



*ugr* | **Universidad  
de Granada**

**Facultad de Ciencias**

**TRABAJO FIN DE GRADO EN BIOLOGÍA**

**Trabajo experimental**

**Procesos de difusión en suspensiones bacterianas**

Código: FA-01

Autor:

Nicolás Tognetti Palermo

Tutor:

Sándalo Roldán Vargas

Marie Skłodowska-Curie Fellow, Individual Fellowship No. 840195-ARIADNE

# Índice

Resumen	2
Introducción	3
Fundamentos	11
I. Fundamentos matemáticos	11
II. Ejemplo biológico	15
Objetivos	17
Materiales y Métodos	18
I. Simulaciones de partículas elongadas	18
II. Simulaciones de partículas esféricas	19
III. Análisis de datos, representación gráfica y visualización.	19
III.A Análisis de datos.	19
III.B Representación gráfica.	20
III.C Visualización.	20
Resultados	21
I. Simulaciones con <i>E.coli</i>	21
II. Cálculo del radio efectivo de <i>E.coli</i>	24
III. Comparación entre <i>E.coli</i> y <i>S.aureus</i>	25
IV. Cálculo cuantitativo	28
V. Comprobación con valores experimentales	29
Conclusiones	30
Bibliografía	31
I. Bibliografía adicional de consulta general	32

# Resumen

Hoy en día la explicación del movimiento browniano se encuentra perfectamente asentada, entendiéndolo como el movimiento aleatorio de partículas mesoscópicas que se encuentran suspendidas en un fluido (gas o líquido) como consecuencia del choque de dichas partículas contra las que conforman los fluidos. El estudio de este fenómeno ejerció una importante influencia en el mundo de la física, sobre todo gracias a Albert Einstein, que lo empleó como método concluyente para la confirmación de la teoría atómica, usándolo a su vez para explicar ciertas propiedades del transporte de partículas en medios fluidos, entre ellas su difusión. De esta manera, Einstein racionalizó la idea microscópica de coeficiente de difusión mediante la conocida ley de Stokes-Einstein para partículas esféricas, proporcionando además una vía para la verificación experimental, que fue llevada a cabo por Perrin. Más allá de la forma esférica, en este trabajo abordamos mediante simulaciones de dinámica molecular el proceso de difusión para un modelo de bacterias no esféricas, como *E.coli*, que poseen una forma bacilar, comparando nuestros resultados con los obtenidos para bacterias esféricas como *S.aureus*, con el objetivo de estudiar la influencia de la forma en la difusión de las bacterias.

**Palabras clave:** Difusión, Movimiento browniano, Stokes-Einstein, Simulaciones computacionales, *E.coli*, *S.aureus*.

# Introducción

Existen varias situaciones cotidianas en nuestro día a día en las que observamos un fenómeno común a nuestro parecer pero del que habitualmente no conocemos su base científica. Por ejemplo, cuando vamos al cine, si observamos el haz de luz emitido por el proyector cuando se apagan las luces de la sala, somos capaces de apreciar un gran número de diminutas partículas atravesando el haz siguiendo movimientos en todas direcciones de forma completamente aleatoria. Este fenómeno también lo vemos en el humo que sale del cigarrillo de un fumador, el cual observamos que asciende siguiendo direcciones aleatorias, pareciendo incluso que siguen un movimiento de zigzag.

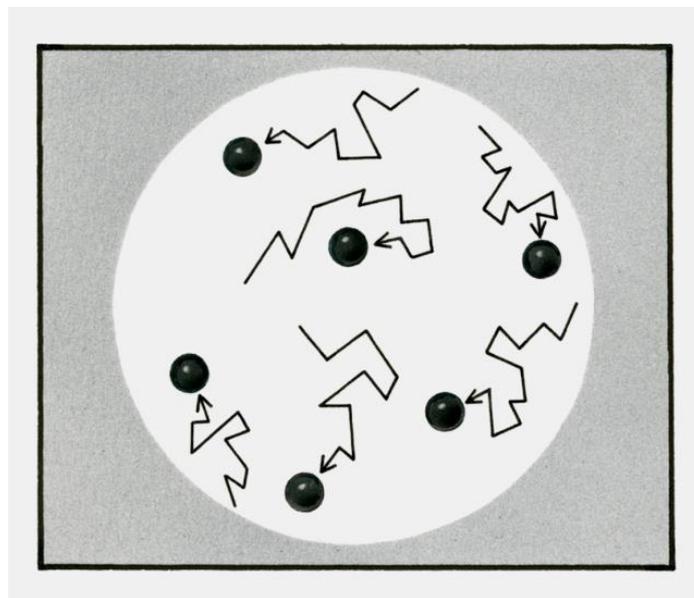


Fig.1 Movimiento de varias partículas en direcciones aleatorias mientras se encuentran en un medio fluido debido al choque de estas con las moléculas de dicho fluido. [1]

Hoy en día sabemos que estos fenómenos (Fig.1) corresponden al movimiento browniano, el cual entendemos como el movimiento aleatorio de las partículas mesoscópicas que se encuentran suspendidas en un fluido (gas o líquido) como consecuencia del choque de dichas partículas contra las que conforman los fluidos.[2]

Este fenómeno ha atraído nuestra atención desde tiempos muy lejanos al actual, pues ya en el año 60 a.C encontramos una descripción de éste en el poema científico *Sobre la naturaleza de las cosas*, escrito por el romano Lucrecio:

“Observa lo que acontece cuando rayos de sol son admitidos dentro de un edificio y cómo arroja la luz sobre los lugares oscuros. Puedes ver la multitud de pequeñas partículas moviéndose en un sinnúmero de caminos... su baile es un indicio de movimientos subyacentes de materia escondidos de nuestra vista... eso origina el movimiento de los átomos en sí mismos. Entonces los pequeños organismos que son eliminados del impulso de los átomos son puestos en marcha por golpes invisibles y a su vez en contra de unos diminutos cañones. Así, el movimiento de los átomos emerge gradualmente de un nivel del sentido, que estos cuerpos están en movimiento como vemos en el rayo de sol, movidos por soplos que parecen invisibles.”[3]

Ya en el siglo XVII, un comerciante de telas holandés llamado Antonie van Leeuwenhoek, realizó unas increíbles observaciones del mundo microbiano a través de una lentes que él mismo había construido, hecho por el cual pasaría a ser considerado como el padre de la microbiología, ya que sentó las bases del estudio del mundo microscópico[4].

No fue hasta 1827 que este fenómeno volvió a captar la atención de un científico que decidió estudiar las bases de este fenómeno. Este científico fue Robert Brown, un botánico escocés que estaba estudiando microscópicamente partículas de polen de *Clarkia pulchella* [5]. A medida que estudiaba estas partículas en suspensión se percató de que estas seguían un movimiento errático a través del fluido:

“Mientras examinaba la forma de estas partículas inmersas en agua, observé varias de ellas en un movimiento más que evidente [...] Estos movimientos eran tales que después de repetir frecuentemente la observaciones, estos no provienen de corrientes en el fluido, o de la evaporación gradual de este, sino que pertenecen a la partícula como tal” [5]

Posteriormente a estas observaciones Brown se dispuso a investigar dicho movimiento en otros materiales, tales como lava, obsidiana y otros materiales inorgánicos, llegando a la conclusión de que no solo ocurría en materiales “vivos” o procedentes de materia orgánica sino que también ocurría en materiales “muertos” o inorgánicos[6]. Después de todo esto Brown concluyó que la causa de este movimiento debía provenir de algún tipo de interacción de las partículas junto con las perturbaciones externas del medio sin llegar a especificar cuál podría ser, revocando así su teoría inicial de que el movimiento provenía de la vida del objeto [6].

Ya en 1887 L.Gouy comprobó experimentalmente que la velocidad de la partícula en la cual estaba observando el movimiento era inversamente proporcional a la viscosidad del medio, por lo tanto el principio de equipartición, que se suponía que era el aval fundamental de la explicación del movimiento discreto de partículas, no se cumplía. [7]

Juntando las conclusiones de Gouy junto con las de otros científicos que también se interesaron en este fenómeno se extrajeron los siguientes puntos principales [7]:

1. Se trata de un movimiento muy irregular, compuesto por traslaciones y rotaciones cuyas trayectorias no parecen poseer tangente.
2. Dos partículas parecen seguir movimientos independientes aún cuando se aproximan a una distancia cercana, sin llegar al contacto.
3. Cuanto menor sea el tamaño de las partículas mayor será el desplazamiento de estas en un tiempo dado.
4. La densidad y composición de las partículas no tienen efecto siempre y cuando no alcancen valores muy elevados.
5. El movimiento es más activo a medida que aumenta la temperatura.
6. El movimiento es más activo cuando el fluido es menos viscoso.
7. El movimiento nunca se detiene mientras el sistema se mantenga en equilibrio.

No fue hasta 1905, que Albert Einstein consiguió resolver el conflicto que existía hasta la fecha entre las altas velocidades de las partículas, calculadas según el principio de equipartición, y sus modestos desplazamientos medios observados. Sin apelar al concepto de velocidad, utilizó para describir este proceso mesoscópico, un modelo con difusión y fricción de Stokes, sentando así las bases tanto de la física atómico-molecular del siglo XX como de la Matemática pura de los procesos estocásticos (procesos al azar) [7].

Así pues los dos puntos principales en la solución de Einstein fueron: 1) El movimiento de los granos de polen está provocado por el gran número de impactos con las moléculas del líquido en el que están inmersos; 2) El movimiento de cada partícula es tan complicado que solo se puede describir probabilísticamente en términos de un gran número de impactos independientes.[7] Bajo estas hipótesis, cada partícula realiza un movimiento independientemente del movimiento de las demás partículas, siendo además independientes dos movimientos de la misma partícula en intervalos de tiempo diferentes.

