



Diseño de prototipo de radiador
magnético de frecuencias
extremadamente bajas para la
inhibición del crecimiento *in vitro* de
Ralstonia solanacearum

Elían Andrea Díaz Gallo

Ivan Camilo Sabogal Moreno

Universidad El Bosque

Facultad de ingeniería, Programa de Bioingeniería

Bogotá D.C., Colombia

2020

Diseño de prototipo de radiador
magnético de frecuencias
extremadamente bajas para la
inhibición del crecimiento *in vitro* de
Ralstonia solanacearum

Elían Andrea Díaz Gallo

Ivan Camilo Sabogal Moreno

Tesis o trabajo de grado presentada(o) como requisito parcial para optar al título de:
Bioingeniero

Director(a):

Pg.Natalia Lucia Rojas Prieto

Cotutor:

MSc.Jorge Eduardo Meneses Bernal

Bogotá D.C., Colombia

2020

Contenido

Lista de figuras	ix
Lista de tablas	xi
Resumen	1
Abstract	2
Introducción	3
1. Planteamiento del problema	5
2. Justificación	7
3. Objetivos	9
3.1. Objetivo General	9
3.2. Objetivos Específicos	9
4. Marco referencial	10
4.1. Antecedentes	10
4.2. Marco teórico	12
4.2.1. Taxonomía.	12
4.2.2. Generalidades de <i>R. solanacearum</i>	12
4.2.2.1. Diversidad de <i>R. solanacearum</i>	12
4.2.2.2. Morfología	12
4.2.2.3. Mecanismos de infección	13
4.2.2.4. Signos y Síntomas de la marchitez bacteriana	14
4.2.2.5. Control sobre <i>R. solanacearum</i>	15
4.2.3. Campos	15
4.2.3.1. Campos eléctricos	15
4.2.3.2. Campos magnéticos	15
4.2.3.3. Campos dinámicos	16
4.2.3.4. Campos magnéticos oscilantes	16
4.2.3.5. Electromagnetismo	16
4.2.3.6. Campos electromagnéticos ionizante y no ionizante	18

4.2.3.7.	Bioelectricidad	18
4.2.3.8.	Bobinas	18
4.2.3.8.1.	Tipos de configuración de bobinas	19
4.2.3.8.2.	Radiadores utilizados en estudios previos	20
4.2.3.9.	Efectos de los campos sobre bacterias Gram negativas	22
4.2.3.10.	Efectos de los campos electromagnéticos sobre semillas	23
4.2.3.11.	Efectos de los campos sobre células animales	23
4.3.	Marco normativo	24
4.3.1.	Resolución 754 de 2016.	24
5.	Metodología	25
5.1.	Diseño y construcción del prototipo	25
5.1.1.	Requerimientos de <i>R. solanacearum</i>	25
5.1.2.	Requerimientos del dispositivo	26
5.1.3.	Selección de bobinas	26
5.1.4.	Propuesta de diseño	31
5.1.5.	Simulación	31
5.1.6.	Ensamblaje	33
5.2.	Protocolo de pruebas	34
5.2.1.	Simulación	35
5.2.2.	Medición sobre el dispositivo	35
5.3.	Elaboración de protocolo de implementación del prototipo radiador	36
5.3.1.	Reconocimiento de variables	36
5.3.2.	Definición de operación	37
5.3.3.	Implementación del equipo	37
6.	Resultados y Discusión	38
6.1.	Diseño y construcción de dispositivo	38
6.1.1.	Requerimientos de <i>R. solanacearum</i>	38
6.1.2.	Requerimientos de dispositivo	39
6.1.3.	Selección de bobinas	39
6.1.4.	Propuesta de diseño	43
6.1.5.	Ensamble	43
6.2.	Protocolo de pruebas	46
6.2.1.	Simulación	46
6.2.2.	Medición sobre el dispositivo	47
6.3.	Elaboración de protocolo de implementación del equipo radiador	54
6.3.1.	Introducción de variables	54
6.3.2.	Operación	54
6.3.2.1.	Reactivación bacteria	54

6.3.2.2. Curva patrón de crecimiento	55
6.3.2.2.1. Medios líquidos	55
6.3.2.2.2. Medios sólidos	55
6.3.2.2.3. Inoculación	55
6.3.2.2.4. Toma de muestra	55
6.3.2.2.5. Espectrofotómetro	56
6.3.2.2.6. Tinciones Gram	56
6.3.2.2.7. Recuento de placa	56
6.3.2.2.8. Encendido del equipo	56
6.3.3. Implementación del equipo	56
7. Conclusiones	58
8. Recomendaciones	59
9. Trabajo futuro	60
A. Anexo A: Planos diseño	61
B. Anexo B: Circuito amplificador de corriente	62
C. Anexo C: Manual de usuario	63
Bibliografía	64
Referencias	64

Lista de Figuras

4-1. Colonias virulentas en medio TZC.	13
4-2. Comparación colonias virulentas y no virulentas.	13
4-3. Vasos xilemáticos infectados.(Clemson University - USDA Cooperative Ex- tension Slide Series, Bugwood.org)	14
4-4. Síntoma marchitez bacteriana.	14
4-5. Configuración Helmholtz.	19
4-6. Configuración Merritt.	20
4-7. Configuración Ruben.	20
4-8. Radiador de placas.	21
4-9. Solenoide refrigerado por agua.	22
4-10.Configuración cuatro bobinas	22
5-1. Diseño y construcción del dispositivo.	25
5-2. Selección de bobinas.	26
5-3. Metodología uso programa CST Studio Suite 2018.	32
5-4. Vista superior estructura diseñada	34
5-5. Metodología para el desarrollo de protocolo de pruebas.	35
5-6. Metodología para el desarrollo del protocolo de implementación	36
6-1. Modelo de la membrana como circuito RC	38
6-2. Campo generado por una bobina	40
6-3. Escala de la concentración del campo magnético (A/m)	40
6-4. Campo magnético con dos bobinas	41
6-5. Corriente inducida	41
6-6. Campo magnético con tres bobinas	42
6-7. Campo magnético con cuatro bobinas	42
6-8. Campo magnético con cuatro bobinas	43
6-9. Construcción de bobina	44
6-10.Bisagra de la estructura	44
6-11.Construcción estructura	45
6-12.Ensamblaje estructura	45
6-13.Cubo con bobinas	46
6-14.Acercamiento objeto metálico	46
6-15.Acercamiento objeto metálico en perspectiva	47

6-16. Campo generado por cuatro bobinas	47
6-17. Circuito implementado	48
6-18. Corriente generada por el circuito	48
6-19. Señal de entrada y salida del circuito	49
6-20. Mapeo campos magnéticos de una bobina	50
6-21. Mapeo campos magnéticos de dos bobinas	50
6-22. Mapeo campos magnéticos de tres bobinas	51
6-23. Mapeo campos magnéticos de cuatro bobinas	52
A-1. Planos del diseño	61
B-1. Circuito amplificador de corriente	62

Lista de Tablas

5-1. Ponderación forma del campo.	27
5-2. Ponderación núcleo.	27
5-3. Ponderación forma.	27
5-4. Ponderación Concentración del campo.	28
5-5. Ponderación Inductancia.	28
5-6. Ponderación intensidad.	28
5-7. Ponderación Homogeneidad del campo.	28
5-8. Ponderación Afectación alrededores.	29
5-9. Ponderación Permeabilidad.	29
5-10.Ponderación Frecuencia.	29
5-11.Ponderación aumento de la temperatura	29
5-12.Porcentaje de requerimientos materiales para la bobina.	30
5-13.Valoración de característica de los materiales para la bobina.	30
5-14.Porcentaje de requerimientos para el diámetro de la bobina.	30
5-15.Valoración de característica del diámetro del material.	30
5-16.Porcentaje de requerimientos software de simulación.	31
5-17.Valoración de característica del software de simulación.	31
5-18.Porcentaje de requerimientos materiales para la base del dispositivo.	33
5-19.Valoración de característica de los materiales para la base del dispositivo.	33
6-1. Mapeo intensidad de campo.	53

Lista de abreviaturas

Abreviatura	Término
<i>FEB</i>	Frecuencia extremadamente baja
<i>R.solanacearum</i>	Ralstonia solanacearum
<i>CSTstudiosuite</i>	Computer simulation technology
<i>UFC</i>	Unidad formadora de colonia
<i>E.coli</i>	Escherichia coli
<i>ICA</i>	Instituto Colombiano Agropecuario

Resumen

La marchitez bacteriana de la papa, es una enfermedad cuyo agente causal es *Ralstonia solanacearum*, bacteria Gram negativa. Sus principales hospederos pertenecen al genero *Solanum*, en donde el porcentaje de afección sobre cultivos específicos como los de *Solanum tuberosum* (papa o patata) es del 100 %. Actualmente las medidas preventivas que se han tomado para evitar su presencia, se han realizado mediante la siembra de semillas sanas, plantación en suelos sin antecedentes de la presencia de *Ralstonia solanacearum*, uso de aguas de riego sin contaminación, rotación de cultivos entre otros procesos que se le practican al manejo de cultivos (Ica, 2011).

Cuando se verifica su presencia hace manejo de agroquímicos, los cuales pueden ser perjudiciales para el ecosistema, la salud humana y animal, como es el caso conocido del Metam sodio (Eastman Chemical Company, 2005). Se han realizado estudios sobre la implementación de antibióticos para esta bacteria, los cuales tuvieron como resultado resistencia después de 10 días.

Teniendo en cuenta lo anterior este proyecto realizó el diseño de un prototipo radiador de campos electromagnéticos. Se realizaron simulaciones en el programa CST studios, el cual permitió visualizar de forma interactiva la formación del campo magnético con las variables de frecuencia e intensidad de corriente estipulados en los requerimiento de la bacteria, además se simuló la interacción del campo magnético con un objeto metálico en el que se determino que la distancia mínima en la que se debe encontrar el objeto es de 15 cm dentro y fuera del soporte de las bobinas.

Al realizar las pruebas de funcionamiento del dispositivo se obtuvo que el campo magnético promedio generado es de $51,48\mu T \pm 2,7$, utilizando una frecuencia de 50 Hz y una intensidad de corriente de 0.038 A. Adicionalmente, se realizó un protocolo de implementación del dispositivo con microorganismos de forma *in vitro* el cual permitirá realizar investigaciones sobre los efectos de los campo magnéticos en bacterias Gram negativas, modificando la corriente que pasa por las bobinas además de la frecuencia, dependiendo del organismos que se quiera irradiar.

Palabras clave: *R. solanacearum*, ondas electromagnéticas, efecto, crecimiento

Abstract

Bacterial wilt is an illness caused by *Ralstonia solanacearum* as its agent, a Gram-negative bacteria. The main host belongs to the *Solanum* genus, affecting a 100% of specific crops of *Solanum tuberosum* (known as potatoes). Currently, this agent has been treated through good farming practices and chemicals which might be harmful to the ecosystem and human health. Studies about this bacteria have been conducted in order to find a new form to treat it using antibiotics, resulting in a reported resistance after 10 days.

This project designed a prototype of electromagnetic field radiator. To develop this it was necessary to make a series of simulations using Computer Simulation Technology (CST) Studio Suite, which allowed to visualize the formation of the magnetic field with the variables of frequency and current stipulated in requirements of the bacterium, in addition we simulated the interaction between the magnetic field and a metallic object, it determines the minimum distance in which the object must be placed is 15 cm inside and outside of the coil holder.

Carrying out with the functional tests of the device, we obtained that the average of the magnetic field generated is $51,48\mu T \pm 2.7$, using a frequency of 50 Hz and current intensity of 0.038A. Additionally, we develop a implementation protocol of the device, which will allow to carry out investigations of the effects of magnetic fields in Gram negative bacteria, modifying the current that passes through the coils, those changes dependence on the organisms that you want to irradiate.

Key words: *Ralstonia solanacearum* , electromagnetic waves, effect, growth

Introducción

Colombia se encuentra ocupando el puesto número 30 en el ranking mundial países productores de papa haciendo un aporte del 0.7%, con una producción 2'751.873 toneladas al año (Papa, s.f.). Por su parte, la producción de papa en Colombia aporta un 3.3% del producto interno bruto, siendo Cundinamarca el departamento con mayor aporte, con 1.075.360 toneladas al año (Agricultura, 2017).

En Colombia se registra que el número de pérdidas de la producción de papa puede llegar a un 43% al año, debido a factores como la variación del clima y faltas de control fitosanitarios (Instituto Colombiano Agropecuario, s.f.), donde se destaca la enfermedad conocida como marchitez bacteriana alcanzando pérdidas en la producción de hasta el 100% de los cultivos (Ceballos, Álvarez, y Bolaños, 2014), para el 2018 el instituto colombiano agropecuario (ICA) registró 27 hectáreas contaminadas en el departamento de Antioquia (Instituto Colombiano Agropecuario, 2018), esta cantidad corresponde a un aproximado de 553.2 toneladas perdidas, considerando que de una hectárea se puede obtener 20,5 toneladas de papa (maria paula Aristizabal, 2019).

La marchitez bacteriana, es una enfermedad cuyo agente causal es *R. solanacearum*, una bacteria Gram negativa, aeróbica estricta (Agrios, 2005), éste patógeno infecta a la planta por medio de heridas en las raíces generalmente causadas por nematodos o aberturas naturales generadas por raíces secundarias (González, Yailén, y Belkis, 2009). Durante su infección esta bacteria se disemina a través de los vasos del xilema al resto del sistema vascular (Agrios, 2005). Los vasos xilemáticos son tanto los primarios y como los secundarios, dichos vasos son los encargados del flujo ascendente del agua, al infectarlos se cree que el movimiento de la bacteria es a través del flujo del agua (González y cols., 2009), *R. solanacearum* se caracteriza por lisar las células vegetales (Gomez Calvo, s.f.).

En plantas inoculadas con *R. solanacearum* se observa que a los 8 días presenta una baja concentración de bacterias, con una acumulación de biomasa en los xilemas de la planta. A medida que avanza el tiempo se observa un taponamiento de los xilemas hasta llegar a una obstrucción total, teniendo como consecuencia el efecto de la marchitez fisiológica en la planta por estrés hídrico, al ser las hojas las que más requieren agua para su función fotosintética se observa el amarillamiento característico de la enfermedad (González y cols., 2009), dadas estas características esta bacteria tiene la capacidad de soportar un periodo

aproximado de 4 años sobreviviendo a bajas concentraciones de nutrientes en el suelo hasta encontrar un hospedero nuevamente (Naranjo y Martínez, 2013).

En las producciones agrícolas usualmente, se ha utilizado métodos de control químicos y se realizan buenas practicas agrícolas, sin embargo, se ha evidenciado que muchos de los agentes utilizados tienen una repercusión en el ecosistema, contaminando los efluentes y afectando la salud humana, dentro de los agentes empleados se encuentra el uso de antibioticos a los que *R. solanacearum* a generado resistencia (Becquet, 2014).

Por lo anterior y basados en a bibliografía en el que se reportan investigaciones sobre el control de agentes bacterianos Gram negativos con ondas electromagnéticas de frecuencia extremadamente baja (FEB) (Ramon, Ayaz, y Streeter, 1981). El presente trabajo propone el desarrollo del un prototipo radiador FEB para la inhibición del crecimiento de *R. solanacearum*. Para dicho diseño se tuvieron en cuenta factores como tiempo del crecimiento de la bacteria, campo necesario para afectar el crecimiento, cantidad de bobinas, posicionamiento de las bobinas, corriente necesaria para generar el campo.

Como el perfil del bioingeniero de la universidad el Bosque, este proyecto se encuentra elaborado considerando las variables necesarias para ver el efecto de la inhibición de la bacteria *R. solanacearum* hacia el desarrollo del radiador magnético. Teniendo en cuenta lo anterior, este proyecto se desarrolló utilizando la cepa *R. solanacearum* raza II aislada por la Dr. Adriana Gonzalez de la Universidad Nacional de Colombia. En el laboratorio de la Univerisidad el Bosque se realizo la tasa de crecimiento la cual determinó el tiempo necesario de exposición a las ondas magnéticas FEB, obteniendo el resultado 6 horas en el que el microorganismo debe ser expuesto. A partir de la revisión bibliográfica se determinó la intensidad del campo necesario para afectar la bacteria el cual corresponde a 50 micro teslas con una frecuencia de 50 Hz. Mediante el programa CST studio se realizó la simulación de la cantidad de bobinas apropiadas para generar un campo uniforme y homogéneo, en el que se obtuvo como resultado 4 bobinas, de acuerdo a esta simulación se determinó que el lugar de disposición de las muestras biológicas debe ser en el centro de las cuatro bobinas, por lo cual se diseño una estructura en forma de cubo en el que se disponen las bobinas sujetas a las paredes, si ningún objeto metálico dentro que pueda afectar el campo.

1. Planteamiento del problema

En el año 2017 la producción mundial de papa se estimó en un valor cercano a los 392 millones de toneladas (Ton), generando un alza de 1.8 % más que en el 2016 (Papa, s.f.). China aportó el 26 % de la producción mundial de papa ocupando el primer puesto en el ranking, por su parte Colombia ocupa el puesto 30 en el ranking mundial produciendo 2751.873 (Ton) aportando el 0,7 %, no obstante su tasa de crecimiento fue 13,5 % destacándose sobre los demás países(Papa, s.f.).

A nivel continental, Colombia se encuentra en el tercer puesto en de producción de este tubérculo, generando 2.13 millones de toneladas(Capital, 2015). A nivel nacional el País cuenta con 4 departamentos productores, siendo Cundinamarca el de mayor área de siembra con un 37 %, seguido de Boyacá con 27 %, Nariño con 20 % y Antioquia con 6 %, contribuyendo con el 3,3 % de producto interno bruto (PIB) (Agricultura, 2017). Cundinamarca para el año 2017 género 1.075.360 de toneladas de papa, teniendo un rendimiento de 22.3 (Ton/Ha)(William Granados Pérez y Carlos Alberto Muñoz Vanegas, 2017).

En el año 2008 y 2009 Colombia presentó pérdidas por Marchitez bacteriana ascendieron a los US \$985.000 en cultivos de papa (González Torres, Casas, y Ortiz Díaz, 2013), el ICA reporto una perdida de aproximadamente 553.2 toneladas, que representa 27 hectáreas contaminadas por *R.solanacearum*(Instituto colombiano Agropecuario, 2018), sin embargo las perdidas que por marchitez bacteriana son generalmente enormes por la severidad del patógeno y difíciles de estimar puesto que ataca a la agricultura de subsistencia y en estos casos no se reporta y son abandonados(González y cols., 2009), cuando *R. solanacearum* coloniza genera pérdidas hasta del 100 % de los cultivos (Ceballos y cols., 2014) porque este patógeno entra al sistema vascular dirigiéndose al espacio del parénquima, donde disuelve la pared celular y generan cavidades que serán rellenados de masa viscosa y desechos(Agrios, 2005).Sin embargo, el cultivo de papa en Colombia genera gastos de producción, entre los cuales se destaca el rubro destinado a la adquisición de agroquímicos (plaguicidas y coadyuvantes) que en promedio para los departamentos de Cundinamarca, Boyacá, Antioquia y Nariño representan cerca de 1873.699 por hectárea (Pérez William y Muñoz Vanegas, 2017).

El Metam Sodio logró controlar *R. solanacearum* en papa, luego de su aplicación la incidencia de Marchitez bacteriana se redujo de un 50 % a 1,7 % (Centro Internacional de la Papa, 2007). Sin embargo, el uso continuo del Metam Sodio puede generar problemas de salud, en

la piel y vías respiratorias, también se cree que provoca cáncer y problemas de fertilidad, además de ser extremadamente tóxico para animales acuáticos (Sheet, 2005), limitando su aplicación para controlar a *R. solanacearum*. Adicionalmente la Unión Europea restringe el uso de compuestos de Cobre, usados para controlar *R. solanacearum*, a partir del año 2002 por la regla 473 ya que causa un impacto en el ambiente, como contaminación de aguas y toxicidad en animales acuáticos, además, su toxicidad se extiende hacia el hombre causando irritación en la piel, tracto respiratorio y en los ojos (Rueda-puente y cols., 2014).

