

INTERACCIÓN ENTRE CÉLULAS DE LEVADURA SOMETIDAS A LA ACCIÓN DE CAMPOS ELÉCTRICOS NO UNIFORMES

Eddy Luz León Torres¹, Freddy Torrealba A², Nelson Loureiro², Alonso Arroyo²,

Nayalet Padilla², Tijani Gharbi³

¹Universidad Nacional Experimental Politécnica “Antonio José de Sucre”. Vicerrectorado Barquisimeto.

²Universidad Centro Occidental Lisandro Alvarado. ³Université de Franche Comté en Besançon, Francia

RESUMEN. El estudio de la interacción entre partículas biológicas sometidas a campos eléctricos no uniformes se realiza experimentalmente con el objetivo de analizar la formación de cadenas que se produce a frecuencias y concentraciones de células determinadas. La colección de las biopartículas formando cadenas o *pearl-chaining* se produce cuando éstas están muy próximas entre sí, y al someterlas a un campo eléctrico, interactúan electromecánicamente por medio de la acción de los momentos dipolares inducidos. En esta investigación se explican los conceptos básicos, ecuaciones y parámetros que gobiernan la interacción entre partículas específicamente la *dielectroforesis mutua* y la *dielectroforesis común*. Se empleó un sistema dielectroforético con un arreglo de electrodos en forma de espiral y dos concentraciones diferentes de células de levadura. Se demostró, que para la concentración menor, la interacción entre células fue casi nula para una frecuencia de 1Mhz mientras que para la concentración mayor, se observó gran cantidad de cadenas de células para frecuencias 100kHz y 1MHz. Se concluye que la interacción entre dos o más partículas biológicas cuando son sometidas a la acción de campos eléctricos no uniformes guarda relación con la concentración celular empleada.

Palabras claves: interacción entre partículas, *pearl-chaining*, campos eléctricos no uniformes, momentos dipolares inducidos, dielectroforesis, electrodos en espiral

INTERACTION BETWEEN YEAST CELLS SUBJECTED TO THE ACTION OF NON-UNIFORM ELECTRIC FIELDS

ABSTRACT. The study of the interaction between biological particles subjected to nonuniform electric fields is performed experimentally with the aim of demonstrating that these, plants or animals, one can characterize and manipulate and these aspects have become main axes of modern science and biomedical engineering. The collection of the bioparticles forming chains occurs when they are closely spaced, and when subjected to an electric field interact electromechanically through the action of the induced dipole moments. This research describes the basic concepts, equations and parameters that govern the interaction between particles specifically called pearl chaining. We used a dielectrophoretic system with an array of spiral electrodes and two different concentrations of yeast cells. It was demonstrated that for the lower concentration, the interaction between cells was almost zero for a frequency of 1 MHz while for higher concentrations, there was lot of chains of cells for frequencies 100kHz and 1MHz. It was concluded that the interaction between two or more biological particles when subjected to the action of nonuniform electric fields it depend of cell concentration employed.

Keywords: interaction between particles, nonuniform electric fields, induced dipole moments, dielectrophoresis, spiral electrodes

1. Introducción

La manera en que las partículas biológicas se comportan cuando son sometidas a la acción de campos eléctricos es un tema que ha sido ampliamente investigado y, por demás, de interés para aplicaciones en áreas de la biomedicina y la biotecnología [1-7]. Pohl fue pionero en realizar investigaciones sobre este fenómeno considerando la longitud de las cadenas de partículas de levadura como medida del rendimiento dielectroforético demostrando su dependencia de parámetros físicos como la frecuencia, el voltaje, la conductividad y la concentración celular; de parámetros biológicos como la edad del cultivo y el tratamiento térmico del cultivo [1].

La fuerza de interacción entre dos partículas similares se basa en su polarizabilidad y en la magnitud del campo eléctrico externo que induce el dipolo, pero no en que las partículas estén experimentando dielectroforesis positiva o negativa [8]. Por otra parte, Hughes afirma que el fenómeno *pearl-chaining* o la formación de cadenas de partículas se produce debido a la denominada dielectroforesis mutua y es más fuerte donde el campo eléctrico es mayor, es decir, en los bordes de los electrodos. Cuando se trata de una fuerza dielectroforética positiva una partícula llega al electrodo y la distorsión del campo que se produce hace que las partículas entrantes sean atraídas a la partícula y no al borde del electrodo [8]; proceso que se repite formando las cadenas y ocurre para ciertas frecuencias [7-8]. Este resultado es considerado útil cuando se trata de la formación de estructuras de materiales y de nanocables conductores [8].

Kadaksham y otros [3] reportan la interacción entre células de levadura para una frecuencia de 1 kHz y un voltaje de 4 Vpp. Al variar la frecuencia y llegar a 2 MHz observa el aglomeramiento de células en los bordes de los electrodos sin formar cadenas lo que le lleva a concluir que el valor de la fuerza dielectroforética es mayor, comparado con la de interacción entre células a ésta frecuencia. Emplearon en esta investigación un dispositivo con electrodos intercastelados.

