

## Efekt krótkotrwałej ekspozycji bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych na działanie zmiennego pola elektromagnetycznego

**Streszczenie.** W artykule przeanalizowano relacje pomiędzy stymulacją polem elektromagnetycznym substancji bakteryjnej. W doświadczeniu oddzielnie stymulowano bakterie Gram-dodatnie i Gram-ujemne polem elektromagnetycznym o zróżnicowanych parametrach, które wynikały z natężenia pola oraz czasu stymulacji przedmiotowych substancji. Odnotowano, że różnice w budowie oczek komórkowych stanowiących determinanty podziału bakterii na gram-dodatnie i gram-ujemne nie wpływają w sposób zróżnicowany na stymulację polem elektromagnetycznym bez względu na analizowany w doświadczeniu czas stymulacji i wielkość natężenia pola elektromagnetycznego oraz wynikającej z w/w wartości dawki ekspozycyjnej.

**Abstract.** The article analyzes the relationships between stimulation of the alternating electromagnetic field of a bacterial substance. In the experiment, Gram-positive and Gram-negative bacteria were separately stimulated by electromagnetic field of various parameters, which resulted from the field strength and stimulation time. It has been noted that differences in the structure of cells constituting determinants of bacterial division into Gram-positive and Gram-negative do not affect the stimulation of the electromagnetic field in a differentiated way. These differences have no effect regardless of the stimulation time and induction of the electromagnetic field analyzed in the experiment, as well as the exposure dose resulting from the above. (The effect of short-term Gram-positive and Gram-negative bacteria exposition of using a variable electromagnetic field).

**Słowa kluczowe:** pole elektromagnetyczne, zmienne pole, bakterie, gęstość optyczna

**Keywords:** electromagnetic field, alternating field, bacterial, optical density

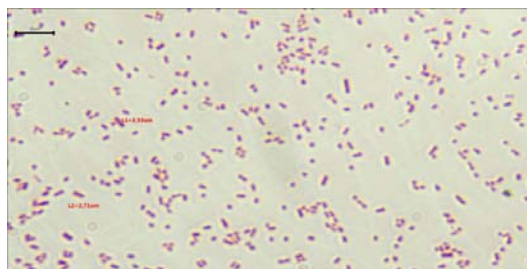
### Wstęp

Badania wpływu pola elektromagnetycznego na struktury biologiczne trwają nieprzerwanie od drugiej połowy XIX wieku. Początkowo prace te dotyczyły przedsięwziętej stymulacji nasion [1, 2], w przypadku których uzyskiwano niejednoznaczne wyniki. Udokumentowano efekt szybszego kiełkowania niektórych roślin przebywających w polu elektromagnetycznym, jak również brak efektów w porównaniu do nasion niestymulowanych przedsięwzięcie. W późniejszych doświadczeniach, stosując pole elektromagnetyczne, o małej wartości indukcji magnetycznej, uzyskano zwiększenie zawartości białka i chlorofilu w sadzonkach cebuli [3]. Oddziałując stałym polem elektromagnetycznym na nasiona kukurydzy [4] uzyskano większy wzrost łodyg w roślinach, a także przyrost plonów w stosunku do próby kontrolnej. W prowadzonych w Hiszpanii badaniach nad nasionami ryżu i jęczmienia [5] stwierdzono szybsze kiełkowanie oraz wyższe plony na skutek przedsięwziętego oddziaływania polem elektromagnetycznym.

Obecnie, doświadczenia dotyczące oddziaływania polem elektromagnetycznym na organizmy żywe prowadzone są licznie nie tylko na materiale roślinnym, ale również na drobnoustrojach. Ratushnyak i in. [6] stwierdzili, że pole elektromagnetyczne o wysokiej częstotliwości spowodowało pobudzenie mikroflory bytującej na nasionach sosny. Ana-Maria i in. [7] wykazali stymulujący wpływ pola elektromagnetycznego o częstotliwości 50 Hz na produktywność biomasy mikroalgi *Chlorella sorokiniana*, ale odnotowali również efekt hamujący dla pola o częstotliwości 15 Hz. Z kolei Deng i in. [8] oraz Ostafin i in. [9,10] dowiedli, że zmienne pole elektromagnetyczne może pobudzać wzrost grzybów z rodziny *Monascuspurpurcus*, a także przyspieszać wzrostu drożdży *Yarrowia lipolytica*. Pomimo występowania wielu opracowań wciąż nie można jednoznacznie potwierdzić pozytywnego lub negatywnego wpływu oddziaływania pól elektromagnetycznych na organizmy żywe. Co więcej, nadal nie udało się poznać i opisać dokładnego sposobu oddziaływania pola elektromagnetycznego na materię żywą. Otrzymywane na skutek doświadczeń rezultaty mają najczęściej charakter nielinowy [7,9,11,12].