Gracias a esto, Einstein pudo derivar la relación fundamental entre una cantidad macroscópica, es decir, el coeficiente de difusión (D), y una microscópica, el desplazamiento cuadrático medio. Analizando el movimiento cuadrático medio de las partículas Brownianas, esféricas en este caso, a lo largo de un periodo de tiempo consiguió obtener una estimación del coeficiente de difusión, el cual expresó en función del número de Avogadro ( $N_A$ ) empleando para ello la constante de los gases ideales (R), dando así:

$$D = \frac{RT}{6\pi N_A \eta R_{ef}} \quad \text{(Ecuación 1)}$$

---

Siendo: T = temperatura,  $\eta$  = viscosidad del fluido y  $R_{ef}$  = radio efectivo de la partícula

---

Debido a esto, se propuso el experimento del movimiento browniano como una manera de medir el número de Avogadro. Este hecho fue comprobado en el año 1906 por el físico químico Jean Perrin, ganador de un premio nobel de física en el año 1926 [8], a través de su trabajo sobre el equilibrio de sedimentación y la discontinuidad de materia. En su trabajo, basándose en los cálculos de Einstein, consiguió medir de forma exacta el número de Avogadro, es decir, el número de moléculas contenidas en un mol de gas en condiciones estándar. [8]

Para llevar a cabo su experimento, Perrin buscó un sistema físico donde las partículas tuvieran un tamaño lo suficientemente pequeño como para comportarse como un gas (debido a su movimiento aleatorio) pero que a su vez fuese lo suficientemente grande como para ser capaz de contarlas u observarlas. [7]

Las bases del movimiento Browniano han permitido el desarrollo de un importante campo dentro de la Física Biológica centrada en el estudio tanto teórico como experimental de la Termodinámica de no equilibrio para pequeños sistemas biológicos, centrando sus esfuerzos en estudiar las posibilidades de la vida y su plasmación parcial en el funcionamiento de los motores moleculares. [6]

Los motores moleculares en células vivas son un caso particular de motores brownianos modificados, los cuales tienen la capacidad de transformar la energía química en trabajo mecánico. [5] La teoría de motores moleculares busca la forma de explicar cómo es posible transformar la energía liberada en diferentes reacciones químicas independientes en energía mecánica. A modo de ejemplo simple, se propone que los movimientos de fluctuación de una enzima motor se podrían describir por medio de un proceso de difusión en una superficie de energía potencial de dos dimensiones, donde una dimensión corresponde a la coordenada de la reacción química y, la otra, a la dimensión espacial del motor. De modo que se produciría un acoplamiento entre la química y el movimiento sobre la superficie, donde las velocidades del motor y las fuerzas resultan de las corrientes de difusión sobre esa superficie.

Como ejemplos de motores moleculares encontramos los siguientes:

- A. Motores lineales o lanzaderas: miosina, kinesina y dineina, las cuales participan en el transporte de vacuolas y otros materiales.
- B. Muelles y trinquetes: ADN polimerasa, ADN translocasas y ribosomas.
- C. Rotatorios: ATP sintasa.

Los primeros incluyen pequeñas proteínas que emplean sofisticados mecanismos intramoleculares de amplificación para realizar desplazamientos nanométricos a lo largo de soportes de naturaleza proteica. Sin embargo, aunque estas poseen estructuras similares, sobretodo en la región que sirve de enlace al ATP, siguen comportamientos diferentes. Por ejemplo la miosina se une a la actina formando un complejo, el cual se disocia a causa del ATP, provocando así un golpe de fuerza (impulso) que implica un giro de 70 grados enlazado con

un desplazamiento de hasta 36 nm. Mientras que se conoce que las kinesinas caminan mediante saltos de 9 nm sobre la superficie de un microtúbulo, empleando para ello un cambio configuracional en el puente de las mismas, llegando a dar 1000 pasos por segundo antes de que el ATP se desate, lo cual requiere de una fuerza enorme.

De entre todos ellos destacan los motores rotatorios y por ello son tan conocidos hoy en día, donde el motor F<sub>0</sub>F<sub>1</sub> ATP sintasa se encarga de producir el movimiento de los flagelos en las bacterias. Donde el complejo F<sub>0</sub> corresponde al motor impulsado por protones, mientras que el complejo F<sub>1</sub> está conformado por tres dímeros, los cuales realizan tres giros de 120 grados para completar una rotación, la cual hidroliza una molécula de ATP por cada giro completado. En el primer giro se atrapa una molécula de ADP, en el segundo se sintetiza el ATP y en el tercero se desprende.

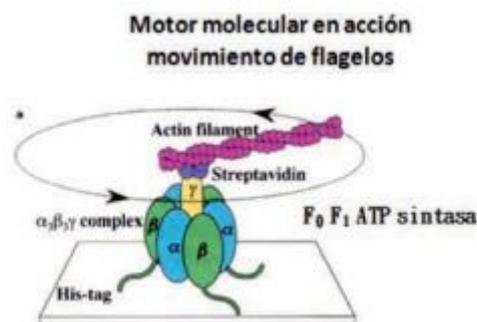


Fig.2 Imagen de una ATP sintasa rotando para sintetizar ATP. [9]

Por otro lado, también podemos observar la influencia de estos procesos de difusión en los sistemas activos, cuyo rasgo distintivo, e incluso definitorio, en comparación con los sistemas más conocidos que no están en equilibrio, es el hecho de que el aporte de energía que saca al sistema del equilibrio es local (a nivel de cada partícula), en lugar de darse al nivel del sistema global.[6] Cada partícula activa consume y disipa energía a través de un ciclo que estimula los cambios internos, que generalmente conducen al movimiento. Los sistemas activos presentan una gran cantidad de propiedades interesantes asociadas al "no equilibrio" tales como: estructuras emergentes con un comportamiento colectivo cualitativamente diferente al de los componentes individuales, transiciones de orden y desorden que no están en equilibrio, grandes fluctuaciones estadísticas en el movimiento, propiedades mecánicas y reológicas inusuales, formación de patrones a escala mesoscópica, y propagación de ondas y oscilaciones capaces de sostenerse incluso en ausencia de inercia en sentido estricto [10].

Mientras tanto muchas de las propiedades macroscópicas de los sistemas activos son universales, en el sentido de que distintos sistemas que operan a escalas de longitud muy diferentes (con importantes diferencias en su dinámica detallada a nivel microscópico), muestran propiedades muy similares [10].

Los sistemas vivos, por supuesto, proporcionan el ejemplo preeminente de la materia activa, con propiedades extraordinarias como la reproducción, la adaptación, el movimiento espontáneo y la organización dinámica, incluida la capacidad de generar y responder de forma calibrada a las fuerzas. Una descripción teórica de las propiedades generales de la materia viva aún no es posible en la actualidad debido a su complejidad, ya que el estado detallado de una célula viene determinado por un número irremediablemente grande de variables. En un organismo vivo dado hay como máximo 300 tipos de células diferentes, lo que puede parecer un número relativamente pequeño, pero el comportamiento de cada célula, sin embargo, se ve afectado por un sinfín de señales y estímulos tanto internos como externos, lo que hace que el espacio de parámetros accesible sea inmenso. Tal vez, por tanto, principios globales como las leyes de conservación y las simetrías limitan los posibles comportamientos dinámicos de las células o, de hecho, de los organismos y poblaciones, como las colecciones de bacterias (Fig. 3), los bancos de peces (Fig. 4) y las bandadas de pájaros. La cuantificación de la organización y de los movimientos dinámicos espontáneos de los sistemas vivos sería el primer paso para comprender de forma genérica algunos de estos principios, centrándose en cuestiones específicas que son accesibles a la teoría [10]. En este sentido, en este trabajo adoptaremos un punto de partida algo menos ambicioso pero esencial, centrándonos en la simulación de la difusión de partículas que pretenden mimetizar la forma no esférica de ciertas partículas animadas.

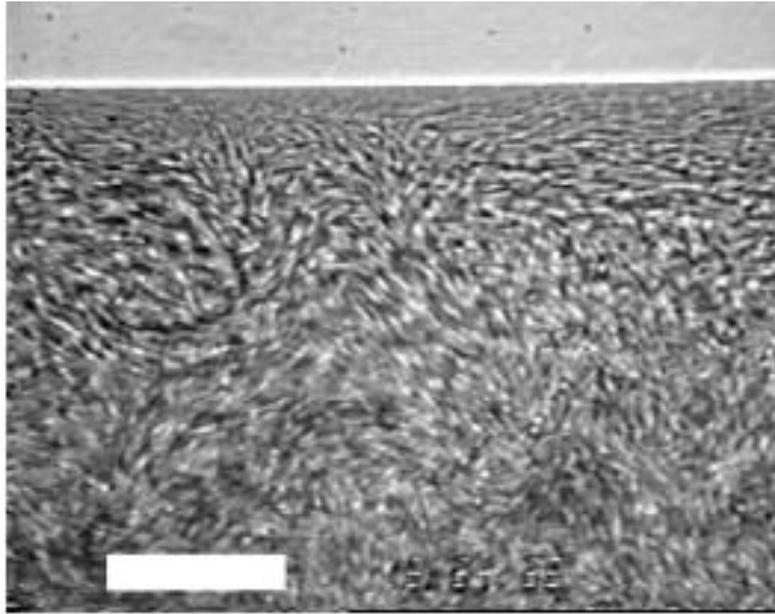


Fig.3 Turbulencia bacteriana en una gota sésil, vista desde abajo a través del fondo de una placa de Petri. La gravedad es perpendicular al plano de la imagen, y la línea blanca horizontal cerca de la parte superior es la línea de contacto aire-agua-plástico. La borrosidad central se debe al movimiento colectivo, que no se capta completamente. La barra de escala representa 35  $\mu\text{m}$ . [11]



FIG. 4 Notable demostración del orden polar en un banco de sardinas. Figura de Jon Bertsch, a partir de imágenes submarinas del Mar de Cortés [12]

# Fundamentos

## I. Fundamentos matemáticos

Como se ha visto reflejado en la introducción, primero abordaremos este tipo de movimiento mediante el concepto de coeficiente de difusión. Tomaremos como base las principales propiedades del movimiento browniano derivadas del trabajo de Einstein [7].

Vamos a suponer que todo ocurre en un espacio con tres dimensiones, y este espacio está lleno de partículas de un mismo elemento (véase figura 5), de igual tamaño y características, conociendo además con exactitud la posición inicial ( $X_0, Y_0$  y  $Z_0$  cuando  $t = 0$ ) de cada una. Si observamos el sistema pasado un tiempo ( $t > 0$ ), observamos cómo cada una de estas se encontrara en otro punto del espacio ( $X_t, Y_t$  y  $Z_t$  cuando  $t > 0$ ) cuya dirección habrá sido tomada de una forma completamente aleatoria.