El presente artículo se centra en la descripción de los conceptos básicos, ecuaciones y variables que influyen en la interacción entre partículas así como también la variación de la colección de éstas en los microelectrodos por dielectroforesis positiva. Igualmente, se presentan los

resultados experimentales más relevantes obtenidos en la prueba con un sistema de electrodos con geometría en espiral usando levadura. Se demuestra que la concentración de partículas empleada influye en la formación de cadenas.

2. Teoría

2.1 Interacción entre partículas sometidas a campos eléctricos no uniformes.

Cuando se tiene una suspensión de partículas muy próximas entre sí, al someterlas a un campo eléctrico, éstas interactúan electromecánicamente, por medio de la acción de los momentos dipolares inducidos. Dependiendo de la alineación de los dipolos de las partículas, las fuerzas de interacción mutua pueden ser atractivas o repulsivas. En general, las partículas similares se atraen entre sí cuando se alinean paralelas a un campo aplicado y se repelen cuando ésta alineación es perpendicular. En espacios de longitud estrecha, estas fuerzas de interacción pueden llegar a ser muy fuertes [9].

Existen, según Jones [9], dos interpretaciones físicas complementarias de la electromecánica entre partículas para explicar este fenómeno: una considera que son interacciones dipolo-dipolo, mientras que la otra se centra en la distorsión del campo aplicado en la vecindad de cada partícula. El modelo de interacción dipolo-dipolo se deriva de la interpretación física de la electrodinámica que expresa "*acción a una distancia de*". En la figura 1 se observan dos partículas similares con su línea central orientada paralelamente al campo aplicado. Los dipolos inducidos claramente se atraen entre sí, independientemente del signo del factor de Clausius-Mossotti, $K(\omega)$ (definido más adelante). Por otro lado, cuando las partículas están alineadas perpendicularmente a la dirección del campo aplicado se repelen entre sí.

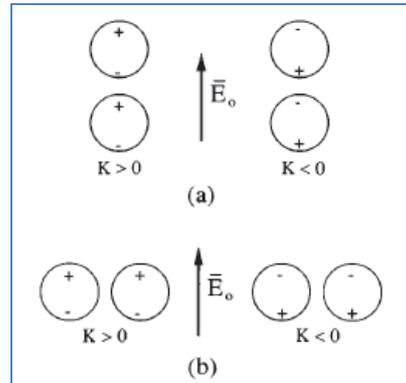


FIGURA 1. Interacción de partículas con momentos dipolares inducidos: a) paralelas al campo b) perpendicular al campo. Jones (1995)

Fuente: León, Torrealba, Loureiro, Arroyo, Parrilla, Gharbi (2013)

La otra interpretación de las interacciones entre partículas inducidas por el campo se relaciona con la perturbación localizada del mismo causada por partículas dieléctricas, conductoras o magnéticas. Para $K > 0$, el campo se intensifica cerca de los polos y se reduce en el ecuador. Lo opuesto ocurre cuando $K < 0$. Por lo tanto, estas interacciones son consistentes con las interacciones dipolo-dipolo.

Adicionalmente, Jones [9] menciona un caso que resulta interesante. Cuando $K > 0$ para una partícula y $K < 0$ para la otra, las dos se repelen entre sí cuando los dipolos inducidos se alinean y se atraen cuando están orientadas de lado a lado. Este aspecto puede ser comprobado en mezclas de partículas biológicas diferentes entre sí, por ejemplo, vivas y muertas.

Kadaksham y otros [3] definen la fuerza de interacción partícula-partícula entre una i -ésima partícula debido a una j -ésima partícula en un campo eléctrico no uniforme DC, basados en la aproximación de punto dipolar como:

$$F_I = \frac{12\pi\epsilon_0\epsilon_m(\text{Re}[K(\omega)])^2\alpha^6}{|r^4|} \left(\mathbf{r}_{ij}(\mathbf{E}_i \cdot \mathbf{E}_j) + (\mathbf{r}_{ij} \cdot \mathbf{E}_i)\mathbf{E}_j + (\mathbf{r}_{ij} \cdot \mathbf{E}_j)\mathbf{E}_i - 5\mathbf{r}_{ij}(\mathbf{r}_{ij} \cdot \mathbf{E}_i)(\mathbf{r}_{ij} \cdot \mathbf{E}_j) \right) \quad (1)$$

donde a es el radio de la partícula, ϵ_m es la permitividad del medio, $\epsilon_0 = 8,8542 \times 10^{-12}$ F/m es la permitividad del vacío, \mathbf{E} el valor medio del campo eléctrico y \mathbf{r}_{ij} es el vector unitario en dirección desde el centro de la i -ésima partícula al centro de la j -ésima partícula.