Jeden z podstawowych podziałów bakterii zaproponowanym przez duńskiego bakteriologa Hansa

Grama, dzieli je ze względu na różnice w budowie otoczek komórkowych, na tzw. Gram-dodatnie lub Gram-ujemne (rys.1) [13]. Błony wewnętrzne lub cytoplazmatyczne obu grup bakterii są podobne, jednak zewnętrzne obwiednie komórek są bardzo zróżnicowane. W bakteriach Gram-dodatnich istnieje warstwa usieciowanego peptydoglikanu otaczającego błonę cytoplazmatyczną i tworzącego grubą matrycę, która utrzymuje sztywność komórki bakteryjnej [14]. Natomiast warstwa peptydoglikanu u bakterii Gram-ujemnych jest znacznie cieńsza i mniej usieciowana [15].



Rys.1. Widok mikroskopowy bakterii barwionych metodą Grama (Gram-dodatnich na górze i Gram-ujemnych na dole)

Liczne eksperymenty naukowe prowadzone na różnych grupach drobnoustrojów wskazują na silne zróżnicowanie otrzymywanych efektów stymulacji polem elektromagnetycznym, nie tylko ze względu na parametry pola, ale również przy uwzględnieniu rodzaju badanego mikroorganizmu. Wydaje się, że różnice w budowie komórek bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych mogą przekładać się na ich reakcję wywołaną działaniem zmiennego pola elektromagnetycznego. Nie bez znaczenia

jest również podłoże na którym rozwijają się drobnoustroje [16,17].

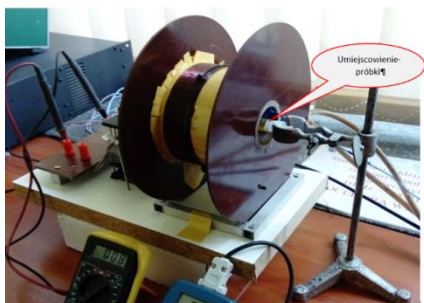
### Metodyka badań

Szczepy bakterii Gram-dodatnich i Gram\*ujemnych, wyizolowano z próbek zanieczyszczonej gleby, pobieranych w ramach analiz środowiskowych. Następnie hodowano je przez okres 24 godzin na powszechnie stosowanym podłożu stałym TSA (tryptone-soja-agar). Do sterylnych, dziesięciomililitrowych, szklanych probówek wprowadzono pożywkę płynną NutrientBroth i dokonano inokulacji badanymi bakteriami. Gęstości optyczne (OD) wyjściowych zawiesin ustalono na 0,5 w skali McFarlanda [McF] przy użyciu densytometru DEN-1B (rys.2).



Rys.2. Stanowisko do pomiaru gęstości optycznej przy użyciu densytometru DEN-1B

Przygotowane próbki poddano krótkotrwałej stymulacji zmiennym polem elektromagnetycznym. W tym celu posłużono się eksperymentalnym stanowiskiem badawczym (rys. 3), opisanym szczegółowo przez Dróżdża i in. [18].