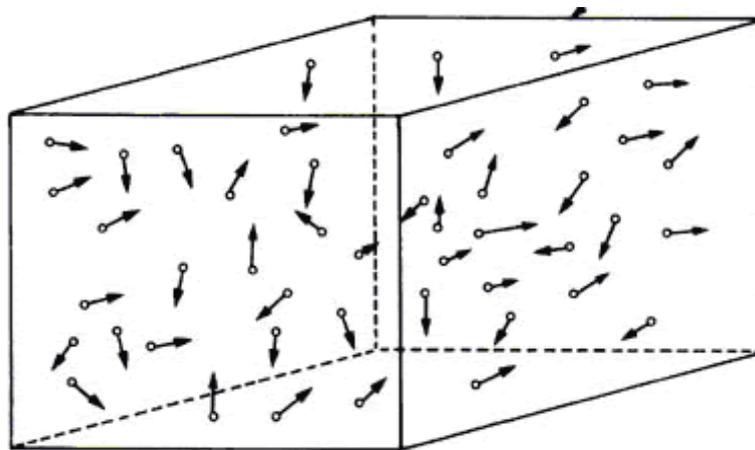


Fig.5 Ejemplo del movimiento de las partículas de un fluido en direcciones aleatorias dentro de un espacio de tres dimensiones [13]

Por lo tanto el desplazamiento de cada una de estas partículas corresponderá a:

$$\begin{aligned} \Delta x &= (X_t - X_0) \\ \Delta y &= (Y_t - Y_0) \Rightarrow \text{Desplazamiento} = \sqrt{\Delta x^2 + \Delta y^2 + \Delta z^2} \\ \Delta z &= (Z_t - Z_0) \qquad \qquad \qquad = \sqrt{(X_t - X_0)^2 + (Y_t - Y_0)^2 + (Z_t - Z_0)^2} \end{aligned}$$

(Ecuación 2)

Si tomamos una dimensión del espacio arbitraria, como por ejemplo X, y realizamos una gráfica representando en el eje x los valores del desplazamiento de cada partícula, y en el eje y, el número de partículas que se han desplazado, obtendremos una gráfica con forma gaussiana (siempre y cuando usemos intervalos los suficientemente grandes). Esta forma gaussiana es el primer gran resultado de Einstein. [14, 15, 16]

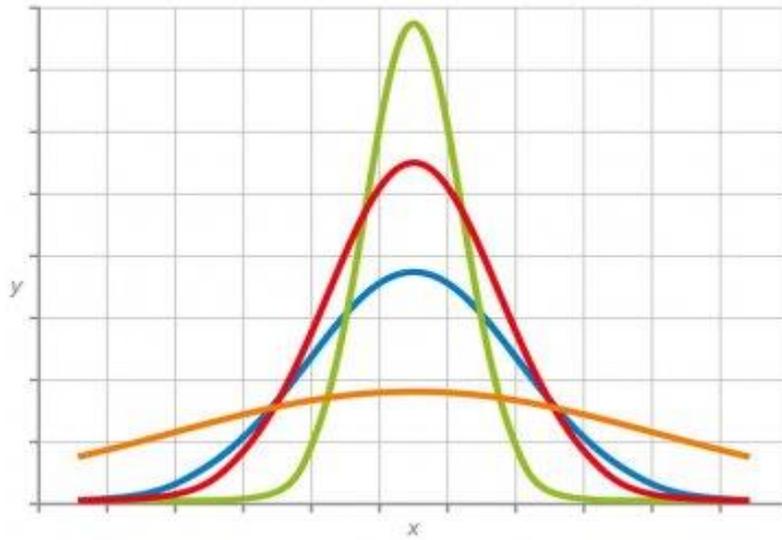


Fig.6 Gráfica con forma gaussiana donde el eje X representa el desplazamiento total de cada partícula desde su origen y el eje Y la frecuencia de partículas con ese desplazamiento. Cada gaussiana representa un tiempo.

Si analizamos la gráfica (véase figura 6) podemos apreciar que a medida que tomamos medidas a mayor tiempo, más partículas se acercan a los extremos y el número de éstas en las regiones centrales va disminuyendo. Es decir, que a medida que vaya pasando el tiempo la altura de la gráfica será menor y su anchura (desviación típica,  $\sigma$ ), por contra, irá en aumento. Pero, ¿Cómo crece esa anchura en el tiempo? De esta pregunta surge el segundo gran resultado del trabajo de Einstein, según la cual:

$$\sigma(t) \propto \sqrt{t} \quad \Rightarrow \quad \sigma^2(t) \propto t \quad \text{(Ecuación 3)}$$

Siendo  $\sigma^2(t)$  la varianza de las partículas. Por lo tanto, la varianza ( $\sigma^2$ ) será proporcional al tiempo. De esta manera, si tuviésemos:

$$t \Rightarrow \sigma(t)$$

$$4t \Rightarrow 2\sigma(t)$$

$$9t \Rightarrow 3\sigma(t)$$

Lo que significa que el desplazamiento medio de las partículas es proporcional a la raíz cuadrada del tiempo transcurrido. Para el caso de la varianza en varias dimensiones obtendremos:

$$\sigma^2(t) = 2 dDt \quad \text{(Ecuación 4)}$$

Siendo “ $d$ ” el valor de la dimensión del espacio. Por lo tanto, según la dimensión en la que estemos trabajando obtendremos una fórmula para medir la varianza, siendo:

$$\sigma^2(t) = 2 Dt \quad \text{(en 1 dimensión)}$$

$$\sigma^2(t) = 4 Dt \quad \text{(en 2 dimensiones)}$$

$$\sigma^2(t) = 6 Dt \quad \text{(en 3 dimensiones)}$$

Podemos sustituir la varianza ( $\sigma^2$ ) por la media del desplazamiento ( $\Delta x$ ) obteniendo de esta forma la siguiente ecuación:

$$\sigma^2_{(t)} \equiv \langle \Delta x^2 \rangle = 2 Dt$$

$$\langle \Delta x^2 + \Delta y^2 \rangle = 4 Dt$$

$$\langle \Delta x^2 + \Delta y^2 + \Delta z^2 \rangle = 6 Dt \quad \text{(Ecuación 5)}$$

Esta segunda igualdad fue la que empleó Perrin para calcular el coeficiente de difusión de forma experimental [8]. Para ello midió el desplazamiento de un gran número de partículas respecto a su punto de origen tras un cierto tiempo, todo ello en un espacio de dos dimensiones (véase figura 6).

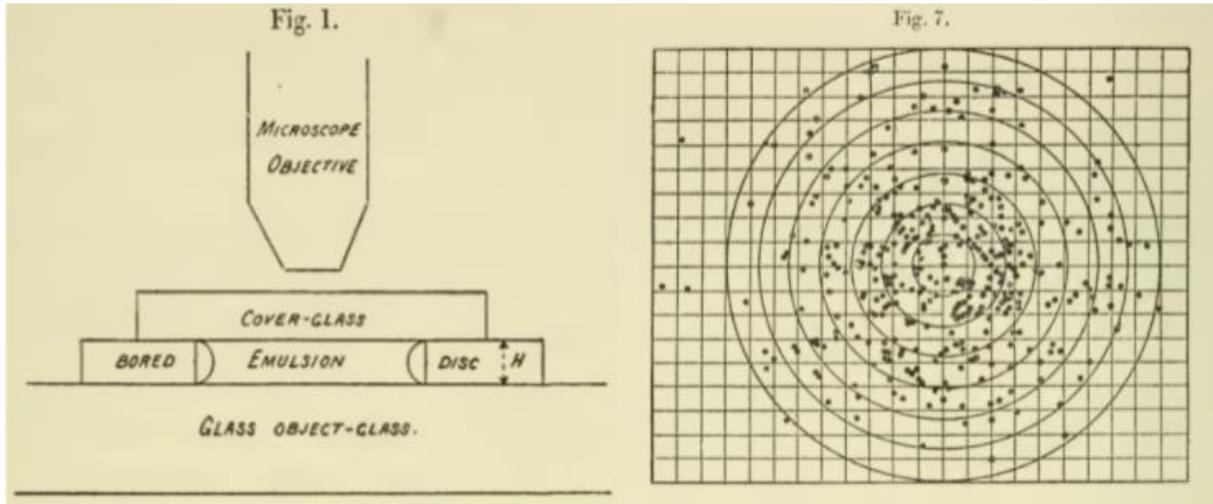


Fig.6 Imágenes de la metodología seguida por Perrin para el cálculo del coeficiente de difusión, a la izquierda observamos los materiales que empleó para la observación del desplazamiento de las partículas en dos dimensiones. A la derecha se observa una plantilla con la posición final de cada una de las partículas respecto a un punto de origen común. [8]

De esta forma, Perrin obtuvo el coeficiente de difusión ( $D$ ) de las partículas midiendo realmente los desplazamientos en dos dimensiones de todas ellas tras un cierto tiempo, y posteriormente empleando estos datos para despejar la ecuación 1 (para dos dimensiones) de la siguiente forma:

$$D = \frac{\langle \Delta x^2 + \Delta y^2 \rangle}{4t}$$

Al margen de obtener el coeficiente de difusión ( $D$ ) haciendo este experimento donde se miden todos los desplazamientos, Einstein en su trabajo [15,16] predijo la siguiente ecuación para partículas esféricas, donde empleó la constante de Boltzmann ( $K_B$ ) la cual es equivalente a la constante de los gases ideales entre el numero de Avogadro ( $R/N_A$ ), obteniendo así la conocida relación de Stokes-Einstein:

$$D = \frac{\kappa_B T}{6 \pi \eta R_{ef}} \quad \text{(Ecuación 6)}$$

## II. Ejemplo biológico

Para mostrar un ejemplo de este fundamento teórico en sistemas biológicos, llevamos a cabo un estudio simple cuantitativo del comportamiento esperado para la difusión de eritrocitos en sangre. Puesto que los eritrocitos no son esferas, y por lo tanto no están definidos por un solo radio, para realizar los cálculos hemos estimado un radio efectivo. Para calcular este radio efectivo se realizó una búsqueda bibliográfica sobre las dimensiones de un eritrocito (asumiendo una forma de disco o cilindro de poca altura) que son de 3  $\mu\text{m}$  de radio con una altura de 1  $\mu\text{m}$  [17]. El radio efectivo de este se calculará imponiendo que el volumen del cilindro (disco) sea igual al de una esfera de radio efectivo  $R_{ef}$ :

$$V_{cilindro} = \pi R^2 h = \frac{4}{3} \pi R_{ef}^3$$
$$\Rightarrow R_{ef} = \sqrt[3]{\frac{3}{4} R^2 h} \approx 1.9 \mu\text{m} \quad \text{(Ecuación 7)}$$