R. solanacearum al ser expuesto al antibiótico tetraciclina (antibiótico) y evaluar la población de la bacteria, en principio con concentraciones de 2500-5000 ppm, llegó a inhibir un 100% pero pasado 10 días se evidenció la reaparición de la bacteria. Según el estudio se llegó a dos hipótesis que pueden explicar la aparición de la bacteria, la primera es que la bacteria generó resistencia al antibiótico y la segunda es que el mecanismo de acción del antibiótico es bacteriostático y no bactericida (Becquet, 2014).

De acuerdo a lo anterior, este trabajo propone brindar un equipo de radiador magnético, que permite evaluar el efecto de las ondas magnéticas de frecuencias extremadamente bajas en el crecimiento de la bacteria *R. solanacearum*. Generando conocimiento que inspire a una nueva propuesta acerca de una alternativa para el tratamiento y control sobre esta bacteria y sus efectos sobre el sistema, donde este dispositivo represente un impacto relativamente bajo, tanto para el bienestar del ambiente, como para la salud humana.

2. Justificación

Priou (2001) citado por Carreño et al. menciona que *R. solanacearum* es considerado mundialmente como el segundo patógeno de mayor importancia después de *Phytophthora infestans* (2007). La bacteria *R. solanacearum*, causa una enfermedad en las plantas llamada Marchitez Bacteriana la cual ataca a más de 44 familias de plantas, entre las cuales se encuentra las Solanáceas, y más de 100 especies (Chavarro-Mesa y Ángel-Díaz, 2006). Las especies de plantas que más son afectadas son la papa, berenjena, el tabaco, el tomate, el plátano, el ají y la maní (Priou, Aley, Chujoy, Lemaga, y French, 1999).

R. solanacearum está presente en aproximadamente 80 países afectando alrededor de 3,75 millones de acres generando un estimado de \$950000.000 en pérdidas, por año (Ali y cols., 2014). Por su parte el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) mostraron que las pérdidas económicas por *R. solanacearum* en el año 2008 ascendieron cerca a los US \$985.000 convirtiéndose en una amenaza para los cultivos en Colombia (González Torres y cols., 2013), ya que puede generar pérdidas hasta 100 % en las plantaciones donde se encuentra (Ceballos y cols., 2014). Nuevamente el ICA reporto 27 hectáreas atacadas por la marchitez bacteriana dejando perdidas de 553.2 toneladas de producción (maria paula Aristizabal, 2019), pero los datos de perdidas son escasos debido a que esta enfermedad afecta sobretodo a cultivos de subsistencia que solo son abandonados y nunca registrados ante un ente de regulación (González y cols., 2009)

El peligro de esta bacteria no solo radica en su diversidad de hospederos sino la capacidad que tiene de sobrevivir en un suelo durante períodos prolongados sin una planta huésped (Ali y cols., 2014), el tiempo de supervivencia de *R. solanacearum* es aproximadamente de 4 años (Naranjo y Martínez, 2013), aunque este tiempo puede ser de varios años más (Rueda-puente y cols., 2014). Además, el control de la marchitez bacteriana se dificulta por la falta de medidas de control y variedades de papa resistentes al patógeno (Ali y cols., 2014). Las medidas de control son las buenas prácticas agrícolas y la rotación de cultivos no hospederos, además, si el cultivo ha sido infectado se debe realizar una zona de cuarentena y erradicar la planta de papa en su totalidad; también se debe evitar el flujo del agua a parcelas no infestadas y es preferible usar agua de un pozo de agua en lugar ríos o canales de riego (Rueda-puente y cols., 2014).

El frecuente uso de agentes químicos en plantas para bacterias patógenas ha generado re-

sistencia frente a estos, dejando un uso de compuestos a base de cobre para el control de estas enfermedades pero limitados por la unión europea en la regla 473/2002 por la toxicidad producida al hombre, causando irritaciones en ojos, piel y tracto respiratorio, además en estudios se demostró que el metam sodio actúa como disruptor endocrino, en dosis de 200mg de este compuesto bloquea la hormona luteinizante, hormona relacionada con procesos de maduración de órganos sexuales, además decae los niveles de noradrenalina hipotalámica y aumenta los niveles de dopamina hipotalámica debido a la supresión de la actividad enzimática de la dopamina-beta-hidroxilasa cerca de un 50 % (Goldman, Cooper, y Murr, 2007), esto para animales mamíferos, sin embargo el metam de sodio cuando se expone en un periodo de desarrollo de la somitogénesis en peces genera distorsiones de la notocorda, se presume que genera cambios transcripcionales y en el 50 % de los casos se observa pocos ARNm regulando dichos procesos (Tilton y Tanguay, s.f.), en estos perfiles transcripcionales que se observaron muestran que los efectos con mayor daño están en el neurodesarrollo y la miogénesis (Tilton y Tanguay, s.f.). El metam sodio es clasificado como baja toxicidad pero se consideran como potenciales tóxicos para el desarrollo pero la toxicología molecular de este compuesto no se ha comprendido bien (Tilton y Tanguay, s.f.)

Sin dejar a un lado impacto ambiental, así mismo poseen un alto costo; su efectividad puede llegar hasta un 50 % y en su mayoría tienen efecto sobre organismos benéficos tanto para las plantas como para el suelo (Rueda-puente y cols., 2014), en estudios de la exposición de metam de sodio a la microbiota del suelo se observó que la riqueza disminuyó un 18 % y la diversidad un 6 % en una concentración de 100mg (Hernández, 2018). Asimismo, la fumigación del suelo con Vapam, metil romida o cloropicrina tiene una limitada efectividad comparada con la efectividad que tiene el metam de sodio (Ali y cols., 2014).

Por otro parte los estudios realizados de los efectos de las ondas electromagnéticas de frecuencias extremadamente bajas generan mutaciones en *R. solanacearum*, es decir, por la exposición de estas ondas electromagnéticas ocasiona perturbaciones en el ADN, por una ruptura en los puentes de hidrógeno (Ali y cols., 2014), originando problemas en la síntesis de enzimas las cuales intervienen en el crecimiento y en la patogenicidad de la bacteria (Ali y cols., 2014), (Fadel, El-Gebaly, Mohamed, y Abdelbacki, 2017).

El perfil del Bioingeniero de la Universidad El Bosque aborda esta problemática desde los focos misionales de Sostenibilidad Alimentaria y Tecnología para la Salud de Entes Biológicos, ya que cuenta con conocimientos ingenieriles y científicos, que permiten proponer implementos para aportar positivamente a los procesos productivos de la papa.

3. Objetivos

3.1. Objetivo General

Desarrollar un prototipo radiador magnético de frecuencias extremadamente bajas para inhibir el crecimiento *in vitro* de *Ralstonia solanacearum*

3.2. Objetivos Específicos

- Diseñar y construir un sistema de radiación magnética de frecuencias extremadamente bajas.
- Implementar un plan de pruebas de un sistema de radiación magnética de frecuencias extremadamente bajas.
- Establecer un protocolo de implementación del equipo radiador para inhibir el crecimiento *in vitro* de *Ralstonia solanacearum*

4. Marco referencial

Como primera medida de este marco referencial se mostrará la importancia de estudios anteriormente realizados con ondas electromagnéticas de frecuencia extremadamente baja (FEB) sobre el crecimiento de bacterias Gram negativas.

4.1. Antecedentes

Desde 1981 se han venido realizando estudios sobre el efecto de ondas magnéticas, eléctricas y electromagnéticas con frecuencias extremadamente bajas (FEB) en bacterias Gram negativas (Ramon y cols., 1981), estos estudios consisten en la irradiación con estas ondas a bacterias *in vitro* a una determinada frecuencia durante un tiempo establecido, para luego determinar su tasa de crecimiento y analizar su morfología (Ramon y cols., 1981; Mittenzwey, Süßmuth, y Mei, 1996; Inhan-Garip y cols., 2011; Ali y cols., 2014; Oncul, Cuce, Aksu, y Inhan Garip, 2016; Fadel y cols., 2017).

Generalmente, los dispositivos se diferencian en el diseño de sus bobinas, por ejemplo, en el estudio de Mittenzwey, Süßmuth y Mei su diseño fue un bobinado en forma de solenoides (Mittenzwey y cols., 1996) y en el de Inham-Garip et al. las bobinas son Helmholtz (Inhan-Garip y cols., 2011). Las ondas emitidas pueden ser senoidales, cuadradas o pulsos y la intensidad de su campo es débil (mT) (Mittenzwey y cols., 1996). En Colombia no existen estudios realizados de irradiación de ondas electromagnéticas de FEB en bacterias, a excepción de una monografía de Domínguez Gutiérrez donde exponen diferentes resultados obtenidos por varios autores irradiando ondas electromagnéticas de FEB sobre *Escherichia coli* (*E. coli*) (Dom y Guti, 2015).

Los resultados más relevantes indican la inhibición de crecimiento en un 43,1 %, irradiada en tiempos que oscilan entre 6 y 16 horas, con una intensidad del campo de 2 mT (Dom y Guti, 2015), estos resultados son comparables con los encontrados por Ramón, Ayaz y Streeter en 1981 donde se observan los efectos de las ondas magnéticas con FEB en *E. coli* con la misma intensidad (2 mT) pero con un tiempo de irradiación de 60 horas donde se obtuvo una inhibición de crecimiento del 40 % (Ramon y cols., 1981; Dom y Guti, 2015).

Se puede observar que la tasa de crecimiento se inhibió en porcentajes similares, y en ambos casos se encontró la ruptura en membrana como una alteración morfológica (Ramon y cols.,

1981). Domínguez Gutiérrez y Ramon, Ayaz, Streeter llegan a una hipótesis que la radiación puede afectar el transporte de iones que a su vez producirá radicales libres, llevando a la muerte a la bacteria, esto en base a que los niveles de adenosín trifosfato (ATP) y actividad enzimática se elevan cuando están bajo el efecto de las ondas (Ramon y cols., 1981; Dom y Guti, 2015). Por otra parte, Mittenzwey et al., investigan si los campos electromagnéticos de FEB producen un factor de co-estrés en bacterias Gram negativas (*E. coli*, *Proteus vulgaris*, *Photobacterium phosphoreum*, *Photobacterium fischeri*), estas bacterias fueron expuestas a intensidad de campo de 1 a 10 mT y a una frecuencia variable de 2 a 50 Hz en condiciones óptimas de crecimiento de la bacteria.

Los resultados que obtuvieron fue una inhibición de la tasa de crecimiento de un 3,8% mostrando que los campos son un factor de co-estrés debido que las reacciones radicales con portador de electrones son afectadas por los campos electromagnéticos, además, se ve afectada la bioluminiscencia de la bacteria (Mittenzwey y cols., 1996). A pesar de que la inhibición de crecimiento de las bacterias Gram negativas en este estudio no coincide con los resultados obtenidos en el estudio anterior, en los dos se evidencia que el número de unidades bacterianas que disminuye está relacionado con el tiempo de exposición y la densidad del flujo del campo (2015). A su vez, Oncul, Cuce, Aksu Garip irradiaron a *Staphylococcus aureus* y *E. coli* a 50 Hz con una intensidad de 1 mT por dos horas, para evaluar los efectos de las ondas electromagnéticas con FEB en la membrana, encontraron que la membrana de *E. coli* se despolariza, es decir, los campos electromagnéticos de FEB generan la síntesis de péptidos catiónicos en la membrana celular, afectando la distribución de iones libres de la superficie de la misma, lo cual explica los cambios de potencial de la membrana (Oncul y cols., 2016).

Por último, los recientes estudios buscan irradiar a las bacterias con frecuencias que coinciden con las señales bioeléctricas que genera una bacteria por sus procesos metabólicos. Ali et al., expusieron a *R. solanacearum* a pulsos de campos eléctricos por una hora donde empezaron a buscar la frecuencia de resonancia, las frecuencias empezaron desde 0,1 Hz hasta 1,0 Hz, siendo un 1,0 Hz la frecuencia que causaba mayor inhibición del crecimiento de un 18% (Ali y cols., 2014). De igual modo Ali et al., expuso a la bacteria *Agrobacterium tumefaciens* a ondas electromagnéticas de FEB, para encontrar la frecuencia de resonancia óptima, llegando de igual forma a 1 Hz de frecuencia, pero esta vez fue expuesto por 90 minutos donde causó una inhibición de crecimiento del 49,2%, también este estudio reveló que no solo se genera una disminución en la tasa de crecimiento, sino que también se vio afectada la virulencia de la *A. tumefaciens* puesto que después de ser irradiada la bacteria se inoculó en una planta de tomate y los síntomas fueron menos agresivos que los que no fueron irradiados (Fadel y cols., 2017).

4.2. Marco teórico

A continuación se presentarán los conocimientos necesarios para el desarrollo del trabajo.

4.2.1. Taxonomía.

- Reino: Bacteria
- Phylum: Mycetae
- Clase: Betaproteobacteria
- Orden: Burkholderiales
- Familia: Burkholderiaceae
- Género: *Ralstonia* (Scientific, 2004)

4.2.2. Generalidades de *R. solanacearum*.

El genero *Ralstonia spp.* se encuentra en la subdivisión de proteobacterias, y a su vez esta subdividida en cinco especies. Este trabajo de grado se centra en una de ellas *R. solanacearum*(Prior y Fegan, 2005), es una especie causal del la marchitez bacteriana en plantas como la papa, el plátano, el tomate entre otros(Champoiseau, 2009).

4.2.2.1. Diversidad de *R. solanacearum*

En cuanto a la diversidad de esta bacteria se tiene un sistema internacional en el que se divide por razas y biovares (Prior y Fegan, 2005).Es preciso resaltar que la división de razas se debe al rango de hospederos que sea capaz de abarcar la cepa, y los biovares, se basan en el perfil metabólico que es utilizado por la cepa, teniendo en cuenta su habilidad para metabolizar disacaridos y hexosalcoholes(Cook, Barlow, y Sequeira, 1989).

De acuerdo al trabajo realizado por Cook et al. la división de los biovares puede ser agrupada en dos, como lo son grupo uno correspondiente a biovar (3,4,5) cepas que son aisladas principalmente en Asia y biovar (1,2) principalmente en América (Cook y cols., 1989).

4.2.2.2. Morfología

En cuanto a su morfología macroscópica, presenta formación de colonias ovaladas y coloración blanca con centro de color rojo en el medio de cultivo agar TZC, ver imagen(4-1).Durante el almacenamiento o ante el estrés de cambio de medios esta bacteria puede presentar cambios en la virulencia y se evidencia en la forma que se visualiza la formación de la colonia como se visualiza en la imagen(4-2).(Champoiseau, 2009).

Microscópicamente presenta bacilos Gram negativos con flagelo polar??.Por otra parte sus

características metabólicas, es una bacteria aeróbica estricta, catalasa positiva, reductora de nitratos y productora de ácidos a partir de disacáridos y oxidación de alcoholes (Agrios, 2005; González Torres y cols., 2013).



Figura 4-1.: Colonias virulentas en medio TZC.
(Champoiseau, 2009)



Figura 4-2.: Comparación colonias virulentas y no virulentas.
(Champoiseau, 2009)

4.2.2.3. Mecanismos de infección

En cuanto a la forma en la que infecta a la planta, puede ser por heridas causadas por elementos externos, insectos o nematodos (Ica, 2011), en donde la bacteria entra a los vasos xilemáticos, y por lo tanto se disemina por todo el sistema vascular (Agrios, 2005). Lo que le permite a esta bacteria disiparse por toda la planta. A medida que llegan a los vasos, esta bacteria se dirige al espacio intracelular del parénquima, tienen la capacidad de disolver las paredes celulares y crear cavidades en la célula llena de masas viscosas y desechos (Agrios,

2005). Cuando la bacteria se instala en un medio, la posibilidad de diseminación es alta, pues puede soportar un periodo aproximado de 4 años y sobrevivir en condiciones bajas de nutrientes, hasta encontrar un nuevo hospedante (Naranjo y Martínez, 2013).



Figura 4-3.: Vasos xilemáticos infectados.(Clemson University - USDA Cooperative Extension Slide Series, Bugwood.org)

4.2.2.4. Signos y Síntomas de la marchitez bacteriana

Teniendo en cuenta el medio y forma de propagación de *R. solanacearum*, la forma en la que papa presenta una sintomatología característica que consta de un amarillamiento en el tallo o en las hojas, que inicialmente se presenta en la parte lateral de la planta, y que a medida que pasa el tiempo se propaga a todo el follaje; en ocasiones, el tallo se puede tornar color café característico y se presenta una marchitez de la planta, a pesar de presentar hojas aparentemente sanas (French, Lemaga, Chuloy, y Aley, 1999) como se ve en la imagen 4-4. En cuanto al tubérculo se observa un exudado blanquecino y oscurecimiento en el anillos vascular, a medida que esta enfermedad avanza este exudado sale por las yemas, dada esta característica recibe el nombre de papa llorona (Ica, 2011).



Figura 4-4.: Síntoma marchitez bacteriana.
(Champoiseau, 2009)

4.2.2.5. Control sobre *R. solanacearum*

El control realizado sobre esta bacteria se basa en el manejo de buenas prácticas agrícolas, que de acuerdo al ICA consisten en: sembrar semillas sanas, tener en conocimiento los antecedentes del terreno en el que se va a plantar, hacer rotación de cultivos los cuales no sean hospederos de la bacteria, entre otros (Ica, 2011).

En cuanto al control químico realizado sobre esta bacteria se tiene que la eficiencia se restringe por influir en: la contaminación del suelo, la resistencia de la bacteria y lo perjudicial que pueden ser para la salud humana y animal (Rueda-puente y cols., 2014).

4.2.3. Campos

En un principio se segmentará el estudio de los campos eléctricos y magnéticos, electromagnéticos, bioelectromagnetismo y estudios realizados sobre el efecto de las ondas sobre semillas y células animales.

4.2.3.1. Campos eléctricos

Este campo está en una región del espacio en donde se encuentra una carga eléctrica ejerciendo fuerzas sobre un objeto cargado (Kato, 2014). El campo eléctrico en cualquier punto del espacio se define como la fuerza ejercida sobre una distribución de carga y está definida como:

$$dE = \frac{k dq}{r^2} \vec{r} \quad (4-1)$$

Ecuación 4-2 fuerza ejercida sobre una distribución de carga (Serway y Jewett, 2009)

Donde k es la constante de coulomb, q es la carga y r es la distancia de donde se genera el campo hasta la q .

Teniendo en cuenta la densidad de corriente (J), el campo eléctrico (E) y la conductividad eléctrica del material σ , y se representa matemáticamente de la siguiente forma:

$$J = \sigma * E \quad (4-2)$$

Ecuación 4-2 Densidad de corriente en el campo eléctrico (Kato, 2014)

4.2.3.2. Campos magnéticos

El campo magnético al igual que el campo eléctrico, se encuentra en una región del espacio en donde se tiene una fuerza eléctrica que actúa en el movimiento de las cargas (Kato, 2014). El campo magnético, generado por una corriente, está definido por:

$$dF = Ids \times B \quad (4-3)$$

Ecuación 4-3 Campo generado por una corriente (Serway y Jewett, 2009)

Donde F es la fuerza magnética, I es la corriente, L la longitud del alambre y B es el campo magnético. La expresión matemática para, expresar el campo magnético (B) teniendo en cuenta la densidad de flujo magnético (H) y la permeabilidad del material μ , se define como:

$$B = \mu H \quad (4-4)$$

Ecuación 4-4 Campo generado por una corriente (Kato, 2014)

4.2.3.3. Campos dinámicos

La electrostática y la magnetostática pueden ser separadas por teorías físicas independientes (Sui, 2001), pues no están relacionadas con el tiempo, como se vio en la sección anterior en el que se describen las ecuaciones para describir el campo eléctrico y el campo magnético. Sin embargo, cuando se incluye el tiempo en estas teorías se conoce como la electrodinámica clásica, en donde se ve unificado el campo eléctrico y el campo magnético (Sui, 2001). Esta unificación, puede ser inferida por dos hechos que son:

La carga eléctrica es conservada, y la corriente eléctrica es la encargada de transportarla, esto se ve reflejado en la ecuación de desplazamiento de corriente descrita por Maxwell (Sui, 2001).