Rys. 3. Ustawienie próbki z substancją biologiczną do stymulacji polem elektromagnetycznym [16]

Tabela 1. Dawki ekspozycyjne oraz parametry poszczególnych kombinacji indukcji magnetycznej pola i czasu ekspozycji

Natężenie pola [mT]	Czas ekspozycji [s]	Dawka ekspozycyjna [kJ·m <sup>-3</sup> ]
10	120	9,6
	240	19,1
	360	28,7
20	120	38,2
	240	76,4
	360	114,6
30	120	86,0
	240	172,0
	360	258,0
40	120	152,9
	240	305,7
	360	458,6

Częstotliwość pola została przyjęta na podstawie wstępnych doświadczeń i wynosiła 70 Hz. Wartość indukcji magnetycznej mieściła się w przedziale 10-40 mT, ze

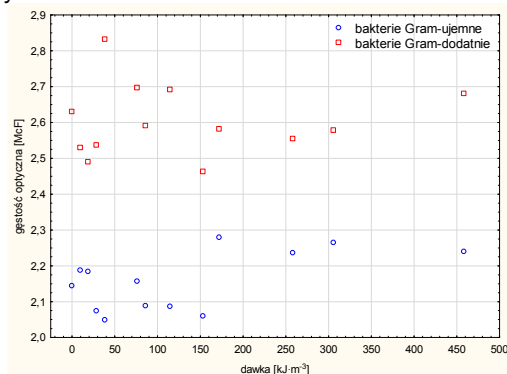
skokową zmianą co 10 mT. Czas ekspozycji został określony na podstawie pilotażowych eksperymentów [15] i obejmował trzy interwały czasowe, kolejno 120, 240 oraz 360 s. Poddane stymulacji próbki hodowano na wytrząsarce w temperaturze 28°C, przy nastawie obrotów 90 rpm. Po upływie 24h wykonano powtórnie pomiary gęstości optycznych zawiesin bakteryjnych. Eksperyment przeprowadzono w dziesięciu powtórzeniach. Poszczególne kombinacje indukcji magnetycznej pola i czasu ekspozycji (tab.1) zostały sprowadzone do ekwiwalentu w postaci tzw. dawki ekspozycyjnej (D), zgodnie ze wzorem (1) [9,19].

$$(1) \quad D = \frac{10^7}{4\pi} \cdot B^2 \cdot t_e [J \cdot m^{-3}]$$

gdzie:  $B$  - indukcja magnetyczna [T],  $t_e$  - czas ekspozycji [s].

### Wyniki badań

Odnotowano, że gęstości optyczne obu rodzajów bakterii, poddanych działaniu zmiennego pola elektromagnetycznego, są zróżnicowane wobec siebie w obrębie całego spektrum zastosowanych w doświadczeniu kombinacji parametrów pola. Podobne stwierdzenie dotyczy dawki ekspozycyjnej, która wynikała bezpośrednio z czasu ekspozycji i natężenia pola elektromagnetycznego. Na rysunku 4 przedstawiono gęstość optyczną każdej z grup bakterii (kolor czerwony – Gram-dodatnich, kolor niebieski – Gram-ujemnych), które tworzą dwie odrębne grupy jednorodne również po stymulacji. Należy zaznaczyć, że we wszystkich kombinacjach zróżnicowania parametrów pola elektromagnetycznego gęstość optyczna bakterii Gram - dodatnich była wyższa w stosunku do bakterii Gram - ujemnych.

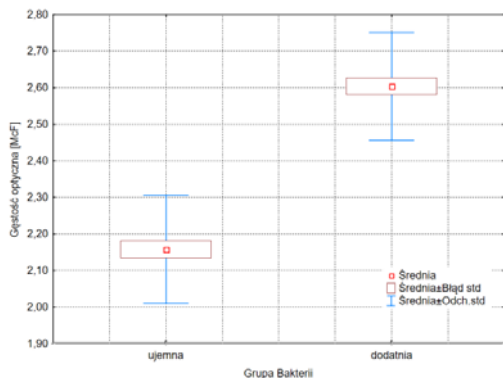


Rys.4. Gęstość optyczna bakterii Gram dodatnich i Gram ujemnych w zależności od zastosowanej dawki ekspozycyjnej