---

Siendo:

h: la altura del eritrocito

R: el radio del eritrocito

---

Por lo tanto empleando este radio efectivo para calcular el coeficiente de difusión según la ley de Stokes-Einstein (ecuación 6) obtendremos que:

$$D = \frac{\kappa_B T}{6 \pi \eta R_{ef}} \quad \left\{ \begin{array}{l} \kappa_B = 1.38 * 10^{-23} \text{ J/}^\circ\text{K} \\ T = 311 \text{ }^\circ\text{K} (38 \text{ }^\circ\text{C}) \\ \eta (\text{sangre a } 38^\circ\text{C}) = 2.7 \text{ mPa}\cdot\text{s [18]} \\ R_{ef} = 1.9 * 10^{-6} \text{ m} = 1.9 \mu\text{m} \end{array} \right.$$

$$\Rightarrow D = 0.044 \mu\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$$

Una vez obtenido el coeficiente de difusión podemos aplicar la fórmula de la distribución gaussiana predicha por Einstein en una dimensión [15,16]:

$$p(\Delta x, t) = \frac{1}{2\sqrt{\pi Dt}} \cdot \exp\left[-\frac{\Delta x^2}{4Dt}\right], \quad \begin{array}{l} \text{Varianza : } \sigma^2 = 2Dt \\ \text{Desviación típica : } \sigma = \sqrt{2Dt} \end{array}$$

(Ecuación 8)

Al aplicar tres tiempos diferentes para ver la evolución de la gráfica obtenemos que:

$$t = 10 \text{ s} \rightarrow \sigma^2 = 0.88 \mu\text{m}^2 \rightarrow \sigma = 0.94 \mu\text{m}$$

$$t = 40 \text{ s} \rightarrow \sigma^2 = 4 \cdot 0.88 \mu\text{m}^2 \rightarrow \sigma = 2 \cdot 0.94 = 1.88 \mu\text{m}$$

$$t = 90 \text{ s} \rightarrow \sigma^2 = 9 \cdot 0.88 \mu\text{m}^2 \rightarrow \sigma = 3 \cdot 0.94 = 2.82 \mu\text{m}$$

Si observamos estos datos en forma de gráfica (véase figura 7) podremos ver la manifestación de las predicciones de Einstein, ya que a medida que aumenta tiempo el número de partículas que difundirán una mayor distancia será proporcional a la raíz cuadrada de este y por lo tanto observaremos como se ensancha de la campana, por ejemplo, la campana verde ( $t = 40 \text{ s}$ ) posee una altura menor que la campana azul ( $t = 10 \text{ s}$ ), mientras que a un tiempo menor los eritrocitos difundirán una distancia menor desde su punto de origen y por lo tanto la altura de la gráfica será mayor contando a su vez con un número pequeño de eritrocitos en posiciones más alejadas.

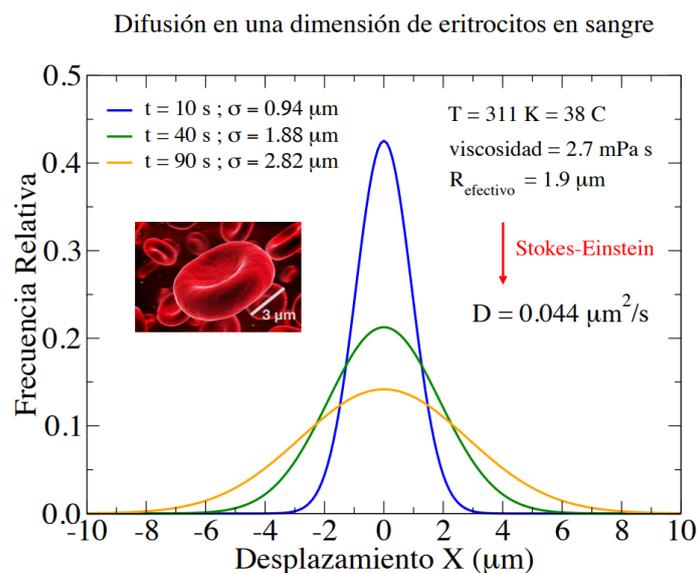


Fig.7 Representación gráfica de una simulación de la difusión de eritrocitos en sangre, representando el eje X el desplazamiento en  $\mu\text{m}$  de los eritrocitos y el eje Y el porcentaje de eritrocitos que han difundido esa distancia.

Cabe destacar que el coeficiente de difusión esperado para los eritrocitos según la teoría de Einstein, es bastante pequeño ( $0.044\mu\text{m}^2/\text{s}$ ). Esto se debe a que como hemos visto en la relación de Stokes-Einstein (véase ecuación 6), este coeficiente es dependiente tanto del tamaño del objeto como de la viscosidad del medio, por lo tanto si observamos el radio efectivo del eritrocito podemos apreciar que se trata de un número bastante elevado comparado con los desplazamientos ( $1.9\ \mu\text{m}$ ), difundiéndose por tanto con cierta lentitud. De la misma manera, si observamos la viscosidad de la sangre veremos cómo es casi tres veces superior a la viscosidad del agua ( $2.7\ \text{mPa}\cdot\text{s}$ ), influyendo de la misma manera en un proceso de difusión más lento. Esto confirma que los eritrocitos no son transportados en la sangre a todo el cuerpo solo gracias a su difusión, requiriendo como sabemos de un sistema de transporte basado en gradientes de presión, como es el sistema circulatorio.

## Objetivos

Todos los objetivos de este trabajo se remiten a la difusión térmica (no activa) de sistemas de interés biológico. Hemos considerado el caso no activo ante la imposibilidad de comparar nuestros resultados con sistemas reales, debido a la situación epidemiológica originada por el COVID-19, que nos ha impedido usar los laboratorios. Según esto, los objetivos han sido:

- I. Simular la difusión de bacterias con forma elongada para una temperatura y viscosidad fijas a lo largo de un cierto tiempo, para así estudiar la dinámica.
- II. Obtener a través de los desplazamientos de las bacterias en la simulación el coeficiente de difusión de estas.
- III. Analizar el proceso de difusión para partículas no esféricas a distintas temperaturas y viscosidades.
- IV. Comparar los resultados obtenidos de las simulaciones de bacterias elongadas con los resultados obtenidos para simulaciones con bacterias esféricas, con el objetivo de estudiar la validez de la relación de Stokes-Einstein en partículas no esféricas.

# Materiales y Métodos

## I. Simulaciones de partículas elongadas

Hemos utilizado simulaciones de dinámica molecular [19] en 3D para sistemas de partículas elongadas (cilíndricas) con las que pretendemos reproducir el ratio entre la longitud y el grosor de las bacterias *E.coli* [20]. Para ello, cada "bacteria" está formada por cuatro esferas concatenadas de 0.5  $\mu\text{m}$  de diámetro, resultando en una relación entre grosor y longitud de 1 a 4 (0.5  $\mu\text{m}$  de grosor por 2  $\mu\text{m}$  de longitud).

Para mantener las cadenas de cuatro esferas unidas (sin ruptura) hemos utilizado una interacción atractiva de tipo FENE (Finitely Extensible Nonlinear Elastic) [21], mientras que para evitar el solapamiento de unas esferas con otras, hemos utilizado una interacción repulsiva Weeks-Chandler-Andersen (WCA) [22], que asegura una baja penetrabilidad incluso a alta temperatura. Mantenemos fija la temperatura del sistema mediante un termostato de Andersen [23], para una temperatura efectiva que incluye el efecto de la viscosidad del solvente (en este caso agua). Se han ejecutado y analizado simulaciones para cinco temperaturas diferentes: 10  $^{\circ}\text{C}$ , 20  $^{\circ}\text{C}$ , 30  $^{\circ}\text{C}$ , 40  $^{\circ}\text{C}$  y 50  $^{\circ}\text{C}$ .

En cada simulación se han utilizado 12800 esferas que dan lugar a 3200 "bacterias". La longitud del lado de la caja de simulación hexagonal es de 440  $\mu\text{m}$ , lo que da como resultado una baja concentración de bacterias, trabajando por tanto con un sistema diluido. Para simular un sistema real de tamaño macroscópico, se ha considerado una caja hexagonal con condiciones de contorno periódicas [19].

Todas las simulaciones reproducen la dinámica del sistema durante 80 s. Dicho tiempo queda discretizado en  $2 \times 10^6$  pasos de tiempo, donde cada paso se corresponde con  $4 \times 10^{-5}$  s, es decir 40  $\mu\text{s}$ . Para integrar las ecuaciones del movimiento (ecuaciones de Newton) en cada paso de tiempo se ha utilizado un algoritmo de Verlet [19]. Para el paso de tiempo indicado, el algoritmo no crea derivas en la energía del sistema, que se mantiene constante. El código ha sido desarrollado íntegramente por Sándalo Roldán del departamento de física aplicada de la UGR, a partir de un código anterior [24]. Todos los resultados mostrados para cada temperatura resultan del análisis de 3200 trayectorias.

## II. Simulaciones de partículas esféricas

Hemos utilizado simulaciones de dinámica molecular en 3D para sistemas de partículas esféricas con las que pretendemos reproducir una colonia de cocos tomando un radio para cada esfera de  $0.6 \mu\text{m}$  [25].

En el caso de las partículas esféricas utilizamos, para evitar el solapamiento entre esferas, una interacción repulsiva Weeks-Chandler-Andersen (WCA), que, como en el caso de las partículas elongadas, asegura una baja penetrabilidad incluso a alta temperatura. De nuevo, mantenemos fija la temperatura del sistema mediante un termostato de Andersen, para una temperatura efectiva que incluye el efecto de la viscosidad del solvente (de nuevo agua). Se han ejecutado y analizado simulaciones para cinco temperaturas diferentes:  $10 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $20 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $30 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $40 \text{ }^\circ\text{C}$  y  $50 \text{ }^\circ\text{C}$ .