Un cambio en el flujo magnético a en un bucle inducirá un campo eléctrico con una fuerza electromotriz en dicho bucle, a lo que se conoce como la ley de inducción de Faraday (Sui, 2001).

4.2.3.4. Campos magnéticos oscilantes

Los campos magnéticos oscilantes pueden ser homogéneos o heterogéneo, cuando se habla de campo homogéneo hace referencia a una intensidad de campo uniforme en un área, mientras que un campo heterogéneo la intensidad del campo no es uniforme (Fernández-Molina, Barbosa-Cánovas, y Swanson, 2001). Los campos magnéticos oscilantes, se le aplican pulsos los cuales invierten la carga, en el que puede variar la intensidad o la frecuencia. Dicha frecuencia puede ser manejada entre 5 a 500kHz, en la que generalmente es aplicada para reducir el número de microorganismo (Fernández-Molina y cols., 2001).

4.2.3.5. Electromagnetismo

Las ondas electromagnéticas consisten en el movimiento oscilatorio de los campos anteriormente descritos. Maxwell encuentra la relación de estos campos dando bases teóricas de los fenómenos electromagnéticos. (Assis y Assis, 1994; Serway y Jewett, 1965).

Las ondas electromagnéticas son el producto de cargas eléctricas oscilantes, dichas ondas están compuestas por los campos eléctricos y magnéticos, los cuales son perpendiculares, es decir forman ángulos de 90. El resultado del descubrimiento de Maxwell se representa en sus 4 ecuaciones (Serway y Jewett, 1965), que son:

$$\oint E * dA = \left(\frac{q}{\epsilon_0}\right) \quad (4-5)$$

Ecuación 4-5 (Serway y Jewett, 1965)

$$\oint B * dA = 0 \quad (4-6)$$

Ecuación 4-6 (Serway y Jewett, 1965)

$$\oint E * ds = \left(-\frac{d\phi_B}{d}L\right) \quad (4-7)$$

Ecuación 4-7 (Serway y Jewett, 1965)

$$\oint B * ds = \mu_0 I + \mu_0 \epsilon_0 \left(\frac{d\phi_E}{d}L\right) \quad (4-8)$$

Ecuación 4-8 (Serway y Jewett, 1965)

La ecuación 4-5 corresponde a la ley de Gauss que estipula el flujo eléctrico en una superficie cerrada, en el su equivalente corresponde a la carga neta que recorre dicha superficie.

La ecuación 4-6 corresponde a la ley de Gauss para describir el flujo magnético en una superficie cerrada, en el que se considera que la cantidad de líneas de campo que salen de dicha superficie será la misma cantidad que ingrese, por lo tanto será igual a cero (Serway y Jewett, 1965).

La ecuación 4-7 describe la generación de un campo eléctrico por un flujo magnético, dicha ecuación representa la ley de Faraday de la inducción y finalmente la ecuación 4-8 explica la creación de un campo magnético por un campo eléctrico generado por corriente eléctrica, esta es la ley de Ampere-Maxwell (Serway y Jewett, 1965).

La longitud y la frecuencia determinan una característica de los campos electromagnéticos, ya que las ondas son transportadas por cuantos de luz. En las ondas electromagnéticas se transporta energía, dependiendo de si su frecuencia sea mas alta o mas baja, se considera la longitud de la onda corta o larga respectivamente (OMS, s.f.).

4.2.3.6. Campos electromagnéticos ionizante y no ionizante

Como se dijo anteriormente las ondas electromagnéticas transportan energía, aquellas de alta frecuencia con la longitud de onda más corta son capaces de romper las moléculas(OMS, s.f.). En el espectro electromagnético se conocen como radiación ionizante a los rayos gamma, rayos cósmicos y los rayos X (OMS, s.f.).

Se considera radiación no ionizante a los cuantos de luz que no tienen la cantidad de energía suficiente para romper los enlaces moleculares(OMS, s.f.).

4.2.3.7. Bioelectricidad

La bioelectricidad corresponde a una visión de las fuentes y campos como potenciales y corrientes en función de la posición de iones en varios cuerpos, considerando que los humanos y los animales son volúmenes largos con soluciones conductoras con corrientes de iones en movimiento (Plonsey y Barr, s.f.)

Cuando se habla de material en los campos eléctricos, también se considera el material biológico, por ejemplo, la membrana celular, fluidos en los tejidos(Plonsey y Barr, s.f.), los cuales inducen corrientes y campos eléctricos, ya que se encuentran en un lazo cerrado y descansan en un plano perpendicular a la dirección del campo magnético. Las corrientes inducidas producen el rompimiento de las membranas y el calentamiento del tejido (Solano y Sáiz, 2010).

Los potenciales y corrientes, son descritos por el comportamiento de la célula, tanto en el interior como en la membrana y la conductividad de la superficie hacia el cuerpo, lo cual determina la transmisión de información (Plonsey y Barr, s.f.). Es entonces donde el movimiento iónico, puede ser representado por dos formas: el flujo o la corriente eléctrica, el cual numéricamente estará descrito por moles por segundo o Amperes(Plonsey y Barr, s.f.). Un modelo para representar dicho comportamiento es el circuito en serie RC con un switch S el cual permitirá la carga y descarga del capacitor, representado por los canales de intercambio de iones de la célula, R representa la resistencia de la membrana en el flujo de corriente (Newman, 2008).

4.2.3.8. Bobinas

En el estudio de bioelectromagnetismo es necesario que los campos magnéticos generados sean homogéneos y controlados, pues gran parte de los experimentos se basan en el estudio sobre el efecto al sistemas biológicos con la excitación de campos magnéticos, en donde se requiere que el dispositivo sea capaz de generar campos homogéneos y que garanticen una exposición controlada y repetible para diferentes pruebas(Restrepo, Franco, y Pinedo, 2014).

Para realizar dichos estudios en bioelectromagnetismo se requiere conocer el volumen de trabajo, donde se asegure que la distribución del campo magnético sea uniforme. En este orden de ideas, las bobinas de núcleo de aire han sido las más utilizadas para generar los campos magnéticos cuando son alimentados por corriente eléctrica (Restrepo y cols., 2014). Las bobinas con configuración Helmholtz se usan cuando la estimulación de los campos es de una magnitud y una frecuencia baja sobre sistemas biológicos *in vivo e in vitro* (Restrepo y cols., 2014).

4.2.3.8.1. Tipos de configuración de bobinas Con los siguientes tres tipos de bobinas se pueden generar campos magnéticos homogéneos con un volumen de concentración del campo en el centro (Olivares-Galvan, Campero-Littlewood, Escarela-Perez, Magdaleno-Adame, y Blanco-Brisset, 2010).

- Sistema de bobina Helmholtz

Este tipo de bobina, tiene una forma circular son utilizadas para producir pequeños volúmenes de campo magnético uniforme. Como especificación para su construcción es tener dos bobinas con el mismo número de vueltas, y estar conectadas en serie (Olivares-Galvan y cols., 2010), como se ven en la imagen 4-5.

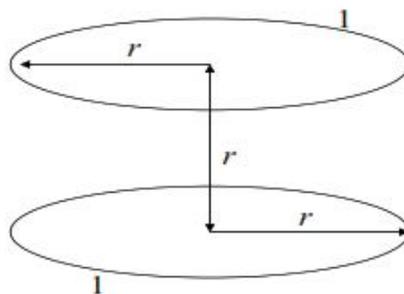


Figura 4-5.: Configuración Helmholtz.
(Olivares-Galvan y cols., 2010)

- Sistema de bobina Merritt

Este tipo de bobina, es utilizada para producir grandes volúmenes de campo magnético uniforme. Haciendo una comparación con las bobinas anteriores, esta configuración son de tres a 4 bobinas cuadradas conectadas en serie (Olivares-Galvan y cols., 2010) ver imagen 4-6.

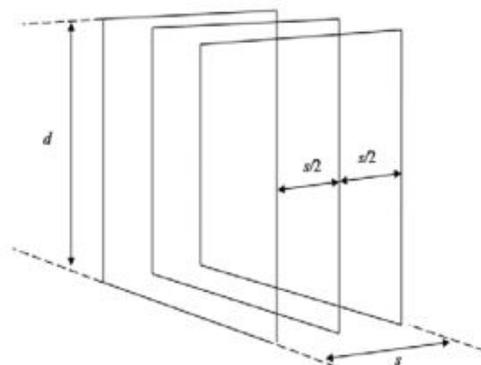


Figura 4-6.: Configuración Merritt.
(Olivares-Galvan y cols., 2010)

- Sistema de bobina Ruben

Este sistema de bobinas es mas complejo que el anterior ya que presenta una conexión de cinco bobinas en serie con diferentes radios, las cuales son proporcionales en los extremos, las que le siguen y por ultimo de diferente tamaño la bobina central(Olivares-Galvan y cols., 2010) ver imagen 4-7 .

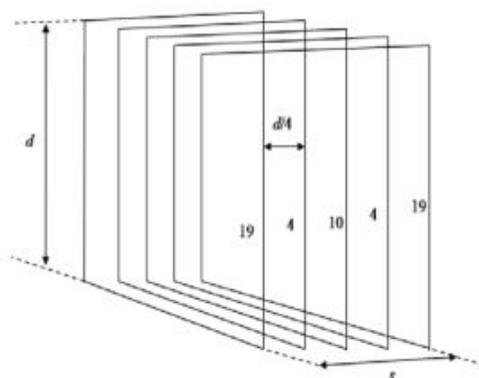


Figura 4-7.: Configuración Ruben.
(Olivares-Galvan y cols., 2010)

La diferencia en estas configuraciones corresponde a la capacidad que tienen de generar un volumen uniforme, en donde el sistema Merritt y el sistema Ruben son volúmenes utilizados en experimentaciones a grandes escalas.

4.2.3.8.2. Radiadores utilizados en estudios previos Para el estudio del control de actividad de la bacteria *R. solanacearum* usando campos pulsados, trabajo descrito anteriormente (Ali y cols., 2014). Utilizan dos platos cuadrados de cobre de 5x5 centímetros cuadrados separadas por un centímetro, en medio de dicha separación posicionan las muestras en suspensión.

Como fuente de poder de corriente directa de 9v conectada con un circuito que produce el pulso cuadrado con un ciclo de trabajo del 50 por ciento para diferentes frecuencias, en la siguiente figura 4-8 se muestra la ilustración del diseño propuesto

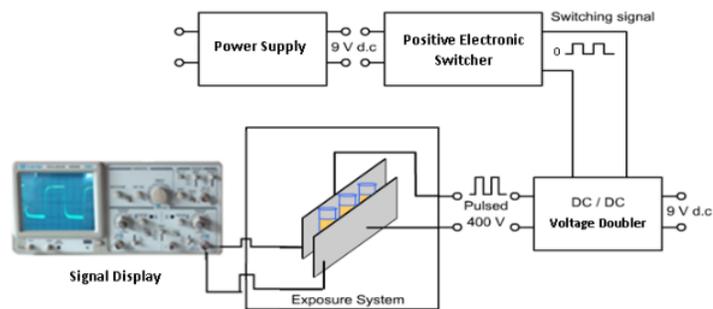


Figura 4-8.: Radiador de placas.
(Ali y cols., 2014)

En cuanto al estudio de la inhibición del crecimiento de *E. coli* por la inducción de campos magnéticos débiles de frecuencias extremadamente bajas, utilizan dos bobinas cilíndricas, una de ellas puesta en operación en 60Hz y la otra a 600Hz con un campo magnético en el rango de 3 a 10 mili teslas. Dichas bobinas fueron puestas en funcionamiento dentro de una cabina de congelación (Ramon y cols., 1981), de esta fuente bibliográfica no se tiene registro de imágenes de las bobinas.

Otra investigación sobre el patógeno *E. coli*, consiste en un solenoide enfriado con agua. Los campos magnéticos son generados por un generador, el cual tiene como salida una señal sinusoidal en un rango de frecuencias de 2-30Hz, en este estudio se utilizan diferentes métodos de lectura, en la siguiente figura 4-9 se evidencia el esquemático del diseño propuesto (Mittenzwey y cols., 1996)

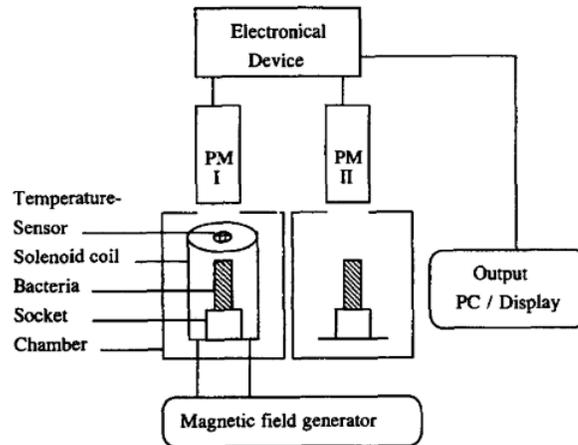


Figura 4-9.: Solenoide refrigerado por agua.
(Mittenzwey y cols., 1996)

En el artículo de diseño y desarrollo de un campo electromagnético pulsado de frecuencia extremadamente baja (Ahmed, 2012), realizan una construcción de un sistema de bobinas puestas de forma geométrica, con el fin de maximizar la uniformidad del campo generado en la región central de la configuración. Para este sistema emplean frecuencias de 2Hz a 500Hz, con un circuito de conmutación, una fuente de poder y cuatro bobinas, como se ve en la figura 4-10

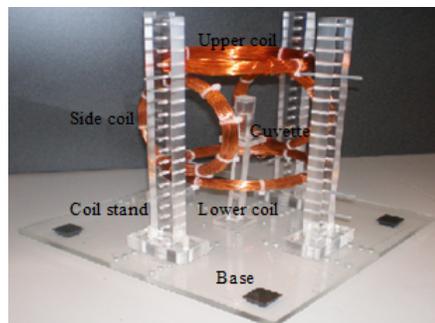


Figura 4-10.: Configuración cuatro bobinas
(Ahmed, 2012)

4.2.3.9. Efectos de los campos sobre bacterias Gram negativas

El efecto de las ondas electromagnéticas sobre bacterias Gram negativas, se encuentra como posible cambio la alteración en el transporte de iones y la formación de radicales libres (Dom y Guti, 2015). Los radicales libres son aquellos átomos o moléculas que tienen al menos un electrón desapareado (Ángel, Vérez, y Sáiz Ipiña, s.f.), provocando que choquen con otras moléculas causando más radicales libres que a su vez pueden formar una cadena (Ángel y

cols., s.f.).

El fenómeno basado en átomos, moléculas o fragmentos moleculares que poseen un número impar de electrones es conocido como resonancia paramagnética electrónica, en donde el electrón desapareado exhibe su propiedad magnética (Azorin, 2005), un electrón se puede considerar como una esfera que se encuentra cargada negativamente en el que gira sobre su propio eje, en el que produce una corriente y por lo tanto un campo magnético (Azorin, 2005). Esta esfera, puede ser considerada como un imán que se puede alinear bajo una influencia de un campo magnético externo (Azorin, 2005). Teniendo en cuenta que el radical libre es un electrón desapareado y por lo tanto posee un espín y energía, cuando se tiene un campo externo cerca, dicha energía puede crecer o decrecer de acuerdo a la orientación en la que se encuentre el espín con respecto al campo generado y su intensidad (Azorin, 2005).

El efecto sobre las bacterias se ve reflejado a medida de paso del tiempo ante la exposición de las ondas electromagnéticas, pues se generan mutaciones por la ruptura del puente de hidrógeno del ADN debido a la presencia de radicales libres (Dom y Guti, 2015), afectando negativamente la formación de UFC. Estos efectos se ven relacionados directamente con el crecimiento y patogenicidad de la bacteria (Ali y cols., 2014; Fadel y cols., 2017).

4.2.3.10. Efectos de los campos electromagnéticos sobre semillas

El estudio de las ondas electromagnéticas de frecuencia extremadamente baja (6 - 80 Hz) también se realiza sobre el efecto en el crecimiento de las semillas de la planta. Teniendo en cuenta que la exposición de las semillas se forma una resonancia biológica, dejando a los tejidos como una fuente de radiación secundaria, la cual estimula la división, acelerando la oxidación y el metabolismo de los tejidos adyacentes los cuales no reciben directamente el campo electromagnético (Ivanovich, Evgenyevich, Vasilyevich, Nikolaevna, y Igorevich, 2013). Sin embargo, este resultado depende de la masa de la semilla, y la duración del efecto se visualizó durante 100 a 120 días de acuerdo al estudio realizado por Kasyanov Gennady Ivanovich en el año 2013 (Ivanovich y cols., 2013).

4.2.3.11. Efectos de los campos sobre células animales

Los estudios de los efectos electromagnéticos en células animales no afecta procesos fundamentales de la célula (Kato, 2014), además, la literatura nos dice que no se encuentran efectos adversos en la salud (Solano y Sáiz, 2010), esto se debe a la falta de conexión de los resultados en experimentos *in vitro e in vivo*, esto se debe a que la energía que lleva un fotón, en las ondas electromagnéticas de frecuencia extremadamente bajas, es baja como para generar un daño significativo en la célula (Solano y Sáiz, 2010).

4.3. Marco normativo

A continuación se presentarán las normas necesarios para el desarrollo del trabajo.se presentará la norma 754 de 2016 relacionada con la protección de humanos a la radiación:

4.3.1. Resolución 754 de 2016.

Esta resolución establece los lineamientos de protección para seres humanos frente a radiaciones no ionizantes y nos da los niveles de referencia de emisión a campos electromagnéticos dados por la Comisión Internacional para la Protección de la Radiación No Ionizante(ICNIRP).

5. Metodología

La metodología de este proyecto se dividió en las siguientes tres etapas: Diseño y construcción del prototipo, protocolo de pruebas, elaboración de protocolo de implementación del prototipo radiador.

5.1. Diseño y construcción del prototipo

Para el diseño y construcción del prototipo radiador se llevó a cabo la siguiente metodología la cual sera descrita en los siguientes numerales.

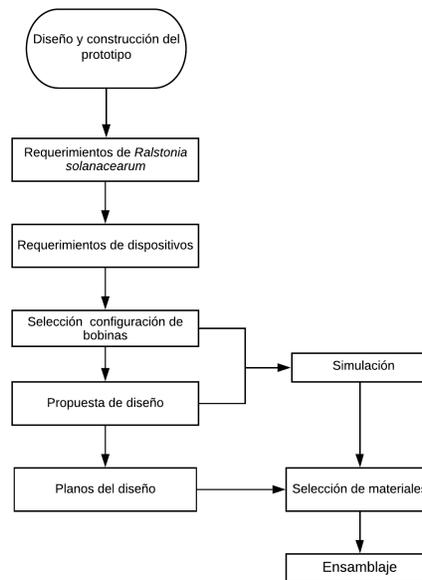


Figura 5-1.: Diseño y construcción del dispositivo.

5.1.1. Requerimientos de *R. solanacearum*

Se realizó una búsqueda del efecto de las ondas magnéticas con FEB en el rango de 1 a 300Hz sobre *R. solanacearum*, sin embargo, esta búsqueda se vio reducida por la falta de estudios sobre el efecto de las ondas sobre este patógeno. En el artículo encontrado sobre *R. solanacearum* se evidencia daños en la membrana celular con una frecuencia e intensidad en

el rango 50 micro teslas a 2.5 teslas. Teniendo en cuenta esta morfología de la membrana, se amplió la búsqueda sobre agentes biológicos Gram negativos.

5.1.2. Requerimientos del dispositivo

Teniendo en cuenta los requerimientos establecidos para *R. solanacearum* se determinó que el dispositivo debe generar un campo magnético dinámico cercano manteniendo una intensidad homogénea y uniforme, a una FEB.

