir sistemas biológicos complejos tales como el cuerpo humano intentando descifrar si el CME puede modular la fisiología teniendo efectos en la salud.

Agradecimientos

Los autores agradecemos de sobremanera a la directora de la Universidad de Nuevas Ciencias Médicas S. C. Mtra. Vivian Elena Goiz Martínez por facilitar el uso de las instalaciones de su universidad y financiar parte de esta investigación y de la misma manera extendemos nuestro

agradecimiento a la M. en C. Eva Elisa Terán Melo, adjunta al hospital del Norte de Puebla, quien nos proporcionó la cepa bacteriana *E. coli* ATCC 25922.

REFERENCIAS

[1] J. F. Schecnk, "Physical interactions of static magnetic fields with living tissues", *Progress in Biophysiscs and Molecular Biology*, Vol. 87, p.p. 185-202, 2005.

[2] M. A. Elblbesy, "Effect of static magnetic field on erythrocytes characterizations", J. Biomedical Science and Engineering, Vol 3, p.p. 300-303, 2010.

[3] X. Zhang, "Biological Effects of Static Magnetic Fields", Second Edition, Springer, 2023

[4] W. W. Campos, R. M. Pedrosa, T. de Salazar, and E. L. Figueiredo, "Evidences of the static magnetic field influence on cellular systems", *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, Vol. 121, pp. 16-28, 2016.

[5] B. Zhang, X. Yuan, H. Lv, J. Che, S. Wang, and P. Shang, "Biophysical mechanisms underlying the effects of static magnetic fields on biological systems" *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, Vol. 177, pp. 14-23, 2023.

[6] A. D. Rosen, "Studies on the Effect of Static Magnetic Fields on Biological Systems", PIERS Online, Vol. 6, no. 2, pp. 133-136, 2010

[7] G. Asgari, R. Khoshniyat and M. M. Golrokhi. "Survey of Magneto-tactic Properties of *Escherichia coli* Under Statica Magnetic Fields" Avicenna j. Environ Health Eng. Vol 7, Issue 1, 2020

[8] S. Mousavian-Roshanzamir, A. Makhdoumi-Kakhki, "The Inhibitoru Effects of Static Magnetic Field on Escherichia Coli from two Different Sources at Short Exposure Time", Rep. of Biochem and Molecular Biology, Vol. 5, No. 2, 20217

[9] F. H. Kamel, A. M. Amin and Saleem Saaed Qader, "Effects of Magnetic Field on Escherichia coli mutation" Mesopotamia J. of Agric. Vol. 46, No. 1, 20218.

[10] H. Li, R. Xie, X. Xu, X. Liao, J. Guo, Y. Fang, Z. fang and J. Huang, "Static Magnetic Field Inhibits Growth of *Escherichia coli* colonies via Restriction of Carbon Source Utilization" Cells, Vol. 11, No. 827, 2022

[11] M. E. Oboh, A. Remison and O. Peace, "Effect of low frequency magnetic fields on bacteria *Escherichia coli*", J. of Med. And Biological Sciences, Vol. 3, No. 2, 20213.

[12] J. Enderle, J. Bronzino, "Introduction to Biomedical Engineering", pp. 667-746, 2012.

[13] G. Beretta, A. F. Mastorgio, L. Pedrali, S. Saponaro and E. Sezenna, "The effects of electric, magnetic and electromagnetic fields on microorganisms in the perspective of bioremediation", Rev. Environ sci. Biotechnol. Vol. 18, p.p. 29-75, 2019.

[14] V. Zablotskii, T. Polyakova, and A. Dejneka, "Cells in the Non-Uniform Magnetic World: How Cells Respond to High-Gradient Magnetic Fields", *BioEssays*, pp. 1-10

[15] E. Barsookov, J. R. Macdonald, "Impedance spectroscopy, Theory, Experiment, and Applications", john Wilwy and sons, Second ed, 2005

[16] C. Bot and C. Prodan, "Probin the membrane potential of living cells by dielectric spectroscopy", Eur. Biophys J., Vol. 38, p.p.1049-1059, 2009.

[17] O. Gutsul, D. Rutherford, M. Barinkova, V. Slobodyan and B. Rezek, "The Detection of *E. Coli* and *S. aureus* on sensors without Immobilization by Using Impedance Spectroscopy", Eng. Porc., 58, 79, 2023

[18] C.J. F. Böttcher and P. Bordewijk, "Theory of electric polarization",Vol. II. Elsevier, PP. 45-67, 1978.

[19] L. Yang and Y. Li, "Detection of viable salmonella using microelectrode-based capacitance measurement coupled with immunomagnetic separation", J. of Microbiological. Methods, Vol. 64, p.p. 9-16, 2006.

[20] A. D. Biasio and C. Cametti, "Effect of shape on the dielectric properties of biological cell suspensions", Bioelectrochemistry, vol. 71, p.p. 149-156, 2007.

[21] W. Ji, H. Huang, A. Deng, C. Pan. "Effects of static magnetic fields on *Escherichia coli*" Micron, Vol. 40, no. 8, p.p. 894-898, 2009

[22] T. Kale, D. Khatri, C. A. Athale. "Cell size and shape regulation of *E. coli* determines surface area scaling with volume" bioRvix, p.p-1-22, 2022.