En cada simulación se han utilizado 8000 esferas que representan a 8000 "cocos". La longitud del lado de la caja de simulación hexagonal es de  $18.8 \mu\text{m}$ , lo que da lugar a una concentración moderada. De nuevo, para simular un sistema real de tamaño macroscópico, se ha considerado una caja hexagonal con condiciones de contorno periódicas.

Todas las simulaciones reproducen la dinámica del sistema durante 80 s, para un total de  $2 \times 10^6$  pasos de tiempo, donde (de nuevo) cada paso de tiempo se corresponde a  $40 \mu\text{s}$ . Para integrar las ecuaciones del movimiento utilizamos un algoritmo de Verlet. El código ha sido desarrollado íntegramente por Sándalo Roldán del departamento de física aplicada de la UGR, a partir de un código anterior [24]. Todos los resultados mostrados para cada temperatura resultan del análisis de 8000 trayectorias.

## III. Análisis de datos, representación gráfica y visualización.

### III.A Análisis de datos.

Todo el análisis de datos se ha llevado a cabo en una fase de post-proceso (tras la simulación). Para ello, durante el proceso de simulación salvamos típicamente varios centenares de ficheros con la configuración de las partículas en un tiempo determinado. Cada fichero presenta tres columnas con las coordenadas cartesianas (x, y, z) de cada partícula. Sustrayendo dos ficheros a distintos tiempos obtenemos el desplazamiento de cada partícula

entre esos dos tiempos.

Con los desplazamientos construimos los histogramas de frecuencias relativas que se muestran en los resultados. Para ello usamos el software libre Gnuplot [26]. Este software nos permite además obtener la curva gaussiana que mejor se ajusta a cada histograma, teniendo como único parámetro de ajuste el coeficiente de difusión.

Una vez obtenidos los coeficientes de difusión para cada sistema y temperatura, ajustamos la evolución de estos coeficientes con la temperatura (ver resultados) mediante una recta, con la que buscamos verificar la relación de Stokes-Einstein. Obtenemos la pendiente de dicha recta (único parámetro libre) de nuevo con Gnuplot, y a partir de ella el radio efectivo de cada tipo de partículas (ver resultados para el coeficiente de difusión con la temperatura para partículas elongadas y esféricas).

### III.B Representación gráfica.

Las representaciones gráficas para las frecuencias relativas y los coeficientes de difusión en función de la temperatura se han construido usando el software libre XMGRACE [27].

### III.C Visualización.

Para la visualización de las partículas presentadas en los resultados se ha usado el software libre VMD (Visual Molecular Dynamics) [28]. VMD ha sido desarrollado, con apoyo del NIH (National Institute of Health, USA), por el grupo de Biofísica Computacional y Teórica del Instituto Beckman, Universidad de Illinois en Urbana-Champaign.

# Resultados

## I. Simulaciones con *E.coli*

Para la simulación de una bacteria elongada se ha seleccionado como modelo a la bacteria *Escherichia coli*, la bacteria anaerobia facultativa comensal más abundante de la microbiota gastrointestinal humana[29], siendo junto a otros microorganismos esencial para el correcto funcionamiento del proceso digestivo, además de participar en la producción de vitamina B y K [30]. Otra de las características por las que se ha seleccionado es que es un organismo modelo ampliamente utilizado en el campo de la investigación debido a su alta velocidad de crecimiento, pocos requerimientos nutricionales y amplia bibliografía, haciendo de ella una candidata espléndida para estudiar su difusión en un medio líquido mediante simulación.

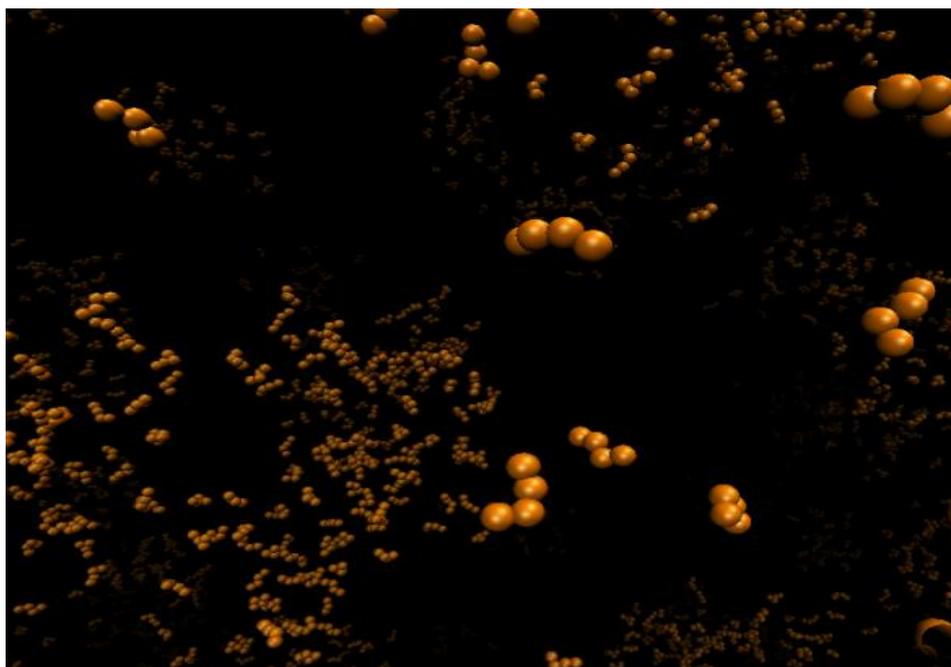


Fig.8 Visualización de una colonia de *E.coli* simuladas, renderizado a través del software libre VMD (Visual Molecular Dynamics) [28]

Para la primera simulación se estudió la difusión de *E.coli* en agua a una temperatura constante de 20 °C (293 K) a lo largo de un periodo de tiempo (9 s), por otro lado, para el tamaño de la bacteria se estimó mediante búsqueda bibliográfica que las dimensiones de *E.coli* para la simulación serían de 2  $\mu\text{m}$  de largo por 0.5  $\mu\text{m}$  ancho (ver materiales y métodos) [20]. De los datos obtenidos se midió el desplazamiento de cada una de las bacterias desde su

respectivo punto de origen a lo largo de cada uno de los tiempos indicados (1 s, 4 s y 9 s). De la distribución de desplazamientos obtenemos el coeficiente de difusión (D), mediante la gaussiana que más se acercara a los datos obtenidos empleando para ello la ecuación 8. Este ajuste se realizó mediante el software Gnuplot [26]. La representación gráfica del ajuste de estos resultados se muestra en la figura 9.

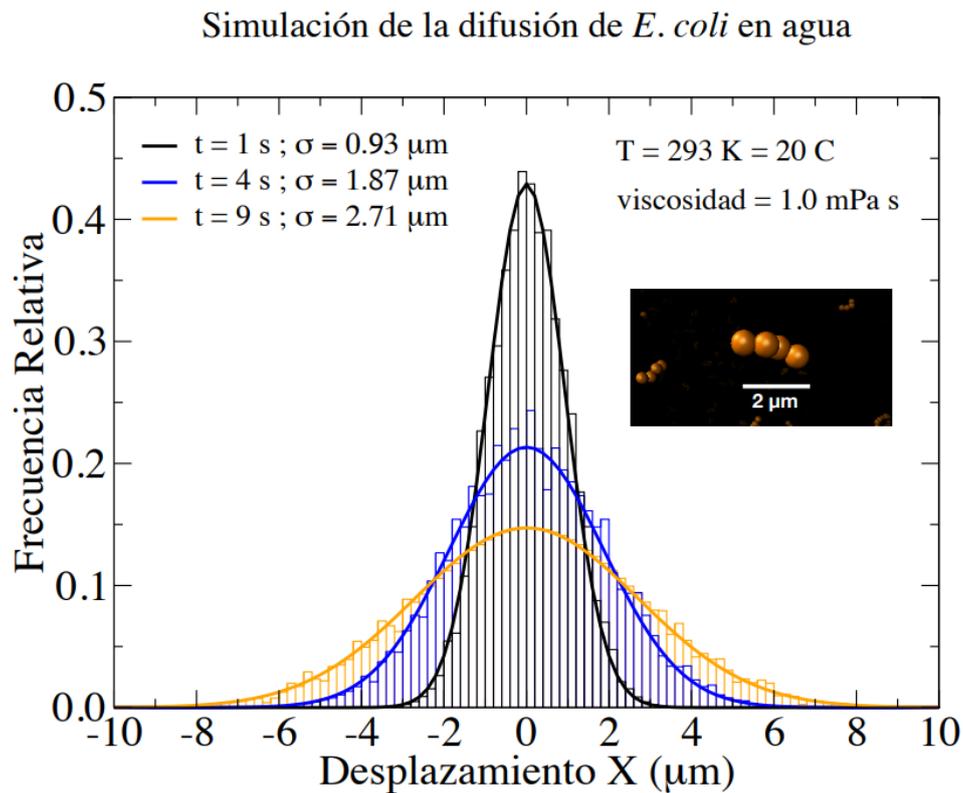


Fig.9 Representación gráfica de los resultados obtenidos de la simulación de la difusión de *E.coli* en agua a una temperatura (20 °C) y viscosidad (1.0 mPa\*s) constantes, donde el eje x representa el desplazamiento en µm de cada *E.coli* desde su origen y el eje y representa el porcentaje de bacterias con dicho desplazamiento. Además a la derecha se puede observar una imagen de las bacterias de la simulación con su escala correspondiente.

Analizando la figura 9 observamos que el desplazamiento de las bacterias sigue un crecimiento prácticamente proporcional a la raíz cuadrada del tiempo ( $\sqrt{t}$ ), es decir, a los 4 segundos la varianza es casi el doble que el valor inicial tras 1 segundo y a los 9 segundos es casi el triple. De estos resultados concluimos que el coeficiente de difusión se mantendrá prácticamente constante en el tiempo, debido a que la variación de este en el tiempo es mínima.