Para la determinación de la configuración de las bobinas necesarias con la finalidad de irradiar la bacteria, se estipularon características que permitieran la decisión de la solución adecuada a los requerimientos de acuerdo a lo estipulado para la bacteria y los requerimientos de espacios para la implementación del dispositivo en laboratorio.

5.1.3. Selección de bobinas

Se identificaron los tipos y configuraciones de bobinas que pueden encontrarse, teniendo en cuenta los requerimientos de las variables necesarias para el diseño del radiador estipuladas en anteriormente.

Solucion	Forma del campo (10%)	Inductancia (10%)	Nucleo(5%)	Permeabilidad (5%)	Intensidad (15%)	Frecuencia (20%)	Forma (2%)	Concentracion del campo (10%)	Homogeneidad del campo (15%)	Afectación alrededores (3%)	Aumento de la temperatura (5%)	Total
Toroide	centro	depende de la corriente	hierro	depende	suficiente	bajas	dona	en el centro	Uniforme	ninguna	alta	8,5
Bobina cuadrada con nucleo de ferrita	hacia afuera	depende de la corriente	ferrita	depende	suficiente	altas	cuadrada	amplia	Uniforme/depende	alta	alta	3,7
Bobina redonda con nucleo de ferrita	hacia afuera	depende de la corriente	ferrita	depende	suficiente	altas	redonda	concentrada	Uniforme/depende	alta	alta	4,2
Bobina cuadrada sin núcleo	hacia afuera	no depende de la corriente	n/a	No depende	suficiente	alta y baja	cuadrada	amplia	Uniforme	alta	media	6,95
Bobina redonda sin núcleo / dos bobinas	hacia afuera	No depende de la corriente	n/a	No depende	suficiente	bajas	redonda	concentrada	Uniforme	alta	media	9,2
Bobina cuadrada con nucleo de hierro	hacia afuera	depende de la corriente	hierro	depende	suficiente	bajas y altas	cuadrada	amplia	Uniforme/depende	alta	alta	4,95
Bobina redonda con nucleo de hierro	hacia afuera	depende de la corriente	hierro	depende	suficiente	bajas y altas	redonda	concentrada	Uniforme/depende	alta	alta	5,45
Solenoides sin núcleo	centro y hacia afuera	depende de la corriente	n/a	No depende	suficiente	bajas y altas	resorte	centro	Uniforme	moderada	media	8,35

Figura 5-2.: Selección de bobinas.

Para realizar la selección de la forma de la bobina se tuvieron en cuenta las posibles soluciones con las que se puedan trabajar en laboratorio de forma *in vitro* versus las necesidades que requirió el dispositivo para el funcionamiento de acuerdo a lo estipulado en requerimientos de la bacteria y del dispositivo, como se evidencia en la figura 5-2. Teniendo en cuenta la matriz anterior se estipularon valores numéricos de uno a diez, para determinar la solución más adecuada para su fabricación.

En tabla **5-1**, se tuvieron en cuenta la forma en la que el campo irradiará, concentrándose en el centro de las bobinas o de forma expansiva que corresponde en la tabla afuera. A esta característica se le asignó 15 % de importancia con respecto a un 100 % de toda la solución.

Forma del campo(15 %)	0.15
Centro	10
afuera	5

Tabla 5-1.: Ponderación forma del campo.

En la tabla **5-2**, se tuvieron en cuenta los posibles núcleos, con los que se pueden fabricar las bobinas, asignando un valor del 5 % de importancia con respecto a un 100 %. Los valores asignados para cada elemento se determinaron de acuerdo a la homogeneidad del campo y su costo en el mercado.

Núcleo(5 %)	0.05
Hierro	5
Ferrita	0
N/A	10

Tabla 5-2.: Ponderación núcleo.

En la tabla **5-3**, para esta tabla se tiene en cuenta que su fabricación puede realizarse con varias formas y su afectación en el campo. Para esta característica se le asignó un 2 % dentro del 100 %.

Forma(2 %)	0.02
Dona	10
Cuadrada	10
Redonda	10
Resorte	10

Tabla 5-3.: Ponderación forma.

En la tabla **5-4**, se determinó de acuerdo a las posibles configuraciones, en las que se puede ver afectado el campo en la forma de la disposición de la solución, esta característica también refiere a la homogeneidad que va a tener el campo.

Concentración del campo(10 %)	0.1
Centro	10
Concentrada	5
Amplia	0

Tabla 5-4.: Ponderación Concentración del campo.

En la tabla **5-5**, para esta característica se determinó la importancia de la inductancia de la bobina, en la que refiere si puede verse afectada por la variación de la corriente.

En la tabla **5-6**, refiere a la cantidad necesaria que se necesita de acuerdo al requerimiento

Inductancia(10 %)	0.1
No depende de la corriente	10
Depende de la corriente	5

Tabla 5-5.: Ponderación Inductancia.

del agente biológico como el requerimiento del dispositivo. En donde cada una de las posibles soluciones sea capaz de suplir dicha necesidad.

Intensidad(15 %)	0.15
Suficiente	10

Tabla 5-6.: Ponderación intensidad.

En la tabla **5-7**, se analizó de acuerdo a las posibles soluciones como se vera reflejado la homogeneidad del campo.

Homogeneidad del campo(15 %)	0.15
Uniforme	10
Uniforme/depende	0

Tabla 5-7.: Ponderación Homogeneidad del campo.

En la tabla **5-8**, en este ítem se analizó si en cada una de las posibles soluciones puede tener un efecto sobre el campo con cualquier perturbación externa con elementos metálicos.

La tabla **5-9** tiene relación con el manejo del núcleo, pues de él depende la permeabilidad del material que se maneje en su interior y como este afecta la intensidad del campo magnético.

Afectación alrededores(3 %)	0.03
Ninguna	10
Moderada	5
Alta	0

Tabla 5-8.: Ponderación Afectación alrededores.

Permeabilidad (5 %)	0.05
Depende	5
No depende	10

Tabla 5-9.: Ponderación Permeabilidad.

La tabla **5-10**, tiene relación con la necesidad de la frecuencia necesaria para la fabricación del dispositivo, en la figura**5-2** se evidencia que no todas las posibles soluciones están fabricadas para emitir frecuencias bajas.

Frecuencia (20 %)	0.2
Baja	10
Baja/Alta	5
Alta	0

Tabla 5-10.: Ponderación Frecuencia.

La tabla **5-11**, se tiene en cuenta que a medida que pasa la corriente por la bobina esta puede aumentar su temperatura considerablemente afectando el sistema biológico.

Aumento de la temperatura(5 %)	0.05
Alta	10
Media	0

Tabla 5-11.: Ponderación aumento de la temperatura

Para determinar el material de la bobina, se realizó una matriz de ponderación teniendo en cuenta características como conductividad eléctrica, maleabilidad del material resistencia eléctrica y su precio en el mercado como se ve en la tabla **5-12**.

Considerando los valores porcentuales se escogieron los materiales aluminio, cobre,oro y plata, en los que se determinara el material adecuado para la fabricación de las bobinas **5-13**.

Características	Porcentaje(%)
Conductividad eléctrica (1)	35
Precio (2)	20
Maleable (3)	30
Resistencia eléctrica (4)	15

Tabla 5-12.: Porcentaje de requerimientos materiales para la bobina.

Característica	Aluminio	Cobre	Oro	Plata
1	3.9	4.6	4.7	5.0
2	3.9	4.7	1.0	2.0
3	4.5	4.3	3.5	4.5
4	4.1	4.0	4.2	4.2
Total	4.03	4.46	3.49	4.015

Tabla 5-13.: Valoración de característica de los materiales para la bobina.

En la determinación del diámetro del material ya previamente seleccionado, se realizó una matriz de ponderación en la que se tiene en cuenta las características como corriente permitida, costo, resistencia eléctrica y maleabilidad ver tabla 5-14, características necesarias para la fabricación de las bobinas 5-15.

Características	Porcentaje(%)
Corriente permitida (1)	35
Costo (2)	20
Resistencia eléctrica(3)	30
Maleable(4)	15

Tabla 5-14.: Porcentaje de requerimientos para el diámetro de la bobina.

Característica	0.8mm	1.2mm	1.6mm	2mm	2.9mm
1	3.6	4.5	4.6	4.7	4.9
2	4.7	4.6	4.6	4.3	4.0
3	2.0	2.5	3.6	3.8	4.0
4	4.7	4.5	4.4	4.1	3.9
Total	3.64	4.01	4.29	4.255	4.285

Tabla 5-15.: Valoración de característica del diámetro del material.

5.1.4. Propuesta de diseño

Teniendo en cuenta la disposición de las bobinas se realizó el diseño de una estructura en el programa Fusion 360, considerando que no se afectara de forma negativa los requerimientos previamente establecidos. Se tuvo en cuenta que en la fabricación de la estructura no debe tener ningún tipo de artefacto que puede generar un cambio en la homogeneidad e intensidad del campo. Además se tuvo presente la forma en la que se dispondrá la muestra biológica y que dentro del experimento se corra el menor riesgo ante un posible riesgo de la muestra (Anexo A).

5.1.5. Simulación

Mediante un software de simulación de campos magnéticos se quiso visualizar el campo generado con la configuración de las bobinas previamente establecida. Para determinar el software apropiado se realizó la siguiente matriz de ponderación.

En la tabla 5-16, se muestran las características que se requirieron para la implementación del software, en los que se presentan la facilidad del manejo, adquisición del programa, interfaz gráfica y presentación de resultados. Para estas características se encontraron dos software especializados mostrar los campos magnéticos, uno de ellos consiste en Comsol y el otro computer simulation technology studio suite (CST studio suite) ver tabla 5-17.

Características	Porcentaje(%)
Facilidad de Manejo (1)	35
Adquisición del programa (2)	20
Interfaz gráfica (3)	30
Presentación de resultados (4)	15

Tabla 5-16.: Porcentaje de requerimientos software de simulación.

Característica	Comsol	CST studio
1	3.9	3.8
2	2	5
3	4.0	3.9
4	4.0	4.0
Total	3.6	4.1

Tabla 5-17.: Valoración de característica del software de simulación.

Como metodología de la implementación del software se evidencia en la figura 5-3. Como primera instancia se tiene la elección de la aplicación del programa en donde el usuario

puede elegir la dinámica de una partícula cargada, estadísticas y frecuencias bajas, campos magnéticos entre otros. Seguido a esto el usuario debe conocer el dominio en el que se desarrolla su simulación ya sea en el dominio de la frecuencia o el dominio del tiempo, una vez elegido el dominio el software requiere de las unidades en las que se quiere trabajar.

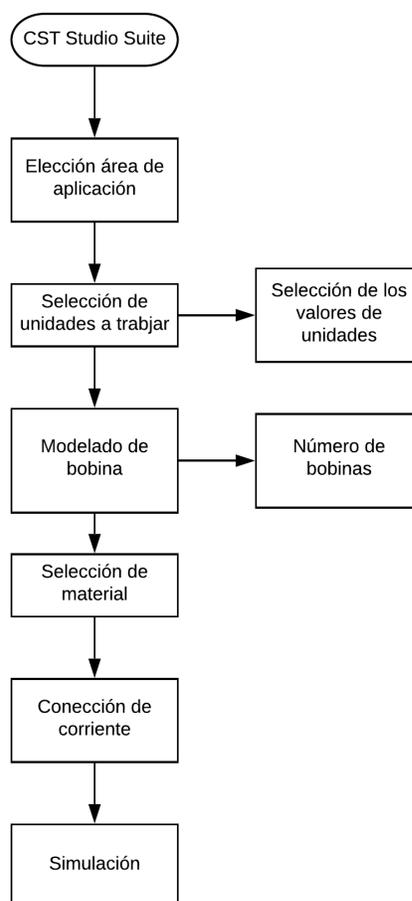


Figura 5-3.: Metodología uso programa CST Studio Suite 2018.

Realizando los pasos anteriores se puede realizar el diseño de las bobinas necesarias, teniendo en cuenta el material que se eligió previamente, se realiza las conexiones de corriente para la alimentación de las bobinas, finalmente se procede a simular.

Durante la implementación del software para este proyecto se tuvieron en cuenta los parámetros previamente establecidos para la fabricación del dispositivo.

5.1.6. Ensamblaje

Una vez se tuvo la simulación de las bobinas, se realizó una matriz de ponderación para determinar el material necesario para hacer la construcción de la estructura.

En la tabla 5-18 se determinaron las características que requiere el material de la estructura diseñada anteriormente, en la tabla 5-19 se muestran los valores asignados para cada material, de igual forma se realizó el diseño con el material designado a partir de las matrices anteriores ver figura 5-4.

Características	Porcentaje(%)
Facilidad de Manejo (1)	35
Resistencia mecánica (2)	20
Permeabilidad del material (3)	30
Peso (4)	15
Costo (5)	15

Tabla 5-18.: Porcentaje de requerimientos materiales para la base del dispositivo.

Característica	Acrílico	Vidrio	PDA	ACero
1	4.4	4.0	4.0	4.0
2	4.0	4.5	4.0	5.0
3	4.7	4.8	4.3	0.0
4	4.1	3.9	4.5	4.2
5	4.0	3.5	3.7	3.0
Total	4.32	4.1	4.0	3.43

Tabla 5-19.: Valoración de característica de los materiales para la base del dispositivo.

Para realizar dicha estructura se tuvo en cuenta el tamaño de las bobinas, la disposición que se propuso anteriormente y la distancia en las que se encuentran. Dichas bobinas fueron conectadas a la fuente y al generador de ondas los cuales se encuentran fuera de la estructura para evitar la interferencia en el campo magnético. Los equipos fueron respaldados con un circuito protector ver anexos de circuitos.

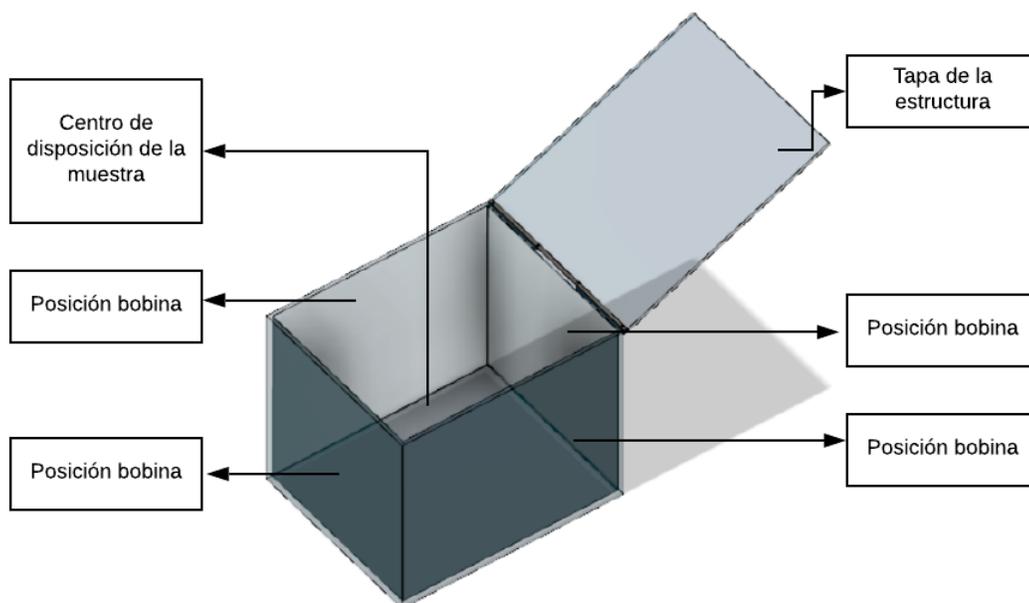


Figura 5-4.: Vista superior estructura diseñada

5.2. Protocolo de pruebas

Se realizó un protocolo de pruebas con el que se evidenció el funcionamiento del dispositivo radiador, dividido en dos ítems: el primero consistió en la simulación por medio del software previamente seleccionado, y el segundo paso se realizó con el dispositivo medidor de campos electromagnéticos GM3120 electromagnetic radiation tester.

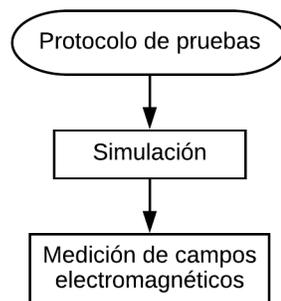


Figura 5-5.: Metodología para el desarrollo de protocolo de pruebas.

5.2.1. Simulación

Con el programa CST studio suite se simuló nuevamente el diseño de la configuración de las bobinas, ubicando objetos metálicos a diferentes distancias donde se probó la distancia mínima a la cual un objeto metálico puede estar de las bobinas cuando están en operación con el fin de eliminar interferencias que afecten la intensidad y distribución del campo. La metodología de la implementación del software fue descrita anteriormente en el literal 5.1.5.

5.2.2. Medición sobre el dispositivo

Se realizó el protocolo de pruebas sobre el eje de simetría de cada par de bobinas y el volumen del campo en el centro de separación de cada par de bobina (Restrepo y cols., 2014). Para llevar a cabo la implementación del protocolo de pruebas fue necesario determinar la posición en los ejes de coordenadas (x, y, z) (Restrepo y cols., 2014), para esto se construyó una estructura la cual nos permitió conocer los puntos de medición. Se verificó lo que se obtuvo en las simulaciones. Las mediciones se basaron en ubicar el medidor de campos electromagnéticos GM3120 en las zonas seleccionadas con la ayuda de la estructura construida; se seleccionaron diferentes puntos en los planos de simetría para realizar un mapeo del campo generado por las bobinas y verificar lo obtenido en las simulaciones.

5.3. Elaboración de protocolo de implementación del prototipo radiador

Para la elaboración del protocolo de implementación del prototipo radiador, se estipuló una serie de instrucciones que el usuario puede seguir para hacer uso del equipo para realizar la radiación a *R. solanacearum*. Como anexo a este documento, el usuario debe revisar el manual del equipo.

En la siguiente figura 5-6, se muestran los parámetros implementados para desarrollar las instrucciones del protocolo.

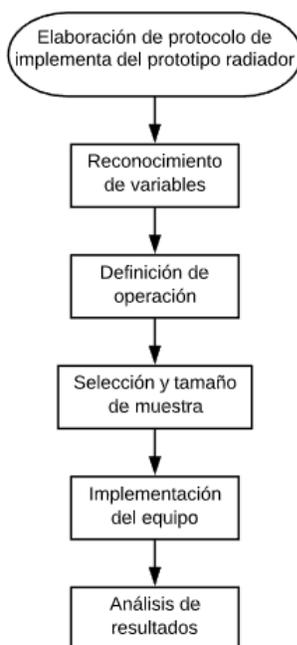


Figura 5-6.: Metodología para el desarrollo del protocolo de implementación

5.3.1. Reconocimiento de variables

El reconocimiento de variables que debe realizar el usuario corresponde a:

R. solanacearum, de esta bacteria debe reconocer morfología, macroscópica y microscópica, y realizar una revisión primaria del crecimiento de la bacteria(de la Salud, s.f.).

El usuario debe realizar el reconocimiento de la frecuencia utilizada por el equipo, la intensidad de campo magnético y el tiempo del crecimiento de la bacteria, y posibles efectos de la exposición a las ondas magnéticas FEB(de la Salud, s.f.).

5.3.2. Definición de operación

Dentro del protocolo se le entrego al usuario los pasos necesarios para la reactivación de la bacteria presente en los laboratorios de la Universidad El Bosque, con la que debe realizar la metodología para realizar una curva patrón de crecimiento(de la Salud, s.f.).

Para encender y poner en funcionamiento el equipo, se le considera la lectura del manual de operación en el capitulo de requerimiento de funcionamiento,anexado a este documento.

5.3.3. Implementación del equipo

De igual forma dentro del protocolo de implementación se le proporcionó al usuario la metodología en el que se debe realizar la radiación a la bacteria.

Se le sugiere al usuario un método estadístico para el análisis de los datos de acuerdo a los resultados obtenidos del crecimiento de la bacteria después de ser irradiada con las ondas magnéticas FEB (de la Salud, s.f.).