2.2 Dielectroforesis

En campos eléctricos no uniformes en corriente alterna (CA), la expresión general para la fuerza dielectroforética (DEP) de tiempo promedio está dada por [8] :

$$\langle F_{DEP} \rangle = 2\pi a^3 \epsilon_0 \epsilon_m \left(\text{Re}[K(\omega)] \nabla E_{rms}^2 + \text{Im}[K(\omega)] (E_{x0}^2 \nabla \varphi_x + E_{y0}^2 \nabla \varphi_y + E_{z0}^2 \nabla \varphi_z) \right) \quad (2)$$

De hecho, se puede dividir en dos expresiones:

$$\langle F_{DEP} \rangle = 2\pi a^3 \epsilon_0 \epsilon_m \text{Re}[K(\omega)] \nabla E^2 \quad (3)$$

$$\langle F_{DEP} \rangle = 2\pi a^3 \epsilon_0 \epsilon_m \text{Im}[K(\omega)] (E_{x0}^2 \nabla \varphi_x + E_{y0}^2 \nabla \varphi_y + E_{z0}^2 \nabla \varphi_z) \quad (4)$$

La ecuación (3), es la ecuación convencional de fuerza dielectroforética y es dependiente de la magnitud del gradiente de campo eléctrico. La ecuación (4) describe la fuerza debida a un gradiente de fase; tal expresión proporciona la fuerza en un campo eléctrico viajero, que puede ser descrito como una relación de fase variable linealmente y, por lo tanto, un gradiente de fase [8].

El término $\text{Re}[K(\omega)]$ corresponde a la parte real del factor de Clausius-Mossotti que es dependiente de la frecuencia. Su expresión se determina con la ecuación (5)

$$K(\omega) = \left(\frac{\epsilon_p^* - \epsilon_m^*}{\epsilon_p^* + 2\epsilon_m^*} \right) \quad (5)$$

donde ϵ_p^* y ϵ_m^* son las permitividades complejas de la partícula y el medio respectivamente. La permitividad compleja, $\epsilon^* = \epsilon_0 \epsilon_r - j \frac{\sigma}{\omega}$, donde ϵ_r es la permitividad relativa del medio o partícula, σ es la conductividad del medio o partícula, ω la frecuencia y $j = \sqrt{-1}$.

Por definición, $K(\omega)$ tendrá valores entre -0,5 y 1. Si es negativo, significa que la partícula es menos polarizable que el medio donde se encuentra y la fuerza **DEP** está direccionada en dirección opuesta al gradiente del campo, denominándose **nDEP** ó fuerza dielectroforética negativa. En este caso, las partículas son llevadas a las regiones de menor intensidad del campo. Si la polarizabilidad de la partícula es mayor que la del medio que la circunda, entonces $Re[K(\omega)]$ será positivo y las partículas son trasladadas a las regiones de mayor intensidad de campo mediante una **pDEP** o fuerza dielectroforética positiva [10].

De las ecuaciones (1) y (3) se puede notar que la fuerza inducida por la interacción partícula-partícula es proporcional a $(Re[K(\omega)])^2$ mientras que la fuerza dielectroforética lo es a $Re[K(\omega)]$. En los campos eléctricos no uniformes, el factor de Clausius-Mossotti $Re[K(\omega)]$, varía con la frecuencia. Si $Re[K(\omega)]$ se aproxima a cero, asumiendo que la expresión (1) es aproximadamente válida para campos AC, la aproximación dipolar predice que la fuerza de interacción partícula-partícula desaparece más rápido que la fuerza **DEP**, esto quiere decir, que para valores de frecuencia en los que $Re[K(\omega)]$ se acerca a cero, es posible manipular partículas principalmente por la fuerza dielectroforética sin que se formen cadenas de partículas [3].

3. Materiales y Métodos

3.1 Dispositivo dielectroforético

El dispositivo utilizado en esta oportunidad, posee una geometría de cuatro electrodos dispuestos en forma de espiral cuadrada. Los electrodos tienen una anchura de 30 μm y una distancia entre ellos de 50 μm . El área total de la espiral es de aproximadamente 8 mm^2 ver Figura 2.

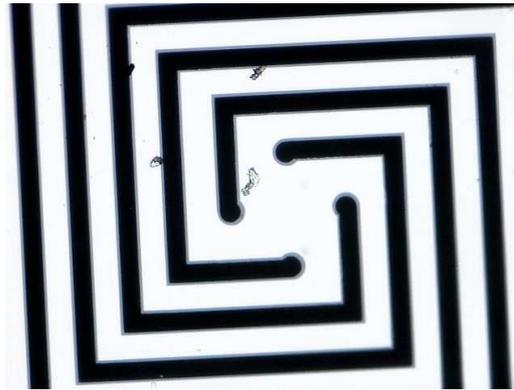


FIGURA 2. Arreglo de Electrodo

Fuente: León, Torrealba, Loureiro, Arroyo, Parrilla, Gharbi (2013)

Este dispositivo es fabricado usando las técnicas de microfabricación estándar en la Universidad Franche -Comté en Besançon, Francia en las instalaciones de la central de tecnología *MIMENTO* cuyas siglas en francés significan: *Microfabrication pour la Mécanique, les Nanotechnologies, la Thermique et l'Optique* donde se encuentra su laboratorio central o sala limpia.