Al comprobar que el coeficiente de difusión no sufre grandes variaciones a lo largo del tiempo, es decir, se mantiene prácticamente constante, se procedió a estudiar la difusión de estas mismas bacterias pero a diferentes temperaturas para observar la influencia de esta en la

difusión de las mismas. Nuevamente se realizó una simulación midiendo el desplazamiento de cada una de las bacterias desde su punto de origen habiendo transcurrido un segundo, pero empleando tres temperaturas diferentes (10, 30 y 50 °C) para la medida de este valor. Los resultados de esta simulación se muestran en la figura 10, para la cual también se ajustó la gaussiana más cercana a cada histograma (empleando para ello la ecuación 8) a través del software Gnuplot, obteniendo así el coeficiente de difusión.

Simulación de la difusión de *E. coli* en agua a distintas temperaturas

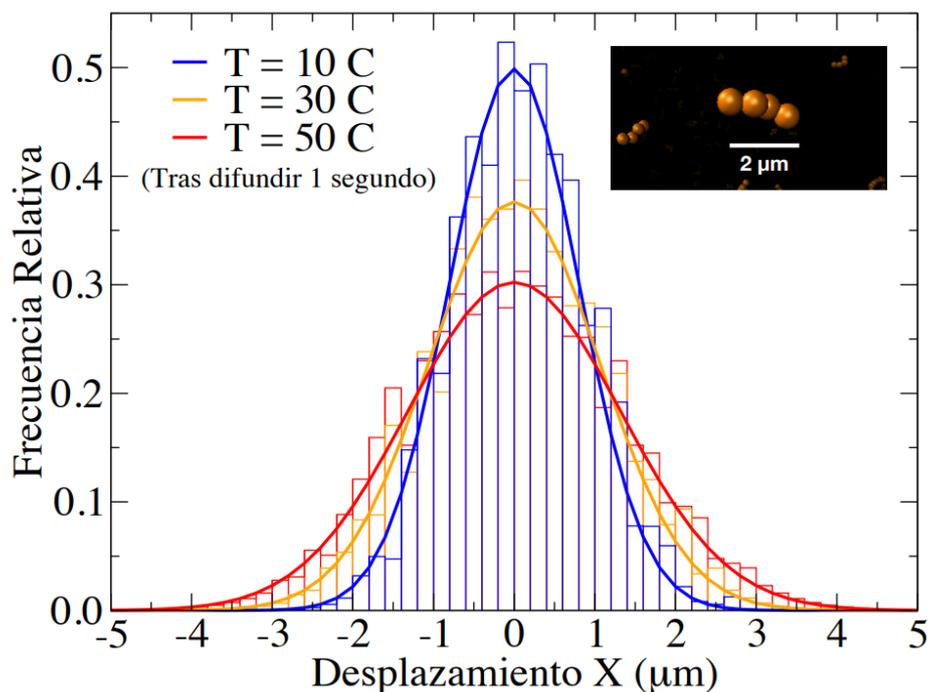


Figura 10. Representación gráfica de los resultados obtenidos de la simulación de la difusión de *E. coli* en agua tras un segundo para temperatura diferentes (10, 30 y 50 °C). El eje x representa el desplazamiento en  $\mu\text{m}$  de cada *E. coli* desde su origen y el eje y representa el porcentaje de bacterias que realizaron dicho desplazamiento. Además a la derecha se puede observar una imagen de las bacterias de la simulación con su escala correspondiente.

Analizando la figura 10, observamos que cuanto menor es la temperatura, menor es el coeficiente de difusión y por lo tanto menor es el desplazamiento que tendrán las bacterias en ese periodo de tiempo. Esto se observa con claridad en la figura 10 al comparar la campana azul (menor temperatura en la simulación) con la campana roja (mayor temperatura en la simulación), siendo la azul de mayor altura en las regiones centrales y de menor altura en las regiones más distantes, lo que quiere decir que las bacterias de la simulación a 50 °C han recorrido una distancia mayor en promedio debido a su mayor coeficiente de difusión. Si observamos la ley de Stokes-Einstein (véase ecuación 6), podemos apreciar como la

temperatura se encuentra en el numerador, por lo que el crecimiento de dicho coeficiente estará ligado (de forma proporcional) al aumento de la temperatura. Pero al mismo tiempo este crecimiento no será solo directamente proporcional a la temperatura sino que será además inversamente proporcional a la viscosidad ( $\eta$ ), que se encuentra en el denominador de la ecuación, y que, a su vez, varía con la temperatura. De esta manera esperaríamos un crecimiento proporcional al cociente entre estas dos variables ( $T/\eta_T$ ). Partiendo de nuestras simulaciones, en las que controlamos temperatura y viscosidad (ver materiales y métodos), podemos verificar si las bacterias *E.coli* simuladas siguen la ley de Stokes-Einstein, que en principio se aplica a esferas en su forma más simple (ecuación 6). Como se ha mencionado anteriormente, *E.coli* tiene forma bacilar, por lo tanto empleando la simulación obtendremos un coeficiente de difusión, y con él un radio efectivo.

## II. Cálculo del radio efectivo de *E.coli*

Empleamos Gnuplot (materiales y métodos) para ajustar la recta que más se aproxima a los resultados obtenidos para simulaciones a distintas temperaturas y viscosidades (véase figura 10), y gracias a este ajuste despejamos el radio efectivo en la forma que muestra la figura 11.

Crecimiento del coeficiente de difusión de *E.coli* en agua a distintas temperaturas

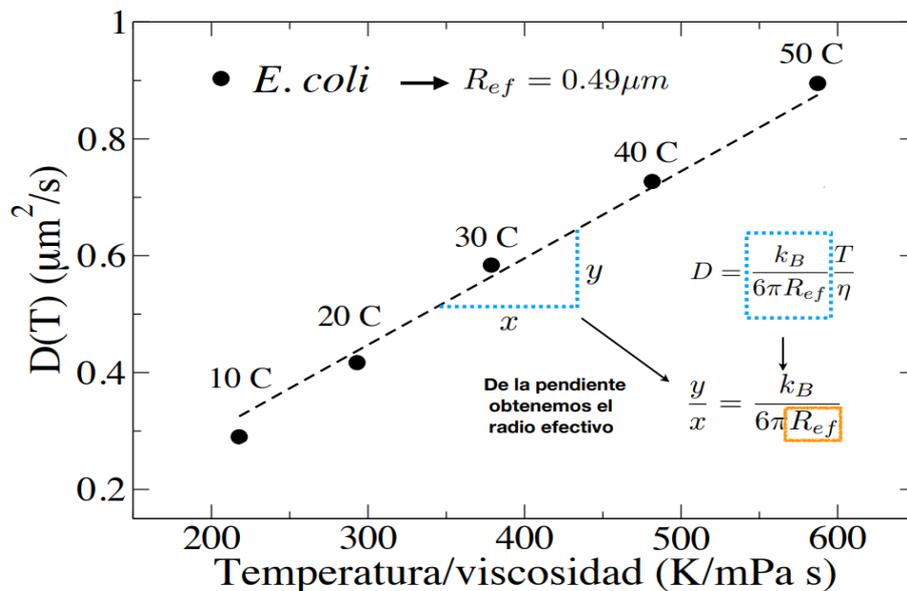


Fig. 11 Representación gráfica del crecimiento del coeficiente de difusión en función de una temperatura relativa ( $T/\eta_T$ ), donde el eje x representa la temperatura relativa ( $T/\eta_T$ ) y el eje y el coeficiente de difusión. En él se

representan los datos obtenidos de la simulación a diferentes temperaturas (10, 20, 30, 40 y 50 °C) y a partir de la pendiente obtenida se indica el procedimiento seguido para la obtención del radio efectivo de *E.coli*.

En primer lugar vemos que los bacilos verifican una relación de Stokes-Einstein efectiva (relación lineal de  $D$  con la temperatura efectiva), dando lugar a un radio efectivo ( $R_{ef}$ ) de  $0.49 \mu\text{m}$ , lo que implica que las *E.coli* simuladas "se comportan" como partículas esféricas de  $0.49 \mu\text{m}$  de radio.

### III. Comparación entre *E.coli* y *S.aureus*

Para comparar el cálculo anterior (véase figura 11) con respecto a partículas esféricas, se simuló también la difusión de bacterias con forma de cocos, con el objetivo de contrastar los resultados obtenidos hasta el momento para las bacterias con forma bacilar con otras bacterias que poseen realmente una forma esférica. Para esta comparación se tomó como referencia a la bacteria *Staphylococcus aureus*, para la cual se estimó mediante búsqueda bibliográfica un radio de  $0.6 \mu\text{m}$  [31]. Se trata de una bacteria descrita por primera vez en 1880 [31], siendo ampliamente conocida en el mundo de la medicina por su conocida resistencia a la penicilina y por su gran incidencia sobre los humanos, ya que hasta dos mil millones de personas han sido colonizadas mundialmente por este microorganismo [32], lo que la convierte en una cepa muy estudiada.

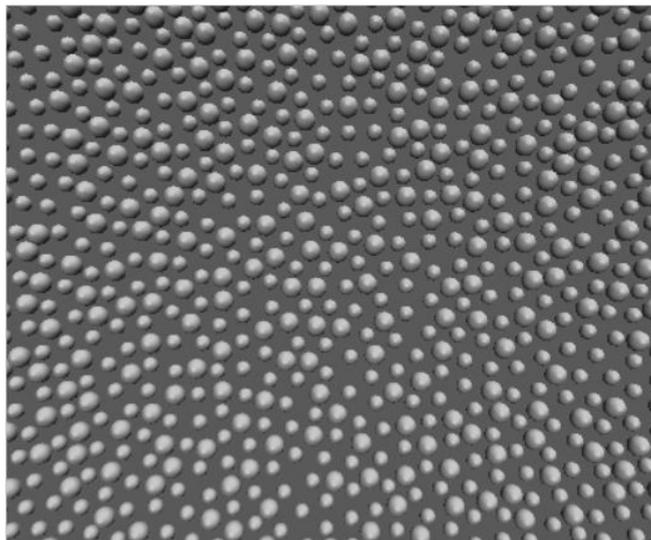


Fig. 12 Visualización de una colonia de las *S.Aureus* simuladas, renderizado a través del software libre VMD (Visual Molecular Dynamics) [27]

A través de la búsqueda bibliográfica [20], y de los resultados anteriores (véase figura 11), sabemos que *E.coli* posee un radio efectivo ( $0.49 \mu\text{m}$ ), que es bastante cercano al radio de *S.aureus* ( $0.6 \mu\text{m}$ ). Por lo tanto se procedió a comparar la difusión de cada uno midiendo para ello la distancia recorrida en simulación por cada una de las partículas desde su punto de origen a lo largo de 1 segundo a una temperatura constante de  $30 \text{ }^\circ\text{C}$  ( $303 \text{ }^\circ\text{K}$ ). Elaboramos así el histograma de desplazamientos correspondiente a cada bacteria, para posteriormente emplear Gnuplot para ajustar la gaussiana que más se acercará a los datos obtenidos, empleando para ello la ecuación 8, y obteniendo el coeficiente de difusión que mejor se ajustaba a esos datos de simulación. La representación de los datos obtenidos se muestra en la figura 13.