6. Resultados y Discusión

Los resultados se encontraran divididos en tres etapas de acuerdo con los objetivos específicos de la siguiente manera: diseño y construcción de dispositivo, protocolo de pruebas y elaboración del protocolo de implementación del prototipo radiador.

6.1. Diseño y construcción de dispositivo

6.1.1. Requerimientos de *R. solanacearum*

En la revisión del sistema biológico se centro la búsqueda en la membrana biológica y en la corriente iónica que esta pudiera generar; primero se determino que la bicapa fosfolipídica de un valor de 10^{15} ohmio-cm se comporta como un aislante y al mismo tiempo alberga cargas como si fuera un capacitor ideal(Newman, 2008). A partir de esto, se modeló la membrana como un circuito RC con un switch como se observa en la figura 6-1 .

Cuando el switch esta cerrado en $T = 0$ los canales proteicos de la membrana se empiezan abrir (Newman, 2008). Se aproximó que el flujo de un canal es de 600 ions/1ms, esta cantidad de flujo es insignificante en términos de concentración, ya que este es constante en el citoplasma y medio extracelular (Newman, 2008).

De acuerdo a lo anterior se determino la densidad de corriente por un canal es de $100\mu Acm^2$ es decir, 1nmol de iones cm^2s establecido para 10 canales.La corriente que pasa por un canal es de 1pA, dicho de otra manera, el flujo de 10^{-18} mol de ions/s cuando la bateria se encuentra en mayor actividad metabolica(Newman, 2008).

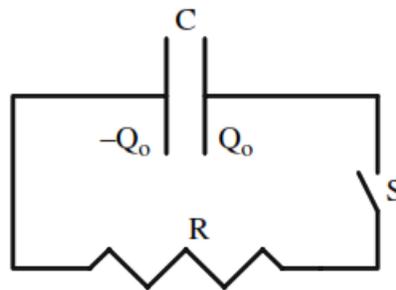


Figura 6-1.: Modelo de la membrana como circuito RC
(Newman, 2008)

6.1.2. Requerimientos de dispositivo

Teniendo en cuenta los requerimientos establecidos para *R. solanacearum* se determinó que la frecuencia, la intensidad y el tiempo de exposición corresponden a 50 Hz, $50\mu T$ y 6 horas respectivamente (Oncul y cols., 2016).

Estos valores fueron determinados ya que las ondas generadas van a afectar el transporte de iones, ya sea por alteración morfológica de la membrana (Oncul y cols., 2016) o por cierre de los canales iónicos (Dom y Guti, 2015), cuando esto ocurre el medio intracelular y extracelular van a quedar con diferentes potenciales eléctricos; los iones que quedan en el medio intracelular, se van a convertir en radicales libres, daños al microorganismo como lo son las mutaciones en la cadena de ADN (Dom y Guti, 2015).

$$B = \left(\frac{4}{5}\right)^{\frac{3}{2}} \frac{\mu_0 * n * I}{R} \quad (6-1)$$

Ecuación 6-2 Ley de Biot-Savart (Ahmed, 2012)

Para el generar la intensidad del campo requerido se tuvo en cuenta la ecuación 6-2, en donde se tenían 3 variables para generar la intensidad de $50\mu T$, las cuales eran: radio de la bobina, número de vueltas de la bobina y la corriente que debía circular por las bobinas. El radio se determinó ya que la bobina debería tener mayor tamaño que la muestra biológica para asegurar que la intensidad del campo fuera para toda la muestra; para el número de vueltas se estipuló 110 vueltas dejando como única variable la corriente que se calculó con la ecuación ya mencionada.

Para la generación de la onda se utilizó el generador de ondas, HW753 de Arduino ya que este dispositivo es fácil de transportar y su tamaño permite que este fuera del alcance del usuario y que no tenga forma de modificar la frecuencia establecida para el funcionamiento del equipo, sin embargo este no generó la corriente necesaria para la intensidad requerida, por lo cual se diseñó un circuito para amplificar la corriente de la señal (Anexo B); para alimentar el dispositivo se utilizó una dual casera la cual proporcionó 10v que se suministró al dispositivo.

6.1.3. Selección de bobinas

En la figura 6-2, se muestra la simulación de como se puede visualizar la forma en la que se generó el campo magnético en las coordenadas (0,0,0) tiene mayor concentración, el cual se denota con los puntos azul claro. En la figura 6-3, se muestra la escala de la concentración del campo en el que se refleja un valor de $1e^{-07}(A/m)$, el cual corresponde al campo generado por una sola bobina.

El diámetro de las bobinas se determinó considerando el tamaño del Erlenmeyer en el que se dispuso la muestra biológica, tanto las simulaciones como la construcción se realizó con diámetro de 15 cm para cada bobina.

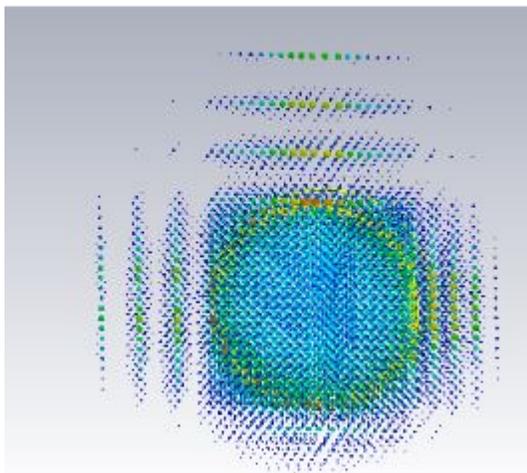


Figura 6-2.: Campo generado por una bobina

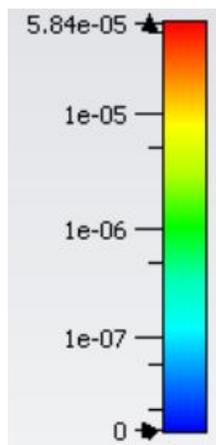


Figura 6-3.: Escala de la concentración del campo magnético (A/m)

Una vez se tuvo el resultado de la matriz de ponderación **5-2**, se obtuvo que para generar los campos magnéticos requeridos para el desarrollo del proyecto es necesario hacer uso de bobinas redondas unidas en serie. A partir de este resultado, se realizaron las simulaciones de todas las posibles configuraciones y cantidades necesarias para generar un campo magnético homogéneo, en las siguientes imágenes se mostrarán los resultados obtenidos.

Como se ve en la figura **6-4**, se simularon dos bobinas para visualizar la forma en la que el campo magnético se puede generar, sin embargo al ver la simulación se toma la decisión de aumentar la cantidad de bobinas para garantizar homogeneidad en las coordenadas (0,0,0) las cuales corresponden al punto medio entre las dos bobinas. Esta simulación fue realizada con los parámetros establecidos de frecuencia de 50Hz, corriente de 0.038A, el cual generó una intensidad de $50\mu T$.

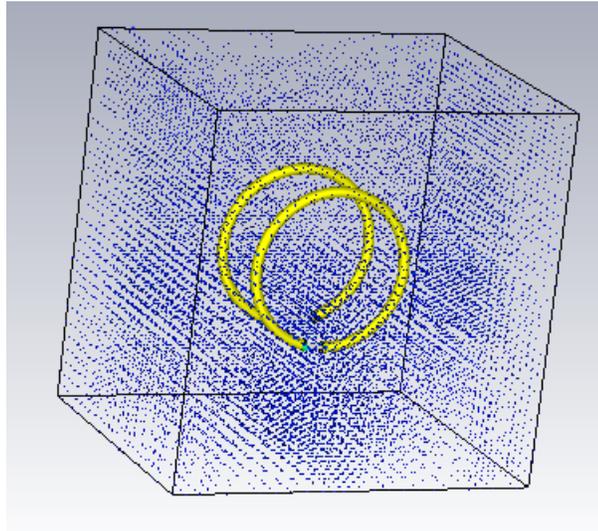


Figura 6-4.: Campo magnético con dos bobinas

En la figura **6-5**, se demuestra la distancia que deben tener las bobinas en la configuración Helmholtz, pues al tenerlas a una distancia menor al diámetro de la bobina la corriente que fluye sobre una bobina induce corriente sobre la otra. Por esta razón se estipula que la distancia mínima entre cada bobina corresponde a 15 cm de distancia.

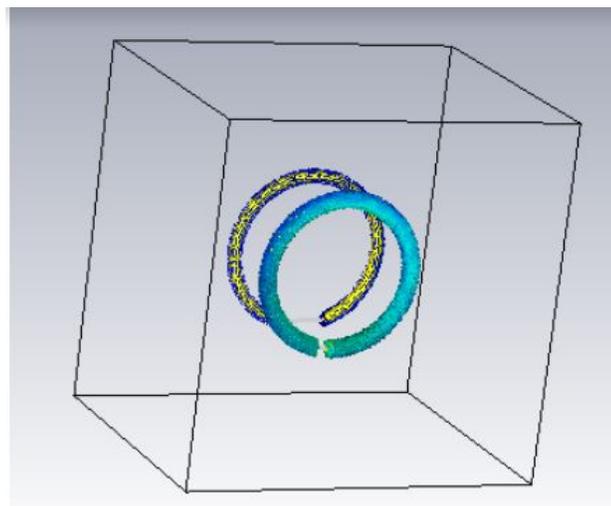


Figura 6-5.: Corriente inducida

En la figura **6-6**, se evidencia que el campo generado por tres bobinas sigue sin ser un campo homogéneo en la coordenada $(0,0,0)$ y que además por la cercanía de una sola bobina el campo generado se esta restando con el campo producido por la configuración de las bobinas en serie.

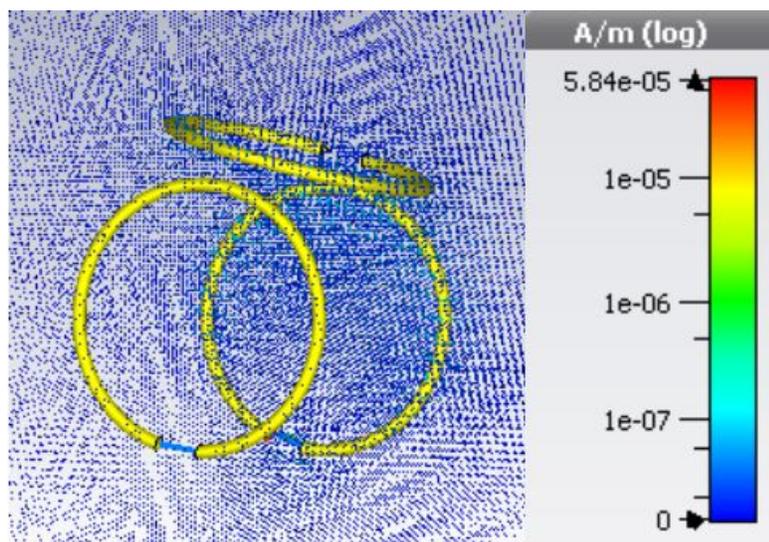


Figura 6-6.: Campo magnético con tres bobinas

En la figura **6-7**, se encuentra simulado dos configuraciones en serie de bobinas. La conexión de estas bobinas esta propuesta en serie las cuales están conectadas lateralmente y de igual forma están conectadas las bobina superior e inferior. En este punto de las simulaciones se encuentra que los campos no son restados entre si y que por lo contrario la uniformidad es claramente mayor en esta configuración, como se ve en la escala se obtiene un valor de $1e^{-06}$.

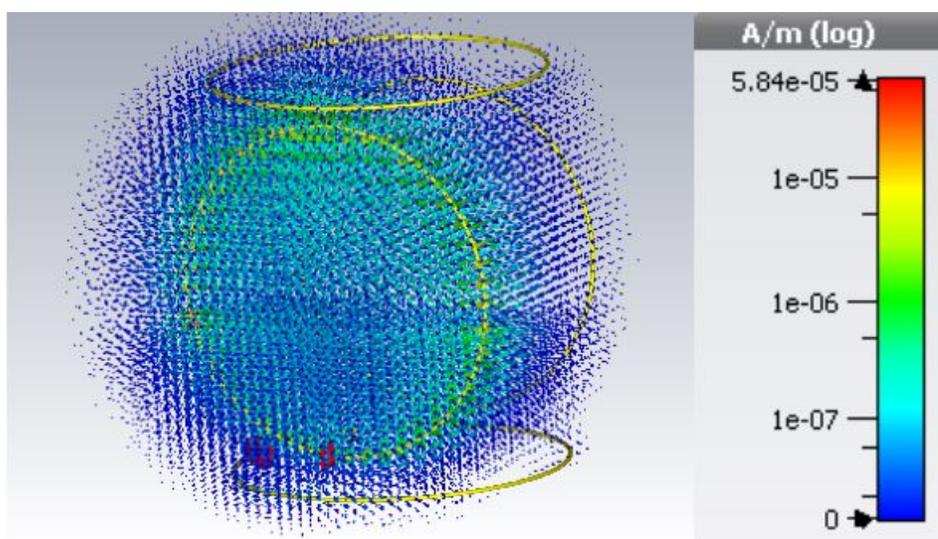


Figura 6-7.: Campo magnético con cuatro bobinas

En la figura **6-8**, se muestra mayor homogeneidad del campo, sin embargo en esta configuración se expande fuera del dispositivo por lo tanto puede ser susceptible ante cualquier perturbación metálica y por lo tanto poner en riesgo la salud del usuario.

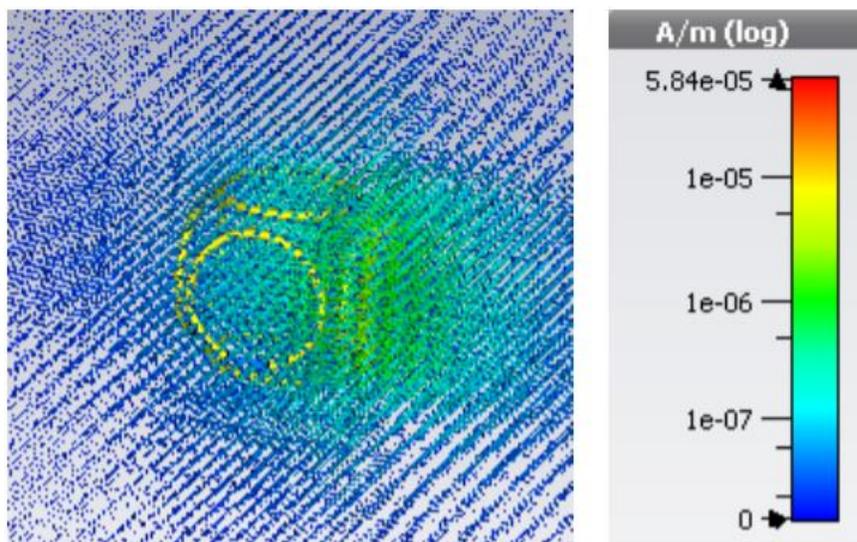


Figura 6-8.: Campo magnético con cuatro bobinas

Teniendo en cuenta las simulaciones de la figura 6-7 y la figura 6-8, se establece que para el funcionamiento de este proyecto la configuración mas adecuada de acuerdo a las condiciones en las que se genera el campo magnético es la configuración de cuatro bobinas, y de acuerdo a la tabla 5-15 se determino que el calibre de construcción que soportara la corriente es de 1.6 mm.

6.1.4. Propuesta de diseño

De acuerdo a las simulaciones anteriormente descritas, la disposición de la muestra dentro de la estructura debe ser situada en el centro de las bobinas el cual corresponde a las coordenadas (0,0,0) teniendo en cuenta el eje de simetría y que de esta forma se garantice que la muestra va a ser irradiada con la misma intensidad.

Para sostener las bobinas se realizó el diseño de un cubo el cual sostendrá las bobinas en las caras laterales, se tuvo en cuenta que no se tuviese ningún elemento metálico que afecte el campo, y por esta razón se utilizaron elementos fabricados en acrílico. Este cubo tiene una tapa en la parte superior por facilidad de la puesta y las tomas de las muestras. Esta estructura es desinfectada con alcohol antes y después de cada toma de la muestra.

6.1.5. Ensamble

Para realizar el ensamblaje del dispositivo se realizó la fabricación de la bobinas que se evidencia en la figura 6-9, en donde su diámetro es de 15 cm, 110 vueltas, 4.5 cm de ancho. Se fabricaron cuatro bobinas con las mismas características. Para la construcción del cubo se tuvo en cuenta que el material adecuado para su fabricación es el acrílico como se ve en

la figura **6-11**, y de igual forma las bisagras implementadas para asegurar la tapa **6-10**, el tamaño de la estructura es de 32cm*32cm en cada una de la caras.

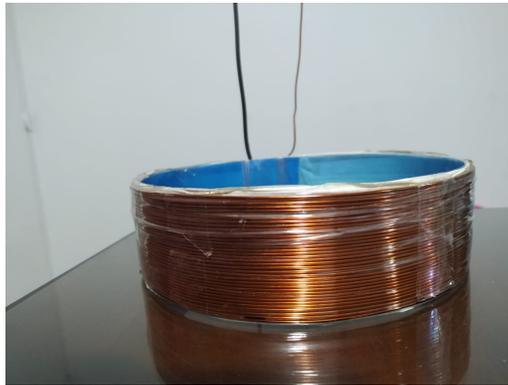


Figura 6-9.: Construcción de bobina



Figura 6-10.: Bisagra de la estructura



Figura 6-11.: Construcción estructura

Una vez se tuvo listas las bobinas y la estructura se realizó la unión de las bobinas en serie y se dispusieron de la siguiente forma dentro de la estructura como se ve en la figura **6-12** y **6-13**. En medio de la estructura se dispuso un elemento que sostendrá la muestra biológica como se ve en la figura ??.



Figura 6-12.: Ensamblaje estructura

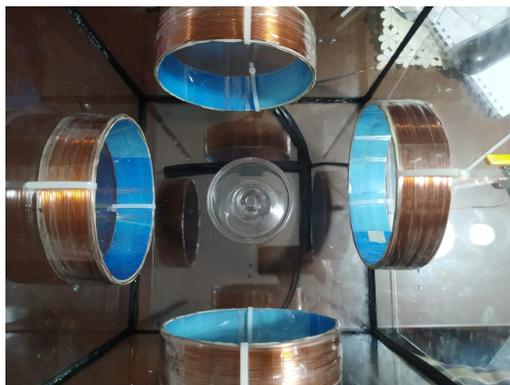


Figura 6-13.: Cubo con bobinas

6.2. Protocolo de pruebas

6.2.1. Simulación

El protocolo propuesto para la simulación consistió en acercar un objeto metálico a una bobina y determinar la distancia a la cual se puede tener una perturbación por el objeto metálico, en la figura 6-14 y en la figura 6-15 se evidencia como el campo cambió su homogeneidad. Se encontró que la distancia mínima a la que se debe encontrar un objeto es de 20 cm con respecto al centro de la bobina, como máximo a una distancia de 15 cm, ya que tener un objeto metálico cerca puede ser peligroso puesto que el objeto se puede cargar eléctrica de acuerdo a la ley de Coulomb (Serway y Jewett, 2009), además de afectar la densidad de flujo del campo magnético generado.

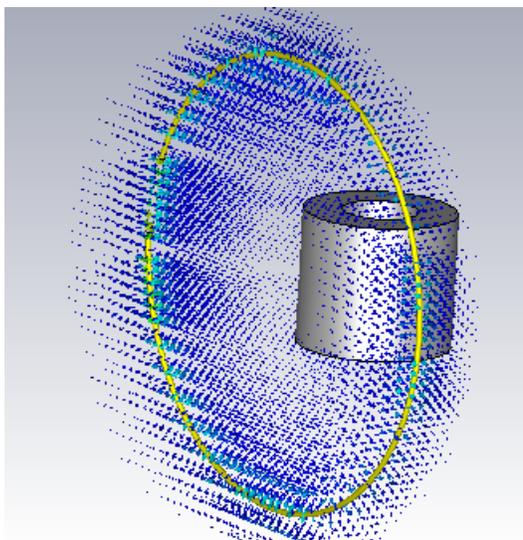


Figura 6-14.: Acercamiento objeto metálico

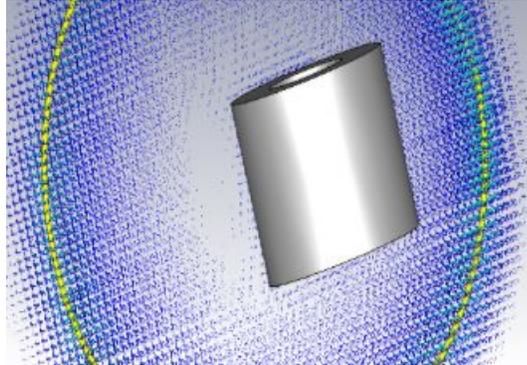


Figura 6-15.: Acercamiento objeto metálico en perspectiva

De igual forma se verificó mediante la simulación de las cuatro bobinas se generará la intensidad del campo requerido, se tiene en cuenta en la simulación que se va a tener fase 0° y fase 90° . En la figura **6-16** se muestra el campo generado en la fase 90° y la generación del campo de $50\mu T$, con una corriente de 0.038A.