Este microdispositivo tiene definidas sus regiones de máxima intensidad de campo eléctrico en los bordes de los electrodos y las regiones de menor intensidad entre los electrodos. En la Figura 3 se observa el comportamiento vectorial de la fuerza dielectroforética común (f_{cDEF}) y las regiones de mayor (color rojo) y menor (color azul) intensidad del campo. Estas gráficas simulan el comportamiento de la f_{cDEF} según lo describe la ecuación (3).

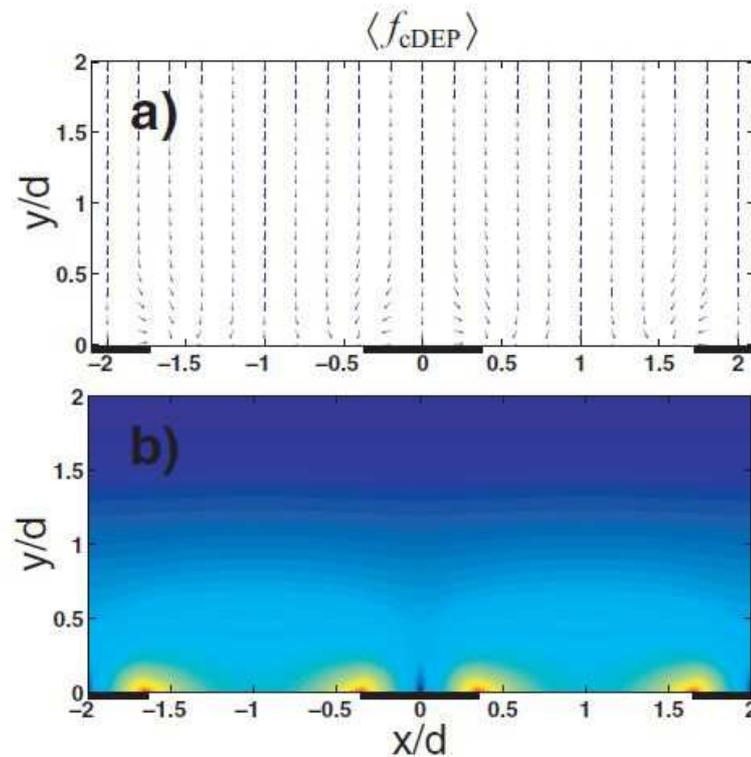


FIGURA 3. Fuerza Dielectroforética. a) Comportamiento Vectorial b) Contorno de la amplitud; el color rojo corresponde a las regiones con valor máximo y el azul al valor mínimo [11]

Fuente: León, Torrealba, Loureiro, Arroyo, Parrilla, Gharbi (2013)

3.2 Sistema Instrumental

En la Figura 4 se observa un esquema del sistema instrumental para la observación del fenómeno dielectroforético y la formación de cadenas de partículas. El microdispositivo se coloca en un Microscopio Invertido marca Nikon®, modelo TE2000-S, con cámara incorporada. La configuración de electrodos utilizada requiere ser energizada por una señal sinusoidal de $5 V_{pp}$ proveniente de un generador de frecuencias, *Function generator GDF-917 PROMAX*. El rango de frecuencias empleado está entre 1kHz y 1 MHz. El voltaje aplicado fue de 5Vpp. Es importante destacar que la señal que sale del generador de frecuencias va primero al desfaseador (ver sistema instrumental) el cual separa la señal en cuatro ondas senoidales con un desplazamiento de fase de $\frac{\pi}{2}$ cada. Éste, por sus parámetros de fabricación, provee una señal

de $5 V_{pp}$ fija que alimenta el sistema de electrodos para cualquier frecuencia. La señal de salida del desfasador y la que lo energiza son monitoreadas a través de un osciloscopio *TEKTRONIX* TDS 200. Todas las observaciones fueron registradas a través de imágenes que demuestran el comportamiento electrocinético de las células de levadura. En primer lugar se utiliza una muestra de cultivo con concentración C_A y se registran las imágenes para distintas frecuencias y luego se emplea una muestra del cultivo con concentración C_B .