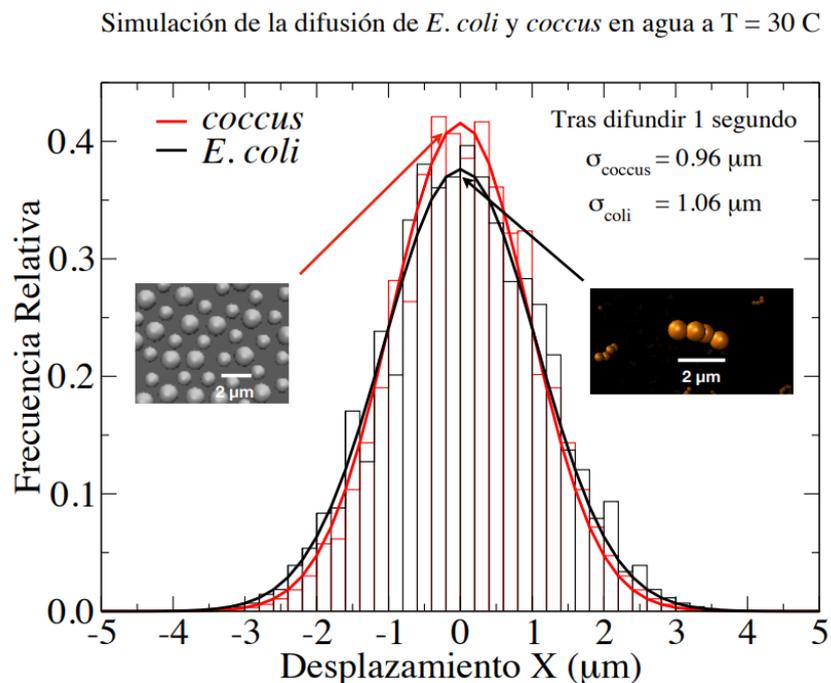


Fig. 13 Representación gráfica de los resultados obtenidos de la simulación de la difusión de *E.coli* y *S.aureus* en agua a  $30 \text{ }^\circ\text{C}$  tras 1 segundo, empleando la ecuación 3 para ajustar la gaussiana más próxima a cada histograma. El eje x representa el desplazamiento en  $\mu\text{m}$  de cada bacteria desde su origen y el eje y representa el porcentaje de bacterias que realizaron ese desplazamiento. Además mostramos la desviación típica de los desplazamientos de cada una, y las escalas de las bacterias simuladas.

Como podemos apreciar en la figura 13, la campana de gauss constituida por los *S.aureus* es más alta que la formada por *E.coli*, lo que quiere decir que el desplazamiento de estas ha sido menor para el mismo tiempo y temperatura, esto también lo podemos observar en que la desviación típica (véase figura 13) de cada uno es  $\sigma_{\text{coccus}} = 0.96 \mu\text{m}$  para *S.aureus* y  $\sigma_{\text{coli}} = 1.06 \mu\text{m}$  para *E.coli*. Este resultado confirma que, como cabía esperar, *E.coli* ha tenido un

desplazamiento mayor y por tanto un coeficiente de difusión más elevado. Si volvemos a revisar la ley de Stokes-Einstein (véase ecuación 6) observaremos que el coeficiente de difusión (D) es inversamente proporcional al radio de la partícula, hecho que se cumple en los resultados obtenidos.

Después de conocer el comportamiento de ambas bacterias para una misma temperatura y tiempo, se procedió a estudiar la evolución de la difusión de estas con la temperatura. Para ello se siguió el mismo procedimiento que en la figura 11, es decir, a través de la ecuación 2 obtenemos la pendiente de la gráfica ( $k_B/6\pi R_{ef}$ ), empleando empleamos Gnuplot para ajustar la recta que mejor se ajuste a los datos, podremos obtener de la recta generada la información necesaria para despejar el radio efectivo ( $R_{ef}$ ), obteniendo así los resultados reflejados en la figura 14.

Comparación del crecimiento del coeficiente de difusión de *E.coli* con *S.aureus* en agua a distintas temperaturas

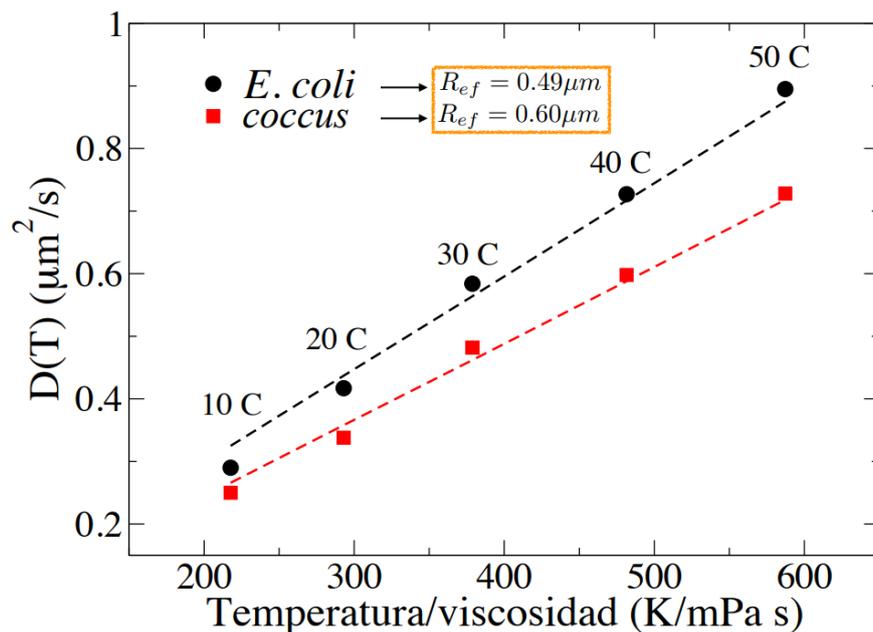


Fig. 14 Comparación gráfica del crecimiento del coeficiente de difusión para *E.coli* y *S.aureus* en función de la temperatura relativa ( $T/\eta_T$ ), donde el eje x representa la temperatura relativa ( $T/\eta_T$ ) y el eje y el coeficiente de difusión. En él se representan los datos obtenidos de la simulación a diferentes temperaturas (10, 20, 30, 40 y 50 °C) y a partir de la pendiente obtenida se indica el procedimiento seguido para la obtención del radio efectivo de *E.coli* y *S.aureus*.

Si analizamos la figura 14, observaremos que ambas simulaciones cumplen las características predichas por la ley de Stokes-Einstein (véase ecuación 6), ya que ambas bacterias a una mayor temperatura presentan una mayor difusión, y por tanto las distancias

recorridas por cada una de estas será mayor en promedio. Las *E.coli*, pese a tener un tamaño aparentemente mayor debido a su configuración alargada, presentan un radio efectivo de 0.49  $\mu\text{m}$ , y por lo tanto se comportan como partículas esféricas de 0.49  $\mu\text{m}$  de radio. Esto les permite difundir con mayor rapidez que las *S.aureus*, que poseen forma esférica pero con un radio mayor (0.6  $\mu\text{m}$ ). Por lo tanto, al tratarse de esferas de mayor tamaño, su difusión es más lenta (distancia media recorrida menor), tal como queda perfectamente reflejado tanto en la figura 13 como en la figura 14.

#### IV. Cálculo cuantitativo

Por último, para racionalizar los datos obtenidos mediante simulación, se procedió a realizar un cálculo cuantitativo para determinar qué radio efectivo cabría esperar para una partícula cilíndrica de 2  $\mu\text{m}$  de largo y 0.5  $\mu\text{m}$  de ancho (al igual que las *E.coli* simuladas), comprobando si dicho radio se asemeja al obtenido mediante simulación (figura 11). Para ello imponemos que el volumen del cilindro sea igual al de una esfera efectiva:

$$V_{cilindro} = \text{superficie de la base} \cdot \text{altura}$$

$$\Rightarrow \pi \cdot R^2 \cdot h = \pi \cdot (0.25 \mu\text{m})^2 \cdot 2 \mu\text{m}$$

¿Qué radio debería tener una esfera para tener el mismo volumen que el cilindro?

$$V_{cilindro} = V_{esfera}$$

$$\pi \cdot (0.25)^2 \cdot 2 = \frac{4}{3} \pi \cdot R_{ef}^3$$

$$\Rightarrow R_{ef} = \sqrt[3]{\frac{3}{4} \cdot 0.25^2 \cdot 2}$$

$$\Rightarrow R_{ef} = 0.45 \mu\text{m}$$

De este cálculo obtenemos que una forma cilíndrica de estas características (2  $\mu\text{m}$  de largo y 0.5  $\mu\text{m}$  de ancho) tiene un radio efectivo de 0.45  $\mu\text{m}$ , un resultado muy cercano a los datos obtenidos de las simulaciones (0.49  $\mu\text{m}$ ).