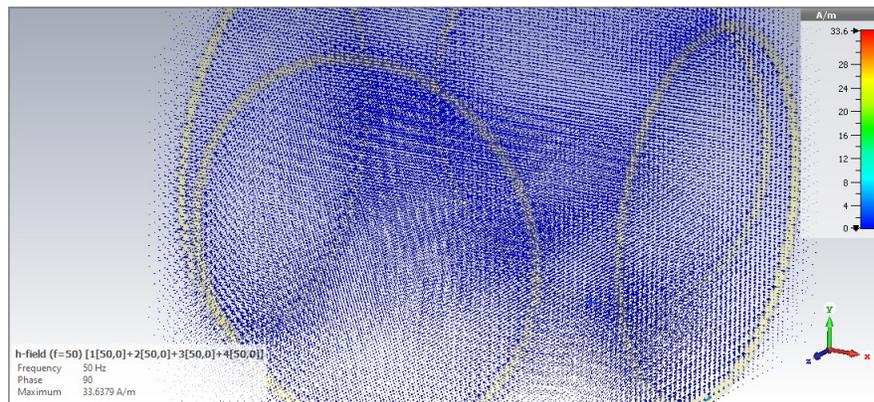


Figura 6-16.: Campo generado por cuatro bobinas

6.2.2. Medición sobre el dispositivo

En la ecuación 6-2 podemos calcular la corriente necesaria para un determinado campo magnético, en nuestro caso la intensidad es de $50\mu T$ entonces la corriente necesaria para generar esta intensidad fue de 0.038A.

$$B = \left(\frac{4}{5}\right)^{\frac{3}{2}} \frac{\mu_0 * n * I}{R} \quad (6-2)$$

Ecuación 6-2 Ley de Biot-Savart (Ahmed, 2012)

Para el circuito del anexo B se alimentó con una señal cuadrada ya que esta señal proporciona mayor energía, de frecuencia 50Hz, con un voltaje pico a pico de 8.4v como se aprecia en

la figura **6-19**, por el corto virtual que se genera en el amplificador se tiene que el voltaje cuando llega a la resistencia es el mismo de la entrada, entonces por ley de ohm (GÓMEZ, 2008), se coloca una resistencia de 131 ohms para generar una corriente de 0.038A.

Como se aprecia en la figura **6-18** la corriente se aproxima al valor teórico calculado por la ley de Biot-Savart ecuación 6-2, este resultado se puede deber a la tolerancia que tiene la resistencia que es de 5%. Con este resultado ya se garantiza que por las bobinas va a circular la corriente que teóricamente nos va generar la intensidad de $50\mu T$. En la figura **6-17**, se aprecia el circuito construido, en el se mencionan sus partes.

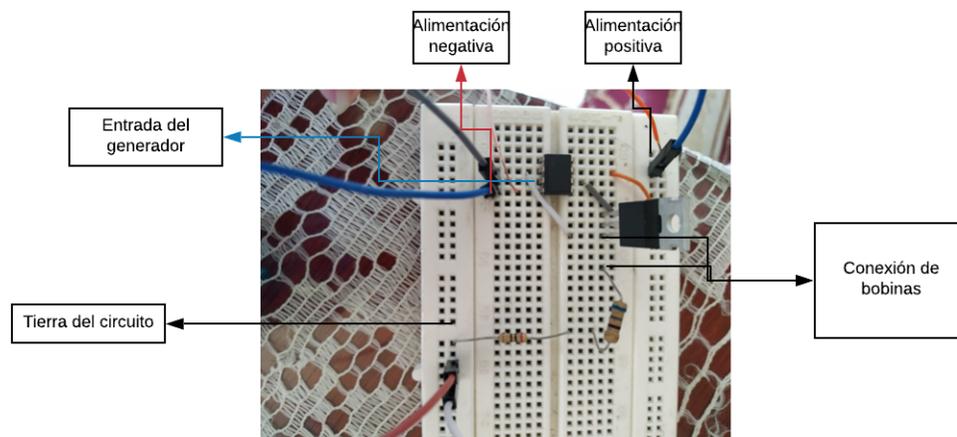


Figura 6-17.: Circuito implementado



Figura 6-18.: Corriente generada por el circuito

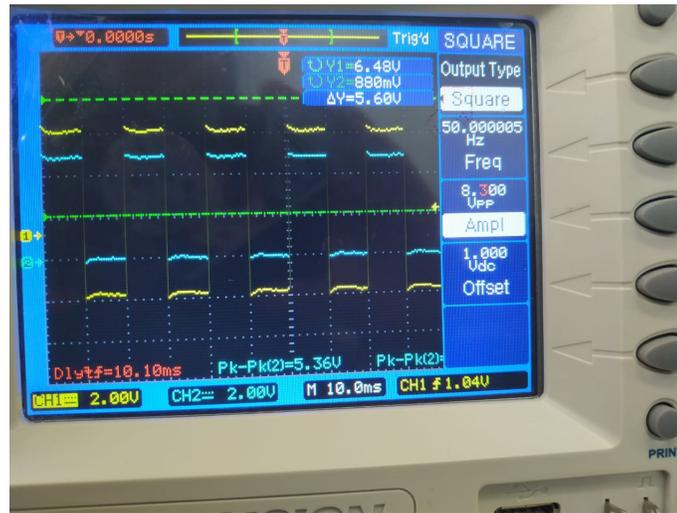


Figura 6-19.: Señal de entrada y salida del circuito

Como fue descrito en la metodología el protocolo de pruebas sobre el equipo se realizó la medición del campo magnético, en el que se tuvo una serie de puntos en el espacio. Para este protocolo se decidió medir el campo primero con una bobina, luego con dos bobinas conectadas en serie, posteriormente con tres donde dos de ellas están conectadas en serie y la otra no y finalmente las 4 bobinas laterales cada par en serie, teniendo en cuenta que el capo tuviera dirección hacia la muestra.

En la figura 6-20, se muestra gráficamente los puntos en los ejes de simetría en el que se midió el campo magnético en dirección al lugar en el que se sitúa la muestra biológica, esta es representada como un cubo dentro del espacio de la toma de las muestras de la intensidad del campo, situada en las coordenadas (0,0,0). La intensidad del campo magnético es representado mediante la barra de colores, en donde a menor intensidad es representado con un color mas oscuro, y a mayor intensidad es representado con una tonalidad roja, esto será de igual forma para todos los casos de mapeo de la intensidad de las bobinas.

En el caso de una sola bobina, la intensidad del campo con mayor valor se encontrará cerca al centro de dicha bobina con un valor de $46,19\mu T$ en las coordenadas (-13,0,5) teniendo en cuenta que se tomaron de forma (x,y,z).

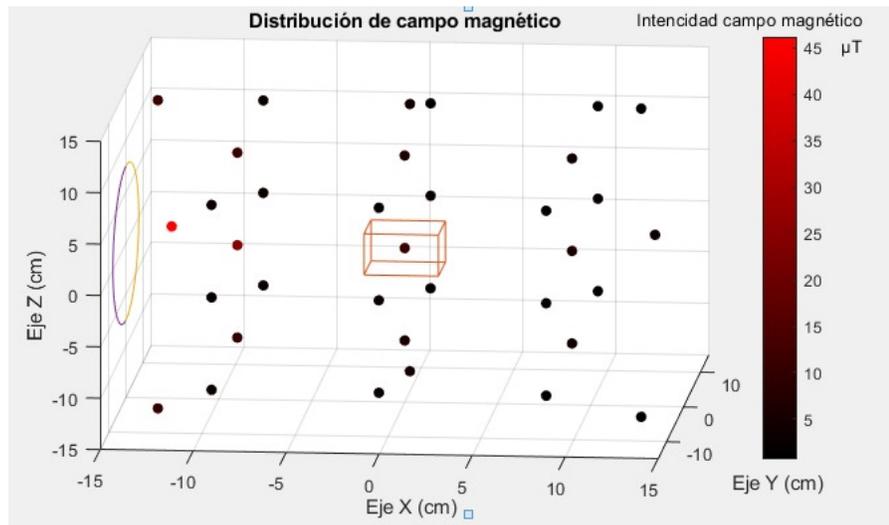


Figura 6-20.: Mapeo campos magnéticos de una bobina

En la figura 6-21, se muestran los puntos con mayor intensidad, al poner dos bobinas la intensidad del campo a aumentado en tres coordenadas más, en comparación a una sola bobina, cerca al sitio en el que se encuentra la muestra. De acuerdo a lo anterior se tiene que el valor del campo magnético cerca a la bobina situada en el lateral izquierdo tiene una intensidad de $50,25\mu T$ en la coordenada $(-13,0,5)$, la segunda coordenada con mayor intensidad de valor $51,15\mu T$ en la coordenada $(13,0,5)$ en la bobina del lateral derecho. Acercándose a la muestra, se encuentra el valor de intensidad de $46,21\mu T$ con coordenadas en el punto $(-9,0,0)$ viendo la figura de izquierda a derecha, se tiene el siguiente valor de $45,32\mu T$ en la coordenada $(9,0,0)$.

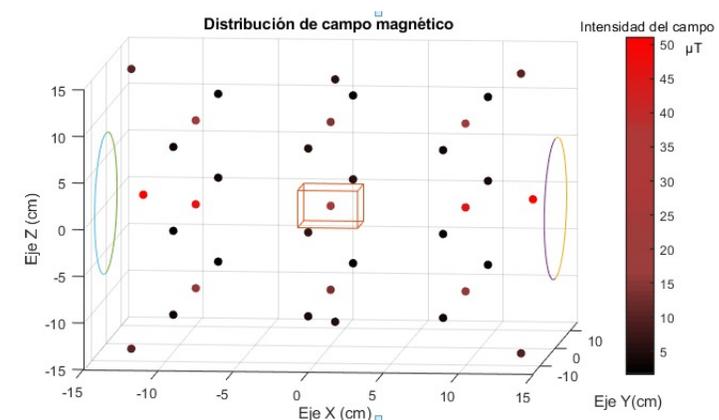


Figura 6-21.: Mapeo campos magnéticos de dos bobinas

Cómo se muestra en a figura 6-22, al agregar una bobina más la intensidad del campo aumento al rededor de la muestra, al igual que con las bobinas anteriores se tienen nuevos puntos con mayor intensidad. En la coordenadas $(-13,0,5)$ tiene una intensidad de $51,15\mu T$,

siguiendo con la coordenada (13,0,5) con intensidad de $52,60\mu T$, teniendo en cuenta el mismo orden de lectura descrito anteriormente. En las coordenadas (-9,0,0), (9,0,0) la intensidad es de $41,82\mu T$ y $44,36\mu T$ respectivamente, y para la tercer bobina se tiene un valor de $48,49\mu T$ en la coordenada (9,-9,0). Sin embargo, se observa que el campo no aumenta considerablemente al colocar una nueva bobina, esto se debe a que los datos medidos anteriormente eran en la dirección del campo de las primeras dos bobinas, que quiere decir, que la nueva bobina esta generando campo también en dirección a la muestra pero en la misma dirección de las anteriores. Para no alterar la forma de mapeo se dejó el medidor en la dirección que se estaba colocando anteriormente, pero se hizo una prueba con la tercer bobina en la dirección que fluye dicho campo y se observo que los resultados obtenidos son similares a los obtenidos con una solo bobina.

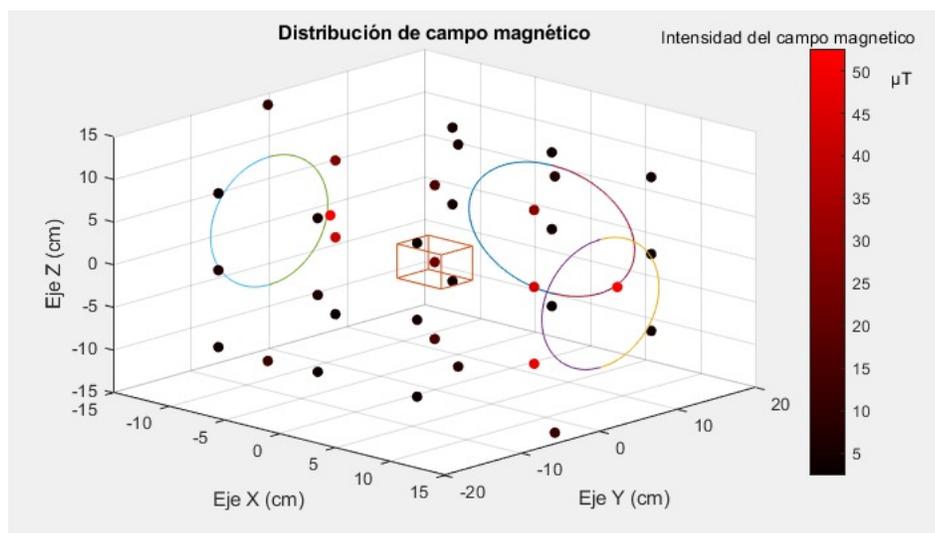


Figura 6-22.: Mapeo campos magnéticos de tres bobinas

Al agregar una cuarta bobina al espacio, como se muestra en la figura **6-23**, el campo aumento la intensidad en varios puntos de la muestra biológica, de igual forma que para la medición de tres bobinas el aumento de la intensidad no se ve de forma significativa de acuerdo a la forma de la dirección en la que se hizo la medición del campo.

Al presentarse una dirección con el campo magnético y un cambio en en la fase de la energía por la señal cuadrada ingresada, se puede decir que las bacterias están experimentando un estrés en el intercambio iónico y por lo tanto se están generando radicales libres que afectarán la membrana de la bacteria y el ADN (Azorin, 2005). Además de esto se ha visto que la membrana tiene propiedades diamagnéticas y al estar expuestos a campos magnéticos con FEB, estas van a afectar en la permeabilización de la membrana alterando su morfología (Oncul y cols., 2016).

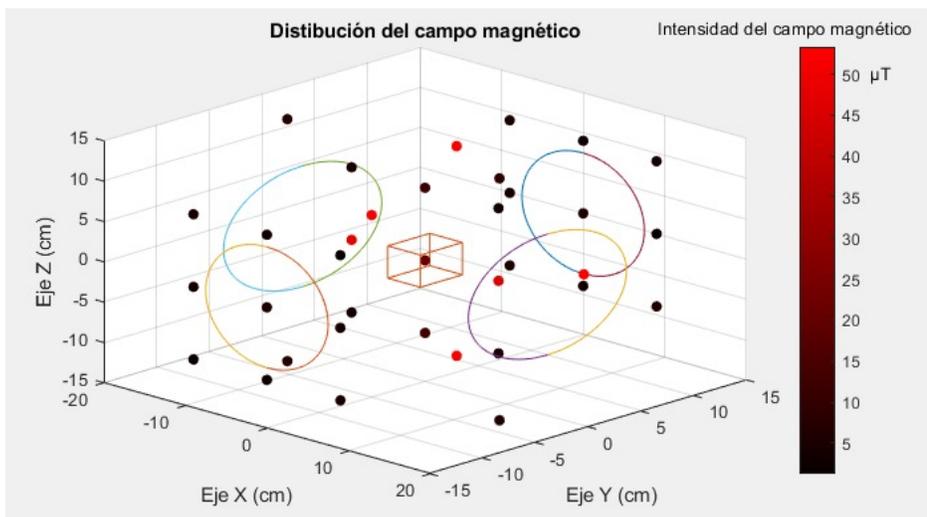


Figura 6-23.: Mapeo campos magnéticos de cuatro bobinas

En la siguiente tabla **6-1**, se muestran las coordenadas en las que se realizó la medición de la intensidad con su respectivo valor, teniendo en cuenta una sola dirección y la cantidad de bobinas.

x(cm)	y(cm)	z(cm)	1Bobina(uT)	2Bobinas(uT)	3Bobinas(uT)	4Bobinas(uT)
-13	0	5	46.19	50,25	51,15	52,25
-13	15	-3	11.55	10,12	10,06	8,05
13	15	-3	1.45	10,67	8,31	8,6
13	-15	-3	1.45	10,04	13,18	6,88
-13	-15	-3	11.25	10,17	12,09	7,14
0	13	3	4.59	5,49	4,87	52,52
13	0	5	3.21	51,15	52,60	53,24
0	-13	3	4.78	5,20	7,87	53,33
0	0	0	11.79	24,42	23,61	20,29
0	0	-15	2.96	6,23	6,60	6,05
0	0	15	2.49	6,01	4,47	6,63
-9	0	0	25.65	46,21	41,82	48,65
0	9	0	6.66	14,03	15,37	12,58
9	0	0	5.70	45,32	44,36	46,9
0	-9	0	6.35	13,70	15,15	12,78
-9	0	-15	2.16	2,25	6,62	3,88
0	9	-15	2.38	4,95	4,91	2,93
9	0	-15	2.30	2,72	4,80	4,27
0	-9	-15	2.32	3,91	3,90	2,91
-9	0	15	3.47	3,80	4,87	3,9
0	9	15	0.70	1,98	3,10	2,44
9	0	15	2.30	3,85	2,78	2,49
0	-9	15	0.83	1,52	2,34	3,16
-9	9	0	10.87	23,11	27,27	4,78
9	9	0	4.77	22,56	28,91	3,45
9	-9	0	4.29	15,76	48,49	4,75
-9	-9	0	10.54	15,83	2,92	3,63
-9	9	-15	3,04	3,20	3,57	4,56
9	9	-15	1.77	3,33	2,63	1,25
9	-9	-15	1.30	3,21	3,49	5,27
-9	-9	-15	3.19	3,15	4,32	1,35
-9	9	15	2.96	2,60	4,82	5,3
9	9	15	1.50	2,61	4,37	4,45
9	-9	15	1.34	2,13	3,91	6,61
-9	-9	15	2.97	2,18	4,70	5,37

Tabla 6-1.: Mapeo intensidad de campo.

6.3. Elaboración de protocolo de implementación del equipo radiador

6.3.1. Introducción de variables

Este prototipo de radiador magnético de FEB, opera con una frecuencia de 50Hz y una intensidad de campo magnético de $50\mu T$. Este radiador cuenta con una conexión a un circuito amplificador de corriente que le permite tener una corriente de 0,038 A de salida conectada a la bobinas.

La muestra biológica necesaria para realizar el experimento es *R. solanacearum*. Esta bacteria es Gram negativa en forma de bacilo con un o cuatro flagelos. En cuanto a su morfología macroscópica, esta bacteria forma colonias de color blanquecino con centro rojo (Champoiseau, 2009). Su temperatura ideal de crecimiento en *in vitro* son $28^{\circ}C$, el tiempo de crecimiento de la bacteria para realizar el experimento corresponde a 36 horas (Ramírez G., Muñoz A., Patiño H., y Morales O., 2015).

Por ultimo, los posibles efectos que tendrá la muestra biológica ante la exposición de las ondas magnéticas de FEB, se basan en la teoría acerca de las propiedades diamagnéticas que posee la membrana afectando su morfología, en donde provoca la disminución del transporte iónico o dejando la bacteria expuesta al medio extra celular por la permeabilización de la membrana (Oncul y cols., 2016), además cuenta con la posibilidad de la formación de radicales libres debido al estrés biológico en el que se van a encontrar los electrones (Azorin, 2005).