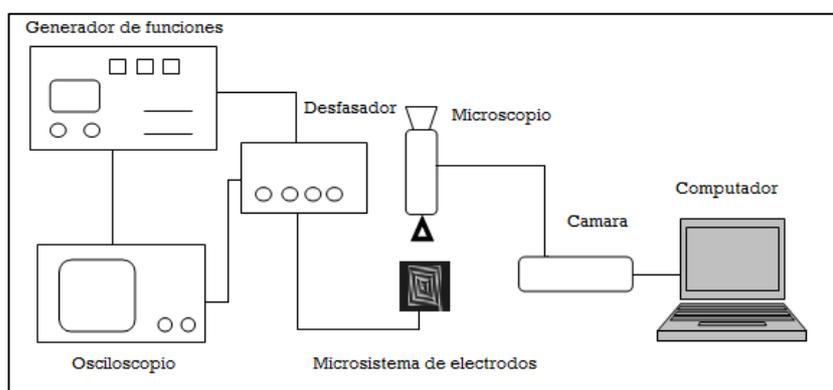


FIGURA 4. Sistema Instrumental

Fuente: León, Torrealba, Loureiro, Arroyo, Parrilla, Gharbi (2013)

3.3 Preparación de la suspensión de células de levadura.

Se utiliza un medio de cultivo de levadura formulado según el protocolo de Marx y otros [12]. El medio contiene sacarosa al 5%, peptona 0,5% y extracto de levadura 0,5%; el cultivo se prepara añadiendo 50 mgr de levadura comercial de panadería o liofilizada y se incuba a temperatura ambiente, se deja crecer por veinticuatro (24) horas. Seguidamente las células son recolectadas y lavadas cuatro veces con solución de Manitol a 280mM para finalmente resuspenderlas en este mismo medio. La conductividad de este medio es $\sigma = 14,5 \mu\text{S}/\text{cm}$, se midió con un conductímetro marca *Hanna Instruments 8033*. La concentración de células es estimada mediante conteo con Cámara de Neubauer y está entre $70-75 \times 10^6$ células/mL. Para las pruebas realizadas se emplearon dos concentraciones diluidas a partir de ésta. Una es $C_A = 7 - 10 \times 10^6$ células/mL obtenida de una dilución 1:10 de la concentración inicial y

una segunda dilución obtenida siguiendo la siguiente fórmula, $C_1 V_1 = C_2 V_2$ donde C_1 es la concentración inicial de la solución stock, V_1 el volumen de solución stock para llevar a cabo la dilución, C_2 es la concentración de la muestra diluida y V_2 es el volumen final, total de la muestra diluida. Esta segunda concentración es $C_2 = 2 - 4 \times 10^6$ células/mL.

Se utiliza una micropipeta graduada para suministrar 5 μ L de la muestra de cultivo de levadura preparada como se describe en la sección 3.3 colocándola sobre el microdispositivo. La suspensión se deja estabilizar por tres (3) minutos sobre los electrodos para luego encender el equipo.

4. Resultados

Al encender el generador, a una frecuencia de 100 KHz y con una muestra de células con una concentración $C_4 = 7 - 10 \times 10^6$, se observó que las células de levadura fueron atraídas hacia los bordes de los electrodos formando cadenas y clusters a lo largo de las líneas de fuerza dielectroforética cercanas a los electrodos tal y como se observan en la Figura 3. Estas cadenas llegan a alcanzar la longitud del espacio interelectrónico, 50 μ m (Figura 5). En las puntas de los electrodos se observa también cadenas de partículas de mayor longitud. Las cadenas se mueven hacia los electrodos en dirección de la fuerza y permanecen adheridas allí.

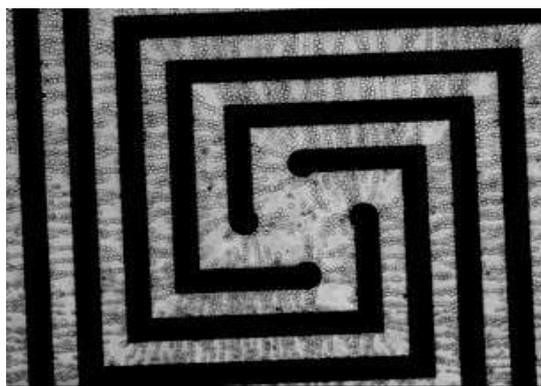


FIGURA 5. Suspensión de levadura con concentración de $7-10 \times 10^6$ cél/ml para un campo eléctrico a frecuencia 100 kHz

Fuente: León, Torrealba, Loureiro, Arroyo, Parrilla, Gharbi (2013)

Para la muestra $C_B = 2 - 4 \times 10^6$ células/mL y para la misma frecuencia se obtiene el resultado que se observa en la Figura 6. En la imagen se observa cómo las células se adhieren a los electrodos individualmente. Las interacciones entre células es menor que la que se observa en la Figura 5.