Największy wzrost zmętnienia zawiesiny bakterii Gram - ujemnych, równy 3,19 McF, zaobserwowano dla próbki utrzymywanej przez 4 minuty w polu o indukcji magnetycznej wynoszącej 30 mT (różnica względem próby kontrolnej 0,44 McF). Dla drugiej grupy badanych mikroorganizmów analogiczny efekt wywołało oddziaływanie na próbkę polem o indukcji 20 mT przy dwuminutowym czasie ekspozycji (gęstość równa 3,82 McF - różnica względem próby kontrolnej 1,02 McF). Na rysunku 5 przedstawiono uśrednione wartości obu grup bakterii po stymulacji polem elektromagnetycznym, gdzie średnia wartość gęstości optycznej dla bakterii gram dodatnich wynosiła 2,6 McF natomiast bakterii gram ujemnych 2,15 McF. Stwierdzona różnica w wartościach bezwzględnych nie jest wysoka, ale zmienność gęstości optycznej obu grup bakterii jest bardzo mała, co powoduje, że różnica jest istotna a jej wartość możliwa do wykorzystania w praktyce.

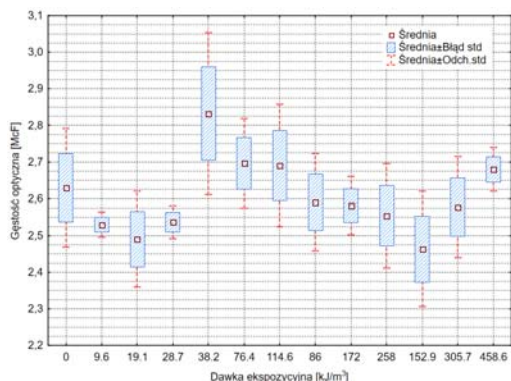
Ekspozycja bakterii na pole elektromagnetyczne w wielu przypadkach wywołała zahamowanie ich wzrostu, tj. zmniejszenie wartości OD względem próby kontrolnej, nie

poddanej stymulacji. Taki efekt uzyskano w 66,67% próbkach bakterii Gram-ujemnych i 33,33% próbkach bakterii Gram-dodatnich. Dla bakterii Gram-dodatnich zastosowanie pola o indukcji magnetycznej na poziomie 10 mT wywołało zmniejszenie ilości biomasy, niezależnie od przyjętego interwału czasu. Taka sama sytuacja miała również miejsce dla wartości natężenia pola elektromagnetycznego równego 30 mT.



Rys.5. Gęstość optyczna bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych bez uwzględnienia wielkości dawki ekspozycyjnej

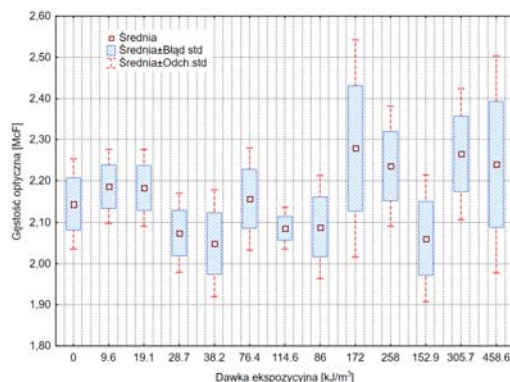
Dla bakterii Gram-ujemnych zahamowanie, bądź brak przyrostu ich biomasy, wyznaczany poprzez poziom zmętnienia zawiesiny, odnotowano przy wszystkich próbkach poddanych działaniu pola elektromagnetycznego o wartości 20 mT. Przeprowadzona analiza statystyczna wykluczyła istotność różnic w obrębie grup jednorodnych, co oznacza, że zastosowana dawka stymulacji elektromagnetycznej oraz jej charakterystyka nie determinowała w sposób istotny gęstości optycznej w żadnej analizowanej grupie. Na rysunku 6 przedstawiono wyszczególnione dla każdej kombinacji dawki ekspozycyjnej wartości średnie oraz zakres zmienności gęstości optycznej bakterii Gram-dodatnich.