6.3.2. Operación

6.3.2.1. Reactivación bacteria

Tenga en cuenta que todo este proceso debe ser llevado a cabo en esterilidad.

- Retirar un tubo Eppendorf de la fila B (1 al 6), que se encuentra en la nevera de $-80^{\circ}C$.
- Poner el tubo en baño termostataado a una temperatura de $37^{\circ}C$ durante 30 segundos (Cect, 2016).
- Este proceso debe ser realizado en una cabina de extracción. Transferir una gota del tubo a agar LB, realizar siembra invasiva (Cect, 2016). El material sembrado debe disponerse en un incubadora a $28^{\circ}C$ durante cinco días (Cect, 2016). Se recomienda subcultivar al menos una vez en medio solido antes de realizar el experimento (Cect, 2016).
- Para realizar repiques en medio solido se recomienda realizar los siguientes paso: tomar un asa circular, extraer material biológico de la cepa *R. solanacearum*, inocular en agar

LB, por siembra invasiva. Realizar dentro de la cabina de extracción un total de cinco veces. Poner el material sembrado en la incubadora a 28 °C durante cinco días.

6.3.2.2. Curva patrón de crecimiento

Para realizar la curva patrón de crecimiento, se debe realizar la preparación de los medios líquidos y sólidos, siembra de las muestras y preparación de blanco y control y obtención de muestras y generación de curva patrón de crecimiento.

6.3.2.2.1. Medios líquidos Para preparar caldo LB para 10 matraz Erlenmeyer de 200 ml cada uno. Para un volumen de 150 ml pesar y mezclar los siguientes reactivos: 1.5 g de peptona, 0.75 g de cloruro de sodio y 0.75 g de extracto de levadura (Dibico S A, s.f.). Completar el volumen con agua destilada, agitar hasta cuando la mezcla este homogénea. Llevar los tubos al autoclave y guardar en nevera de limpio. Marcar 3 matraces para la toma de las muestras de la prueba uno, 3 para la toma de las muestras de la prueba dos, 3 para control de crecimiento y uno para blanco.

6.3.2.2.2. Medios sólidos Para preparar agar nutritivo de la marca BD, para 45 cajas de Petri. En un shot de 500 mL, agregar 11.5 g y en un shot 400 mL agregar 9.2 g, completar el volumen con agua destilada y llevar al autoclave (Guillén y Bravo, 2008). Cuando el envase tenga una temperatura que pueda soportar sus manos sirva en las cajas de Petri. Cada caja de Petri requiere 20 mL.

6.3.2.2.3. Inoculación En los seis Erlenmeyers marcados como pruebas inocular *R. solanacearum*. Para realizar la inoculación seguir los siguientes pasos:

Con ayuda del asa microbiológica circular realizar un raspado del crecimiento de la bacteria que se encuentra en el agar nutritivo, depositar lo recogido en el matraz sin tocar las paredes con el asa, realizar este procedimiento tres veces por cada matraz. En la cabina de extracción previamente esterilizada. Llevar los matraces al agitador orbital a 28°C y 150rpm, durante 36 horas junto con los matraces marcados como control.

6.3.2.2.4. Toma de muestra Para la toma de 10 muestras, establecer en los siguientes horarios: las primeras 5 muestras cada tres horas, incluyendo el tiempo 0, finalmente las cinco muestras restantes fuero cada seis horas (Ramírez G. y cols., 2015).

Llevar los matraces marcados previamente a la cabina de flujo laminar, junto con la micropipeta de 1000 μ L y puntas azules estériles. Tomar con la micropipeta 2mL y depositarlos en la celda del espectrofotómetro y realizar la lectura en el siguiente orden blanco, control y pruebas.

Sembrar en cada caja de Petri $100\mu L$, cada vez que se tome la muestra, incluyendo los matraces marcados como control.

6.3.2.2.5. Espectrofotómetro Llevar las celdas con el contenido del caldo, para realizar la medición a 640nm , guardar los resultados arrojados por el equipo (Ramírez G. y cols., 2015).

6.3.2.2.6. Tinciones Gram Como forma de control de la siembra en las cajas de Petri, tomar una alícuota por una las muestras y realizar la siguiente metodología: Tomar un porta objetos, agregar una gota de agua destilada, luego con ayuda del asa circular realizar un raspado de la muestra y depositarla en la gota de agua destilada. Fijar el material biológico con calor para posteriormente agregar cristal de violeta esperar 1 minuto; lavar con agua. Agregar lugol por 30 segundos, alcohol por 15 segundos, lavar con agua. Finalmente agregar safarina por un minuto, lavar con agua; dejar secar y ver la muestra en el microscopio.

6.3.2.2.7. Recuento de placa Para conocer las unidades formadoras de colonias (UFC) realice diluciones y cuenta en placa. Para esta metodología deberá tener 6 tubos de ensayos con 9mL de agua destilada, cada tubo debe ser marcado con la dilución que corresponda, es decir el primero sera 10^{-1} , el segundo 10^{-2} y así hasta llegar al ultimo que seria 10^{-6} (Universidad Nacional de Mexico, 2016); de los tubos de Erlenmeyer saque 1mL de muestra y póngalo en el primer tubo marcado con 10^{-1} , de este tubo saque 1ml y deposítelo en el segundo tubo, así sucesivamente hasta llegar al ultimo tubo (Universidad Nacional de Mexico, 2016). Posteriormente de cada tubo extraiga 1mL y siémbrelo en agar nutritivo, estas placas las deberá llevar a la incubadora a 28°C . Finalmente se realice el conteo de las colonias formadas en la placa de dilución 10^{-6} si se puede contar proceda a la inmediatamente anterior si las colonias formadas son contables realice el mismo procedimiento, hasta encontrar una placa incontable (Universidad Nacional de Mexico, 2016). En este caso se devuelve a la placa inmediatamente anterior y multiplique el factor de dilución por la cantidad de colonias encontradas y este será el valor de su UFC (Universidad Nacional de Mexico, 2016). Este procedimiento lo debe realizar cada vez que extraiga una muestra para la curva de crecimiento.

6.3.2.2.8. Encendido del equipo Para encender y poner en puesta en funcionamiento al equipo, diríjase al manual del usuario anexo al documento.

6.3.3. Implementación del equipo

Una vez realizada la curva de crecimiento patrón, la cual permitió determinar la hora de crecimiento a la que se debe irradiar la muestra con las ondas magnéticas de FEB, realice la misma preparación de medios descrita anteriormente, inocule y ponga en crecimiento en el

agitador orbital a 150 rpm, tome las muestras para realizar la medición en el espectrofotómetro regularmente como se estipuló en la realización de la curva patrón. Cuando se cumplan 24 horas de crecimiento siga los siguientes pasos:

1. Encienda el dispositivo
2. Verifique frecuencia de 50 Hz e intensidad de $50\mu T$
 - a) Si no tiene estos valores diríjase el manual de usuario
3. Saque el tubo de el agitador orbital
4. Lleve el tubo posiciónelo en el soporte que se encuentra ubicado en el centro del dispositivo.
5. cierre la tapa
6. Deje expuesto el tubo a la radiación durante 6 horas
 - a) Si tiene que tomar muestra durante las 6 horas, abra la tapa
 - b) Retire el tubo
 - c) Lleve a la cabina de flujo laminar
 - d) tome la muestra con ayuda de la micropipeta de $10\mu L$
 - e) Regrese el tubo al dispositivo para continuar con la exposición
7. Una vez terminado el tiempo de exposición. Apague el dispositivo
8. Tome el tubo y llevo al agitador orbital para terminar con las 36 horas de crecimiento de la bacteria.

Tenga en cuenta que debe realizar una cuantificación del las UFC, se recomienda utilizar el método de recuento en placa explicado en este documento, tenga en cuenta que esta cuantificación debe realizarse para cada toma de muestra.

Teniendo los resultados de las pruebas realizadas sobre *R.solanacearum* y los resultados de la curva de crecimiento patrón y las UFC, con las muestras no radiadas e irradiadas debe realizar un análisis estadístico de acuerdo al diseño experimental que planteo.

7. Conclusiones

- Se obtuvo un valor promedio del campo magnético de $51,48 + / - 2,7$, el cual se ajusta al valor teórico planteado para los requerimientos estipulados para la bacteria.
- El funcionamiento del dispositivo permite que el volumen en el área de disposición de la muestra sea uniforme y homogéneo de acuerdo al mapeo realizado.
- La disposición de las bobinas en la estructura diseñada permitió generar un campo homogéneo y uniforme, este a su vez incrementó el área de exposición en la muestra, lo que pudo hacer que el sistema sea mas eficiente.
- El diseño propuesto permitió realizar la irradiación de forma segura, debido a que la mayor intensidad del campo se generó en el centro del dispositivo como se evidencia en los resultados obtenidos y las simulaciones realizadas.
- De acuerdo con la bibliográfica consultada, el protocolo de pruebas y la simulación de funcionamiento del equipo, se espera que las ondas magnéticas inhiban el crecimiento de *R. solanacearum* una vez es expuesta a las ondas magnéticas de FEB durante un periodo de 6 horas.
- El dispositivo permitirá realizar investigaciones sobre los efectos de los campos magnéticos en bacterias Gram negativas, debido a que la intensidad del campo se puede modificar al aumentar la corriente que pasa por la bobina, al igual que la frecuencia. Esto para la adecuación al organismo que se quiere irradiar.

8. Recomendaciones

- Llevar a cabo el protocolo propuesto para la experimentación para la exposición a *R. solanacearum*.
- Tener en cuenta la distancia a la que se van a encontrar los objetos metálicos del dispositivo, por cuestión de seguridad tanto del operador como del funcionamiento del dispositivo.
- Realizar mediciones de corriente e intensidad del campo magnético antes de irradiar el agente biológico.
- Aumentar la intensidad del campo magnético para disminuir el tiempo de exposición y que *R. solanacearum* no se vea afectado por estar demasiado tiempo fuera de la incubadora.
- Realizar nuevamente el protocolo de pruebas de la medición del campo dentro de la estructura, para realizar el mapeo del campo magnético, con un dispositivo que cuente con un sensor externo para que los materiales con los que están construido el dispositivo no afecten en la medición del campo.

9. Trabajo futuro

- Como mejora para este proyecto, puede agregarse un sensor magnético dentro de la estructura que mida constantemente el campo magnético durante la exposición a la bacteria, y de esta forma tener un monitoreo del campo.
- Este trabajo permite realizar investigaciones acerca de la inhibición del crecimiento de bacterias Gram negativas y de igual forma da paso a nuevas generaciones a realizar investigaciones acerca de los efectos de los campo magnéticos sobre un sistema *in vivo* con la interacción del patógeno y el sistema biológico, que en este caso sería la planta.

A. Anexo A: Planos diseño

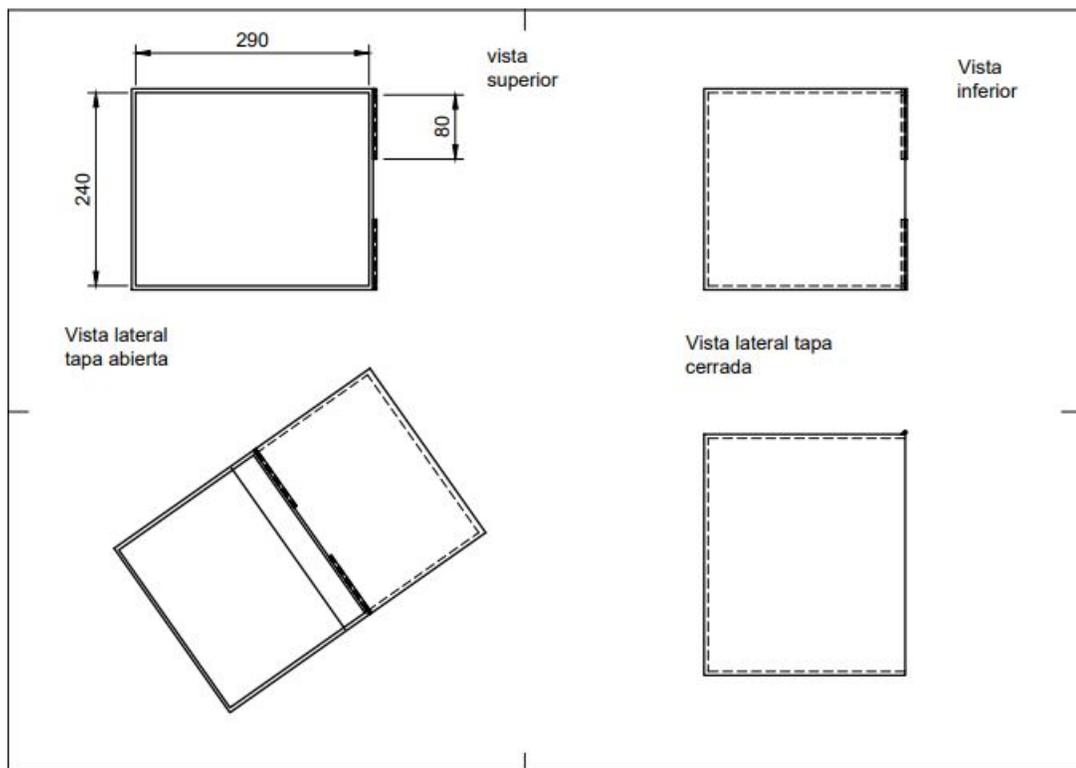


Figura A-1.: Planos del diseño

B. Anexo B: Circuito amplificador de corriente

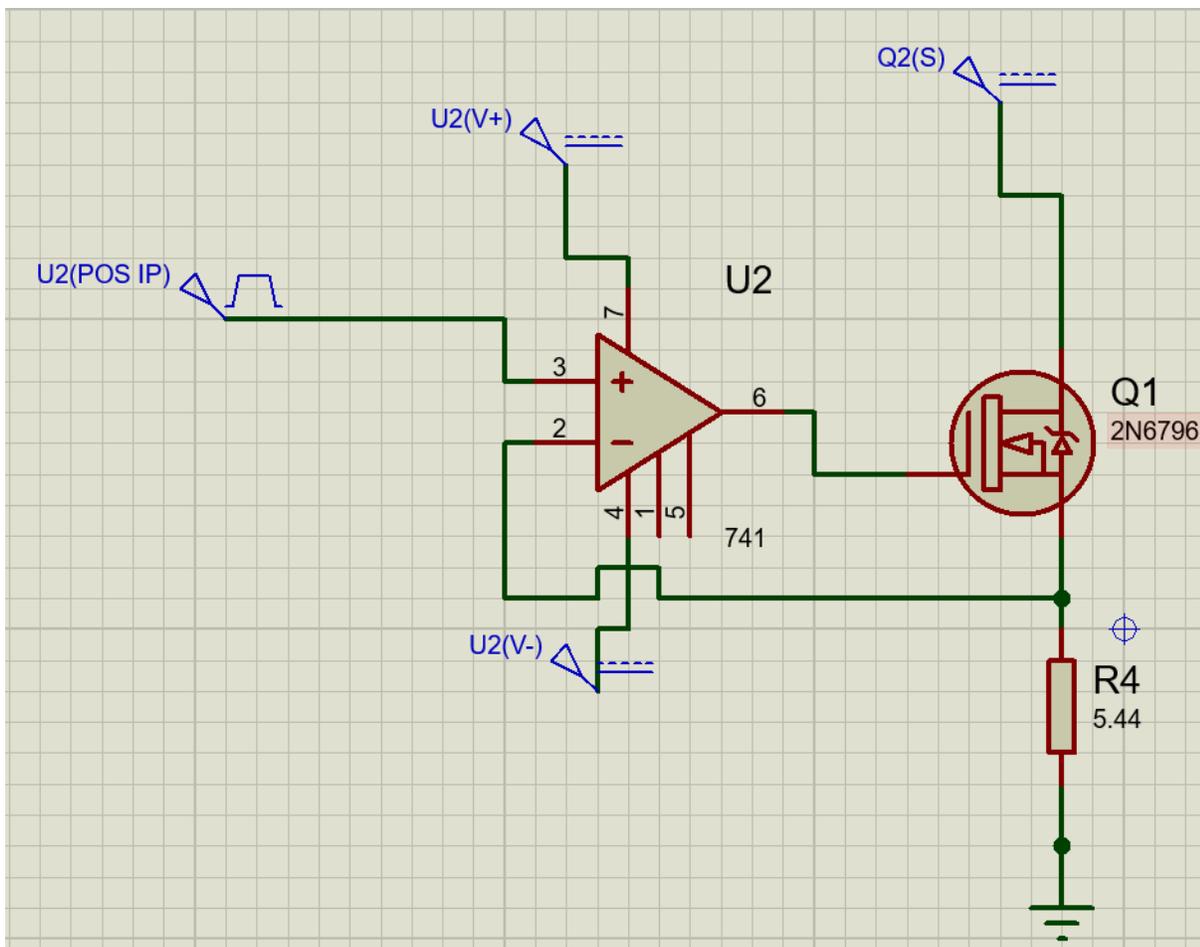


Figura B-1.: Circuito amplificador de corriente

C. Anexo C: Manual de usuario

magnético

*Elían Andrea Díaz Gallo
Iván Camilo Sabogal Moreno*

-Bioingeniería IX-

Manual de Radiador

INDICE

- 1. Consideraciones generales**
- 2. Introducción**
 - 2.1 Finalidad prevista**
 - 2.1.1 Ondas magnéticas**

- 2.1.2 Irradiación de muestras biológicas *in vivo*
- 2.2 Uso previsto
- 2.3 Modo de uso previsto
- 3. Especificaciones generales
 - 3.1 Especificaciones
 - 3.2 Componentes
 - 3.2.1 Bobinas
 - 3.2.2 Generador de ondas
 - 3.2.3 Fuente de voltaje
 - 3.2.4 Amplificador operacional
 - 3.2.5 Transistores de potencia
 - 3.2.6 Resistencias
 - 3.3 Requerimiento de funcionamiento
 - 3.3.1 Voltaje
 - 3.3.2 Corriente
 - 3.3.3 Bobinas
- 4. Mantenimiento
- 5. Planos
- 6. Características eléctricas
 - 6.1 Alimentación
 - 6.2 Corriente
 - 6.3 Voltaje
- 7. Instrucciones de funcionamiento
- 8. Recomendación al paciente
 - 8.1 colocación de electrodos
 - 8.2 condiciones de funcionamiento

1. CONSIDERACIONES GENERALES

- El sistema radiador ha sido desarrollado por estudiantes de noveno semestre de bioingeniería, el dispositivo es parte del proyecto de grado. Lea detenidamente este manual antes de implementar este equipo
- El sistema no debe operarse a mas de un 1m de objetos metálicos porque puede afectar el funcionamiento y puede dañar el equipo.
- Se debe esterilizar el dispositivo antes de cada prueba que deba realizar.
- Si no se está generando campo magnético deberá comprar el estado del circuito midiendo voltajes de entrada y salida, comprobar el estado de la resistencia y la corriente que genera.
- No utilice el sistema en lugares donde niños, visitantes o mascotas tengan acceso a él, para evitar accidentes.

2. INTRODUCCIÓN

2.1 Finalidad prevista:

El equipo radiador magnético permite, los siguientes estudios:

2.1.1 Ondas magnéticas

- Genera ondas magnéticas uniformes y homogéneas.

2.1.2 Irradiación de muestras biológicas in vivo

Permite la evaluación del efecto de ondas magnéticas de frecuencias extremadamente bajas, sobre *Ralstonia solanacearum* por un tiempo determinado por la metodología.

2.2 Uso previsto:

Diseñado para ser utilizado por estudiantes o investigadores para la investigación de nuevos tratamientos con la Marchitez Bacteriana.

La información recopilada permitió utilizar variables de intensidad del campo, frecuencia, y tiempo de exposición específicos para afectar el agente causal de la enfermedad.

El dispositivo fue diseñado para poder ser usado en un laboratorio y ser transportado fácilmente por si lo requiere.