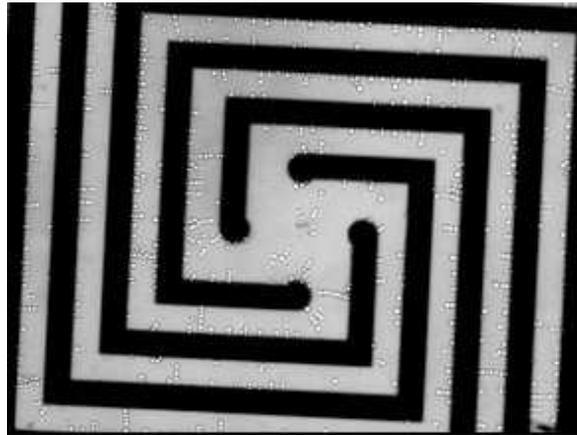


FIGURA 6. Suspensión de levadura con concentración de $2-4 \times 10^6$ cél/mL para un campo eléctrico aplicado a frecuencia 100 kHz

Fuente: León, Torrealba, Loureiro, Arroyo, Parrilla, Gharbi (2013)

Aumentando la frecuencia hasta llegar a 1MHz, se observa movimiento de las células de levadura atraídas nuevamente hacia los bordes de los electrodos sin formar cadenas como se puede observar en la Figura 7. Este fenómeno ocurre para la concentración $C_B = 2 - 4 \times 10^6$ células/mL. Se demuestra que la interacción entre partículas es despreciable para esta concentración.

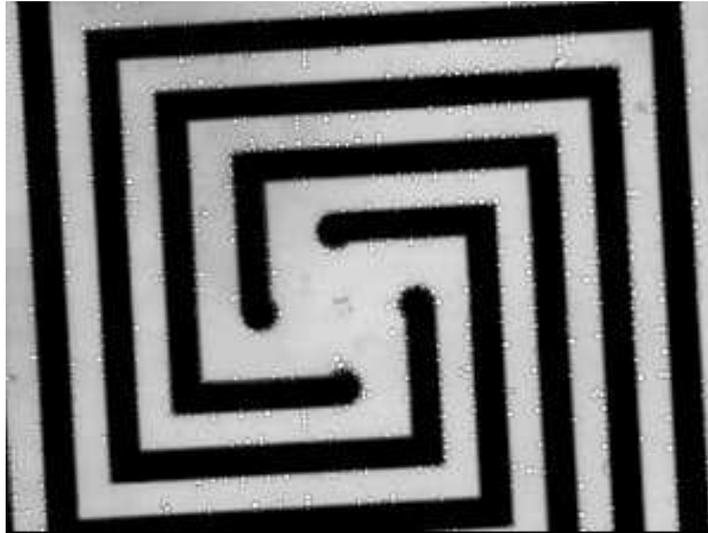


FIGURA 7. Suspensión de levadura con concentración de $2-4 \times 10^6$ cél/mL para un campo eléctrico aplicado a frecuencia 1 MHz

Fuente: León, Torrealba, Loureiro, Arroyo, Parrilla, Gharbi (2013)

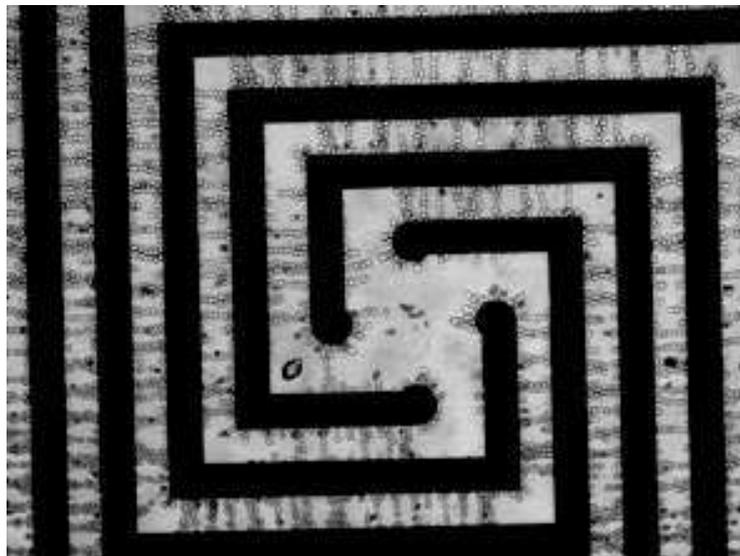


FIGURA 8. Suspensión de levadura con concentración de $2-4 \times 10^6$ cél/mL para un campo eléctrico aplicado a frecuencia 1 MHz

Fuente: León, Torrealba, Loureiro, Arroyo, Parrilla, Gharbi (2013)



FIGURA 9. Comparación de la concentración de levadura para un campo eléctrico aplicado a frecuencia a) 100kHz b) 1 MHz.