## V. Comprobación con valores experimentales y perspectivas

Debido a la imposibilidad de contrastar estos resultados con experimentos a causa de la situación epidemiológica originada por el COVID-19, se decidió contrastar los resultados obtenidos con la bibliografía existente [33,34]. En dichos trabajos se realizan experimentos con *E.coli* inertes (sin aporte de energía interna metabólica y sin flagelos) en agua a 20 °C, obteniendo como resultado un coeficiente de difusión en torno a  $0.3 \mu\text{m}^2/\text{s}$ . Si contrastamos estos resultados con nuestros datos obtenidos para la misma temperatura en nuestras simulaciones, observamos un coeficiente en torno a  $0.4 \mu\text{m}^2/\text{s}$  (véase figura 14), es decir, un valor que, sin ser altamente preciso, sí es próximo al real. Esto significa que el radio efectivo real de las *E.coli* en agua en el experimento estaría en torno a  $0.65 \mu\text{m}$  frente a los  $0.49 \mu\text{m}$  que obtenemos en simulación, es decir, un error relativo en torno al 25%. Aunque los resultados de la simulación son más que aceptables, una causa plausible para explicar la discrepancia entre simulación y experimento, se podría deber al hecho de que las cadenas en la simulación tienen mucha flexibilidad (las cuatro esferas que las forman son muy móviles), mientras que una *E.coli* real es mucho más rígida.

Finalmente, tras contrastar (de manera satisfactoria) simulación y experimento, mencionamos dos perspectivas futuras a corto plazo a modo de continuación obvia de este trabajo. Por una parte, la imposición (ya mencionada) de una flexibilidad para nuestras cadenas *E coli* simuladas que sea más realista. Por otra parte, el añadido de un ruido no térmico en nuestras simulaciones con el que reproducir la dinámica de bacterias activas, es decir, de bacterias que utilizan la energía metabólica para conducir su movimiento.

## Conclusiones

Hemos simulado una colonia compuesta por más de 3000 bacterias elongadas (*E.coli*) obteniendo, en primer lugar, el coeficiente de difusión para una temperatura y viscosidad constantes. Gracias a estos resultados de simulación se ha mostrado que el coeficiente de difusión sufre una variación mínima a lo largo del tiempo. Una vez demostrado que el tiempo tiene una influencia despreciable en el cálculo del coeficiente de difusión, se procedió a calcular el radio efectivo de las bacterias *E.coli*. Para ello hemos llevado a cabo un estudio de simulación para distintas temperaturas y viscosidades, comprobando que la difusión de bacterias elongadas puede ser entendida también mediante la relación de Stokes-Einstein, obteniendo un radio efectivo de  $0.49 \mu\text{m}$  (un valor no lejano al de una esfera cuyo volumen fuese el de un cilindro con las dimensiones de las *E.coli*).

Una vez demostrado que una bacteria elongada sigue la ley de Stokes-Einstein para partículas esféricas se procedió a comparar la difusión de éstas con respecto a una simulación de bacterias esféricas (*S.aureus*), demostrando una vez más que las *E.coli*, al poseer un radio efectivo ( $0.49 \mu\text{m}$ ) menor que el radio de *S.aureus* ( $0.6 \mu\text{m}$ ), difunden una mayor distancia pese a tener un tamaño aparentemente superior.

Por último, hemos comprobado que los resultados obtenidos mediante simulaciones se asemejan a los valores obtenidos experimentalmente para el coeficiente de difusión de bacterias *E.coli* no flageladas. En estos experimentos se obtienen coeficientes en torno a  $0.3 \mu\text{m}^2/\text{s}$ , frente a los  $0.4 \mu\text{m}^2/\text{s}$  obtenidos en las simulaciones. Esto supondría que el radio real de las *E.coli* en los experimentos se encuentra en torno a los  $0.65 \mu\text{m}$  frente a los  $0.49 \mu\text{m}$ , dando lugar a una moderada discrepancia que podría deberse a la gran flexibilidad de las cadenas empleadas en la simulación, que contrasta con la rigidez real de *E.coli*. Una investigación sistemática futura apuntaría a paliar el efecto de la flexibilidad de las cadenas en simulación y a añadir la energía interna (hidrólisis del ATP) para abordar el problema del transporte activo de bacterias *E.coli* vivas.

# Bibliografía

- [1] Vix. <https://www.vix.com/es/btg/curiosidades/2011/06/16/que-es-el-movimiento-browniano>
- [2] T. F. F. Farage, P. Krinninger, and J. M. Brader, Effective interactions in active Brownian suspensions, *Phys. Rev. E* 91, 042310 (2015).
- [3] Smith, M. F. (2011) [2001]. *Lucretius, On the Nature of Things*
- [4] Porter, J. R. (1976). «Antony van Leeuwenhoek: tercentenary of his discovery of bacteria». *Bacteriological Reviews* 40 (2): 260-269.
- [5] Brown, R., "A brief account of microscopical observations made in the months of June, July and August, 1827, on the particles contained in the pollen of plants; and on the general existence of active molecules in organic and inorganic bodies." *Phil. Mag.* 4, 161-173, 1828.
- [6] ANTONIO, J. S. EL MOVIMIENTO BROWNIANO: UN PARADIGMA DE LA MATERIA BLANDA Y DE LA BIOLOGÍA.
- [7] Cano, J. A. R., Aguilar, E. J. C., & Ojeda, M. A. I. Estudio de la asimetría espacial en el tiempo del movimiento Browniano, desde la perspectiva de Albert Einstein.
- [8] Perrin, M. J. (1910). P46x PHYSICS EE.
- [9] Noji, H., & Yasudat, R. (1997). Direct observation of the rotation of F1-ATPase. 386120(March), 299–302.
- [10] Marchetti, M. C., Joanny, J. F., Ramaswamy, S., Liverpool, T. B., Prost, J., Rao, M., & Simha, R. A. (2013). Hydrodynamics of soft active matter. *Reviews of Modern Physics*, 85(3), 1143.
- [11] Dombrowski C, Cisneros L, Chatkaew S, Goldstein RE, Kessler JO. 2004. *Phys. Rev. Lett.* 93:098103
- [12] Thalassagraphics. <http://thalassagraphics.com/blog/>
- [13] EL MODELO CINÉTICO DE UN GAS. [http://bibliotecadigital.ilce.edu.mx/sites/ciencia/volumen1/ciencia2/36/htm/sec\\_6.html](http://bibliotecadigital.ilce.edu.mx/sites/ciencia/volumen1/ciencia2/36/htm/sec_6.html)
- [14] Philibert, J. (2006). One and a half century of diffusion: Fick, Einstein before and beyond.
- [15] Einstein, A. "Investigations on the Theory of Brownian Movement". New York: Dover, 1956.
- [16] Einstein, A. "Über die von der molekularkinetischen Theorie der Wärme geforderte Bewegung von in ruhenden Flüssigkeiten suspendierten Teilchen." *Ann. Phys.* 17, 549, 1905.
- [17] Avishay Bransky, Natanel Korin, Yael Nemirovski, Uri Dinnar, Correlation between erythrocytes deformability and size: A study using a microchannel based cell analyzer, *Microvascular Research*, Volume 73, Issue 1, 2007, Pages 7-13
- [18] Anton Paar. <https://wiki.anton-paar.com/es-es/sangre-completa/>
- [19] D. Frenkel and B. Smit, *Understanding Molecular Simulation: From Algorithms to Applications*, St Louis, Missouri, U.S.A., Academic Press (2001)
- [20] Volkmer, B., & Heinemann, M. (2011). Condition-Dependent cell volume and concentration of *Escherichia coli* to facilitate data conversion for systems biology modeling. *PLoS ONE*, 6(7), 1–6. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0023126>
- [21] S. Jin and L. R Collins. *New J. Phys.* 9, 360 (2007)

- [22] J. D. Weeks, D. Chandler, and H. C. Andersen, *J. Chem. Phys.* 54, 5237 (1971)
- [23] H. C. Andersen, *J. Chem. Phys.* 72, 2384 (1980)
- [24] W Kob, S Roldán-Vargas, L Berthier, *Nature Physics* 8, 164 (2012)
- [25] Patrick R. Murray, ed. *Microbiología Médica*. 6 Ed (6a edición). España: Elsevier-Mosby. pp. 209-224.
- [26] Gnuplot project: <http://www.gnuplot.info/>
- [27] Weizman Institute of Science, Plasma Laboratory: <https://plasma-gate.weizmann.ac.il/Grace/>
- [28] Theoretical and Computational Biophysics Group, University of Illinois at Urbana-Champaign: <https://www.ks.uiuc.edu/Research/vmd/>
- [29] Matthew A. Croxen, Robyn J. Law, Roland Scholz, Kristie M. Keeney, Marta Wlodarska y B. Brett Finlay (2013). «Recent Advances in Understanding Enteric Pathogenic Escherichia coli». *Clinical Microbiology Reviews* (American Society for Microbiology, publicado el 1 de octubre de 2013) 26 (4): 822-880.
- [30] Burkholder, Paul R.; McVeigh, Ilda (1942-07). «Synthesis of Vitamins by Intestinal Bacteria». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 28 (7): 285-289.
- [31] Lowy FD. Staphylococcus aureus infections. *N Engl J Med.* 1998 Aug 20;339(8):520-32. doi: 10.1056/NEJM199808203390806. PMID: 9709046.
- [32] Leigh, N., Bigio, E. H., Hyman, B. T., Growdon, J. H., Frosch, M. P., Miller, R. G., ... Reddi, P. P. (2008). A Nitric Oxide – Inducible Lactate, 319(March), 1672–1676.
- [33] S. Tavaddod, M.A. Charsooghi, F. Abdi, H.R. Khalesifard, and R.Golestanian, “Probing Passive Diffusion of Flagellated and Deflagellated Escherichia Coli ”, *Eur. Phys. J. E* 34: 16 (2011)
- [34] MULL, T. R. (2019). Diffusion of E. coli Bacteria in Water and in a Quasi-two-dimensional Porous Media. August 2019. Russ College of Engineering and Technology.

## I. Bibliografía adicional de consulta general

- [1] Sandoval, M. (2020). Pressure and diffusion of active matter with inertia. *Physical Review E*, 101(1), 012606.
- [2] Flenner, E., & Szamel, G. (2020). Active matter: quantifying the departure from equilibrium. *Physical Review E*, 102(2), 022607.
- [3] Wijmans, J. G., & Baker, R. W. (1995). The solution-diffusion model: a review. *Journal of membrane science*, 107(1-2), 1-21.
- [4] Himmelblau, D. M. (1964). Diffusion of dissolved gases in liquids. *Chemical Reviews*, 64(5), 527-550.
- [5] Ramaswamy, S. (2010). The mechanics and statistics of active matter. *Annu. Rev. Condens. Matter Phys.*, 1(1), 323-345.