2.3 Modo de uso previsto

El modo de uso previsto está descrito en este manual.

3. ESPECIFICACIONES GENERALES

3.1 Especificaciones

- Entrada DC: 12v (valor máximo) de alimentación
- Onda cuadrada: 3.82v pico a pico
- Frecuencia: 50Hz
- Corriente: 0,038A

3.2 Componentes

3.2.1 Bobinas:

Dos pares de bobinas configuración Helmholtz

3.2.2 Generador de ondas:

-HW753 modulo Arduino

3.2.3 Fuente de voltaje:

Fuente dual con cargadores caseros.

3.2.4 Amplificador operacional:

LM741

3.2.5 Transistor de potencia:

IRF530.

3.2.6 Resistencia

131,4 ohmios

3.3 Requerimientos de Funcionamiento

3.3.1 Voltaje

EL dispositivo para funcionar debe tener una fuente que alimente el generador de ondas, el amplificador operacional y el transistor de potencia, se fabrico una fuente dual con dos cables de cargadores, generando una fuente de 12v.

Para generar los campos electromagnéticos de intensidad de $50\mu\text{T}$, la señal cuadrada de entrada debe ser de 3,82v pico a pico.

3.3.2 Corriente

Para generar una intensidad del campo de $50\mu\text{T}$ se requiere una corriente de $0,038^{\text{a}}$, esta se logra con la entrada de la onda cuadrada de 3,82v y una resistencia 131,4 ohmios para que por ley de Ohm el circuito proporcione dicha corriente para las bobinas

3.3.3 Bobinas

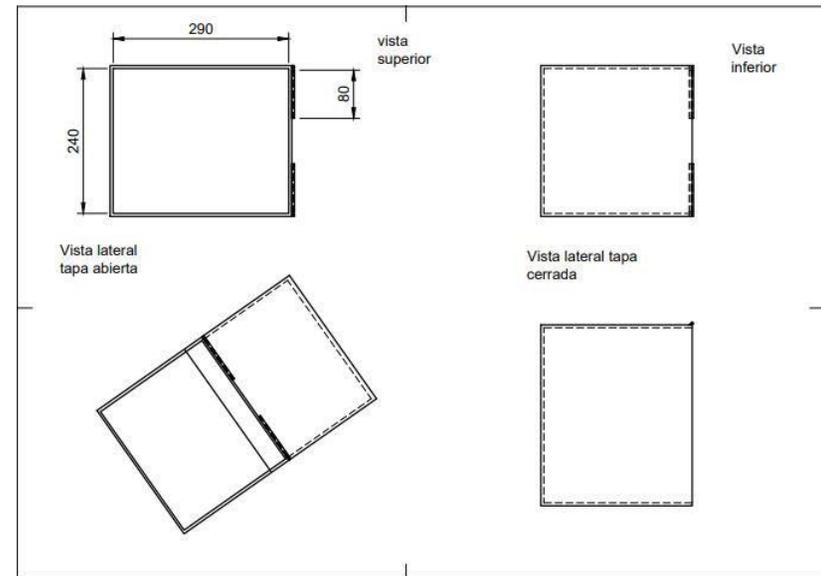
Se construyeron 4 bobinas de 15cm de diámetro, con un numero de 110 vueltas, las cuales se dispusieron en las laterales de la caja, en la configuración Helmholtz en serie.

4. MANTENIMIENTO

Las condiciones de mantenimiento son:

- Se debe verificar la continuidad de las bobinas
- Se debe verificar que los componentes del circuito generador de corriente funcionen.
- Medir el campo generado en el centro de la bobina sea de $50\mu\text{T}$.
- El equipo debe ser verificado por quien realice las pruebas, como medir voltaje y corriente necesaria.
- El equipo debe estar encendido solo en el momento de realizar las pruebas.

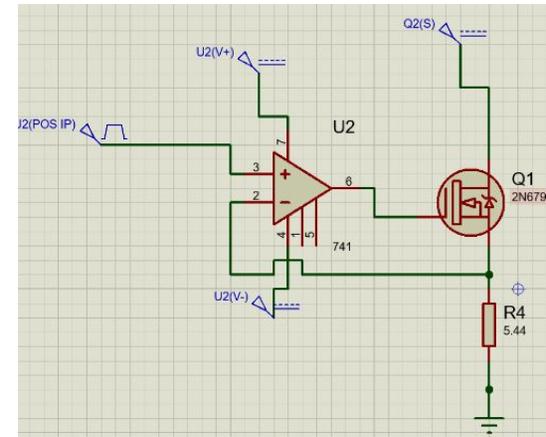
5. PLANOS



Dimensiones de la caja



Dispositivo radiador



Circuito amplificador de corriente

6. CARACTERÍSTICAS ELÉCTRICAS

6.1 Alimentación

La alimentación se realiza por la fuente dual diseñada que genera 12v.

6.2 Corriente

La corriente debe ser 0,038A que es producida por el circuito.

6.3 Voltaje

El voltaje debe ser de 3,82v para generar la corriente necesaria para la intensidad de 50 μ T

7. INSTRUCCIONES DE FUNCIONAMIENTO

- Conectar la fuente dual a la toma corriente
- Adecuar el generador de ondas para generar una onda cuadrada de 50Hz de frecuencia y de voltaje 3,82v pico a pico y conectarlo en el pin número 3 del amplificador operacional.
- Con el dispositivo GM3120 medir el campo que se está generando en el centro de la bobina para verificar que es $50\mu\text{T}$.

8. RECOMENDACIONES AL USUARIO

- Hacer un mantenimiento del circuito regular antes de usarlo.
- No debe tener dispositivos electrónicos cerca.
- Deberá estar lo más alejado del dispositivo mientras realice las pruebas.
- Realizar una limpieza para esterilizar el dispositivo ya que se va a trabajar con material biológico.
- No interrumpir el funcionamiento del dispositivo cuando se está haciendo pruebas con el organismo ya que puede afectar los resultados de los efectos que el radiador genera en el microorganismo.
- Si el usuario desea modificar la intensidad deberá cambiar el valor de la resistencia, el calculo lo puede realizar con el voltaje que sale del pin numero 2 del amplificador operacional y la resistencia con la ley de

ohm.

9. EJEMPLO VISUALIZACIÓN DE SEÑALES



Medición de la intensidad del campo en el centro de la bobina



Medición de la intensidad del campo al lado de la bobina

Referencias

- Agricultura, M. (2017). *4 Fedepapa - Gremios*.
- Agrios, G. (2005). *Plant pathology* (fifth edit ed.). Elsevier Inc.
- Ahmed, I. (2012). Ahmed , I . Vojisavljevic , V . and Pirogova , E . 2012 , ' Design and development of an extremely low frequency (ELF) pulsed electromagnetic field (PEMF) system for wound healing promotio ... (October 2015).
- Ali, F. M., Elkhatib, A. M., Aboutaleb, W. M., Abdelbacki, A. M., Khalil, A. M., y Elkaliuoby, M. I. (2014). *Control the Activity of Ralstonia Solanacearum Bacteria by Using Pulsed Electric Field* (Vol. 64) (n.º 4).
- Ángel, M., Vérez, S., y Sáiz Ipiña, J. (s.f.). *EFFECTOS BIOLÓGICOS DEL CAMPO ELECTROMAGNÉTICO UNIVERSIDAD DE CANTABRIA Grupo de Electromagnetismo AUTORES* (Inf. Téc.).
- Assis, A. K. T., y Assis, A. K. T. (1994). *Weber's Electrodynamics*. doi: 10.1007/978-94-017-3670-1₃
- Azorin, J. (2005). *VIII Conferencia Internacional/XVIII Congreso Nacional sobre Dosimetría de Estado Sólido 7-9 Septiembre de 2005* (Inf. Téc.).
- Becquet, R. P. (2014). Evaluación del efecto del tipo de suelo y de la tetraciclina sobre el tamaño de las poblaciones de *Ralstonia solanacearum* para la estandarización de un microcosmos.
- Capital, R. (2015). *¿Cuáles son los principales países productores de papa en el mundo?* —. Descargado 2020-04-24, de <https://capital.pe/actualidad/cuales-son-los-principales-paises-productores-de-papa-en>
- Ceballos, G., Álvarez, E., y Bolaños, M. M. (2014). Reducción de poblaciones de *Ralstonia solanacearum* raza 2 (Smith) en plátano (*Musa AAB Simmonds*) con aplicación de ex-tractos de *Trichoderma* sp. (*Alexopoulus* y *Mims*) y bacterias antagonistas. *Acta Agronomica*, 63(1).
- Cect. (2016). *INSTRUCCIONES VIALES DE CONSERVACIÓN (BACTERIAS Y LEVADURAS)* (Inf. Téc.). Descargado de <http://www.cect.org>
- Centro Internacional de la Papa. (2007). *Alternativas al uso del bromuro de metilo*.
- Champoiseau, P. (2009). *Ralstonia solanacearum* raza 3 biovar 2. *University of Florida, AFAS Extension*, 1–15.
- Chavarro-Mesa, E., y Ángel-Díaz, J. (2006). Establecimiento de un sistema de diagnóstico para la detección de *Ralstonia solanacearum* y diferenciación genética utilizando marcadores moleculares RAPD. *Colomb. Biotecnol.*, 8, 14–31.
- Cook, D., Barlow, E., y Sequeira, L. (1989). Genetic Diversity of *Pseudomonas solanacearum*: Detection of Restriction Fragment Length Polymorphisms with DNA Probes That Specify Virulence and the Hypersensitive Response. *Molecular plant-microbe interactions*, 113–121.

de la Salud, O. P. (s.f.). *PROGRAMA DE SUBVENCIONES PARA LA INVESTIGACIÓN GUIA PARA ESCRIBIR UN PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD* (Inf. Téc.).

Dibico S A. (s.f.). *Caldo Luria* (Inf. Téc.).

Dom, L., y Guti, L. G. (2015). E . coli and S . cerevisiae Growth and the Ability of Pseudomonas sp and Bacillus sp to be Phosphorus Solubilizers for S a n d r a J o h a n a H e r n á n d e z J i m é n e z E . coli y S . cerevisiae y la capacidad de solubilizar fósforo en Pseudomonas . (1), 109–121.

Eastman Chemical Company. (2005). METAM SODIUM. Metam sodio. TAMINCO. (1907), 1–17. Descargado de www.EASTMAN.com

Fadel, M. A., El-Gebaly, R. H., Mohamed, S. A., y Abdelbacki, A. M. (2017). Biophysical control of the growth of Agrobacterium tumefaciens using extremely low frequency electromagnetic waves at resonance frequency. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 494(1-2), 365–371. Descargado de <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.10.008> doi: 10.1016/j.bbrc.2017.10.008

Fernández-Molina, J. J., Barbosa-Cánovas, G. V., y Swanson, B. G. (2001). Tecnologías emergentes para la conservación de alimentos sin calor. *Arbor*, 168(661), 155–170. doi: 10.3989/arbor.2001.i661.827

French, E., Lemaga, B., Chuloy, B., y Aley, P. (1999). *Control integrado de la marchitez bacteriana de la papa*. Descargado de <http://orton.catie.ac.cr/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=CIAGRO.xis&method=post&form>

Goldman, J. M., Cooper, R. L., y Murr, A. S. (2007, may). Reproductive functions and hypothalamic catecholamines in response to the soil fumigant metam sodium: Adaptations to extended exposures. *Neurotoxicology and Teratology*, 29(3), 368–376. doi: 10.1016/j.ntt.2006.11.011

GÓMEZ, A. J. S. (2008). *Fundamentos de circuitos*.

Gomez Calvo, E. A. (s.f.). *AISLAMIENTO, IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL AGENTE CAUSAL DEL MOKO DEL PLÁTANO, Ralstonia solanacearum RAZA 2, PROVENIENTE DE PLANTACIONES AFECTADAS EN COLOMBIA. EDUARDO AUGUSTO GÓMEZ CALVO TRABAJO DE GRADO Presentado como requisito parcial Para opt* (Inf. Téc.).

González, I., Yailén, A., y Belkis, P. (2009). INTERACCIÓN PLANTA-BACTERIAS FITOPATÓGENAS: CASO DE ESTUDIO RALSTONIA SOLANACEARUM-PLANTAS HOSPEDANTES. *Revista de protección vegetal*, 24. Descargado de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522009000200001

González Torres, C., Casas, M., y Ortiz Díaz, J. (2013). Manejo de Ralstonia Solanacearum raza 2 a través de productos químicos y biológicos. *Scielo*, 2, 217–223.

Guillén, A., y Bravo, N. (2008). Manual de medios de cultivo.

- Hernández, A. (2018). *Estudio del metam sodio (N-metil ditiocarbamato de sodio) en agroecosistemas intensivos: efectos en la microbiología del suelo, persistencia y fisiología de tomate (Solanum lycopersicum)*. Descargado 2020-04-26, de <http://148.224.97.92/xmlui/handle/i/5702>
- Ica. (2011). Manejo fitosanitario del cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* subsp.andigena y *S. phureja*). , 24. Descargado de <http://www.ica.gov.co/getattachment/b2645c33-d4b4-4d9d-84ac-197c55e7d3d0/Manejo-fitos>
- Inhan-Garip, A., Aksu, B., Akan, Z., Akakin, D., Ozaydin, A. N., y San, T. (2011). Effect of extremely low frequency electromagnetic fields on growth rate and morphology of bacteria. *International Journal of Radiation Biology*, 87(12), 1155–1161. doi: 10.3109/09553002.2011.560992
- Institutocolombiano Agropecuario. (s.f.). *ICA: Condiciones climáticas y falta de controles fitosanitarios son la causa de la Polilla Guatemalteca*. Descargado 2020-01-10, de <https://www.ica.gov.co/movil/noticias/2129.aspx>
- Institutocolombiano Agropecuario. (2018). *Situación actual de la bacteria Ralstonia solanacearum Raza 3 Biovar 2 en Colombia*. Descargado 2020-04-15, de <https://www.ica.gov.co/areas/agricola/servicios/epidemiologia-agricola/saf/notificaci>
- Ivanovich, K. G., Evgenyevich, S. I., Vasilyevich, G. A., Nikolaevna, D. T., y Igorevich, V. E. (2013). *Features of Usage of Electromagnetic Field of Extremely Low Frequency for the Storage of Agricultural Products* (Vol. 2013) (n.º May).
- Kato, M. (2014). *Electromagnetics in Biology*. Springer.
- maria paula Aristizabal. (2019). *Cultivar una hectárea de papa pastusa en Colombia cuesta \$15,6 millones*. Descargado 2020-04-22, de <https://www.agronegocios.co/clima/cultivar-una-hectarea-de-papa-pastusa-en-colombia-cu>
- Mittenzwey, R., Süßmuth, R., y Mei, W. (1996). Effects of extremely low-frequency electromagnetic fields on bacteria - The question of a co-stressing factor. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 40(1), 21–27. doi: 10.1016/0302-4598(95)00504-8
- Naranjo, E., y Martínez, Y. (2013). Avances en el diagnóstico de la marchitez bacteriana (*Ralstonia solanacearum*): situación actual y perspectivas en Cuba. *Revista de protección vegetal*, 28(3), 160–170.
- Newman, J. (2008). Physics of the Life Sciences. *Physics of the Life Sciences*, 401–430. doi: 10.1007/978-0-387-77259-2
- Olivares-Galvan, J., Campero-Littlewood, E., Escarela-Perez, R., Magdaleno-Adame, S., y Blanco-Brisset, E. (2010). Coil Systems to Generate Uniform Magnetic Field Volumes. *Proceedings of the COMSOL Conference 2010 Boston*(88), 1–7. Descargado de <http://www.comsol.com/paper/coil-systems-to-generate-uniform-magnetic-field-volumes-77>

- OMS. (s.f.). *¿Qué son los campos electromagnéticos?* Descargado 2020-02-27, de <https://www.who.int/peh-emf/about/WhatisEMF/es/>
- Oncul, S., Cuce, E. M., Aksu, B., y Inhan Garip, A. (2016). Effect of extremely low frequency electromagnetic fields on bacterial membrane. *International Journal of Radiation Biology*, 92(1), 42–49. doi: 10.3109/09553002.2015.1101500
- Papa, F. N. D. F. D. L. (s.f.). *Informe de gestión 2017*.
- Pérez William, G., y Muñoz Vanegas, C. A. (2017). Indicadores e Instrumentos Septiembre 2017 Indicadores Generales. *CADENA DE PAPA Indicadores e Instrumentos*". Descargado de <https://sioc.minagricultura.gov.co/Cacao/Documentos/002 - Cifras Sectoriales/002 - Cifras Sectoriales - 2018 Enero Cacao.pdf>
- Plonsey, R., y Barr, R. (s.f.). *Bioelectricity A Quantitative Approach* (Third Edit ed.). North Carolina: Springer.
- Prior, P., y Fegan, M. (2005). Recent developments in the phylogeny and classification of *Ralstonia solanacearum*. *Acta Horticulturae*, 695, 127–136. doi: 10.17660/ActaHortic.2005.695.14
- Priou, S., Aley, P., Chujoy, E., Lemaga, B., y French, E. C. (1999). Control integrado de la marchitez bacteriana de la papa. *CIP Circular*, 33. Descargado de <http://orton.catie.ac.cr/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=CIAGRO.xis&method=post&form>
- Ramírez G., J. G., Muñoz A., M., Patiño H., L. F., y Morales O., J. G. (2015, sep). Manejo del moko en banano con inductores de resistencia y dióxido de cloro. *Agronomía Colombiana*, 33(2), 194–202. Descargado de <https://revistas.unal.edu.co/index.php/agrocol/article/view/48663> doi: 10.15446/agron.colomb.v33n2.48663
- Ramon, C., Ayaz, M., y Streeter, J. (1981). Inhibition of growth rate of *Escherichia coli* induced by extremely low-frequency weak magnetic fields. *Bioelectromagnetics*, 2(3), 285–289.
- Restrepo, A. F., Franco, E., y Pinedo, C. R. (2014). Metodología de diseño e implementación de un sistema para generación de campos magnéticos uniformes con bobinas helmholtz cuadrada tri-axial. *Informacion Tecnológica*, 25(2), 3–14. doi: 10.4067/S0718-07642014000200002
- Rueda-puente, E., Hernandez, L., Holguin, J., Ruiz, F., Lopez, E., Huez, M., ... Ortega, J. (2014). *Ralstonia solanacearum : Una enfermedad bacteriana de importancia cuarentenaria en el cultivo de Solanum tuberosum L .* (Vol. 9) (n.º 1).
- Scientific, F. (2004). *Ralstonia solanacearum*. *EPPO Bulletin*, 34(2), 173–178. doi: 10.1111/j.1365-2338.2004.00715.x
- Serway, R., y Jewett, J. (1965). *Física para ciencias e ingeniería con Física Moderna* (Vol. 2). doi: 10.1192/bjp.111.479.1009-a
- Serway, R., y Jewett, J. (2009). *FÍSICA para ciencias e ingeniería con Física moderna* (Séptima ed ed.; C. Learning, Ed.).

- Sheet, T. D. (2005). Metam sodium. (006), 1–3.
- Solano, M. A., y Sáiz, J. (2010). Efectos biológicos del campo electromagnético. *Universidad de Cantabria*, 1–37.
- Sui, W. (2001). Electromagnetic Field Theory. *Time-Domain Computer Analysis of Nonlinear Hybrid Systems*(March 2011). doi: 10.1201/9781420040227.ch2
- Tilton, F., y Tanguay, R. (s.f.). *Exposure to Sodium Metam during Zebrafish Somitogenesis Results in Early Transcriptional Indicators of the Ensuing Neuronal and Muscular Dysfunction*. Descargado 2020-04-26, de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3272709/>
- William Granados Pérez y Carlos Alberto Muñoz Vanegas. (2017). Indicadores e Instrumentos Septiembre 2017 Indicadores Generales. *CADENA DE PAPA Indicadores e Instrumentos*”. Descargado de <https://sioc.minagricultura.gov.co/Cacao/Documentos/002 - Cifras Sectoriales/002 - Cifras Sectoriales - 2018 Enero Cacao.pdf>