Rys.6. Średnia wartość gęstości optycznej bakterii Gram-dodatnich w zależności od zastosowanej dawki ekspozycyjnej

Stwierdzono, że najwyższą gęstość optyczną wynoszącą 2,85 McF uzyskano przy dawce ekspozycyjnej wynoszącej 38,2 kJ·m<sup>3</sup>, ale przy znacznej zmienności wewnątrzgrupowej. Natomiast najniższe wartości gęstości optycznej wynoszące poniżej 2,5 McF odnotowano dla dawki ekspozycyjnej wynoszącej 19,1 kJ·m<sup>3</sup> oraz 152,9 kJ·m<sup>3</sup>. Na rysunku 7 przedstawiono wartości średnie gęstości optycznej bakterii Gram-ujemnych dla każdej zastosowanej dawki ekspozycyjnej. Podobnie jak w analizowanym przypadku, nie odnotowano istotnego statystycznie zróżnicowania gęstości optycznej w obrębie

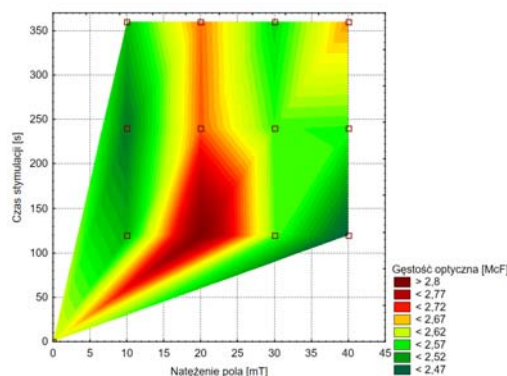
grupy jednorodnej (bakterie Gram-ujemne) spowodowanej wielkością dawki ekspozycyjnej.



Rys.7. Średnia wartość gęstości optycznej bakterii Gram-ujemnych w zależności od zastosowanej dawki ekspozycyjnej

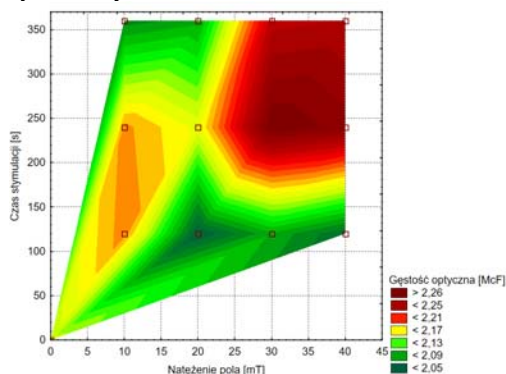
Najwyższą wartością gęstości optycznej charakteryzowały się bakterie o dawce ekspozycyjnej wynoszącej 172 kJ·m<sup>3</sup>, natomiast najniższą wartość gęstości optycznej odnotowano w przypadku bakterii, gdzie dawka ekspozycyjna wynosiła 38,2 kJ·m<sup>3</sup>. Należy jednak zaznaczyć, że stymulacja polem elektromagnetycznym bakterii z grupy Gram-ujemnych powodowała wzrost gęstości optycznej w większym stopniu niż w przypadku bakterii z grupy Gram-dodatnich. Na rysunku 8 przedstawiono relacje między czasem stymulacji bakterii z grupy Gram-dodatnich i natężeniem pola, a gęstością optyczną. Zaobserwowano, że najwyższe wartości gęstości optycznej nie były wynikiem oddziaływania najdłuższego czasu ekspozycji bakterii oraz najwyższego natężenia pola elektromagnetycznego, natomiast wynikały z kombinacji, gdzie czas ekspozycji wynosił 120 s a natężenie pola elektromagnetycznego było równe 20 mT. Należy podkreślić, że natężenie pola elektromagnetycznego wynoszące 20 mT wpływało na zwiększenie gęstości optycznej w każdym analizowanym interwale czasowym ekspozycji próbki na oddziaływanie pola elektromagnetycznego.

W przypadku bakterii Gram-dodatnich, aby uzyskać najwyższą gęstość optyczną należy tak dobierać parametry natężenia pola elektromagnetycznego oraz czasu oddziaływania tego pola na mikroorganizmy, aby kombinacja parametrów sytuowała układ w obszarze koloru czerwonego (rys. 8) i nie przekraczała linii granicznej koloru żółtego. Nieco inny charakter miała relacja między natężeniem pola elektromagnetycznego i czasem stymulacji a gęstością optyczną bakterii z grupy Gram-ujemnych (rys. 9).