Fuente: León, Torrealba, Loureiro, Arroyo, Parrilla, Gharbi (2013)

De la Figura 8 se destaca lo que ocurre. En las zonas donde los electrodos son paralelos se observan cadenas y el número de éstas entre los espacios interelectródicos es menor o igual que las que se observan en la Figura 5 (Figura 9).

La concentración de levaduras en el caso de las figuras 5 y 8 es mayor que en las Figuras 6 y 7 y por ende la aproximación entre ellas mayor, esto es producto de la dielectroforesis mutual y por lo tanto se forman cadenas de células [13]. Por otro lado, en las puntas de los electrodos, en el centro de la espiral (figura 8), se observan cadenas de menor longitud, lo que muestra una diferencia con lo que ocurre en el mismo lugar para una frecuencia de 100 KHz (Figura 5). Pohl y otros[1] definieron el rendimiento dielectroforético basados en la longitud de las cadenas de células que se formaron en sus experimentos y Hughes [8] afirma que la medición de la longitud de la cadena se ha utilizado como un indicador del valor real del factor de Clausius-Mossotti; con base en estos análisis se puede afirmar para los experimentos aquí presentados que, a una frecuencia de 100kHz y una concentración alta de células el rendimiento dielectroforético, según Pohl o el valor $Re[K(\omega)]$ según Hughes, es mayor que para la frecuencia de 1MHz. La Tabla 1 resume los resultados obtenidos.

TABLA 1. Resumen de los resultados obtenidos

Concentración Celular (cél/mL)	Frecuencia (kHz)	Interacción entre células
$C_A = 7 - 10 \times 10^6$	100	Formación cadenas y clusters a lo largo de las líneas de fuerza dielectroforética adheridas a los electrodos
$C_B = 2 - 4 \times 10^6$	100	Las células se adhieren a los electrodos individualmente. Las interacciones entre células es menor
$C_A = 7 - 10 \times 10^6$	1000	Menor número de cadenas y clusters adheridas a los electrodos que en 100 kHz
$C_B = 2 - 4 \times 10^6$	1000	Se demuestra que la interacción entre partículas es despreciable para esta concentración.

Fuente: León, Torrealba, Loureiro, Arroyo, Parrilla, Gharbi (2013)

5. Discusión de resultados.

Este trabajo muestra una exploración de la interacción electrocinética de una suspensión de levadura cuando es expuesta a un campo eléctrico no uniforme generado por un microsistema de cuatro electrodos con geometría en espiral. Los resultados experimentales coinciden con las aproximaciones teóricas presentadas en las secciones anteriores como también con los resultados de otros investigadores [3-4,7,12,14,15-16].

Estos resultados demuestran que las células de levadura sumergidas en un medio con conductividad $\sigma = 14,5 \mu\text{S}/\text{cm}$ experimentan principalmente dielectroforesis positiva en un rango de frecuencias entre 100Khz y 1 Mhz. Este fenómeno se presentó acompañado con la interacción partícula-partícula para una frecuencia de 100 Khz y 1 MHz para una concentración

de $7-10 \times 10^6$ cel/ml observándose la formación de cadenas de células con una longitud aproximada de $50 \mu\text{m}$, espacio entre electrodos, que fueron adhiriéndose a las zonas con mayor intensidad de campo, esto es, los bordes de los electrodos.

Por otro lado, para la frecuencia de 100 kHz y 1MHz aplicada a la muestra con concentración $2-4 \times 10^6$, las células de levadura se movilizaron por la acción de la fuerza dielectroforética positiva adhiriéndose a los bordes de los electrodos de manera individual (Figura 7). Cuando la densidad celular en la suspensión es suficientemente alta, se forman cadenas de células y esto depende de la frecuencia aplicada [13]. El experimento muestra que cuando la frecuencia es de 100 kHz y 1 MHz y la densidad celular es $7-10 \times 10^6$ cel/ml se forman cadenas en las zonas donde los electrodos son paralelos. Marx y otros [16] afirman que si las células están cerca unas de otras, la inducción de una fuerza dielectroforética mutua entre las células puede conducir a células a que se muevan cerca una de la otra y formen cadenas. Según Gierhart y otros [14], la dielectroforesis mutua es un efecto de segundo orden y en general, es mucho más débil que la dielectroforesis común por lo que se infiere que en la zona donde los electrodos son paralelos la fuerza es más débil que en las puntas de los electrodos, centro de la espiral, en los que se observa aglomeración de células para la frecuencia de 1 MHz (Figura 8).