Rys.8. Wartość gęstości optycznej bakterii Gram-dodatnich w zależności od natężenia pola elektromagnetycznego i czasu jego oddziaływania

W tym przypadku najwyższe natężenie pola elektromagnetycznego i najdłuższy czas stymulacji powodował najwyższą wartość gęstości optycznej (kolor czerwony). Należy zaznaczyć, że już natężenie pola elektromagnetycznego wynoszące 30 mT i czas oddziaływania na materiał biologiczny wynoszący 240 s powodował istotny przyrost gęstości optycznej w stosunku do próby zerowej.



Rys.9. Wartość gęstości optycznej bakterii Gram-ujemnych w zależności od natężenia pola elektromagnetycznego i czasu jego oddziaływania

Zaobserwowano również drugi obszar wzrostu gęstości optycznej bakterii gram ujemnych umiejscowiony w pierwszej części rysunku (kolor jasnobrązowy) i wynikający z krótkiego czasu stymulacji. Zatem wydaje się, że w tym przypadku istnieją dwie kombinacje parametrów wejściowych pola elektromagnetycznego oraz czasu stymulacji, które dają podobny efekt gęstości optycznej bakterii.

### Podsumowanie

Stwierdzono, że krótkotrwała ekspozycja bakterii na zmienne pole elektromagnetyczne szczególnie w przypadku grupy bakterii Gram-dodatnich wywołuje znaczne zmiany gęstości optycznej wyjściowych zawiesin. Efekty wywołane taką ekspozycją mają charakter nieliniowy i w zależności od zastosowanych parametrów pola elektromagnetycznego powodują zahamowanie lub przyspieszony wzrost badanych mikroorganizmów. Stwierdzono, że optyczne gęstości obu rodzajów bakterii są różne w obrębie całego spektrum zróżnicowania zastosowanej dawki ekspozycyjnej. Wartości gęstości stanowią dwie odmienne grupy, które są tożsame z rodzajem bakterii. Największy wzrost zmętnienia zawiesiny bakterii Gram-ujemnych, równy 3,19 McF, zaobserwowano dla próbki utrzymywanej przez 4 minuty w polu o indukcji magnetycznej wynoszącej 30 mT (różnica bezwzględna w stosunku do próby kontrolnej 0,44 McF). Dla drugiej grupy badanych mikroorganizmów analogiczny efekt wywołało oddziaływanie na próbkę polem o indukcji 20 mT przy dwuminutowym czasie ekspozycji (gęstość równa 3,82 McF - różnica względem próby kontrolnej 1,02 McF). We wszystkich kombinacjach pola elektromagnetycznego gęstość optyczna bakterii Gram-dodatnich była wyższa w stosunku do bakterii Gram-ujemnych.

**Autorzy:** mgr inż. Ernest Popardowski, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Wydział Inżynierii Produkcji i Energetyki, ul. Balicka 116B, 30-149 Kraków, e-mail:ernest.popardowski@urk.edu.pl, mgr inż. Anna Miernik, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Wydział Inżynierii Produkcji i Energetyki, ul. Balicka 116B, 30-149 Kraków, e-mail:miernikanna07@gmail.com, dr inż. Tomasz Drózd, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Wydział Inżynierii Produkcji i Energetyki, ul. Balicka 116B, 30-149 Kraków, e-mail:tomasz.drozd@office.urk.edu.pl, dr hab. inż. Sylwester Tabor

prof. UR, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Wydział Inżynierii Produkcji i Energetyki, ul. Balicka 116B, 30-149 Kraków, e-mail: sylwester.tabor@ur.krakow.pl, dr hab. inż. Paweł Kielbasa, prof. UR, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Wydział Inżynierii Produkcji i Energetyki, ul. Balicka 116B, 30-149 Kraków, e-mail: pawel.kielbasa@urk.edu.pl,

### LITERATURA

- [1] Reinke J.. Untersuchungen der Wachstums. Botan. Ztg., 34 (1876), 129
- [2] Tolomei G. Anziona del magnetismosullagerminazione. Malpighia, 7 (1893), 470.
- [3] Novitsky I., Novitskaya G.V., Kosheshova T.K., Nechiporenko G.A., Dobrovolskij M.V. 2001. Growth of green onions in a weak permanent magnetic field. Journal Plant Physiol, 48, 709–715.
- [4] Aladjadjian A. 2010. Effect of microwave irradiation on seeds on lentils (Lens Culinaris, med.). Romanian Journal of Biophysics 20(3), 213 – 221.
- [5] Carbonell M.V., Martinez E., Amaya J.M. 2000. Stimula-tion of germination in rice (Oryzasavita L.) by a static mag-netic field. Electro and Magnetobiol. 19, 121–128.
- [6] Ratushnyak A.A., Andreeva M.G., Morozova G.A., and Trushin M.V. Effect of extremely high frequency electromagnetic fields on microbiological community in rhizosphere of plants. Int. Agrophysics, 22 (2008), 71-74
- [7] Ana-Maria L., Lungulescu E.M., Voina A., Mateescu C., Nicoleta B., Patroi E. Evaluation of the magnetic field effect of 5-10 mT on Chlorella sorokiniana microalgae. EEA - Electrotehnica, Electronica, Automatica. 65. (2017) 123-127.
- [8] Deng G., Xia F., Wang J., Gao M. Effect of low-frequency alternating magnetic field on biomass of Monascuspurpurcus solid-state fermentation. NongyeJixieXuebao/Transactions of the Chinese Society of Agricultural Machinery. 43. (2012) 128-132.
- [9] Ostafin M., Bulski K., Drózd T., Nawara P., Necka K., Lis S., Kielbasa P., Tomasik M., Oziembowski M. Wpływ zmiennego pola elektromagnetycznego na wzrostdrożdży Yarrowialipolytica, Przegląd Elektrotechniczny. 92 (2016), n.12, 117-120
- [10] Oziembowski M., Drózd M., Kielbasa P., Drózd T., Gaśiorski A., Nawara P., Tabor S., Ultrasłaba luminescencja (USL) jako potencjalna metoda oceny jakości żywności tradycyjnej, Przegląd Elektrotechniczny. 93 (2017), n. 12, 131–134
- [11] Lipiec J., Janas P., Barabasz W., Effecto of oscillating magnetic field pulses on the survival of selected microorganisms. International Agrophysics. (2004), n 18.
- [12] Jakubowski T., The reaction of garden cress (Lepidium sativum L. to microwave radiation. 2018 Progress in Applied Electrical Engineering (PAEE 2018), (2018) 176 – 180
- [13] Li J., Koh J.J., Liu S., Lakshminarayanan R., Verma C., Beuerman R., Membrane Active Antimicrobial Peptides: Translating Mechanistic Insights to Design. Frontiers in Neuroscience. (2017) 11
- [14] Meroueh, S.O., Bencze, K.Z., Heseck, D., Lee, M., Fisher, J.F., Stemmler, T. L., et al. Three-dimensional structure of the bacterial cell wall peptidoglycan. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. (2006). 03, 4404–4409
- [15] Ruiz, N., Kahne, D., and Silhavy, T. J. Advances in understanding bacterial outer-membrane biogenesis. Nat. Rev. Microbiol. 4, (2006) 57–66
- [16] Korzeniewska E., Szczyński A.: Parasitic parameters of thin film structures created on flexible substrates in PVD process Microelectronic Engineering 2018, 193, pp. 62-64
- [17] Pawlak R., Lebioda M., Tomczyk M., Rymaszewski J., Korzeniewska E., Walczak M.: Surface heat sources on textile composites - Modeling and implementation 18th International Symposium on Electromagnetic Fields in Mechatronics, Electrical and Electronic Engineering, ISEF 2017, 8090740
- [18] Drózd T., Bieńkowski P., Kielbasa P., Nawara P., Popardowski E., Stanowisko do stymulacji zróżnicowanym polem elektromagnetycznym substancji biologicznej, Przegląd Elektrotechniczny. 97 (2019), n.3, 66-69
- [19] Pietruszewski S. Magnetyczna biostymulacja materiału siewnego pszenicy jarej, AR Lublin, Rozprawy Naukowe Akademii Rolniczej w Lublinie, (1999) (220)