6. Conclusión

En los experimentos realizados se observa la interacción entre células cuando la concentración es de $7-10 \times 10^6$ cel/ml y de menor a ninguna interacción cuando es de $2-4 \times 10^6$ cél/ml. Para la frecuencia 100 kHz se evidencian la **pDEP** y la *dielectroforesis mutua* por la menor formación de cadenas que se presenta cuando se empleó la concentración de $2-4 \times 10^6$ cél/ml. Para la frecuencia 1 Mhz y concentración $7 - 10 \times 10^6$ cel/ml están presentes **pDEP** y *dielectroforesis mutua* y para la concentración $2-4 \times 10^6$ cél/ml y frecuencia 1 Mhz sólo **pDEP**. Estos resultados confirman lo que Suheiro y otros [15] y Marx y otros [16] describen en su investigación cuando afirman que la interacción entre dos o más partículas biológicas cuando son sometidas a la acción de campos eléctricos no uniformes depende de la concentración celular empleada, mientras más alta es la concentración más rápido se forman las cadenas de células.

3. REFERENCIAS

- [1] Pohl, H. y Crane, J. Dielectrophoresis of cells. *Biophysical Journal*. Vol, 11. (1971). Pp. 711-727.
- [2] Huang, Y., Wang, X-B., Tame, JA y Pethig, R. Electrokinetics behaviour of colloidal particles in travelling electric fields: studies using yeast cells. *J. Phys D: Appl Phys*. Vol 26. (1993). Pp. 1528-1535.
- [3] Kadaksham, J., Singh, P. y Aubry, N. Dielectrophoresis induced clustering regimes of viable yeast cells. *Electrophoresis*. 26. (2005). Pp. 3738 - 3744.
- [4] Fernández, F., Duarte, J. y Samitier J. Non-uniform electric field-induced yeast cell electrokinetic behavior. *Revista ingeniería e investigación* Vol. 28 núm. 3, Diciembre, (2008) Pp.116-121.
- [5] Salomón, S. Manipulation de microparticules exploitant la force de diélectrophorèse: applications dédiées au tri d'espèces biologiques et à l'assemblage de nano objets. Tesis Doctoral. Toulouse, Francia. Université de Toulouse III Paul Sabatier. Noviembre, (2011). 119 p.
- [6] Sancho, M., Martínez, G., Muñoz, S., Sebastián, J y Pethig R. Interaction between cells in dielectrophoresis and electrorotation experiments. *Biomicrofluidics*. Vol 4, 022802. Junio, (2010). Pp. 1-11.
- [7] Giner Herrera, V. Mecanismos de agregación y orientación de células basados en dielectroforesis. Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Ciencias Físicas. Febrero, (1999). 141 p.
- [8] Hughes, Michael. *Nanoelectromechanics in Engineering and Biology*. CRC Press LLC. Estados Unidos de Norteamérica. (2003). Pp. 188-218.
- [9] Jones, T. *Electromechanics of Particles*. Cambridge University Press. New York. Estados Unidos(1995).
- [10] Voldman, J. Electrical Forces for microscale cell manipulation. *Annu. Rev. Biomed. Eng.* 8. (2006). Pp. 425-454.
- [11] Gharbi, T y colaboradores. Proyecto *Bionez*. Comunicación interna. Universidad Franche-Comté. Besançon, Francia(2004).
- [12] Markx, G., Huang Y., Zhou, X. y Pethig, R. Dielectrophoretic characterization and separation of micro-organisms. *Microbiology* , Núm 140. (1994). Pp. 585-591.

- [13] Hatakeyama, T., Tanti, A. y Yagi, H. Orientation and Pearl-Chain Formation of Paramecia Induced by AC Electric Field. *Jpn. J. Appl. Phys.* 26. Agosto, (1987). Pp. 1916-1920. Disponible en: <http://jjap.jsap.jp/link?JJAP/26/1916/>
- [14] Gierhart, B., Howitt, D., Chen, S., Smith, R. y Collins, S. Frequency Dependence of Gold Nanoparticle Superassembly by Dielectrophoresis. *Langmuir.* 23. Agosto, (2007). Pp.12450-12456. Disponible en: <http://www.umaine.edu/misl/papers/Gierhart2007.pdf>
- [15] Suehiro, J; Yatsunami, R; Hamada, R. y Hara, M. Quantitative estimation of biological cell concentration suspended in aqueous medium by using dielectrophoretic impedance measurement method. (1999) *J. Phys.D: Appl. Phys.* 32 2814 doi:10.1088/0022-3727/32/21/316
- [16] Markx, G.; Burcuk Alp y McGilchrist, A. Electro-orientation of *Schizosaccharomyces pombe* in high conductivity media. (2002). *Journal of Microbiological Methods* Pp. 55– 62

Agradecimientos

Agradecemos la colaboración prestada por los técnicos Elis Mosquera y William López del Laboratorio de Fisiología Celular del Decanato de Ciencias de la Salud por el soporte técnico en la preparación de los cultivos. Igualmente a los Ingenieros Ángel Garaboto y Aniello Rizzo y a Carlos Mascia auxiliar docente del Laboratorio de Química Analítica del Departamento de Ingeniería Química de la Universidad Politécnica Antonio José de Sucre por concedernos en calidad de préstamo el conductímetro para las mediciones pertinentes.